



**TİTANYUM VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLER İLE ENDÜSTRİYEL
KENEVİR BİTKİSİNDE İN VİTRO ELİSİTASYON**

Özlem AKGÜR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIM BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**SİVAS BİLİM VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2022

ETİK BEYAN

Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

.....
Özlem AKGÜR
25/08/2022

TİTANYUM VE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLER İLE ENDÜSTRİYEL KENEVİR BİTKİSİNDE *İN VİTRO* ELİSİTASYON

(Yüksek Lisans Tezi)

Özlem AKGÜR

SİVAS BİLİM ve TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2022

ÖZET

Global olarak yüksek tohum ve lif verimine sahip olan oldukça önemli olan endüstriyel kenevir (*Cannabis sativa* L.) bitkisi bu çalışmada kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda çimlenmesi, büyümesi, biyokimyasal ve moleküler varyasyonu etkilerin araştırılması hedeflenmiştir. Bitki materyali olarak bir adet Narlısaray popülasyonu ve bir adet Narlı çeşidi tohumları kullanılmıştır. Yüzey sterilizasyonu için %70'lik EtOH ve %0.1 HgCl₂ kullanılarak iki aşamalı bir protokol geliştirilmiştir. Ardından tohumlar, 48 saat boyunca %2'lik H₂O₂ h/h ile muamele edilmiştir. Daha sonra tohumları farklı konsantrasyon ve tip nanopartikül içeren içeren MS ortama kültüre alınmıştır. 17 günlük *in vitro* kültür sonunda fizyolojik parametreler; çimlenme (%), sürgün uzunluğu (cm), kök uzunluğu (cm), ve sürgünlerin yaş ağırlığı (mg) belirlenmiştir. Benzer şekilde, farklı tip NP ve bunların konsantrasyonlarının *in vitro* koşullar altında gelişen kenevir bitkilerinin büyüme üzerindeki etkilerini kontrol etmek için klorofil a ve b, toplam karotenoidler ve MDA içerikleri gibi biyokimyasal parametreler de incelenmiştir. Bununla birlikte, iPBS-retrotranspozon primerleri kullanılarak genetik varyasyonları da incelenmiştir. Ag NP'lerin çimlenme üzerinde olumsuz etkileri izlenirken, TiO₂ NP kontrol ile hemen hemen benzer çimlenme etkileri göstermiş olup, kıyasla kök uzunluğu bakımından her iki tip NP'den olumsuz etkileri incelenmiştir. Her iki tip NP takviyesi de kontrole kıyasla daha yüksek yaş ağırlık ile daha uzun sürgünlerin oluşumuna sebep olmuşlardır. *In vitro* koşullarda yetiştirilen bitkilerin biyokimyasal analizine ilişkin sonuçlarda aralarında önemsiz farklılığı bulunurken kontrol muameleler deki bitkilerine kıyasla her iki tipi NP'nin arasında önemli derecede farklı etki izlenmiştir. Tüm retrotransposan primerler ile kenevir klonları arasında polimorfizm izlenmiş olup, genetik varyasyonların varlığı tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 121301

Anahtar Kelimeler : Endüstriyel kenevir, *In vitro*, Nanopartiküller, Biyokimyasal profileme, Genetik varyasyon

Sayfa Adedi : 58

Danışman : Prof. Dr. Muhammad ASIM

IN VITRO ELICITATION OF INDUSTRIAL HEMP WITH TITANIUM AND SILVER NANOPARTICLES

(M. Sc. Thesis)

Özlem AKGÜR

SİVAS UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

August 2022

ABSTRACT

Industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) was used in this study, which is globally very important due to its high seed and fiber yield. The study aimed to investigate the factors affecting plant germination, growth, biochemical and molecular variation under *in vitro* conditions. The seeds of Narlısaray hemp population and Narlı hemp line were used as plant material. A two-step protocol was used for surface sterilization using 70% EtOH and 0.1% HgCl₂. Thereafter, the seeds were treated with 2% H₂O₂ v/v for 48 hours and the seeds were cultured on MS medium containing different types of nanoparticle and concentrations. At the end of 17-day *in vitro* culture, physiological parameters; germination (%), shoot length (cm), root length (cm), and shoot fresh weight (mg) were determined. Similarly, biochemical parameters such as chlorophyll a, chlorophyll b, total carotenoids and MDA contents were also recorded. The effects of genetic variation using iPBS-retrotransposon primers was also studied. Ag NPs had a negative effect on germination, TiO₂ NP gave almost identical germination (%) in comparison to the control. Root length also showed negative effect of both types of NPs compared to the control. Both NP supplements yielded longer shoots with a higher fresh weight compared to the control. The results for biochemical analysis of plants grown under *in vitro* conditions were non significant, but a variable effect of both NPs was demonstrated compared to control treatments. All primers showed polymorphism among the cannabis clones and confirmed the presence of genetic variations.

Science Code : 121301

Key Words : Industrial hemp, In vitro, Nanoparticles, Biochemical profiling,
Genetic variation

Page Number : 58

Supervisor : Prof. Dr. Muhammad ASIM

TEŞEKKÜR

[Yüksek lisans eğitim sürecimde bana bilgisiyle yol gösteren, desteğini ve emeğini esirgemeyen, özverili tutumu ve olumlu tavrıyla beni yönlendiren ve yüreklendiren, tez danışmanım sayın Prof. Dr. Muhammad ASIM'a ve tez çalışmalarında yardımını esirgemeyen, bilgisi ve desteğiyle bana çok yardımcı olan sayın Dr. Öğretim Üyesi Muhammad Azhar NADEEM'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Özellikle tezimin yoğun emek isteyen uzun ve yorucu laboratuvar çalışmalarında bana destek ve yardımcı olan yüksek lisans arkadaşlarım Büşra YILDIRIM ve Pınar BEKİŞ'e teşekkür ederim. Son olarak, hayatım boyunca beni destekleyen ve her zaman yanımda olan sevgili ailem Cahide AKGÜR ve Ahmet AKGÜR'e, stresli zamanlarımda yanımda olan, tez çalışmamı hazırlarken her aşamada bana yardımcı olan sevgili nişanlım Kuday ATALAN'a sonsuz teşekkür ederim.]

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
RESİMLERİN LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Bitki Materyali ve Nanopartikül Temini.....	14
3.2. Deneme Yeri	14
3.3. Büyüme Ortamları ve Nanopartiküllerin Uygulanması	14
3.4. Yüzey Sterilizasyonu, Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Uygulamaları ve Büyüme Koşulları	15
3.5. Eksplantların İn Vitro Kültürü	16
3.6. Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi	17
3.6.1. Taze ağırlık miktarının ölçülmesi	17
3.6.2. Fenotipik özelliklerin (kök ve sürgün uzunluğu) belirlenmesi	17
3.6.3. Fotosentetik pigment analizi	17
3.6.4. Lipit peroksidasyonunun belirlenmesi	17
3.7. DNA İzolasyonu ve iPBS Markörleri	18
3.8. İstatiksel Değerlendirme	18
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	20

4.1. Narlısaray Kenevir Popülasyonunda İn Vitro Koşullarda Fenotipik Özelliklerin Belirlenmesi	20
4.2. Narlısaray Kenevir Popülasyonunda İn Vitro Koşullarda Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi.....	22
4.3. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Sürgün Oluşumu	24
4.4. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Sürgün Uzunluğu	27
4.5. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Kök Uzunluğu	29
4.6. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Toplam Uzunluk	31
4.7. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Sürgün/ Kök Uzunluğu Oranı	33
4.8. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Yaş Ağırlık Miktarı.....	34
4.9. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Fotosentetik Pigment Miktarı	35
4.9.1. İn vitro koşullarda klorofil-a miktarı	36
4.9.2. İn vitro koşullarda klorofil-b miktarı	37
4.9.3. İn vitro koşullarda toplam karotenoid miktarı	38
4.10. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Lipit Peroksidasyonu Miktarı.....	40
4.11. Narlısaray Kenevir Popülasyonunda PCR Sonuçları ve iPBS Markörleri.....	42
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR	48

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.7.1. Endüstriyel kenevir (<i>Cannabis sativa</i>) arasındaki genetik varyasyonu incelemek için kullanılan iPBS-retrotranspozon primerlerinin listesi	18
Çizelge 4.1. Farklı nanopartiküllerin in vitro koşullarda kenevir bitkisinin fenotipik özelliklerine etkisi	21
Çizelge 4.2. Nanopartikül tiplerinin ve konsantrasyonun in vitro koşullarda kenevir bitkisinin fenotipik özelliklerine etkisi	21
Çizelge 4.3. Farklı nanopartiküllerin in vitro koşullarda kenevir bitkisinde biyokimyasal parametrelere olan etkisi	23
Çizelge 4.4. Nanopartikül tiplerinin ve konsantrasyonun in vitro koşullarda kenevir bitkisinde biyokimyasal parametrelere olan etkisi	23
Çizelge 4.5. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün oluşumuna (%) ait varyans analizi	25
Çizelge 4.6. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün oluşumuna (%) etkisi	25
Çizelge 4.7. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün uzunluğuna (cm) ait varyans analizi	27
Çizelge 4.8. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün uzunluğuna (cm) etkisi	28
Çizelge 4.9. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının kök uzunluğuna (cm) ait varyans analizi	29
Çizelge 4.10. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının kök uzunluğuna (cm) etkisi	30
Çizelge 4.11. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam uzunluğa (cm) ait varyans analizi	31
Çizelge 4.12. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam uzunluğa (cm) etkisi	31
Çizelge 4.13. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün/ kök uzunluğu oranına ait varyans analizi	33
Çizelge 4.14. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün/ kök uzunluğu oranına etkisi	33

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.15. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının yaş ağırlığa (mg) ait varyans analizi.....	34
Çizelge 4.16. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının yaş ağırlığa (mg) etkisi	35
Çizelge 4.17. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-a (mg/g)'ya ait varyans analizi.....	36
Çizelge 4.18. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-a (mg/g)'ya etkisi ..	36
Çizelge 4.19. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-b (mg/g)'ye ait varyans analizi.....	37
Çizelge 4.20. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-b (mg/g)'ye etkisi ..	38
Çizelge 4.21. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam karotenoidlere ait varyans analizi	39
Çizelge 4.22. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam karotenoidlere etkisi	40
Çizelge 4.23. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının lipit peroksidasyonuna ait varyans analizi	40
Çizelge 4.24. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının lipit peroksidasyonuna etkisi	41
Çizelge 4.25. iPBS-retrotranspozon primerleri kullanılarak endüstriyel kenevir (<i>Cannabis sativa</i>) arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesi için hesaplanan çeşitlilik parametreleri	42

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 1.1. <i>Cannabis sativa</i> bitki tipleri (a) ilaç ve, (b) lif tipi bitkileri (Chandra ve diğerleri, 2017)	2
Resim 3.1. Otoklav işleminden sonra Ag NP eklenmiş ortamlar	15
Resim 3.2. Otoklav işleminden önce TiO ₂ NP eklenmiş ortamlar	15
Resim 3.3. %2'lik H ₂ O ₂ muamelesinden sonra ekimi yapılan tohumlar (Kontrol ve Ag NP ortamları).....	16
Resim 3.4. %2'lik H ₂ O ₂ muamelesinden sonra ekimi yapılan tohumlar (TiO ₂ NP ortamları)	16
Resim 4.1. İn vitro koşullarda Narlı çeşit adayı kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) Ag NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu.....	26
Resim 4.2. İn vitro koşullarda Narlı çeşit adayı kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) TiO ₂ NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu.....	27
Resim 4.3. Narlı çeşit adayı kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) Ag NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu	30
Resim 4.4 Narlı çeşit adayı kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) TiO ₂ NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu	32
Resim 4.5. Endüstriyel kenevirin in vitro bitkilerinde NaN ₃ polimorfizmine dayanan iPBS primerlerine genel bakış.....	43

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µg/ml	Mikrogram/ mililitre
bp	Baz çifti
g	Gram
g/L	Gram/litre
ha	Hektar
kg/da	Kilogram/dekar
L	Litre
mg	Miligram
mg/L	Miligram/litre
N	Normal
nm	Nanometre
nmol/g	Nanomol/gram
ppm	Milyonda bir
rpm	Dakikadaki devir sayısı
v/v	Hacimce yüzde

Kısaltmalar	Açıklamalar
Ag	Gümüş
AgNO ₃	Gümüş nitrat
Al ₂ O ₃	Alüminyum oksit

Au	Altın
BW	Brom su
CaOCl	Kalsiyum hipoklorit
CBD	Cannabidiol
CeO₂	Seryum (IV) oksit
CTAB	Setil trimetilamonyum bromür
Cu	Bakır
CuO	Bakır (II) oksit
dH₂O	Distile su
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EtOH	Etanol
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
FAOSTAT	Gıda ve Tarım Örgütü Kurumsal İstatistik Veri Tabanı
Fe₃O₄	Demir oksit
g	Yerçekimi
H₂O₂	Hidrojen peroksit
HCl	Hidroklorik asit
HgCl₂	Cıva klorür
IBA	İndol bütirik asit
K	Potasyum
LED	Light Emitting Diod- Işık Yayan Diyot
MDA	Malondialdehit
MgO	Magnezyum oksit
MÖ	Milattan önce
MS	Murashige ve Skoog besin ortamı
NAA	Naftalin asetik asit
NaOCl	Sodyum hipoklorit
NaOH	Sodyum hidroksit
Ni	Nikel
NP	Nanopartikül
ör.	Örneğin
P	Fosfor
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

Pd	Paladyum
pH	Asitlik- alkalilik faktörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
Si	Silisyum
SiO₂	Silyum dioksit
TBARS	Tiyobarbitürat reaktif maddeler
TDZ	Thidiazuron
THC	Tetrahidrokannabinol
TiO₂	Titanyum dioksit
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
vb.	ve benzeri
ZnO	Çinko oksit

1. GİRİŞ

Cannabaceae (Kendirgiller), familyası çiçekli bitkiler sınıfından küçük bir bitki familyasıdır. Familya, yaklaşık olarak 11 cinste gruplandırılmış 170 tür içermektedir. *Celtis* (Çitlembik) cinsi yaklaşık 100 tür içermektedir ve familyadaki açık ara en büyük cins olarak nitelendirilmektedir. Cannabaceae, taksonomik sınıflandırmada Rosales takımında yer almaktadır. Familyanın üyeleri, taç yaprakları olmayan çiçekleri ve kuru, tek tohumlu meyveleri olan dik veya tırmanabilen bitkilerdir. Kenevir (*Cannabis*) ve şerbetçiotu (*Humulus*) ekonomik açıdan en önemli türler olarak bilinmektedir. Ortak bir evrimsel köken dışında, familyanın üyelerinin çok az ortak özelliği vardır; bazıları ağaç yapısındadır (ör. *Celtis*), diğerleri otsu bitkilerdir (ör. *Cannabis*) (Anonim, 2021a).

FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü) verilerine göre 2020 yılında kenevirin, dünya çapında 10 552 ha'lık bir alanda yetiştiriciliği yapılmış ve toplam üretim 5449 ton olmuştur. 2020 yılı kenevir üretimi bakımından ülkeler sıralandığında, birinci sırada Rusya Federasyonu (3128 ton), ikinci sırada Şili (1515 ton) ve üçüncü sırada Ukrayna (596 ton) yer almaktadır. (FAOSTAT, 2021). Türkiye'nin kenevir ekim alanı, üretim ve tohum verimi 2020 yılında sırasıyla 4 252 da, 273 ton ve 64 kg/da'dır (TÜİK, 2021). Kenevir, hem farmasötik (tıbbi) hem de lif amaçlı kullanılan tek yıllık, dikotiledonlu, çiçekli, geniş bir adaptasyon yeteneğine sahip, tropik iklimlerden Alplere kadar dünyanın hemen hemen her yerinde yetiştiriciliği yapılabilen oldukça faydalı bir endüstriyel bitkidir (Pertwee, 2014). Tohum yağı, sarhoş edici reçine, ilaç ve tekstil lifi için en eski bitki kaynaklarından biridir (Zuardi, 2006). Arkeolojik kanıtlar, kenevir yetiştiriciliğinin, ilk olarak Çin'de lif ürünü amaçlı ortaya çıktığını ve 16. yüzyılın başlarında Orta Doğu, Avrupa ve Güney Amerika'ya yayıldığını göstermektedir (Nelson, 1996). Bu tür, binlerce yıldır insanlar tarafından yayıldığı ve değiştirildiği için orijinal coğrafi dağılımını kesin olarak belirlemek zordur.

Cannabis, Tetrahidrokannabinol (THC) konsantrasyonu $>0,5\%$ ve cannabidiol (CBD) konsantrasyonu $<0,5\%$ ise fenotip I (ilaç tipi); ana kannabinoid olarak CBD ile, THC de çeşitli konsantrasyonlarda bulunur ise fenotip II (orta tip); ve özellikle düşük THC içeriğine sahip fenotip III (lif tipi veya kenevir) olarak üç ana biyotipe ayrılmaktadır (Chandra, Lata, Khan ve ElSohly, 2017).



Resim 1.1. *Cannabis sativa* bitki tipleri (a) ilaç ve, (b) lif tipi bitkileri (Chandra ve diğeri, 2017)

Global olarak, yüksek THC (ilaç tipi, psikoaktif) ve düşük THC (lif tipi, endüstriyel kenevir) kenevir türleri son yıllarda tıbbi, gıda ve diğeri çeşitli tüketim pazarlarında büyük ilgi görmektedir.

Kenevir bitkisinin yetiştiriciliğı ve kùltürü, tropik ve ılıman bölgelerde yapılmaktadır. Kenevir, sıcaklık, gün uzunluğu gibi değışen çevre şartlarına hassas bir bitki olarak bilinmektedir ve bu çevre şartlarına farklı tepkiler verip farklı büyüme şekilleri gösterir (Aytaç, Arslanoğlu ve Ayan, 2018). Buna örnek olarak, sık yetiştiriciliğı yapılan kenevirlerde THC oranı düşük kalırken gün ışığını daha çok alan, seyrek yetiştirilen kenevirden daha yüksek oranda THC alınabilmesi bilinmektedir. Kenevir, kazık kök yapısına sahip bir bitkidir ve kök sistemi gelişmiştir. Kenevir sapları ise sert, otsu bir yapıya sahip olup çeşide ve yetiştigi koşullara bağılı olarak boyu 1- 6 metre arasında değışebilmektedir. Erkek kenevir bitkilerinde boy, diři bitkilere göre daha uzundur. Kenevir bitkisinde diři ve erkek çiçekler farklı bitkilerde bulunmaktadır, bu nedenle kenevir, dioik (iki evcikli) bir bitkidir. Erkek bitkilerde, yaprak koltuklarında, sarı-yeşil görünümlü erkek çiçeklerden oluşan seyrek yapılı çiçek salkımları; diři bitkilerde ise yaprak koltuklarında yeşil renkte diři çiçeklerden oluşan sık yapıda çiçek demetleri bulunmaktadır. Diři bitkilerin lif verimi daha yüksektir ve sap kalınlığı erkek bitkilere göre daha fazladır. Erkek bitkilerde

ise, lif verimi daha düşük olmakla birlikte lif kalitesi dişi kenevirlere göre daha yüksektir. Diři bitkilerde yapraklar, daha yoğun olarak bulunurken; erkek bitkilerde daha seyrek yapıda yapraklar görölmektedir. Kenevir bitkisinin yaprakları bir sap üzerinde, en uzun ortada olmak üzere, her iki yana doğru kısalan boylarıyla, 3-11 dar yaprakçığın aynı noktada ve dipte birleşmesinden oluşmaktadırlar. Yaprakçıkların kenarları kabaca dişli olup dar ve uzun yapıdadır (Anonim, 2021b).

Kenevir lifleri ve tohumları tekstil, kağıt yapımı, otomotiv, petrol, biyo-yakıt, inşaat ve kozmetik gibi çeşitli endüstriler için önemli bir hammadde olarak kullanılmaktadır. (Alden, Proops ve Gay, 1998; Salentijn, Zhang, Amaducci, Yang ve Trindade, 2015). Kenevir bitkisi, tümü oldukça yüksek bir ekonomik değere sahip olan flavonoidler, alkaloidler, fenolikler ve ligninler gibi sekonder metabolitlerin sentezi için gerçek bir kaynaktır (Flores-Sanchez ve Verpoorte, 2008a). Kenevir ürününe olan talep, endüstriyel kenevirden elde edilen psikoaktif olmayan kanabinoidler için milyarlarca dolarlık bir sektör de dahil olmak üzere tüm dünyada genişleyen bir oranda artmaktadır (Monthony, Page, Hesami ve Jones, 2021). Bununla birlikte, üretim, endüstrinin talebini karşılayacak kadar iyi değildir. Türkiye’de 2016’da resmi gazetede yayınlanan tebliğ ile birlikte; Zonguldak, Yozgat, Tokat, Sinop, Samsun, Rize, Uşak, Ordu, Malatya, Kütahya, Kayseri, Kastamonu, Karabük, İzmir, Çorum, Burdur, Bartın, Antalya ve Amasya’da kenevir yetiştiriciliği serbest hale gelmiştir. Bununla birlikte, Sivas Valiliği’nin 06.01.2021 tarih ve E-27 145502-160.99-3718439 sayılı yazıya göre Sivas ilinde kenevir yetiştiriciliği yapmak için izin alınmıştır. Ayrıca, bilimsel araştırma amacıyla belirlenen bölgeler dışında, ana veya tali bitki olarak kenevir yetiştiriciliği için Tarım ve Orman Bakanlığı’nca izin alınabilmektedir. Türkiye’de tescilli ve üretim izinli kenevir çeşidi bulunmazken, kenevir endüstrisinin giderek zayıflaması nedeniyle ekim alanları da hızla azalmaktadır. İstenilen özelliklere sahip yeni elit çeşitlerin geliştirilmesi ile birlikte ekili alanın arttırılmasına ihtiyaç vardır. Bu amaca klasik ıslahla veya bitki doku kültürü gibi modern biyoteknolojik tekniklerle ulaşılabilir. Bitki doku kültürü, daha iyi gıda, yakıt, lif ve yem gibi niteliklere sahip ürünlerin geliştirilmesine olanak sağlayan önemli bir biyoteknoloji tekniğidir (Chandran, Meena, Barupal ve Sharma, 2020). Aseptik koşullar altında hazırlanan yapay bir besin ortamında (katı veya sıvı), çeşitli bitki eksplantları, bitkinin meristematik hücreleri, kallus hücreleri, apikal meristem, kökler gibi çeşitli bitki bölümlerinden yeni bitki, doku veya metabolitler üretilmesi bitki doku kültürü olarak adlandırılmaktadır (Babaoğlu, Gürel ve Özcan, 2001).

Kenevir, binlerce yıldır tıbbi ve eğlence amaçlı olarak kullanılmaktadır, ancak son zamanlarda içeriğindeki bileşiklerin yalnızca bir kısmı belirlenebilmiştir. Kenevir, tümü ticari değeri olan alkaloidler, flavonoidler, ligninler ve fenolikler gibi sekonder metabolitlerin üretimi için mükemmel bir bitki olarak bilinmektedir. (Flores-Sanchez ve Verpoorte, 2008a). Bugüne kadar, kenevirin 100'den fazla fitokannabinoid içeren 550'den fazla farklı kimyasal bileşik içerdiği bulunmuştur (Rock ve Parker, 2021). Bitkinin temel metabolizması yağ asitleri, amino asitler ve steroidlerden oluşurken, ikincil metabolizma kanabinoidler, terpenler, flavonoidler, stilbenoidler ve alkaloidlerden oluşur. Birbirine bağlı birkaç faktör, bu kimyasalların miktarını ve oranını kontrol etmektedir. Bireysel bileşen konsantrasyonları büyük ölçüde bitki genotipi ile değil, aynı zamanda fizyolojik durum ve büyüme koşulları ile de belirlenmektedir (Flores-Sanchez ve Verpoorte, 2008b). Kanabinoidler en çok konuşulan ve tartışılan kenevir metabolitleridir (Tremlova ve diğerleri, 2021).

Nanoteknoloji, üreme bilimi ve teknolojisi, gıda ve tarımsal atıkların enerjiye dönüştürülmesi, bitkilerde enzimatik nano-biyo-işleme için çeşitli nanositlerin kullanımı ve hastalıkların önlenmesi gibi tarımsal araştırmaların gelişimini destekleyerek ilerlemesini sağlamaktadır ayrıca nano cihazların ve nano malzemelerin geliştirilmesi, bitki biyoteknolojisi ve tarımda yeni uygulamaların önünü açacaktır (Scrinis ve Lyons, 2007). Nanopartikülleri diğer büyük materyallerden ayıran şey, sadece boyutlarının önemi değil, aynı zamanda nanopartiküllerin, enerji tüketimi, kimyasal reaktiviteleri ve biyolojik hareketlilikleri açısından da büyük maddelerden farklı bir yapı sergilemektedir. Nanokompozit ve metal nanoto gibi nanoparçacıklar barındıran nanopartiküller nanomalzemenin ana parçalarıdır (Nair ve diğerleri, 2010).

Gümüş nanopartiküller (Ag NP'ler), gıda üretimi, ilaç geliştirme, çeşitli terapötik amaçlar, biyomoleküler tespit, antibakteriyel maddeler ve tarımsal amaçları içeren biyolojik uygulamalar için en verimli nanopartiküllerden biri olarak kabul edilmektedir (Fahimirad, Ajallouecian ve Ghorbanpour, 2019). Ag NP'ler, üstün fiziksel özellikleri ve yüksek antibakteriyel yetenekleri ile iyi bilinmekte olup, ev dezenfektan maddeleri, tıbbi cihazlardan su arıtma ürünlerine kadar birçok çeşitli alanda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ag NP'ler, hem gram negatif hem de gram pozitif bakteriler dahil olmak üzere geniş spektrumlu bakterilere karşı etkili bir biyosit olarak bilinmektedir. Ag NP'ler paslanmaz çelik malzemelerin kaplanması, biyosensör olarak, dışçılık malzemeleri, güneş koruyucu

losyonlar ve yanık tedavileri için ilaç, eczacılık ve kozmetik sektörlerinde kullanılabilir. Ag NP'ler; nanofiberlere, çeşitli kaplamalara, tekstillere, ilk yardım bandajlarına ve kendi kendini temizleyen kumaşlara iletken dolgu maddesi olarak eklendiklerinde antifungal, antiviral ve antibakteriyel bir ajan olarak işlev görürler (Yılmaz, 2020).

Yarı iletken özelliğe sahip olan titanyum dioksit (TiO_2), pigmentler, optik filtreler, yansıma önleyici kaplamalar, kimyasal sensörler, katalizörler ve sterilizasyon malzemeleri gibi birçok çeşitli uygulama alanı olan bir materyaldir. Bu geniş uygulama alanı temel olarak TiO_2 'nin elektronik ve yapısal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu malzemenin diğer önemli özellikleri ise yüksek görünür spektrum geçirgenliği, yüksek kırılma indeksi, kimyasal stabilite ve antimikrobiyal aktivite olarak bilinmektedir (Viana, Soares, Mohallem, 2010).

Türkiye'de kenevir; lif, sap ve tohum üretimi gibi birçok farklı amaç için kullanılırken, henüz herhangi bir tescilli çeşidi bulunmamaktadır. Ayrıca, bilimsel çalışma olarak THC'si düşük kenevir çeşitlerinin geliştirilmesi, son zamanlarda oldukça önemli bir hedef haline gelmiştir. Bu kapsamda Türkiye'de farklı kuruluşlar tarafından desteklenen projeler yürütülmektedir. Islah programları arasında, klasik ıslah yöntemlerinin yanı sıra modern biyoteknolojik yöntemler kullanılarak daha kısa sürede bitki ıslahı yapılabilmektedir. Türkiye'de kenevir bitkisinin in vitro çoğaltım çalışmaları yok denecek kadar az olduğu için biyoteknoloji ve moleküler biyoloji teknikleri ile elit çeşitlerin in vitro rejenerasyon optimizasyonu ön plana çıkmaktadır.

Bu çalışma nanopartiküllerin, in vitro koşullarda kenevir bitkisi üzerindeki çimlenmesi, büyümesi, biyokimyasal ve moleküler varyasyonu üzerindeki etkilerini araştırmak için tasarlanmıştır. Bugüne kadar kenevir bitkisinde nanopartiküllerin kullanımıyla ilgili oldukça az çalışma bulunmaktadır. Çalışma aynı zamanda, nanopartiküllerin bitki üzerindeki bilinmeyen yönlerinin keşfedilmesine ve son zamanlarda araştırılmaya başlanan bu alana kaynak sağlamasına yardımcı olacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Kenevir (*Cannabis sativa* L.), çok eski tarihlerden itibaren insanoğlu tarafından kültüre alındığı bilinen, büyük, uzun ve kuvvetli lifleri ile birlikte aynı zamanda tohumu için yetiştirilen bir bitkidir (Aytaç ve diğerleri, 2018). Kenevir, Anadolu topraklarında MÖ 700-800'lü yıllardan itibaren kullanılmaktadır ancak kenevir tarımının MÖ 1500 yılından itibaren Anadolu coğrafyasında yapıldığı bilinmektedir (Gedik, Avinç ve Yavaş, 2010). Pamuk bitkisinin tarımından önce Anadolu'da yaşayan insanların giyecek ve diğer çeşitli lif gereksinimlerinin kenevir ve keten bitkisinden sağlandığı bilinmektedir. Kenevir tarımı Türkiye'de çok eski tarihlere dayanmasına rağmen son yıllarda tarımı oldukça azalmış neredeyse yok olma noktasına gelmiştir. Kenevir, oldukça değerli her yönüyle değerlendirilebilen bir bitki olarak bilinmektedir. Kenevir lifleri çok dayanıklıdır tekstil endüstrisinin yanı sıra günümüzde yapı malzemelerinde ve otomotiv sanayisinde de kendisine geniş bir kullanım alanı bulmaktadır. Aynı zamanda kömür ve odun sıkıntısı yaşanan bölgelerde bitkinin lifleri alınmış odunsu kısımları yakacak materyal olarak kullanılabilir (Aytaç ve diğerleri, 2018). Kenevir saplarında yüksek miktarda P ve K bulunması nedeniyle de küllerinin gübre olarak değeri yüksektir (Turan, 2000). Kenevir lifleri ve tohumları tekstil, kağıt yapımı, otomotiv, petrol, biyo-yakıt, inşaat ve kozmetik gibi birçok endüstri için önemli bir hammadde kaynağıdır (Alden ve diğerleri, 1998; Salentijn ve diğerleri, 2015). Kenevir, tümü ekonomik değere sahip olan flavonoidler, alkaloidler, fenolikler ve ligninler gibi sekonder metabolitlerin sentezi için önemli bir kaynak olarak bilinmektedir (Flores-Sanchez ve Verpoorte, 2008a).

Kenevir ürününe olan talep, endüstriyel kenevirden elde edilen psikoaktif olmayan kannabinoidler için milyarlarca dolarlık bir sektör de dahil olmak üzere, tüm dünyada genişleyen bir oranda artmaktadır (Monthony ve diğerleri, 2021). Ancak üretim, sektörün talebini karşılayacak düzeyde değildir. İstenilen özelliklere sahip yeni elit çeşitlerin geliştirilmesi ile birlikte ekili alanın artırılmasına ihtiyaç vardır. Dünya genelinde bitkilere istenilen özellikleri kazandırmak amacıyla hem geleneksel hem de modern biyoteknolojik araçlar kullanılarak elit çeşitler geliştirilmektedir. Bu amaca klasik ıslah yoluyla veya bitki doku kültürü gibi modern biyoteknolojik tekniklerin yardımıyla ulaşılabilir. Biyoteknolojik yöntemler arasında ön planda olan yöntem in vitro çoğaltım olarak bilinmektedir. Bitki doku kültürü, daha iyi gıda, yakıt, lif ve yem gibi niteliklere sahip ürünlerin geliştirilmesine olanak

sağlayan önemli bir biyoteknoloji tekniğidir (Chandran ve diğerleri, 2020). Kenevir bitkisine bitki doku kültürü gibi biyoteknolojik teknolojilerin uygulanması ve geliştirilmesi, üretimi artırma, hastalığa dayanıklılık, genetik manipülasyon ve fonksiyonel genomik açısından bazı türe özgü sınırlamaların üstesinden gelinmesine yardımcı olacaktır (Hesami ve Jones, 2021; Hurgobin ve diğerleri, 2021).

Bitki ıslah programında, in vitro kültür teknikleri uygulamalarında bitki rejenerasyonu önemli bir adımdır. Kenevir bitkisinde yapılan in vitro rejenerasyon çalışmalarında farklı eksplantlar kullanılmıştır. Apikal ve aksiller meristemleri (Lata, Chandra, Khan ve ElSohly 2016a, b), genç yapraklar (Lata, Chandra, Khan ve ElSohly, 2010) ve kotiledon (Chaohua ve diğerleri, 2016) eksplantlarından yüksek oranda in vitro bitki rejenerasyonu elde edilirken, bazı çalışmalarda ise farklı eksplantlardan in vitro rejenerasyonu elde edilemediği veya elde etmenin zor olduğu rapor edilmiştir. Bu da bitkinin inatçı (rekalsitrant) olduğunu göstermektedir. Kenevir bitkisinde hem in vitro rejenerasyonu hem de ploidi seviyesi için birkaç çalışma bulunmaktadır. Galan-Avila, Garcia Fortea, Prohens ve Herraiz (2020) tarafından yapılan çalışmada, kısa ve nötr kenevir bitkilerinden elde edilen farklı eksplantlar (yaprak, kotiledon ve hipokotil) farklı hormon içeren ortamda kültüre alınmıştır. Hipokotil eksplantları hormon içermeyen ortamda %61,54 sürgün rejenerasyon yüzdesi ve %17,94 köklendirilmiş bitkicikler elde edilmiştir. Ayrıca, yapılan çalışmada tüm çeşitlerin hipokotil ve kotiledonlar eksplantlarda polisomati saptanırken, diploid (>% 80) ve mixoploid (diploid ve tetraploid hücrelerle) bitkiler rapor edilmiştir. Benzer şekilde kenevir bitkisinde in vitro çoğaltım ile elde edilen sürgünlerde genetik stabilitesi Lata ve diğerleri (2016a) tarafından da rapor edilmiştir.

Kenevir bitkisi birçok farklı endüstriyel alanda kullanımı olan bir bitkidir. Kenevirin dioik ve yabancı döllen bir bitki olması nedeniyle ıslah çalışmalarında birçok farklı sorun ile karşılaşmaktadır. Bu nedenle ana ve baba birey olarak kullanılacak genotiplerin klonal yöntemler ile çoğaltılması oldukça önem kazanmaktadır. Klonal çoğaltım için, biyoteknolojik yöntemlerden biri olan mikroçoğaltım uygulaması hem hızlı hem de oldukça başarılı sonuçlar vermektedir. Kısa bir süre içerisinde, aynı özelliklere sahip birçok bitki üretimi yapılabilmektedir (Yaman, 2020). Luwanska ve Wielgus (2009), anter kültürü çalışmalarında, bazı kenevir çeşitlerinde kallus üretimi gerçekleşirken, bazılarında gözlenmediğini bildirmişlerdir. Wang ve diğerleri (2009), yaptıkları çalışmada kenevir sürgün uçlarından yeni bitkiler elde etmek için etkili bir in vitro çoğaltma protokolü

standardize etmişlerdir. 0,2 mg/L TDZ ve 0,1 mg/L NAA içeren MS ortamında maksimum tomurcuk oranı sürgün ucu başına 3,22 idi. Çoğalan tomurcuklar, 0,1 mg/L IBA ve 0,05 mg/L NAA ile takviye edilmiş MS ortamında bitkiler başarılı bir şekilde %85'i köklendirilmiştir. Galan-Avila ve diğerleri (2020) tarafından yapılan çalışmada, kısa ve nötr kenevir bitkilerinden elde edilen farklı eksplantlar (yaprak, kotiledon ve hipokotil) farklı hormon içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Hipokotil eksplantları hormon içermeyen ortamda %61,54 sürgün rejenerasyon yüzdesi ve %17,94 köklendirilmiş bitkicikler elde edilmiştir.

Yetiştirmede kullanılan dikim materyallerinden biri olan doku kültürü klonları, hastalıksız ve tıbbi kenevir üretiminin yanı sıra çeşitli genetik geliştirme yöntemlerinin keşfedilmesi ve uygulanması gibi birçok fayda sunmaktadır. Araştırma veya ticari çoğaltım amaçlı, verimli bitki doku kültürü protokolünün oluşturulması yeni özelliklere sahip yeni çeşitlerin geliştirilmesi için kenevir ıslahı ile birlikte kullanılma potansiyeline sahiptir. Bunun yanı sıra bitki doku kültürü, bitkilerin çimlenmesi, büyümesi, gelişmesi veya in vitro organogenesis üzerindeki etkisini araştırmak için stresörler, nanomalzemeler vb. gibi farklı materyallerin uygulanmasını sunar.

Kenevir üretiminin kısıtlanmasına rağmen, son yıllarda popülerlik kazanan bir bitki olup bu çok işlevli bitki için in vitro rejenerasyon protokolü gibi biyoteknoloji yaklaşımlarıyla ilgili çok sayıda araştırma belgelenmiştir (Hesami ve diğerleri, 2020). Bununla birlikte, bu protokoller, düşük çimlenme, rejenerasyon sıklığı, köklenme ve iklimlendirme ile kenevirin inatçı doğasını açıkça ortaya koymuştur. Ayrıca, düşük çimlenme oranı ile birlikte ekzojenik ve endojenik kontaminasyonun varlığı, kenevirde etkin ve tekrarlanabilir in vitro rejenerasyon protokolünün oluşturulmasını engellemektedir. Bu nedenle, kültür ortamında minimum veya hiç kontaminasyon olmadan yüksek çimlenme oranı elde etmek için in vitro sterilizasyon protokolünün geliştirilmesine ihtiyaç vardır. İn vitro çalışmaların başında yer alan dezenfeksiyon adımı in vitro kültürdeki en önemli aşamalardandır. Bunun sebebi, yüzeysel sterilizasyon aşamasında başarı elde edilmeden, diğer aşamalara geçmenin ve ilerlemenin mümkün olmamasıdır. Sodyum hipoklorit (NaOCl), kalsiyum hipoklorit (CaOCl), etanol (EtOH), cıva klorür (HgCl₂), hidrojen peroksit (H₂O₂), brom su (BW), gümüş nitrat (AgNO₃), fungusitler ve antibiyotikler gibi dezenfektanların konsantrasyonları ve eksplantların bu dezenfektanlara maruz kalma süresi eksplantların kalitesini etkilemektedir (Leifert, Morris ve Waites, 1994). Son zamanlarda, in vitro kültür

çalışmalarında bakteriyel kontaminasyonu önlemek için farklı yöntemler kullanılmaya başlanmıştır. Antibiyotikler, bitkinin büyüyeceği ortamdaki istenmeyen bakteriyel kontaminasyonları önlemek amacıyla otoklavdan sonra besin yerlerine eklenerek kullanılmaktadır. Fakat antibiyotikler bitki büyümesini engelleyen ve geciktiren bir etki (fitotoksiste) gösterebilmektedir. Çeşitli mikroorganizmaları ortadan kaldırmak amacıyla bazı metal ve metal oksit nanopartiküllerin ise yararlı etkilerinin olduğu bilinmektedir (Wang, Hu ve Shao, 2017).

Son yıllarda tohumları su, kimyasallar, sıcaklık, hormonlar vb. gibi farklı uyaranlara maruz bırakarak tohum çimlenmesini artırmak için birçok teknik geliştirilmiştir. Hidrojen peroksit (H_2O_2) stres koşullarında üretilen oksidan kimyasallardan biridir (Sevilgen, 2009). Bitkiler ve H_2O_2 arasındaki ilişki karmaşıktır ancak bitki metabolizması ve bitki gelişimi için oldukça önemlidir. Hidrojen peroksit, oksidatif strese neden olmasının yanı sıra, bitkilerde oksidatif strese direnen özel enzimler tarafından hedeflenen bir sinyal molekülüdür. Hücreleri oksidatif strese maruz bırakmak, bazı fizyolojik bozukluklara, membran geçirgenliğinde değişikliklere yol açabilir ve en kötü senaryoda ise hücre ölümüne yol açabilir (Abbasi, M. Khan, Guo, Bokhari ve M.A. Khan, 2011; Zhang ve diğerleri, 2015). Bu nedenle, bitkilere doğrudan veya dolaylı uygulama sırasında H_2O_2 'nin uygun dozunun ve maruz kalma süresinin seçimi oldukça önemlidir. Bitki doku kültüründe H_2O_2 uygulamasının sterilizasyonu, çimlenmeyi ve rejenerasyon oranını iyileştirdiği ve kontaminasyonu azalttığı bulunmuştur (Aasim, Karatas, Khawar ve Dogan, 2013; Zhang ve diğerleri, 2015; Sorokin, Yadav, Gaudet ve Kovalchuk, 2021). Ayrıca önemli sekonder metabolitler için elisitör olarak kullanılmıştır (Leon-Lopez ve diğerleri, 2020).

Nanoteknoloji, yaklaşık 1 ila 100 nm'lik nano malzemenin davranışlarını anlayıp uygulanmasıyla ilgilenir (Allhoff, 2009). Bu tür bir kontrol, birçok farklı alanda radikal ve temel yeniliklere yol açmaktadır. Gümüş nanopartiküller (Ag NP'ler), gıda üretimi, ilaç geliştirme, çeşitli terapötik amaçlar, biyomoleküler tespit, antibakteriyel ajanlar ve tarımsal amaçlar dahil olmak üzere biyolojik uygulamalar için en etkili nanopartiküllerden biri olarak kabul edilmektedir (Fahimirad, Ajallouei ve Ghorbanpour, 2019). Titanyum dioksit (TiO_2) yarı iletken özellikler sergiler ve yüksek görünür spektrum geçirgenliği, kimyasal stabilite, antimikrobiyal yüksek kırılma indeksi gibi özellikleri nedeniyle farklı alanlarda kullanılmaktadır (Viana ve diğerleri, 2010).

Nanopartiküllerin belirli avantajları nedeniyle bitki doku kültürü çalışmalarında uygulanması son yıllarda araştırmacılar arasında popülerlik kazanmaktadır. Araştırmacıların ana odak noktaları arasında tohum çimlenmesinin geliştirilmesi (Siddiqui ve Al-Whaibi, 2014), bitki büyümesi (Delfani, Baradarn Firouzabadi, Farrokhi ve Makarian, 2014), genetik transformasyon (Torney, Trewyn, Lin ve Wang, 2007), gelişmiş bitki biyoaktif bileşikleri (Oloumi, Soltaninejad ve Baghizadeh, 2015), genetik modifikasyon (Wang, Lombi, Zhao ve Kopittke, 2016; Ruttkay-Nedecky, Krystofova, Nejdil ve Adam, 2017) ve bitki koruma (Park, Kim, Kim ve Choi, 2006; Gupta, Upadhyaya, Singh, Abd- Elsalam ve Prasad, 2018) yer almaktadır. Son yıllarda, nanopartiküllerin in vitro koşullar altında bitki doku kültürü teknikleri kullanılarak bitkilerin sterilizasyonunu, çimlenmesini veya büyümesini etkileyerek, kallus veya sürgün oluşumu, somatik embriyogenez ve antioksidan enzim aktivitelerini değiştirerek kök oluşumunu, gen ekspresyonunu, ROS üretimini etkilediğini ve etilen üretimini engellediği gösterilmiştir. Gümüş (Ag), altın (Au), nikel (Ni), silisyum (Si), silisyum dioksit (SiO_2), titanyum dioksit (TiO_2), demir oksit (Fe_3O_4), alüminyum oksit (Al_2O_3), magnezyum oksit (MgO), çinko oksit (ZnO) ve bakır (II) oksit (CuO) gibi birçok nanopartikül çeşitlerinin farklı birçok mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelere sahip olduğu görülmüştür (Beyth, Houril- Haddad, Domb, Khan ve Hazan, 2015).

Nanopartikül konsantrasyonunun optimum seviyenin üzerinde uygulanması, bitkilerde fitotoksikiteye neden olan ana faktörlerden biri olarak yer almaktadır. Bu fitotoksikliklerin örneklerinden bazıları, CuO nanopartikülleri ile azaltılmış kök uzunluğu (Nair ve Chung, 2015), Seryum (IV) oksit (CeO_2) nanopartikülleri ile azaltılmış bitki biyokütlesi (Frazier, Burklew ve Zhang, 2014) veya TiO_2 ile bitki büyümesini (Morales ve diğerleri, 2013) içerir. Ancak, optimum seviyede yapılan çalışmalarda nanopartiküllerin olumlu etkileri birçok çalışmada rapor edilmiştir.

Tung ve diğerleri (2021), tarafından yapılan çalışmada, gümüş nanopartiküllerin (Ag NP'ler), çilek bitkisinin (*Fragaria x ananassa*) mikroçoğaltımı sırasında eksplant dezenfeksiyonu, in vitro büyüme (sürgün çoğalması ve kök oluşumu) ve etilen birikimi üzerine etkilerini incelemiştir. Üç aylık ex vitro yapraklar önce, akan musluk suyu altında yıkanmış, ardından 30 saniye boyunca %70'lik alkol ile muamele edilmiş ve daha sonra 3 kez steril distile su ile yıkanmış ve farklı konsantrasyonlarda Ag NP solüsyonları ile (50, 100, 200 ve 500 mg/L) 5, 10, 15, 20 ve 30 dakika boyunca dezenfekte edilmiştir. Kontrol grubu bitkilerinin sterilizasyonu ise 4 dakika boyunca 1 g/L HgCl_2 ile yapılmıştır. Sonuçlar,

20 dakika boyunca 200 mg/L Ag NP çözeltisi ile muamele edilmiş yaprak eksplantlarının, eksplant dezenfeksiyonunda ve sürgün rejenerasyonunda 1 g/L HgCl₂ kullanmaktan daha etkili olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, Ag NP'ler sürgün ve bitkicik büyümesini uyarmış, ayrıca mikroçoğaltım sırasında Ag NP bulunmayan kontrol grubu bitkilerine kıyasla kök oluşum süresini (4 gün) kısaltmıştır. Ayrıca Ag NP'ler kontrollere kıyasla (sırasıyla 1,77 ppm; 0,15 ppm) kültürün sürgün (0,66 ppm) ve bitki (0,06 ppm) kanallarındaki etilen gazı birikimini azaltmıştır.

Silika-gümüş nanopartikülleri kullanılan bir çalışmada, bitki patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitenin oluştuğu belirlenmiştir. Silika-gümüş nanopartiküllerin enfekte olan yeşil kabak bitkilerinde uygulanmasının külleme kontrolü için faydalı olduğu belirlenmiştir (Park ve diğerleri, 2006).

Çavdar otu (*Lolium perenne*) bitkisinde ZnO nanopartiküllerin hücre içerisine alımı ve bitki içerisindeki dağılımının incelendiği bir çalışmada, ZnO NP'lerin hücrelerde birikimi sonucu oluşan toksik etki araştırılmıştır. ZnO nanopartiküllerinin varlığında, çavdar otu biyokütlesinin önemli ölçüde azaldığı, kök uçlarının küçüldüğü ve kök epidermal ve kortikal hücrelerinin yüksek oranda vakuolasyona uğradığı belirlenmiştir (Lin ve Xing, 2008).

Nanopartikül konsantrasyonlarının etkisinin incelendiği bir çalışmada, silika, paladyum, altın ve bakır nanopartikülleri 2 farklı dozda kullanılmıştır. Nanopartiküllerin toprak mikrobiyal topluluğu üzerindeki kısa süreli etkileri ve marul tohumlarının çimlenmesi araştırılmıştır. Marul tohumlarının kök, gövde boy ölçümleri alınarak Si, Pd, Au ve Cu NP'lerin yüksek ve düşük dozlarda çimlenmeye olan etkisi belirlenmiştir. Çalışmada test edilen tüm nanopartiküller bitki gelişiminde önemli derecede artışa neden olmuştur (Shah ve Belozerova, 2009).

Lee ve diğerleri (2010), tarafından yapılan çalışmada 4 metal oksit nanopartikülünün *Arabidopsis thaliana* üzerinde uygulaması yapılmıştır ve nanopartikül yapısındaki metallerin bitki üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bitkiler, Al₂O₃, SiO₂, Fe₃O₄ ve ZnO nanopartiküllere, 3 farklı dozda (400, 2000 ve 4000 mg/L) maruz kaldıktan sonra 3 toksisite göstergesi (tohum çimlenmesi, kök uzaması ve yaprak sayısı) ölçülmüştür. Bu NP'ler arasında en olumsuz etkiyi ZnO NP göstermiş ve en toksik parçacık olarak belirlenmiştir

bunu sırasıyla Fe_3O_4 ve SiO_2 izlemiş ve en düşük olumsuz etkiyi gösteren parçacık ise Al_2O_3 olarak bulunmuştur.

Salatalık bitkisi tohumları (*Cucumis sativus*) üzerinde yapılan bir çalışmada, Fe_3O_4 , TiO_2 ve karbonlu nanopartiküller kullanılmış olup çimlenme indeksi, tohum çimlenme oranı ve kök uzaması incelenmiştir. Uygulanan nanopartiküllerin tohum çimlenme oranını ve kök uzamasını olumsuz yönde etkilediği belirlenmiştir (Mushtaq, 2011).

Elodea densa isimli bir bitkide yapılan bir çalışmada, bakır iyonlarının ve bakır oksit nanopartiküllerinin lipid peroksidasyon hızı, antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz) aktiviteleri ve fotosentez üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, nanopartiküllerin bitkiler tarafından daha aktif olarak biriktirildiğini göstermektedir. Hem bakır iyonları hem de nanopartiküller lipid peroksidasyonunu aktive etmiştir (sırasıyla kontrol seviyesinin %120 ve %180'ine kadar). Nanopartiküller ile muamele edilmiş bitkilerde katalaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri 1,5-2,0 kat artmıştır. Ancak 1,0 mg/L bakır nanopartikül dozunda fotosentezin baskılandığı gözlemlenmiştir (Nekrasova, Ushakova, Ermakov, Uimin ve Byzov, 2011).

Materyal olarak soğan bitkisinin (*Allium cepa*) kullanıldığı bir çalışmada, köklere uygulanan 4 farklı ZnO NP konsantrasyonları (25, 50, 75 ve 100 $\mu\text{g/ml}$) sonucunda nanopartiküllerin hem genotoksik hem de sitotoksik etki gösterdiği ve aynı zamanda hücre bölünmesi oranında değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Ayrıca ZnO NP'lerin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkisi TBARS konsantrasyonu ölçülerek incelenmiştir. Sonuçlara göre ZnO NP konsantrasyonu arttıkça lipid peroksidasyonunda da artış gözlemlenmiştir (Kumari, Khan, Pakrashi, Mukherjee ve Chandrasekaran, 2011).

Yer fıstığı bitkisi üzerinde ZnO nanopartiküllerinin bitki büyümesi ve gelişimi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada fıstık tohumları farklı konsantrasyonlarda (400, 1000 ve 2000 ppm) ZnO NP ile 3 saat boyunca muamele edilmişlerdir. Araştırmada tohum çimlenmesi, fide gücü, bitki büyümesi, çiçeklenme, klorofil içeriği, bakla verimi ve kök gelişimi incelenmiştir. 1000 ppm ZnO NP konsantrasyonun hem tohum çimlenmesini hem de fide canlılığını arttırdığı ve buna karşılık erken çiçeklenme ve daha yüksek yaprak klorofil içeriği gösterdiği belirlenmiştir. Fakat 2000 ppm dozunda uygulanmış olan ZnO NP

sebebiyle ortaya çıkan inhibisyon etkisi doz ayarlamaları konusunda daha dikkatli olunması gerektiğini göstermiştir (Prasad ve diğerleri, 2012).

Morfolojik ve moleküler markörler, esas olarak germplazmı karakterize etmek için kullanılan iki önemli yaklaşımdır. Bununla birlikte, DNA markörleri morfolojik markörlere göre daha güvenilir, reproduktif ve bilgilendiricidir. Moleküler markör teknolojisindeki gelişmeler, bitki ıslahında bir devrim yaratmış olup bilim topluluğu tarafından çeşitli moleküler markörler geliştirilmiştir (Nadeem ve diğerleri, 2018). Bunlar arasında, iPBS-retrotranspozonlar, diğer retrotranspozon bazlı markörlerde bulunan sınırlamaların üstesinden gelinerek geliştirilmiştir (Kalendar, Antonius, Smykal ve Schulman, 2010). Bu markörü birçok bitki türünde DNA parmak izi, filogenetik ilişki araştırması ve genetik çeşitlilik değerlendirmesi için kullanılmış olan "evrensel bir markör" olarak belirtmişlerdir (Barut, Nadeem, Karaköy ve Baloch, 2020).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali ve Nanopartikül Temini

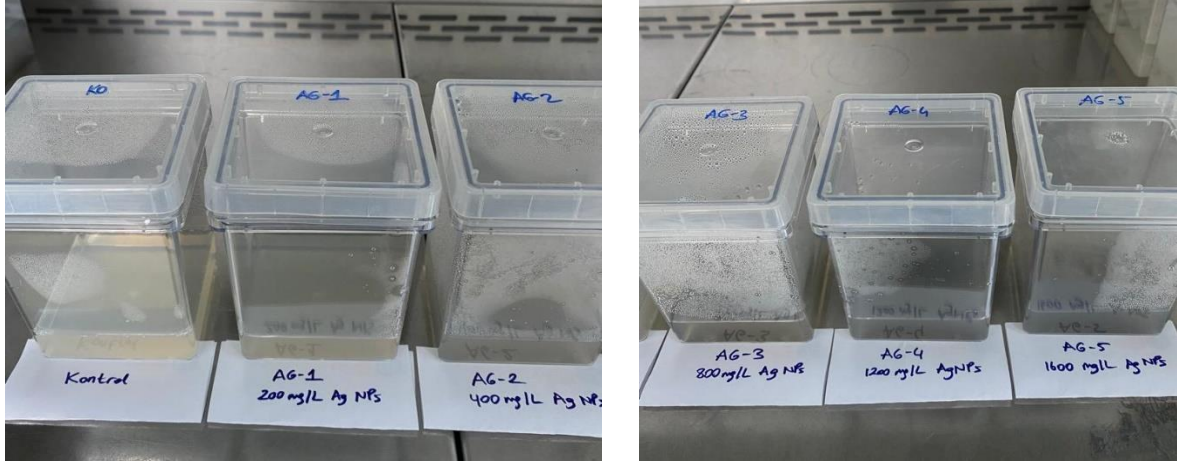
Bu tez çalışmasında bitki materyali olarak Narlı kenevir çeşit adayı ve Narlısaray popülasyonu kullanılmıştır. Bitki materyalleri Samsun Gökhöyük Tarım İşletmesi Müdürlüğü'nden temin edilmiştir. Gümüş (NG02MD01015; 18 nm, %99,995) ve titanyum dioksit (NG02MD01015; 25-45 nm, %42 ağırlık) nanopartiküller Nanografi'den (ODTÜ Teknokent, No:13/1-1 06800, Çankaya/Ankara, Türkiye) temin edilmiştir.

3.2. Deneme Yeri

Bu çalışma, Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknoloji Fakültesi, Moleküler Genetik ve Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.3. Büyüme Ortamları ve Nanopartiküllerin Uygulanması

Bu tez çalışmasında MS (Murashige ve Skoog, 1962) mineral tuz ve vitaminleri büyüme ortamları için kullanılmıştır. Bütün besin ortamları %0,44 MS ve %3,0 sükröz kullanılarak hazırlanmış olup %0,65 agar kullanılarak katılaştırılmıştır. Ortamların hazırlanmasında saf su kullanılmış olup bütün ortamların pH'ı, 15 dk, 121 °C ve 1,5 atmosfer basıncında otoklavlanmadan önce 1,0 N HCl veya NaOH kullanılarak 5,8 olarak ayarlanmıştır. Gümüş ve titanyum nanopartiküllerin distile su ile stok çözeltileri hazırlanmıştır. Titanyum nanopartiküller otoklav işleminden önce, gümüş nanopartiküller ise otoklav işleminden sonra steril filtre ile sterilize edilerek ortamlara çeşitli konsantrasyonlarda eklenmiştir. Resim 3.1'de kontrol grubu ortamı ve otoklav işleminden sonra steril filtre ile sterilize edilerek Ag NP eklenmiş ortamlar görülmektedir. Otoklav işleminden önce ortamlara eklenerek sterilizasyonu sağlanıp döküm işlemi yapılan TiO₂ NP içeren ortamlar ve kontrol grubu ortamları Resim 3.3.2'de gösterilmiştir.



Resim 3.1. Otoklav işleminden sonra Ag NP eklenmiş ortamlar



Resim 3.2. Otoklav işleminden önce TiO₂ NP eklenmiş ortamlar

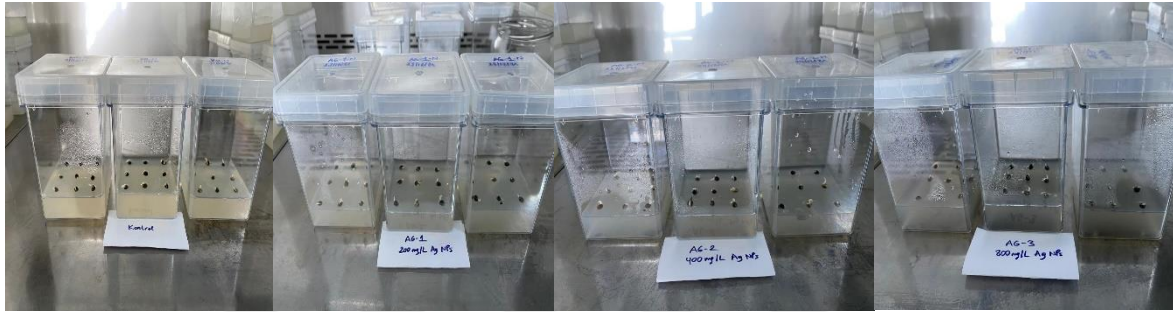
3.4. Yüzey Sterilizasyonu, Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Uygulamaları ve Büyüme Koşulları

Kenevir tohumlarının yüzey sterilizasyonu, laminar hava akışlı kabin altında, önce 3 dakika boyunca % 70,0 etanol ile, daha sonra 10 dakika boyunca % 0,10 Civa klorür (HgCl₂) ile yapılmıştır ve ardından üç kez her biri 5-7 dakika boyunca otoklavlanmış distile su (dH₂O) ile yıkama işlemi yapılmıştır. HgCl₂'de bekletme ve yıkama işlemleri sırasında tohumlar bir manyetik karıştırıcı yardımıyla sürekli olarak karıştırılarak homojen bir ortam oluşması sağlanmıştır.

Tez çalışması kapsamındaki denemelerde, sterilizasyon işleminden sonra, çimlenmeyi arttırmak için, kenevir tohumları 48 saat boyunca % 2,0 H₂O₂ v/v (%34,5- 36,5 H₂O₂-

Sigma-Aldrich) ile muamele edilmiştir. Daha sonra çıkış gözlemlenen tohumların besin ortamlarına ekimi yapılmıştır.

Tez kapsamındaki bütün kültür ortamları beyaz LED (Light Emitting Diod- Işık Yayan Diyot) veya beyaz floresan ışık altında, 16 saatlik ışık fotoperiyodunda $24\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de bir yetiştirme odasında tutulmuştur. Denemeler için Magenta GA-7 kutuları kullanılmıştır.



Resim 3.3. %2'lik H_2O_2 muamelesinden sonra ekimi yapılan tohumlar (Kontrol ve Ag NP ortamları)



Resim 3.4. %2'lik H_2O_2 muamelesinden sonra ekimi yapılan tohumlar (TiO_2 NP ortamları)

3.5. Eksplantların İn Vitro Kültürü

Kurulan denemeler sonucundaki farklı parametreler veriler alınarak kaydedilmiştir. İn vitro çimlenme denemelerinde çimlenme yüzdesi, sürgün oluşumu (filizlenme %), sürgün ve kök uzunluğu ile beraber yaş ağırlığı da kaydedilmiştir.

3.6. Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

3.6.1. Taze ağırlık miktarının ölçülmesi

Farklı ortamlardan elde edilen sürgünler ve kontrol grubu bitkileri hassas terazide tartılarak taze ağırlıkları alınarak ağırlıkları tespit edilmiştir.

3.6.2. Fenotipik özelliklerin (kök ve sürgün uzunluğu) belirlenmesi

İn vitro kültürde 17. güne gelindiğinde ortamlarda kontaminasyon oluşmaya başlaması nedeniyle deneme sonlandırılmıştır. 17 günlük deneme sonucunda elde edilen bitkilerin kök ve sürgün uzunlukları bir cetvel yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir.

3.6.3. Fotosentetik pigment analizi

Klorofil a, b ve toplam karotenoidlerin spektrofotometrik tayini için modifiye edilerek düzenlenmiş bir protokol kullanılmıştır (Porra, Thompson ve Kriedemann, 1989). İlk olarak 0,03 g yaprak örnekleri tartılarak sıvı nitrojen ile öğütülmüştür. %80,0 aseton ilavesinden sonra numuneler 2 saat 65 °C'de ve 1200 rpm'de termo-çalkalayıcıya konulmuştur. 10 000 g'de, 10 dakikalık bir santrifüjden sonra, UV-visible spektrofotometrede (T60, PG Instruments) 663, 646 ve 470 nm'de 31 kat seyreltilmiş örneklerin ölçümü 2 tekrerrü 3 okuma olacak şekilde yapılmıştır.

3.6.4. Lipit peroksidasyonunun belirlenmesi

Lipit peroksidasyonunun spektrofotometrik tayini malondialdehit (MDA) yöntemi kullanılarak yapılmıştır (Chen, Zhang, Li, He, ve Cai, 2015). İlk olarak yaprak örnekleri 0,1 g olacak şekilde hassas terazide tartılmış ve sıvı azot yardımı ile ezilerek küçük parçacıklara ayrılmıştır. %0,1 TCA (trikloroasetik asit) eklendikten sonra örnekler 10 000 g'de 4 °C'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatantlara %0,5 TBA (tiobarbitürik asit) içeren %20,0 TCA ilave edilmiş ve 95 °C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. 15 dakikalık 10 000 g'de bir santrifüj işleminden sonra, UV-visible spektrofotometrede (T60, PG Instruments) 532 ve

600 nm'de 10 kat seyreltilmiş örneklerin ölçümü her örnekten 2 tekerrür 4 okuma olacak şekilde yapılmıştır.

3.7. DNA İzolasyonu ve iPBS Markörleri

Narlısaray popülasyonundan elde edilen in vitro bitkilerden her numuneden taze yaprak örnekleri toplanmış olup, DNA izolasyonu CTAB protokolüne (Doyle, 1990) ve Diversity Arrays Technology tarafından önerilen özel bir protokole göre yapılmıştır (<https://www.diversityarrays.com/order-instructions/plant-dnaextraksiyon-protocol-for> adresinde mevcuttur). İzole edilen DNA örnekleri, %0,8 agaroz jel kullanılarak belirlendi ve NanoDrop (DS11 FX, DeNovix Inc., Wilmington, DE, ABD) aracılığıyla doğrulama yapılmıştır. Örnekler polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizi için nihai konsantrasyon olarak toplam 10 ng/μL hazırlanmıştır. Rastgele seçilen dört örnek üzerinde toplam 30 iPBS-retrotranspozon primeri tarandı ve 11 örneğin tamamı için en polimorfik olan sekiz primer seçilmiştir. Endüstriyel kenevir (*Cannabis sativa*) arasındaki genetik çeşitliliği incelemek için kullanılan iPBS-retrotranspozon primerleri Çizelge 3.7.1.'de verilmiştir. PCR amplifikasyonu önerilen protokole göre gerçekleştirilmiştir (Kalendar ve diğerleri, 2010).

Çizelge 3.7.1. Endüstriyel kenevir (*Cannabis sativa*) arasındaki genetik varyasyonu incelemek için kullanılan iPBS-retrotranspozon primerlerinin listesi

Primerler	Sekans	Annealing Sıcaklığı (°C)
2225	AGCATAGCTTTGATACCA	55
2237	CCCCTACCTGGCGTGCCA	55
2272	GGCTCAGATGCCA	55
2095	GCTCGGATACCA	53
2228	CATTGGCTCTTGATACCA	53
2277	GGCGATGATACCA	52
2375	TCGCATCAACCA	52
2399	AAACTGGCAACGGCGCCA	52

Bu çalışmada kullanılan primerler Kalendar ve diğerleri (2010)'dan alınmıştır.

3.8. İstatiksel Değerlendirme

Çimlenme, morfolojik özellikler ve biyokimyasal analizler ile ilgili veriler tek yönlü ANOVA (Varyans Analizi) ve grafikler kullanılarak SPSS ve Minitab yazılım programı

yardımıyla analiz edilmiştir. İstatistiksel analizden önce veriler arksinüs dönüşümüne dönüştürülmüş ve ortalamalardaki farklılıklar Duncan'ın Çoklu Aralık Testi (DMRT) kullanılarak hesaplandı. Skorlama için en görünür ve güçlü bantlar kullanılmıştır. iPBS-retrotranspozonlar baskın bir markör olup, bantların skorlanması sırasında referans olarak kullanılırken, 1 mevcut ve 0 yok alel olarak değerlendirilerek skorlama yapılmıştır. Etkili allel sayısı (n_e), Nei'nin (Nei, 1973) gen çeşitliliği (h), Shannon'un bilgi indeksi (I) ve beklenen heterozigotluk (H_t) gibi çeşitli çeşitlilik parametreleri Popgene ver. 1,32 ile hesaplanmıştır. (Yeh, Yang ve Boyle, 1999).



4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Kenevir tohumları, sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra 48 saat boyunca %2'lik H₂O₂ ile muamele edildi ve her iki nanopartikülü farklı oranlarda içeren ortamlarda 17 gün süreyle kültüre alındı, kültür sonunda çimlenme (%), sürgün uzunluğu (cm), kök uzunluğu (cm) ve sürgün taze ağırlığı (g) ile ilgili veriler alınıp ve tablolandırılmıştır. 17.günde ortamlarda kontaminasyon oluşmaya başladığı için sağlıklı olan bitkileri kaybetmemek amacıyla in vitro kültür sonlandırılmıştır. Benzer şekilde, farklı NP'lerin ve bunların konsantrasyonlarının in vitro koşullar altında kenevir bitkisinin büyümesi üzerindeki etkisini kontrol etmek için klorofil a, klorofil b, toplam karotenoidler ve MDA içerikleri gibi biyokimyasal parametreler de kaydedilmiştir.

4.1. Narlısaray Kenevir Popülasyonunda İn Vitro Koşullarda Fenotipik Özelliklerin Belirlenmesi

Narlısaray kenevir popülasyonunda, nanopartiküllerin in vitro çimlenme, sürgün uzunluğu ve yaş ağırlık üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemsiz düzeyde bulunmuştur (Çizelge 4.1). Diğer yandan, nanopartikül tipinin kök uzunluğu üzerinde $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Sonuçlar, TiO₂ NP'lerin, Ag NP'lere ve hatta kontrol grubu bitkilerine kıyasla tüm bitki büyüme parametreleri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğunu açıkça göstermiştir. Ortalama çimlenme (%), sırasıyla, kontrol (%72,50) > TiO₂ NP (%70,50) > Ag NP (%62,00) olarak kaydedilmiştir. Ag NP uygulaması bitkilerin kök uzunluğunu önemli ölçüde azalttı ve sırasıyla kontrol (4,83 cm) > TiO₂ NP (4,21 cm) > Ag NP (2,62 cm) olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.1). Diğer yandan, her iki NP'de de kontrol grubuna göre nispeten daha uzun sürgünler oluşmuştur ve sırasıyla TiO₂ NP (7,79) > Ag NPs (6,89 cm) > kontrol (6,43 cm) olarak bulunmuştur. Yapılan analize göre yaş ağırlık da istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ve sırasıyla TiO₂ NP (2,37 g) > Ag NP (1,64 g) > kontrol (1,57 g) olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı nanopartiküllerin in vitro koşullarda kenevir bitkisinin fenotipik özelliklerine etkisi

Nanopartiküller	Çimlenme (%) ^{ös}	Kök uzunluğu (cm)*	Sürgün uzunluğu (cm) ^{ös}	Yaş ağırlık (mg) ^{ös}
Kontrol	72,50	4,83a	6,43	1,57
Ag	62,00	2,62b	6,89	1,64
TiO ₂	70,50	4,21ab	7,79	2,37

^{ös} Önemsiz; *Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında LSD testine göre $p < 0,05$ düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir.

Nanopartiküllerin uygulanması, çimlenme yüzdesi üzerinde değişken etkilere neden olmuştur. Ag NP'ler için, düşük konsantrasyonlarda ortalama çimlenme olumsuz etkilenmiş, ancak Ag NP'lerin dozajları arttıkça (800 mg/L ve üzeri), çimlenme (%) de artmış ve maksimum çimlenme (%92,50) ile 1600 mg/L Ag NP bulunan ortamda görülmüştür (Çizelge 4.2). Benzer şekilde, 1600 mg/L TiO₂ NP'lerin uygulanması en yüksek çimlenmeyi sağlamıştır (% 80,00). Her iki NP'nin 200 ve 400 mg/L dozunda, kontrole kıyasla daha az çimlenme (%) kaydedilmiştir. Kök uzunluğu da Ag NP'lere değişken bir tepki göstermiş olup ve 0,76 – 5,15 cm arasında değişen değerlerde bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Nanopartikül tiplerinin ve konsantrasyonun in vitro koşullarda kenevir bitkisinin fenotipik özelliklerine etkisi

Kons. (mg/L)	Çimlenme (%)**		Kök Uzunluğu (cm)**		Sürgün Uzunluğu (cm)*		Yaş Ağırlık (mg)*	
	Ag	TiO ₂	Ag	TiO ₂	Ag	TiO ₂	Ag	TiO ₂
200	42,50c	65,00b	0,76c	3,23abc	4,63b	6,80ab	0,73bc	3,24a
400	27,50d	67,50b	1,79c	3,57abc	7,28a	8,21a	0,70c	2,74a
800	72,50b	70,00b	5,15ab	3,23abc	8,40a	6,35ab	2,85a	1,54abc
1200	75,00b	70,00b	2,20bc	6,12a	6,73ab	8,98a	1,78abc	2,50ab
1600	92,50a	80,00ab	3,23abc	4,93ab	7,43a	8,60a	2,14abc	1,82abc
Kontrol	72,50b		4,83ab		6,43ab		1,57abc	

*Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre $p < 0,05$ düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir.

**Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre $p < 0,01$ düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir.

Maksimum kök uzunluğu 800 mg/L Ag NP bulunan ortamda 5,15 cm olarak kaydedilmiştir. Diğer tüm Ag NP konsantrasyonlarının uygulanması zararlı olarak sonuç vermiş ve kontrole kıyasla daha düşük kök uzunluğu ile sonuçlanmıştır (4,83 cm). Diğer yandan, TiO₂ NP'lerin

uygulanması Ag NP'lerden daha iyi sonuç verdi ve daha uzun kökler üretildiği görülmüştür. Kök uzunluğu, 1200 mg/L TiO₂ NP bulunan besin ortamında 6,12 cm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2).

Sonuçlar, daha düşük TiO₂ NP konsantrasyonunun (200-800 mg/L) kontrole kıyasla daha kısa sürgünler verdiğini göstermektedir. Fakat, daha yüksek konsantrasyonlarda TiO₂ NP'lerin (1200 mg/L ve 1600 mg/L) takviyesi, kontrol grubuna kıyasla kök uzunluğu üzerinde olumlu bir etkiye yol açmıştır. Her iki NP'nin farklı konsantrasyonlarda eklenmesi, kontrole kıyasla sürgün uzunluğu üzerinde olumlu etki göstermiştir (Çizelge 4.2). Genel olarak, 200 mg/L Ag NP içeren ortam haricinde, farklı konsantrasyonlarda her iki NP ile desteklenmiş ortamda daha uzun sürgünler kaydedilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla tüm TiO₂ NP dozlarının uygulanmasıyla sürgün uzunluğu artmıştır. Sürgün uzunluğu 4,63-8,40 cm (Ag NP) ile 6,35-8,98 cm (TiO₂ NP) arasında ölçülmüştür. Maksimum sürgün uzunluğu 1200 mg/L TiO₂ NP (8,98 cm) ve 800 mg/L Ag NP (8,40 cm) içeren ortamda kaydedilmiştir. Taze ağırlık üzerindeki sonuçlar, hem NP'lerin net fakat değişken etkisini sergilemiş hem de Ag NP'ler ve TiO₂ NP'ler için sırasıyla 0,70-2,85 g ve 1,54-3,24 g arasında değişkenlik göstermiştir. Her iki NP de farklı konsantrasyonlarda maksimum taze ağırlığı uyarmış ve 2,85 g (800 mg/L Ag NP) ve 3,24 g (200 mg/L TiO₂ NP) olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2). Genel olarak, 200 ve 400 mg/L'lik düşük dozlarda Ag NP'lerin eklenmesi, kontrol grubuna (1,57 gr) kıyasla taze ağırlık üzerinde zararlı bir etki yaratmıştır. Diğer yandan, TiO₂ NP'lerin etkisi değişken olmakla birlikte, kontrole kıyasla nispeten daha fazla taze ağırlık ile sonuçlanmıştır (Çizelge 4.2). Maksimum taze ağırlık (3,24 g), 200 mg/L TiO₂ NP'leri içeren ortamda kaydedilmiştir.

4.2. Narlısaray Kenevir Popülasyonunda İn Vitro Koşullarda Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

MDA, klorofil-a, klorofil-b ve total karotenoidler üzerine yapılan denemeler, nanopartiküllerin istatistiksel olarak önemsiz olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.3). Sonuçlar, maksimum klorofil-a ve toplam karotenoid değerlerinin TiO₂ NP'leri ile takviye edilmiş ortamda kaydedildiğini göstermektedir. Nanopartikül uygulaması MDA (nmol/g) değerlerinin azalmasına neden olmuş ve sırasıyla kontrol (16,66 nmol/g) > Ag NP (12,19 nmol/g) > TiO₂ NP (9,77 nmol/g) olarak kaydedilmiştir. Klorofil-a, NP tipinden açıkça etkilenmiş ve TiO₂ NP (1,77 mg/g) > kontrol (1,71 mg/g) > Ag NP (1,17 mg/g) olarak

bulunmuştur. Diğer yandan, besin ortamına NP eklenmesi, kontrole kıyasla nispeten yüksek klorofil-b içeriği ve toplam karotenoid içeriği ile sonuçlanmıştır. Klorofil-b miktarı sırasıyla, Ag NP (0,754 mg/g) > TiO₂ NP (0,689 mg/g) > kontrol (0,430 mg/g) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). Toplam karotenoid içeriği ise sırasıyla, TiO₂ NP (0,689 mg/g) > Ag NP (0,754 mg/g) > kontrol (0,430 mg/g) olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı nanopartiküllerin in vitro koşullarda kenevir bitkisinde biyokimyasal parametrelere olan etkisi

Nanopartiküller	MDA (nmol/g) ^{ös}	Klorofil-a (mg/g) ^{ös}	Klorofil-b (mg/g) ^{ös}	Toplam karotenoidler (mg/g) ^{ös}
Kontrol	16,66	1,71	0,430	0,453
Ag	12,19	1,17	0,754	0,606
TiO ₂	9,77	1,77	0,689	0,664

^{ös}Önemsiz

Tohumların farklı NP türlerine ve konsantrasyonlarına maruz bırakılması, in vitro olarak yetiştirilen fidelerin biyokimyasal parametreleri üzerinde değişken etkiler göstermiştir. Test edilen parametreler arasında sadece Klorofil-a, NP tipi ve konsantrasyonunun eklenmesiyle istatistiksel olarak etkilenmiştir (p<0,05). MDA, klorofil-b ve karotenoid içeriği gibi diğer parametreler ise etkilenmeden kalmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Nanopartikül tiplerinin ve konsantrasyonunun in vitro koşullarda kenevir bitkisinde biyokimyasal parametrelere olan etkisi

Kons. (mg/L)	MDA (nmol/g) ^{ös}		Klorofil-a (mg/g)*		Klorofil-b (mg/g) ^{ös}		Toplam karotenoidler (mg/g) ^{ös}	
	Ag	TiO ₂	Ag	TiO ₂	Ag	TiO ₂	Ag	TiO ₂
200	9,740	12,290	1,402abc	0,836c	0,590	0,587	0,496	0,362
400	10,410	12,475	0,809c	1,294bc	0,434	0,639	0,348	0,495
800	13,285	7,470	2,233ab	2,261ab	1,219	0,790	0,811	0,855
1200	16,055	8,105	2,335ab	2,492a	0,911	0,680	0,745	0,877
1600	11,465	8,500	1,778abc	1,971abc	0,620	0,750	0,628	0,729
Kontrol	16,660		1,164bc		0,430		0,452	

^{ös}Önemsiz; *Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında LSD testine göre p<0,05 düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir.

Her iki NP'nin besin ortamlarına eklenmesi, kontrolden (16,660 nmol/g) nispeten daha az MDA oluşumuna neden olmuştur. MDA içeriği, yüksek Ag NP konsantrasyonlarında azalmıştır ve 1200 mg/L ile takviye edilen bitkilerden maksimum değerler (16,055 nmol/g) kaydedilmiştir, ardından 1600 mg/L Ag NP'lerde (11,465 nmol/g) keskin bir düşüş yaşanmıştır. Bunun aksine, düşük TiO₂ NP dozlarında (200-400 mg/L) yüksek MDA içerikleri kaydedilmiş ve TiO₂ NP'lerin daha fazla eklenmesi, MDA içeriğinin azalmasına neden olmuştur (Çizelge 4.4). Maksimum (12,475 nmol/g) ve minimum (7,470 nmol/g) MDA, sırasıyla 400 ve 800 mg/L TiO₂ NP'leri içeren ortamda kaydedilmiştir. Klorofil-a içeriğine ilişkin sonuçlar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ve genellikle kontrolden (1,164 mg/g) daha fazla kaydedilmiştir. Her iki NP de 1200 mg/L konsantrasyonda maksimum klorofil-a miktarı üretmiş ve ardından 800 mg/L NP bu değeri takip etmiştir (Çizelge 4.4). Diğer yandan, her iki NP'nin 800 mg/L dozunda, daha fazla Klorofil-b içeriği kaydedilmiş ve ardından bunu 1200 mg/L konsantrasyonu takip etmiştir. Her iki NP'nin daha fazla takviyesi, Klorofil-a ve Klorofil-b içeriklerinde keskin bir düşüşe neden olmuştur. Ortama Ag NP'lerin eklenmesi, kontrol grubuna (0,430 mg/g) kıyasla klorofil-b içeriği üzerinde olumlu bir etkiye neden olmuştur. Sonuçlar, her iki NP'nin toplam karotenoidler üzerindeki etkisinin değişken olduğunu göstermektedir. Toplam karotenoid içeriği (mg/g), Ag ve TiO₂ NP'ler için sırasıyla 0,348-0,811 mg/g ve 0,362- 0,877 mg/g aralığında kaydedilmiştir (Çizelge 4.4). Her iki NP de, farklı konsantrasyonlarda kontrole kıyasla daha az toplam karotenoid içeriği üretmiş ve minimum 0,348 mg/g (400 mg/L Ag NP) ve 0,362 mg/g (200 mg/L TiO₂ NP) olarak ölçülmüştür. Diğer yandan, maksimum toplam karotenoid içeriği 800 mg/L Ag NP'de (0,811 mg/g) ve 1200 mg/L TiO₂ NP'de (0,877 mg/g) kaydedilmiştir (Çizelge 4.4).

4.3. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Sürgün Oluşumu

Bu deneme, kenevir tohumlarının MS ortamında bulunan farklı oranlardaki nanopartiküller ile birlikte nasıl gelişme göstereceğini belirlemek için yapılmıştır. Kenevir bitkileri, farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200 ve 1600 mg/L) Ag ve TiO₂ NP eklenmiş ortamlarda 17 gün kültüre alındıktan sonra sonuçlar alınmıştır. Ag NP, besin ortamlarına, otoklav işleminden sonra steril filtre ile sterilizasyonu yapılarak eklenmiştir. 17 gün sonra elde edilen verilere Minitab ve SPSS programı ile varyans analizi uygulanmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün oluşumuna (%) ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP'ler x Kons.	10	3197	319,7	1,95	0,064
Hata	44	7230	164,3	—	—
Toplam	54	10427	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Çizelge 4.5’de kenevir bitkilerinde farklı oranlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarının sürgün oluşumuna ait varyans analizi gösterilmiştir. Sürgün oluşumu (%) istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün oluşumuna (%) etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	Sürgün oluşumu (%) ^{ös}	SS	%95 GA
Kontrol	0	82,18a	16,89	(70,63; 93,73)
Ag	200	82,14a	14,89	(70,59; 93,69)
	400	84,40a	14,94	(72,85; 95,95)
	800	73,26a	12,66	(61,71; 84,81)
	1200	77,72a	20,79	(66,17; 89,27)
	1600	95,52a	6,13	(83,97; 107,07)
TiO₂	200	88,86a	15,75	(77,31; 100,41)
	400	93,30a	9,98	(81,75; 104,85)
	800	97,76a	5,01	(86,21; 109,31)
	1200	84,34a	6,06	(72,79; 95,89)
	1600	95,52a	6,13	(83,97; 107,07)

^{ös} Önemsiz; SS: standard sapma; Birleştirilmiş Standart sapma = 12,8188

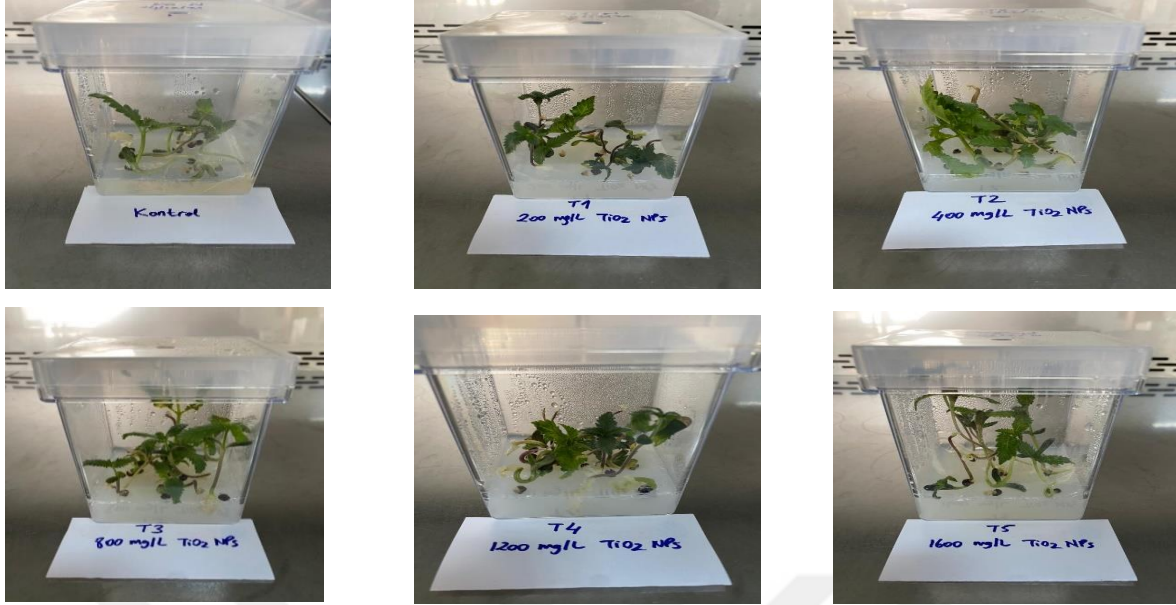
Sterilizasyon işlemi yapıp kültüre alınan tohumların 17 gün sonraki gelişmeleri kaydedilmiştir. Nanopartikül uygulaması yapılmayan kontrol ortamında (sadece MS), sürgün oluşumu yüzdesi %82,18 olarak bulunmuştur. Çizelge 4.6’da görüldüğü üzere en yüksek sürgün oluşumu %97,76 ile 800 mg/L TiO₂ NP içeren ortamda gözlenirken, ikinci sırada 1600 mg/L Ag NP ve 1600 mg/l TiO₂ NP içeren MS ortamı (%95,52), üçüncü sırada ise %93,30’luk sürgün oluşumu oranı ile 400 mg/L TiO₂ NP içeren MS ortamı olduğu kaydedilmiştir. En düşük sürgün oluşum oranı ise 200 mg/L Ag NP içeren MS ortamında kaydedilmiştir (%82,14). 1600 mg/L Ag ve TiO₂ NP içeren ortamlarda sürgün oluşumu %95,52 ile aynı değer olarak bulunmuştur. Ortamlara farklı konsantrasyonlarda Ag NP uygulaması, sürgün oluşumu yüzdesini %82,14 ile %95,52 arasında etkilemiştir. En yüksek sonuç 1600 mg/L Ag NP içeren ortamda, en düşük sonuç ise 200 mg/L Ag NP içeren ortamda bulunmuştur (Çizelge 4.6). Ortamlara TiO₂ eklenmesiyle birlikte kontrol grubuna

kıyasla, ilk önce sürgün oluşumunda bir artış gözlenirken 1200 mg/L TiO_2 içeren ortamlarda sürgün oluşumunda bir düşüş olmuştur. TiO_2 NP eklenmiş ortamlar arasında en yüksek sürgün oluşumu %95,52 ile 1600 mg/L TiO_2 NP konsantrasyonunda, en düşük sonuç ise 1200 mg/L TiO_2 bulunmuştur (Çizelge 4.6). Kontrol grubuna kıyasla Ag NP eklenmesiyle sürgün oluşumunda önce bir azalma görülmesine ve 800, 1200 mg/L Ag NP’lerde kontrole göre bir düşüş olmasına rağmen en yüksek Ag NP dozu (1600 mg/L) içeren ortamda sürgün oluşumu %95,52 olarak bulunmuştur (Resim 4.1).



Resim 4.1. İn vitro koşullarda Narlı çeşit adayı kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) Ag NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu

TiO_2 NP eklenmiş ortamların hepsinde, sürgün oluşumu kontrol grubuna göre artmıştır. 1200 mg/L TiO_2 NP’de bir düşüş olsa da yine de sürgün oluşum yüzdesi kontrol grubuna göre yüksek olarak gözlenmiştir (Resim 4.2).



Resim 4.2. İn vitro koşullarda Narlı çeşit adayı kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) TiO_2 NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu

4.4. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Sürgün Uzunluğu

Tez kapsamında yapılan denemeler sonucunda, magentalarda çok kontaminasyon olduğu için 17 gün sonra in vitro kültür sonlandırılmış ve veriler alınarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Çizelge 4.7’de kenevir bitkilerinde farklı konsantrasyonlarda Ag ve TiO_2 NP uygulamalarının sürgün uzunluğuna ait varyans analizi gösterilmiştir. Sürgün uzunluğu (cm) istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün uzunluğuna (cm) ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP’ler x Kons.	10	96,36	9,636	5,10	0,000
Hata	44	83,18	1,890	—	—
Toplam	54	179,53	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Çizelge 4.8. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün uzunluğuna (cm) etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	Sürgün uzunluğu (cm)**	SS	%95 GA
Kontrol	0	1,340b	1,180	(0,101; 2,579)
Ag	200	1,260b	0,607	(0,021; 2,499)
	400	1,780b	2,39	(0,54; 3,02)
	800	2,440b	2,39	(1,20; 3,68)
	1200	2,142b	1,738	(0,903; 3,381)
	1600	5,540a	1,282	(4,301; 6,779)
TiO₂	200	1,020b	1,021	(-0,219; 2,259)
	400	1,220b	1,006	(-0,019; 2,459)
	800	0,380b	0,476	(-0,859; 1,619)
	1200	0,720b	0,396	(-0,519; 1,959)
	1600	2,160b	0,713	(0,921; 3,399)

**Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında LSD testine göre $p < 0,01$ düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir; Birleştirilmiş Standart sapma = 1,37490

Çizelge 4.8’de görüldüğü gibi Narlı çeşit adayı kenevir bitkilerinde in vitro kültür sonrası sürgün uzunluğu 0,380– 5,540 cm arasında değişmiştir. Herhangi bir nanopartikül eklemesi yapılmamış olan kontrol ortamında sürgün uzunluğu 1,340 cm olarak kaydedilmiştir. En yüksek sürgün uzunluğu (5,540 cm) 1600 mg/L Ag NP, en düşük sürgün uzunluğu (0,380 cm) ise 800 mg/L TiO₂ NP içeren ortamda gözlenmiştir. Kontrol grubuna göre, ortamlara Ag NP eklenmesiyle birlikte sürgün uzunluğunda önce bir düşüş görülürken daha sonra konsantrasyon oranı arttıkça sürgün uzunluğu da artmıştır. Ag NP içeren ortamlarda sürgün uzunluğu 1,260- 5,540 cm arasında değişmiştir. Ortama 200 mg/L Ag NP eklemesiyle sürgün uzunluğu, kontrol grubuna (1,340 cm) göre bir düşüş göstermiştir (1,260 cm). Ag NP içeren ortamlar arasında 1200 mg/L konsantrasyonda 800 mg/L’ye göre düşüş gözlenmiştir (2,142 cm). Ag NP’nin en yüksek dozunda en yüksek sürgün uzunluğu kaydedilmiştir (Çizelge 4.8). TiO₂ NP eklenmiş ortamlarda konsantrasyon arttıkça sürgün uzunluğunda kontrol grubuna göre düşüş görülmüştür. Fakat TiO₂ NP’nin en yüksek dozunda (1600 mg/L), sürgün uzunluğunda artış gözlenmiştir (Çizelge 4.8). TiO₂ NP içeren ortamlarda sürgün uzunluğu 0,380- 2,160 cm arasında değişmiştir. Ag NP ile benzer olarak TiO₂ NP’nin en yüksek dozunda (1600 mg/L) en yüksek sürgün uzunluğu ölçülmüştür (Çizelge 4.8).

4.5. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Kök Uzunluğu

Kenevir bitkilerinde farklı konsantrasyonlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarına ait varyans analizinde kök uzunluğu (cm) istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının kök uzunluğuna (cm) ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP'ler x Kons.	10	77,54	7,754	4,37	0,000
Hata	44	78,07	1,774	—	—
Toplam	54	155,61	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Farklı konsantrasyonlarda nanopartikül uygulamaları ile kök uzunluğu 5,180- 9,340 cm arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 4.10). En yüksek sonuç 800 mg/L Ag NP konsantrasyonunda, en düşük sonuç ise 200 mg/L TiO₂ NP konsantrasyonundan elde edilmiştir. Herhangi bir NP içermeyen kontrol ortamında kök uzunluğu 6,620 cm olarak bulunmuştur. Ortamlara Ag NP eklenmesiyle kök uzunluğunda kontrol grubuna göre artış meydana gelmiştir. 1200 mg/L Ag NP konsantrasyonunda, kök uzunluğunda bir düşüş (7,430 cm) görülse de bu değer de kontrol grubuna göre yüksektir.

Ag NP içeren ortamlar arasında en düşük kök uzunluğu (7,430 cm) 1200 mg/L konsantrasyonunda, en yüksek kök uzunluğu ise (9,340 cm) 800 mg/L konsantrasyonunda ölçülmüştür. Ortamlara TiO₂ NP eklenmesiyle birlikte, kontrol grubuna kıyasla, kök uzunluğunda önce bir düşüş daha sonra artış ve en yüksek dozda (1600 mg/L) tekrar bir düşüş görülmektedir (Çizelge 4.10). TiO₂ NP içeren ortamlar arasında kök uzunluğu 5,180- 7,620 cm arasında değişmektedir. En düşük kök uzunluğu (5,180 cm) 200 mg/L TiO₂ NP konsantrasyonunda, en yüksek kök uzunluğu (7,620 cm) ise 800 mg/L TiO₂ NP konsantrasyonunda bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının kök uzunluğuna (cm) etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	Kök uzunluğu (cm) **	SS	%95 GA
Kontrol	0	6,620abcd	0,669	(5,419; 7,821)
Ag	200	7,860abcd	1,322	(6,659; 9,061)
	400	9,140ab	2,071	(7,939; 10,341)
	800	9,340a	1,853	(8,139; 10,541)
	1200	7,430abcd	2,36	(6,23; 8,63)
	1600	8,220abc	0,249	(7,019; 9,421)
TiO₂	200	5,180d	1,636	(3,979; 6,381)
	400	7,220abcd	0,676	(6,019; 8,421)
	800	7,620abcd	0,618	(6,419; 8,821)
	1200	6,420bcd	0,228	(5,219; 7,621)
	1600	6,280cd	0,626	(5,079; 7,481)

** Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında LSD testine göre $p < 0,01$ düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir. SS: standard sapma; GA: güven aralığı; *Birleştirilmiş Standart sapma* = 1.33201

17 günlük in vitro kültür sonunda kenevir bitkilerinde, kontrol grubuna kıyasla Ag NP içeren ortamlarda kök uzunluğundaki artış Resim 4.3'de görülmektedir.



Resim 4.3. Narlı çeşit aday kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) Ag NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu

4.6. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Toplam Uzunluk

Narlı çeşit adayı kenevir bitkilerinde farklı oranlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarının toplam uzunluğa ait varyans analizi gösterilmiştir. Toplam uzunluk (cm) istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam uzunluğa (cm) ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP'ler x Kons.	10	234,9	23,487	6,99	0,000
Hata	44	147,8	3,360	—	—
Toplam	54	382,7	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Çizelge 4.12'de farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam uzunluğa (cm) olan etkisi gösterilmiştir. Toplam uzunluk sonuçları 6,380- 13,760 cm arasında ölçülmüştür. En yüksek sonuç 1600 mg/L Ag NP uygulamasında iken en düşük sonuç 200 mg/L TiO₂ NP uygulamasıdır. Kontrol grubundaki ortamlarda ise toplam uzunluk 7,960 cm olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.12. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam uzunluğa (cm) etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	Toplam uzunluk (cm)**	SS	%95 GA
Kontrol	0	7,960bcd	1,095	(6,308; 9,612)
Ag	200	9,120bcd	1,404	(7,468; 10,772)
	400	10,92abc	3,15	(9,27; 12,57)
	800	11,780ab	1,215	(10,128; 13,432)
	1200	9,570bcd	3,71	(7,92; 11,23)
	1600	13,760a	1,343	(12,108; 15,412)
TiO₂	200	6,380d	1,757	(4,728; 8,032)
	400	8,440bcd	1,426	(6,788; 10,092)
	800	7,960bcd	0,639	(6,308; 9,612)
	1200	7,140cd	0,305	(5,488; 8,792)
	1600	8,440bcd	1,108	(6,788; 10,092)

**Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında LSD testine göre p<0,01 düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir; SS: standard sapma; GA: güven aralığı; Birleştirilmiş Standart sapma = 1,83298

Ortamlara Ag NP eklenmesiyle, kontrol grubuna kıyasla toplam uzunlukta bir artış

görülmüştür (Çizelge 4.12). Konsantrasyon arttıkça buna bağlı olarak toplam uzunluk da artmıştır fakat sadece 1200 mg/L Ag NP içeren ortamda bir düşüş (9,570 cm) görülmektedir. Ag NP bulunan ortamlarda toplam uzunluk 9,120- 13,760 cm arasında değişmektedir. En düşük toplam uzunluk 200 mg/L, en yüksek toplam uzunluk ise 1600 mg/L Ag NP konsantrasyonunda kaydedilmiştir. Ag NP'den farklı olarak ortama TiO₂ NP eklenmesiyle birlikte toplam uzunlukta önce bir düşüş olmuştur (Çizelge 4.12). TiO₂ NP içeren ortamlarda toplam uzunluk en düşük (6,380 cm) 200 mg/L TiO₂ NP'de, en yüksek (8,440 cm) 400 ve 1600 mg/L TiO₂ NP'de bulunmuştur. Herhangi bir NP bulunmayan kontrol ortamıyla 800 mg/L TiO₂ NP içeren ortamlarda toplam uzunluk aynı değerde (7,960 cm) kaydedilmiştir. TiO₂ NP içeren ortamlar arasında ise 400 ve 1600 mg/L'de toplam uzunluk aynı değerde (8,440 cm) bulunmuştur (Çizelge 4.12).

17 günlük in vitro kültür sonunda kenevir bitkilerinde, ortama TiO₂ NP eklenmesiyle oluşan değişim Resim 4.4'de görülmektedir.



Resim 4.4 Narlı çeşit adayı kenevir tohumlarının kontrol ve farklı konsantrasyonlarda (200, 400, 800, 1200, 1600 mg/L) TiO₂ NP eklenmiş ortamlarda kültüre alınma sonucu

4.7. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Sürgün/ Kök Uzunluğu Oranı

Farklı oranlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarının sürgün/ kök uzunluğu oranına ait varyans analizi Çizelge 4.13’de gösterilmiştir. Sürgün/ kök uzunluğu oranı istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün/ kök uzunluğu oranına ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP’ler x Kons.	10	10235	1023,5	3,00	0,006
Hata	44	15000	340,9	—	—
Toplam	54	25236	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Çizelge 4.14’de farklı NP uygulamalarının sürgün/ kök uzunluğuna oranına olan etkisi gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde sürgün/ kök oranının 1,550 ile 51,400 arasında değiştiği görülmektedir. En düşük değer Ag NP’de en yüksek doz olan 1600 mg/L’de kaydedilirken, en yüksek değer 800 mg/L TiO₂ NP’de kaydedilmiştir. Buna karşılık herhangi bir NP bulunmayan kontrol grubunda sürgün/ kök uzunluğu oranı 19,300 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının sürgün/ kök uzunluğu oranına etkisi

NP’ler	Kons. (mg/L)	Sürgün/ Kök uzunluğu oranı ^{ös}	SS	%95 GA
Kontrol	0	19,300b	30,8	(2,7; 35,9)
Ag	200	9,860b	10,37	(-6,78; 26,50)
	400	28,400ab	32,4	(11,8; 45,0)
	800	10,270b	9,17	(-6,38; 26,91)
	1200	5,250b	3,22	(-11,39; 21,89)
	1600	1,550b	0,360	(-15,092; 18,191)
TiO₂	200	8,610b	5,05	(-8,03; 25,25)
	400	10,900b	8,74	(-5,75; 27,54)
	800	51,400a	36,3	(34,8; 68,1)
	1200	13,200b	11,54	(-3,44; 29,84)
	1600	3,259b	1,494	(-13,382; 19,901)

^{ös}Önemsiz; SS: standard sapma; GA: güven aralığı; Birleştirilmiş Standart sapma = 18,4639

Ortamlara Ag NP eklenmesiyle birlikte, 400 mg/L Ag NP hariç diğer tüm dozlarda kontrol grubuna göre bir düşüş görülmüştür (Çizelge 4.14). Ag NP içeren ortamlar arasında sürgün/kök uzunluğu oranı 1,550- 28,400 arasında değişmiştir. En yüksek değer 400 mg/L Ag NP’de, en düşük değer 1600 mg/L Ag NP’de ölçülmüştür. TiO₂ NP’de de Ag NP’de olduğu gibi benzer bir durum görülmektedir. TiO₂ NP eklenmesiyle birlikte önce bir düşüş gerçekleşmiş fakat 800 mg/L TiO₂ NP’de oldukça yüksek bir artış (51,400) görülmüştür (Çizelge 4.14). En yüksek değer (51,400) 800 mg/L TiO₂ NP’de, ikinci en yüksek değer (13,200) 1200 mg/L TiO₂ NP’de, üçüncü yüksek değer (10,900) ise 400 mg/L TiO₂ NP’de kaydedilmiştir. Her iki NP için de en düşük değerler en yüksek doz olan 1600 mg/L’de kaydedilmiştir (Çizelge 4.14).

4.8. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Yaş Ağırlık Miktarı

17 günlük in vitro kültür sonunda kenevir bitkilerinin yaş ağırlığı bir hassas terazi yardımıyla ölçülmüştür. Bu şekilde veriler alındıktan sonra varyans analizine tabi tutulmuştur. Çizelge 4.15’de kenevir bitkilerinde farklı konsantrasyonlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarının yaş ağırlık miktarına (mg) ait varyans analizi gösterilmiştir. Yaş ağırlık (mg) istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.15. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının yaş ağırlığa (mg) ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP’ler x Kons.	10	28,00	2,7996	6,87	0,000
Hata	44	17,94	0,4077	—	—
Toplam	54	45,93	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Farklı NP uygulamalarının ve dozlarının yaş ağırlık miktarına (mg) olan etkisi Çizelge 4.16’da gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde yaş ağırlık miktarının 0,77796- 3,380 mg arasında değiştiği görülmektedir. En düşük değer TiO₂ NP’nin en yüksek dozunda (1600 mg/L) kaydedilirken en yüksek değer ise 800 mg/L Ag NP dozunda kaydedilmiştir.

Çizelge 4.16. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının yaş ağırlığa (mg) etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	Yaş ağırlık (mg)**	SS	%95 GA
Kontrol	0	0,994c	0,282	(0,418; 1,569)
Ag	200	1,909bc	0,614	(1,334; 2,485)
	400	2,439ab	0,548	(1,863; 3,014)
	800	3,380a	1,558	(2,804; 3,955)
	1200	1,898bc	0,875	(1,323; 2,474)
	1600	1,943bc	0,362	(1,367; 2,518)
TiO₂	200	1,176bc	0,285	(0,601; 1,752)
	400	1,960bc	0,490	(1,384; 2,535)
	800	1,534bc	0,244	(0,959; 2,109)
	1200	1,0768bc	0,1374	(0,5013; 1,6523)
	1600	0,7796c	0,0646	(0,2041; 1,3551)

**Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında duncan testine göre $p < 0,01$ düzeyinde önemli farklılığı izlenmiştir; SS: standard sapma; GA: güven aralığı; *Birleştirilmiş Standart sapma* = 0,638496

NP içermeyen kontrol grubunda, yaş ağırlık miktarı 0,994 mg olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16). Buna karşılık yaş ağırlık miktarı, Ag NP eklenmesi ile birlikte olumlu yönde etkilenecek bütün dozlarda kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. TiO₂ NP içeren ortamlarda ise en yüksek doz hariç (1600 mg/L), diğer bütün konsantrasyonlarda yaş ağırlık miktarı kontrol grubundan daha yüksek olarak bulunmuştur. Ag NP içeren ortamlar arasında yaş ağırlık miktarı 1,898 ile 3,380 mg arasında ölçülmüştür (Çizelge 4.16). En düşük değer 1200 mg/L Ag NP'de bulunurken, en yüksek değer 800 mg/L Ag NP'de kaydedilmiştir. 1200 mg/L Ag NP'ye kadar yaş ağırlık miktarı konsantrasyon arttıkça artmış fakat 1200 mg/L'de bir düşüş görülmüştür. TiO₂ NP içeren ortamlar arasında yaş ağırlık 0,7796- 1,960 mg arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 4.16). Kontrol grubuna kıyasla, TiO₂ NP eklenmesiyle birlikte yaş ağırlık konsantrasyon arttıkça artmış, 800 mg/L'de ise düşüş başlamış ve 1600 mg/L'de en düşük değer (0,7796 mg) kaydedilmiştir. En yüksek değer ise 400 mg/L TiO₂ NP içeren ortamda kaydedilmiştir (Çizelge 4.16).

4.9. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Fotosentetik Pigment Miktarı

İn vitro kültür sonunda elde edilen kenevir bitkilerinden, klorofil a, b ve toplam karotenoidlerin spektrofotometrik tayini için modifiye edilerek düzenlenmiş bir protokol kullanılmıştır. UV-visible spektrofotometrede 663, 646 ve 470 nm'de 31 kat seyreltilmiş örneklerin ölçümü 2 tekerrür 3 okuma olacak şekilde yapılarak veriler alınmıştır.

4.9.1. İn vitro koşullarda klorofil-a miktarı

İlk olarak kenevir bitkilerinden alınan yaprak örnekleri tartılarak sıvı nitrojen ile öğütülmüştür. Daha sonra modifiye edilen protokol izlenmiş ve UV-visible spektrofotometrede ölçüm yapılarak veriler alınmış ve varyans analizine tabi tutulmuştur. Çizelge 4.17’de kenevir bitkilerinde farklı konsantrasyonlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarının klorofil- a miktarına (mg/g) ait varyans analizi gösterilmiştir. Klorofil- a (mg/g) istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.17. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-a (mg/g)’ya ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP’ler x Kons.	10	2,080	0,2080	1,20	0,385
Hata	11	1,915	0,1741	—	—
Toplam	21	3,995	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Çizelge 4.18’de NP’lerin ve konsantrasyonlarının klorofil-a’ya olan etkisi gösterilmektedir. Herhangi bir NP eklemesi olmayan kontrol grubunda, klorofil-a değeri 1.340 mg/g olarak bulunmuştur. En yüksek değer (1,815 mg/g) 1600 mg/L Ag NP’de, en düşük değer (0,866 mg/g) ise 800 mg/L Ag NP’de kaydedilmiştir.

Çizelge 4.18. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-a (mg/g)’ya etkisi

NP’ler	Kons. (mg/L)	Klorofil-a (mg/g) ^{ös}	SS	%95 GA
Kontrol	0	1,3400	0,0863	(0,6907; 1,9893)
Ag	200	1,605	0,234	(0,956; 2,255)
	400	0,924	0,462	(0,275; 1,573)
	800	0,866	0,371	(0,217; 1,515)
	1200	0,8755	0,0643	(0,2262; 1,5248)
	1600	1,815	0,979	(1,165; 2,464)
TiO₂	200	1,179	0,431	(0,529; 1,828)
	400	1,136	0,407	(0,487; 1,785)
	800	1,317	0,202	(0,667; 1,966)
	1200	1,174	0,366	(0,525; 1,823)
	1600	1,6580	0,1089	(1,0087; 2,3073)

^{ös}Önemsiz; SS: standard sapma; GA: güven aralığı; Birleştirilmiş Standart sapma = 0,417197

Ag NP klorofil-a üzerinde önce pozitif bir etki göstererek artışa neden olmuş daha sonra ise konsantrasyon arttıkça düşmüş, 1600 mg/L dozda ise en yüksek değere (1,815 mg/g) ulaşmıştır (Çizelge 4.18). Ag NP içeren ortamlar arasında klorofil-a değeri 0,8755- 1,815 mg/g arasında değişkenlik göstermiştir. 1200 mg/L Ag NP içeren ortamda en düşük değer (0,8755 mg/g) kaydedilmiştir. TiO₂ NP’de ise Ag NP’nin aksine kontrol grubuna göre sürekli bir düşüş görülmektedir. Buna karşılık en yüksek TiO₂ NP dozunda (1600 mg/L) klorofil-a’da bir artış görülerek en yüksek klorofil-a miktarı (1,6580 mg/g) ölçülmüştür (Çizelge 4.18). TiO₂ NP içeren ortamlar arasında klorofil-a değeri 1,136 ile 1,6580 mg/g arasında kaydedilmiştir. En düşük değer 400 mg/L TiO₂ NP’de, en yüksek değer ise 1600 mg/L TiO₂ NP’de bulunmuştur.

4.9.2. İn vitro koşullarda klorofil-b miktarı

UV-visible spektrofotometrede yapılan ölçümlerden sonra veriler alınmış ve varyans analizine tabi tutulmuştur. Kenevir bitkilerinde farklı konsantrasyonlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarının klorofil-b miktarına (mg/g) ait varyans analizi Çizelge 4.19’da gösterilmiştir. Klorofil-b (mg/g) istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.19. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-b (mg/g)’ye ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP’ler x Kons.	10	0,1784	0,01784	0,85	0,598
Hata	11	0,2310	0,02100	—	—
Toplam	21	0,4094	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Farklı NP’ler ve dozlarının kenevir bitkileri üzerinde klorofil-b’ye olan etkisi Çizelge 4.20’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde klorofil-b miktarının 0,3360 – 0,5940 mg/g arasında değiştiği görülmektedir. En düşük değer 800 mg/L Ag NP’de kaydedilirken, en yüksek değer TiO₂ NP’nin en yüksek dozu olan 1600 mg/L’de kaydedilmiştir. Kontrol grubundaki klorofil-b değeri ise 0,4445 mg/g olarak bulunmuştur (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının klorofil-b (mg/g)'ye etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	Klorofil-b (mg/g) ^{ös}	SS	%95 GA
Kontrol	0	0,4445	0,0474	(0,2190; 0,6700)
Ag	200	0,4020	0,0212	(0,1765; 0,6275)
	400	0,3590	0,190	(0,133; 0,585)
	800	0,3360	0,187	(0,111; 0,562)
	1200	0,3655	0,0573	(0,1400; 0,5910)
	1600	0,5870	0,190	(0,361; 0,813)
TiO₂	200	0,3520	0,189	(0,127; 0,578)
	400	0,3780	0,150	(0,152; 0,604)
	800	0,5310	0,174	(0,305; 0,757)
	1200	0,4265	0,1096	(0,2010; 0,6520)
	1600	0,5940	0,1329	(0,3685; 0,8195)

^{ös}Önemsiz; SS: standard sapma; GA: güven aralığı; Birleştirilmiş Standart sapma = 0,144905

Ortama Ag NP eklenmesiyle birlikte, Ag NP konsantrasyonu arttıkça klorofil-b miktarında herhangi bir NP içermeyen kontrol grubuna göre bir düşüş görülmektedir (Çizelge 4.20). Buna karşılık, en yüksek Ag NP dozunda (1600 mg/L), Ag NP içeren ortamlar arasında en yüksek klorofil-b değeri (0,5870 mg/g) ölçülmüştür. Ag NP içeren ortamlarda klorofil-b değeri 0,3360- 0,5870 mg/g arasında değişiklik göstermiştir. Minimum değer 800 mg/L, maksimum değer ise 1600 mg/L Ag NP'de bulunmuştur. TiO₂ NP içeren ortamlarda en yüksek klorofil-b miktarı 0,5940 mg/g, ikinci en yüksek değer 0,5310 mg/g, üçüncü yüksek değer ise 0,4265 mg/g olarak sırasıyla 1600 mg/L, 800 mg/L ve 1200 mg/L TiO₂ NP içeren ortamlarda kaydedilmiştir (Çizelge 4.20). TiO₂ NP'nin en düşük dozunda (200 mg/L) ise en düşük klorofil-b değeri (0,3520 mg/g) elde edilmiştir.

4.9.3. İn vitro koşullarda toplam karotenoid miktarı

İn vitro kültür sonunda spektrofotometrede ölçüm yapıp veriler alındıktan sonra varyans analizi yapılmıştır ve sonuçlar Çizelge 4.21'de verilmiştir. Toplam karotenoid (mg/g) yapılan varyans analizi sonucunda istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.21. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam karotenoidlere ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP'ler x Kons.	10	0,2498	0,02498	1,36	0,312
Hata	11	0,2027	0,01843	—	—
Toplam	21	0,4525	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Çizelge 4.22'de farklı NP'ler ve konsantrasyonlarının kenevir bitkilerinde toplam karotenoidlere olan etkisi gösterilmiştir. Toplam karotenoid miktarı 0,3280- 0,6735 mg/g arasında değişim göstermiştir. En düşük karotenoid değeri 400 mg/L Ag NP'de, en yüksek karotenoid değeri ise 1600 mg/L TiO₂ NP'de kaydedilmiştir (Çizelge 4.22). Toplam karotenoid, kontrol grubunda ise 0,4725 mg/g olarak bulunmuştur.

200 mg/L ve 1600 mg/L Ag NP içeren ortamlarda kontrol grubuna göre toplam karotenoid miktarında bir artış görülürken Ag NP'nin diğer dozlarında toplam karotenoid miktarı olumsuz yönde etkilenmiş ve düşüş görülmüştür (Çizelge 4.22). Ag NP içeren ortamlarda toplam karotenoid miktarı 0,3280- 0,599 mg/g arasında bulunmuştur ve bu değerler sırasıyla 400 mg/L ve 1600 mg/L Ag NP'de kaydedilmiştir. TiO₂ NP içeren ortamların hepsi, kontrol grubuna göre daha yüksek toplam karotenoid miktarı ile sonuçlanmıştır (Çizelge 4.22). TiO₂ NP içeren ortamlarda topla karotenoid değeri 0,484 ile 0,6735 mg/g arasında değişiklik göstermiştir. En düşük değer 200 mg/L, en yüksek değer ise 1600 mg/L TiO₂ NP'de kaydedilmiştir. TiO₂ NP konsantrasyonu arttıkça toplam karotenoid miktarı da buna bağlı olarak artmıştır. Ancak bu durum 1200 mg/L TiO₂ NP'de bozulsada (0,540 mg/g) 1600 mg/L'de tekrar bir artış görülmüştür.

Çizelge 4.22. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının toplam karotenoidlere etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	Toplam karotenoidler (mg/g) ^{ös}	SS	%95 GA
Kontrol	0	0,4725	0,0375	(0,2612; 0,6838)
Ag	200	0,5805	0,0233	(0,3692; 0,7918)
	400	0,3280	0,158	(0,116; 0,539)
	800	0,3630	0,143	(0,152; 0,574)
	1200	0,3515	0,0460	(0,1402; 0,5628)
	1600	0,599	0,210	(0,387; 0,810)
TiO₂	200	0,484	0,149	(0,273; 0,696)
	400	0,490	0,147	(0,279; 0,701)
	800	0,5740	0,0933	(0,3627; 0,7853)
	1200	0,540	0,211	(0,329; 0,752)
	1600	0,6735	0,1096	(0,4622; 0,8848)

^{ös}Önemsiz; SS: standard sapma; GA: güven aralığı; Birleştirilmiş Standart sapma = 0,135764

4.10. Narlı Kenevir Çeşit Adayında İn Vitro Koşullarda Lipit Peroksidasyonu Miktarı

Lipit peroksidasyonunun spektrofotometrik olarak belirlenmesi malondialdehit (MDA) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. İn vitro kültür sonunda elde edilen kenevir bitkilerinin UV-visible spektrofotometrede 532 ve 600 nm'de 10 kat seyreltilmiş örneklerinin ölçümü her örnekten 2 tekerrür 4 okuma olacak şekilde yapılmıştır. Daha sonra veriler alınmış ve varyans analizine tabi tutulmuştur. Çizelge 4.23'de kenevir bitkilerinde farklı konsantrasyonlarda Ag ve TiO₂ NP uygulamalarının lipit peroksidasyonuna (nmol/g) ait varyans analizi gösterilmiştir. Lipit peroksidasyonuna (nmol/g) istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.23. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının lipit peroksidasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	AKT	AKO	F-değeri	P-değeri
NP'ler x Kons.	10	233,6	23,36	1,23	0,366
Hata	11	208,3	18,93	—	—
Toplam	21	441,8	—	—	—

VK= Varyans kaynağı; SD= Serbestlikderecesi; AKT= Ayarlanmış kareler toplamı; AKO= Ayarlanmış kareler ortalaması

Farklı NP'ler ve konsantrasyonlarının kenevir bitkilerinde lipit peroksidasyonuna olan etkisi çizelge 4.24'de gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde, lipit peroksidasyonunun 12,150-23,550 nmol/g arasında değiştiği görülmektedir. En düşük lipit peroksidasyonu 200 mg/L Ag NP'de, en yüksek lipit peroksidasyonu değeri ise 1200 mg/L TiO₂ NP'de bulunmuştur. Herhangi bir NP içermeyen kontrol grubunda ise lipit peroksidasyonu 17,450 nmol/g olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Farklı nanopartiküller ve konsantrasyonlarının lipit peroksidasyonuna etkisi

NP'ler	Kons. (mg/L)	MDA (nmol/g) ^{ös}	SS	%95 GA
Kontrol	0	17,450	5,09	(10,68; 24,22)
Ag	200	12,150	5,85	(5,38; 18,93)
	400	14,790	7,76	(8,02; 21,57)
	800	22,270	5,59	(15,50; 29,04)
	1200	22,765	0,156	(15,993; 29,537)
	1600	17,590	5,87	(10,82; 24,36)
TiO₂	200	19,133	0,407	(12,360; 25,905)
	400	18,248	1,206	(11,475; 25,020)
	800	17,250	3,89	(10,48; 24,02)
	1200	23,550	1,82	(16,78; 30,32)
	1600	17,510	1,42	(10,74; 24,28)

^{ös}Önemsiz; SS: standard sapma; GA: güven aralığı; Birleştirilmiş Standart sapma = 4,35130

Ag NP'nin ilk iki konsantrasyonunda (200 ve 400 mg/L), lipit peroksidasyonu kontrol grubuna göre bir düşüş göstermiştir (Çizelge 4.24). Daha yüksek konsantrasyonlarında ise MDA, her dozda kontrol grubundan daha yüksek olarak bulunmuştur. Ag NP bulunan ortamlar arasında MDA, 12,150 ile 22,765 nmol/g arasında değişmiştir. En yüksek değer 1200 mg/L'de bulunurken en düşük değer ise 200 mg/L'de kaydedilmiştir. 800 mg/L TiO₂ NP bulunan ortamda kontrol grubuna göre bir düşüş (17,250 nmol/g) görülürken, diğer tüm TiO₂ NP içeren ortamlarda MDA değeri kontrol grubuna göre hep yüksek olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.24). TiO₂ NP'de lipit peroksidasyonu 17,250- 23,550 nmol/g arasında değişiklik göstermiştir. Minimum MDA miktarı 800 mg/L'de, maksimum MDA miktarı ise 1200 mg/L TiO₂ NP'de kaydedilmiştir.

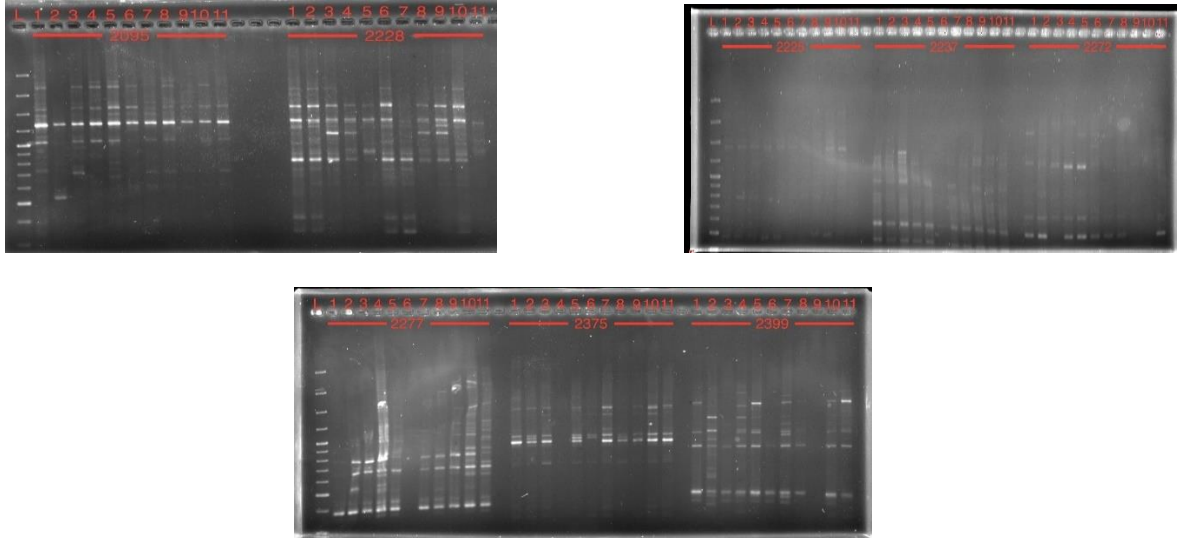
4.11. Narlısaray Kenevir Popülasyonunda PCR Sonuçları ve iPBS Markörleri

Resim 4.5, iPBS-retrotranspozon primerleri kullanılarak yapılan PCR sonuçlarını göstermektedir. Bu çalışmada toplam 101 görünür ve puanlanabilir banttı oluşarı toplam sekiz iPBS-retrotranspozon primeri kullanılmıştır (Çizelge 4.25). Uygulanan bu primerlerden 2277 numaralı primer ile maksimum bantlar (23) ve 2225 ile minimum bantlar (05) elde edilmiştir. 101 banttı 98'i (%97,02) polimorfik bulunmuştur. 2095 numaralı primer ile minimum polimorfizm bulunurken, beş primer %100 polimorfizm göstermiştir. Maksimum ve minimum etkili alel sayısı sırasıyla 1,60 ve 1,43, sırasıyla 2225 ve 2237 numaralı primerlerden elde edilirken, ortalama etkili alel sayısı 1,55 idi. Minimum ve maksimum gen çeşitliliği, sırasıyla 2095 ve 2228 numaralı primerlerden 0,28 ve 0,42 olarak bulunmuştur. Ortalama Shannon'un bilgi indeksi 0,50 iken, maksimum ve minimum I sırasıyla 2228 ve 2095 numaralı primerlerden elde edilmiştir. Minimum ve maksimum beklenen heterozigotluk, sırasıyla 2375 ve 2228 numaralı primerler tarafından elde edilmiş olup değerleri sırasıyla 0,16 ve 0,42 iken, ortalama beklenen heterozigotluk 0,29'du (Çizelge 4.25). Resim 4.5'de agaroz jel elektroforezi sonucunda elde edilmiş jel görüntüleri gösterilmiştir.

Çizelge 4.25. iPBS-retrotranspozon primerleri kullanılarak endüstriyel kenevir (*Cannabis sativa*) arasındaki genetik varyasyonun belirlenmesi için hesaplanan çeşitlilik parametreleri

Primerler	TB	PB	Polimorfizm (%)	Ne	h	I	Ht
2225	5	5	100,00	1,60	0,36	0,54	0,36
2237	8	8	100,00	1,43	0,29	0,45	0,29
2272	6	6	100,00	1,59	0,35	0,52	0,35
2095	16	15	93,75	1,46	0,28	0,44	0,28
2228	15	15	100,00	1,74	0,42	0,60	0,42
2277	23	22	95,65	1,55	0,33	0,50	0,25
2375	9	9	100,00	1,55	0,31	0,47	0,16
2399	19	18	94,74	1,50	0,31	0,47	0,22
Ortalama	12,63	12,25	98,02	1,55	0,33	0,50	0,29
Toplam	101	98					

Ne= Etkili alel sayısı; h= Nei'nin (Nei, 1973) gen çeşitliliği; I= Shannon'un bilgi indeksi; Ht= Beklenen heterozigotluk



Resim 4.5. Endüstriyel kenevirin in vitro bitkilerinde NaN_3 polimorfizmine dayanan iPBS primerlerine genel bakış

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İn vitro çimlenme ve bitki çıkışı, bitki oluşumu için oldukça önemli fizyolojik süreçlerdir. Bu her iki fizyolojik süreç de değişken iç ve dış uyarıcılar tarafından düzenlenir. Dış uyarıcıların uygulanması, nispeten daha hızlı ve homojen çimlenmeye ve ardından bitki çıkışına yol açabilir. Uyarıcıların uygulanması veya tohumların değişken konsantrasyonlarda ve maruz kalma süresinde değişken uyarıcılara maruz bırakılması, tüm çimlenmeyi ve bitki gelişimini düzenler. Son yıllarda, bitki bilimlerinde, özellikle tohum çimlenmesini, bitki oluşumunu, bitki büyümesini ve gelişimini ve sekonder metabolitleri arttırmak için farklı NP'ler kullanılmıştır (El-Shazoly ve Amro, 2019). Bununla birlikte, bitkilerde NP'lerin neden olduğu anotoksisite hakkında tartışmalar vardır ve uygun NP ve konsantrasyon seçimi hedefe bağlı olarak olumlu etkilere yol açabilmektedir (Khot, Sankaran, Maja, Ehsani ve Schuster 2012). İn vitro çimlenme ve bitki çıkışı, kenevir tohumlarının en önemli konularından biridir ve her zaman üniform ve sağlıklı bitki oluşumuna ihtiyaç vardır. Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda farklı NP'ler ile takviye edilmiş MS ortamına ekimi yapılmış, yüzey sterilize edilmiş tohumlar, çimlenme, bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde önemli bir etki sergilemiştir. Farklı konsantrasyonlarda farklı NP'lerin uygulanmasıyla farklı bitkilerde tohum çimlenmesi, fide çıkışı ve bitki büyüme parametreleri değişmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, Ag ve TiO₂ NP tipi ve konsantrasyonunun endüstriyel kenevirin tohum çimlenmesi, bitki çıkışı ve bitki büyüme parametreleri üzerindeki net etkisini açıkça ortaya koymaktadır. Nispeten daha hızlı çimlenme, Ag NP içeren ortam ile karşılaştırıldığında TiO₂ NP içeren ortam üzerinde gelişen tohumlarda gerçekleşmiştir (Khot ve diğerleri, 2012).

Tohum çimlenmesine ilişkin sonuçlar, NP tipinin ve konsantrasyonunun in vitro çimlenme (%) üzerindeki önemini ortaya koymuştur. Her iki NP de kontrole kıyasla ters etki göstermiştir. Ag NP'lerin eklenmesi çimlenme üzerinde olumsuz etki gösterirken, TiO₂ NP kontrol ile hemen hemen benzer çimlenme (%) vermiştir. Öte yandan, her iki NP de daha yüksek konsantrasyonla desteklendiğinde daha fazla tohum çimlenmesi sağlamıştır. Daha önceki çalışmalar üzerinde yapılan araştırmalar, NP'lerin tohum çimlenmesi üzerindeki değişken etkisini, esas olarak NP'lerin türü, konsantrasyonu, uygulama süresi ve bitki türü gibi değişken faktörlere bağlı olarak ortaya çıkarmaktadır. Son çalışmalar aynı zamanda Ag NP'lerle muamele edilmiş tohumların kontrole kıyasla düşük tohum çimlenmesi

gerçekleştiğini belgelemiştir (Tymoszuk ve Kulus, 2022). Diğer yandan, 35 gün boyunca Ag NP'ye maruz kalan *Artemisia absinthium*'un kontrol tohumlarına kıyasla tohum çimlenmesinin (%) arttığı da rapor edilmiştir (Hussain ve diğerleri 2017). TiO₂ NP'lerin uygulanması genellikle soğan (Raskar ve Laware, 2013) ve ıspanakta (Zheng, Hong, Lu ve Liu, 2005) çimlenme ve fide oluşumu üzerinde destekleyici bir etki gösterir. TiO₂ NP'lerin daha fazla ve hızlı çimlenme üzerindeki olumlu etkisi, su ve oksijen alımından (Khot ve diğerleri, 2012), ardından hücre altı lokasyonlarında birikim ve tohum antioksidan sisteminin gelişmesinden (Zheng ve diğerleri, 2005) kaynaklanıyor olabilir.

Kök uzunluğu üzerindeki sonuçlar, kontrole kıyasla her iki NP'nin de olumsuz etkisini göstermiştir. Ag NP'ler daha fazla strese neden olmuştur ve kökler kontrole kıyasla oldukça uzundu. Sonuçlar ayrıca TiO₂ NP destekli ortamlardan elde edilen köklerin kontrolden biraz daha az olduğunu ortaya koymuştur (Shah ve diğerleri, 2021). Hem NP tipinin hem de konsantrasyonunun karşılaştırılması, Ag NP'leri içeren ortamlara kıyasla TiO₂ NP destekli ortamdan daha iyi kök büyümesini ortaya çıkarmış olup, kültür koşullarının kök büyümesi üzerindeki önemini doğrulamıştır (Geisler-Lee ve diğerleri, 2012). Engellenen kök büyümesi, hidroponik olarak yetiştirilen bitkilere atfedilirken, Ag NP'ler ile takviye edilmiş toprak yetiştirme koşullarında hiçbir etki gözlenmemiştir. Oysa, daha yüksek Ag NP konsantrasyonunda in vitro yetiştirilen inci darı fidelerinin kök uzunluğunun azaldığı da belgelenmiştir (Khan ve diğerleri, 2019). Benzer şekilde, TiO₂ NP'lerinin kök uzunluğu üzerindeki değişken (Szymanska ve diğerleri, 2016) veya olumsuz etkisi (Kumar ve diğerleri, 2015) diğer ürünlerde de görülmüştür. Her iki NP'nin kök uzunluğu üzerindeki değişken etkisi, kültür koşulları, genotip, NP'lerin boyutu vb. gibi değişken faktörlerden kaynaklanabilir (Geisler-Lee ve diğerleri, 2012). NP'lerin spesifik konsantrasyonu, kök uzunluğunu düzenleyen bir diğer önemli faktördür (Clement, Hurel, ve Marmier, 2013).

Her iki NP takviyesi de, kontrole kıyasla daha yüksek taze ağırlık ile daha uzun sürgünler vermiştir. NP'ler arasındaki karşılaştırma, hem sürgün uzunluğu hem de yaş ağırlık için Ag NP'lere kıyasla kültürde TiO₂ NP'nin daha teşvik edici etkisini sergilemiştir. NP konsantrasyonunun karşılaştırılması ayrıca, daha uzun sürgünler ve daha fazla yaş ağırlık ürettiğini ve daha yüksek NP konsantrasyonunun önemini sergilemiştir. Bununla birlikte, TiO₂ NP, Ag NP'lere kıyasla genel olarak yüksek sürgün uzunluğu ve daha fazla yaş ağırlık ile sonuçlanmıştır. Yüksek Ag NP konsantrasyonunun sürgün uzunluğu (Zia, Yaqoob, Mannan, Nisa ve Raza, 2020 ve taze biyokütle (Khan ve diğerleri, 2019) üzerindeki baskılayıcı etkisi, in vitro indüklenmiş sürgünler için ortak bir özelliktir. Aksine, Ag NP'lerin

in vitro olarak yetiştirilen domates, turp ve lahana fidelerinin sürgün ağırlığı üzerinde değişken etkisi (Tymoszuk ve Kulus, 2022) gösterilmiştir. Benzer şekilde, *Nicotiana tabacum* için TiO₂ NP'ye yanıt olarak düşük taze ağırlık da belgelenmiştir (Du ve diğerleri, 2017). Ag-Cs NP'lerin nohut tohumlarında kullanımı, %93,0 çimlenme ile gelişmiş büyüme ve gelişme ile sonuçlanmıştır. Benzer şekilde, kontrol nohut tohumlarına kıyasla Ag-Cs NP'leri ile muamele edilmiş nohut tohumlarında fide uzunluğu, taze ve kuru ağırlık önemli ölçüde daha fazla olarak bulunmuştur (Anusuya ve Banu, 2016).

İn vitro yetiştirilen bitkilerin biyokimyasal analizine ilişkin sonuçlar önemsiz kalmıştır, ancak kontrol bitkilerine kıyasla her iki NP'nin de değişken etkisi gösterilmiştir. NP'lerin eklenmesi, kontrole kıyasla daha az MDA içeriği ile sonuçlanmıştır. TiO₂ NP bulunan ortamlarda büyüyen sürgünlerin MDA içerikleri de Ag NP'lerinkinden daha azdı. Öte yandan, 200 ve 400 mg/L TiO₂ NP takviyesi Ag NP'lere kıyasla daha fazla MDA içeriği göstermiştir. Aksine 800, 1200 ve 1600 mg/L Ag NP'lerde TiO₂ NP'lere kıyasla daha fazla MDA içeriği kaydedilmiştir. Ag-Cs NP'leri ile muamele edilmiş nohut yaprak örnekleri, kontrole kıyasla daha fazla MDA seviyesi sergilemiştir. MDA içeriğinde önemli bir artışın varlığı, NP'lerin daha etkili bir koruyucu fonksiyona sahip olabileceğini düşündürmektedir. NP takviyesi, kontrol işlemine kıyasla fotosentetik parametreleri etkiledi, ancak NP'lerin tip x konsantrasyonunun sadece klorofil-b içerikleri istatistiksel olarak anlamlı olarak bulunmuştur. Ag NP'li fidelerde klorofil-a içeriği, kontrol ve TiO₂ NP'lere kıyasla daha az bulunmuştur. Genel olarak, her iki NP'nin de yüksek konsantrasyonu (800-1600 mg/L), kontrolden daha fazla klorofil-a içeriği ile sonuçlanmıştır. Klorofil-b ve karotenoid içerikleri için benzer sonuçlar kaydedilmiştir. Önceki çalışmaların araştırılması, fotosentetik parametreler üzerinde NP tipi ve konsantrasyonunun önemli etkisini vurgulamıştır. Yüksek konsantrasyonda Ag NP'lerin uygulanması, 7 günlük *B. Juncea*'nın (Sharma ve diğerleri, 2012) yüksek klorofil içeriğine, *B. rapa* ssp. Rapa 'da (Thiruvengadam, Gurunathan ve Chung, 2015) klorofil içeriğinin azalmasına yol açmıştır veya farklı ürünler üzerindeki değişken etkileri test edilmiştir (Tymoszuk ve Kulus, 2022). Bunun aksine, TiO₂'nin yaprakların klorofil içeriği üzerindeki olumsuz etkisi domates için belgelenmiştir (Song ve diğerleri, 2013). Ag-CS NP muamelesinden sonra artan klorofil a, b ve karotenoid konsantrasyonu, NP muamelesinin pigment durumunu iyileştirebileceğini göstermektedir (Anusuya ve Banu, 2016). Son çalışmalara göre nanoparçacık muamelesi, fotosentetik pigment üretimini artırarak fotosentetik hızı arttırmaktadır (Siddiqui ve Al-Whaibi, 2014).

Fotosentetik pigmentteki artışın nedeni, daha hızlı elektron taşıma oranlarından kaynaklanıyor olabilir (Giraldo ve diğerleri, 2014).

Uygun moleküler markörlerin seçimi oldukça önemlidir ve birçok araştırmacı bitkiler arasında yüksek genetik çeşitliliğin tanımlanmasında bu markör sisteminin yüksek verimliliğini ve tekrarlanabilirliğini doğrulamıştır (Nadeem, 2021). Değerlendirilen örneklerdeki değişkenliği doğrulamak için bitki doku kültüründe moleküler markörlerin uygulanması (Zahumenicka ve diğerleri, 2018) somaklonları kontrol etmek için popülerlik kazanmaktadır. Genetik aslına uygunluk, kenevir klonları arasında değerlendirildi ve iPBS-retrotranspozon markörleri kullanılarak ana bitkileriyle karşılaştırılmıştır. Kenevirde genetik uygunluk testi için toplam 30 iPBS-retrotranspozon primeri tarandı ve bunlardan sekiz primer genomik fragmanları büyüttü ve görünür, puanlanabilir ve tekrarlanabilir bantlarla sonuçlandı. Tüm primerler, kenevir klonları arasında polimorfizm gösterdi ve hesaplanan çeşitlilik indeksleri, değerlendirilen kenevir klonları arasında genetik varyasyonların varlığını doğruladı. Bu sonuçlar, çalışılan popülasyonun heterozigot yapısını doğrulamıştır. İki farklı NP'nin karşılaştırılması, Ag NP'lere kıyasla TiO₂ NP'nin daha iyi performansını ortaya çıkarmıştır. Bunun sebebi, muhtemelen, TiO₂ NP'nin sitokinin ve gibrellinler gibi bitki büyümesini hızlandıran etkisi olabilir. Bu sonuçlar, uygun NP'lerin seçiminin ve konsantrasyonunun bitki büyümesi ve gelişimi için oldukça önemli olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Aasim, M., KARATAS, M., Khawar, K. M., & DOGAN, M. (2013). Optimization of sterilization and micropropagation of water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). ***Journal of Applied Biological Sciences***, 7(3), 71-74.
2. Abbasi, B. H., Khan, M., Guo, B., Bokhari, S. A., & Khan, M. A. (2011). Efficient regeneration and antioxidative enzyme activities in *Brassica rapa* var. turnip. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)***, 105(3), 337-344.
3. Alden, D. M., Proops, J. L., & Gay, P. W. (1998). Industrial hemp's double dividend: a study for the USA. ***Ecological Economics***, 25(3), 291-301.
4. Allhoff, F. (2009). The coming era of nanomedicine. ***The American Journal of Bioethics***, 9(10), 3-11.
5. Anonim2021a, URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Cannabis>, Son Erişim Tarihi: 04 Temmuz 2022.
6. Anonim2021b, URL: <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/ktae/belgeler/kenevirtarimikitabi.psd>, Son Erişim Tarihi: 04 Temmuz 2022.
7. Anusuya, S., & Banu, K. N. (2016). Silver-chitosan nanoparticles induced biochemical variations of chickpea (*Cicer arietinum* L.). ***Biocatalysis and Agricultural Biotechnology***, 8, 39-44
8. Aytaç, S., Arslanoğlu, Ş. F., & Ayan, A. K. (2018). Suçlu olarak bilinen bitki: kenevir. ***Current Academic Studies in Agricultural Sciences***, 550.
9. Babaoğlu, M., Gürel, E., & Özcan, S. (2001). Bitki Biyoteknolojisi I: Doku Kültürü ve Uygulamaları. ***Selçuk Üniversitesi Yayınları***, Konya
10. Barut, M., Nadeem, M. A., Karaköy, T., & BALOCH, F. S. (2020). DNA fingerprinting and genetic diversity analysis of world quinoa germplasm using iPBS-retrotransposon marker system. ***Turkish Journal of Agriculture and Forestry***, 44(5), 479-491.
11. Beyth, N., Houri-Haddad, Y., Domb, A., Khan, W., & Hazan, R. (2015). Alternative antimicrobial approach: nano-antimicrobial materials. ***Evidence-based complementary and alternative medicine***, 2015.
12. Chandra, S., Lata, H., Khan, I. A., & ElSohly, M. A. (2017). *Cannabis sativa* L.: botany and horticulture. In ***Cannabis sativa L.-Botany and Biotechnology*** (pp. 79-100). Springer, Cham.
13. Chandran, H., Meena, M., Barupal, T., & Sharma, K. (2020). Plant tissue culture as a perpetual Variyans kaynağı for production of industrially important bioactive compounds. ***Biotechnology Reports***, 26, e00450.

14. Chaohua, C., Gonggu, Z., Lining, Z., Chunsheng, G., Qing, T., Jianhua, C., ... & Jianguang, S. (2016). A rapid shoot regeneration protocol from the cotyledons of hemp (*Cannabis sativa* L.). *Industrial crops and products*, 83, 61-65.
15. Chen, M., Zhang, L. L., Li, J., He, X. J., & Cai, J. C. (2015). Bioaccumulation and tolerance characteristics of a submerged plant (*Ceratophyllum demersum* L.) exposed to toxic metal lead. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 313-321.
16. Clément, L., Hurel, C., & Marmier, N. (2013). Toxicity of TiO₂ nanoparticles to cladocerans, algae, rotifers and plants—effects of size and crystalline structure. *Chemosphere*, 90(3), 1083-1090.
17. Delfani, M., Baradarn Firouzabadi, M., Farrokhi, N., & Makarian, H. (2014). Some physiological responses of black-eyed pea to iron and magnesium nanofertilizers. *Communications in soil science and plant analysis*, 45(4), 530-540.
18. Doyle, J. J. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12, 13-15.
19. Du, W., Tan, W., Peralta-Videa, J. R., Gardea-Torresdey, J. L., Ji, R., Yin, Y., & Guo, H. (2017). Interaction of metal oxide nanoparticles with higher terrestrial plants: physiological and biochemical aspects. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 210-225.
20. El-Shazoly, R. M., & Amro, A. (2019). Comparative physiological and biochemical effects of CuO NPs and bulk CuO phytotoxicity onto the maize (*Zea mays*) seedlings. *Global NEST J*, 21(3), 276-289.
21. Fahimirad, S., Ajalloueian, F., & Ghorbanpour, M. (2019). Synthesis and therapeutic potential of silver nanomaterials derived from plant extracts. *Ecotoxicology and environmental safety*, 168, 260-278.
22. Flores-Sanchez, I. J., & Verpoorte, R. (2008a). PKS activities and biosynthesis of cannabinoids and flavonoids in *Cannabis sativa* L. plants. *Plant and cell physiology*, 49(12), 1767-1782.
23. Flores-Sanchez, I. J., & Verpoorte, R. (2008b). Secondary metabolism in cannabis. *Phytochemistry reviews*, 7(3), 615-639.
24. Frazier, T. P., Burklew, C. E., & Zhang, B. (2014). Titanium dioxide nanoparticles affect the growth and microRNA expression of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Functional & integrative genomics*, 14(1), 75-83.
25. Galán-Ávila, A., García-Forte, E., Prohens, J., & Herraiz, F. J. (2020). Development of a direct in vitro plant regeneration protocol from *Cannabis sativa* L. seedling explants: developmental morphology of shoot regeneration and ploidy level of regenerated plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, 645.
26. Gedik, G., Avinç, O. O., & Yavaş, A. (2010). Kenevir lifinin özellikleri ve tekstil endüstrisinde kullanımıyla sağladığı avantajlar. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(3), 39-48.

27. Geisler-Lee, J., Wang, Q., Yao, Y., Zhang, W., Geisler, M., Li, K., ... & Ma, X. (2012). Phytotoxicity, accumulation and transport of silver nanoparticles by *Arabidopsis thaliana*. *Nanotoxicology*, 7(3), 323-337.
28. Giraldo, J. P., Landry, M. P., Faltermeier, S. M., McNicholas, T. P., Iverson, N. M., Boghossian, A. A., ... & Strano, M. S. (2014). Plant nanobionics approach to augment photosynthesis and biochemical sensing. *Nature materials*, 13(4), 400-408.
29. Gupta, N., Upadhyaya, C. P., Singh, A., Abd-Elsalam, K. A., & Prasad, R. (2018). Applications of silver nanoparticles in plant protection. In *Nanobiotechnology Applications in Plant Protection* (pp. 247-265). Springer, Cham.
30. Hesami, M., & Jones, A. M. P. (2021). Modeling and optimizing callus growth and development in *Cannabis sativa* using random forest and support vector machine in combination with a genetic algorithm. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(12), 5201-5212.
31. Hesami, M., Pepe, M., Alizadeh, M., Rakei, A., Baiton, A., & Jones, A. M. P. (2020). Recent advances in cannabis biotechnology. *Industrial Crops and Products*, 158, 113026.
32. Hurgobin, B., Tamiru-Oli, M., Welling, M. T., Doblin, M. S., Bacic, A., Whelan, J., & Lewsey, M. G. (2021). Recent advances in *Cannabis sativa* genomics research. *New Phytologist*, 230(1), 73-89.
33. Hussain, M., Raja, N. I., Mashwani, Z. U. R., Iqbal, M., Sabir, S., & Yasmeen, F. (2017). In vitro seed germination and biochemical profiling of *Artemisia absinthium* exposed to various metallic nanoparticles. *3 Biotech*, 7(2), 1-8.
34. Kalendar, R., Antonius, K., Smýkal, P., & Schulman, A. H. (2010). iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation. *Theoretical and Applied Genetics*, 121(8), 1419-1430.
35. Khan, I., Raza, M. A., Awan, S. A., Khalid, M. H. B., Raja, N. I., Min, S., ... & Huang, L. (2019). In vitro effect of metallic silver nanoparticles (agnps): a novel approach toward the feasible production of biomass and natural antioxidants in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.). *Appl Ecol Environ Res*, 17, 12877-12892.
36. Khot, L. R., Sankaran, S., Maja, J. M., Ehsani, R., & Schuster, E. W. (2012). Applications of nanomaterials in agricultural production and crop protection: a review. *Crop protection*, 35, 64-70.
37. Kumar S, Patra AK, Datta SC, et al (2015) Phytotoxicity of nanoparticles to seed germination of plants. *Int J Adv Res*, 3:854-865
38. Kumari, M., Khan, S. S., Pakrashi, S., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2011). Cytogenetic and genotoxic effects of zinc oxide nanoparticles on root cells of *Allium cepa*. *Journal of hazardous materials*, 190(1-3), 613-621.
39. Lata, H., Chandra, S., Khan, I. A., & ElSohly, M. A. (2016a). In vitro propagation of *Cannabis sativa* L. and evaluation of regenerated plants for genetic fidelity and cannabinoids content for quality assurance. In *Protocols for In Vitro Cultures and*

Secondary Metabolite Analysis of Aromatic and Medicinal Plants, Second Edition (pp. 275-288). Humana Press, New York, NY.

40. Lata, H., Chandra, S., Khan, I. A., and ElSohly, M. A. (2010). High frequency plant regeneration from leaf derived callus of high 19-tetrahydrocannabinol yielding Cannabis sativa L. ***Planta Med.***, 76, 1629–1633. doi: 10.1055/s-0030-1249773
41. Lata, H., Chandra, S., Techen, N., Khan, I. A., & ElSohly, M. A. (2016b). In vitro mass propagation of Cannabis sativa L.: A protocol refinement using novel aromatic cytokinin meta-topolin and the assessment of eco-physiological, biochemical and genetic fidelity of micropropagated plants. ***Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants***, 3(1), 18-26.
42. Lee, C. W., Mahendra, S., Zodrow, K., Li, D., Tsai, Y. C., Braam, J., & Alvarez, P. J. (2010). Developmental phytotoxicity of metal oxide nanoparticles to Arabidopsis thaliana. ***Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal***, 29(3), 669-675.
43. 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. ***Critical reviews in plant sciences***, 13(2), 139-183.
44. León-López, L., Escobar-Zúñiga, Y., Salazar-Salas, N. Y., Mora Rochín, S., Cuevas-Rodríguez, E. O., Reyes-Moreno, C., & Milán-Carrillo, J. (2020). Improving polyphenolic compounds: Antioxidant activity in chickpea sprouts through elicitation with hydrogen peroxide. ***Foods***, 9(12), 1791.
45. Lin, D., & Xing, B. (2008). Root uptake and phytotoxicity of ZnO nanoparticles. ***Environmental science & technology***, 42(15), 5580-5585.
46. Luwanska, A., & Wielgus, K. (2009). Anther culture and callus induction in Cannabis sativa L. ***New Biotechnology***, 25, S302.
47. Monthony, A. S., Page, S. R., Hesami, M., & Jones, A. M. P. (2021). The past, present and future of Cannabis sativa tissue culture. ***Plants***, 10(1), 185.
48. Morales, M. I., Rico, C. M., Hernandez-Viezcas, J. A., Nunez, J. E., Barrios, A. C., Tafoya, A., ... & Gardea-Torresdey, J. L. (2013). Toxicity assessment of cerium oxide nanoparticles in cilantro (Coriandrum sativum L.) plants grown in organic soil. ***Journal of agricultural and food chemistry***, 61(26), 6224-6230.
49. Moraru, C. I., Panchapakesan, C. P., Huang, Q., Takhistov, P., Liu, S., & Kokini, J. L. (2003). Nanotechnology: a new frontier in food science understanding the special properties of materials of nanometer size will allow food scientists to design new, healthier, tastier, and safer foods. ***Nanotechnology***, 57(12), 24-29.
50. Mushtaq, Y. K. (2011). Effect of nanoscale Fe₃O₄, TiO₂ and carbon particles on cucumber seed germination. ***Journal of Environmental Science and Health, Part A***, 46(14), 1732-1735.

51. Nadeem, M. A. (2021). Deciphering the genetic diversity and population structure of Turkish bread wheat germplasm using iPBS-retrotransposons markers. ***Molecular Biology Reports***, 48(10), 6739-6748.
52. Nadeem, M. A., Nawaz, M. A., Shahid, M. Q., Doğan, Y., Comertpay, G., Yıldız, M., ... & Baloch, F. S. (2018). DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. ***Biotechnology & Biotechnological Equipment***, 32(2), 261-285.
53. Nair, P. M. G., & Chung, I. M. (2015). Study on the correlation between copper oxide nanoparticles induced growth suppression and enhanced lignification in Indian mustard (Brassica juncea L.). ***Ecotoxicology and Environmental Safety***, 113, 302-313.
54. Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., & Kumar, D. S. (2010). Nanoparticulate material delivery to plants. ***Plant science***, 179(3), 154-163.
55. Nei, M. (1973). Analysis of gene diversity in subdivided populations. ***Proceedings of the national academy of sciences***, 70(12), 3321-3323.
56. Nekrasova, G. F., Ushakova, O. S., Ermakov, A. E., Uimin, M. A., & Byzov, I. V. (2011). Effects of copper (II) ions and copper oxide nanoparticles on Elodea densa Planch. ***Russian Journal of Ecology***, 42(6), 458-463.
57. Nelson RA (1996) Hemp and history, Rex Research, Jean NV. Son Erişim Tarihi: 04 Eylül 2016, URL: <http://www.rexresearch.com/hhist/hhicon.htm>
58. 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 Journal of Plant Physiology***, 20(2), 157-161.
59. 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. ***The plant pathology journal***, 22(3), 295-302.
60. Pertwee, R. G. (Ed.). (2014). ***Handbook of cannabis***. Oxford University Press, USA.
61. Porra, R. J., Thompson, W. A. A., & Kriedemann, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. ***Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics***, 975(3), 384-394.
62. Prasad, T. N. V. K. V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Reddy, K. R., ... & Pradeep, T. (2012). Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut. ***Journal of plant nutrition***, 35(6), 905-927.
63. Raskar, S., & Laware, S. L. (2013). Effect of titanium dioxide nano particles on seed germination and germination indices in onion. ***Plant Sciences Feed***, 3(9), 103-107.
64. Rock, E. M., & Parker, L. A. (2021). Constituents of cannabis sativa. ***Cannabinoids and Neuropsychiatric Disorders***, 1-13.

65. Ruttkay-Nedecky, B., Krystofova, O., Nejdl, L., & Adam, V. (2017). Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 1-19.
66. Salentijn, E. M., Zhang, Q., Amaducci, S., Yang, M., & Trindade, L. M. (2015). New developments in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) breeding. *Industrial crops and products*, 68, 32-41.
67. Scrinis, G., & Lyons, K. (2007). The emerging nano-corporate paradigm: nanotechnology and the transformation of nature, food and agri-food systems. *The International Journal of Sociology of Agriculture and Food*, 15(2), 22-44.
68. Sevilgen, Ö. (2009). Ozon, Klor ve Hidrojen Peroksit Uygulamalarının Pazıda Klorofil Miktarı Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans tezi*, 75s, Ankara.
69. Shah, T., Latif, S., Saeed, F., Ali, I., Ullah, S., Alsahli, A. A., ... & Ahmad, P. (2021). Seed priming with titanium dioxide nanoparticles enhances seed vigor, leaf water status, and antioxidant enzyme activities in maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. *Journal of King Saud University-Science*, 33(1), 101207.
70. Shah, V., & Belozerovala, I. (2009). Influence of metal nanoparticles on the soil microbial community and germination of lettuce seeds. *Water, air, and soil pollution*, 197(1), 143-148.
71. 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. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167(8), 2225-2233.
72. Siddiqui, M. H., & Al-Wahaibi, M. H. (2014). Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicum esculentum* seeds Mill.). *Saudi journal of biological sciences*, 21(1), 13-17.
73. Siddiqui, M. H., & Al-Wahaibi, M. H. (2014). Role of nano-SiO₂ in germination of tomato (*Lycopersicum esculentum* seeds Mill.). *Saudi journal of biological sciences*, 21(1), 13-17.
74. Song, U., Jun, H., Waldman, B., Roh, J., Kim, Y., Yi, J., & Lee, E. J. (2013). Functional analyses of nanoparticle toxicity: a comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 93, 60-67.
75. Sorokin, A., Yadav, N. S., Gaudet, D., & Kovalchuk, I. (2021). Development and Standardization of Rapid and Efficient Seed Germination Protocol for Cannabis sativa. *Bio-protocol*, 11(1).
76. Szymańska, R., Kołodziej, K., Ślesak, I., Zimak-Piekarczyk, P., Orzechowska, A., Gabruk, M., ... & Kruk, J. (2016). Titanium dioxide nanoparticles (100–1000 mg/l) can affect vitamin E response in Arabidopsis thaliana. *Environmental pollution*, 213, 957-965.

77. Thiruvengadam, M., Gurunathan, S., & Chung, I. M. (2015). Physiological, metabolic, and transcriptional effects of biologically-synthesized silver nanoparticles in turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa* L.). *Protoplasma*, 252(4), 1031-1046.
78. Torney, F., Trewyn, B. G., Lin, V. S. Y., & Wang, K. (2007). Mesoporous silica nanoparticles deliver DNA and chemicals into plants. *Nature nanotechnology*, 2(5), 295-300.
79. Tremlová, B., Mikulášková, H. K., Hajduchová, K., Jancikova, S., Kaczorová, D., Čavar Zeljković, S., & Dordevic, D. (2021). Influence of technological maturity on the secondary metabolites of hemp concentrate (*Cannabis sativa* L.). *Foods*, 10(6), 1418.
80. Tung, H. T., Thuong, T. T., Cuong, D. M., Luan, V. Q., Hien, V. T., Hieu, T., ... & Nhut, D. T. (2021). Silver nanoparticles improved explant disinfection, in vitro growth, runner formation and limited ethylene accumulation during micropropagation of strawberry (*Fragaria× ananassa*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 145(2), 393-403.
81. Turan, Z. M. (2000). Lif Bitkileri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları*, (83), 274.
82. Tymoszuik, A., & Kulus, D. (2022). Effect of Silver Nanoparticles on the In Vitro Regeneration, Biochemical, Genetic, and Phenotype Variation in Adventitious Shoots Produced from Leaf Explants in Chrysanthemum. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(13), 7406.
83. Viana, M. M., Soares, V. F., & Mohallem, N. D. S. (2010). Synthesis and characterization of TiO₂ nanoparticles. *Ceramics International*, 36(7), 2047-2053.
84. Wang, L., Hu, C., & Shao, L. (2017). The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International journal of nanomedicine*, 12, 1227.
85. Wang, P., Lombi, E., Zhao, F. J., & Kopittke, P. M. (2016). Nanotechnology: a new opportunity in plant sciences. *Trends in plant science*, 21(8), 699-712.
86. Wang, R., He, L. S., Xia, B., Tong, J. F., Li, N., & Peng, F. (2009). A micropropagation system for cloning of hemp (*Cannabis sativa* L.) by shoot tip culture. *Pak. J. Bot*, 41(2), 603-608.
87. YAMAN, C. (2020). Cannabis Sativa L.(Kenevir)'de İn Vitro Mikroçoğaltım. *Sürdürülebilir Mühendislik Uygulamaları ve Teknolojik Gelişmeler Dergisi*, 3(2), 54-62.
88. Yeh FC, Yang RC, Boyle T (1999) POPGENE Version 1.32: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetics Analysis. University of Alberta, Edmonton

89. Yılmaz, S., (2020). *Plantago Lanceolata* bitkisinin doku kültüründe rejenerasyonu, bitki ekstraktından nanopartikül sentezi, antibakteriyel ve yara iyileştirici etkisinin araştırılması. URL: <https://avesis.yildiz.edu.tr/dosya?id=056033c7-46e5-414e-a229-7a1bbc3b6b04>, Son Erişim Tarihi: 04 Temmuz 2022
90. Zahumenická, P., Fernández, E., Šedivá, J., Žiarovská, J., Ros-Santaella, J. L., Martínez-Fernández, D., ... & Milella, L. (2018). Morphological, physiological and genomic comparisons between diploids and induced tetraploids in *Anemone sylvestris* L. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)***, 132(2), 317-327.
91. Zhang, W., WANG, X. M., Rong, F. A. N., YIN, G. X., Ke, W. A. N. G., DU, L. P., ... & YE, X. G. (2015). Effects of inter-culture, arabinogalactan proteins, and hydrogen peroxide on the plant regeneration of wheat immature embryos. ***Journal of Integrative Agriculture***, 14(1), 11-19.
92. Zheng, L., Hong, F., Lu, S., & Liu, C. (2005). Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach. ***Biological trace element research***, 104(1), 83-91.
93. Zia, M., Yaqoob, K., Mannan, A., Nisa, S., & Raza, G. (2020). Regeneration response of carnation cultivars in response of silver nanoparticles under in vitro conditions. ***Vegetos***, 33(1), 11-20.
94. Zuardi, A. W. (2006). History of cannabis as a medicine: a review. ***Brazilian Journal of Psychiatry***, 28, 153-157.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı :
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri :
 Medeni hali :
 Telefon :
 Faks : -
 e-mail :



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	SBTÜ/ Tarım Bilimleri	2022
Lisans	Çukurova Üniversitesi/ Bahçe Bitkileri	2019
Lise	Adana Kız Lisesi	2015

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2022-Halen	Ertar Kimya	Ruhsatlandırma Uzmanı
2020-2022	Sivas Bilim ve Teknoloji Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
07.2020-11.2020	Corteva Agriscience	Kalite Kontrol Mühendisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

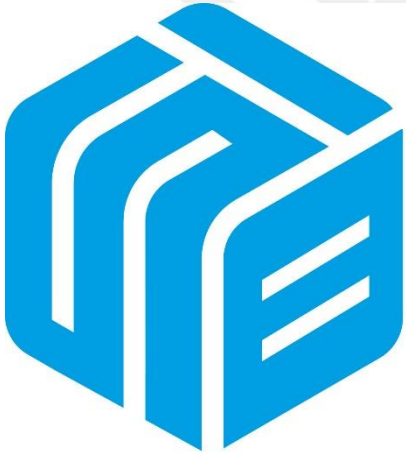
1. **Akgür, O., & Aasim, M.** (2022). Deciphering the iPBS retrotransposons based genetic diversity of nanoparticles induced in Vitro seedlings of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Molecular Biology Reports*, 1-9.
2. Aasim, M., **Akgür, Ö.**, & Yıldırım, B. (2022). An overview on boron and pollen germination, tube growth and development under in vitro and in vivo conditions. *Boron in Plants and Agriculture*, 293-310.

3. Aasim, M., Katırcı, R., **Akgur, O.**, Yildirim, B., Mustafa, Z., Nadeem, M. A., ... & Yılmaz, G. (2022). Machine learning (ML) algorithms and artificial neural network for optimizing in vitro germination and growth indices of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.). *Industrial Crops and Products*, 181, 114801.
4. Barut, M., Nadeem, M. A., **AKGÜR, Ö.**, Tansi, L. S., Aasim, M., Altaf, M. T., & BALOCH, F. S. (2022). Medicinal and aromatic plants in the omics era: application of plant breeding and biotechnology for plant secondary metabolite production. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 46(2), 182-203.

Hobiler

Yüzme, Tenis, Fotoğrafçılık





**SİVAS
BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ**

KÖKLERDEN GÖKLERE...