

BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ UYGULAMALARINDAKİ STERİLİZASYON
PROSEDÜRLERİNDE NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIMI

Aslı AKTAY

Kütahya Dumlupınar Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği Uyarınca
Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Burcu ÇETİN

Ağustos - 2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

Aslı AKTAY tarafından hazırlanan "BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ UYGULAMALARINDAKİ STERİLİZASYON PROSEDÜRLERİNDE NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIMI" adlı çalışması, aşağıda belirtilen jüri tarafından Dumlupınar Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek OY BİRLİĞİ ile Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

26/08/2019

Prof. Dr. Önder UYSAL
Enstitü Müdürü, Fen Bilimleri Enstitüsü

Prof. Dr. Hayri DAYIOĞLU
Anabilim Dalı Başkanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Burcu ÇETİN (Danışman)
Danışman, Biyoloji Anabilim Dalı

Sınav Komitesi Üyeleri

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin TEKŞEN
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Burcu Çetin
Biyoloji Bölümü, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem AY
Kimyâi Bölümü, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Bu tezin hazırlanmasında Akademik kurallara riayet ettiğimizi, özgün bir çalışma olduğunu ve yapılan tez çalışmasının bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olduğunu, çalışma kapsamında teze ait olmayan veriler için kaynak gösterildiğini ve kaynaklar dizininde belirtildiğini, Yüksek Öğretim Kurulu tarafından kullanılmak üzere önerilen ve Kütahya Dumlupınar Üniversitesi tarafından kullanılan İntihal Programı ile tarandığını ve benzerlik oranının % 21 çıktığını beyan ederiz. Aykırı bir durum ortaya çıktığı takdirde tüm hukuki sonuçlara razı olduğumuzu taahhüt ederiz.



Dr. Öğr. Üyesi Burcu ÇETİN



Aslı AKTAY

BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ UYGULAMALARINDAKİ STERİLİZASYON PROSEDÜRLERİNDE NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIMI

Aslı AKTAY

Biyoloji, Yüksek Lisans Tezi, 2019

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Burcu ÇETİN

ÖZET

Bitki doku kültürü uygulamaları *in vitro* steril koşullarda yapılmaktadır. Kültür ortamlarının biyolojik olarak kirlenmeden oluşturulması ve aseptik olarak korunması önemlidir. Kültür ortamındaki mikrobiyal kontaminasyonlar bitkilerin yeterli beslenme ve gelişimlerini engelleyerek deneysel sonuçları etkileyebilir. Kontaminasyonlar çoğunlukla eksplantların yüzeylerinde bulunan mikroorganizmalardır. Bu nedenle eksplantların kültür işlemleri öncesinde sterilizasyon işlemlerinden geçirilmeleri gerekmektedir. Bu amaçla her geçen gün bitkiye toksik etki göstermeyecek, etkili sterilantların keşfine ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda, nanomalzemeler özellikle *Nanosilver [NS]*, tıp ve çevre alanlarında antimikrobiyal bir madde olarak kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, *Nepeta cataria L.* tohumlarının steril olarak *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi için yüzey sterilizasyonu işlemlerinde gümüş nanopartiküllerin (Ag NP) kullanım potansiyeli araştırılmıştır. Bitkinin tohumlarına uygulanacak olan en uygun konsantrasyon ve sürenin belirlenmesi amacıyla, beş (0 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm) farklı konsantrasyon ve üç (5dk, 10dk, 20dk) farklı süre denenmiştir.

Yapılan uygulamalar sonucunda en düşük kontaminasyon, 3 dk. %70'lik etil alkolde, ardından 20 dk, 150 ppm konsantrasyonda Ag NP solüsyonunda bekletilen tohumlarda elde edilmiştir. Elde edilen bitkiciklerde herhangi bir toksisite semptomu gözlenmemiştir. Sonuçlar, *in vitro* steril bitkilerin elde edilmesi için Ag NP lerin kullanılabileceğini bizlere sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Nanopartikül, *Nepeta cataria L.*, Sterilizasyon, Konsantrasyon, Kontaminasyon

USE OF NANOPARTICULES IN STERILIZATION PROCEDURES IN PLANT TISSUE CULTURE APPLICATIONS

Aslı AKTAY

Biology, M. S. Thesis, 2019

Thesis Supervisor: Assist. Prof. Dr. Burcu ÇETİN

SUMMARY

Plant tissue culture applications are carried out in sterile conditions *in vitro*. It is important to establish the culture media biologically without contamination and protect aseptically. Microbial contamination in the culture medium may affect experimental results by preventing adequate nutrition and development of plants. Contamination agents are mostly microorganisms found on the surfaces of explants. Therefore, explants should be subjected to sterilization procedures prior to culture preparations. For this purpose, there is a need for discovery of effective sterilants that will not have toxic effects on the plants. In recent years, nanomaterials have been used as antimicrobial agents such as Nanosilver [NS] especially in the fields of medicine and environment.

In this study, the potential of silver nanoparticles (Ag NP) in surface sterilization of the *Nepeta cataria* L. seeds in sterile *in vitro* conditions was investigated. Five (0 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm) different concentrations and three (5 min, 10 min, 20 min) different time period were tried to determine the optimum concentration and duration to apply to the seeds of the plant.

As a result of the applications made, the lowest contamination was obtained in seeds held in 3 min. 70% ethyl alcohol followed by 20 min. 150 ppm concentration of Ag NP solution. No signs of toxicity were observed in the obtained plantlets. The results showed that Ag NPs can be used to obtain *in vitro* sterile plants.

Keywords: Nanoparticle, *Nepeta cataria* L., Sterilization, Concentration, Contamination

TEŞEKKÜR

Tanıştığımızdan bugüne, her türlü yardım ve desteğini hissettiğim ve tez çalışmamım başlatılması, yürütülmesi, değerlendirilmesi aşamaları sırasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Değerli Yrd. Doç. Dr. Burcu ÇETİN'e; çalışmalarda kullanılan *Nepeta cataria* L. tohumlarını temin eden Kütahya Belediyesi Hekim Sinan Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi çalışanlarına; destek ve yardımları için arkadaşlarım Betül KURTULUŞ'a, Vesile YÖRÜK'e ve Elif BULUT'a teşekkürü bir borç bilirim. Varlıklarıyla her zaman bana güven veren ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Annem'e ve Babam'a teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	v
SUMMARY	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Nepeta cataria</i> L. nin Bilimsel Sınıflandırması	3
2.2. Morfolojik Özellikleri	5
2.3. Tıbbi Önemi ve Yararları	5
2.4. Bitki Doku Kültürleri	6
2.5. Bitki Doku Kültürü Uygulamalarının Islah Çalışmalarında Kullanılması	7
2.5.1. Temel biyolojik araştırmaların yapılması ve ekonomik değeri yüksek biyokimyasalların elde edilmesi.....	7
2.5.2. Ekonomik değeri yüksek biyokimyasalların elde edilmesi şeklindeki çalışmalar .	7
2.5.3. Mikroçoğaltım yöntemi ile bitki çoğaltma	7
2.5.4. Patojenlerden arınmış bitki eldesi	8
2.5.5. Türler arası melezlerin elde edilmesi	8
2.5.6. Anter ve mikrospor kültürü aracılığı ile haploid bitki eldesi	8
2.5.7. Yeni özelliklere sahip bitkilerin elde edilmesi	9
2.5.8. Transgenik bitkilerin elde edilmesi	9
2.5.9. Protoplast füzyonu ile yeni genotiplerin eldesi	9
2.5.10. Gen kaynaklarının depolanması	10
2.5.11. Hücre kültürlerinin in vitro seleksiyon çalışmalarında kullanımı	10
2.6. Bitki Doku Kültürü Uygulamalarının Islah Dışı Çalışmalarında Kullanılması	10
2.6.1. Mikroçoğaltım.....	11
2.6.2. Sentetik tohum üretimi (somatik embriyolar)	11
2.6.3. Sekonder metabolit üretimi (kallus-hücre süspansiyonları)	11
2.6.4. Kimeralar.....	11
2.7. Bitki Doku Kültürünün Esas Evreleri	11
2.8. Eksplant ve Sterilizasyon	13
2.9. Nanopartiküller	14

İÇİNDEKİLER

Sayfa

2.9.1. Gümüş nanopartiküller ve antimikrobiyal etkileri	14
2.9.2. Yeşil sentez	15
2.9.3. Gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal etkileri	16
2.10. Nanopartiküller ile Yapılan Bitki Doku Kültürü Çalışmaları	17
 3. MATERYAL VE METOD	 22
3.1. Besin Ortamı	22
3.2. Stok Solüsyonlarının Hazırlanması ve Saklanması.....	24
3.3. MS Besin Ortamlarının Hazırlanması (1 Litre İçin)	25
3.4. Doku Kültürlerinde Besin Ortamlarının İçeriği	26
3.4.1. Doku kültürlerinde besin ortamlarının içeriğinde bulunan maddeler.....	26
3.5. Besin Ortamının Sterilizasyonu	27
3.6. Steril Koşulların Oluşturulması ve Devam Ettirilmesi	27
3.7. Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi.....	28
3.8. Sterilizasyon İşlemlerinde Kullanılan Nanopartikül Solüsyonlarının Hazırlanması.....	28
3.9. <i>N. cataria</i> Tohumlarının Gümüş Nanopartiküller ile Sterilizasyonunun Etkisinin Araştırılması	28
3.10. İstatistik Çalışmaları	29
 4. BULGULAR.....	 30
4.1. Nanopartiküller ile Tohum Sterilizasyonu	30
 5. TARTIŞMA VE SONUÇ	 35
KAYNAKLAR DİZİNİ	36
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. <i>Nepeta cataria</i> resmi.....	3
2.2. <i>Nepeta cataria</i> L.bitkisi.....	4
2.3. Nanopartiküllerin yeşil sentezi.....	16
3.1. Araştırma materyalini oluşturan <i>Nepeta cataria</i> L. tohumları.....	22
3.2. MS besin ortamı hazırlığı.....	25
3.3. Steril kabinde <i>Nepeta cataria</i> L. tohumlarının AgNP çözeltileri ile sterilizasyonu.....	29
4.1. <i>Nepeta cataria</i> tohumlarında gözlenen çimlenmeler.....	30
4.2. <i>Nepeta cataria</i> tohumlarının çimlenmiş hali.....	31
4.3. <i>Nepeta cataria</i> L. tohumları ekilmiş kavanozlarda gözlenen kontaminasyonlar.....	32
4.4. <i>Nepeta cataria</i> L. tohumları ekilmiş kavanozlarda gözlenen kontaminasyonlar.....	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. MS besin ortamının içeriği (mg/L)	23
3.2. MS stok solüsyonları içeriği (gr/100ml)	24
4.1. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin <i>N. cataria</i> tohumlarının çimlenme performanslarına etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları.	31
4.2. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin <i>N. cataria</i> tohumlarında gözlenen kontaminasyona etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları.	32
4.3. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin <i>N. cataria</i> tohumlarında gözlenen fungus kontaminasyona etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları.	33
4.4. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin <i>N. cataria</i> tohumlarında gözlenen bakteri kontaminasyona etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları.	34

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
Ag NP	Gümüşnanopartikül
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
L	Lamiaceae
Mg	Miligram
mg/L	Miligram/Litre
MÖ	Milattan Önce
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
MS	Murashige-Skoog
Nm	Nanometre
NS	Nanosilver
Ör	Örneğin
Ppm	Derişim Birimi
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif oksidatif türler
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklamalar</u>
B	Bor
Ca	Kalsiyum
Fe	Demir
H₂ O₂	Hidrojen peroksit
K	Potasyum
KNO₃	Potasyum nitrat
N	Azot
N.	Nepeta
Na	Sodyum
O₂	Süperoksit radikal
OH	Hidroksil radikaller
P	Fosfor
Zn	Çinko

1. GİRİŞ

İlk çağlardan beri insanoğlu bitkileri ihtiyaçlarına göre çeşitli şekillerde kullanmışlardır. Bunlar; besin, geçim kaynağı, ilaç, kozmetik, boya, ahşap eldesi, kâğıt endüstrisi, inşaat sektörü ve biyoyakıt üretimi amaçlı kullanımları olarak açıklanabilir. Günümüzde doğadaki bitkilerden yararlanma isteği giderek artış göstermektedir, Tıbbi ve aromatik bitkilerin tarıma dayalı sanayide (boya, baharat, gıda gibi), alternatif veya tamamlayıcı tıp tedavisi ve ilaç sanayisinde hammadde olarak kullanımı da her geçen gün artmaktadır. Bilim ve teknolojinin gelişimiyle birlikte ortaya çıkan metot ve teknikler bitkilerin etken maddelerinin kullanılabilirliğini artırmıştır. Bu da gelişmiş ülkelerin bitkilere olan talebini üst seviyelere çıkarmıştır (Gül, 2014).

Dünya'da çok eski çağlardan beri bir çok bitkinin tıbbi amaçlarla kullanıldığı bilinmektedir. Tarihte tıbbi bitkiler ve onların kullanımları ile ilgili en eski bilgiler Çin, Mısır ve Yunan tarihinden gelmekte olup, Anadolu'da da Hitit'ler döneminde bazı drogların üretilip ihraç edildiği bilinmektedir. Günümüzde ise dünyada kullanılan bitki sayısının 20,000 civarında olduğu, bunlardan 4000 drogun yaygın şekilde kullanıldığı, yaklaşık 400 kadarının ise ticaretinin yapıldığı bildirilmektedir (Başer, 1998).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün verdiği bilgilere göre takribi 20.000 bitki tıbbi gayeler için kullanılmakta, dünya nüfusunun %80'i bitkisel ilaçlarla tedavi olmaktadır. Etnobotanik olarak bitkilerin kullanımı dünyada 1900'lü yılların başında hız kazanmıştır. Almanya (Hamburg), ABD (New York) ve Hong Kong dünyadaki bitkisel droglar için başlıca ticaret merkezleridir. Türkiye'de ise bu konu, bilimsel olarak 1970'li yıllarda ele alınmaya başlamıştır. Türkiye'de tıbbi olarak kullanılan bitki sayısının 600 civarında olduğu bilinmektedir (Sarı vd., 2010; Bayram vd., 2009; Baytop, 1999; Alpınar ve Saçlı, 1997).

Tıbbi bitkiler ve bunlardan elde edilen bitkisel ilaç hammaddeleri üzerinde yapılan çalışmalar son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Bunların başlıca nedenleri, tedavide kullanılan sentetik ilaç hammaddelerinin bazılarında tehlikeli yan etkilerin görülmesi, bazı doğal ilaç hammaddelerinin sentetik olarak yapılamaması ve bitkisel hammaddelerin yarı sentez ürünlerde başlangıç maddesi kaynağı olması ile son zamanlarda önemli yeni bazı bitkisel drogların bulunması şeklinde sıralanabilir. Bitkisel drogların diğer bir üstün yanı da birkaç etkiye birden sahip olmalarıdır. Sentetik bileşikler ise genellikle tek bir etkiye sahiptir. Dünya nüfusunun artması ve endüstrinin gelişmesi sonucu doğal kaynaklı bitkilerden elde edilen etken maddelerin

kullanılabilirliğinin artması sonucunda bu ürünlere olan talepte çok hızlı bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Baydar, 2007).

Önemli tıbbi bitkilerden biri olan *Nepeta* türleri çok yıllık otsu, nadiren tek yıllıktır ve bu türlerin çoğu, genellikle hoş aromatik kokulu, esansiyel yağlar bakımından zengin ve potansiyel ekonomik açıdan ilgi çekicidir (Kılıç, 2013).

Bitki doku kültürü bitkilerin mikroçoğaltımı, ıslahı, hastalıklardan arındırılması, metabolitlerinin üretilmesi gibi uygulama alanlarının yanı sıra temel biyoloji araştırmalarında da kullanılan tekniklerdir (Kocaçalışkan, 2017: 26).

Nanopartiküller son yıllarda gösterdikleri antimikrobiyal etkileri ile önem kazanmışlardır. Bu etkinlikleri nano boyutta gösterdikleri ekstrem özellikler ile açıklanmaktadır (Duncan, 2011). Steril şartların oluşturulması gereken çalışmalarda antimikrobiyal etkinlikler ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmaktadır.

Bu tez çalışmasında tıbbi ve ekonomik açıdan önemli olan *Nepeta cataria* L. bitkisinin tohumunun, *in vitro* doku kültürü çalışmalarının önemli aşamalardan biri olan yüzey sterilizasyonun, farklı süre ve konsantrasyonlardaki gümüş nanopartiküller AgNP ile yapılması, bu partüküllerin sterilizasyona ve tohum çimlenme performansına etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Nepeta cataria* L. nin Bilimsel Sınıflandırması

Nepeta L. cinsi, ılıman Avrupa, Asya, Kuzey Afrika'da bulunan, tropik Afrika dağlarında nadiren yıllık, çok yıllık ve genellikle hoş aromatik bitkiler olan *Lamiaceae* familyasına aittir ve yaklaşık 250 türden oluşmaktadır (Mabberley, 1997).

Türkiye'de yetişen ve 40 taksonla temsil edilen *Nepeta* taksonları iki gruba ayrılabilir: Akdeniz ve İran-Turan. İran-Turan taksonları orta, güney-doğu ve doğu Anadolu'da bulunurken, Mediterraneae taksonları çoğunlukla Akdeniz, Marmara ve Ege bölgelerinde yetişmektedir. Diğer taksonlar Türkiye genelinde yaygın olarak dağılmaktadır. 40 taksondan 18'i Anadolu'ya özgüdür (12 takson Akdeniz ve 6 İran-Turan) ve bazıları çok yerel ve taksonu yok olma tehlikesi ile karşı karşıyadır (Kılıç, 2013).



Şekil 2.1. *Nepeta cataria* resmi http://www.plantsystematics.org/imgs/kcn2/r/Lamiaceae_Nepeta_cataria_6462.html.



Şekil 2.2. *Nepeta cataria* L.bitkisi (<http://linnaeus.nrm.se/botany/fbo/n/nepet/nepecat.html.en>).

Âlem: Plantae

Bölüm: Magnoliophyta

Sınıf: Magnoliopsida

Takım: Lamiales

Familya: Labiatae

Cins: *Nepeta* sp.

Tür: *Nepeta cataria* L. (http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7815) (Şekil 2.1).

2.2. Morfolojik Özellikleri

N. cataria familya olarak Ballıbagillerdendir. Ülkemizde İç Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde yetişmekte olup anayurdu bilinmemektedir. Çok yıllık dayanıklı, 50-100 cm boylanabilen otsu bir bitkidir. Gövdesi dallara ayrılan, keskin acı kokulu, yeşil renkli, dört köşe kesitli, boydan kabarık çizgili ve hafif tüylü olan bir yapıya sahiptir. Renkli yapraklarının altı ince tüylü olup, üzeri sarı lekeli, kenarları dişli ve gri yeşil, çiftler şeklinde dizilmiş ve kalp biçimindedir. Bitkinin yapraklarına dokunulduğu zaman ele nane kokusu nüfuz eder. Bu bitkinin kokusunu kediler çok sevdikleri için bitkinin üstüne yatarlar ya da bitkiye sürünürler. Bitki mor-mavimsi renkli, ak noktalı, etkin kokulu çiçeklerini yaz sezonunda başaklar meydana getirerek açar. Oval şekilli, kahverengi küçük tohumlarının bir köşesinde ak nokta vardır. Az silüetli alanları veya güneşli alanları, süzek toprakları tercih eden bitki, her çeşit toprakta yetişebilmekte ve tohumlarıyla çoğalabilmektedir. İlkbahar mevsiminde de bitki çoğaltılıp kedilerden korunup yetiştirilebilir. *Nepeta cataria* bitkisinde C vitamini, acı esanslar, geraniol ve sitral isimli maddeleri barındıran yağ, ve strenolol bulunmaktadır. Bazı yerlerde körpe sürgünleri ve nane kokulu yaprakları salatalara katılmaktadır. Çeşni vermesi içinde sürgün ve yapraklarıylada etler ovulmaktadır. Bal arılarını bulunduğu bahçelere çekmektedir (<http://www.ebitki.com/index.php?hq=Nepeta%20cataria&gr=Latince>).

2.3. Tıbbi Önemi ve Yararları

Nepeta cinsinden olan taksonlar eterik yağ kaynağıdır. Yapılarında sitral, sitronel, geraniol ve farklı bunun gibi hoş kokulu bileşenler içerirler (Sajjadi, 2005; Barazandeh, 2006). Bunun yanı sıra flavonoid, triterpen bileşenleri, vitaminler ve farklı, insan sağlığı açısından ehemmiyetli olan bileşenler ihtiva etmektedirler (Kobaisyev vd., 2005; Rustaiyan vd., 2006).

Bazı *Nepeta* türleri halk tıbbında diüretik, terletici, öksürük önleyici, kaslarda spazm karşıtı, astım karşıtı, ateş düşürücü, kadınlarda aylık kanamayı hızlandırıcı ve yatıştırıcı maddeler olarak kullanılmaktadır (Mammadova ve Mammadov. 2014; Tzakou vd., 2000; Rapisarda vd., 2001).

Nepeta cataria spazm çözücü olup çocuklarda diyareyi giderici harika bir ilaçtır. Aynı zamanda sakinleştiricidir. Mide hastalıklarını ve hazımsızlıkları gidermektedir. Bağırsak ve mide gazlarını söktürüp, mide kramplarını çözücüdür. Vücudu rahatlatıp gevşetir. Uykusuzluk halinde uyku getirmesi için kullanılmaktadır. Tradisyonel olarak kullanılan soğuk algınlığı ve grip ilaçları arasındadır. Terletme etkisi olduğu için bronşit vb. rahatsızlıklarda yüksek ateş durumları için

kullanıldığında vücuttaki yüksek ateşi kısa zamanda düşürmektedir. Bütün bunların tesirini elde etmek amacıyla *Nepeta cataria*’nın çiçek ile yaprakları sonbahar mevsiminin başları veya yaz başında toplanıp siluet yerlerde itina ile kurutulmaktadır. Bu kurumuş bitki karışımından iki tatlı kaşığı alınıp, bir bardak kaynar su içerisinde 10-15 dakika kadar demlendirilir. Bu şekilde elde edilen karışımdan bir gün içinde üç defa birer bardak içilebilir. *Nepeta cataria* bitkisi damarları ve dokuları büzme etkisine sahiptir. Çıban tedavisi için kullanılmaktadır. Mikrop kırıcı özelliği bulunduğu sivilce tedavisinde etkili olmaktadır. Baş ağrıları ve şakakta hissedilen rahatsızlıklara iyi gelmektedir (<http://www.ebitki.com/index.php?hq=Nepeta%20cataria&gr=Latince>, 2019).

Kedinanesi naneli sakız, kokulu mendil ve şeker yapılmasında da kullanılırlar. Kedi nanesi isminin verilmesinin nedeni kedilerin bu bitkiye fazlaca meyilli olmaları ve tüylerini temizlemeleri için bu bitkiye sürünmeleri ve de uyumak için devamlı bu bitkiyi seçmeleridir (<http://www.bitkicenter.com/kedi-nanesinin-faydalari-ve-kullanimi/>, 2019).

2.4. Bitki Doku Kültürleri

Denetlenebilir şartlar altında steril suni besin ortamlarına aktarılabilen hücre, doku yada organlardan yeni doku, organ, küçük bitki veya bitkisel mahsullerin elde edilmesi amacıyla kullanılan bütün metodlar, “bitki hücre, doku, ve organ kültürü yöntemleri”, “mikro üretim” veya “aseptik kültür” olarak isimlendirilmektedir. Bu teknikler; elverişli hücreleri, dokuları veya organları içerisine alan türlü eksplantların yalıtılmaları; bu eksplantlara bakteriyel, fungal, viral hastalık bulaşmalarından arındırıcı aseptik yöntemlerin tatbik edilmesi, *in vitro* olarak isimlendirilen suni besin ortamlarında kültüre alınmaları ve ışık, sıcaklık, nem vb. denetlenebilir kültür odalarında korunmaları gibi esas basamakları oluşturmaktadır (Babaoğlu vd., 2001:2; Kocaçalışkan 2017: 21).

Bitki doku kültürleri yöntemleri, ilaç ham madde gereksiniminin giderilmesi için özellikle son yıllarda önem kazanmakta olan yöntemlerden birisidir. Ayrıca bitkilerde fizyoloji, biyokimya, sitoloji, genetik ve moleküler biyoloji gibi konularla alakalı araştırmalarda bu tekniklerin kullanımı büyük önem taşımaktadır. Günümüzde bitki doku kültürü teknikleri tarım, orman ve süs bitkilerinin patojenlerden giderilmesinde, klonal çoğaltımında, uzun müddetli koruma, sekonder metabolit üretimi ve bitki genetik mühendisliğinde geniş uygulama yelpazesi bulan yöntemlerdir (Babaoğlu vd., 2001:2 ; Kocaçalışkan, 2017: 21).

2.5. Bitki Doku Kùltürü Uygulamalarının Islah Çalışmalarında Kullanılması

Bitki doku kùltürü yöntemlerinin bitki ıslahı alanında birçok kullanım alanları bulunmaktadır. Bu alanlar; bitkilerin klonal olarak hızlı çoğaltılması, geleneksel metotlarla çoğaltılmayan bitkilerin çoğaltılması, patojenlerden arındırılmış bitki elde edilmesi, ıslah amaçlı esas biyolojik çalışmalar, somaklonal varyasyonların oluşturulması, haploid bitkilerin elde edilmesi, bitki gen kaynaklarının korunması, biyokimyasal ürünlerin (ikincil metabolitlerin) elde edilmesidir (Dağüstü, 2018). Bu çalışmalar kısaca aşağıda izah edilmiştir:

2.5.1. Temel biyolojik araştırmaların yapılması ve ekonomik değeri yüksek biyokimyasalların elde edilmesi

Bu tarz çalışmalar bir dizi biyolojik olayın araştırılmasında, kolay işletilebilen metotları kapsamaktadır. Bu çalışma şekline günümüzde çok yaygın kullanılan hücre bölünmesi çalışmalarında süspansiyon kùltürlerinin kullanılması örnek olarak verilebilir (Dağüstü, 2018).

2.5.2. Ekonomik değeri yüksek biyokimyasalların elde edilmesi şeklindeki çalışmalar

Bitkiler birçok maddeyi sentez edebilecek özellikte bir yapıya sahiptir. Bitkiler başta ilaç sanayi olmak üzere, bünyelerinde sekonder (ikincil) metabolitler olarak adlandırılan (bitkinin ürettiği fakat doğrudan kullanmadığı metabolitler) kimya, besin, kozmetik ve zirai mücadele sektörlerinde ekonomik açıdan çok önemli birçok kimyasal maddenin (karbonhidrat, protein, alkaloidler, glikozidler, eterik yağlar, steroidler, terpenoidler, fenolik bileşikler, morfin, atropin, odun, selüloz, zambk, kauçuk vb.) üretimlerini kallus ve hücre süspansiyon kùltürleri aracılığı ile *in vitro* olarak meydana getirebilirler. Bu metodun en büyük avantajı *in vitro* yetiştirme şartları sıkı bir biçimde kontrol altına alındığı durumda ürünün mevsimsel değişikliklere bağlı kalmaksızın sürekli olarak üretilebilmesidir (Dağüstü, 2018).

2.5.3. Mikroçoğaltım yöntemi ile bitki çoğaltma

Bu yöntem çoğaltılması güç, yüksek ekonomik değere sahip, üretim hızı yavaş olan bitki türlerinin (süs bitkileri, çilek, muz, kivi vb.) hızlı ve az bir maliyetle çoğaltımının mühim olduğu durumlar dışında kullanımına çok sık başvurulmamaktadır. Aynı zamanda yüksek ekonomik öneme sahip bazı bitkiler (Primula bitkisi gibi) geleneksel metodlar ile çoğaltılmasına rağmen çok sayıda market talebi bulunduğu zaman bu tür bitkilerden kısa sürede çok sayıda bitkinin elde edilmesi sadece bitki doku kùltürü yöntemleri ile mümkün olabilmektedir. Bu yöntem çok kısa

sürede çok sayıda üretimi, bitkilerin laboratuvar şartlarında kontrollü olarak yetiştirilmesi, üretimin bir yıl boyunca mümkün olması ve hastalıksız fideleri üretme potansiyeli sebebi ile klasik ıslah yöntemlerine yardımcı olmak maksadıyla günümüzde kullanılmaktadır (George ve Sherrington, 1984).

2.5.4. Patojenlerden arınmış bitki eldesi

Bitkiden alınan meristem parçası *in vitro* gelişmeye bırakıldığında bir ürünün hastalık içermeyen tohumluk stok materyali uygun bir biçimde elde edilmiş olup bunun depolanması da yine bu metod ile yapılabilmektedir. Hatta meristem kültürü; mikroçoğaltım, gen kaynaklarının *in vitro* muhafazası, genetik transformasyon, bitki materyallerinin uluslararası değişimi maksadıyla da kullanılmaktadır (Bürün, 2001, Hatipoğlu, 1999).

2.5.5. Türler arası melezlerin elde edilmesi

Bitkilerin tohum ve tohum taslaklarından olgunlaşmış veya olgunlaşmamış zigotik embriyoların aseptik olarak izole edilmesi ve optimum şartlar altında gelişmeleri için endosperm koşullarının sağlandığı yapay besi ortamlarında kültüre alınarak tam bitki geliştirilmesine embriyo kültürü adı verilmektedir. Doğada nadir olarak bulunan tohum çimlendirmesi zor veya mümkün olmayan türlerin tohumlarının çimlendirilmesi embriyo kültürü ile yapılabilmektedir. Örneğin *Colocasia esculanta*, *Musa balbisiana* ve *Pinus armandii* X *Pinus koraiensis* melezi verilebilir (Hatipoğlu, 1999). Bu yöntemin bir amacı da yetiştirme ve ıslah sürecinin kısaltılmasıdır. Türler ve cinsler arası melezlemelerde ve farklı poliploidi düzeyindeki bitkilerin melezlenmesinde uyumsuzluk sebebi ile embriyoların gelişemediği veya embriyonun yetersiz gelişmesi durumlarında normal embriyo gelişmesini sağlamak maksadıyla da embriyo kültürü kullanılmaktadır. Embriyo kültürü ile ayçiçeği, fasulye, keten, pamuk, domates, çeltik ve arpada türler arası melez bitkiler elde edilebilmiştir. Hatta yine bu yöntem sayesinde *T. durum* x *S. cereale* melezlemesi sonucu oluşan tritikale ve *Hordeum chilense* x *Triticum turgidum* conv. durum melezleri sonucu oluşan tritordeum bitkisi embriyolarının *in vitro* koşullarda kültürü sonucu geliştirilmiştir. Bu yöntemin kullanılması ile haploid bitkilerin elde edilmesi de mümkündür (Vaquero vd., 2017).

2.5.6. Anter ve mikrospor kültürü aracılığı ile haploid bitki eldesi

Pekçok türün anter veya poleni yumurta döllemesi olmaksızın yani zigot oluşturmadan tam bir bitki oluşturması için uyarılabilir. Bu şekildeki bitkiler genellikle haploiddir (Tek bir

kromozom seti taşırlar.). Anter kültürü ile elde edilen haploid bitkilere kolkisin, asenaftan vb. kimyasal maddeler uygulamasından sonra dihaploid bir yapının oluşması sonucu homozigot saf bitki meydana getirilmiştir. Birçok bitki türünde haploid bitkilerin (arpa, buğday, mısır, kolza, tütün, asparagus, patlıcan, kavun vb.) eldesi mümkün olmuştur (Germanà, 2011).

2.5.7. Yeni özelliklere sahip bitkilerin elde edilmesi

Doğada mutant bitkiler bulunabilir. Bu mutant bitkiler ticari değere sahip olabilir. Örneğin yeni çiçek renginden ötürü ıslah veya ticari amaçlar nedeniyle tercih edilebilir. Bu tip özelliklere sahip bitkiler somaklonal varyasyon oluşturarak hücre kültürü yöntemleri ile elde edilebileceği gibi kimyasal maddeler veya radyasyon uygulanarak varyasyonun arttırılması ile de meydana getirilebilir (Karp, 1994).

2.5.8. Transgenik bitkilerin elde edilmesi

Böceklerle dayanıklılık gibi geleneksel ıslah metodları ile oluşturulması güç olan özellikler, geleneksel bitki ıslahı yöntemleri ile bir bitki türünden diğerine aktarılamayabilir. Bu gibi özellikler bir hücreden diğerine vektör aracılığı ile (ör. *Agrobacterium* spp.) veya DNA ile kaplı çok küçük partiküllü hücrelerin biyolistik metodlar ismi verilen tabanca kullanılarak fırlatılması ile aktarılabilir. Kendi DNA'sı ve yeni eklenen DNA'yı içeren hücreler transforme olmuş hücreler veya transgenik bitkiler olarak adlandırılır. Gen aktarılan hücrelerden bitkilerin elde edilmesinde doku kültürü çalışmalarından faydalanılır (Dağüstü, 2018).

2.5.9. Protoplast füzyonu ile yeni genotiplerin eldesi

Protoplastlar (hücre duvarı uzaklaştırılmış bitki hücreleri) somatik hibritler meydana getirmek için kullanılabilir. Protoplast hücreleri birbirleri ile füzyon ismini verdiğimiz kaynaştırma işlemi ile birleşebilir. Bu füzyon ürünü akraba olan veya akraba olmayan ebeveynlerden temin edilen iki veya daha fazla protoplast kümesinin oluşumu sonucu meydana çıkar. Bu şekilde iki veya daha çok ebeveyn türünden elde edilen protoplastların kaynaşması ile istenilen karakterleri kombine eden bitkinin üretilmesi mümkün olabilmektedir. Birleşen protoplastlardan fertil bitkilerin elde edilmesi bitki doku kültürü metodları ile olabilmektedir (Dağüstü, 2018).

2.5.10. Gen kaynaklarının depolanması

Yüksek verimli, hastalıklara ve zararlılara dirençli kültür bitkisi türlerinin geliştirilebilmesi için ıslah programlarında kullanılacak genetik materyalin toplanması ve bunların uygun şekilde korunarak ihtiyaç duyulduğunda kullanıma hazır bekletilmesi gerekir. Genetik materyal esasen doğal olarak bulundukları çevrede muhafaza edilmelidir. Ancak bu tip saklama biçimi çok zor, iş gücü gerektiren ve zaman alıcı bir yöntemdir. Bu tip genetik materyalin korunması için *in vitro* kültür metodları gen kaynaklarının muhafazasında önemli olup gen ve tohum bankalarına alternatif bir saklama şeklidir. Bazı durumlarda çok küçük bitki dokusu veya hücresi oldukça düşük sıcaklıklarda (196°C) sonsuza dek canlı olarak muhafaza edilebilir. Bu yöntem 'cryopreservation' ya da 'dondurarak saklama' yöntemi olarak adlandırılır. Bu tekniğin optimum olarak kullanılabilmesi için bitki doku kültürünün *in vitro* soğukta muhafazasını takiben tam bitki oluşumuna olanak sağlayacak tekniğin geliştirilmesi gerekmektedir. Ülkemizde T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığına bağlı Türkiye Tohum Gen Bankası Ankara'da kurulmuş olup *in vitro* genetik materyalin korunması çalışmalarına başlanmıştır (Dağüstü, 2018).

2.5.11. Hücre kültürlerinin *in vitro* seleksiyon çalışmalarında kullanımı

Hücre kültürleri klasik bitki ıslahında kullanılan bitki düzeyindeki seleksiyona alternatif bir metod olarak kullanılabilir. Hücre kültürlerinin varyasyon oluşturulması ve arzu edilen varyantların seçilmesinde kullanılması bitki ıslahındaki geleneksel seleksiyon metodlarına göre birçok avantaj sağlamaktadır. Bu avantajlar şu şekilde sıralanabilir: Bir test tüpü içerisinde 100 milyon adet hücreyi kültüre almak ve bunlardan seleksiyon oluşturmak mümkündür. Buna karşılık aynı sayıdaki bitki ile çalışmak için 10.000 ha'lık bir alana ihtiyaç duyulur. Hücre kültürleri aracılığı ile seleksiyon uygulanmasında, hücreler herhangi bir kimyasalın veya patojenin toksik maddesinin toksik etki gösteren konsantrasyonunu içeren besi ortamlarında kültüre alınır. Mutant hücreler böyle bir ortamda büyümelerine devam eder. Toksik maddeden etkilenen hücreler ölür (Dağüstü, 1996).

2.6. Bitki Doku Kültürü Uygulamalarının Islah Dışı Çalışmalarında Kullanılması

Tüm apikal meristem veya buradan alınan ufak embriyonik kesitler kültüre alınarak uygulanan yöntemle meristem kültürü adı verilir. Çok az miktarlarda bitki büyüme düzenleyicileri eklendiğinde uç ve yan meristemlerden birçok yeni bitkicikler meydana gelmektedir. Bu yöntemle meydana gelen bitkiler her bakımdan birbirinin benzeridirler (Babaoğlu vd, 2002: 5).

2.6.1. Mikroçoğaltım

Organize meristemlerden, henüz olgunlaşmamış veya olgunlaşmasını tamamlamış somatik hücrelerden direkt veya indirekt yollarla bitkilerin çoğaltılması ve köklendirilmesi işlemine mikroçoğaltım adı verilmektedir (Babaoğlu vd, 2002:5).

2.6.2. Sentetik tohum üretimi (somatik embriyolar)

Somatik embriyoların türlü yöntemlerle kaplanması sonucu yapay tohumlar meydana gelmektedir. Sentetik tohumların, hibritlerin somatik çoğaltımında, erkısır ve ebeveyn hatların korunmasında ve odunsu bitkilerin elit genotiplerinin elde tutulmasında kullanımı konusunda oldukça fazla çalışma yapılmaktadır (Babaoğlu vd, 2002:5).

2.6.3. Sekonder metabolit üretimi (kallus-hücre süspansiyonları)

İn vitro hücre kültürleri sekonder metabolit üretimi için de mühim bir kaynak olarak görülmektedir. Bitki sekonder metabolitleri, bitki büyüme ve gelişmesi için de doğrudan kullanılmayan maddelerdir. Işık mikroskobu ile görülebilen sekonder metabolitlerin (tanenler, antosiyaninler, karetenoitler) yanında UV ışığı ile görülebilenleri (alkaloitler) de vardır (Babaoğlu vd, 2002:6).

2.6.4. Kimeralar

Doku kültüründe, özellikle süs bitkilerinde üzerinde mühimle durulan konulardan birisi de kimeralardır. Kimerik bitkiler; farklı türlerin protoplastlarının karışık kültürü ve bitki rejenerasyonu, mutasyon uygulamaları sonucu bitki rejenerasyonu çalışmaları, apikal meristemle ilgili yapılan mikro-cerrahi çalışmaları ve gen transferi yapılması sırasında, bir bitkiyi oluşturan bütün hücrelerin ilgili gen veya genleri taşımaması durumlarında meydana gelmektedir (Babaoğlu vd, 2002:6).

2.7. Bitki Doku Kültürünün Esas Evreleri

Tüm doku kültürleri yapımında temel olarak esas alınan sıralama şöyledir;

1. Laboratuvar düzeninin kurulması; Doku kültürü yapımına başlamadan önce, gerekli odaların hazırlanıp, cihazların ve malzemelerin uygun yerlere yerleştirilmesi ve ayarlarının yapılması gerekir.

2. Uygun besin ortamı hazırlanır ve sterilize edilir.

3. Kültüre alınacak eksplantın (bitki dokusunun) orijini meydana getiren ana bitkinin seçimi yapılır.

4. Eksplant (bitki materyali) sterilize edilir.

5. Bitki materyali steril koşullarda izole edilir ve steril besin ortamına konulur.

6. Kültür kabı inkübasyon odasına yerleştirilerek bitkinin büyümesi sağlanır.

7. Kültürde yeti tirilmi  küçük bitkinin seraya aktarılmasıyla dış ortama adapte edilmesi sağlanır ve tarlaya dikilir (Koca alı kan, 2017: 25).

Laboratuvar düzeninin kurulması

Ufak kadranlı bir doku kültürü laboratuvarında iki farklı odanın ve meydana getirilen bitkilerin dış ortama aktarılması için ufak bir sera bulunmalıdır.

Çeşitli cihazlar, kimyasal madde ve malzemeler için kullanılan oda kültür hazırlama odası olarak adlandırılır. İkinci oda ise ışık ve sıcaklık kontrollü oda olarak adlandırılır. İkinci oda yerine bitki büyütme kabinleri de kullanılabilir (Koca alı kan, 2017: 26).

Besin ortamının hazırlanması

Besin ortamlarında bitkilerin normal gelişimleri için gereksinim duydukları temel elementler bulunmaktadır fakat bu elementler piyasada arı halde değil bileşikler şeklinde satılmaktadır.

Örneğin, potasyum nitrat (KNO_3) bileşiğinde potasyum, azot ve oksijen elementleri birlikte. Bu sebeple bileşikleri öyle bir oranda çözelti şekline getirmemiz lazım ki bitkinin gereksinimi olan miktar ayarlanmış olmalı. Bu konuda türlü araştırmacıların yaptıkları çalışmalar sonucu türlü besin ortamları elde edilmiştir. Bugün en az on tür besin ortamı reçeteleri bulunmaktadır. Bu ortamlardan en fazla yeğlenen Murashige-Skoog (MS) ortamıdır (Koca alı kan, 2017: 35).

Esas bitkinin seçilmesi

Bitki materyalinin izole edileceği bitkiye esas (ana) bitki denir.  zerinde çalışılacak tür, laboratuvar da doku kültüründe yeti tirilmi  ise bunu esas bitki olarak kullanmak daha elverişli olur. Zira steril koşullarda üretildiklerinden dolayı kontaminasyon olma olasılığı yok denecek kadar azdır. Aynı zamanda doku kültüründeki bitkilerden alınan bitki materyalleri doğadakilere

nazaran daha basit ve hızlı rejenerasyon göstermektedirler ve sterilizasyon işlemi yapılmadan direkt olarak bitki materyali alınarak kullanılabilirler (Kocaçalışkan, 2017: 38).

1. Bitkinin dinç ve toy olması; İhtiyar bitkilerden alınan bitki materyalleri yavaş rejenere oldukları için kültürün başarısı etkilenebilir.

2. Bitkinin organ ve dokuları dormant olmamalı; Böyle bir vaziyette dormansiye kırmak için ayrıca bir çalışma gerektirecektir ve bu çalışma da zaman alan bir işlemdir. Ayrıca dormant dokularda ABA gibi büyümeyi engelleyici maddeler biriktiğinden dolayı bunlar doku kültüründe de tesirlerini devam ettirerek kültürün gelişmesini azaltabilir.

3. Esas bitki tercihi bahar mevsiminde yapılmalı; bitkilerin aktif büyüme zamanı bu mevsim olduğu için daha doğru bir tercih yapılabilir ve bu mevsimde bitki dokularında büyümeyi isteklendiren hormonlar daha hızlı bulunduğundan bu vaziyet doku kültürüne de yansır ve kültürün başarısı da çoğalır.

4. Esas bitkinin sıhhatli olması; Hasta olan bitkiden alınacak bitki materyali sterilize edilse bile virüs ve bakteriler kültüre geçebilir. Böyle bir durumda enfeksiyon olasılığı fazladır. Esasen bu koşullarda doku kültüründen başarı sağlamak mümkün olamayacaktır (Kocaçalışkan, 2017: 38).

2.8. Eksplant ve Sterilizasyon

Doku kültüründe başarı sağlanabilmesi için etkili bir şekilde yüzey sterilizasyonu yapılması gerekir. Aksi halde besin ortamında bitkisel materyallerin yüzeylerinden veya içlerinden gelen mikroorganizmalar çoğalır ve besleyici elementleri tüketerek bitkilerin büyüme ve gelişimlerini engellerler. Arazi veya sera koşullarında yetiştirilen bitkilerden, doku kültüründe kullanılmak için alınan bitki parçalarının sterilizasyonu için sodyum hipoklorit, etil alkol, civa klorür, hidrojen peroksit ve gümüş nitrat vb. kimyasallar farklı dozlarda kullanılmaktadır. Bu işlemlerin ardından steril saf su ile durulanan eksplantlar yine steril olan kurutma kağıdında bekletildikten sonra besin ortamına aktarılmalıdır.

Sterilizasyon amacı ile kullanılan kimyasallar canlı dokulara zarar verebilmektedir. Bu nedenle yeni nesil antimikrobiyal maddelerin keşfine ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda teknolojiye hızlı ve kapsamlı gelişmeler neticesinde yaygın kullanım alanı bulan nanopartiküllerin bu amaçlarla araştırılması önemlidir (Kim vd., 2017).

2.9. Nanopartiküller

Nanopartiküller, 1-100 nm boyutlarındaki atom kümeleridir. Düşük nano boyutları nedeniyle sergiledikleri farklı fonksiyonellik, eşsiz fiziksel, biyolojik ve kimyasal özelliklerinin bir sonucu olarak tüm bilim dallarında yeni bir ilgi alanı oluşmuşlardır. Çevreye ve insan sağlığına olan etkileri ve riskleri ile ilgili çok az bilgi olmasına rağmen kimya, tıp, biyoteknoloji, biyomedikal, kozmetoloji, elektrokimyasal sensörler ve biyosensörler uygulamaları gibi birçok alanda kullanım alanı bulmuşlardır (Oyar, 2014) (Beykaya ve Çağlar, 2016) (Tunca, 2015).

Bakır, çinko, titanyum, altın gibi diğer metal parçacıklarının antimikrobiyal özelliklere sahip olmadığı bilinmektedir. Bu nedenle, gümüşün mikroskobik organizmalara, enfeksiyonlara ve diğer ökaryotik mikroorganizmalara karşı en mükemmel etki gösterdiği bildirilmektedir (Duncan, 2011).

2.9.1. Gümüş nanopartiküller ve antimikrobiyal etkileri

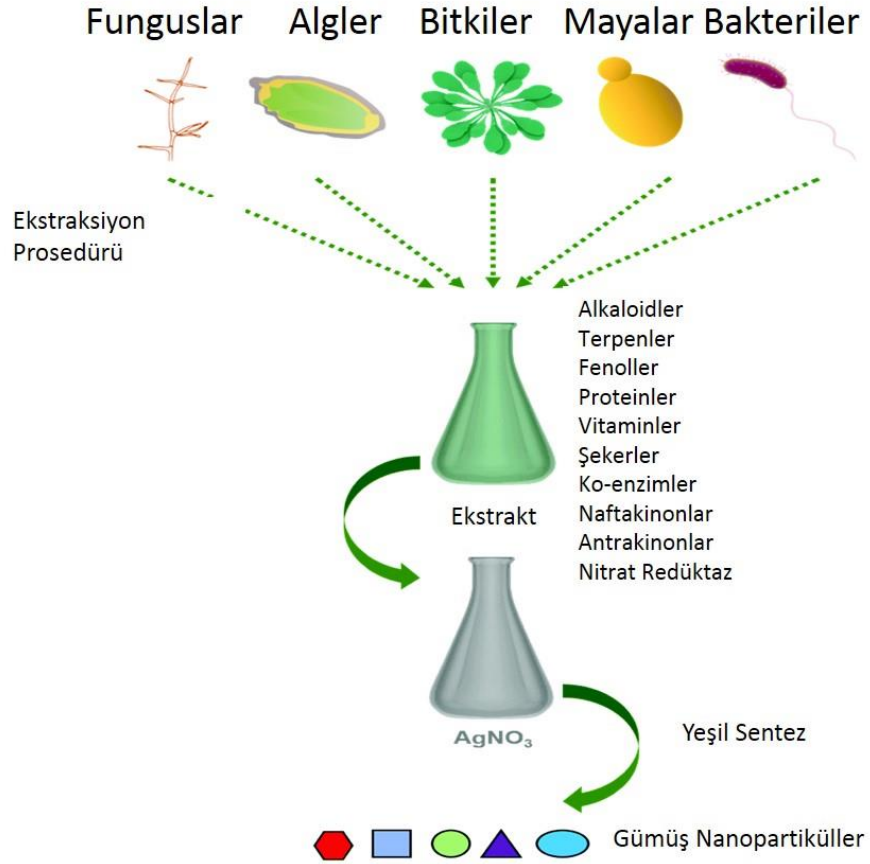
Gümüş günümüzde NASA ve Rus MIR uzay mekiklerinde kullanılan suların dezenfeksiyonunda kullanılmaktadır. Aslında antimikrobiyal etkisinin çok eski zamanlardan beri kullanıldığına dair bilgiler literatürlerde mevcuttur; Antik çağda su ve sütün içine gümüş paralar atılarak oda sıcaklığında raf ömrünün uzatıldığı, gümüş kap ve aletler kullanılarak gıda muhafazasında başarı sağlandığı görülmektedir. MÖ 1000'li yıllarda su dezenfeksiyonunda, yanıkların ve kronik ülserlerin tedavisinde kullanılmıştır. Daha yakın tarihlerde, 1880'lerde göz damlası olarak kullanılan gümüşün 1940'larda penisilinin keşfinden sonra kullanımı azalmıştır. Son yıllarda Moyer tarafından 1960'larda yanık tedavisinde % 0.5 oranında bir gümüş nitrat kullanımının etkili olduğunun keşfinden sonra tekrar kullanımına başlanmıştır (Rai vd., 2009).

Son yıllarda farklı patojenik bakterilerin neden olduğu bulaşıcı hastalıklardaki artış ve antibiyotik direncinin gelişmesi nedeniyle ilaç şirketleri ve araştırmacılar tarafından yeni antibakteriyel maddelerin keşfi ile ilgili çalışmalar artmıştır. Nano ölçekli materyallerin, yüksek yüzey alanı/hacim oranı, benzersiz kimyasal ve fiziksel özellikleri nedeniyle yeni antimikrobiyal maddeler olarak keşfedildiği çalışmalar literatürlerde dikkatleri çekmektedir (Rai vd., 2009). Gümüşün çok geniş spektrumlu bir antibiyotik olması ve bakteri direncinin neredeyse hiç bulunmaması gibi nedenlerle nano ölçekli yeteneklerinin keşfedilmesi ile ilgili birçok araştırma yapılmıştır (Siddiqi vd., 2018; Cheon vd., 2019, Manosalva vd., 2019).

2.9.2. Yeşil sentez

Nanoparçacık üretimi, fiziksel ve kimyasal teknolojiler kullanılarak kısa bir sürede, istenilen küçüklükte ve yüksek çözünürlüklü olarak yapılabilir. Ancak, bu teknolojiler ile üretim pahalıdır, elde edilen partiküllerde kararsızlıklar görülebilir hatta toksik içerikler gözlenebilir. Bu nedenle son yıllarda çevre dostu, toksik madde içeriği az, canlı hücrelerden nanopartikül üretimi esasına dayanan yeni üretim teknolojileri ile ilgili araştırmalar önem kazanmıştır. Bu yöntemler “Yeşil Nanoteknoloji” terimi ile ifade edilir. Yeşil Nanoteknoloji, insan sağlığına zararsız, tehlikeli atık ürünler ile ilgili problemleri azaltan, uygulanması kolay yöntemleri ifade etmektedir (Narayanan ve Sakthivel, 2010; Duncan, 2011).

Nanopartiküllerin bitki, yosun, bakteri, mantar ve hatta insan hücreleri kullanılarak yapılması biyolojik sentez olarak da adlandırılır. Canlı organizmalarda bulunan indirgeyici proteinler ve metabolik moleküller, inorganik metal iyonlarını indirgenerek metal nanopartiküllerine dönüştürürler. Metal indirgeyici yetenekleri bilinen bitkilerin nanopartiküllerin sentezinde diğer organizmalara göre daha başarılı oldukları belirlenmiştir. Nanopartiküllerin bitkilerle biyosentezi işlemlerinde, tek boyutlu ve kararlı yapılar oluşması, bitkilerin ölü ya da canlı formlarında kullanılabilmesi, geniş sıcaklık aralıklarında, yüksek tuz ve pH değerlerinde yapılabilmesi avantajlı yönleridir (Ocsoy vd., 2016; Bali vd., 2006; Ayışığı, 2018).



Şekil 2.3. Nanopartiküllerin yeşil sentezi, <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/ra/c8ra08982e>.

2.9.3. Gümüş nanopartiküllerinin antimikrobiyal etkileri

Nanopartiküllerin antibakteriyel etki gösterebilmeleri için, bakteriyel hücrelerle temas halinde olmaları gerekir. Bakteriler ile temasları elektrostatik çekim, Van der Waals kuvvetleri, reseptör ligand ve hidrofobik etkileşimler ile olur. Nanopartiküller, bakterilere temas ettikten sonra, bakteri zarını geçerler ve hücre zarının şeklini, işlevini bozarlar. Daha sonra, Nanopartiküller oksidatif strese, heterojen değişikliklere, bozulmuş hücre zarı geçirgenliğinin yol açtığı elektrolit denge bozukluklarına ve DNA, lizozomlar, ribozomlar ve enzimler gibi bakterilerin hücresel temel bileşenleri ile etkileşime girerek de enzim inhibisyonuna ve protein deaktivasyonuna sebep olurlar (Kirmusaoğlu ve Cansız, 2018).

Reaktif oksidatif türlerin oluşumu

Nanopartiküller tarafından reaktif oksidatif türlerin (ROS) üretimi antibakteriyel etkinliklerinde büyük rol oynamaktadır. ROS, süperoksit radikaller (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikaller ($OH^\cdot$) ve singlet oksijen (1O_2) gibi kısa ömürlü oksidanlardan oluşur. Bu türlerin yüksek reaktivitesi nedeniyle ROS, peptidoglikana ve hücre zarlarına, DNA, mRNA, ribozomlara ve proteinlere zarar verebilir. Elektronlar, bakteri ve mantar hücre zarları yırtılarak mikroorganizmaların bölünmesini ya da genetik materyallerinin (DNA/RNA) kendilerini replike etme yeteneklerini engelleyerek mikrobik aktiviteleri etkisiz hale getiriler (Kirmusaoğlu ve Cansız, 2018).

Protein inaktivasyonu ve DNA'nın bozulması

Metal atomları metabolik reaksiyonlarda etkinlik gösteren enzimlere veya DNA gibi moleküllere bağlanma eğilimindedir. Enzimlerin tiyol grubuyla bağlanmaları sonucunda enzimler işlevsiz hale gelirken, DNA'daki pirimidin ve pürin baz çiftleri arasına bağlanarak anti-paralel iki zincir arasındaki hidrojenin bağlarını bozdukları belirlenmiştir (Kirmusaoğlu ve Cansız, 2018).

Solunum enzimleri ve hücre membran inhibisyonu

Gümüş nanopartiküllerinin, bakteri hücre membran yapısını bozup hücreye girerek, tiol (-SH) gruplarındaki hidrojen atomlarının lokasyonunu değiştirerek (-S-Ag-), hücresel solunum enzimlerinin inhibisyonuna sebep oldukları belirlenmiştir. Böylece, hücre zarı geçirgenliği değişen ve solunumu bloke olan bakterilerin büyümesinin durduğu gözlenmiştir (Kirmusaoğlu ve Cansız, 2018).

2.10. Nanopartiküller ile Yapılan Bitki Doku Kültürü Çalışmaları

Rostami ve Shahsavar (2009) çalışmalarında, Murashige ve Skoog yarı verim gücündeki (MS/2) besiyerinde 'Mission' zeytin çeşidi tek boğumlu eksplant kültürlerinde kontaminasyonun giderilmesine yönelik nano-gümüş potansiyelini değerlendirmişlerdir. Kültürden otuz gün sonra, enfekte olmuş ve gelişmiş eksplantların yüzdeleri hesaplanmıştır. Sonuçlar, zeytin eksplantlarının yüzey sterilizasyonu için 1 dakika boyunca %70 etanolden sonra 10 dakika boyunca %10 Clorox'un kullanılabileceğini göstermiştir. Tamamlayıcı dezenfektan uygulaması olarak mikroklesikler çeşitli nano-gümüş çözeltilerine batırılmış veya kültür ortamına nano-gümüş eklenmiştir. Mikro kesiklerin çeşitli nano-gümüş çözeltilere batırılması, iç kontaminasyonları kontrol etmede etkili olmuş, ancak eksplantlarda ciddi yaralanmalara neden olmuştur. Kültür

ortamına nano gümüş (4 mg/L) eklenmesi, eksplantların büyümesi ve iç kontaminasyonlarının kontrol edilmesinde zararlı bir etki göstermemiştir. Sonuç olarak, bitki doku kültür ortamlarında dezenfeksiyon maddesi olarak çok düşük konsantrasyonlarda nano-gümüş kullanılmasını tavsiye etmişlerdir.

Yang ve ark. (2010) tarafından kedi nanesinin büyümesini ve rosmarinik asit üretimini arttırmak için, çeşitli oksin veya poliamin konsantrasyonları ile takviye edilmiş ortamlarda saçaklı kök kültürleri 15 gün boyunca büyütülmüştür. Üç oksin (0.1-1 mg/L IAA, IBA ve NAA), saçaklı köklerin büyümesini ve rosmarinik asit üretimini arttırmıştır. IBA en etkili oksin olarak belirlenmiştir. 0.5 mg/L IBA ile muamele edilen saçaklı kök kültürleri, en yüksek büyüme seviyelerini (13.5 gr/L kültürü) ve rosmarinik asidi (19.2 mg/g kuru ağırlık) üretmiştir. Benzer şekilde, putrescine en etkili poliamindir. 50 mg/L putrescine ile muamele edilen saçaklı kök kültürleri, en yüksek büyüme seviyelerini (13.3 g/L kültürü) ve rosmarinik asidi (18.4 mg/g kuru ağırlık) üretmiştir. Bu bulgular, eksojen oksinlerin ve poliaminlerin *N. cataria*'nın saçaklı kök kültüründe büyümeyi ve rosmarinik asit üretimini artırabildiğini göstermiştir.

Safavi ve ark. (2011) bakteriyel kontaminasyonun, bitki doku kültürü prosedürlerinde ciddi bir problem olduğunu belirttikleri çalışmalarında, nano gümüşün (NS) bakteriyel kontaminasyon ajanlarını yok etme potansiyelini değerlendirmeyi planlamışlardır. Deney, NS'yi MS ortamına beş oran (8, 10, 20, 50, 80 mg/L) katılacak şekilde hazırlanmıştır. Eksplantlar MS ortamında kültürlenmiş ve dört farklı zaman dahilinde değerlendirilmiştir (1, 2, 3, 4 hafta). Kültür ortamına nano gümüş (50 mg/L) eklenmesi ve mikroorganizma enfeksiyonunun kontrolünde tam etkili olduğu belirlenmiştir. NS'nin bitki doku kültürü prosedürlerinde bakteriyel kontamine edicilerin uzaklaştırılması için iyi bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Safavi ve ark. (2011) araştırmalarında, nano gümüş (NS) ve nano dioksit titanyumun (TiO_2)'un bakteriyel kontamine edici maddeleri yok etme potansiyelini değerlendirmişlerdir. Araştırmada, MS ortamında NS ve TiO_2 'yi denenmiştir. Tütün eksplantları, modifiye MS ortamında kültürlendi ve dört hafta sonra değerlendirildi. Bu araştırma, NS ve TiO_2 'nin, tütün bitkisi doku kültürü prosedürlerinde bakteriyel kontamine edicilerin uzaklaştırılması için iyi bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Shokri ve ark. (2013) tarafından gül doku kültürünün ana sınırlayıcı faktörü olan bakteri kontaminasyonlarının önlenmesi amacıyla gümüş nanopartiküllerin etkisi araştırılmıştır. Çalışma, iki yaklaşımla yapılmıştır; birinci çalışmada Nano-Gümüş, 0, 50, 100 ve 150 ppm

konsantrasyonlarda kültür ortamına ilave edilmiş ve ikinci çalışmada Eksplantlar 0, 100, 200 ve 400 ppm konsantrasyonlarında Nano-Gümüş çözeltilerine daldırılmıştır. Deneyler dört kere tekrarlanarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar, direkt olarak ortama eklenen 100 ppm konsantrasyonunun bakteriyel kontaminasyonu ve fenolik eksüdasyon oranını azaltabileceğini göstermiştir. Yüzey sterilizasyonundan sonra 20 dakika boyunca 200 ppm konsantrasyon işlemi, bakteriyel kontaminasyonunu kontrol altına almak için en iyi daldırma işlemi olarak belirlenmiştir. Yüksek Nano-Gümüş konsantrasyonları, eksplantların rejenerasyonlarını yavaşlatmıştır ve bazı durumlarda eksplantların tahrip olmasına neden olmuştur. Genel olarak, Nano-Gümüşün mantar kontaminasyonu üzerinde etkisi olmadığı belirlenmiştir.

Arab ve ark. (2014) yaptıkları araştırmada Nano-Gümüşün (NS) antifungal ve antibakteriyel aktiviteleri değerlendirmişlerdir. Gümüş nano partiküllerin Badem şeftali melezi (G·N15) mikroçoğaltımındaki kontaminasyonu kontrol etme potansiyelini değerlendirmek için iki ayrı deney yapılmıştır. İlk deneyde, beş farklı NS konsantrasyonu (0, 50, 100, 150 ve 200 ppm) ve 3 farklı süre (3, 5 ve 7 dakika) içeren 15 uygulama çalışılmıştır. İkinci deneyde NS, 0, 50, 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonları ile Murashige ve Skoog (MS) ortamına ilave edilmiştir. Sonuçlar, 100 ve 150 ppm NS'nin hem daldırma olarak hem de doğrudan kültür ortamına eklenmesinin, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında iç ve dış kirlenmeleri önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. NS'nin kültür ortamında kullanılması, mantar ve bakteri kontaminasyonunu azaltmak için daldırma işleminden daha etkili olmuştur. Yüksek NS konsantrasyonları, G·N15 tekli düğümlerin canlılığı üzerinde ters bir etki göstermiştir ve bu etki, NS'e daldırılmış eksplantlarda, tomurcukların ve bitkiciklerin rejenerasyonu ile ilgili doğrudan NS eklenmesinden daha ciddi olmuştur. Sonuç olarak, odunsu bitkilerin, özellikle meyve ağaçlarının yüksek oranda kontaminasyonu ve ayrıca civa klorürün olumsuz çevresel etkileri nedeniyle NS çözeltisi, G·N15'in mikro-çoğaltılmasında düşük riskli bir bakterisit olarak kullanılabileceği ve gelecekte civa klorüre uygun bir alternatif olabileceği bildirilmiştir.

Helaly ve ark (2014) çalışmalarında, muzun *in vitro* kültürlerindeki biyolojik kontaminasyon edicileri ve Zn/ZnO nanopartiküllerinin kontamine edici bazı bakteri ve mantarları gidermesi ve rejenerasyon üzerine etkilerini test etmişlerdir. Nanoparçacık içermeyen ortamda eksplantların ölümüne yol açan dokuz bakteri suşu; *Cellulomonas uda*, *Cellulomonas flarigena*, *Corynebacterium panrometabolum*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Erwinia cypripedii*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.* ve dört fungal kontamine edici suşu *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.* ve *Candida spp.* tanımlamışlardır.

Muz *in vitro* kontaminasyonsuz kültürleri, nano Zn ve ZnO partiküllerinin kültür MS ortamına uygulanmasının bir sonucu olarak rejenerasyon üzerinde olumsuz bir etkisi olmadan elde edilmiştir. Nanoparçacık dozları arttırıldığında prolin ve SOD, CAT ve POX aktiviteleri belirgin şekilde artarken kallus büyümesi azalmıştır. Somatik embriyojenezin en yüksek yüzdesi, 100 mg/L nano Zn ve bunu takiben nano ZnO ile desteklenen MS ortamında gözlenmiştir. MS+100 mg/L nano Zn ve ZnO'da da mükemmel filizlenme, köklenme ve rejenere edilmiş bitkicikler gözlenmiştir. Rejenere edilmiş bitkicikler, deney süresi boyunca (bir ay) yaklaşık % 98 verimlilikle başarılı bir şekilde iklimlendirilmiştir. Nanopartiküller ile muamele edilmiş somaklonlarda, kontrol grubundan daha fazla prolin, klorofil, antioksidan enzimlerin aktivitesi artmış ve kuru ağırlık birikimi sağlanmıştır. Sonuç olarak, muz *in vitro* kültüründeki mikrobiyal kontamine ediciler, nano Zn ve nano ZnO partiküllerinin büyüme ortamlarına farklı konsantrasyonlarda eklenmesiyle etkili bir şekilde elimine edilebildiği, 100 mg/L dozun iyi biçimlendirilmiş kök sistemleri ile bitkiciklerin rejenerasyonunu arttırmada en iyi etki gösterdiği, nanopartiküllerin muzun *in vitro* kültürlerinde genetik stabilite üzerindeki mekanizmalarını ve yan etkilerini araştırmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir.

Zaka ve arkadaşları (2015) tarafından yapılan çalışmada gümüş, bakır ve altın metalik nanoparçacıkları çevre dostu bir yöntem olan polioller işlemi kullanılarak sentezlenmiş ve tıbbi açıdan önemli bir bitki olan *Eruca sativa*'ya uygulanmıştır. Bu nanoparçacıkların uygulanmasının etkileri, tohum çimlenme sıklığı ve bitki dokularının biyokimyasal parametreleri üzerinde değerlendirilmiştir. *E. sativa* tohumları, çeşitli nanopartiküller süspansiyon (30 µg/ml) kombinasyonları ile birleştirilen Murashige ve Skoog (MS) ortamı üzerinde çimlendirilmiştir. Fitotoksisite çalışması, nanopartiküllerin endojen mekanizmaları manipüle ederek bitkilerde stresi indükleyebildiğini göstermiştir. Bu streslere cevap olarak, bitkiler antioksidan sekonder metabolitler olarak bilinen çeşitli savunma bileşikler salgılamışlardır. Bu bitkilerden türeyen sekonder metabolitlerin yaygın insan hastalıklarının tedavisinde büyük bir potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir. Küçük boyutlu nanopartiküller daha yüksek toksisite seviyede ve artan ikincil metabolit üretimi, toplam protein içeriği, toplam flavonoid içeriği ve toplam fenolik içeriği gösterdiğini belirlemişlerdir.

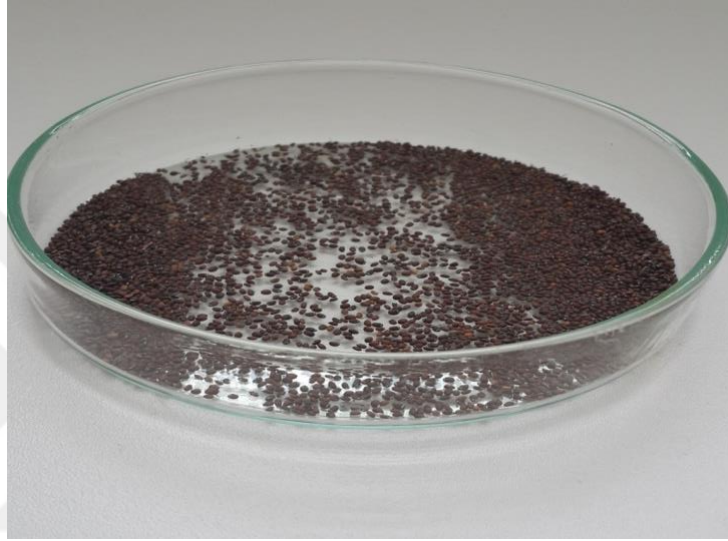
Zafar ve ark. (2016) çalışmalarında, 500 ila 1500 mg/L arasında değişen ZnO NP konsantrasyonlarının, *Brassica nigra* tohum çimlenmesini ve fide büyümesini olumsuz olarak etkilediği ve ayrıca antioksidan aktivitelerde ve enzimatik olmayan antioksidanlarda bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. *B. nigra*'nın gövde eksplantlarının Murashige ve Skoog (MS)

besiyerindeki düşük ZnO NP (1-20 mg/L) konsantrasyon varlığında oluşturulan kültürleri, kalın kök kıllarıyla beyaz ince köklerin üretilmesine neden olmuştur. 10 mg/L ZnO NP'lerde sürgünlerin ortaya çıktığı da gözlenmiştir. Geliştirilen kallus/kökler 10 mg/L'de %79 DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. Buna ek olarak toplam antioksidan ve azaltıcı güç potansiyeli ZnO NP'lerin varlığından da önemli ölçüde etkilenmiştir. Ayrıca, NP'lerin konsantrasyonuna bağlı olarak enzimatik olmayan antioksidan moleküllerde yani fenoliklerde (0.15 mg GAE/mg FW'ye kadar) ve flavonoidlerde (0.22 mg QE/mg FW'ye kadar) bir artış gözlenmiştir. ZnO NP'lerin, uygun ortamda kültürlenmiş eksplantlardan kökleri indükleyebildiği ve değerli ikincil metabolitlerin üretimi için kullanılabileceğini bildirmişlerdir.



3. MATERİYAL VE METOD

Tez çalışması Kütahya Dumlupınar Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı, Kütahya’da gerçekleştirilmiştir. Araştırmada tıbbi ehemmiyete sahip *Nepeta cataria* L. bitkisi kullanılmıştır. Bitkinin tohumları Kütahya Hekim Sinan Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi’nden tedarik edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Araştırma materyalini oluşturan *Nepeta cataria* L. tohumları.

3.1. Besin Ortamı

Bitki doku kültürü uygulamalarında besin komponenti seçimi araştırmanın önemi açısından çok önemli bir rol oynamaktadır. Bu çalışmada Murashige ve Skoog (MS) besin ortamı kullanılmıştır (Murashige ve Skoog,1962) (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. MS besin ortamının içeriği (mg/L), (Babaoğlu vd., 2002:).

Komponentler	Kültür Ortamındaki Konsantrasyon (mg/L)
Makro Elementler	MS
NH_4NO_3	1650
KNO_3	1900
$\text{CaCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	440
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
Mikro Elementler	MS
KI	0,83
H_3BO_3	6,2
$\text{MnSO}_4\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22,3
$\text{SO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8,6
$\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,25
$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,025
$\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,025
Na_2EDTA	37,3
$\text{FeSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8
Organik Bileşikler	MS
myo-İnositol	100
Nikotinik asit	0,5
Pridoksin-HCL	0,5
Thiamin- HCL	0,1
Glisin	2,0
Sükroz	30.000

3.2. Stok Solüsyonlarının Hazırlanması ve Saklanması

MS besin ortamının hazırlanmasının birinci basamağı, stok solüsyonlarının hazırlanmasıdır. Stok solüsyonlar, fazla miktarda bileşikten oluşan kültür ortamının hazırlığını basitleştirmek amacıyla yapılırlar. Stok solüsyonlar makro besin elementleri, mikro besin elementleri, vitaminler ve bitki büyüme düzenleyicileri olarak gruplara ayrılırlar (Çizelge 3.2.). Hazırladığımız stok solüsyonlar +4°C’ de saklanmışlardır.

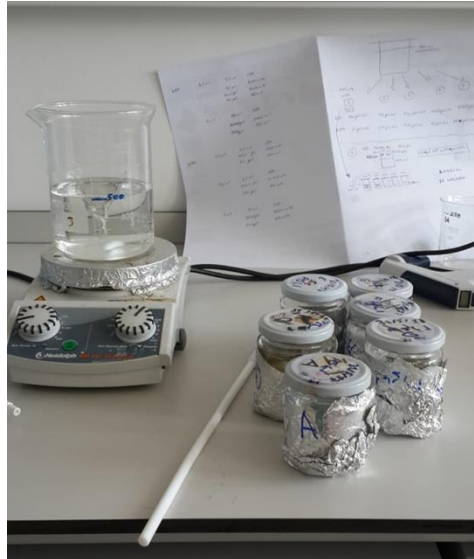
Çizelge 3.2. MS stok solüsyonları içeriği (gr/100mL) (Koçalışkan, 2017:37)

STOK A	Glisin	0,04
	Nikotinic asit	0,01
	Pridoksin-HCL	0,01
	Thiamin- HCL 0,04	0,002
	Myo-inositol*	-
STOK B	NH ₄ NO ₃	33
STOK C*	KNO ₃	-
STOK D	Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0,746
	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,556
STOK E	CaCl ₂ .H ₂ O	8,8
STOK F	KH ₂ PO ₄	3,4
STOK G	H ₃ BO ₃	0,124
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,005
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0,0005
	KI	0,0166
STOK H	MnSO ₄ .H ₂ O	0,338
	MgSO ₄ .7H ₂ O	7,4
	Cu SO ₄ .5H ₂ O	0,0005
	Zn SO ₄ .7H ₂ O	0,1725

*Tabloda belirtilen kimyasal maddelerin stok solüsyonları hazırlanmamış MS ortama doğrudan eklenmişlerdir.

3.3. MS Besin Ortamlarının Hazırlanması (1 Litre İçin)

- Bir litrelik bir beherin içerisine stok çözeltilerinden A, D, E, F, G ve H'den 5'er mililitre çekilerek aktarılmıştır.
- Beherin içerisine, hassas terazide 30g r sakkaroz, 1.9 gr KNO_3 ve 0.1 gr myo-inositol tartılarak eklenmiştir.
- Çözeltinin hacmi bir litre oluncaya kadar üzerine saf su eklenmiştir.
- Çözeltinin pH'sı 5,7-5,8 olacak şekilde 0,1 N NaOH ve 0,1 N HCl ile ayarlanmıştır.
- MS besin ortamının yarı katı halini alması için 7 gr/L agar eklenmiştir.
- Hazırlanan çözelti, homojen dağılım gösterinceye kadar, ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda kaynatılmıştır.
- Besin ortamı, 175 mL'lik kavanozların içerisine 30'ar mL bölüştürülerek aktarılmıştır.
- Kavanozların kapakları kapatılıp, kavanozlar buzdolabı poşetlerine konulduktan sonra poşetlerin ağzı kapatılmıştır.
- Son aşamada ise besin ortamı, otoklav ile steril edilmiştir (Şekil 3.2.).



Şekil 3.2. MS besin ortamı hazırlığı.

3.4. Doku Kùltürlerinde Besin Ortamlarının İçeriği

3.4.1. Doku kùltürlerinde besin ortamlarının içeriğinde bulunan maddeler

- **Su:** Doku kùltürlerinde besin ortamının %95'ini su oluşturmaktadır bu yüzden besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılacak suyun kalitesi yüksek olmalıdır. Musluk suyu besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılamaz çünkü musluk suyu, miktarı belli olmayan oranlarda çeşitli kasyonları, anyonları, organik maddeleri, partikùlleri, zararlı gazları içermektedir. Besin ortamlarında kullanılacak suyun bu maddelerden tamamen arındırılmış olması gerekmektedir. Besin ortamlarının hazırlığında kullanılacak su en azından deiyonize su olmalıdır ki deiyonize suyun da daha sonra iki kez destile edilmesi daha ideal olandır.
- **Makro ve mikro elementler:** Besin ortamlarında makro elementler; N (25-60mM), K (20-30mM), P, Ca, S ve Mg (1-3mM) ve mikro elementler; Fe, Mo (1μM), I (5μM), Zn (5-30μM), Mn (20-90μM), B (25-100μM), Cu, Co (0.1μM) bulunur. Makro elementler milimol düzeyinde ilave edilirken mikro elementler mikromol düzeyinde ortamlara katılır. Bu elementlerin kullanım miktarları farklı araştırıcılar tarafından geliştirilmiş besin ortamı reçetelerinde değişiklik göstermektedir ve bu reçetelerden hangisinin kullanılacağı bitki türü, doku kùltürünün tipi, eksplant kaynağı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.
- **Vitaminler:** Vitaminler enzim reaksiyonlarında katalitik etkiye sahiptirler. Bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumlu yönde etkilerler. Thiamin (B1), nikotinik asit, pyridoksin (B6) ve myo-inositol doku kùlkürü ortamlarında sıkça kullanılmaktadırlar. Farklı besin ortamlarında thiamin ve pyridoksin 0.1-10 mg/L; nikotinik asit 0.1-5 mg/L, myo-inostol 50-5000 mg/ l dozlarında kullanılmaktadır. Biotin, folik asit, askorbit asit, pantotenik asit (B5), tokoferol (E vitamini), riboflavin (B2) ve paminobenzoik asit ise besin ortamlarında kullanılan diğer vitaminlerdir.
- **Amino asitler:** Hücre gelişimini uyarmak için kullanılan organik azot kaynaklarıdır. Glisin (2mg/L), L-glutamin, L-asparagin (100mg/L) sıkça kullanılan amino asitlerdir.
- **Kompleks organik maddeler:** Kazein hidrolizat (%0.05-0.1), hindistan cevizi sütü (%5-20), maya ekstraktları, malt ekstraktları vb. kompleks maddeler de kimi kùltürlerde

kullanılmaktadır. Bu maddelerin zararlı etki oluşturmaması için kullanmadan önce test edilmeleri önemlidir.

- **Aktif karbon:** Kùltürlerde olumsuz etki yapabilecek toksik maddeleri (fenolik bileşikler gibi) absorbe eder ve kùltürlerde karanlık koşul oluşturulmasını sağlar (kùklendirme). Besin ortamlarına % 0.2-3 dozlarında aktif kùmür katılabilmektedir.
- **Büyüme yi düzenleyici maddeler:** Doku kùltürlerinde oksinler, sitokininler ve giberellik asit (GA₃) en fazla kullanılan büyüme yi düzenleyici maddelerdir. Absisik asit (ABA) ve etilen de nadir olmakla birlikte doku kùltürlerinde kullanılabilen diğ er büyüme yi düzenleyici maddelerdendir.
- **Karbon ve enerji kaynağı:** Doku kùltürlerinde eksplantlar heterotrof (kendi besinlerini yapamayan) oldukları için enerji kaynağı olarak besin ortamlarında şekere ihtiyaç duyarlar. En fazla sakkaroz bu amaçla kullanılmaktadır. Kullanım dozu kùltür tipine göre değ işmekle birlikte %1-5'dir. En fazla %3 dozunda kullanılmaktadır. Sık olmamakla birlikte glikoz, maltoz ve fruktoz da bu amaçla kullanılabilen diğ er şekerlerdir. Manitol ve sorbitol gibi alkol şekerleri bitki dokularında metabolize edilemezler ve bunlar genellikle protoplast kùltürlerinde ozmotik dengeleyici olarak kullanılırlar.

3.5. Besin Ortamının Sterilizasyonu

Besin ortamları 121°C, 1.06 kg/cm² basınç altında, 15 dk otoklav ile sterilize edilmiş. Besin ortamları oda sıcaklığında soğutulduktan sonra karanlıkta muhafaza edilmişlerdir.

3.6. Steril Koşulların Oluşturulması ve Devam Ettirilmesi

Kùltür işlemlerinin uygulandığı bitki büyütme dolabı ve bitki büyütme odası ticari çamaşır suyu ile düzenli olarak silinmiştir. 150 adet kavanoza transfer işlemlerine başlamadan önce steril kabinin yüzey sterilizasyonu, % 70 ethanol ile yapılmış ardından 15 dk süre ile UV lamba çalıştırılarak yapılmıştır. Yapılan uygulamalarda kullanılan beher, petri, kavanoz, pens, bistüri, süzgeç, peçete gibi ekipmanlar alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra buzdolabına poşetine konulmuş 121°C, 1.06 kg/cm² basınç altında, 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyonun kontrolü için otoklav bandı kullanılmıştır. Çalışma esnasında ellerden gelebilecek her türlü kontaminasyonu önlemek maksadıyla uygulamaya başlanmadan önce eller %70lik ethanol ile steril edilmiştir.

3.7. Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi

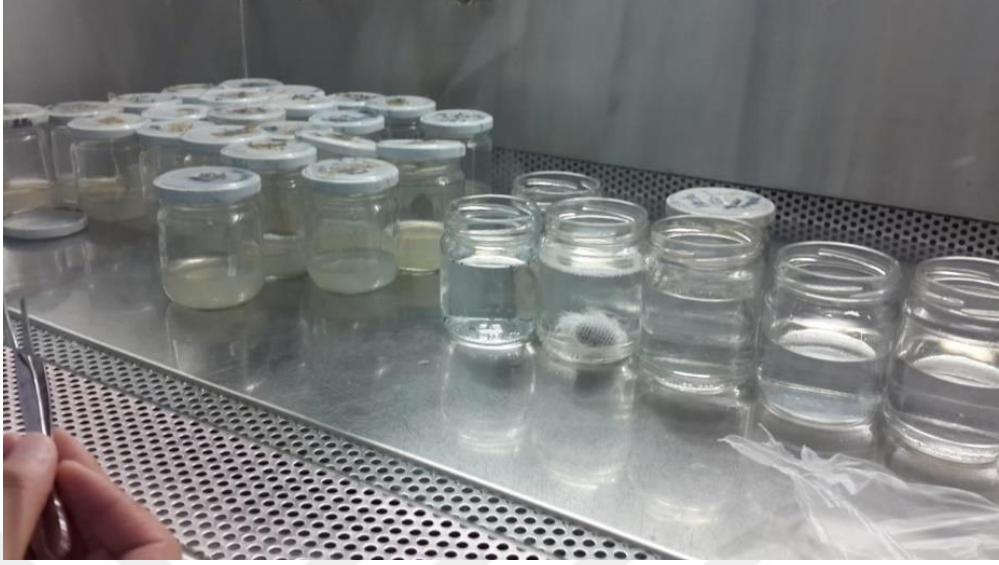
Gümüş nanopartiküllerin sentezi ODTÜ Kimya Bölümü Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. AgNP'ler yeşil çay (*Cammelia sinensis*) yaprak ekstresi kullandığımız yeşil bir yöntemle sentezlenmiştir. Yeşil çay ekstresi, deiyonize suda 70 °C'de 2 g çay yaprağı ile klasik demleme metodu ile elde edilmiştir. 200 mg/L Ag(I) içeren karışım ve özüt 24 saat inkübe edilmiş ve nanoparçacıklar 10 dakika süreyle 5000 rpm'de santrifüj ile döndürülmüştür. Çökeltilmiş AgNP'ler daha sonra 25 mL deiyonize su içinde dağıtılmıştır. AAS analizine (Atomik Absorbsiyon Spektrometresi) göre dağılmış parçacıkların konsantrasyonu 158 mg/L olarak belirlenmiştir.

3.8. Sterilizasyon İşlemlerinde Kullanılan Nanopartikül Solüsyonlarının Hazırlanması

Uygulamalar	ppm (mg/L)
1. Konsantrasyon	0
2. Konsantrasyon	50
3. Konsantrasyon	75
4. Konsantrasyon	100
5. Konsantrasyon	125
6. Konsantrasyon	150

3.9. *N. cataria* Tohumlarının Gümüş Nanopartiküller ile Sterilizasyonunun Etkisinin Araştırılması

Nepeta cataria tohumları yüzey sterilizasyonu işlemleri için birbirinden ayrı 15 adet sargı bezlerinin içerisine alınıp, zımba ile kapatılmıştır. Bu tohumlar %70'lik etil alkolde 3 dk, 4 farklı konsantrasyonlardaki; 0 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm gümüş nanopartikül çözeltiğinde 5 dk, 15 dk ve 20 dk bekletilip steril edildikten sonra 3 seri saf su içerisinde 3'er dk bekletilerek durulanmıştır. Steril peçete üzerine çıkartılıp, sargı bezinden zimbalar çıkarılıp fazla suyu giderilen tohumlar MS besin ortamı içeren kavanozlara aktarılmıştır. Kavanozlar üzerine ekilen materyalin adı, numarası ve tarih yazılarak etiketlenmiş, bitki büyütme dolabına kaldırılmıştır.



Şekil 3.3. Steril kabinde *Nepeta cataria* L. tohumlarının AgNP çözeltileri ile sterilizasyonu.

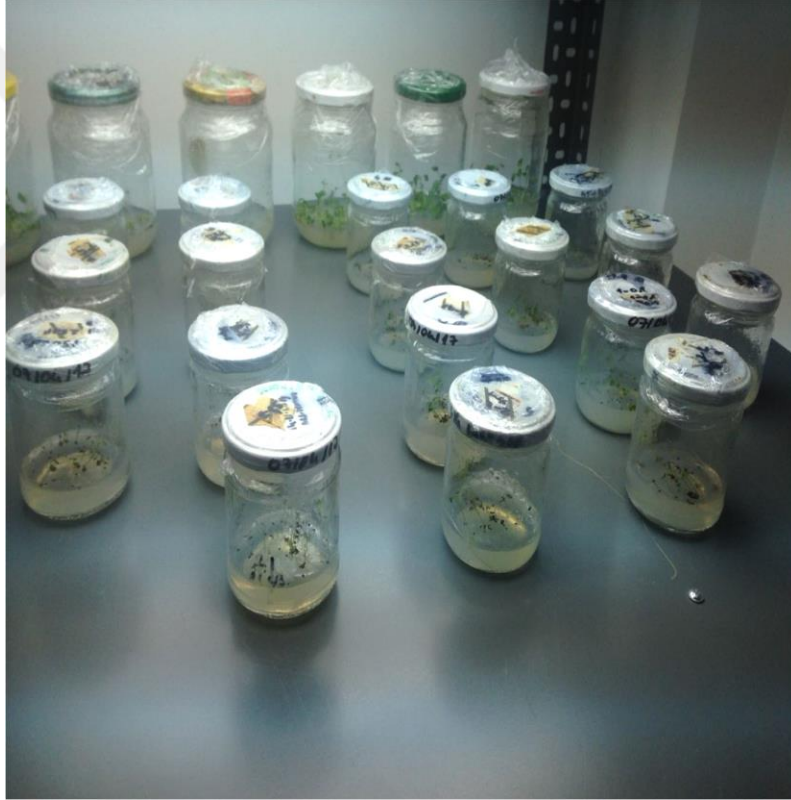
3.10. İstatistik Çalışmaları

Veriler tesadüf parselleri deneme desenine göre beş tekerrürlü olarak yapılmıştır. Uygulamalardan elde edilen veriler, SPSS 16.0 istatistik programı (SPSS Inc., Chicago, USA) kullanılarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Nanopartiküller ile Tohum Sterilizasyonu

Tez çalışmasında farklı konsantrasyon ve sürelerde uygulanan AgNP'lerin *N. cataria* tohumunun *in vitro* sterilizasyonu ve çimlenmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla beş farklı; 0 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm konsantrasyonlarda ve üç farklı; 5 dk, 10 dk, 20 dk sürede uygulamalar yapılmıştır. Yapılan uygulamalar neticesinde gözlemler yapılmış elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Tohum çimlendirilme işlemleri sonucunda ilk çimlenme on ikinci gün görülmüştür. Yapılan gözlemler sonucunda çimlenme oranı %31 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1. *Nepeta cataria* tohumlarında gözlenen çimlenmeler.



Şekil 4.2. *Nepeta cataria* tohumlarının çimlenmiş hali.

Tohumlara yapılan nanopartikül uygulama süreleri çimlenme performansları üzerine anlamlı bir fark göstermektedir (Çizelge 4.1) ($F_{4-145 \text{ Zaman}} = 5.828$, $p < .05$). Hangi zaman dereceleri arasında fark olduğunun belirlenmesi için çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD yapılmıştır. Tohumlara uygulanan farklı sürelerdeki nanopartikül sterilizasyonu işlemlerinden 20 dakikalık uygulamanın ($\bar{X} = 4.16$) çimlenme üzerine olumlu etkisinin 5 ($\bar{X} = -.22$) ve 10 ($\bar{X} = -.26$) dakikalık uygulamalardan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Tohumlara yapılan nanopartikül konsantrasyonlarının tohumların çimlenme performansları üzerine etkileri istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir [$F_{3-386 \text{ Konsantrasyon}} = 2.319$, $p > .05$].

Çizelge 4.1. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin *N. cataria* tohumlarının çimlenme performanslarına etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları.

	Değişken	Alt-Grup	N	Ort.	Ss.	Sd.	F	p
Çimlenme	Konsantrasyon	0	30	0.26	0.44	4-145	2.319	.06
		75	30	0.20	0.40			
		100	30	0.10	0.30			
		125	30	0.36	0.49			
		150	30	0.36	0.49			
	Zaman	5	50	0.32	0.47	2-147	5.828	.004*
		10	50	0.36	0.48			
		20	50	0.10	0.30			

$p < .05$

Tohumlara yapılan nanopartikül uygulamaları tohumlarda gözlenen kontaminasyonların konsantrasyon ve zaman değişkenlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermektedir (Çizelge 4.2) (F_{4-145} Konsantrasyon = 6.496, $p < .05$; F_{4-145} Zaman = 6.133, $p < .05$). Hangi zaman dereceleri arasında fark olduğunun belirlenmesi için çoklu karşılaştırma testlerinden Tukey HSD yapılmıştır. Tohumlara uygulanan farklı sürelerdeki nanopartikül sterilizasyonu işlemlerinde kontaminasyon değerleri Konsantrasyonu 0 ($\bar{X} = .53$) olan uygulama, 100 ($\bar{X} = .40$) ve 75 ($\bar{X} = .36$) olan uygulamalardan daha yüksek düzeydedir. Zaman açısından bakıldığında 5 dakikalık uygulamanın ($\bar{X} = .30$) 20 dakikadan daha yüksek kontaminasyon değeri verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin *N. cataria* tohumlarında gözlenen kontaminasyona etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları.

	Değişken	Alt-Grup	N	Ort.	Ss.	Sd.	F	p
Kontaminasyon	Konsantrasyon	0	30	0.70	0.49	4-145	6.496	.00*
		75	30	0.16	0.37			
		100	30	0.33	0.47			
		125	30	0.30	0.46			
		150	30	0.43	0.50			
	Zaman	5	50	0.24	0.43	2-147	6.133	.003
		10	50	0.38	0.49			*
		20	50	0.54	0.50			

$p < .05$



Şekil 4.3. *Nepeta cataria* L. tohumları ekilmiş kavanozlarda gözlenen kontaminasyonlar.



Şekil 4.4. *Nepeta cataria L.* tohumları ekilmiş kavanozlarda gözlenen kontaminasyonlar.

Tohumlara yapılan nanopartikül uygulamalarında gözlenen fungus kontaminasyonu konsantrasyon ve zaman değişkenlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermektedir (Çizelge 3.3) ($F_{4-145 \text{ Konsantrasyon}} = 6.039, p < .05$; $F_{4-145 \text{ Zaman}} = 5.026, p < .05$). Fungus kontaminasyon değerleri 0 konsantrasyon 75 Konsantrasyondan ($\bar{X} = .47$), 125 konsantrasyondan ($\bar{X} = .43$) ve 100 konsantrasyondan daha yüksek ortalama değere sahiptir. 5dk zaman dilimi 20 dk zaman ($\bar{X} = -.26$) diliminden daha yüksek ortalama değere sahiptir.

Çizelge 4.3. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin *N. cataria* tohumlarında gözlenen fungus kontaminasyona etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları.

	Değişken	Alt-Grup	N	Ort.	Ss.	Sd.	F	P
Fungus Kontaminasyon	Konsantrasyon	0	30	.16	.37	4-145	6.039	.0*
		75	30	0	0			
		100	30	.06	.25			
		125	30	.13	.34			
		150	30	.10	0.30			
	Zaman	5	50	.06	.23	2-147	5.026	.008*
		10	50	.10	.30			
		20	50	.12	.32			

Tohumlara yapılan nanopartikül uygulamasında tohumlarda gözlenen bakteri kontaminasyonun konsantrasyon ve zaman değişkenlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemektedir (Çizelge 4.4) (F_{4-145} Konsantrasyon = 1.461, $p>05$; F_{4-145} Zaman = 0.553, $p> .05$).

Çizelge 4.4. Uygulanan nanopartikül konsantrasyon miktar ve sürelerinin *N. cataria* tohumlarında gözlenen bakteri kontaminasyona etkilerine ilişkin ANOVA sonuçları..

Değişken		Alt-Grup	N	Ort.	Ss.	Sd.	F	p
Bakteri	Konsantrasyon	0	30	.60	.49	4-145	1.461	.218
		75	30	.13	.34			
		100	30	.26	.44			
		125	30	.	.37			
		150	30	.16	.47			
				.33				
	Zaman	5	50	.16	.37	2-147	0.553	.577
		10	50	.32	.47			
		20	50	.42	.49			

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bitki doku kültüründe başarı sağlanabilmesi için sterilizasyon işleminin etkili bir şekilde yapılması gerekir. Aksi halde *in vitro* çalışmalarda kullanılan bitkisel materyallerin yüzeylerinde virüs, bakteri ve mantarların bulunması besin ortamında kontaminasyona ve kültür ortamındaki bitki materyallerinin ölümüne neden olabilir (Ramalashmi vd., 2018). *In vitro* çalışmalarda her bitkinin yüzeysel olarak bakteri, mantar ve benzeri organizmalardan arındırılabilmesi için gerekli sterilizasyon tipi, süresi ve miktarı farklıdır. Sterilizasyonunda kullanılacak yöntemle göre sodyum hipoklorit, etil alkol, gümüş nitrat vb. kimyasallar kullanılabilir (Bharti vd., 2018; Murthy vd., 2019). Günümüzde nanoteknolojik uygulamalarının ve kullanım alanlarının artmasıyla birlikte nanomateriyallerin yüzey sterilizasyonu amacıyla kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Son çalışmalar, eksplantların NP'lerle yüzey sterilizasyonu ile mikrobiyal kontaminasyonun önemli ölçüde azalttığını göstermiştir (Mandeh vd., 2012; Taghizadeh ve Solgi, 2014). NP'lerin doku kültürü ortamına eklenmesi, bakteriyel kontaminasyonu ortadan kaldırabilir ve eksplantların morfogenetik potansiyelini artırabilir.

Tez çalışma sonuçlarında nanoboyutundaki gümüşün doku kültürü koşullarında kontaminasyonu engelleyebildiği belirlenmiştir. Genel olarak, yüzey sterilizasyonundan AgNP çözeltilerinin kullanılması, *N. cataria* tohum çimlenme ve gelişim karakterleri üzerinde herhangi bir olumsuz etki olmadan fungusların kontrolü üzerinde kabul edilebilir bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, bakteriyel kontaminasyonu kontrol etmek ile birlikte uygulanan konsantrasyonlar arasında fark belirlenmemiştir. Yapılan gözlemler sonucunda nanopartikül uygulamasının yapraklarda irileşme bitki boyunda uzama ve gövde kalınlaşması şeklinde morfolojik değişiklikler yaptığı, bitkinin gelişimini de olumlu etkilediği gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada *N. cataria* bitkisinin tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesi amacıyla yapılan nanopartikül uygulamalarından 150 ppm ve 20 dakikalık uygulamanın başarılı olduğu belirlenmiştir. *N. cataria* bitkisinin tohumlarının AgNP ile steril edilerek *in vitro* koşullarda steril edildiği ilk çalışmadır.

Nanopartiküllerin *in vitro* kültür çalışmalarındaki sterilizasyon yeteneklerinin belirlenmesi konusunda yapılacak daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Alpınar, K. ve Saçlı. S. (1997). Türkiye'deki Etnobotanik Çalışmalar Hakkında Bir Bibliyografya. *XI. BİHAT Bildiriler Kitabı*, Ankara. s. 157-167.
- Arab, M. M., Yadollahi, A., Hosseini-Mazinani, M., & Bagheri, S. (2014). Effects of antimicrobial activity of silver nanoparticles on *in vitro* establishment of G× N15 (hybrid of almond× peach) rootstock. *Journal of genetic engineering and biotechnology*, 12(2), 103-110.
- Ayışığı, M. (2018). Gümüş Nanopartikül Uygulamasıyla Biber (*Capsicum annum*) Bakteriyel Gövde ve Meyve Çürüklüğü Etmeni *Pectobacterium caratovorom* Kontrolü, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 61s.
- Babaoğlu M., Gürel E., ve Özcan S., (2001). *Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları*, S.Ü. Basımevi, Konya.
- Bali, R., Razak, N., Lumb, A., Harris, A. T., (2006). The synthesis of metal nanoparticles inside live plants, *International Conference on Nanoscience and Nanotechnology (ICONN'06)* 224–227.
- Barazandeh, M. M. (2006). Essential oil composition of *Nepeta menthoides* Boiss. Et Bushe from Iran. *Journal Essent Oil Research*, 18, 144–145.
- Başer, H. C. (1998). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Endüstriyel Kullanımı. *TAB Bülteni*. Anadolu Üniversitesi. Eskişehir, 13-14:19-43.
- Baydar, H., (2007). *Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi*. Süleyman Demirel Üniversitesi No: 51 Tarla Bitkileri Bölümü. Isparta.
- Bayram E., Kırıcı E., Tansi S., Yılmaz G., Arabacı O., Kızıl S., Telci İ. (2010). Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Bildiriler Kitabı-1, (11-15 Ocak 2010), Ankara, 437-457.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi*. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. Çapa, İstanbul.
- Beykaya, M. ve Çağlar, A. (2016). Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.
- Bharti, N., Kapoor, B., Shaunak, I., Sharma, P. ve Sharma, R. (2018). Effect of sterilization treatments on *in vitro* culture establishment of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *IJCS*, 6(5), 1165-1168.
- Bürün B. (2001). *Hastaliksız Bitki Üretimi*. In: Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. (eds), *Bitki Biyoteknolojisi*. 1. Doku Kültürü ve Uygulamaları. SÜ Vakfı Yayınları: 372 s. Selçuk Üniversitesi, Konya.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Cheon, J. Y., Kim, S. J., Rhee, Y. H., Kwon, O. H., ve Park, W. H. (2019). Shape-dependent antimicrobial activities of silver nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 14, 2773.

Dağüstü N. (1996). Application of Tissue Culture in Generation of Resistance to Three Major Diseases of Carrot. Syf 272, PhD Thesis, England.

Duncan, T. V., (2011). Applications of Nanotechnology in Food Packaging and Food Safety: Barrier Materials, Antimicrobials and Sensors. *J Colloid Interface Sci* 363(1): 1-24.

George E.F., Sherrington P.D. (1984). Plant Tissue Culture. In: George E.F., Sherrington P.D. (eds), *Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories*, 1-38, England, Exegetics Limited.

Germanà M.A. (2011). Anther Culture for Haploid and Doubled Haploid Production. *Plant Cell Tiss Organ Cult.*, 104: 283–300.

Gül, V., (2014). Rize Yöresine Ait Tıbbi ve Aromatik Bitkilere Genel Bir Bakış. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(4), 97-107.

Hatipoğlu, R. (1999). *Bitki Biyoteknolojisi*, ÇÜ Ziraat Fakültesi Genel Yayın No.: 190, Ders Kitapları Yayın No.: A-58, Adana.

Helaly, M. N., El-Metwally, M. A., El-Hoseiny, H., Omar, S. A., & El-Sheery, N. I. (2014). Effect of nanoparticles on biological contamination of 'in vitro' cultures and organogenic regeneration of banana. *Australian Journal of Crop Science*, 8(4), 612.

http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=7815.

<http://linnaeus.nrm.se/botany/fbo/n/nepet/nepecat.html>.

<http://www.bitkicenter.com/kedi-nanesinin-faydalari-ve-kullanimi/>.

<http://www.ebitki.com/index.php?hq=Nepeta%20cataria&gr=Latinc>.

<http://www.ebitki.com/index.php?hq=Nepeta%20cataria&gr=Latince>.

http://www.plantsystematics.org/imgs/kcn2/r/Lamiaceae_Nepeta_cataria_6462.html.

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/ra/c8ra08982e>.

Karp A. (1994). Origins, Causes and Uses of Variation in Plant Tissue Cultures. In: Vasil I.K., Thorpe T.A. (eds), *Plant Cell and Tissue Culture*, pp. 139- 151, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kılıç, O. (2013). A Morphological and Systematical Study on *Nepeta cataria* L.(Lamiaceae) Distributed in the Adıyaman Province. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(4),
- Kim, J. S., Kuk, E., Nam Yu, N. K., Kim, J., Park, J. S., Lee, H. J., Kim, S. H., Park, Y. K., Park, Y. H., Hwang, C., Kim, Y. K., Lee, Y. S., Jeong, D. H. ve Cho, M. H. (2007). Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* (3)95–101.
- Kirmusaoğlu, S. ve Cansız, E. İ. Nanoteknolojide Nano Gümüşün Antibakteriyel Özelliği. *Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 87-94.
- Kobaisy M., Tellez M. R., Dayan F. E., Mamonov L.K., Mukanova G.S., Sitpaeva G.T. ve Gemejjeva N.G. (2005). Composition and phytotoxic activity of *Nepeta pannonica* L. Essential oil. *Journal Essent Oil Research*, 17, 704–707.
- Kocaçalışkan, İ. (2017). *Bitki Doku Kültürleri Kitabı (Organ, Doku ve Hücre)*, (ISBN:978-975-8201-47-6). DPÜ. Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya.
- Mabberley, D. J., (1997). *The Plant Book*, Cambridge University Press.
- Mammadova, Z., ve Mammadov, R. (2014). Nahcivan Özerk Cumhuriyeti (Azerbaycan) Arazisinde Yayılış Gösteren *Nepeta* L. Türleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 14(2), 1-6.
- Mandeh, M., Omid, M., ve Rahaie, M. (2012). *In vitro* influences of TiO₂ nanoparticles on barley (*Hordeum vulgare* L.) tissue culture. *Biological trace element research*, 150(1-3), 376-380.
- Manosalva, N., Tortella, G., Diez, M. C., Schalchli, H., Seabra, A. B., Durán, N., ve Rubilar, O. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles: effect of synthesis reaction parameters on antimicrobial activity. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(6), 88.
- Murashige T. ve Skoog F., (1962). A resed medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.*, 15: 473-497.
- Murthy, M. K., Khandayataray, P., Samal, D. ve Laha, R. (2019). Effects of Surface Sterilizing Agents, Sucrose and Plant Growth Regulatory Hormone Concentration Levels on Micropropagation of *Bacopa monnieri* L. *Asian Journal of Research in Botany*, 1-12.
- Narayanan, K. B. ve Sakthivel, N. (2010).. Biological Synthesis of Metal Nanoparticles By Microbes, *Adu, Colloid Interface Sci.*156;1-13.
- Ocsoy, I., Temiz, M., Celik, C., Altinsoy, B., Yilmaz, V. ve Duman, F., (2016). A green approach for formation of silver nanoparticles on magnetic graphene oxide and highly effective antimicrobial activity and reusability. *Journal of Molecular Liquids* 227 (2017) 147–152.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Oyar, P. (2014). Diş Hekimliğinde Kullanılan Nanopartiküller, Kullanım Alanları ve Biyouyumluluk. *Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 24(1). 125-133
- Rai, M. K., Yadav, A. P. ve Gade, A. K. (2009). Silver Nanoparticles as A New Generation of Antimicrobials. *Biotech Adv* 27 (1): 76-82.
- Ramalahmi, K., Prasanna Vengatesh, K., Magesh, K., Sanjana, R., Siril Joe, S. ve Ravibalan, K. (2018). A potential surface sterilization technique and culture media for the isolation of endophytic bacteria from *Acalypha indica* and its antibacterial activity. *J. Med. Plants Studies*, 6(1), 181-184.
- Rapisarda, A., Galati, EM., Tzakou, O., Flores, M. ve Miceli, N., (2001). *Nepeta sibthorpii* Betham (*Lamiaceae*): Micromorphological analysis of leaves and flowers *Farmacology*, 56: 413-415.
- Rostami, A. A., ve Shahsavari, A. (2009). Olive “Mission” Explants. *Asian Journal of Plant Sciences*, 8(7), 505-509.
- Rustaiyan, A., Jamzad, M., Masoudi, S. ve Ameri, N. (2006). Volatile constituents of *Nepeta hellotropifolia* Lam., *Menthamozaffarianii* Jamzad and *Ziziphorapersica* Bunge. Three labiate herbs growing wild in Iran. *Journal Essent Oil Research*, 18, 348–351.
- Safavi, K., Esfahanizadeh, M., Mortazaeinezhad, D. H., ve Dastjerd, H. (2011). The study of nano silver (NS) antimicrobial activity and evaluation of using NS in tissue culture media. In *International Conference On Life Science and Technology IPCBEE*(Vol. 3, No. 1, 159-161.
- Safavi, K., Mortazaeinezhad, F., Esfahanizadeh, M., ve Javad A. M. (2011). *In vitro* antibacterial activity of nanomaterial for using in tobacco plants tissue culture. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 79, 372-373.
- Sajjadi S. E. (2005). Analysis of the essential oil of *Nepeta sintenisii* Bornm. from Iran. *Daru*, 13, 61–64.
- Sarı, A. O., Oğuz B., Bilgiç, A., Tort, N., Güvensan, A., ve Şenol, S. G. (2010). Ege ve Güney Marmara bölgelerinde halk ilacı olarak kullanılan bitkiler. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 20(2), 1-21.
- Shokri, S., Babaei, A., Ahmadian, M., Arab, M. M., ve Hessami, S. (2013). The effects of different concentrations of Nano-Silver on elimination of Bacterial contaminations and phenolic exudation of Rose (*Rosa hybrida* L.) *in vitro* culture. In *VIII International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding 1083* (pp. 391-396).
- Siddiqi, K. S., Husen, A., ve Rao, R. A. (2018). A review on biosynthesis of silver nanoparticles and their biocidal properties. *Journal of nanobiotechnology*, 16(1), 14.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Taghizadeh, M. ve Solgi, M. (2014). The application of essential oils and silver nanoparticles for sterilization of bermudagrass explants in *in vitro* culture. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(2), 131-140.

Tunca, E. Ü. (2015). Nanoteknolojinin Temeli Nanopartiküller ve Nanopartiküllerin Fitoremediasyonu. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2), 23-34.

Tzakou, O., Haruda, C., Galati, E. M. ve Sanogo, R., (2000). Essential Oil Composition of *Nepeta argolica* Bory et Chaub. subsp. *argolica* subsp. *Argolica Flavour Fragrance Journal*, 32: 115-118.

Vaquero L., Comino I., Vivas S., Rodríguez-Martín L., Giménez M.J., Pastor J., Sousa C. ve Barro F. (2017). Tritordeum: a Novel Cereal for Food Processing With Good Acceptability and Significant Reduction in Gluten Immunogenic Peptides in Comparison With Wheat. *J Sci Food Agric*. 1-9.

Yang, Y. K., Lee, S. Y., Park, W. T., Park, N. I., ve Park, S. U. (2010). Exogenous Auxins and Polyamines Enhance Growth and Rosmarinic Acid Production in Hairy Root Cultures of *Nepeta cataria* L. *Plant Omics*, 3(6), 190.

Zafar, H., Ali, A., Ali, J. S., Haq, I. U. ve Zia, M. (2016). Effect of ZnO nanoparticles on *Brassica nigra* seedlings and stem explants: growth dynamics and antioxidative response. *Frontiers in plant science*, 7, 535.

Zaka, M., Abbasi, B. H., Rahman, L. U., Shah, A., ve Zia, M. (2016). Synthesis and characterisation of metal nanoparticles and their effects on seed germination and seedling growth in commercially important *Eruca sativa*. *IET nanobiotechnology*, 10(3), 134-140.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AKTAY, Aslı

Doğum tarihi ve yeri: 14.05.1988, Bitlis

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	DPÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji	
Lisans	DPÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji	2014
Lise	Kadriye Moroğlu Lisesi	2005

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018-2019	İstanbul-Bağcılar Samur Eczanesi	Eczacı Teknisyeni
2015-2016	Garanti Group	Mesul Müdür
2014-2015	Gezer Group	Yönetici Asistanı
2013-2014	İşbul Net - Gezer Şirketler Grubu	Çağrı Merkezi

Yabancı Dil İngilizce