



**EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.)
OLGUN EMBRİYO KÜLTÜRÜNDE SERYUM
NANOPARÇACIKLARININ KALLUS OLUŞUMU
VE BİTKİ REJENERASYONU ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Kübra SARIGÜL

Danışman: Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

Yüksek Lisans Tezi

Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı

2021

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

**EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) OLGUN EMBRİYO KÜLTÜRÜNDE
SERYUM NANOPARÇACIKLARININ KALLUS OLUŞUMU VE BİTKİ
REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ**

(The Effects of Cerium Nanoparticles on Callus Formation and Plant Regeneration in Wheat
(*Triticum aestivum* L.) Mature Embryo Culture)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kübra SARIGÜL

Danışman: Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU

Erzurum
Ağustos, 2021

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum*) olgun embriyo kültüründe seryum nanoparçacıklarının kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine etkileri

Prof. Dr. Kamil Haliloğlu danışmanlığında, Kübra Sarıgül tarafından hazırlanan bu çalışma, 07/09/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Tahıllar ve Yemeklik baklagiller Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği / oy-çokluğu (3/3)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Metin Tosun <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Kamil Haliloğlu <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi İsmail Bezirganoğlu <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Enstitü Yönetim
Kurulunun .../.../.... tarih
ve sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan Ceyhun

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Kamil Haliloğlu danışmanlığında sunulan “Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) Olgun Embriyo Kültüründe Seryum Nanoparçacıklarının Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonu Üzerine Etkileri” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	0	30
Kuramsal Temeller	5	30
Materyal ve Yöntem	8	35
Bulgular	7	20
Tartışma	7	20
Tezin Geneli	8	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Kübra SARIGÜL	Prof.Dr.Kamil HALİLOĞLU
7.9.2021	7.9.2021
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olan danışman hocam Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU'na, her türlü yanımda olan maddi ve manevi destekçim güzel ailem ve arkadaşlarıma ve bütün Tarla Bitkileri Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarım aşamasında bana yardımcı olan Tarla Bitkileri Bölümü çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Kübra SARIGÜL



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) OLGUN EMBRİYO KÜLTÜRÜNDE SERYUM NANOPARÇACIKLARININ KALLUS OLUŞUMU VE BİTKİ REJENERASYONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Kübra SARIGÜL

Danışman: Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU

Amaç: Çalışmamız içerisinde, farklı genotiplerin doku kültürü parametrelerine verdiği cevaplar araştırılmıştır. Ayrıca farklı genotipler ve Ce₂O₃ nanoparçacıklarının etkileri beraber incelenmiştir.

Yöntem: Bu çalışmada Kırık ve Rumeli ekmeklik buğday çeşitleri materyal olarak kullanılmış ve olgun embriyoları, Ce₂O₃ nanoparçacığının 4 farklı dozunda (1mg/L, 3mg/L, 5mg/L, 7mg/L) ve nanoparçacıksız kontrol uygulaması ile MS besi ortamında denemeye alınmıştır. Tohumlar yüzey sterilizasyonundan sonra olgun embriyolar çıkartılıp besi yerlerine alınarak kallus kültürü başlatılmış ve kallus oluşumu, eksplant başına embriyogenik kallus oluşumu, kallus başına embriyogenik kallus oluşumu, kök oluşumu, sürgün oluşumu, ve bitki rejenerasyonu oranı parametreleri incelenmiştir.

Bulgular: En yüksek kallus oluşum oranı Kırık çeşidinde 7 mg/L Ce₂O₃ NP dozunda meydana gelmiş, en düşük kallus oluşumu ise 1mg/L Ce₂O₃ NP Rumeli çeşidinde sağlanmıştır. Eksplant başına kallus oluşumu en yüksek Kırık kontrol besi ortamında çıkarken en düşük Rumeli çeşidinin 3 mg/L Ce₂O₃ içeren besi ortamında kaydedilmiştir. Kallus başına embriyogenik kallus oluşum oranı en yüksek Kırık çeşidinin kontrol besi ortamında en düşük Rumeli çeşidinin 3mg/L Ce₂O₃ içerdiği besi ortamında kaydedilmiştir. Kök oluşumu en yüksek oranı %16,03 Rumeli çeşidinde en düşük kök oluşumu ise %3,94 Kırık çeşidinde belirlenmiştir. Sürgün oluşum oranı %51,40 Rumeli çeşidinde %40,49 Kırık çeşidinde gözlenmiştir. En yüksek bitki rejenerasyonu oranı Kırık çeşidinin nanoparçacık içermeyen kontrol besi ortamında , en düşük ise 5mg/L Ce₂O₃ içeren Rumeli besi ortamında kaydedilmiştir.

Sonuç: Bitki doku kültürü parametreleri içerisinde yer alan, kalus oluşumu, kök, sürgün oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine genotiplerin etkisi önemli bulunmuştur. Genotip doku kültürü çalışmalarını etkileyen önemli faktörlerden biridir. En yüksek kallus oranı oluşum ve bitki rejenerasyonu kırık ekmeklik buğday çeşidinde tespit edilmiştir. Denemede doku kültüründe besi ortamına eklenen Ce₂O₃ dozlarının kallus oluşumu ve rejenerasyonu artırdığını ancak bu konuda genotipik etkisini önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Seryum , Kallus, Embriyogenik kalus, in vitro rejenerasyon, ,
Ağustos 2021, 52 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

THE EFFECTS OF CERIUM NANOPARTS ON CALLUS FORMATION AND PLANT REGENERATION IN BREAD WHEAT (*Triticum aestivum* L.) MATURE EMBRYO CULTURE

Kübra SARIGÜL

Supervisor: Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU

Aim: In our study, the responses of different genotypes to tissue culture parameters were investigated. In addition, the effects of different genotypes and Ce₂O₃ nanoparticles were examined together.

Method: In this study, Kırık and Rumeli bread wheat cultivars were used as material and mature embryos of Ce₂O₃ nanoparticles at 4 different doses (1mg/L, 3mg/L, 5mg/L, 7mg/L) and nanoparticle-free control application were used in MS medium. After the surface sterilization of the seeds, mature embryos were removed and taken into the medium, callus culture was started and the parameters of callus formation, embryogenic callus formation per explant, embryogenic callus formation per callus, root formation, shoot formation, and plant regeneration rate were investigated.

Results: The highest rate of callus formation occurred in Kırık cultivar at a dose of 7 mg/L Ce₂O₃ NP, while the lowest callus formation was achieved in 1mg/L Ce₂O₃ NP Rumeli cultivar. Callus formation per explant was the highest in the Broken control nutrient medium, while the lowest was recorded in the nutrient medium containing 3 mg/L Ce₂O₃ of the Rumeli variety. The highest embryogenic callus formation per callus was recorded in the control medium of Kırık variety and the lowest callus formation in the medium containing 3mg/L Ce₂O₃ of Rumeli variety. The highest root formation was 16.03% in Rumeli variety and the lowest root formation was %3.94 in Kırık variety. The highest shoot formation was observed in Rumeli %51.40 and the lowest %40.49 Kırık variety. The highest plant regeneration rate was recorded in the control medium without nanoparticles of Kırık variety, and the lowest in 5mg/L Rummeli medium.

Conclusion: The effects of genotypes on callus formation, root, shoot formation and plant regeneration, which are among plant tissue culture parameters, were found to be significant. Genotype is one of the important factors affecting tissue culture studies. It was observed that the highest callus formation and plant regeneration occurred in cracked bread wheat variety. As a result, it was emphasized that Ce₂O₃ doses added to the nutrient medium in tissue culture increased callus formation and regeneration, but the variety used was important.

Keywords: Callus, embryogenic callus, in vitro regeneration, wheat, cerium

August 2021, 52 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
GİRİŞ.....	1
KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
MATERYAL VE YÖNTEM	11
Nanoparçacıkların Sentezlenmesi	11
Bitki örneğinin toplanması ve bitki ekstresinin hazırlanması	11
Yeşil Nano sentez ile Ce ₂ O ₃ nanopartiküllerin sentezi	11
Yeşil Nano sentez ile Ce ₂ O ₃ nanopartiküllerin karakterizasyonu.....	11
Bitki Materyali	11
Kimyasallar	12
Yöntem.....	13
Uygulanan sterilizasyon teknikleri.....	13
Uygulamada kullanılan eksplantın elde edilişi	14
Çalışmada kullanılan temel besi ortamı ve bitki rejenerasyonu için stok solüsyonunun hazırlanışı	15
Kallus oluşum ortamının hazırlanışı	16
Bitki rejenerasyon ortamının hazırlanışı	17
Araştırmada incelenen karakterler	17
Verilerin istatistiksel analizi.....	18
ARAŞTIRMA BULGULARI	19
Ce ₂ O ₃ Nanopartiküllerin Optik Özellikleri	19
Kallus Oluşum (KO) Oranı	21
Eksplant Başına Embriyogenik Kallus Oluşum (EBEKO) Oranı.....	23
Kallus Başına Embriyogenik Kallus Oluşum (KBEKO) Oranı	24
Kök Oluşum (KO) Oranı.....	24

Sürgün Oluşum (SO) Oranı.....	25
Bitki Rejenerasyonu (BR) Oranı.....	26
TARTIŞMA VE SONUÇ.....	29
Tartışma.....	29
Sonuç.....	32
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	40



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Araştırmada Kullanılan Ekmeklik Buğday Çeşitleri	12
Tablo 2. MS Ortamı İçerisinde Yer Alan Makro ve Mikro Elementler.....	12
Tablo 3. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Olgun Embriyoların <i>in vitro</i> Ortamda İncelenen Bazı Karakterlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları	23
Tablo 4. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler.....	23
Tablo 5. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler.....	23
Tablo 6. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Olgun Embriyoların <i>in vitro</i> Ortamda İncelenen Bazı Karakterlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları	25
Tablo 7. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler.....	25
Tablo 8. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler.....	25

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Çalışmada kullanılan buğday embriyosunun alındığı bölge	14
Şekil 2. Ce ₂ O ₃ NP'lerinin dalga boyu tarama sonuçları.....	19
Şekil 3. Ce ₂ O ₃ NP'lerin SEM analiz sonuçları	20
Şekil 4. Ce ₂ O ₃ NP'lerin XRD analiz imajı	20
Şekil 5. Kalus başlangıç ortamının 10. Gününde eksplantların görünüşleri.....	22
Şekil 6. Rejenerasyon başlangıç ortamının 10. Gününde eksplantların görünüşleri	26
Şekil 7. Rejenerasyon başlangıç ortamının 20. Gününde eksplantların görünüşleri	28



SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
Ce	: seryum
Ce ₂ O ₃	: seryum oksit
cm	: Santimetre
g	: Gram
HCl	: Hidroklorik Asit
Kg	: kilogram
L	: Litre
l,	: Litre
m	: Metre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
MS	: Murashige ve Skoog bazal besin ortamı
NaOH	: Sodyum Hidroksit
Nm	: nanometre
Np	: nanopartikül
°C	: Santigrat derece
pH	: Hidrojenin gücü
ppm	: Milyonda bir birim
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikro Molar

GİRİŞ

Nanoteknoloji, nano ölçekte fiziksel, biyolojik ve kimyasal olayların anlaşılması, kontrolü, üretimi ve taklit edilmesi amacıyla yapılan çalışmaları konu edinen birçok disiplini içerisinde barındıran bir bilim dalıdır. Gösterdiği üstün özellik ve işlevlerden dolayı, nano boyutlu malzemeler, nano parçacıklar, nano tüpler, nano teller veya nano ince filmler günümüzde yoğun ilgi görmektedir (Goldstain 1997). Boyutları 1-100 nm aralığında belirtilen nano parçacıklar nanoteknolojinin temelini oluşturmaktadır (Müller and Cheetham 2005). Nanoparçacıkların özelliklerini öne çıkartan temel sebepler; aynı olmayan yüzey atomlarının karakterleri, kuantum etkileri ve yüksek yüzey-hacim oranı olarak belirtilmiştir (Liveri 2006). Nanoparçacık sentezindeki katalizörler, optik faaliyetler için özel malzemeler ile süper iletkenlik, aşınmaya dayanıklı katkı maddeleri ve özel teşhis ekipmanları gibi birçok teknolojik ve tıbbi malzemelerin hazırlanmasına neden olunmuştur.

Günümüzde nanoteknolojik alanda hızlı gelişmeler birçok ürünün hayatımıza girmesine neden olmuştur. Binden fazla nanoteknolojik çalışmaların günlük ürünler arasında olduğu görülmektedir. Kirlenmez bebek kıyafetleri ve masa örtüleri, kirlenmez ve su tutmaz boyalar, traş kremleri ve güneşten koruyucular, tedavi için kullanılan ilaçlar bu örneklerden birkaç tanesidir (Roco 2005). Tıpta nanopartiküller; ultrason, manyetik çekimler, görüntülü ve nükleer tomografi vb. radyolojik ve tıbbi bölümlerde moleküler görüntüleme amacıyla hastalığa yönelik tedavi ve aşı geliştirilmesi amacıyla hayatımıza girmektedir. (Medina *et al.* 2007).

Bitkisel üretimin birçok alanında da NP'lerin kullanımı söz konusudur ve bu kullanımı gelecekte de NP'lerin kullanımı artarak devam edecektir. Nanoparçacıkların, daha düşük dozlarla herbisitlerin ve pestisitlerin etkili olmasının sağlanması istenilmektedir. Nanoparçacıklar; yenilenebilir enerji kaynakları ve katalizörlerin kullanımı ile kirliliği minimize ederek çevreyi korumayı amaçlamıştır (Scott and Chen 2002). Bitki gelişimini, gübrelemeyi, kimyasal ve su kullanımının potansiyel üretiminin verimli şekilde artmasını sağlayacaktır (Rickman *et al.* 2006). Ayrıca zirai atıkların azaltılmasına, çevre kirliliğinin minimum dereceye inmesini mümkün kılabilmesi amaçlanmaktadır. Pamuk, soya fasulyesi, çeltik ve fıstıkta önemli zararlıları karşı geniş yelpazede etkileri olan ürünlerin kullanılması önerilmiştir (Novartis 1997). Bitki hücrelerinde nanopartiküllerin yüzeye bağlanma özellikleri araştırılmış ve özel ekipmana gerek olmadan nanopartikül kimyasalların ve DNA' nın aktarımı gerçekleştirilmiştir (Torney *et al.* 2007). ABD'de demir kaynaklı nanopartiküller, yer altı

suyunu ve bulaşık araziyi temizlemek için kullanılmaya başlamıştır. Plazmid transferi nanopartiküller ile yapılmış ve transgenik bitki oluşumu sağlanmıştır (Christou *et al.* 1998). Karşılaşılan yaygın sorunlardan biri, tüketici memnuniyeti için yiyecek ve içeceklerin ilk günkü kadar tazeliğinin ve kalitesinin korunamamasıdır. Virus ve bakteri bulaşan yiyeceklere rastlamak mümkündür. Nanoteknoloji, teknolojik biyosensörlerin paketlenmesinde ve tasarlanmasında etkili olabilir (Kumari and Yadav 2014).

Wilhelm Hisinger ve Jöns Jacob Berzelius tarafından Seryum (Ce) 1803 yılında İsveç'te demir madeninde bir mineral içerisinde bulunulmuştur.

Seryum (simgesi Ce), atom ağırlığı 140.11, atom numarası 58, atom yoğunluğu 6,77 olan bir elementtir. Erime noktası 799°C, kaynama noktası 3443°C'dir. Element tablosunda 3B grubunda lantanit serisinde yer alan 2. elementtir. Toprakta bulunan nadir elementlerdendir. Gümüşümsü, katı olmayan ve bıçak ile kesilebilen işlenmesi kolay olan elektropozitifliği yüksek bir saf metaldir (Anonim, 2021)

Bu tez kapsamında yapılan çalışma ile Ce₂O₃ nanopartikülleri yeşil sentez yöntemiyle üretilmiş ve bitki doku kültürü çalışmasıyla insan beslenmesinde çok önemli yer tutan buğday bitkisinin in vitro rejenerasyonu üzerine bu nanopartiküllerin etkisi araştırılmıştır.

Bitki doku kültürü, tamamen steril şartlar altında arzu edilen bitkinin organı ya da hücreleri vasıtasıyla tam bir bitki, yeni bir doku veya metabolit eldesi gerçekleştirmek adına yapılan işlemlerin tümüne verilen isimdir. Bu teknikle asıl hedeflenmekte olan bitki rejenerasyonu yani yeni bir bitkinin elde edilmesidir (Purnhauser *et al.* 1987). Buğday (*Triticum aestivum* L.), sahip olduğu besin değeri, işlenme kolaylığı ve yüksek adaptasyon kabiliyeti dolayısıyla, üretim ve ekiliş alanı açısından ilk sıralarda yer almaktadır. Buğday, dünya besin alım döngüsü içerisinde kendisine büyük oranda yer bulabilen bir bitki olması nedeniyle *in vitro* kültürde çalışması yoğun olarak yapılan bir bitkidir (Delporte *et al.* 2014). Dünyada yaklaşık olarak 50 ülkenin temel besini olduğu bilinmektedir. Ülkemizde de buğday ve buğday kaynaklı besinler, tüketilen bitkisel kaynaklı besinlerin %53'ünü oluşturmaktadır. Türkiye kişi başına yaklaşık olarak 250 kg buğday tüketimi gerçekleştirerek bu konu başlığında dünyada ilk sıralarda görülmektedir. Dünyanın %35'lik kısmının temel besin maddesi konumunda olan buğday, pek çok avantajlarından dolayı bugün büyük oranda ekiliş alanına sahiptir. Adaptasyon kabiliyetinin yüksek oluşu, depolama, işleme işlemlerinin kolaylığı, üretim sürecinin karmaşıklığından uzak olması sebeplerinden ötürü buğdayın tercih edilebilirliği son derece yüksektir.

Buğday tanesi insan beslenmesinde son derece önemli bir konuma sahiptir. Sahip olduğu %65-70 nişasta oranının yanında tane içerisinde %8-15 oranında değişen protein ihtivası

da söz konusudur. Bunların yanında bir buğday tanesinde bulunan yağ oranı %1-5 iken, şeker içeriği %1.5-3, içerdiği kül miktarı %1-2, nem oranı ise %11-13 olarak ifade edilmektedir. Bahis edilen içerik oranlarının yanında buğday tanesinde insan ve hayvan beslenmesinde son derece önemli olan vitaminlerin de var olduğu bilinmektedir (Kün 1988).

Buğday yetiştiriciliğinde ve ıslahında var olan problemlerin giderilmesi amacıyla doku kültürü ve biyoteknoloji kaynaklı yöntemlerin kullanımı son derece yaygındır. Buğday *in vitro* kültüründe kallus oluşumu ve rejenerasyon kabiliyetinin bitkinin sahip olduğu genetik bilgiyle birebir ilişkili olduğu unutulmamalıdır (Sehirali vd 1988).

Seryumun bitki büyümesini ve gelişimini uyardığı, çimlenmeyi önemli ölçüde attırdığı ve fidelerin kök gelişimini teşvik ettiği bazı çalışmalarda bildirilmiştir. Ancak nanoparçacık haline getirilen seryumun *in vitro* rejenerasyon sistemine ne tür etkileri olabileceği hakkında literatürde bilgi yer almamaktadır. Bu çalışmanın amacı seryum parçacıklarının *in vitro* rejenerasyon sistemi içerisinde önemli yer tutan kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu parametrelerine olası etkilerine buğday embriyo kültürü kullanarak belirlemektir.

KAYNAK ÖZETLERİ

Bitki doku kültürü, kontrollü ve aseptik şartlar altında, yapay besi ortamı kullanarak bitki hücrelerinin veya bitki kısımlarının büyümesine ve yeni bitkilerin rejenere edilmesine yönelik geliştirilmiş bir sistemdir. Sitoloji, embriyogenez, morfogenez, beslenme, patoloji ve germplazmanın korunması, genetik manipülasyon, büyük ölçekli klonal çoğaltma ve patojen içermeyen bitkiler ve faydalı metabolitlerin üretimi gibi bitki biyolojisinin temel ve uygulamalı alanları için önemli bir tekniktir (Thorpe 2007). Genetik transformasyon ve çoklu çoğaltım için verimli bir bitki rejenerasyon protokolü olmak zorunludur. İn vitro bitki kültürünün başarısı, genotip, donör bitkilerin fizyolojik durumu, eksplantların tipi, yüzey strelizasyon yöntemleri, kültür ortamı, bitki büyüme düzenleyicileri, spektral, ışık yoğunluğu kalite foto-periyod ve sıcaklık gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Sivanesan and Park 2015). Kültür ortamının bileşimi, eksplantların morfogenetik potansiyelini öneli bir şekilde etkilemektedir. Ortam genellikle makro ve mikro besin maddeleri, amino asitler, organik takviyeler, vitaminler, karbon kaynakları, bitki büyüme düzenleyicileri ve katılaştırıcı maddelerden oluşur. Kültür ortamındaki mineral elementlerin optimizasyonu eksplantların büyümesini ve morfogenezini artırır. Ayrıca bu minerallerin optimizasyonu hücre ve organ kültürlerindeki hücre proliferasyonunu, organogenezini, somatik embriyogenezini, sürgün kalitesini ve biyoaktif bileşik içeriğini geliştirmektedir (Thorpe 2007)

Nanoteknoloji, 100 nm'ün altındaki uzunluk ölçeklerinde malzemelerin incelenmesini ve onları amaçları doğrultusunda manipüle edilmesini içermektedir. Günümüzün nanoteknolojisi yapıları nanometre ölçeğinde belirlendiği için benzersiz özelliklere sahip yeni malzemeler oluşturmak için kimya, fizik, malzeme bilimi ve biyoteknoloji alanında ki gelişmeleri kullanmaktadır. Bu malzemelerden bazıları güneşten koruyucular, leke tutmayan boyalar ve tekstil ürünleri gibi tüketicilerin sıklıkla kullandığı ürünler arasına girmiştir. Diğerleri, insanlığın en büyük sorunlarından olan hastalıklar, temiz enerji, temiz su ve daha temiz bir çevre gibi problemlere çözüm bulmak için yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Nanomalzemelerin dikkate değer uygulamalarından bazıları ise şunlardır: kozmetikler (örneğin radyasyon emici özelliklere sahip güneş koruyucu losyonlar); nanokompozitlerin mekanik özelliklerini geliştirmek ve yeni özellikler (optik, elektronik vb.) vermek için güçlendirilmiş olarak nanokompozit malzemeler ve nanotüpler; bir nanomateryalin nanometre kalınlığının aşınma ve çizilmeye karşı direnç, optoelektronik özellikler ve hidrofobik özellikler vb. geliştirmek için kullanılabildiği nano kaplamalar; gelişmiş aşınma ve erozyon direncine sahip

olan geleneksel dökme malzemelerinden daha uzun süre dayanan tungsten karbür, tantal karbür ve titanyum karbür gibi metal nanokompozitler kullanan sert kesme aletleri; monitörler ve televizyonlar için karbon nanotüpleri emisyon cihazları olarak kullanan ekranlar (FED'ler: kaynak emisyon ekranları); hafif, yüksek enerjili yoğunluklu piller; yakıt katkı maddeleri ve katalitik olarak verimli malzemeler; yağlayıcılar olarak nanoküreler; veri depolama cihazlarında nano ölçekli manyetik malzemeler; su arıtımı için nanoyapılı membranlar; ve son ve en önemli olarak bu nanomalzemeler nanoelektronik, nanobiyoteknoloji ve nanotıp içine girmiş bulunmaktadır (Keren *et al.* 2003; Pankhurst *et al.* 2003; Parak *et al.* 2003; Yan *et al.* 2003; McGovern 2010; Dong *et al.* 2014; Kerativitayanan *et al.* 2015).

Bitki doku kültüründe, nanoteknolojinin kullanımına dair çok sayıda olumlu rapor vardır. Nanopartiküller (NP'ler) tohum çimlenmesini iyileştirmek, bitki büyümesini ve verimini arttırmak, bitki genetik modifikasyonunu sağlamak, biyoaktif bileşik üretimini geliştirmek ve bitkiye koruma sağlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Wang *et al.* 2016; Ruttkay-Nedecky *et al.* 2017).

Domates tohumlarına silikon dioksit (SiO₂) uygulanması ile yapılan çalışmada NP'lerin tohum çimlenmesi ve fide büyümesinin yüzdesini arttırdığı tespit edilmiştir (Siddiqui and Whaibi 2014). Altın kaplı mezoporlu silikalı NP'ler ile tütün protoplastlarına, hücrelerine ve yapraklarına DNA taşınmıştır (Torney *et al.* 2007). Meyan fidelerine yapılan NP bakır oksit (CuO) ve çinko oksit (ZnO) işlemi antosiyaninler, avonoidler, glisirizin, fenolik bileşikler ve tanenlerin içeriğini arttırdığı gözlenmiştir (Oloumi *et al.* 2015). Silika-gümüş NP'lerin çeşitli bitki patojenlerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları bildirilmiş, silika gümüş NP'lerin enfekte olmuş kabağın yeşil aksamalarına uygulanmasından sonra küllenmenin kontrol edilmesi için uygulanabilir olduğu ortaya koyulmuştur (Park *et al.* 2006).

Bitki doku kültüründe mikrobiyal kontaminasyon ciddi bir sorundur. Mikrobiyal kontaminasyon kaynakları içerisinde eksplantların kendileri ve kullanılan laboratuvar yer almaktadır (Leifert *et al.* 1994). Eksplantların yüzey sterilizasyonu, in vitro kültür başlangıcından önce önemli bir adımdır çünkü mikroorganizmalar doku kültürü ortamlarında eksplantlardan daha hızlı büyürler ve kültür başlangıcını ciddi şekilde etkileyebilirler. Kalsiyum hipoklorit (CaOCl), etanol (EtOH), hidrojen peroksit (H₂O₂), sodyum hipoklorit (NaOCl), merkürük klorür (HgCl₂), gümüş nitrat (AgNO₃), antibiyotikler ve fungusitler gibi çeşitli sterilizasyon ajanları steril eksplantlar elde etmek için sıklıkla kullanılmaktadır (Leifert *et al.* 1994). Dezenfektanların konsantrasyonu ve kullanılırken maruz kalma süreleri eksplantların kalitesini etkilemektedir. Ayrıca, endojen bakterileri yok etmek çok zordur ve bu nedenle, bakterileri öldürmek veya bakteri üremesini önlemek için kültür ortamına çeşitli antibiyotikler

ve AgNO_3 dahil edilmektedir (Leifert and Cassells 2001). Bununla birlikte, çeşitli bitki türlerinin hücre, doku ve organ kültürlerine antibiyotiklerin uygulanmasından sonra ki fitotoksitesi de rapor edilmiştir (Leifert *et al.* 1992; Leifert and Cassells 2001; Teixeira *et al.* 2003; Qin *et al.* 2011; Tambarussi *et al.* 2015). Bazı dezenfekte edici ajanlar eksplantlardaki kontaminantları ortadan kaldıramadıkları gibi fitotoksiteleri nedeniyle organogenezi etkilemişlerdir. Metal ve metal oksit NP'lerin çeşitli mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasında yararlı olduğu kanıtlanmıştır (Wang *et al.* 2017). Gümüş (Ag), alüminyum oksit (Al_2O_3), CuO, demir oksit (Fe_3O_4), altın (Au), magnezyum oksit (MgO), nikel (Ni), silikon (Si), SiO_2 , titanyum dioksit (TiO_2) ve ZnO'nun çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu bildirilmiştir (Beyth *et al.* 2015). Abdi *et al.* (2008), *Valeriana officinalis*'te bakteriyel kontaminasyonu kontrol etmek için ilk kez Ag NP'leri kullanmış, serada yetiştirilen bitkilerden elde edilen tek boğum eksplantları, 1 dakika boyunca % 70 EtOH, 1 dakika boyunca % 10 Clorox ve daha sonra 180 dakika boyunca 100 mg L^{-1} Ag NP'leriyle yüzey dezenfekte edilmiş; bu işlemle % 89 oranında kontaminasyon içermeyen kültürler elde edilmiştir. Ayrıca, Ag NP uygulaması sürgün çoğalmasını ve köklenmeyi ise etkilememiştir. Benzer şekilde, *Vitis vinifera*'nın yaprak eksplantları, 30 saniye boyunca % 95 EtOH ve 20 dakika boyunca 1000 mg L^{-1} Ag NP'leri ile dekontamine edildiği bildirilmiştir (Gouran *et al.* 2014).

Mahna *et al.* (2013) Ag NP tedavisi uygulanmış, Arabidopsis tohumlarının, patates yapraklarının ve domates kotiledonlarının yüzey dezenfeksiyonu üzerindeki etkilerini belirlemeye çalışmışlardır. Eksplantların 100 mg L^{-1} Ag NP'leri ile 1 veya 5 dakika süreyle uygulanmasından sonra tohumların, yaprakların veya kotiledonların dekontamine edilmesi (% 100) için ideal olduğu ve bu uygulamanın eksplantın canlılığı üzerinde hiçbir yan etkisi bulunmadığı belirtmişlerdir. Fakat daha yüksek Ag NP konsantrasyonları uygulanmasıyla tohum çimlenmesi ve yaprak ve kotiledonun canlılığının azaldığı da tespit edilmişlerdir. İn vitro kültürlerde, odunsu bitkilere bulaşmış mikroplardan arındırılma işlemi çok zordur.

NP'lerin antibakteriyel özelliği yeni bir konsept olmamakla beraber; en bilinenleri ise Ag NP'leri, TiO_2 NP'leri ve ZnO NP'leri olmak üzere NP'lerin en iyi çalışılmış ve başarılı olanlarıdır (Maness *et al.* 1999; Heinlaan *et al.* 2008; Allahverdiyev *et al.* 2011; Baek and An 2011; Soenen *et al.* 2011; Applerot *et al.* 2012; Guzman *et al.* 2012;). Bitki doku kültürlerinde mikrobiyal kontaminantların giderilmesinde NP'lerin etkinliği boyutlarına, boyutlarına, dağılımlarına ve tiplerine bağlıdır. Ayrıca, farklı bitki türlerinden elde edilen eksplantlar üzerinde farklı tür ve düzeylerde NP'lerin fitotoksite olmadan veya minimum olacak en iyi

dozu belirlemek için araştırılması önemli bir konudur. NP'lerin etkinliği, sterilizasyon ajanları veya antibiyotiklerle birleştirildiklerinde sinerjistik etkileri daha da iyi hale getirilebilir.

Birçok çalışma ile NP'lerin kallus indüksiyonu, sürgün rejenerasyonu ve büyümesi üzerinde olumlu etkileri olduğu ortaya konulmuştur. *Tecomella undulata*'da, kök eksplantları 10 mg L^{-1} Ag NP, 2.5 mg L^{-1} BAP ve 0.1 mg L^{-1} IAA ile büyütülmüş MS ortamında kültüre alındığında sürgün oluşum yüzdesi, sürgün sayısı ve kallus oluşumu artmıştır (Aghdaei *et al.* 2012). Ag NP'lerin organogenez üzerindeki olumlu etkileri etilen üretiminin inhibisyonundan kaynaklanabileceği tespit edilmiştir. *T. undulata*'nın nodal eksplantları 60 mg L^{-1} Ag NP, 2.5 mg L^{-1} BAP ve 0.1 mg L^{-1} IAA ile zenginleştirilen MS ortamında kültüre alındığında sürgün sayısı, oluşan sürgünlerin uzunluğu ve üretilen sürgünlerin yüzdesi ise önemli ölçüde artmıştır (Sarmast *et al.* 2015). Ayrıca, Ag NP uygulaması TuACS geninin aşağı regülasyonu, explantların aşırı olgunlaşmasını geciktirmiş ve hayatta kalma oranını arttırmıştır. Bununla birlikte, daha yüksek konsantrasyonlarda (60 mg L^{-1} 'in üzerinde) sürgün rejenerasyonu üzerinde olumsuz etkisi görülmüştür. Sharma *et al.* (2012), Ag NP'lerin 50 mg/L 'de MS bazal ortamına katılmasının, *Brassica juncea* fidelerinin büyüme özelliklerini geliştirdiğini bildirmiş ve hidrojen peroksit, malondialdehit (MDA) ve prolin içeriğini, antioksidan enzimleri aktive edilmesiyle azaltmıştır. Bununla birlikte, daha yüksek Ag NP konsantrasyonlarının ($100\text{-}400 \text{ mg/L}$) fide büyümesi üzerinde zararlı bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. *Brassica nigra*'da, MS kültür ortamına ZnO NP'leri ($500\text{-}1500 \text{ mg/L}$) ilave etmek tohum çimlenmesini önemli ölçüde azaltmıştır. ZnO NP'lerin varlığında ise sürgün ve kök uzunlukları önemli ölçüde etkilenmiştir. Öte yandan, $1\text{-}20 \text{ mg L}^{-1}$ ZnO NP içeren MS ortamı üzerinde *B. nigra*'nın kök eksplantlarının büyümesi, kök oluşumuyla sonuçlanmıştır (Zafar *et al.* 2016). Au NP'lerin MS bazal ortamına eklenmesinin *Arabidopsis thaliana*'da tohum çimlenme oranını ve fide gelişimini arttırdığı gözlemlenmiştir (Kumar *et al.* 2013). 10 mg mL^{-1} Au NP'lerle uygulanan bitkilerde ise kapsül uzunluğu ve tohum sayısı fazla olduğu bildirilmiştir. Au NP'lerle uygulaması ile antioksidan enzim aktivitesini geliştirilerek *A. thaliana*'da mikro RNA'ların (miR398 ve miR408) ekspresyonunda bir azalmaya yol açtığı ortaya konmuştur. Bu fizyolojik ve moleküler farklılıklar Au NP'lerin faydalı etkilerinden kaynaklanıyor olabilir. MS ortamına 5 mg L^{-1} bakır sülfat (CuSO_4) NP'nin dahil edilmesi ile elde edilen sonuçlara göre *Verbena bipinnati* bitkisinde sürgün uzunluğunu (kontrol üzerinde % 52), kök uzunluğunu (kontrol üzerinde % 21) ve taze ağırlığı (kontrol üzerinde % 39) önemli ölçüde artırmıştır (Genady *et al.* 2016). Modifiye MS ortamına eklenen 0.5 mg L^{-1} Cu NP ve 0.8 mg L^{-1} Co NP ile *Mentha longifolia* bitkisinde sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve köklenmenin arttığı gözlemlenmiştir (Talankova-Sereda *et al.* 2016). *Stevia rebaudiana*'nın nodal eksplantlarının, 1 mg L^{-1} ZnO NPS eklenmiş MS ortamına üzerinde kültüre alınması ile en yüksek sürgün oluşumu (% 89.6) elde edilmiştir (Javed *et al.*

2017). Spinoso-Castillo *et al.* (2017), Ag NP'lerin (Argovit, ticari bir ürün) kök yenilenmesi üzerinde daldırma biyoaktör sistemi le hormesis etkilerine bakmışlardır. En fazla sürgün sayısı, sırasıyla 14.33 ve 14.89 değerleri ile 25 veya 50 mg L⁻¹ Ag NP'leri ile takviye edilmiş MS ortamında elde edilirken, 200 mg/ L ile takviye edilmiş MS ortamında en az sürgün sayısı (4.55) gözlenmiştir. Domates bitkilerinde, 15 mg L⁻¹ ZnO NP ve 3.0 g L⁻¹ NaCl içeren ortamda ki kallus büyümesi ve bitki rejenerasyonu maksimuma çıkarıldığı gözlemlenmiştir (Alharby *et al.* 2016). ZnO NP'ler, GPX ve SOD gibi antioksidan enzim oranlarında artışı regüle ederek NaCl'nin etkilerini azalttığı tespit edilmiştir. Köpek üzümü bitkisine uygulanan 5 mg L⁻¹ BA, 3 mg L⁻¹ NAA ve 8 mg ile arttırılmış MS ortamında kallus oluşumu oranı (% 89) ve kallusun taze ağırlığının (yaprak eksplant başına 4.67 g) arttırıldığı gözlenmiştir (Ewais *et al.* 2015). Ghorbanpour and Hadian, (2015) ise çok duvarlı karbon nanotüplerin (25-500 mg mL⁻¹) *Satureja khuzestanica*'nın yaprak eksplantlarından kallus indüksiyonu üzerindeki etkisini araştırmış, 25-50 mg mL⁻¹ miktarı eklenmiş B5 ortamında kallus gelişmesi önemli önemli oranda gözlenmiştir. Bununla birlikte, 100-500 mg mL⁻¹ oranında ise çok duvarlı karbon nanotüplerin varlığı kallus biyokütlesini azaltığı tespit edilmiştir. 100 mg mL⁻¹ oranında çok duvarlı karbon nanotüplerin 1 mg L⁻¹ 2,4-D içeren bir ortama eklenmesiyle, tütün eksplantlarının kallus büyümesini arttırdığını (kontrole göre % 64 artış) bildirdirmişlerdir (Khodakovskaya *et al.* 2012). Karbon nanotüpleri kullanımı, hücre bölünmesi (CycB), hücre duvarı uzantısı (NtLRX1) ve su taşınmasında görev yapan (NtPIP1) genlerin düzenlenmesi ile kallus gelişimini arttırdığını ortaya konmuştur. Bununla birlikte, (10-600 mg L⁻¹) karbon nanotüp uygulamasının *Arabidopsis*'te hücre canlılığını ve kuru ağırlığını azalttığı görülmüştür (Lin *et al.* 2009). Benzer şekilde, çeltik hücresi süspansiyon kültürlerine karbon nanotüplerin eklenmesi ile de hücre canlılığını azaldığı gözlenmiştir (Tan *et al.* 2009). MS ortamında karbon NP'lerinin varlığı ise keten bitkisinde kallus indüksiyon sıklığını azaltmıştır (Kokina *et al.* 2012). On kenarlı (45±5 nm), küresel (8±2 nm) ve üçgen (47±7 nm) gibi Ag NP 'nin üç farklı morfolojisinin *Arabidopsis* bitkisinde fide büyümesi, gen ekspresyonu ve fizyolojik değişiklikleri üzerindeki etkilerini araştırmıştır (Syu *et al.* 2014). Fideler üçgen veya onkenarlı Ag NP'lerle kök büyümesi arttırılırken, küresel Ag NP uygulamasının bir etkisi gözlenmemiştir. Aynı zamanda, Ag NP tedavisinin, antioksidan enzimlerin içeriğini ve oksin, absisik asit ve etilenin biyosentezinde yer alan genlerin ekspresyonunu değiştirdiği bildirilmiştir.

Poborilova *et al.* (2013) tütün hücresi süspansiyon kültürlerine Al₂O₃ NP'lerin (10-100 mg mL⁻¹) ilave edilmesinin, reaktif oksijen (ROS) ve azot türlerinin (RNS) üretimi yoluyla hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Yarım kuvvetli MS ortamında 250 mg L⁻¹ seryum oksit (CeO₂) ve 50-500 mg L⁻¹ indiyum oksit (In₂O₃) varlığı *Arabidopsis thaliana* fidelerinin biyokütlesini önemli ölçüde arttırdığı (Ma *et al.* 2013), fakat fide büyümesi azaldığı

ortaya konmuştur. *Arabidopsis*'te fideler $250 \text{ mg L}^{-1} \text{ CeO}_2$ ve $1000 \text{ mg L}^{-1} \text{ In}_2\text{O}_3$ 'e maruz bırakıldığında, bitkilerde net oksidatif stres gösteren ROS üretiminin önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (Ma *et al.* 2016). Muz eksplantlarında, $100 \text{ mg L}^{-1} \text{ Zn}$ NPs ardından ZnO NP'ler ile artırılmış MS ortamında maksimum somatik embriyogenez sıklığı gözlenmiştir. Her iki NP de MS ortamına eklenirken sürgün ve kök uzunlukları da artmıştır (Helaly *et al.* 2014). Fakat, bununla birlikte, daha yüksek konsantrasyonlar ise kallus büyümesini azaltmış ve antioksidan enzim aktivitesini arttırmıştır (Anwaar *et al.* 2016). CuO NP'ler ($15\text{-}20 \text{ mg L}^{-1}$) takviyesinin çeltik çeşitlerinde organogenezi arttırdığını bildirmiştir. *Daucus carota*'da Fe_3O_4 içeren MS ortamında hücre proliferasyonu ve somatik embriyo sayısı azaldığı görülmüştür (Giorgetti *et al.* 2011).

Farklı bir genin bitki hücrelerine, dokularına ve organlarına iletilmesi ve transferi için elektroporasyon, partikül bombardımanı (doğrudan) ve *Agrobacterium* (dolaylı) yöntemleri kullanılır. Elektroporasyon tekniği genlerin protoplastlara aktarılmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Ancak, protoplastların izolasyonu ve rejenerasyonu oldukça güçtür. $10 \text{ mg L}^{-1} \text{ Ag}$ NP'nin yaprak inkübasyon tamponuna ilave edilmesi ile tütündeki canlı protoplast verimini arttırdığını bildirmiştir (Bansod *et al.* 2015). Bu, protoplast izolasyonu sırasında selüloolitik enzimlerin neden olduğu hasarı en aza indirmeye ve protoplast izolasyonunda kısıtlayıcı olan maliyetin düşürülmesine yardımcı olur.

Pasupathy *et al.* (2008), Poli (amidoamin) dendrimer NP'leri kullanarak bitkilerde yeni bir gen değiştirme (transfer) yöntemi geliştirmişlerdir. Araştırmacılar başarıyla yeşil floresan protein (GFP) kodlayan plazmid DNA'yı çim bitkisi hücrelerine aktarmış, bu transfeksiyon kültür ortamının pH'nı ve plazmid DNA da dendrimerin molar oranını optimize edilmesini sağlayarak başarı oranını daha da arttırıldığı belirtilmiştir. GUS genini *Brassica juncea*'ya taşıyan pCambia 1301'i transfer etmede kalsiyum fosfat (CaP) NP'lerini kullanmışlardır. En iyi genetik değişim başarısı CaP NP'leri (% 80.7), ardından *Agrobacterium tumefaciens* (% 54.4) ve çıplak DNA (% 8) ile gözlemlenmiştir (Naqvi *et al.* 2012). Son zamanlarda Ardekani *et al.* (2014), CaP NP'lerinin GFP genini barındıran pBI121 tütün hücrelerine transferini bildirmiş. Mezofor silika NP'ler, tütün protoplastlarına ve bozulmamış *Arabidopsis* köklerine plazmid DNA iletmek için kullanılmıştır (Chang *et al.* 2013). Manyetik Au NP'ler, plazmit DNA'sını kanola ve havuç bitkilerinin hücrelerine ve protoplastlarına iletebildiği gözlemlenmiştir (Hao *et al.* 2013). Bitkilerde NP aracılı gen iletimi, bitki nano-biyoteknolojisinde büyük öneme sahiptir.

İn vitro gelişmiş organlarda ve fidelerde gözlemlenen değişikliklere somaklonal varyasyon denir. Bu olay genellikle kromozom sayısı, kromozom yapısı, DNA sekansı, DNA

metilasyonu, mitotik çaprazlama ve transpoze edilebilir faktörlerin aktivasyonu ile ilişkilidir (Bairu *et al.* 2011; Sivanesan and Jeong 2012). Somaklonal varyasyonun bitki doku kültüründe hem avantajları hem de dezavantajları vardır. Varyantlar, bitki boyutu, çiçek rengi, yaprak renklenmesi, meyve olgunlaşması, ikincil metabolit üretimi ve biyotik ve abiyotik streslere direnç gibi çeşitli yararlı özelliklere sahiptir (Jeong and Sivanesan 2015). Birçok çalışma, esas olarak daha yüksek seviyelerde uygulanan NP'lerin fitotoksitesini göstermiştir. NP tedavileri mitotik indeksi ve DNA bütünlüğünü etkiler ve bitkilerdeki protein ve DNA ekspresyonunu değiştirirler (Atha *et al.* 2012; Landa *et al.* 2015; Tripathi *et al.* 2017). *L. usitatissimum calli*'deki ploidi düzeyi, C NP'leri içeren MS ortamından önemli ölçüde etkilendiği gözlenmiştir (Kokina *et al.* 2012). C NP'lerin takviyesi tetraploid hücre sayısını artırmıştır. DNA metilasyon seviyesi, C NP'leri olan ortam üzerinde büyütülen *calli*'de de daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Au ve Ag NP'lerin *L. usitatissimum*'daki somaklonal varyasyon üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Somaklonal varyasyon oluşumu, hem NP hem de rejenere edilmiş sürgünlerde Au NP'ler içeren ortamda Ag NP'lerden daha yüksek olduğu belirtilmektedir (Kokina *et al.* 2017). Doku kültürü ortamına Ag NP'lerinin eklenmesinin, *Solanum nigrum calli*'de protein ve DNA profilini değiştirerek kallus morfolojisi ve anatomisinde değişiklik yarattığını bildirilmiştir (Ewais *et al.* 2015).

Bitkiler, ilgili ortamlarında bitkilerin hayatta kalmasında önemli bir rol oynayan çeşitli biyoaktif ikincil metabolitlerce zengin bir kaynaktır. In vitro bitki hücresi ve organ kültürünün sekonder metabolitlerin üretimi için avantajlı olduğu kanıtlanmıştır. Hücre ve organ kültürlerindeki ikincil bileşiklerin içeriği, kültür ortamının bileşiminin optimize edilmesi, öncüllerin ve elisitörlerin dahil edilmesi ve uygun kültür koşullarının sağlanmasıyla önemli ölçüde arttırılmıştır (Hussain *et al.* 2012; Jeong and Sivanesan *et al.* 2015; Sivanesan *et al.* 2016; Sivanesan *et al.* 2016). In vitro kültür ortamına bitkiye eklenen NP'ler besin kaynağı ve elisitor görevi görür.

MATERYAL VE YÖNTEM

Nanoparçacıkların Sentezlenmesi

Bitki örneğinin toplanması ve bitki ekstresinin hazırlanması

Bu çalışmada yeşil sentez yöntemiyle Ce_2O_3 NP'leri ceviz kabuğu ekstresi kullanılarak sentezlenmiştir. Ceviz kabukları, Türkiye'nin Erzurum'un Tortum ilçesi yakınlarında toplanmıştır. Toplandıktan kısa bir süre sonra bitkiler, kabuklar üzerindeki tozu ve toprağı temizlemek için birkaç kez damıtılmış su ile yıkandı. Yaklaşık (25 g), küçük parçalar 250 mL, 10 mM sodyum fosfat tamponu (pH: 6.0) kullanılarak öğütücü içinde homojen bir karışım oluşturmak için iyice parçalandı. Daha sonra önceden hazırlanmış örnekler 5000 g'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant daha sonraki yeşil sentezde kullanılıncaya kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı (Nadaroglu *et al.* 2017).

Yeşil Nano sentez ile Ce_2O_3 nanopartiküllerin sentezi

Yeşil sentez yöntemi ile nanopartiküllerin sentezi için 0,1 M $Ce(NO_3)_3$ kullanılmıştır. 100 mL 0,1 M lık $Ce(NO_3)_3$ üzerine 10 mL ceviz ekstraktı reaksiyon ortamına ilave edildi ve 24 saat boyunca reaksiyonun gerçekleşmesi takip edildi. Sonrasında oluşan nanopartiküller süpernatanttan ayrılarak ilk önce saf su ardından etanol ile yıkanarak safsızlıklar uzaklaştırılmıştır (Anantharaman *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2016; Karaduman *et al.* 2017; Nadaroglu *et al.* 2017)

Yeşil Nano sentez ile Ce_2O_3 nanopartiküllerin karakterizasyonu

UV-vis spektrofotometre (Epoch™ Mikroplaka Spektrofotometre) kullanılarak reaksiyon oluşumu ve reaksiyon şartlarının optimizasyonu yapılmıştır. Optimum şartlarda sentezlenen Ce_2O_3 nanopartiküllerin karakterizasyonu FT-IR, XRD ve SEM teknikleri kullanılarak yapılmıştır (Nadaroglu *et al.* 2017)

Bitki Materyali

Bu çalışmada, iki ekmeklik buğday çeşidi kullanılmış ve çeşitlerle ilgili bazı tarımsal özellikler Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Araştırmada Kullanılan Ekmeklik Buğday Çeşitleri

ÇEŞİT	TARIMSAL ÖZELLİKLER
KIRİK	Alternatif karakterli bir çeşittir. Kışlık ekimlerde kıraç, yazlık ekimlerde sulu şartlar için önerilmektedir. Soğuk ve kurak şartlara karşı orta dayanıklıdır. Kardeşlenme özelliği çok iyi olup, orta erkenci bir çeşittir.
RUMELİ	Yüksek verimli bir çeşittir. Soğuğa ve kuraklığa dayanıklıdır. Kardeşlenme kapasitesi yüksektir. Hastalıklara orta dayanıklıdır.

Kimyasallar*Temel besi ortamı*

Kallus oluşumu ve somatik embriyogenesis çalışmalarında Murashige and Skoog (1962) tuzları kullanılmıştır. Murashige and Skoog (MS) ortamının içerdiği kimyasallar ve miktarları Tablo 2’de verilmiştir.

Sterilizasyon için kullanılan kimyasallar

Etil alkol (%70) ve %1’lik sodyum hipoklorit (% 50 lik çamaşır suyu) .

Tablo 2. MS Ortamı İçerisinde Yer Alan Makro ve Mikro Elementler

Bileşik	Konsantrasyon (mg/L)
Makro Elementler	
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
Mikro Elementler	
H ₃ BO ₃	6.2
MnSO ₄ .H ₂ O	15.6
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
KI	0.83
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA	37.3
Vitaminler	
Glycine	2
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine HCL	0.5
Thiamine HCL	0.1
Myo-inositol	100

Ayrıca MS temel besi ortamına koyulacak seryum nanoparçacığı 4 farklı doz için 1,3,5,7 mg/l olarak belirlendi.

Yöntem

Yapılan bu çalışmada, farklı konstrasyonlardaki seryum nanoparçacıklarının buğday in vitro kültürdeki etkisi incelenmiştir. Bu amaç ile 2 ekmeklik buğday çeşidinin (Kirik ve Rumeli) endosperm destekli olgun embriyolarının kallus ve rejenerasyon gelişimi takip edilmiştir.. Bunun için seryum nanoparçacıklarının 5 farklı dozda (0 mg/l (kontrol), 1 mg/l, 3 mg/l, 5 mg/l , 7 mg/l) içeren besi ortamlarında eksplantlar kültür ortamına alınmıştır. Çalışmamızda bitki rejenerasyonu için MS besi ortamı kullanılmıştır. Her bir petri kabına 20 adet olgun buğday embriyosu eksplant olark eklenmiştir. Her bir petri kabı deneme ünitesi olarak değerlendirilmiş ve 4 tekrerrürden oluşmuştur. 1 ay boyunca büyütme kabininde bekledikten sonra oluşan kallus ve somatik embriyo ile ilgili parametreler ölçülmüştür. Meydana gelen kalluslar bitki rejenerasyon ortamına aktarılmış ve bir ay sonra rejenerasyon ile ilgili parametrelerin (kök, sürgün ve bitkicik oluşumu) ölçümü gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler varyans analizine ve çoklu karşılaştırma metodlarına tabi tutulmuştur. Çalışmanın yürütülmesi esnasındaki işlemler aşağıda verilmiştir.

Uygulanan sterilizasyon teknikleri

Uygulamanın yapıldığı çalışma ortamı ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu

Bitki doku kültürü çalışmalarında kullanılan steril kabin içi, çalışma yapılmadan en az 10-15 dk önce %70'lik etil alkol ve sirke ile temizlenerek, UV lambası ile sterilize edilmiştir. Çalışmadan önce en az yarım saat açık kalan UV lambası, çalışmaya başlamadan hemen önce kapatılarak kültüre alma işlemlerine başlanmıştır. Bistüri, pens gibi doku kültüründe kullanılan aletler %70'lik alkole batırılıp, aleve tutularak yüzeyleri sterilize edilerek kullanılmıştır. Eksplant kesimi için kullanılacak olan 10x15 cm niteliklerindeki kurutma kağıtları ise alüminyum folyo içerisine sarılarak otoklavda sterilize edilmiştir.

Çalışmada kullanılan tohumların yüzey sterilizasyonu

Bitki doku kültüründe kullanılacak olan tohumlar, ön temizlik amacıyla musluk suyuyla yıkanmıştır. Ardından tohumlar 1 saat suda bekletilerek embriyosu kesilecek kadar yumuşaması sağlanmıştır. Daha sonra %70'lik etil alkolde 5 dakika süreyle çalkalayıcı cihazında karıştırılması suretiyle muamele edilmiştir. Ardından steril kabin içerisinde alkolden çıkarılan tohumlar 3 defa steril saf su ile durulanmış, akabinde %1'lik sodyum hipoklorit (%50'lik ticari çamaşır suyu) çözeltisinde 20 dakika süreyle çalkalanarak sterilizasyon işlemi

gerçekleştirilmiş ve steril kabin içerisinde tohumlar 3 defa steril saf su ile durulanarak işlem sonlandırılmıştır.

Kullanılan besi ortamı ve bitki büyüme düzenleyicilerinin sterilizasyonu

105 kPa basınç ile 121°C’de 20 dakika süreyle otoklavda bekletilerek besi ortamlarının sterilizasyonu sağlanmıştır. Yüksek sıcaklıklar dolayısıyla yapılarında bozulmalar meydana gelebilecek organik moleküllerin (vitaminler, bitki büyüme düzenleyicileri vs.) sterilizasyon işlemleri 0.22 µm çapında porlara sahip olan selüloz nitrat filtreler yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

Sterilizasyonda kullanılan solüsyonların hazırlanması

%70’lik Etil Alkolün Hazırlanması

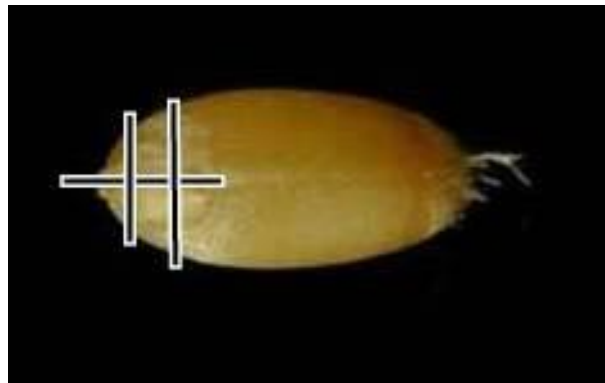
%96’lık saf etil alkolden alınan 700 mL alkolün hacmi 960 mL’ye tamamlanarak elde edilmiştir.

%1’lik sodyum hipoklorit solüsyonunun hazırlanması

%5 NaOCl (Sodyum Hipoklorit) içeren ticari bir marka olan ACE çamaşır suyundan 200 mL alınmış ve son hacim saf su kullanılarak bir litreye tamamlanmıştır. Elde edilen solüsyon amber şişeye doldurularak oda sıcaklığında saklanmıştır.

Uygulamada kullanılan eksplantın elde edilişi

Çalışmada kullanılan embriyolara tohum üzerinden şekildeki gibi kesikler atılmıştır. Embriyoların alındığı bölgeler Şekil 1’de gösterilmiştir.



Şekil 1. Çalışmada kullanılan buğday embriyosunun alındığı bölge

Çalışmada kullanılan temel besi ortamı ve bitki rejenerasyonu için stok solüsyonunun hazırlanışı

Kullanılan MS makro elementlerin stok solüsyonunun hazırlanışı

- Besi ortamının 1 litresinde bulunması gerekli makro elementlerin miktarlarının 10'ar katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.
- Tartılan makro elementler, içerisinde 200 ml steril saf su bulunan ve bir manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 2 litrelik bir erlenmayer kabına sırasıyla ilave edilmiştir.
- İlave edilen makro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi bir litreye tamamlanmıştır.
- Çözelti amber şişeye aktarıldıktan sonra, şişe üzerine hazırlanma tarihi ve hangi besi ortamına ait element çözeltisi olduğu ve konsantrasyonu (10X) belirtilen etiket yapıştırıldıktan sonra, muhafaza edilmek üzere buzdolabına (4°C) yerleştirilmiştir.

MS mikro elementlerin stok solüsyonunun hazırlanışı

- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ hariç besi ortamının 1 litresinde bulunması gerekli mikro elementlerin miktarlarının 100'er katı hassas bir terazi ile tartılmıştır.
- Tartılan mikro elementler, içerisinde 200 ml bidistile su bulunan ve bir manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 2 litrelik bir erlenmayer kabına sırasıyla ilave edilmiştir.
- İlave edilen mikro elementler su içerisinde iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi bir litreye tamamlanmıştır.
- Çözelti amber şişeye aktarıldıktan sonra, şişe üzerine hazırlanma tarihi ve hangi besi ortamına ait element çözeltisi olduğu ve konsantrasyonu (100X) belirtilen etiket yapıştırıldıktan sonra, muhafaza edilmek üzere buzdolabına (4°C) yerleştirilmiştir.

Demir şelatın hazırlanışı

- Besi ortamının bir litresinde bulunması gerekli olan $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ miktarlarının 100 katı olan 2,78 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve 3,726 g $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ hassas terazide tartılmıştır.
- 3,726 g $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, içerisinde 350 ml bidistile su bulunan ve bir manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 1 litrelik erlenmayer kabına ilave edilmiş ısıtılarak

- İlave edilen vitaminler su içerisinde iyice çözdürüldükten sonra, kabın altına 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- Hazırlanmış vitamin çözeltisi üzerine hazırlanma tarihi ve kullandığı ilaçlar yazıldıktan sonra, amber renkli cam şişe içerisinde buzdolabında saklanmıştır.

- Besi ortamının bir litresinde bulunması gerekli olan vitamin miktarlarının 100 katı 100 ml'lik stok solüsyon için hesaplanmış ve buna göre hassas terazide tartılmıştır.
- Tartılan vitaminler içinde 30 ml bidistile su bulunan ve bir manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 250 ml'lik erlenmayer kabına sırasıyla ilave edilmiştir.
- İlave edilen vitaminler su içerisinde iyice çözdürüldükten sonra, karışımın hacmi 100 ml'ye tamamlanmıştır.
- Hazırlanmış vitamin çözeltisi üzerine hazırlanma tarihi ve konsantrasyonu yazıldıktan sonra, amber renkli cam şişe içerisinde buzdolabında (4°C) saklanmıştır.

Besi ortamına katılan seryum elementinin hazırlanışı

- 500 ml'lik bidistile su içeren 2 litrelik bir behere, MS makro element stok solüsyonundan (10X) 25 ml, mikro element stok solüsyonundan (100X) 2.5 ml eklenmiştir.
- Bunun üzerine demir şelat stok solüsyonundan (100X) 5 ml, 15 g sakaroz ve 1 g MES (2-(N-Morpholino) ethanesulfonic acid hydrate, 4- Morpholineethanesulfonic acid) ve MS vitamin 0.5 ml tartılıp eklenmiş ve eriyinceye kadar ısıtıcılı karıştırıcıda karıştırılmıştır. İyi karışması için içine manyetik balık atılmıştır.

karıştırıcıda karıştırılmıştır. İyi karışması için içine manyetik balık atılmıştır.

- 4 farklı seryum konsantrasyonu içeren MS ortamları ve kontrol olmak üzere 5 farklı otoklav şişesi hazırlanmıştır.
- Beherde bulunan karışım tamamen çözününce, manyetik karıştırıcı kullanılarak 1N NaOH solüsyonları ilave edilmiş ve pH=5.8'e ayarlanmıştır.
- Besi ortamların 1 gr phytajel eklenmiş ve karıştırılmıştır. Sonra şişelere yavaş yavaş karışımlardan eklenmiştir.
- Şişelerin kapaklarını hafif kapatılarak folyo kağıdı ile sarılmış ve üzerine otoklav bandı yapıştırılmıştır.
- Otoklavda 15 dakika boyunca 105 kPa basınçta 121 °C'de sterilizasyona tabi tutulmuştur.

Bitki rejenerasyon ortamının hazırlanışı

Kallus oluşum ortamından farklı olarak seryum elementi, MES, ve 2,4-D büyüme düzenleyicisi ortama eklenmemiştir. Bitki büyüme düzenleyici olan TDZ (Thidiazuron) filtre sterilizasyonundan sonra 0.5 mg/l olarak besi ortamına ilave edilmiştir.

Araştırmada incelenen karakterler

- **Kallus oluşum oranı (KOO) (%)**: Kallus oluşum ortamına alınan eksplantlar 1 ay sonra aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir.

$$KOO (\%) = (\text{Oluşan kallus sayısı} / \text{kültüre alınan eksplant sayısı}) \times 100$$

- **Eksplant sayısına göre embriyogenik kallus oluşumu (ESEKO) (%)**: Somatik embriyo oluşturma yeteneğine sahip kalluslara embriyogenik kallus adı verilmektedir. Embriyonik kallus oluşumu, kallus oluşum ortamındaki eksplant sayısına ve eksplantlardan meydana gelen kallus sayısına göre hesaplanmıştır.

$$ESEKO = (\text{Embriyogenik kallus sayısı} / \text{eksplant sayısı}) \times 100$$

- **Kalus başına Embriyogenik Kallus Oluşum (KBEKO) Oranı**:

$$KBEKO = (\text{Embriyogenik kallus sayısı} / \text{kallus sayısı}) \times 100$$

- **Kök oluşum (KO) Oranı**:

Rejenerasyon ortamında bir ay bekletilen eksplantlerde meydana gelen kök sayısına göre hesaplanmıştır.

$$KO \text{ Oranı} = (\text{Kök sayısı} / \text{rejenerasyon ortamındaki eksplant sayısı}) \times 100$$

- **Sürgün oluşum (SO) Oranı:**

Rejenerasyon ortamında bir ay bekletilen eksplantlerde meydana gelen sürgün sayısına göre hesaplanmıştır.

$$\text{SO Oranı} = (\text{Sürgün sayısı} / \text{rejenerasyon ortamındaki eksplant sayısı}) \times 100$$

- **Bitki rejenerasyonu (BR) Oranı:**

Rejenerasyon ortamında bir ay bekletilen eksplantlerde meydana gelen ve hem kök hem de sürgüne sahip fide sayısına göre hesaplanmıştır.

$$\text{BR Oranı} = (\text{Fide sayısı} / \text{rejenerasyon ortamındaki eksplant sayısı}) \times 100$$

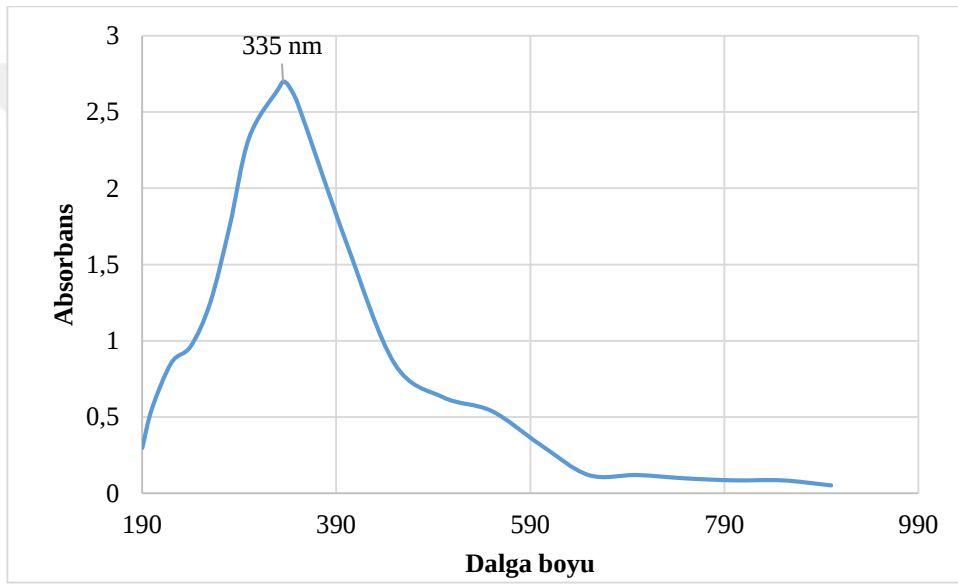
Verilerin istatistiksel analizi

Denemeden elde edilen veriler; SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 22.0) istatistik programında varyans analizine tabii tutulmuştur ve uygulamalar arasındaki farklılıkları belirlemek için Duncan Çoklu Karşılaştırma testi ile kontrol edilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Ce₂O₃ Nanopartiküllerin Optik Özellikleri

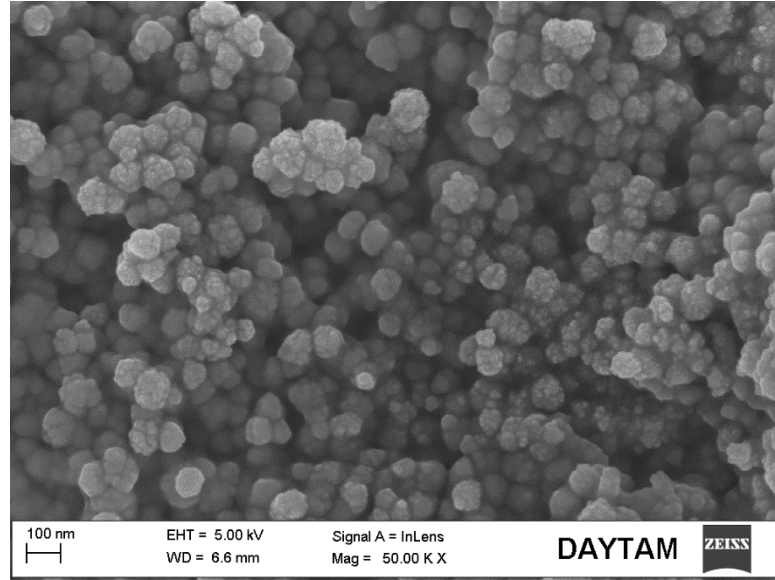
Sentezlenen Ce₂O₃ nanopartiküller spektrofotometrik taramayla karakterize edildi. UV – vis spektrofotometre (Epoch Nanodrop UV – vis spektrofotometre) kullanarak 200–1000 nm aralığında dalga boyu taraması yapıldı. Sentezlenen ceria NP'lerinin 250-500 nm aralığında geniş bir pik verdiği 335 nm'de de keskin bir pik verdiği Şekil 2'de görülmektedir. Elde edilen bu pik sentezlenen Ce₂O₃ NP'lerinin karakteristik pikiydi.



Şekil 2. Ce₂O₃ NP'lerinin dalga boyu tarama sonuçları

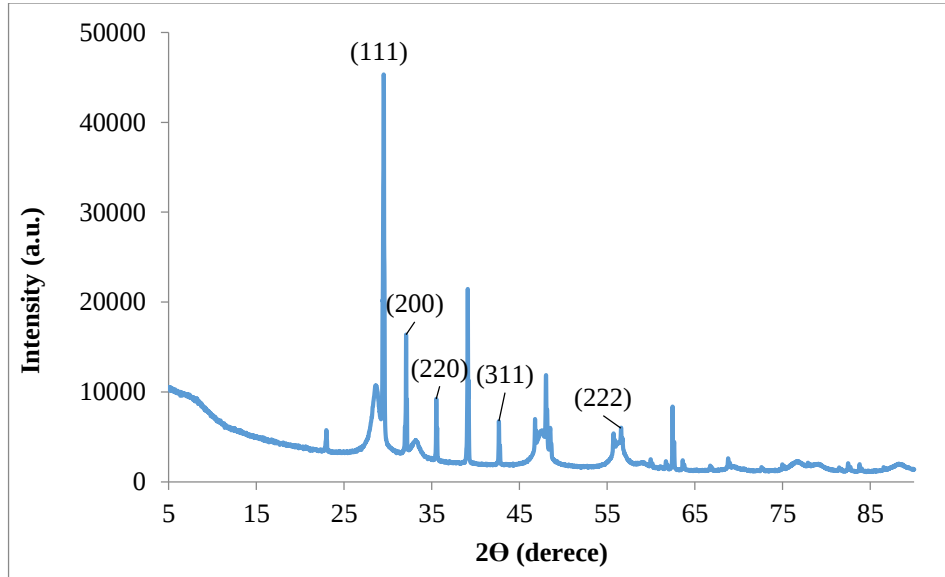
Ce₂O₃ NP'lerin yüzey morfolojik karakterizasyonu

Ce₂O₃ NP'lerin yüzey karakterizasyonu SEM ve XRD analizleri kullanılarak yapıldı ve sonuçlar Şekil 3 ve 4'te verildi. Yeşil sentez yöntemiyle elde edilen Ce₂O₃ NP'lerin kimyasal ve mineralojik bileşimleri elektron taramasıyla belirlendi. Ce₂O₃ NP'lerin görüntüleri Metek, Apollo prime, Aktif alan 10 mm², Mikroskop incelemesi S50, SE detektörü R580 ile 5000 kat büyütüldü (Şekil 3). Şekil 3'de, Ce₂O₃ NP'lerin çoğunun şekil olarak küresel olduğu ve NP'ler arasında aglomerasyonun mevcut olduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 3. Ce₂O₃ NP'lerin SEM analiz sonuçları

Ce₂O₃ NP'lerin XRD ölçümü, XRD difraktometresi (Rigaku D-Max 2000, Tokyo, Japonya) kullanılarak belirlendi. Gözlemlenen tüm XRD desenleri, 2θ , $5^\circ - 100^\circ$ (0.1 adım boyutunda) ile CuK α ($\lambda = 0.154$ nm) radyasyonu ile analiz edildi. Toz Kırınım Standartları Ortak Komitesi (JCPDS) 65-5923'e göre, XRD zirvelerinin tümü Ce₂O₃ NP'lerle onaylandı. XRD modelinden $2\theta = 29.5^\circ$ (111), 32.05° (200), 35.5° (220), 39.09° , 42.6° (311), 47.99° , 56.3° (222) ve 62.4° 'de beş kırınım zirvesi gözlemlendi (Şekil 4). Bu zirveler Ce₂O₃ NP'lerin tipik parmak izleri olarak değerlendirildi. (Zhang *et al.* 2016).



Şekil 4. Ce₂O₃ NP'lerin XRD analiz imajı

Sonuç olarak; pahalı ve toksik olmayan yeşil sentez yöntemi kullanılarak 8.5–20.3 nm aralığındaki boyutlarda, küresel şekillerdeki Ce₂O₃ NP'leri başarılı bir şekilde sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir.

Kallus Oluşum (KO) Oranı

Kallus, farklılaşmamış hücreler grubu veya yığını şeklinde tanımlanabilir. Bazı bitki türlerinde somatik embriyoların oluşmasında ilk aşama olması açısından büyük önem taşımaktadır. Eksplantların farklı oranlarda seryum nanoparçacıkları (Ce_2O_3) içeren besi ortamında kültüre alınmasından 4-5 gün sonrasında kallus oluşumu gözlenmiştir. Çalışmamızda denemeye alınan tüm besin ortamı ve genotiplerde kallus oluşumu gerçekleşmiştir. Yapılan varyans analizleri sonucuna göre hem genotipler arasında hem de farklı Ce_2O_3 içeren uygulamalar arasında çok önemli farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.01$). En yüksek ortalama kallus oluşum oranı %90 ile Kırık çeşidinde, %74 ile Rumeli çeşidinde meydana gelmiştir. Kallus oluşum oranı uygulamalar açısından değerlendirildiğinde ise, en yüksek kallus oluşum oranı 7 mg/l Ce_2O_3 içeren besi ortamında (%91), en düşük kallus oluşum oranı %64 ile 1 mg/l Ce_2O_3 içeren besi ortamında kaydedilmiştir. Nanoparçacık içermeyen kontrol uygulamasında ise %90 olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 3. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Olgun Embriyoların *in vitro* Ortamda İncelenen Bazı Karakterlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	EBEKO	KBEKO
Genotip (A)	1	2239.15**	4470.13**	5091.03**
Uygulama (B)	4	1219.81**	164.53	163.13
A*B	4	227.41	183.50	182.39
Hata	26	175.66	108.94	132.51
Toplam	35			

*, p<0.05; **, p<0.01 düzeyinde önemlidir

Tablo 4. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler

Çeşit	KO**	EBEKO**	KBEKO**
Kırık	89.65	25.88	28.32
Rumeli	73.40	2.92	3.81

Tablo 5. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler

Nanoparçacık miktarı (Ce ₂ O ₃)	KO**	EBEKO	KBEKO
1 mg/l	64.16 ^a	12.83	17.02
3 mg/l	85.00 ^b	7.71	8.32
5 mg/l	82.92 ^{ab}	14.58	16.41
7 mg/l	90.71 ^b	16.25	17.19
Kontrol	90.63 ^b	20.63	21.38

¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

²: Her bir uygulama süresi için aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Eksplant Başına Embriyogenik Kallus Oluşum (EBEKO) Oranı

Embriyogenik kallus, somatik embriyoları oluşturma yetisine sahip olan kaluslara verilen isimdir. Embriyonik kaluslar daha yüksek oranda bitkicik rejenerasyonuna ve daha stabil rejenere bitkilerin elde edilmesine imkân sağlamaktadır. Çalışmamızda denemeye alınan tüm besin ortamı ve genotiplerde her eksplant başına embriyogenik kallus oluşumu (EBEKO) gerçekleşmiştir. Varyans analizleri sonucuna göre genotipler arasında çok önemli fark gözlenmesine (p<0.01) rağmen uygulanan farklı dozlarda Ce₂O₃ içeren uygulamalar arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur. En yüksek ortalama EBEKO oranı %25,88 ile Kırık çeşidinde, en düşük EBEKO oranı %2,92 ile Rumeli çeşidinde meydana gelmiştir. EBEKO oluşum oranı

uygulamalar açısından değerlendirildiğin de ise, en yüksek EBEKO oranı Ce_2O_3 içermeyen kontrol besi ortamında (%20,63), en düşük EBEKO oranı %7,71 ile 3 mg/l Ce_2O_3 içeren besi ortamında kaydedilmiştir. Ancak, genotip x uygulama interaksyonunun da EBEKO oranı üzerine etkisinin önemsiz olduğu gözlenmiştir (Tablo 3).

Kallus Başına Embriyogenik Kallus Oluşum (KBEKO) Oranı

Çalışmamızda toplam 720 adet eksplant denemeye alınmış ancak bunlardan 46 adedi çalışmanın ilk haftası içerisinde kontaminasyon sonucu kaybedilmiştir bu nedenle deneme 674 adet eksplant ile devam etmiştir. Toplamda 567 adet eksplant kalus (%84,12) oluşturmuş ve bu kalluslardan 107 adedi embriyogenik kalus olarak değerlendirilmiştir. Genel anlamda kalus başına embriyogenik kalus oluşum (KBEKO) oranı %18,87 olarak gerçekleşmiştir. Çalışmamızda denemeye alınan tüm besin ortamı ve genotiplerde, kallus başına embriyogenik kallus (KBEKO) oluşumu gerçekleşmiştir. Yapılan varyans analizleri sonucuna göre genotipler arasında çok önemli fark gözlenmesine ($p < 0.01$) rağmen uygulanan farklı dozlarda Ce_2O_3 içeren uygulamalar arasında istatistiki anlamda farklar gözlenmemiştir. En yüksek ortalama KBEKO oranı %28,32 ile Kırık çeşidinde, en düşük kalus oluşumu ise %3,81 ile Rumeli çeşidinde meydana gelmiştir. KBEKO oluşum oranı uygulamalar açısından değerlendirildiğin de ise, en yüksek KBEKO oranı Ce_2O_3 içermeyen kontrol besi ortamında (%21.38), en düşük KBEKO oranı %3.32 ile 3 mg/l Ce_2O_3 içeren besi ortamında kaydedilmiştir. Çalışmamızda, genotip x uygulama interaksyonunun KBEKO oranı üzerine etkisinin analiz sonuçlarında önemsiz olduğu görülmüştür (Tablo 3).

Kök Oluşum (KO) Oranı

Bitki doku kültürü çalışmalarında en önemli aşamalardan biri yeni bitki rejenerasyonudur. Bu aşamada bitki hem kök sistemine hem de gövde sistemine sahiptir. Doku kültürü çalışmalarında, kök ve sürgün oluşumu aynı zaman içerisinde veya biri diğerinden önce veya oluşabilir. Bazı durumlarda bitki adaylarında sadece kök veya sadece sürgün oluşumu gerçekleşebilir. Bu gibi durumlar sağlıklı bir in vitro rejenerasyon sistemi için tercih edilen bir durum değildir. Çalışmamızda her bir eksplantin oluşturduğu kök, sürgün ve kök ve sürgüne sahip bitkicikler ayrı ayrı sayılmış ve oranları hesaplanmıştır.

Kök oluşum oranı üzerinden kullanılan genotipin ve farklı dozlarda kullanılan Ce_2O_3 ve interaksyonun önemli etkiye sahip olduğu görülmektedir (Tablo 6). En yüksek KO oranı %16.03 ile Rumeli çeşidinde gerçekleşirken bunu %3.94 ile (Tablo 7) Kırık çeşidi izlemiştir. KO oranı uygulamalar açısından değerlendirildiğin de ise, en yüksek kök oluşum oranı 1 mg /l Ce_2O_3 içeren besi ortamında (%43.51), en düşük KO oranı ise % 0 ile 5 ve 7 mg/l Ce_2O_3 içeren

besi ortamlarında kaydedilmiştir. Çalışmamızda, genotip x uygulama interaksyonunun KO oranı üzerine etkisinin analiz sonuçlarında önemi olduğu görülmüştür (Tablo 6).

Tablo 6. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Olgun Embriyoların *in vitro* Ortamda İncelenen Bazı Karakterlerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Kök Oluşum (KO) Oranı	Sürgün Oluşum (SO) Oranı	Bitki Rejenerasyonu (BR) Oranı
Genotip (A)	1	1216.53*	992.46	337.93**
Uygulama (B)	4	2399.99**	4621.65**	61.71
A*B	4	1533.46**	1922.23*	42.99
Hata	26	172.12	480.61	60.74
Toplam	35			

*, p<0.05; **, p<0.01 düzeyinde önemlidir

Tablo 7. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler

Çeşit	Kök Oluşum Oranı*	Sürgün Oluşum Oranı	Bitki Rejenerasyonu Oranı**
Kırık	3.94	40.49	8.03
Rumeli	16.03	51.40	2.01

Tablo 8. Nanopartikül İçeren Ortamlarda Gelişen Kırık ve Rumeli Çeşidine Ait Olgun Embriyo Kültüründe İncelenen Bazı Karakterlere Ortalama Değerler

Nanoparçacık miktarı (Ce ₂ O ₃)	Kök Oluşum Oranı	Sürgün Oluşum Oranı	Bitki Rejenerasyonu Oranı
1 mg/l	43.51 ^a	17.26 ^d	5.42
3 mg/l	2.51 ^b	21.66 ^{cd}	3.61
5 mg/l	0.00 ^b	52.27 ^{bc}	0.00
7 mg/l	0.00 ^b	77.18 ^a	7.85
Kontrol	3.90 ^b	61.36 ^{ab}	7.34

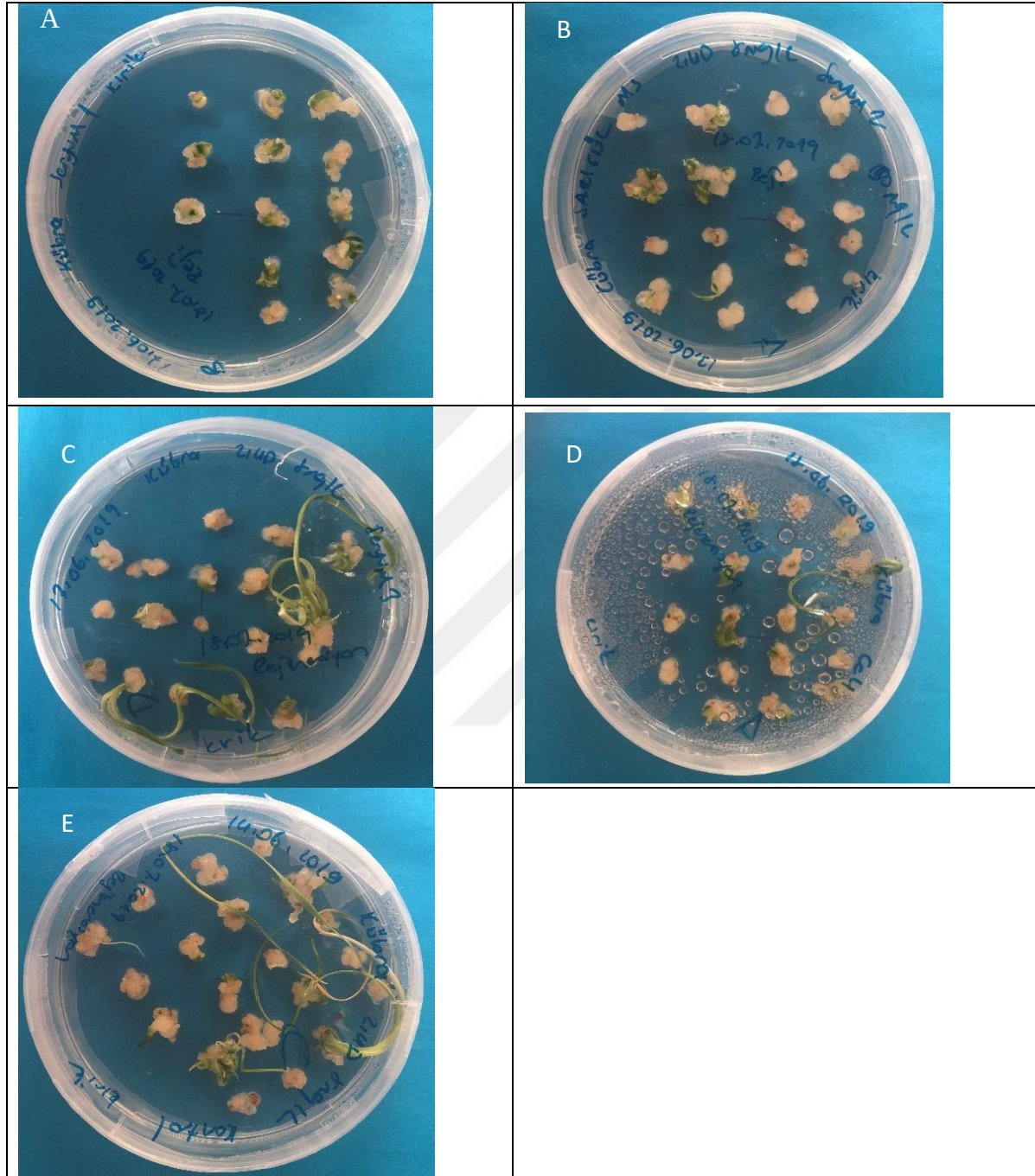
¹: Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

²: Her bir uygulama süeresi için aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Sürgün Oluşum (SO) Oranı

Çalışmamızı kök oluşum oranı açısından incelediğimizde, farklı dozlarda kullanılan Ce₂O₃ ve önemli etkiye sahip olduğu görülmektedir (Tablo 6). Ancak, kullanılan genotiplerin SO oranı açısından önemli bir etkiye sahip olmadığı gözlenmiştir. En yüksek SO oranı %51.40 ile Rumeli çeşidinde gerçekleşirken bunu %40.49 ile (Tablo 7) Kırık çeşidi izlemiştir. SO oranı uygulamalar açısından değerlendirildiğin de ise, en yüksek sürgün oluşum oranı 7 mg /ml Ce₂O₃

içeren besi ortamında (%77.18), en düşük KO oranı ise % 17.26 ile 1 mg/l Ce_2O_3 içeren besi ortamında kaydedilmiştir. Çalışmamızda, genotip x uygulama interaksyonunun KO oranı üzerine etkisinin analiz sonuçlarında önemi olduğu görülmüştür (Tablo 6).



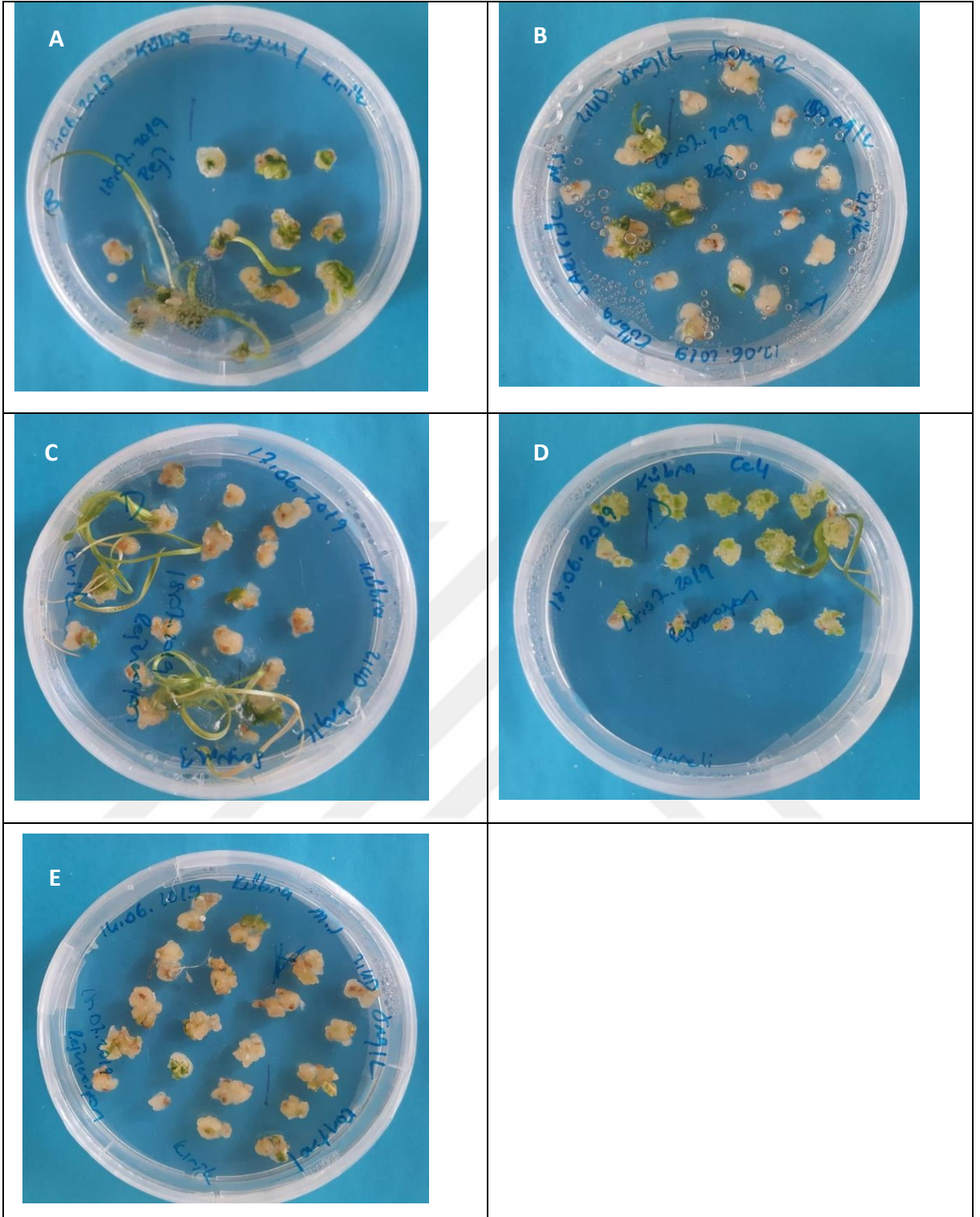
Şekil 6. Rejenerasyon başlangıç ortamının 10. Gününde eksplantların görünüşleri

A) 1 mg/l CeO_2 uygulaması B) 3 mg/l CeO_2 uygulaması C) 5 mg/l CeO_2 uygulaması D) 7 mg/l CeO_2 uygulaması E) Kontrol CeO_2 uygulaması

Bitki Rejenerasyonu (BR) Oranı

Bitki doku kültürü çalışmalarında en önemli aşamalardan biri yeni bitki rejenerasyonudur. Bu aşamada bitki hem kök sistemine hem de gövde sistemine sahiptir. Denemeye alınan tüm genotiplerde bitki rejenerasyonu (BR) gerçekleşmiştir. Ancak farklı

dozlarda Ce_2O_3 içeren uygulamalar içerisinde sadece 5 mg/L Ce_2O_3 içeren ortamda bitki rejenerasyonu gerçekleşmemiştir. Yapılan varyans analizleri sonucuna göre genotipler arasındaki farklılıklar çok önemli fark gözlenmesine ($p<0.01$) rağmen uygulanan farklı dozlarda Ce_2O_3 içeren uygulamalar arasında istatistiki anlamda farklar gözlenmemiştir. En yüksek bitki rejenerasyon oranı %8.03 ile Kırık çeşidinde, en düşük bitki rejenerasyon oranı ise %2.01 ile Rumeli çeşidinde meydana gelmiştir. Bitki rejenerasyon oranı uygulamalar açısından değerlendirildiğinde ise, en yüksek BR oranı Ce_2O_3 içermeyen kontrol besi ortamında (%7.34), en düşük BR oranı %0.0 ile 5 mg/l Ce_2O_3 içeren besi ortamında kaydedilmiştir. Ancak, genotip x uygulama interaksiyonunun da BR oranı üzerine etkisinin analiz sonuçlarında önemsiz olduğu gözlenmiştir (Tablo 6).



Şekil 7. Rejenerasyon başlangıç ortamının 20. Gününde eksplantların görünüşleri
A) 1 mg/l CeO₂ uygulaması B) 3 mg/l CeO₂ uygulaması C) 5 mg/l CeO₂ uygulaması D) 7 mg/l CeO₂ uygulaması E) Kontrol CeO₂ uygulaması

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tartışma

Çalışmamız içerisinde, farklı genotiplerin doku kültürü parametrelerine verdiği cevaplar araştırılmıştır. Ayrıca farklı genotipler ve Ce_2O_3 nanoparçacıklarının etkileri beraber incelenmiştir. Bitki doku kültürü parametreleri içerisinde yer alan, kalus oluşumu, kök, sürgün oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine genotiplerin etkisi önemli bulunmuştur. Genotip doku kültürü çalışmalarını etkileyen önemli faktörlerden biridir. Nitekim, Bregitzer (1992) ve Li *et al.* 2003, buğdayda kallus oluşumuna ve bitki rejenerasyonuna etki eden en önemli faktörün genotip olduğunu bildirmişlerdir. Yine, Mathias and Simpson (1986), doku kültüründe genotipin ortamdaki daha önemli olduğunu kaydetmişlerdir. Maes *et al.* 1996, 4 ekmeçlik ve 3 makarnalık buğdayla yaptıkları çalışmada embriyo oluşturma bakımından çeşitler arasında önemli farklılıklar gözlemişlerdir. En yüksek embriyo oluşturma oranı % 89.3 ile “Fielder” çeşidinden elde edilirken, en düşük değer %2.3 ise “makva” çeşidinden alınmıştır. Yine, Emeklier *et al.* 1999, kültüre aldıkları 14 farklı mısır genotipinin somatik embriyogenesis kabiliyetlerinin %0.0-77.5 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Genotipler arasında gözlenen farklılığın temel sebeplerinden bir tanesi özellikle özellikle bitki genomu içerisinde yer alan ve direk doku kültürü parametreleri ile ilişkili genlerin yer almasıdır. Örneğin Reisch and Bingham (1980) tarafından yapılan bir çalışmada yoncada *Rn1* ve *Rn2* olarak isimlendirilen iki genin yüksek oranda rejenerasyon için gerekli olduğunu belirtilmiştir. Yonca “Rangelander” çeşidinden elde edilen ve RL34 adı verilen bir bitkinin yüksek embriyogenesis kabiliyetine sahip olduğu ve *in vitro* çalışmalarında genetik olarak stabil olduğu gözlenmiş olup (McKersie *et al.* 1989), embriyogenesisden sorumlu olan genler melezleme ile diğer çeşitlere de aktarılabilmiştir. Hıyarda ise orta seviyede bir somatik embriyogenesis için iki dominant gen gerekli iken, üçüncü bir dominant genin bulunması yüksek oranda bir embriyo oluşumu sağlamaktadır (Parrott *et al.* 1993).

Bununla beraber, canlı içerisindeki farklı genomlarda *in vitro* rejenerasyon kabiliyetini etkilemektedir. Higgins and Mathias, (1987) tarafından farklı buğday genotipleri ile yapılan çalışmalarda 4B kromozomu üzerinde bulunan genlerin rejenerasyonda önemli oldukları belirtilirken, sitoplazmanın (Ou *et al.* 1989) ve mitokondriyal genomun (Rode *et al.* 1988) da etkisinin olabileceği rapor edilmektedir. Ayrıca, çayır üçgülü (Keyes *et al.* 1980), mısır (Willman *et al.* 1989) ve çeltik (Peng and Hodges 1989) bitkileriyle yapılan çalışmalarda

eklemeli (additive) genetik etkinin de somatik embriyogenesis üzerine etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Nanoteknoloji, günümüzde boyut, şekil ve dağılım gibi nanoparçacık (NP) özelliklerine dayanan modern malzemelerin bilimlerinde araştırılması gereken önemli alanlardan biridir. Nanomalzemeler ve NP'lerin kullanımıyla ilgili uygulamalar hızla gelişmektedir (Jain *et al.* 2009). Bitki doku kültüründe, nanoteknolojiye dayanan, özellikle tohum çimlenmesi, bitki büyümesinin iyileştirilmesi, bitki genetik modifikasyonu, bitki koruma ve diğerlerinde NP'lerin kullanımı üzerine birçok araştırma mevcuttur (Wang *et al.* 2016; Ruttkay-Nedecký *et al.* 2017).

Farklı çalışmalar, Ce₂O₃ nanoparçacıklarının bitkiler üzerindeki farklı etkilerini bildirmiştir. Lopez-Moreno *et al.* 2010a yonca, mısır ve domates bitkilerinin çimlenmesi ve kök uzaması üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada her iki parametrenin de Ce₂O₃ nanoparçacıklarından etkilendiğini bildirmişlerdir. Özellikle, orta düzey konsantrasyonlardaki uygulamalarda domates ve mısır bitkisinin çimlenmesinde önemli bir azalma kaydedilmiştir. Ancak düşük toksisite yonca ve salatalık için rapor edilmiş olup, burada kök büyümesi artış kaydedilmiştir. 2000 mg/L'lik bir Ce₂O₃ nanoparçacık konsantrasyonunda, salatalık bitkisinde kök uzaması uyarılmış ancak yonca ve domates bitkisinde çimlenmede gecikme yaşandığı rapor edilmiştir. Benzer bir denemede, (López-Moreno *et al.* 2010b) ayrıca kübik Ce₂O₃ nanoparçacıklarının tohum çimlenmesi ve soya fasulyesi fidelerinin erken büyümesi üzerinde çalışmışlar ve en yüksek Ce₂O₃ NP (2000 mg/L) uygulaması hariç istatistiksel olarak anlamlı etki bulamamışlardır. Buna karşılık, kök büyümesinde kontrole göre %75 oranında bir artış kaydetmişlerdir. Çalışmamızda farklı dozlarda besi ortamına ilave edilen Ce₂O₃ nanoparçacıklarının kalus oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine olası etkileri araştırılmış ve Ce₂O₃ nanoparçacıklarının hem kalus oluşumuna hem de bitki rejenerasyonuna pozitif etkileri olduğu gözlenmiştir. Ce₂O₃ bitki doku kültürü çalışmalarında yapay bitki besin ortamına rutin olarak eklenen bir element değildir.

Nanoparçacıkların (NP) bitki doku kültürü kapsamında yapılan çalışmalarda, NP'ların türü, tipi, konsantrasyonu ve boyutunun etkili olduğu bilinmektedir. NP'lerin kallus indüksiyonu, sürgün rejenerasyonu ve eksplant büyümesi üzerinde olumlu etkileri gözlemlenmiştir. Gümüş NP'lerin (5-80 mg L⁻¹) tek başına veya 6-benzil amino-purin (6 BAP) ve indol asetik asit (IAA) ile kombine edilmesi, *Tecomella undulata*'nın (Roxb.) büyüme özellikleri üzerinde değerlendirme yapılmıştır. Sonuçlar, MS ortamında 2.5 mg L⁻¹ BAP ve 0.1 mg L⁻¹ IAA ile birlikte gümüş NP'lerin (10 mg L⁻¹) eklenmesinin, eksplant başına taze sürgün sayısını, sürgün üreten eksplant yüzdesini ve ayrıca etilen blokajı üzerindeki etki nedeniyle bitki

canlılığı arttığı tespit edilmiştir. Gümüş NP'lerin 60 mg L^{-1} üzerindeki konsantrasyonları sürgün rejenerasyonunda azalmaya neden olmuştur (Aghdaei *et al.* 2012).

Genady *et al.* 2016, bakır sülfat (CuSO_4) NP'leri, *Verbena bipinnatifida* fındık fidelerinin $5, 10$ ve $15 \text{ } \mu\text{M L}^{-1}$ konsantrasyonları içerisinde sürgün ve kök uzunluğu ve taze ağırlığına bakmışlar ve MS ortamına 5 mg L^{-1} CuSO_4 NP'nin sürgün uzunluğunu (kontrol üzerinde % 52), kök uzunluğunu (kontrol üzerinde % 21) ve taze ağırlığı (kontrol üzerinde %39) arttırdığını belirtmişlerdir . Bu denemede, fenolik içerikler CuSO_4 NP'lerin kullanımı ile arttırılmıştır. Talankova-Sereda *et al.* 2016 MS ortamına eklenen kobalt NP'ler (0.8 mg L^{-1}) ile bakır (0.5 mg L^{-1}) ile *Mentha longifolia L.* Üzerine yapılan çalışmada bitkinin sürgünleri, sürgün uzunluğunu ve köklenmeyi ve değerlendirilen tüm parametrelerde bir artış olduğu değerlendirilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda ($0, 0.1, 1.0, 10, 100$ veya 1000 mg L^{-1}) çinko oksit (ZnO) NP'lerin (34 nm büyüklüğünde) mikroproagüle edilmiş fizyoloji ve steviol glikozit (rebaudioside A ve steviosid) üretimi üzerindeki etkisi *Stevia rebaudiana Bertoni* bitki sürgünleri incelenmiştir. En yüksek sürgün oluşumu yüzdesi (% 89.6) 1 mg L^{-1} ZnO NP konsantrasyonundan elde edilmiştir. Ayrıca, HPLC sonuçlarına göre 1 mg L^{-1} ZnO NP'lerin oksidatif stresi altında büyütülen mikroproagüle edilmiş sürgünlerde steviol glikozitlerin (kontrole kıyasla neredeyse iki katına çıkması) önemli bir artış gözlenmiştir. Bununla birlikte, antioksidan aktiviteler, ikincil metabolitlerin oluşumu ve fizyolojik parametreler, 1 mg L^{-1} ZnO NP konsantrasyonu eşikini geçtikten sonra ani bir düşüş göstermiş ve 1000 mg L^{-1} 'de minimum seviyeye düşmüştür (Javed *et al.* 2017).

Prunella vulgaris L.'de kallus kültürü gelişimi için tek başına veya naftalen asetik asit (NAA) ile birleştirilmiş tek başına gümüş veya altın NP'lerin farklı konsantrasyonları ($1: 2, 1: 3, 2: 1$ ve $3: 1$) değerlendirilmiştir. NAA (2.0 mg L^{-1}) ile kombinasyon halinde gümüş NP'lerin ($30 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), gümüş-altın NP'lerin ($1: 2$) ve gümüş-altın NP'lerin ($2: 1$) kallus proliferasyonunu (% 100) kontrole kıyasla (% 95) iyileştirdiğini göstermiştir (Fazal *et al.* 2016).

MS ortamı üzerine gümüş NP'lerin eklenmesi, *Solanum nigrum L.*'de kallus indüksiyonu değerlendirilmiştir. MS ortamında ($0, 2, 4$ ve 8 mg L^{-1}) farklı konsantrasyonlarda sulu gümüş NP'ler kullanılmıştır. Kontrol tedavisinde (gümüş NP'leri yok), 10 gün sonra beyaz ve yeşilimsi renkte kompakt calli elde edilirken, gümüş NP'lerle takviye edilmiş kültür üzerine 10-13 gün sonra beyaz, yeşilimsi veya sarımsı renkte kırılğan sulu kaluslar gözlenmiştir. Ayrıca ortama gümüş NP'ler eklendiğinde, kallus taze ağırlığı ve kallus oluşum yoğunluğu artmış, ancak özellikle yüksek konsantrasyonlarda NP'lerde kallus morfolojisinde deformasyonlar bulunmuştur (Ewais *et al.* 2015). Yaprak eksplantından kallus indüksiyonu için, çok duvarlı

karbon nanotüplerin (25-500 mg mL⁻¹) B5 ortamı ile etkisi de araştırılmış ve büyüme 25 ila 50 mg mL⁻¹ konsantrasyonunda önemli ölçüde geliştirilmiş, ancak daha yüksek konsantrasyonlar (100-500 mg mL⁻¹) kallus biyokütlesini azaltmıştır (Ghorbanpour and Hadian 2015).

Belirtilen tüm araştırmalardan, NP'lerin bitki doku kültürü çalışmalarında kullanılan konsantrasyona bağlı olarak, fide, kallus proliferasyonu, sürgün çoğalması ve somatik embriyogeneze bağlı olarak pozitif veya negatif olduğu sonucuna varmak mümkündür, ancak yine de NP'lerin etki mekanizmasını aydınlatmak için araştırılması gereken çok şey vardır.

Benzer çalışmalarda,  zgen *et al.* 1998, 12 kışlık buğday genotipinde olgunlaşmamış embriyoları 2mg/l 2,4-D içeren ortamda olgunlaşmış embriyoları 8 mg/l 2,4-D içeren ortamda kültüre almışlar ve her iki eksplant için de in-vitro kültüre yanıtın genotipe bağlı olduğunu saptamışlardır. Olgun 9 embriyoların kallus oluşumu ve rejenerasyon frekansı açısından daha yüksek bir etkiye sahip olduğu görülmüş ve olgun embriyoların yıl boyunca temin edilebildikleri için doku kültürü çalışmalarında etkili bir eksplant kaynağı olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca beş makarnalık buğday çeşidinin doku kültürüne yanıtını belirlemek için yapılan çalışmada yoğun embriyogenik ve rejenere olan kalluslar, 2,4-D içeren ortamda olgunlaşmamış embriyolar skutellumları ile birlikte kültüre alınmış ve 2,4-D'siz ortamda rejenerasyon sağlandığı,    genotipin en iyi yanıt verdiğini belirlemişlerdir (Borelli *et al.* 1991).

Sonuc

Bu  alışmada MS besiyeri uygulaması kontrol grubu olmak üzere, MS besiyerine Seryum nanopartikülün 4 farklı dozu eklenerek Seryum elementinin Rumeli ve Kırık ekmeklik buğday çeşitlerinin olgun embriyo kültürü üzerine etkileri incelenmiştir.

Yapılan bu çalışma sonucuna göre genel olarak Kırık  eşidinin Rumeli çeşidine göre doku kültürü uygulamalarına daha iyi cevap verdiği görülmüştür. Bu durum, doku kültürü çalışmalarında genotipin etkisinin önemli olduğunu göstermektedir.

Çalışmada kullanılan CeO₂ NP'lerin kalus, kök ve sürgün oluşumu üzerine etkileri önemli bulunmuştur. NP'lerin bitki doku kültürü çalışmalarında kullanılan konsantrasyona bağlı olarak, fide, kallus proliferasyonu, sürgün çoğalması ve somatik embriyogeneze bağlı olarak pozitif veya negatif olduğu sonucuna varmak mümkündür, ancak yine de NP'lerin etki mekanizmasını aydınlatmak için araştırılması gereken çok şey vardır.

KAYNAKLAR

- Abdi, G. H. Salehiand, H. Khosh-Khui, M.,2008. Nano silver: a novel nanomaterial for removal of bacterial contaminants in valerian (*Valeriana officinalis* L.) tissue culture. *Acta Physiol. Plant.* 30, 709–714
- Aghdaei, M. Salehi, H. Sarmast, M. K.,2012. Effects of Silver Nanoparticles on *Tecomella undulata* (Roxb.) Seem. *Micropropagation. Adv. Hortic. Sci.* 26, 21–24.
- Aghdaei, M. Salehi, H. Sarmast, MK., 2012. Effects of silver nanoparticles on *Tecomella undulata* Roxb.) seem, micropropagation. *Adv Hortic Sci* 26:21–24
- Alharby, H. F.. Metwali, E. M. R. Fuller, M. P. Aldhebiani, Y. A.,2016. mpact of application of zinc oxide nanoparticles on callus induction, plant regeneration, element content and antioxidant enzyme activity in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) under salt stress. *Arch. Biol. Sci.* 68, 723–735
- Allahverdiyev, A. M. Abamor, E. S. Bagirova, M. Rafailovich, M.,2011. Antimicrobial effects of TiO₂ and Ag₂O nanoparticles against drug-resistant bacteria and leishmania parasites. *Future Microbiol.* 6, 933–940
- Anantharaman, A. George, M.,2016. Green Synthesis of Calcium Oxide Nanoparticles and its Applications, *J. Eng. Res. Appl. Wwww.Ijera.Com.* 6 (2016) 27–31. www.ijera.com.
- Anonim, (2021). <https://www.makaleler.com/seryum-nedir> (04.08.2021)
- Anwaar, S. Maqbool, Q. Jabeen, N. Nazar, M. Abbas, F. Nawaz, B. Hussain, T. Hussain, S. Z.,2016. The Effect of Green Synthesized CuO Nanoparticles on Callogenesis and Regeneration of *Oryza sativa* L. *Front. Plant Sci.* 7, 1330, DOI: 10.3389/fpls.2016.01330.
- Applerot, G. Lellouche, J. Perkash, N. Nitzan, Y. Gedanken, A. Banin, E.,2012.ZnO Nanoparticle coated surfaces inhibit bacterial biofilm formation and increase antibiotic susceptibility. *RSC Adv.* 2, 2314–2321
- Ardekani, M. R. S. Abdeni, M. Z. Nasrullaah, N. Samim, M.,2014. Calcium phosphate nanoparticles a novel nano-viral gene delivery system for genetic transformation of tobacco. *Int. J. Pharm. Sci.* 6, 605–609.
- Atha, D. H. Wang, H. Petersen, E. J. Cleveland, D. Holbrook, R. D. Jaruga, P. Dizdaroglu, M. Xing, B. Nelson, B. C.,2012. Copper Oxide Nanoparticle Mediated DNA Damage in Terrestrial Plant Models. *Environ. Sci. Technol.* 46, 1819–1827.
- Baek, Y. W. An, Y. J.,2011. Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*. *Sci. Total Environ.* 409, 1603– 1608.
- Bairu, M. W. Aremu, A. O. Van Staden, J.,2011. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regul.* 63, 147–173.
- Bansod, S. Bawskar, M. Rai, M.,2015. In vitro effect of biogenic silver nanoparticles on sterilisation of tobacco leaf explants and for higher yield of protoplasts. *IET Nanobiotechnol.* 9, 239–245.
- Beyth, N. Hourri-Haddad, Y. Domb, A. Khan, W. Hazan, R.,2015. Alternative Antimicrobial Approach: Nano-Antimicrobial Materials. *Evid. base. Compl. Alternative Med.* 246012, DOI: 10.1155/2015/246012.
- Bregitzer, P., 1992. Plant regeneration and callus type in barley: Effect of genotype and culture medium. *Crop Science*, 32, 1108-1112.

- Chang, F. P. Kuang, L. Y. Huang, C. A. Jane, W. N. Hung, Y. Hsing, Y. C. Mou, C. Y., 2013. A simple plant gene delivery system using mesoporous silica nanoparticles as carriers. *J. Mater. Chem. B.* 1, 5279– 5287.
- Christou, P., McCabe, D. and Swain, W., 1998. Stable transformation of soybean callus by DNA-coated gold particles. *Plant Physiology*, 87: 671-674
- Delporte F, Pretova A, du Jardin P and Watillon B (2014) Morpho-histology and genotype dependence of *in vitro* morphogenesis in mature embryo cultures of wheat. *Protoplasma* 251: 1455-1470.
- Dong, F. Koodali, R. T. Wang, H. Ho, W. K., 2014. Nanomaterials for Environmental Applications. *J. Nanomater.* 276467, DOI: 10.1155/2014/276467.
- Emeklier, Y. Özcan, S. Avcı-Birsin, M. Mirici, S. Uranbey, S., 1999. Mısırdaki *in vitro* somatik embriyogenesis üzerinde araştırmalar. A.Ü. Araştırma Fonu Projesi (No: 97110901), Ankara
- Ewais, E. A. Desouky, S. A. Elshazly, E. H. Nanosci., 2015. Evaluation of callus responses of *Solanum nigrum* L. exposed to biologically synthesized silver nanoparticles. *Nanotechnol.* 5, 45–56.
- Ewais, E.A. Desouky, S.A. Elshazly, E.H., 2015 Evaluation of callus responses of *solanum nigrum* l. exposed to biologically synthesized silver nanoparticles. *Nanosci Nanotechnol* 5:45–56
- Fazal, H. Abbasi, B.H. Ahmad, N. Ali, M., 2016. Elicitation of medicinally important antioxidant secondary metabolites with silver and gold nanoparticles in callus cultures of *Prunella vulgaris* L. *Appl Biochem Biotechnol* 180:1076–1092
- Genady, E. A. Qaid, E. A. Fahmy, A. H., 2016. Copper sulfate nanoparticules in vitro applications on *Verbena bipinnatifida* Nutt. Stimulating growth and total phenolic content increasments. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.* 5, 196–202
- Ghorbanpour, M. Hadian, J., 2015. Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. *Carbon*, 94, 749–759.
- Ghorbanpour, M. Hadian, J., 2015 Multi-walled carbon nanotubes stimulate callus induction, secondary metabolites biosynthesis and antioxidant capacity in medicinal plant *Satureja khuzestanica* grown in vitro. *Carbon* 94:749–759
- Giorgetti, L. Castiglione, M. M. Bernabini, M. Geri, C., 2011. Nanoparticles effects on growth and differentiation in cell culture of carrot (*Daucus carota* L.). *Agrochimica.* 55, 45–53
- Gouran, A. Jirani, M. Mozafari, A. A. Saba, M. K. Ghaderi, N. Zaheri, S., 2014. Effect of silver nanoparticles on grapevine leaf explants sterilization at in vitro conditions, 2nd National Conference on Nanotechnology from Theory to Application, Isfahan, Iran, 20 February 2014, pp. 1–6.
- Guzman, M. Dille, J. Godet, S., 2012. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine.* 8, 37–45.
- Hao, Y. Yang, X. Shi, Y. Song, S. Xing, J. Marowitch, J. Chen, J. Chen, J., 2013. Magnetic gold nanoparticles as a vehicle for fluorescein isothiocyanate and DNA delivery into plant cells. *Botany.* 91, 457–466
- Heinlaan, M. Ivask, A. Blinova, I. Dubourguier, H. C. Kahru, A., 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO₂ to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere.* 71, 1308–1316.

- Helaly, M. N. El-Metwally, M. A. El-Hoseiny, H. Omar, S. A. El-Sheery, N. I., 2014. Effect of nanoparticles on biological contamination of in vitro cultures and organogenic regeneration of banana. *Aust. J. Crop Sci.* 8, 612–624.
- Higgins, P. Mathias, R. J., 1987. The effect of the 4B chromosomes of hexaploid wheat on the growth and regeneration of callus cultures. *Theor. Appl. Genet.*, 74: 439–444.
- Hussain, M. Fareed, S. Ansari, S. Rahman, M. Ahmad I. Z. Saeed, M. J., 2012. Current approaches toward production of secondary plant metabolites. *Pharm. BioAllied Sci.* 4, 10–20
- Jain, D. Kumar-Daima, H. Kachhwaha, S. Kothari, S. L., 2009. Synthesis of plant-mediated silver nanoparticles using papaya fruit extract and evaluation of their antimicrobial activities. *Dig J Nanomater Biostruct* 4:557–563
- Javed, R. Usman, M. Yücesan, B. Zia, M. Gürel, E., 2017. Effect of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on physiology and steviol glycosides production in micropropagated shoots of *Stevia rebaudiana Bertoni*. *Plant Physiol Biochem* 110:94–99
- Javed, R. Usman, M. Yücesan, B. Zia, Gürel, M. E., 2017. Effect of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on physiology and steviol glycosides production in micropropagated shoots of *Stevia rebaudiana Bertoni*. *Plant Physiol. Biochem.* 110, 94–99
- Jeong, B. R. Sivanesan, I., 2015. Direct adventitious shoot regeneration, in vitro flowering, fruiting, secondary metabolite content and antioxidant activity of *Scrophularia takesimensis Nakai*. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 123, 607–618
- Karaduman, I. Güngör, A. A. Nadaroğlu, H. Altundaş, A. Acar, S., 2017. Green synthesis of γ -Fe₂O₃ nanoparticles for methane gas sensing. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 16094–16105. <https://doi.org/10.1007/s10854-017-7510-5>.
- Kerativitayanan, P. Carrow, J. K. Gaharwar, A. K., 2015. Nanomaterials for Engineering Stem Cell Responses. *Adv. Healthcare Mater.* 4, 1600–1627.
- Keren, K. Berman, R. S. Buchstab, E. Sivan, U. Braun, E., 2003. DNA-Templated Carbon Nanotube Field-Effect Transistor. *Science*, 302, 1380–1382.
- Keyes, G. J. Collins, G. B. Taylor, N. L., 1980. Genetic variation in tissue cultures of red clover. *Theor. Appl. Genet.*, 58: 265–271.
- Khodakovskaya, M. V. Silva, K. Biris, A. S. Dervishi, E. Villagarcia, H., 2012. Carbon Nanotubes Induce Growth Enhancement of Tobacco Cells. *ACS Nano*. 6, 2128–2135.
- Kokina, I. Mickevica, I. Jermalonoka, M. Bankovska, L. Gerbreder, V. Ogurcovs, A. Jahundovica, I., 2017. Case Study of Somaclonal Variation in Resistance Genes Mlo and Pme3 in Flaxseed (*Linum usitatissimum L.*) Induced by Nanoparticles. *Int. J. Genomics*, 1676874, DOI: 10.1155/2017/1676874.
- Kokina, I. Štiedevskis, E. Gerbreder, V. Grauda, D. Jermaionoka, M. Valaine, K. Gavarane, I. Pigioka, I. Filipovišes, M. Rashal, I., 2012. Reaction of flax (*Linum usitatissimum L.*) call culture to supplement of medium by carbon nanoparticles. *Proc. Latv. Acad. Sci., Sect. B.* 66, 200–209.
- Kumar, V. Guleria, P. Kumar, V. Yadav, S. K., 2013. Gold nanoparticle exposure induces growth and yield enhancement in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Total Environ.* 46, 462–468.
- Kumari, A. and Yadav, S. K., 2014. Nanotechnology in Agri-Food Sector. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54: 975–984.
- Kün, E. 1988. Serin İklim Tahılları. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 1032. 322 s., Ankara.

- Landa, P. Prerostova, S. Petrova, S. Knirsch, V. Vankova, R. Vanek, T., 2015. The Transcriptomic Response of *Arabidopsis thaliana* to Zinc Oxide: A Comparison of the Impact of Nanoparticle, Bulk, and Ionic Zinc. *Environ. Sci. Technol.* 49, 14537–14545.
- Leifert, C. Cammota, H. Waites, W. M., 1992. Effect of combinations of antibiotics on micropropagated Clematis, *Delphinium*, *Hosta*, Iris and Photinia. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* 29, 153–160.
- Leifert, C. Cassells, A. C., 2001. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cell. Dev. Biol.: Plant*, 37, 133–138.
- Leifert, C. Morris, C. E. Waites, W. M., 1994. Ecology of Microbial Saprophytes and Pathogens in Tissue Culture and Field-Grown Plants: Reasons for Contamination Problems *In Vitro*. *Crit. Rev. Plant Sci.* 13, 139–183.
- Lin, C. Fugetsu, B. Su, Y. Watari, F., 2009. Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on *Arabidopsis* T87 suspension cells. *J. Hazard. Mater.* 170, 578–583.
- López-Moreno, M.L. De La Rosa, G. Hernandez-Viezcas, J.A. Castillo-Michel, H. Botez, C.E. Peralta-Videa, J.R. Gardea-Torresdey, J.L., 2010b. Evidence of the differential biotransformation and genotoxicity of ZnO and CeO₂ nanoparticles on soybean (*Glycine max*) plants. *Environ. Sci. Technol.* 44, 7315–7320. <http://dx.doi.org/10.1021/es903891g>.
- López-Moreno, M.L. De La Rosa, G. Hernandez-Viezcas, J.A. Peralta-Videa, J.R. Gardea-Torresdey, J.L., 2010a. X-ray absorption spectroscopy (XAS) corroboration of the uptake and storage of CeO₂ nanoparticles and assessment of their differential toxicity in four edible plant species. *J. Agric. Food Chem.* 58, 3689–3693. <http://dx.doi.org/10.1021/jf904472e>.
- Ma, C. Chhikara, S. Xing, B. Musante, C. White, J. C. Dhankher, O. P., 2013. Physiological and Molecular Response of *Arabidopsis thaliana* (L.) to Nanoparticle Cerium and Indium Oxide Exposure. *ACS Sustainable Chem. Eng.* 1, 768–778.
- Ma, C. Liu, H. Guo, H. Musante, C. Coskun, S. H. Nelson, B. C. White, J. C. Xing, B. Dhankher, O. M. 2016. Defense mechanisms and nutrient displacement in *Arabidopsis thaliana* upon exposure to CeO₂ and In₂O₃ nanoparticles. *Environ. Sci.: Nano.* 3, 1369–1379, DOI: 10.1039/c6en00189k.
- Maes, OC. Chibbar, RN. Caswell, K. Leung, N. Kartha, KK., 1996. Somatic embryogenesis from isolated scutella of wheat: effects of physical, physiological and genetic factors. *Plant Sci.*, 121: 75-84.
- Mahna, N. Vahed, S. Z. Khani, S., 2013. Plant In vitro Culture goes Nano: Nanosilver-Mediated Decontamination of Ex vitro Explants. *J. Nanomed. Nanotechnol.* 4, 161, DOI: 10.4172/2157-7439.1000161
- Maness, P. C. Smolinski, D. M. Blake, Z. Huang, E. J. W. Jacoby, W. A., 1999. Bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 4094–4098.
- Mathias, R.J. Simpson, E.S., 1986. The interaction of genotype and culture medium on the tissue culture responses of wheat (*Triticum aestivum* L. em. thell) callus. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 7, 31–37
- McKersie, BD. Senaratna, T. Bowley, SR. Brown, DCW. Krochko, JE. Bewley, JD., 1989. Application of artificial seed technology in the production of hybrid alfalfa. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 25: 1183-1188

- McGovern, C., 2010. Commoditization of nanomaterials Nanotechnol. Perceptions. 6, 158–178.
- Medina C, Santos-Martinez MJ, Radomski A, Corrigan OI, Radomski MW., 2007. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. Br J Pharmacol 150: 552-8.
- Murashige, T. Skoog, F. A., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology 15: 473-97
- Nadaroglu, A.A. Onem, H. Gungor, H., 2017. Green synthesis of Ce2O3 NPs and determination of its antioxidant activity. IET Nanobiotechnology. 11(2017) 411–419. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2016.0138>
- Naqvi, S. Maitra, A. N., Abdin, M. Z Akmal, M. Arors, I. Samim, M., 2012. Calcium phosphatenanoparticle mediated genetic transformation in plants. J. Mater. Chem. 22, 3500–3507
- Novartis., 1997. <http://www.syngentaprofessionalproducts.com/to/prod/primo/>. (Accessed 01.08.2014)
- Oloumi, H. Soltaninejad, R. Baghizadeh, A., 2015. The comparative effects of nano and bulk size particles of CuO and ZnO on glycyrrhizin and phenolic compounds contents in *Glycyrrhiza glabra* L. Seedlings. Indian J. Plant Physiol. 20, 157–161.
- Ou, G. Wang, WC. Nguyen, HT., 1989. Inheritance of somatic embryogenesis and organ regeneration from immature cultures of winter wheat. Theor. Appl. Genet., 78: 137-142.
- Pankhurst, Q. A. Connolly, J. Jones , S. K. Dobson, J., 2003. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. J. Phys. D: Appl. Phys. 36, R167–R181.
- Parak, W. J. Gerion, D. Pellegrino, T. Zanchet, D. Micheel, C. Williams, S. C. Boudreau, R. Le Gros, M. A. Larabell, C. A. Alivisatos, A. P., 2003. Biological applications of colloidal nanocrystals. Nanotechnology, 14, R15–R27.
- Park, H. J. Kim, S. H. Kim, H. J. Choi, S. H., 2006. A New Composition of Nanosized Silica-Silver for Control of Various Plant Diseases. Plant Pathol. J. 22, 295
- Parrott, WA. Merkle, SA. Williams, EG., 1993. Somatic embryogenesis: Potential for use in propagation and gene transfer systems. In: Murray DR (ed), Advanced Methods in Plant Breeding and Biotechnology, pp. 158-200, C.A.B International, UK.
- Pasupathy, K. Lin, S. Hu, Q. Luo, H. Ke, P. C., 2008. Direct plant gene delivery with a poly(amidoamine) dendrimer. Biotechnol. J. 3, 1078–1082.
- Peng, J. Hodges, TK., 1989. Genetic analysis of plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). In Vitro Cell. Dev. Biol. 25: 91-94.
- Poborilova, Z. Opatrilova, R. Babula, P., 2013. Toxicity of aluminium oxide nanoparticles demonstrated using a BY-2 plant cell suspension culture model. Environ. Exp. Bot. 91, 1–11
- Purnhauser, L., P. Medgyesy, M. Czako, P. J. Dix and L. Marton. 1987. Stimulation of shoot regeneration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. tissue cultures using the ethylene inhibitor AgNO₃. Plant Cell., 6: 1-4.
- Qin, Y. H. da Silva, J. A. T. Bi, J. H. Zhang, S. L. Hu, G. B., 2011. Response of in vitro strawberry to antibiotics. Plant Growth Regul. 65, 183–193.
- Reish, B. Bingham, ET., 1980. The genetic control of bud formation from callus cultures of diploid alfalfa. Plant Sci. Lett., 20: 71-77.

- Rickman, D., Luvall, J. C., Shaw, J., Mask, P., Kissel, D. and Sullivan, D., 2006. Precision agricultured: changing the face of farming. Nanoforum Report, Institute of Nanotechnology.
- Roco MC. International perspective on government nanotechnology funding in 2005. J Nanopart Res 2005; 7: 707-12.
- Rode, A. Hartman, C. De Buyser, J. Henry, Y., 1988. Evidence for a direct relationship between mitechondrial genome organization and regeneration ability in hexaploid wheat somatic tissue cultures. Curr. Genet., 14: 387-394.
- Ruttkay-Nedecky, B. Krystofova, O. Nejdl, L. Adam, J., 2017. Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity. NanoBiotechnology 15:33
- Ruttkay-Nedecky, B. Krystofova, O. Nejdl, L. Adam, V., 2017. Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity. J. Nanobiotechnol. 15, 33, DOI: 10.1186/s12951-017- 0268-3.
- Sarmast, M. K. Niazi, A. Salehi, H. Abolimoghadam, A.,2015. Silver nanoparticles affect ACS expression in *Tecomella undulata* in vitro culture. Plant Cell, Tissue Organ Cult. 121, 227–236
- Scott, R.S. and Chen, H., 2002. Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems. Over-view of USDA/CSREES Nanotechnology Programs. The US Department of Agriculture. [http://www.csrees.usda.gov/nea/technology/pdfs/Overview of USDA.pdf](http://www.csrees.usda.gov/nea/technology/pdfs/Overview%20of%20USDA.pdf) (Accessed 01.08.2014)
- Sehirali, S. ve M. Özgen, 1998. Bitki ıslahı, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları:1059, Ders kitabı: 310, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara 261 s.
- Sharma, P. Bhatt, D. Zaidi, M. G. H. Saradhi, P. P.. Khanna, P. K Arora, S.,2012. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*. Appl. Biochem. Biotechnol. 167, 2225–2233.
- Siddiqui, M. H. Al-Whaibi, M. H.,2014. Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicum esculentum* seeds Mill.). Saudi J. Biol. Sci. 21, 13–17
- Sivanesan, I. Park, S. W., 2015. Optimizing factors affecting adventitious shoot regeneration, in vitro flowering and fruiting of *Withania somnifera* (L.) Dunal. Ind. Crops Prod. 76, 323– 328.
- Sivanesan, I. Jeong, B. R.,2012. Identification of somaclonal variants in proliferating shoot cultures of *Senecio cruentus* cv. Tokyo Daruma. Plant Cell, Tissue Organ Cult. 111, 247–253.
- Sivanesan, I. Saini, R. K. Noorzai, A. J. Zamany and D. H. Kim.,2016. In vitro propagation, carotenoid, fatty acid and tocopherol content of *Ajuga multiflora* Bunge. 3 Biotech. 6, 91
- Sivanesan,I. Saini, R. K. Kim, D. H.,2016. Bioactive compounds in hyperhydric and normal micropropagated shoots of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. Ind. Crops Prod. 83, 31–38.
- Soenen, S. J. Rivera-Gil, P. Montenegro, J. M. Parak, W. J. De Smedt, S. C. Braeckmans, K.,2011. Cellular toxicity of inorganic nanoparticles: Common aspects and guidelines for improved nanotoxicity evaluation. Nano Today. 6, 446–465
- Spinoso-Castillo, J. L. Chavez-Santoscoy, R. A. Bogdanchikova, N. P´erez-Sato, J. A. Morales-Ramos, V. Bello-Bello, J. J.,2017. Antimicrobial and hormetic effects of silver nanoparticles on in vitro regeneration of vanilla (*Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews) using a temporary immersion system. Plant Cell, Tissue Organ Cult. 129, 195–207.

- Syu, Y. Hung, J. H. Chen, J. C. Chuang, H., 2014. Impacts of size and shape of silver nanoparticles on *Arabidopsis* plant growth and gene expression. *Plant Physiol. Biochem.* 83, 57–64.
- Talankova-Sereda, T. E. Liapina, K. V. Shkopinskij, E. A. Ustinov, A. I. Kovalyova, A. V. Dulnev, P. G. Kucenko, N. I., 2016. The influence of Cu and Co nanoparticles on growth characteristics and biochemical structure of *Mentha longifolia* in vitro. *Nanosci Nanoeng* 4:31–39
- Talankova-Sereda, T. E. Liapina, K. V. Shkopinskij, E. A. Ustinov, A. I. Kovalyova, A. V. Dulnev, P. G. Kucenko, N. I., 2016. The Influence of Cu и Co Nanoparticles on Growth Characteristics and Biochemical Structure of *Mentha Longifolia*. In *Vitro Nanosci. Nanoeng.* 4, 31–39.
- Tambarussi, E. V. Rogalski, M. Nogueira, F. T. S. Brondani, G. E. De Martin, V. F. Carrer, H., 2015. Influence of antibiotics on indirect organogenesis of Teak. *Ann. Forest Res.* 58, 177–183.
- Tan, X. M. Lin, C. Fugetsu, B., 2009. Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on suspension rice cells. *Carbon.* 47, 3479–3487.
- Teixeira da Silva, G. A. Duong, T. Michi, T. Seiichi, F., 2003. The effect of antibiotics on the in vitro growth response of *chrysanthemum* and tobacco stem transverse thin cell layers (tTCLs). *Sci. Hortic.* 97, 397–410.
- Thorpe, T., 2007. History of plant tissue culture. *Mol. Biotechnol.* 37, 169–180
- Torney, F. Trewyn, B. G. Lin, K. Wang, V. S., 2007. Mesoporous silica nanoparticles deliver DNA and chemicals into plants. *Nat. Nanotechnol.* 2, 295–300.
- Torney, F., Trewyn, B., Lin, V. S. Y. and Wang, K., 2007. Mesoporous silica nanoparticles deliver DNA and chemicals into plants. *Nature Nanotechnology*, 2: 295-300.
- Tripathi, D. K. Shweta, S. Singh, S. Pandey, R. Singh, V. P. Sharma, N. C., Prasad, S. M. Dubey, N. K. Chauhan, D. K., 2017. An overview on manufactured nanoparticles in plants: Uptake, translocation, accumulation and phytotoxicity. *Plant Physiol. Biochem.* 110, 2–12.
- Wang, L. Hu, C. Shao, L., 2017. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int. J. Nanomed.* 12, 1227–1249.
- Wang, P. Lombi, E. Zjao, F. J. Kopittke, P. M., 2016. Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences. *Trends Plant Sci* 21(8):699–712
- Wang, P. Lombi, E. Zjao, F. J. Kopittke, P. M., 2016. Nanotechnology: A New Opportunity in Plant Sciences. *Trends Plant Sci.* 21, 1–12
- Willman, M. R. Scroll, S. M. Hodges, T. K., 1989. Inheritance of somatic embryogenesis and plantlet regeneration from primary (Type 1) callus in maize. *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 25: 95-100.
- Yan, H. Park, S. H. Finkelstein, G. Reif, J. LaBean, T., 2003. DNA-Templated Self-Assembly of Protein Arrays and Highly Conductive Nanowires. *Science.* 301, 1882–1884.
- Zafar, H. Ali, A. Ali, J. S. Haq, I. U. Zia, M., 2016. Effect of ZnO Nanoparticles on *Brassica nigra* Seedlings and Stem Explants: Growth Dynamics and Antioxidative Response. *Front. Plant Sci.* 7, 535, DOI: 10.3389/fpls.2016.00535
- Zhang, W. Niu, X. Chen, L. Yuan, F. Zhu, Y., 2016. Soot Combustion over Nanostructured Ceria with Different Morphologies, *Sci. Rep.* 6 29062. <https://doi.org/10.1038/srep29062>.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı :	Kübra SARIGÜL
Doğum tarihi :	
Doğum Yeri :	
Uyruğu :	
Adres :	
Tel :	
E-mail:	
Eğitim	
Lise :	Milli egemenlik Anadolu lisesi
Lisans :	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla bitkileri
Yüksek lisans :	Atatürk üniversitesi Ziraat fakültesi Tarla bitkileri tahıllar ve yemeklik baklagiller
Doktora :	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce :	Orta
Almanca :	Az
Rusça :	
Diğer	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Erzincan Ziraat mühendisleri Odası	