


Somatik embriyogenesisiz

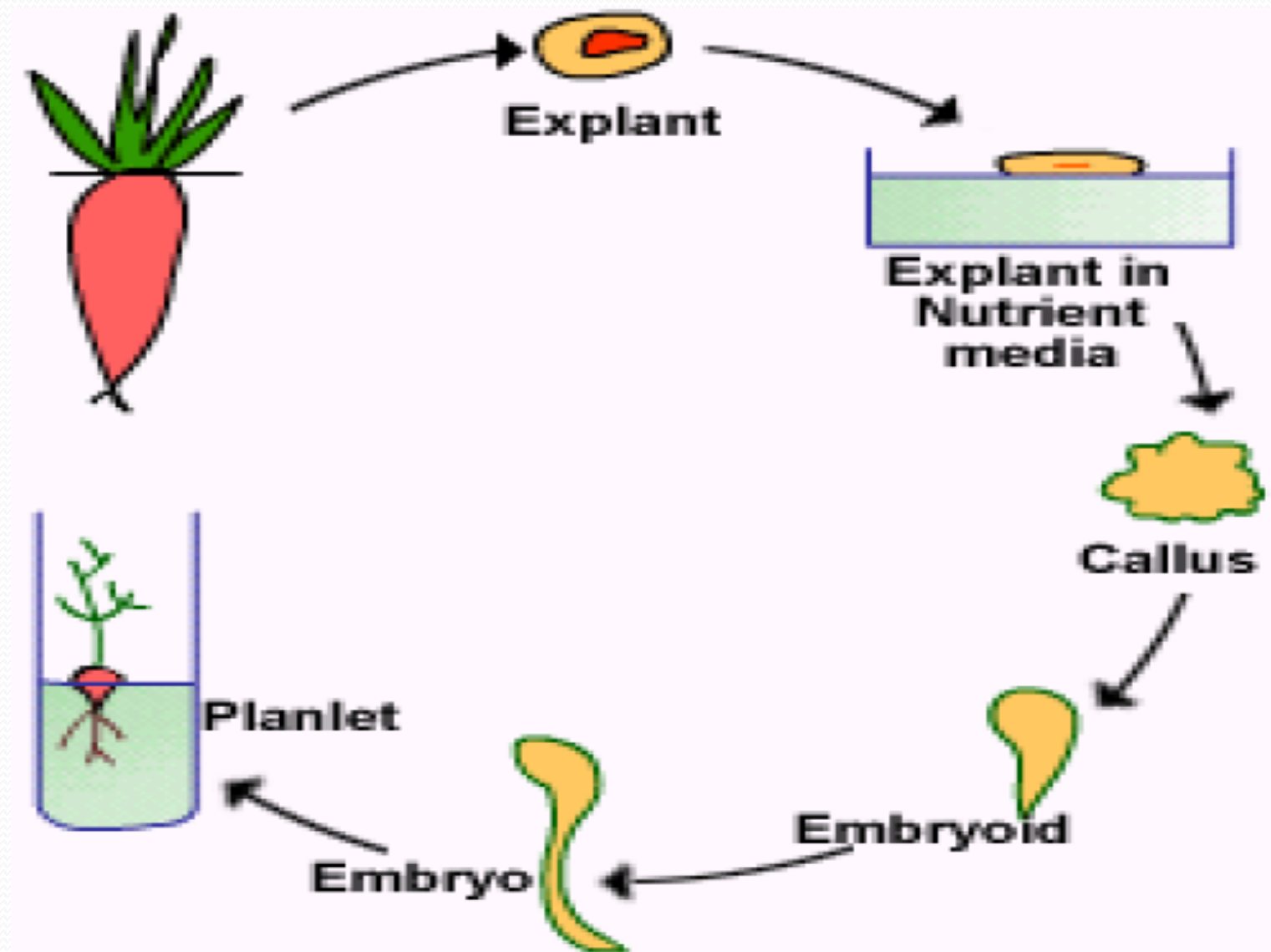
- 
- Bitki hücrelerinden embriyo elde etmek için yumurta hücrelerini kullanabiliriz.
 - Ancak embriyo elde edilmesi yumurta hücresiyle sınırlı değildir.
 - İn vitro kültür şartlarını ve özellikle de bitki büyüme düzenleyicilerini ayarlayarak bir bitkinin herhangi bir somatik hücre, doku veya organından embriyo elde edebiliriz.




- Vejetatif
- hücrelerden
- gelişen embriyolar
- **somatik embriyo**
- olarak
- adlandırılmaktadır.

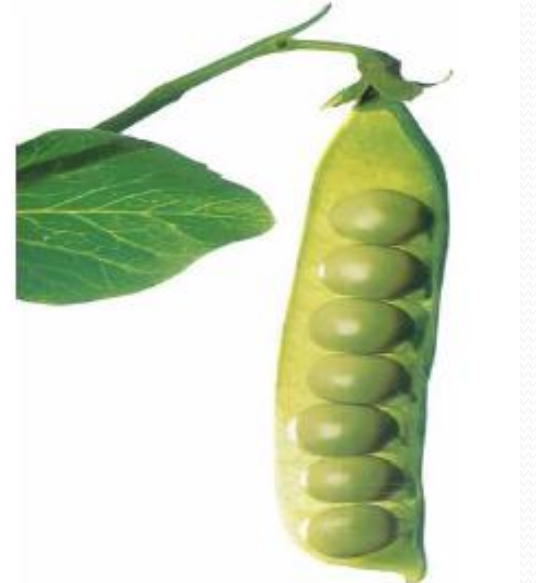


- Somatik embriyogenesis ilk defa havuç bitkisinin somatik dokularından elde edilmistir.



- 
- Genel olarak somatik embriyo üretimi için çok değişik bitki kısımları kullanılabilmektedir.
 - Ancak, olgunlaşmamış zigotik embriyolar somatik embriyogenesis için önemli bir kaynak oluşturmaktadır.
 - Bunun nedeni zigotik embriyoların embriyogenik gelişme için gerekli olan genleri aktif hale getirdiklerine inanılmaktadır.

- Günümüzde mısır, buğday, çeltik, soya, bezelye ve yonca gibi birçok önemli kültür bitkisinde yüksek oranda somatik embriyo üreten yöntemler geliştirilmiştir.



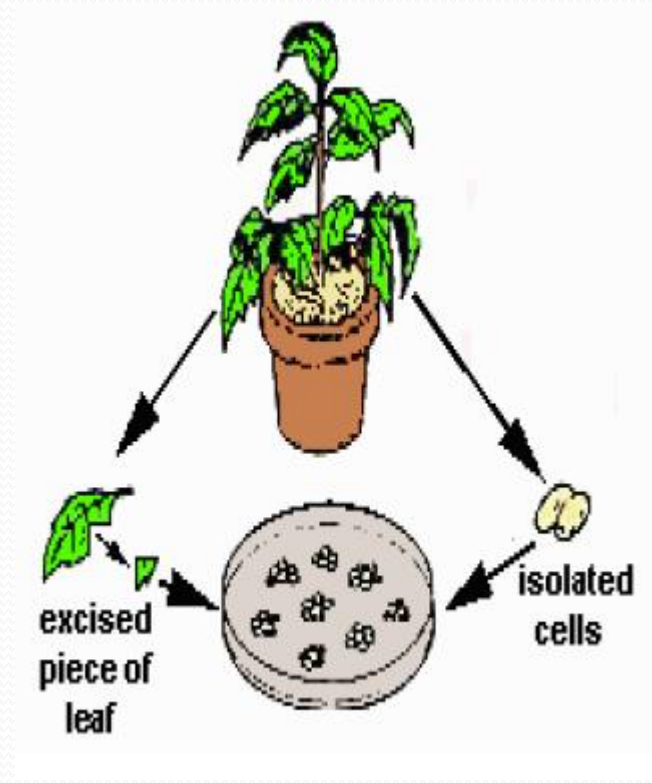
- Somatik embriyo elde etmek için somatik doku hücreleri öncelikle yüksek oranda oksin (genellikle 2,4-D) içeren ortamda kültüre alınır.
- Daha sonra da oksin içermeyen yeni ortama aktarılırsa embriyo üretme yeteneğini kazanmaktadırlar.
- Oksinlerin somatik bitki hücrelerine embriyo üretimi için yeniden zigotik bir kapasite kazandırdığı belirtilmektedir.

Somatik embriyolar oluşurken;

- Globular
 - Kalp
 - Torpido
 - Kotiledon
 - olusum safhalarını geçirirler.
-
- Somatik embriyolar organogenesis yoluyla gelişen sürgünlerden farklılık gösterirler.
 - Gövde-kök ekseninde aynı zamanda sahip olup, asıl doku ile vasküler bağlantıları olmadığından dolayı dokudan kolaylıkla ayrılabilirler.

1. Eksplant kaynağı:

- Somatik embriyogenesisin başarısında eksplant kaynağı son derece önemli olmaktadır.
- Yüksek oranda başarı için eksplantın hızlı hücre bölünmesine sahip iyi gelişen ve sağlıklı bitkilerden alınması gereklidir.



- 2. Genotip:
- Somatik embriyo oluşturma frekansı bakımından türler arasında önemli farklılıklar gözlemlendiği, aynı tür içerisindeki farklı genotip ve çeşitlerin dahi embriyo oluşturma kabiliyetleri farklı olmaktadır.
- Örneğin patatesten anter kültürü yoluyla somatik embriyo üretimi kalıtsal olup, düşük embriyogenesis kapasitesine sahip genotipler arasında yapılan melezlemeler sonucunda rejenerasyon kabiliyeti daha yüksek olan döller elde edilebilmiştir.

3. Besin ortamının içeriği:

- Besin ortamına ilave edilen büyüme düzenleyicilerinden **oksinler somatik embriyo oluşumunu en fazla etkileyen** bileşiklerdir.
- Embriyogenesis oluşumunu teşvik etmek için en fazla kullanılan oksin 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) olmasına rağmen, α -naftalenasetik asit (NAA), pikloram ve dikamba gibi oksinler de ya tek başlarına veya 2,4-D ile birlikte kullanılmaktadırlarile kullanılmaktadırlar.
- Genellikle 2,4-D besin ortamlarına 0.5-2 mg/l oranında katılmaktadır.
- Öte yandan oksinler somatik embriyogenesisi teşvik etmek için kullanılmalarına karşın, ortamda oksinin sürekli bulunması somatik embriyoların gelişimini engellemektedir.

- **Sitokininlerin** besin ortamına ilave edilmesi genellikle somatik embriyo oluşumunu engellemektedir.
- Ancak, tam bir embriyo olgunlaşması ve bitki gelişimi için içsel hormon seviyesine bağlı olarak çok düşük oranlarda sitokinin ve özellikle de BA gerekli olmaktadır.
- Bazı bitki türlerinde **gibberellik asit de** embriyoların bitkiye dönüşümünü teşvik etmektedir.
- Ortama **absisik asit (ABA) ilave edilmesinin de** anormal embriyo gelişimini engellediği belirtilmektedir.

- Murahige ve Skoog tarafından geliştirilen MS temel besin ortamı embriyogenesis çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır.
- İlave olarak , B5, SH ve N6 ortamları da birçok bitki türünde başarılı sonuçlar vermektedir.
- Yüksek oranda indirgen N formu somatik embriyo oluşumunu ve gelişimini teşvik etmektedir.
- Besin ortamına inositol ve sorbitol gibi şekerlerin katılması embriyo yapısını iyileştirirken, sakkaroz ise embriyogenesisi teşvik etmektedir.

4. Çevre Sartları:

- Isık kaynağı, yoğunluğu ve süresi ile sıcaklık somatik embriyo olusumunda önemli rol oynamaktadır.
- Kallus olusumu için eksplantlar önce karanlıkta veya 500- 1000 lüks ısıık altında 16 saatlik fotoperiyotta kültüre alınırlar daha sonra embriyo olgunlaşması ve bitkicik gelişimi için 5000-10000 lüks ısıık şiddetine tabi tutulurlar.
- Bitki türüne bağılı olmakla beraber en yüksek oranda embriyo gelişimi 24-26 oC de gerçekleşmektedir.

Somatik embriyo rejenerasyonu

- Kültüre alınan eksplantlardan hızlı bölünen embriyonik hücreleri elde etmek için öncelikle yüksek konsantrasyonlarda oksine ihtiyaç duyulmaktadır.
- Oksin içeren besin ortamlarında embriyo olusumu tesvik edildikten sonra kültürler oksin içermeyen ortama aktarılmalıdır. Bu safhadan sonra ortama oksin ilave edilmesi embriyo gelismisini engellemektedir.

- Bitki türü , kullanılan eksplant ve besin ortamının içeriğine bağlı olarak embriyogenesis DİREKT ve İNDİREKT olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir.

Direk emriyogenesis

- Bu yöntemde somatik embriyolar ara bir kallus safhası olmadan eksplant doku üzerinde bulunan tek bir hücre veya hücre gruplarından gelişirler.
- Direkt embriyogenesis için en fazla kullanılan eksplant olgunlaşmamış somatik embriyolardır.
- Bu eksplantlarda uygun bir fizyolojik gelişme safhasında olmalıdırlar. Genellikle tozlanmadan 14- 15 gün sonra izole edilen zigotik embriyolar üzerinde en yüksek oranda somatik embriyo oluşumu gözlenmektedir.

Olgunlaşmamış zigotik veya embriyolardan direkt embriyogenesis

- Çiçeklenmeden 10-21 gün sonra 2-6 mm büyüklükteki olgunlaşmamış tohumları taşıyan baklalar hasat edilir.
- Sterilizasyon gerçekleştirilir.
- Olgunlaşmamış kotiledonlar düz yüzeyleri yukarı gelecek şekilde embriyo tesvik ortamlarına yerleştirilir.
- Kültür başlangıcından 4-6 hafta sonra kotiledonlar üzerinde oluşan somatik embriyolar ve dokular kesilerek embriyo gelişme ortamına aktarılır.
- Embriyo gelişme ortamında 4 hafta gelisen ve 5 mm den büyük olan embriyolar çimlenme ve gelişme için MS ortamına aktarılarak bitkicikler elde edilir.

İndirek embriyogenesis

- İndirekt embriyogenesiste eksplant yüksek oksin içeren besin ortamında kültüre alındığı zaman önce embriyonik kallus oluşumu daha sonra da bu kallus üzerinde pro-embriyoların olduğu gözlenir.
- Bu kallus oksin içermeyen besin ortamına aktarıldığı zaman da pro-embriyolardan bipolar (kök ve sürgün ucu meristemleri aynı anda oluşan sürgün eksenli) embriyolar oluşur ve şartlar uygun ise bu embriyolardan bitkicikler elde edilir.
- Oksin içeren katı besin ortamında gelişen embriyonik kalluslar küçük parçalara ayrılarak yine oksin içeren sıvı besin ortamlarına alınarak süspansiyon kültürleri oluşturulabilir.
- Süspansiyon kültürlerinde önce hücreler kallus parçasından ayrılır daha sonra da tekrar hızlı bölünerek kallus yumaklarını oluştururlar.
- Bu kallus yumakları oksin içermeyen besin ortamına aktarıldığında ise somatik embriyolar gelişir.

- İndirekt embriyogenesise; olgunlaşmamış mısır zigotik embriyolarından ve havuç hipokotillerinden somatik embriyo üretimi örnek olarak verilebilir.



Somatik embriyogenesi kullanım alanları

- KLONAL ÇOĞALTIM:
- Somatik embriyogenesis birçok bitki türünün, özellikle de orman ağaçlarının hızlı klonal çoğaltılmasında önemli bir potansiyele sahiptir.
- Teorik olarak tek bir eksplant sınırsız sayıda embriyo üretebilir.
- Hücre süspansiyon kültürlerinden sınırsız sayıda embriyo üretilebilmesi araştırmacıları ticari amaçla kullanılabilecek mekanik ve otomatik kültür sistemlerinin geliştirilmesine yöneltmiştir.
- Böyle bir sistemle çok az bir işçilikle çok sayıda embriyo üretimi sağlanarak, tohumla üretimle rekabet etme amaçlanmıştır.

- SENTETİK TOHUM ÜRETİMİ:
- Somatik embriyogenesis sonucunda oluşan ürün bir embriyo olup, tohum içerisinde bulunan embriyonun bir benzeridir.
- Daha da önemlisi somatik embriyolar tam bir bitki oluşturma programına da sahiptirler.
- Bu yüzden somatik embriyolar kaplanmış tohum olarak kullanılabilme potansiyeline sahiptirler.
- Somatik embriyoların sentetik tohum olarak kullanımı büyük bir ekonomik öneme sahip olabilir.

- Somatik embriyoların sentetik tohum olarak hızlı klonal çoğaltımda kullanılabilmesi için su tekniklerin geliştirilmesi gerekmektedir:
- 1. Bitkiye dönüştürme kabiliyeti yüksek olan embriyoların üretilmesi
- 2. İstenen miktarda embriyo üretimi sağlayacak kültür sisteminin geliştirilmesi
- 3. Kültür sistemi ile kaplama işleminin entegrasyonu

- GEN AKTARIMI:

- Somatik embriyogenesisin belki de en önemli kullanım alanı bitkilere gen aktarımındadır. Bitkilere gen aktarımında değişik yöntemler geliştirilmiş olmakla birlikte, en yaygın olarak kullanılanı bitkilerin doğal genetik mühendisi olarak adlandırılan *Agrobacterium tumefaciens* bakterisidir.

- Kullanılan tüm gen aktarım tekniklerinde, istenilen gen veya genleri taşıyan bir DNA parçasının bitki hücrelerinin kromozomlarına kalıcı olarak yerleştirilmesi ve bu bitki hücrelerinden embriyogenesis veya organogenesis aracılığıyla yeni bitkilerin elde edilmesi gerekmektedir.

