

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STRİGOLAKTONLARIN KAPARI (*Capparis spinosa* L.) BİTKİSİ
KALLUS KÜLTÜRÜ VE FENOLİK MADDE ÜRETİMİ ÜZERİNE
ETKİSİ**

Hafsatu ISSAH

**Danışman
Doç. Dr. Rağbet Ezgi DURAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2021**



© 2021 [Hafsatu ISSAH]

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	4
2.1. Capparis spinosa Bitkisinin Tarihçesi ve Yayılışı	4
2.2. Kapari Bitkisinin Botanik Özellikleri.....	4
2.3. Kaparinin İçerdiği Sekonder Metabolitler Ve Kullanım Alanları	6
2.4. In vitro Sekonder Metabolit Üretimi ve Önemi	9
2.5. Kallus Kültürü Nedir?	11
2.5.1. Kallus kültürünün önemi	12
2.6. Kapari Bitkisinin in vitro Kültür ile İlgili Çalışmalar	12
2.7. Strigolakton Hakkında Bilgi ve Çalışmalar	13
2.8. In vitro Kültürde Elisitör ve Prekürsörlerin Sekonder Metabolit Üretiminde Etkisi	16
3. MATERYAL VE METOT	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Bitki materyali.....	19
3.1.2. Dönör bitkilerin yetiştirilmesi	19
3.2. Metot.....	20
3.2.1. Kültür ortamının hazırlanması	20
3.2.2. Eksplant sterilizasyonu	22
3.2.3. Yaprak ayası eksplantlarının kültüre alınması.....	23
3.2.4. Kallusların alt kültüre alınması	25
3.3. İstatistiksel Analiz	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	27
4.1. Farklı GR24 Uygulamalarının Kapari Kallus Oluşumuna Etkisi.....	27
4.2. Farklı GR24 Uygulamalarının Kapari Kallus Taze Ağırlığına Etkisi	28
4.3. GR24'ün Kapari Kallus Kültüründe Toplam Fenolik Madde Üzerine Etkisi.....	29
4.4. GR24'ün Kapari Kallus Kültüründe α -Tokoferol Miktarı Üzerine Etkisi ...	31
4.5. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Klorojenik Asit Miktarı Üzerine Etkisi	31
4.6. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Kafeik Asit Miktarı Üzerine Etkisi	32
4.7. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Rutin Miktarı Üzerine Etkisi.....	32
4.8. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Kuersetin Miktarı Üzerine Etkisi	33
4.9. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Kamferol Miktarı Üzerine Etkisi.....	34
4.10. GR24'ün Kapari Kallus Kültüründe Toplam Aromatik Madde Üzerine Etkisi.....	35
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	38
KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ.....	61

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

STRİGOLAKTONLARIN KAPARI (*Capparis spinosa* L.) BİTKİSİ KALLUS KÜLTÜRÜ VE FENOLİK MADDE ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Hafsatı ISSAH

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr.Rağbet Ezgi DURAN

Kapari Türkiye'nin pek çok yerinde kendiliğinden yetişen ve aynı zamanda tomurcuk ve meyveleri besin maddesi olarak kullanılan bir bitkidir. Yüksek miktarda flavonoid içeren bitkilerden biri olması sebebiyle gıda, boya, ilaç, kozmetik sektörlerinde bolca kullanılmaktadır.

Bu çalışmada çeşitli konsantrasyonlarda kullanılan strigalaktonların kapari (*Capparis spinosa* L.) bitkisinin *in vitro* kültürdeki başarısı üzerine etkisini değerlendirmek amaçlanmıştır. Bir diğer amacımız ise oluşan kallusları rutin ve kuersetin biyosentezinde etkin bir ara madde olan L-ramnoz içeren besin ortamlarında büyütmek suretiyle bu yapılarda rutin, kuersetin ve diğer fenolik madde miktarlarını her hormon uygulaması için ayrı ayrı belirlemektir.

Kapari fideleri 3:1 oranda torf:kum içeren saksılarda 16 saat/gündüz 8 saat/gece fotoperiyodu düzeninde, $135 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR (fotosentetik aktif radyasyon) ışık yoğunluğu, 18-20 °C sıcaklık ve % 51-54 nem oranı koşulları altında bitki büyüme kabininde yetiştirilmiştir.

Kallus oluşumu için ortalama 1-1.5 ay büyütülen fidelerin genç yapraklarından 1-1.5 cm çapında alınan parçalar eksplant olarak kullanılmıştır. Alınan eksplantlar belirli miktarlarda strigalakton (GR24) (0, 0,1, 0,2 μM), diğer bitki büyüme regülatörleri (NAA ve BAP) ve 30 g/l sükroz içeren ve pH'ı 5.8 olan MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. İnkübasyon 25 ± 1 °C sıcaklık koşullarında gerçekleştirilmiştir. Ortalama 20 günde bir kallusların alt kültürü yapılmış ve son aşamada 2 NAA + 1BAP ve 30 g % 99'luk L-ramnoz şekeri içeren ortamlarda 10 gün büyütülmüştür.

Kültürden ortalama 45 gün sonra oluşum oranı ve taze ağırlıkları belirlendikten sonra kalluslar eppendorf tüperine alınarak fenolik bileşiklerin miktarının belirlenmesi amacı ile -18 °C'de saklanmıştır.

Araştırmamızda toplamda 393 kapari genç yaprak eksplantı dört farklı kültür ortamına alınmış, eksplantlardan 185 kallus elde edilmiştir (% 47.07). En yüksek kallus oluşum oranının 2 mg/L NAA +1 mg/L BAP + 0,1 μM GR24 (% 60.3), en düşük oranın ise 0,2 μM GR24 uygulamasında (% 22.7) olduğu bulunmuştur

($p < 0.01$). Kontrol grubu 2 mg/L NAA + 1 mg/L BAP + 0,1µM GR24'ten sonra en yüksek değeri (% 58.6) vermiş ve bunu 2mg/L NAA + 1mg/L BAP + 0,2µM GR24 uygulaması izlemiştir.

Kallus taze ağırlıkları kallus oluşum oranıyla doğru orantılı olarak artmıştır. Aynı şekilde kalluslaşmada olduğu gibi, en yüksek taze ağırlık 2 mg/L NAA + 1 mg/L BAP + 0,1µM GR24'luk uygulamasında 120,8 mg ve en düşük tek 0,2 GR24 uygulamasında 47,8 mg olarak bulunmuştur ($p < 0.01$). Kapari kalluslarında 6 tane fenolik madde analiz edilmiş bunlardan 5 fenolik ve 66 aromatik madde tespit edilmiştir. Hormon uygulamaları kapari kalluslarındaki α - tokoferol, klorojenik asit, kaffeik asit, rutin ve kuersetin fenoliklerinin miktarını çeşitli oranlarda etkilemiştir.

Anahtar Kelimeler: Kapari, *Capparis spinosa*, kallus, strigolakton, fenolik maddeler

2021, 61 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

THE EFFECTS OF STRIGOLACTONES ON CALLUS CULTURE AND PHENOLIC COMPOUND PRODUCTION OF CAPER (*Capparis spinosa* L.)

Hafsatu ISSAH

**Suleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Science
Department of Biology**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Rağbet Ezgi DURAN

Capers, grows spontaneously in many places in Turkey and at the same time its buds and fruits are used as food. As one of the most flavonoid-containing plant, it is used abundantly in food, dye, pharmaceutical and cosmetic sectors.

In this study, it was aimed to evaluate the effects of strigolactones used in various concentrations on the success of cappers(*Capparis spinosa*) in *in vitro* culture. In addition, it is aimed to determine the amount of rutin, quercetin and other phenolic substances in these structures separately for each hormone application by growing the formed calli in nutrient media containing various concentrations of L-rhamnose, which is an effective intermediate in rutin and quercetin biosynthesis.

Capers seedlings were grown under the following condition; a ratio of 3: 1 peat: sand, 16 hours / day 8 hours / night photoperiod, 135 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR (photosynthetic active radiation), 18-20 °C temperature and 51-54 % humidity in plant growth cabinet.

The young leaves of seedlings grown on average 1-1.5 months were cut into 1-1.5 cm in diameter and used as explants. Explants taken were cultured in MS nutrient media containing certain amounts of strigolactone (GR24) and other plant growth regulators (NAA and BAP), 30 g/l sucrose and pH 5.8. Incubation will be carried out at 25 ± 1 °C temperature conditions. On average, every 20 days, explants were subcultured in 2NAA + 1BAP 30g (99 %) L-rhamnose sugar.

On average 45 days after culture, callus formation rate and fresh weight were recorded then the calli were transferred into eppendorf tubes and stored at -18 °C in order to determine the phenolic content.

In our study, a total of 393 young caper leaf explants were cultured on four different culture media and 185 calli were obtained (47.07 %). The highest callus formation rate was found in 2 mg / L NAA + 1 mg / L BAP + 0.1 μM GR24 (60.3 %) and the lowest rate was found in 0.2 μM GR24 application (22.7 %) ($p < 0.05$). The control group gave the highest calli formation rate (58.6 %) after 2 mg / L NAA

+1 mg / L BAP + 0.1 μ M GR24, followed by 2mg / L NAA +1 mg / L BAP + 0.2 μ M GR24.

The increase calli fresh weight was directly proportional to callus formation rate. Likewise, the highest fresh weight was found as 120.8 mg in the 2 mg / L NAA + 1 mg / L BAP + 0.1 μ M GR24 application and the lowest fresh weight as 47.8 mg in 0.2 GR24 application ($p < 0.01$). 6 phenolic substances were analyzed in caper calli but 5 phenolic and 66 aromatic substances were determined. Hormone applications affected the amount of α -tocopherol, chlorogenic acid, caffeic acid, rutin and quercetin phenolics in capers calli at various concentrations.

Keywords: Capars, *Capparis spinosa*, callus, strigolactone, phenolic matters.

2021, 61 pages



TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni destekleyen, yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Rağbet Ezgi DURAN'a ve lisans eğitiminde beni bitki doku kültürü ile tanıştıran hocam Doç. Dr. Yasemin COŞKUN'a teşekkürlerimi sunarım.

FYL-2019-7390 No`lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkürlerimi sunarım.

Biyoloji Bölüm hocalarıma ve Türkiye'de ailemin yerine yer alan herkese teşekkürlerimi sunarım.

Bana dostluk, arkadaşlık, kardeşlik eden ve yardıma koşan Humu HUDU ve Muslifatu TAGOE'ye teşekkür ederim.

Hayatımın her anında yanımda olup ve destek veren babam Alhaji Abubakar ISSAH'a, rahmetli annem Fatma ANNAN'a, abilerim Sherrif ve Abdul Majid ISSAH'a, ablalarım Halimah ve Sherrifatu ISSAH'a ve her zorlukta yanımda olan eşim Musah ZAKARIA'ya sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Hafsatu ISSAH
ISPARTA, 2021

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. a) Kapari çiçeği b) Kayada yetişen kapari bitkileri	5
Şekil 2.2. Yaygın olarak kullanılan fenolik asitlerin kimyasal yapıları	9
Şekil 2.3. Doğal Strigolaktonların yapısı	15
Şekil 3.1. Donör bitkilerin yetiştirilmesi a)Yapraksız fotoğraflanmış fideler b) Yaprak oluşumu sonrası fotoğraflanmış fideler.....	19
Şekil 3.2. Kültür ortamı hazırlıkları a) Ortam oluşturulması için gerekli malzemelerin ön hazırlığı b) Ortam oluşturulduktan sonra steril kabinde petrilere dökülerek katılaşmasının sağlanması.	22
Şekil 3.3. Eksplant sterilizasyonu	23
Şekil 3.4. Kültüre alınan yaprak eksplantları.....	24
Şekil 3.5. Ekim yapılan petrillerdeki kallus oluşumları a) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP b) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP + 0.1 µM GR24 c) 2mg/l NAA + 1 ml BAP + 0.2 µM GR24 d) 0.2 µM GR24	24
Şekil 3.6. Saklamak üzere kallusların tüplere alınması	25
Şekil 4.1. Alt kültüründen sonra kallus oluşumları a) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP b) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP + 0.1 µM GR24 c) 2mg/l NAA + 1 ml BAP + 0.2 µM GR24 d) 0.2 µM GR24.....	28
Şekil 4.2. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari yaprak eksplantlarından elde edilen toplam kallusların oluşum ortalamaları	28
Şekil 4.3. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari yaprak eksplantlarından elde edilen taze ağırlık ortalamaları	29
Şekil 4.4. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari yaprak kalluslarında tespit edilen toplam fenolik madde miktarları.	30
Şekil 4.5. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen α- tokoferol miktarları	31
Şekil 4.6. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen klorojenik asit miktarları	32
Şekil 4.7. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen rutin miktarları.....	33
Şekil 4.8. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen kuersetin miktarları.	34
Şekil 4.9. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen Kamferol miktarları.	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Farklı bitki organlarında rutin ve kuersetin miktarları	7
Çizelge 3.1. MS Ortamı içeriği	20
Çizelge 3.2. Kullanılan Shimadzu Marka HPLC cihazı ile ilgili özellikler	25
Çizelge 3.3. GC-MS analizinde kullanılan SPME ile ilgili özellikler	26
Çizelge 4.1. Çeşitli GR24 konsantrasyonlarının kapari kallus oluşumuna etkisi	27
Çizelge 4.2. Çeşitli GR24 konsantrasyonlarının kapari kallus taze ağırlığına etkisi	29
Çizelge 4.3. Çeşitli GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarından tespit edilen fenolik madde miktarları (µg/g).	30
Çizelge 4.4. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarından tespit edilen aromatik bileşikler (%).	36

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

2,4-D	2,4 Diklorofenoksi Asetik Asit
ABA	Absisik Asit
Atm	Atmosfer
BAP	6-Benzil Amino Purin
C	Karbon
CVD	Kardiyovaskular Hastalıklar
Cm	Santimetre
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
g	Gram
GA ₃	Giberellik Asit
GR 24	Strigolakton
HCl	Hidroklorik Asit
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IAA	İndol-3-asetik asit
IBA	İndol butirik asit
MeJA	Metil jasmonat
µM	Mikromolar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
µM	Mikromolar
MS	Murashige ve Skoog Kültür Ortamı
NAA	Naftalen Asetik Asit
NaOCl	Sodyum hipoklorit
UVC	Ultra Viyole
°C	Santigrad Derece
%	Yüzde
SA	Salisilik asit

1. GİRİŞ

Bugün tüm dünyada ilaç ve gıda sanayinde tıbbi bitkiler önemli bir doğal kaynak olarak kabul edilmekte ve bunlara olan ilgi gittikçe artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün tahminlerine göre, özellikle bazı Asya ve Afrika ülkelerinde olmak üzere dünya nüfusunun % 80'nin temel sağlık ihtiyaçları için bitkisel ilaçlara başvurduğu belirtilmiştir (Ananya ve Debprasad, 2019). Çin'de, toplam tıbbi tüketimin % 30-50'si geleneksel tıbbın müstazar/ilaçlar'dan temin edilmektedir (Locatelli vd., 2017). Almanya'daki nüfusun yaklaşık % 90'ı, belirli sağlık amaçları için doğal ilaçlar kullandıklarını bildirmiştir (WHO 2013). Ayrıca tıbbi bitkiler, antihipertansif, antiastım, antidiyabetik ve antimikrobiyal aktivitelerinden ötürü asırlardır kullanılmakta ve günümüzde bu bitkilerin bilimsel içerikleri biyoaktif fotokimyasalların tanımı ve izolasyonu ile sağlanmaktadır (Kaçar, 2008).

Bu bitkilerden biri olan Kapari (*Capparis* spp.) Capparaceae familyasından, tropik/subtropik kökenli, 350'den fazla çeşidi olan, Akdeniz ülkeleri başta olmak üzere bütün kıtalarda doğal olarak yetişebilen bir bitkidir. *C. spinosa* yaşamsal biyoaktif bileşikler içerdiğinden çok sayıda farmakolojik, etnobotanik, kozmetik öneme sahiptir ve gıda endüstrisi için önemi olan gerekli biyokimyasal maddelerin üretiminde kaynak olma potansiyeline sahiptir. *C. spinosa*'nın tıbbi amaçlarla kullanımının ilk olarak Sümerliler zamanında romatizma, anemi ve gut tedavisinde olduğu kaydedilmiştir (Sher ve Alyemeni, 2010).

C. spinosa alkaloidler (Capparispine), flavonoidler, lipitler, polifenoller, terpenler, indoller ve alifatik glukosinolatlar gibi bitkilerin çeşitli kısımlarında bulunan çok sayıda kimyasal bileşenler (Wang vd., 2007; Arena vd., 2008; Rajesh vd., 2009) içerdiklerinden, kaparinin çeşitli kısımlarının romatizma, hipertansiyon ve diyabet gibi farklı problemlerin iyileştirilmesinde kullanıldığı birçok çalışmada belirtilmiştir.

Sher ve Alyemeni (2010), *C. spinosa*'nın güvenli bir bitki olduğunu ve bilimsel literatürde toksik etkisini gösteren herhangi bir çalışmanın olmadığını rapor etmişlerdir.

C. spinosa'nın yaygın çoğaltım metotları ile üretilmesi kolay olmamaktadır. Örneğin, kaparinin tohumla çoğaltımı tercih edilmemektedir. Çünkü çimlenme, tohum dormansisi ve ayrıca tohumların yüksek derecede heterozigotik özellikte olması nedeniyle çimlenme oranı düşük olmaktadır (Musallam vd., 2011). Bununla beraber, vegetatif kesimle kapari çoğaltımı köklenme problemi sebebiyle düşük derecede başarılı olmaktadır (Al-Safadi ve Elias, 2011; Musallam vd., 2011). Sürgünlerin kabul edilebilir bir tutma oranına sahip olduğu ekim alanlarında bile, köklenme oranının nadiren % 50'yi aştığı bilinmektedir. Çimlenme aşamasında oluşan olumsuz ekolojik koşullar ve tohumun yapısından kaynaklanan olumsuzluklar sebebiyle oluşan tohum dormansisi ve bunu ortadan kaldırma yolları ile ilgili için pek çok çalışma yapılmıştır (Sozzi ve Chiesa, 1995; Germanà ve Chiancone, 2008; Bahrani vd., 2008).

Kaparinin çoğaltım problemlerinin üstesinden gelinmesinde ve ayrıca doğal kaynakları tehdit etmeksizin seri üretimin artırılmasında *in vitro* kültür tekniklerinin kullanımı oldukça iyi bir çözüm yolu olarak görülmektedir. Bu büyüme regülatörlerinden BAP ve NAA'nın kallus oluşumu üzerindeki etkisini gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Bununla birlikte strigolaktonların bitki büyüme ve gelişimini özellikle oksin ve sitokinin gibi diğer bitki hormonları ile birlikte düzenlediği bilinmesine rağmen (Wang vd., 2007; Koltai, 2015), bu hormonun *in vitro* başarı üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışma sayısı çok azdır (Wu vd., 2017). Bu sebeplerle, *C. spinosa*'da strigolaktonların, oksin ve sitokinin hormonları ile birlikte kallus oluşumu üzerine olan etkisinin belirlenmesi oldukça önemlidir.

Bu çalışmada kapari yaprakları eksplant olarak kullanılarak kallus üretimi, çeşitli konsantrasyonlarda BAP ve NAA ile birlikte kullanılacak olan ve sentetik bir strigolakton olan GR24'ün kallus oluşumuna etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bunun yanında oluşan kallusları, rutin ve kuersetin

biyosentezinde etkin bir ara madde olan L-ramnoz içeren besin ortamlarında büyütmek suretiyle bu yapılarda rutin, kuersetin ve diğer fenolik madde miktarlarını belirlemek bir diğer amacımızı oluşturmaktadır.



2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. *Capparis spinosa* Bitkisinin Tarihçesi ve Yayılışı

C. spinosa, çok fazla çeşitliliğe sahip olan Capparidaceae familyasındaki en önemli ekonomik türlerden biridir (Sher ve Alyemeni, 2010). Capparis cinsine ait 200'den fazla türe bulunmaktadır (Çalış vd., 2002). Capparidaceae'nin glikozinolatlar ve flavonoidler açısından zengin Brassicaceae (Cruciferae) familyası ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Hall vd., 2002). Bitki Akdeniz havzasına özgüdür ve Morroco'dan, Madagaskar, Ermenistan, İran'a yaygın bir şekilde dağılmıştır (Ramezani-Gask vd., 2008). Yunanistan, İtalya, İspanya ve Türkiye gibi birçok ülke *C. spinosa*'yı yaygın olarak üretmektedir. (Inocencio vd., 2000).

Capparis çeşitleri Türkiye'de Denizli, Çorum, Konya, Mersin, Burdur, Gaziantep ve İzmir gibi birçok ilde doğal olarak yetişmektedir (Yemiş, 2008).

Tonçer ve Akın (2000), Güney Doğu Anadolu Bölgesin kapari yetiştiriciliğinin yöre halkına sağlayacağı ekonomik getiri ve yaratacağı istihdam olanaklarının yanı sıra baraj havzalarında ağaçlandırmanın ikamesi olarak kullanılması durumunda sağlayacağı çevresel ve ekonomik faydaları olduğunu, kapari ihracatındaki sorunlarımızın başında dış pazarın talebini karşılayacak derecede arzı sağlayamamamızın geldiğini, ikinci büyük sorunumuzun ise, kaparinin doğadaki yabani bitkilerden rastgele toplanması nedeniyle standart dışı, ürün elde edilmesi olduğunu belirtmektedirler.

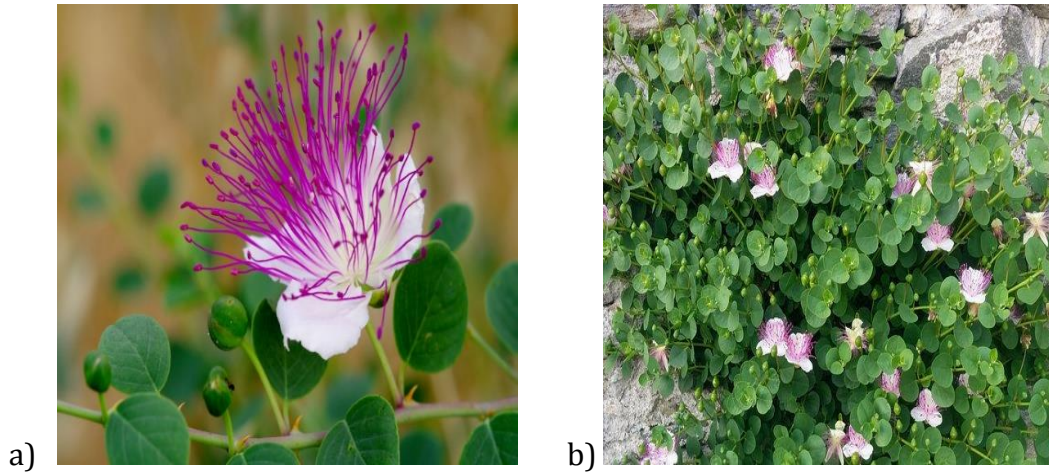
2.2. Kapari Bitkisinin Botanik Özellikleri

Kapari, Capparaceae familyasından dikenli bir bitki olarak tanımlanır. Çok yıllık, çalimsı bir bitkidir ve dünyada 250 tür (Musallam vd., 2012), Türkiye florasında ise iki tür (*Capparis spinosa* L. ve *Capparis ovata* Desf.) ve toplam beş farklı çeşidi (*C. spinosa* L. var *spinosa*, *C. spinosa* L. var *inermis*, *C. ovata* Desf. var. *herbacea*, *C. ovata* Desf. var. *canescens*, *C. ovata* Desf. var. *palaestina*) tespit edilebilmiştir (Davis, 1982).

Kapari (*Capparis spinosa* L.), zorlu ortamlara dikkat çekici bir şekilde uyumlanabilen kserofitik bir çalıdır. Bu bitki türü, tıbbi / farmakolojik, ekonomik ve tarımsal önemi taşıdığı için büyük ilgi çekmektedir. Türkiye'nin farklı bölgelerinde “kebere, keper, gebere, geber otu, kedi tırnağı, menginik, karga kavunu, hint hıyarı” gibi isimlerle de bilinir.

C. spinosa, 1 m yüksekliğe kadar büyüeyebilen ve geniş kök sistemlerine sahip dikotiledon yıllık bir çalıdır (Barbera vd., 1984). Yuvarlak, etli yaprakları (Şekil 2.1.b Anonim 2014) büyük beyaz ile pembemsi beyaz çiçekleri (Watson ve Dallwitz, 1992) ve yeşilimsi olgunlaşınca içi kırmızı olan meyveleri vardır (Şekil 2.1)

Aromatik bir bitki olan *C. spinosa* genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yetiştirilir ve en yaygın yayılımı vejetatif propagasyondur (Ramezani-Gask vd., 2008). İyi drene edilmiş veya zayıf topraklarda kuru sıcak koşullar altında gelişebilir. Ayrıca tuza toleranslı ve kuraklığa karşı dirençlidir. *C. spinosa* çok duyarlı olmamakla birlikte genellikle düşük alkaliniteye sahip kumlu tınlı topraklarda yetişir (Özdemir ve Öztürk, 1996). Derin, geniş kök sistemlerine sahip olduğu ve zorlu ortamlarda yetiştirilebildiği için, arazi bozulmasının ve toprak erozyonu kontrolünün önlenmesi için önerilmiştir.



Şekil 2.1. a) Kapari çiçeği (Cecebi, 2009) b) Kayada yetişen kapari bitkileri (Anonim, 2014)

2.3. Kaparinin İçerdiği Sekonder Metabolitler Ve Kullanım Alanları

Kapari bitkisi, flavonoid bileşikleri rutin (rutosit) ve kuersetin bakımından zengin bitki kaynaklarından biridir. Ayrıca bu bitkinin farklı organları fitosteroller, tokoferoller, karotenoidler, flavonoidler ve glukozinolatlar içerir (Germano vd., 2002; Matthaus ve Özcan (2005); Tlili vd., 2009).

Rodrigo vd. (1992), yaş *C. spinosa*'nın rutin, kaempferol-3-glukozit, kaempferol-3 rutinosid ve kaempferol-3-rhamnurutinosid içerdığını ve rutin miktarının diğerlerinden daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Afsharypuor vd. (1998), *C. spinosa*'nın yaprak ve olgun meyvelerinin metil, izopropil ve set-butil izotiyosiyanatlar olan glukozinolat içerdığını bildirmiştir. Glukozinolatlar, hastalıkların önlenmesinde ve karsinogenez riskinin azaltılmasında rol oynayabilecekleri için farmakolojik ilgi gösteren ikincil bitki metabolitlerdir.

1972 Ahmed vd. Mısır'da yetişen en yaygın bazı Capparis türlerinin genel analizi, lipitleri ve flavonoidlerini araştırmışlardır. *C. ovata* var. palaestina, *C. spinosa* var. aegyptia ve *C. spinosa* var. deserti'yi glukozinolatların varlığı açısından araştırmış ve glukoberin, glukokaparin, sinigrin, glukokleomin, glukobrasisin ve glukokapangulin gibi glukozinolatları izole etmişlerdir. Fitokimyasal taramadan elde edilen sonuçlar, karbonhidrat, katekol tanen, flavonoid, saponin, doymamış sterol, alkaloid ve kumarin gibi bazı bileşenlerin çalışılan tüm türlerde değişmez bir şekilde mevcut olduğunu göstermiştir. Ayrıca, *C. cartilaginea* ve *C. deserti*'den dört flavonoid izole edilmiş ve kaempferol-3-O-rutinosit, kuersetin-3-O-rutinosit, kuersetin-7-O-rutinosit ve kuersetin-3-glucoside-7-O-ramnosit olarak tanımlanmıştır.

Hamed vd. (2007), Mısır'da yetişen *C. cartilaginea* ve *C. Deserti*'nin izotiyosinat ve rutin içeriği ile antioksidan aktivitesini TLC-dansitometri analizi ile belirlemişlerdir. *C. cartilaginea* daha yüksek antioksidan aktiviteye sahipken, *C. cartilaginea*'nın rutin içeriği'nin *C. deserti*'den çok daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir.

Moghaddasian vd. (2012), tarafından yapılan bir çalışmada, *C. spinosa* yapraklarının diğer türlere göre daha yüksek flavonoid seviyesine (rutin ve kuersetin) sahip olduğu saptanmıştır.

Argentieri vd. (2012), daha az çalışılmış bir kapari türü olan *C. spinosa* subsp. *rupestris* (syn. *C. orientalis*)'in biyoaktif fitokimyasal içeriklerini araştırmış ve bu türün kimyasal profilini daha önce çalışılan *Capparis* sp. türleri ile karşılaştırmıştır. Hem tohumların yağ ve glukosinolat kimyasal kompozisyonunu hem de bitkilerin üst aksamının flavonoid ve glukosinat içeriklerini rapor etmişlerdir.

C. spinosa subsp. *rupestris*'in analizinden elde edilen bütün fitokimyasal veriler bu türün *C. spinosa* subsp. *spinosa*'dan farklı olmasa da çok zengin bir biyoaktif bileşen kaynağının bulunduğunu göstermiştir.

Musallam vd. (2012), *C. spinosa*'nın 24 farklı popülasyonununun çeşitli bitki kısımlarında ki kantitatif rutin içeriğini HPLC metodu ile belirlemişlerdir. Çalışılan *C. spinosa* popülasyonlarının rutin içeriğinin bitki kısımları ve toplandıkları lokalitelere bağlı olarak değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir. Rutin içeriği yapraklarda %2.76, çiçek tomurcuklarında %1.80 ve meyvelerde %0.28 civarında bulunmuştur. Elde edilen veriler hem ıslah işlemleri için bitki genetik kaynaklarının değerini hem de kültivasyon ve ıslah işlemlerinde yabancı bitkilerin tanımlanmasından önce kimyasal çeşitliliğin bulunmasının önemini göstermektedir.

Çizelge 2.1. Farklı bitki organlarında rutin ve kuersetin miktarları (Behnaz vd., 2013)

Bitki kısmı	Rutin içeriği mg/g	Kuersetin içeriği mg/g
Kök	1.02	6.3
Gövde	1.95	8.82
Yaprak	25.82	10.4
Çiçek	11.7	9.4

Behnaz vd. (2013), *C. spinosa*'nın farklı kısımlarında rutin ve kuersetin içeriğinin simultane tayinini HPLC metodu ile gerçekleştirmişlerdir. Bitki

materyali İran'dan toplanmış ve bitkiler kök, gövde, yaprak ve çiçek tomurcukları olmak üzere ayrı ayrı kurutularak toplam rutin ve kuersetin içerikleri belirlenmiştir. En yüksek rutin (25.82 mg/g) ve kuersetin (10.4 mg/g) bu çalışmada da kapari yapraklarında bulunmuştur.

Flavonoidler hidroksillenmiş fenolik bileşiklerdir (Tlili vd., 2010) ve flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonoidler ve diğerleri olarak birkaç sınıfa ayrılabilir (Nijvelt vd., 2001). *C. spinosa*'nın flavonoidler açısından zengin olduğu için birçok çalışmaya konu olmuştur (Rivera vd., 2003; Tlili vd., 2011; Musallam vd., 2012; Gull vd., 2015; Nabavi vd., 2016).

Hussain vd. (2017), tarafından yapılan bir çalışmada, flavonoidler ve bunların glikozidlerinin, bitkiler aleminde en yaygın bulunan sekonder metabolitler olduğu belirtilmiştir. Rutin ve kuersetin en önemli flavonoidler olarak kabul edilmektedir.

Capparis spinosa yapraklarından (100g) ekstraksiyon için Soxhlet yöntemi ve etanol çözücü olarak kullanıldığında, 2.728 g rutin, 8.754 g kuersetin ve 0.543 g gallik asit elde edilmiş ve yaprakların antidiyabetik aktif bileşen açısından zengin olduğunu göstermiştir.

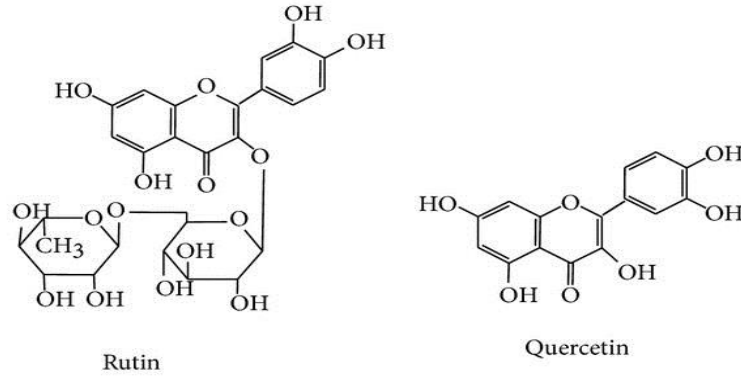
Flavonoidler hidroksillenmiş fenolik bileşiklerdir (Tlili vd., 2010) ve flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonoidler ve diğerleri olarak birkaç sınıfa ayrılabilir (Nijvelt vd., 2001).

C. spinosa flavonoidler açısından zengin olduğu için birçok çalışmaya konu olmuştur (Rivera vd., 2003; Tlili vd., 2011a; Musallam vd., 2012; Gull vd., 2015; Nabavi vd., 2016). Rutin ve kuersertin gibi flavonoidler de *C. spinosa*'da saptanmıştır (Tilli vd., 2010) (Şekil 2.2)

Rutin, yüksek radikal süpürücü ve antioksidan özellikleri nedeniyle kılcal damarları güçlendirir ve kan damarlarında trombosit yığının oluşumunu engeller (Korkmaz ve Kolankaya, 2009). Ek olarak rutin, kardiyovaskular hastalık (CVD)

risk biyobelirteçlerini iyileştirmekle ilişkili düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol seviyesini azaltır (Milde vd., 2004).

Kuersetinin, antihipertansif (Ali vd., 2007) ve anti-trombosit agregasyon özellikleri vardır ve CVD riski düşük kuersetin ile bağlantılıdır (Gupta vd., 2016).



Şekil 2.2. Yaygın olarak kullanılan fenolik asitlerin kimyasal yapıları (Zhao vd., 2014)

2.4. In vitro Sekonder Metabolit Üretimi ve Önemi

İnsan nüfusunun artmasıyla doğadan alınan kaynaklar hızla tükenmeye başlamış ve temel ihtiyaçların karşılanması için kısa sürede alternatif ve daha verimli üretim yöntemleri geliştirilmiştir. Bu üretim yöntemlerinden bir tanesi bitki biyoteknolojisidir. Bitki biyoteknolojisi bitkilerin verim ve kalitesini arttırmak, bitki verimliliğini sınırlandıran hastalık, zararlı ve stres faktörlerini engellemek, azaltmak veya ortadan kaldırmak için moleküler, hücre ve doku kültürü temelli teknolojilerin kullanıldığı bir alandır.

Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda yapay bir besin ortamında (*in vitro*), hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları = eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesidir (Babaoğlu vd., 2001). Bitki doku kültürlerinin esası 'totipotensi' kavramına dayanmaktadır.

Bitki doku kültürü, ilgili metabolitin çevresel faktörlerden bağımsız olarak kontrollü şartlarda üretilmesi, kültür şartlarının sekonder metabolit

üretimini artıracak şekilde optimize edilebilmesi, arz talep dengeleri göz önünde bulundurularak gerektiği zaman, yeterli üretimin sağlanabilmesi ve böylece piyasanın düzenli bir şekilde kontrol edilmesi, politik baskılardan uzak daha serbest bir üretim, hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyalin elde edilmesi, herhangi bir bitkinin ister tropik ister subtropik kökenli olsun *in vitro* kültüre alınabilmesi şekilde üretilebilir (Ramachandra ve Ravishankar, 2002).

Primer metabolitler, bir bitkinin büyümesine ve gelişmesine doğrudan katılan bileşiklerdir, sekonder metabolitler ise, diğer metabolik yollarda üretilen, önemli olmasına rağmen, bitkinin işleyişi için gerekli olmayan bileşiklerdir. Bununla birlikte, sekonder bitki metabolitler uzun vadede, genellikle savunma amaçlı olarak faydalıdır ve bitkilere renk, koku gibi özellikler de kazandırır. Sekonder bitki metabolitleri, bitkinin çevre ile karmaşık bir denge kurmasına yardımcı olur ve genellikle çevre gereksinimlerine uyacak şekilde adapte eder. Biyosentetik kökenlerine dayanarak, bitki sekonder metabolitleri üç ana gruba ayrılabilir:

1. Fenolik Maddeler,
2. Terpenoidler ve
3. Azotlu Bileşikler.

Bitki fenolik bileşikleri, hidrosillenmiş aromatik halkalar ile karakterize edilen moleküler yapı bakımından çeşitlidir ve sekonder metabolitler olarak kategorize edilir (Ayaz vd., 2008). Fenolik asitler, azotlu bileşikler ve terpenler gibi farklı alt gruplara ayrılabilir.

Doku kültürlerinde bazı durumlarda oluşan kallusların metabolit içeriği ana bitkiden daha yüksek olabilmekte hatta ana bitkide bulunmayan metabolitlerin oluşumu da gözlenebilmektedir.

Coste vd. (2011) yılında *Hypericum hirsutum* ve *Hypericum maculatum*'un sürgün kültürlerinde metabolit birikiminin ana bitkiden daha yüksek oranda olduğunu tespit etmişlerdir.

Bitki biyoteknolojisinde kullanılan bir diğer yöntem olan kallus kültürü; *in vitro* çoğaltma, hücre bölünmeleri sonrasında ortaya çıkan somaklonal varyasyonlardan yararlanma, sekonder metabolitlerin elde edilmesi ve hücre kültürlerinin oluşturulması gibi amaçlarla kullanılmaktadır (William ve Maheswaran, 1986).

2.5. Kallus Kültürü Nedir?

Kallus dokusu, kontrollü deneysel koşullar altında cam şişelerde yapay besleyici ortamda aseptik olarak büyütülen izole edilmiş bitki hücreleri, dokuları veya organlarından üretilen organize olmayan proliferatif hücre kütlesi anlamına gelir.

Bir eksplanttan kallus oluşumu üç aşamada gerçekleşir:

(a) İndüksiyon aşaması:

Metabolizma uyarılır ve hücreler bölünmeye hazırlanır. Hücre boyutu değişmeden kalır.

(b) Hücre bölünmesi aşaması:

Hücreler aktif olarak bölünür ve hücre boyutu küçülür. Hücre bölünmesi esas olarak periklinaldır ve yara kambiyal hücrelerine yol açan çevreye doğru gerçekleşir.

(c) Farklılaşma: Hücrelerin farklılaşması, kök veya sürgün oluşumu ile sonuçlanmaktadır. Bu farklılaşmanın sonucu bazı hücrelerde sekonder metabolitlerin birikiminide artış meydana gelmektedir.

Kallus kültürü, genellikle *in vitro* koşullarda yüksek oksin konsantrasyonları veya oksin/ sitokinin kombinasyonunu içeren ortamda indüklenen farklılaştırılmış bitki hücrelerinin kültürüdür. Eksplantlarda aranan metabolitlerin *in vitro* kültürler oluşturmak ve bunları bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanmak ideal bir alternatiftir (Siwach ve Gill, 2014).

2.5.1. Kallus kültürünün önemi

Tüm bitki, kültür ortamındaki besin ve hormonal bileşenlerin manipülasyonu yoluyla kallus dokusundan çok sayıda yeniden üretilebilir. Bu fenomen bitki rejenerasyonu, organogenez veya morfogenez olarak bilinir.

Benzer şekilde, besin ve hormonal bileşenlerin kombinasyonu ile, embriyo kümeleri doğrudan kallus dokusunun somatik embriyo, genetik olarak değişken hücrelerinden yeniden oluşturmak, sekonder metabolitleri elde etmek için oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Tıbbi açıdan önemli bir bitkiden bir kısım doku, *in vitro* kallus kültürü ile, ikincil metabolitlerin veya ilacın tüm bitkiyi feda etmeden doğrudan kallus dokusundan çıkarılmasını sağlayabilir. Dolayısıyla bu alternatif teknik, şifalı bitkilerin doğada korunmasına yardımcı olur.

2.6. Kapari Bitkisinin *in vitro* Kültür ile İlgili Çalışmalar

Elmaghrabi vd. (2017) kapari *in vitro* kültüründe en yüksek kallus oluşumunu 1.2 mg/l 2,4-D + maltoz ile hazırlanmış Murashige ve Skoog (MS) ortamından elde etmişlerdir. 2 mg/l BAP içeren MS ortamının, kallus sürgün oluşumu ve köklenmesi için en iyi konsantrasyon olduğunu belirtilmiştir.

Khalaf ve Arafteh (2012), *C. spinosa* yapraklarını, kallus oluşumu için farklı miktarlarda 2, 4-D ile takviye edilmiş ortamlarda kültüre almış, kallus oluşumu için en başarılı ortamın 0.5 mg / l 2,4-D içeren MS ortamı olduğunu rapor etmişlerdir.

Wang vd. (2007), *C. spinosa* gövde, yaprak ve tohumlarını eksplant olarak kullandığı ve 2,4-D, 6-BA ve NAA'nın kallus indüksiyonu üzerindeki etkisini belirlediği çalışmada yaprağın kallus indüksiyonu için en iyi eksplant olduğunu ve % 37.6 oranında kallus oluşturduğunu rapor etmiştir. Kallus indüksiyonu ve alt kültür için optimum hormon kombinasyonunun, 0.5 mg / L 2,4-D + 1.0 mg / L 6-BA ve 1.0 mg / L 2,4-D + 1,5 mg / L 6-BA + 30g/l sukroz içeren MS ortamı olarak belirtmiştir.

Kumari vd. (2015) ise *C. spinosa* yaprak segmentlerinin, çeşitli BAP ve Kinetin konsantrasyonları içeren MS ortamında kallus oluşum oranlarını araştırmış ve BAP'ın kallusu oluşumunda kinetinden daha iyi sonuç verdiğini gözlemlemiştir. 0.1 mg / L NAA + 2.5 mg / L BAP ile desteklenen MS ortamında en iyi sonuç alınmıştır (% 80).

2.7. Strigolakton Hakkında Bilgi ve Çalışmalar

Strigolaktonlar (SL'ler) %80 kara bitkilerinin köklerinden sızan ve toprak arbüsküler mikorizal ile simbiyotik bir ilişki kuran küçük karotenoid türevi bileşik grubudur (Akiyama ve Hayashi, 2006).

Sinyal bileşikleri olan strigolaktonların iki ana işlevi vardır: Birincisi, bitki gelişimini kontrol etmek için endojen hormonlar olarak (Umehara vd., 2008) ve ikincisi, bitkiler ve toprak mikroorganizmaları arasındaki simbiyotik etkileşimleri teşvik etmek için kök salgılarının bileşenleri olarak görev yaparlar (Akiyama vd., 2005). Diğer bitkiler üzerinde parazitik olan bazı bitkiler, uygun bir konakçı bitkinin köklerine çok yakın olduklarında tohumlarının çimlenmesini uyarmak gibi üçüncü bir işlev geliştirmişlerdir (Cook vd., 1966). Strigolaktonların orijinal keşfine ve adlandırılmasına yol açan bu üçüncü işlevdir.

Latince cadı otu *Striga* olarak bilinir (Xie vd., 2010) ve Afrika'daki mevsimsel çiftçiler tarafından adlandırılmıştır. *Striga* türleri, çoğu üyesi diğer bitkilerde parazitik olan canavar otu familyasının (Orobanchaceae) üyeleridir. Strigolakton adının lakton kısmı kimyasal yapıyı ifade eder. Kimyada, bir lakton, aynı molekülde bir alkol grubu ve bir karboksilik asit grubunun yoğunlaşma ürünü olan bir siklik esterdir. Aslında, strigolaktonların iki lakton halkası vardır.

Doğal olarak oluşan strigolaktonlar strigol, orobanchol ve sorgolactone'dur. Nijmegen-1, GR24 gibi strigolaktonların sentetik analogları da üretilmiştir (Johnson vd., 1976; Mangnus ve Zwanenburg, 1992; Humphrey ve Beale, 2006). Tüm doğal strigolaktonlar, temel bir birim olarak trisiklik lakton (A, B ve C halkaları) ile ortak bir C19 yapısına sahiptir.

Birkaç çalışma, strigolaktonların, striga ve orobanche dahil parazitik bitkilerde tohum çimlenmesinin uyarıcıları olarak işlev gören, köklerde üretilen ve atılan sekonder metabolitler olduğunu göstermiştir (Xie vd., 2010). Parazitik bitkiler için çimlenme uyarıcıları olarak bilinirler.

Son zamanlarda, endojen SL'lerin arbüsküler mikorizal funguslar için dallanma faktörü, bitki morfolojisinin düzenlenmesi (tomurcuk büyümesinin ve sürgün dallanmasının inhibisyonu) ve abiyotik faktörlere cevap gibi çeşitli yeni biyolojik özellikleri keşfedilmiştir. Strigol ve orobanchol, oldukça aktif dallanma faktörleridir. Tomurcuk büyümesinin ve sürgün dallanmasının önlenmesi tipik örneklerdir (Gomez vd., 2008; Umehara vd., 2008). Uzun bir süredir, bitki hormonlarının diğer iki sınıfının, yani oksin ve sitokininlerin, sürgün dallanmasını kontrolünde tuttuğu bilinmektedir. Şimdi, SL'ler üçüncü sınıf yeni bitki hormonları olarak kabul edilmektedir.

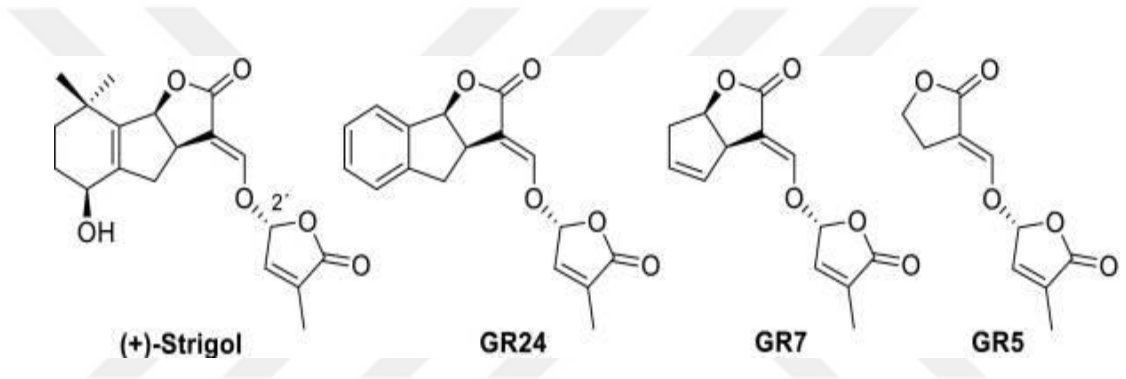
Sitokininler aksiller tomurcuk büyümesinin düzenlenmesinde (Dun vd., 2012) ve karanlıkta mezokotil uzamasının düzenlenmesinde SL'lere antagonist görev yaparlar (Hu vd., 2014).

Oksinler sadece SL biyosentezinin ana düzenleyicilerinden biri olarak gösterilmemektedir (Hayward vd., 2009; Al-Babili ve Bouwmeester, 2015), aynı zamanda antagonistler olarak da işlev görürler, çünkü SL'ler oksin taşınmasını artırabilirler (Cheng vd. 2013).

Lopez-Raez vd. (2010), abiyotik strese karşı bitki cevabının kilit düzenleyicilerinden biri olan absisik asidin SL biyosentezinde rol oynadığını, ancak öte yandan SL'lerin absisik asit biyosentezini de etkileyebileceğini göstermiştir (Al-Babili ve Bouwmeester, 2015). Fitohormonların yanı sıra fosfatın da SL biyosentezini etkilediği iyi bilinmektedir, bu da fosfat eksikliğinin SL üretimini arttırdığı anlamına gelir (Koltai 2015). GR24, sürgün dallanmasının önlenmesi (Dun vd., 2013), internod büyümesinin uyarılması (De Saint vd., 2013), yaprak yaşlanmasının hızlanması (Yamada vd., 2014), kök kıl uzamasını ve birincil köklerin büyümesini artırır (Kapulnik vd., 2011). bununla birlikte aksiller tomurcukların büyümesinin inhibisyonu (Minakuchi vd., 2010), adventif

ve yan köklerin oluşumunun inhibisyonu (Rasmussen vd. 2012, 2013), sap kalınlığının arttırılması ve ikincil büyümenin tetiklenmesi (Agusti vd., 2011) ve diğer morfolojik değişikliklerden de sorumludur. Çoklu seviyede oksin-SL etkileşimlerinin dallanma kontrolü için kritik olduğu bulunmuştur (Stirnberg vd., 2010; Koltai vd., 2015). Bu engelleyici işlemlerin moleküler düzeyde nasıl çalıştığı hala bilinmemektedir.

Doğal bir SL'nin yapısı, örneğin strigol, sistematik olarak basitleştirilmiştir. Strigolün A halkası aromatik yapılınc, mucidi Gerald Rosebery'den sonra GR24 olarak adlandırılan bir bileşiğe dönüşürken, A halkasının çıkarılması GR7'yi verir ve B halkasının uçlarının kesilmesi de GR5'i verir (Şekil 3.2).



Şekil 2.3. Doğal Strigolaktonların yapısı (Zwanenburg vd., 2016)

Kotze (2010), 2: 2 mg / L 2,4-D: kinetin (C1) ve 0.5: 0.05 mg / L 2,4-D: kinetin (C2) 0,1µM GR24 ile desteklenen ortam olmak üzere iki farklı hormon kombinasyonunu içeren MS ortamında 5 mg ve 50 mg kallus kütleleri büyümüşlerdir. Ortalama büyüme artışı C2 hormon kombinasyonunda C1 kombinasyonuna kıyasla daha yüksek olmuştur. Bu nedenle, bu sistemde, daha önce düşük hormon konsantrasyonlarında yetiştirilen ve daha sonra GR24 ve duman suyu ile muamele edilen kallus, yüksek hormon konsantrasyonlarında yetiştirilen kallustan daha fazla biyokütle üretmiş, bu da uygulanan hormon oranının kallusun GR24'e yanıtını etkilediğini göstermektedir.

2,4-D ve GR24 ile gösterilen pozitif büyüme uyarıcı etkisi şaşırtıcı değildir, çünkü çeşitli bulgular oksinler ve strigolaktonlar arasında sinerjik bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (Brewer vd., 2009; Agusti vd., 2011; Ferguson ve Beveridge, 2009; Hayward vd., 2009).

Oksin varlığı, sitokinin olmaksızın, GR24 ile kallusta biyokütle artışı için yeterli olmasına rağmen, oksin konsantrasyonu bu maddelerin kallus büyümesi üzerindeki rollerini etkilemiştir. Kinetinin tek başına kallus büyümesi için yeterli olmadığı ve strigolaktonun büyümeyi teşvik edici etkileri olduğu ortaya çıkmıştır.

Strigolakton ve sitokininlerin sürgün dallanma kontrolü üzerinde antagonistik olarak hareket ettiği göz önünde bulundurulduğunda, bu sonuç şaşırtıcı değildir. Bu iki bileşik sınıfı da kökte değil, aynı zamanda sürgünde lokal olarak ta üretilir ve ksilem içinde akropetal olarak taşınır. Bununla birlikte, sitokinin tomurcuk büyümesini teşvik etmek için akropetal olarak hareket ederken, strigolaktonlar tomurcuk büyümesini engellemek için akropetal olarak hareket eder (Cline, 1991; Foo vd., 2005; Gomez vd., 2008; Umehara vd., 2008). Bu nedenle, gözlenen büyümedeki azalma, oksin, oksin olmadan sitokinin ve strigolaktonların varlığında bu antagonistik etkilere bağlanabilir.

Grobbelaar vd. (2014), oksin ve strigolaktonun (GR24 ve Nijmegen-1 (0.1µM) *S. frutescens* nodal eksplantlarının büyümesi üzerindeki etkisini incelemiştir. Strigolaktonların eksplant büyümesi üzerinde genellikle minimal bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, Nijmegen-1 ve NAA kombinasyonunun, metabolit üretimi için elverişli olduğu kanıtlanmış ve NAA'nın metabolit içeriği üzerindeki olumlu etkilerini gösterilmiştir.

2.8. In vitro Kültürde Elisitör ve Prekürsörlerin Sekonder Metabolit Üretiminde Etkisi

Hücre kültürlerinin verimliliğini artırmak için kültür şartları genellikle prekürsörler ve elisitörler kullanılarak optimize edilmektedir (Vardapetyan vd., 2006). Üretilmesi istenen bir metabolitin biyosentez mekanizması biliniyorsa ve bu metabolik yolda yer alan başlangıç maddesi ve/veya ara ürünler saptanmış ise kültürler bu maddelerle beslenerek enzimatik yollarla uyarılabilir; böylelikle hedef metabolitin üretimi artırılabilir; bu maddelere prekürsörler (öncüller) denir (Sökmen ve Gürel, 2001).

Elisitör adı verilen biyotik veya abiyotik faktörler sekonder metabolitlerin sentezini tetiklemekten sorumludur. Elisitörler mikrobiyal, fiziksel veya kimyasal stres faktörlerinin sekonder metabolizmada artışa yol açması ve bu metabolitlerin üretiminde bir strateji olarak kullanılmasıdır (Mulabagal ve Tsay, 2004).

Bitki sekonder metabolitleri çoğunlukla bitkileri çevresel stres faktörlerinden korumak için sentezlenmekte olup bitki hücre kültürlerine ozmotik şok, ağır metal iyonlarının ilave edilmesi, inorganik tuzlar, mikrobiyal homojenat veya UV radyasyonu gibi stres faktörlerinin uygulanması bazı sekonder metabolitlerin birikimini arttırmaktadır (Verpoorte vd., 2002).

Bitkilerden istenen sekonder metabolitleri elde etmek için kullanılan yöntemlerden ortam, sıcaklık, pH, ışık ve oksijen temini gibi koşulların optimizasyonudur (Misawa, 1994).

Karataş vd. (2014), siyah havuç (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) bitkisinden oluşturulan kallus kültüründe antosiyanin üretimine bazı uygulamaların etkisini incelemişlerdir. Kallusların antosiyanin üretimini artırmak için farklı konsantrasyonlarda riboflavin ile değişik sürelerde kısa dalga boylu ultraviyole radyasyonu elisitör olarak kullanmışlardır. Yapılan analizler neticesinde kalluslara uygulanan riboflavin veya UV-C'nin antosiyanin sentezini güçlü bir şekilde artırsa da hücre büyümesini önemli ölçüde yavaşlatmıştır. En yüksek antosiyanin içeriği 4 mg/l riboflavin (1,18 mg/g TA) ve 15 dakika UV-C (1,02 mg/g TA) uygulanan kalluslardan elde edilmiş ve sonuçlar kontrolle kıyaslandığında sırasıyla 2,51 ve 2,17 kat fazla olduğu belirlenmiştir.

Kapari bitkisi (*Capparis spinosa* L.) insan beslenmesinde anahtar rol oynayan iyi bir rutin kaynağıdır. Kianersi vd., (2020) farklı salisilik asit (SA) ve metil jasmonat (MeJA) konsantrasyonlarının anter kaynaklı kallusların ağırlığı ve yeni meyve verme aşamasındaki kapari yaprakların üzerindeki etkisi üzerinde çalıştı ve ayrıca kapari bitkilerindeki rutin içeriklerini değerlendirmiştir. Bu çalışmanın ilk deneyde, en yüksek rutin içerikleri, 2 haftalık tedavilerden sonra 10 µM MeJA ve 100 mg L⁻¹ SA ile muamele edilen anter türevli kalluslarda gözlenmiş, bu

kontrollerden 2.44 ve 2.22 kat daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, kapari bitkisinin 150 μ M MeJA ve 100 mg/L SA ile muamele edilmesi, ikinci deneyde yeni meyve verme aşamasında yaprakların rutin içeriğinde daha yüksek bir artışa neden olmuştur (sırasıyla 61.46 ve 9.99 mg/g DW (Kuru ağırlık)).

Capparis spinosa, 2 mg/L 2,4-dikloro-fenoksiasetik asit (2,4-D) kullanılarak kallus oluşumu başarılı bir şekilde teşvik edilmiştir. Toprak üstü eksplantlarından doğrudan organogenez, tiadiazuron (TDZ) hormonu kullanılarak büyük bir başarı göstermiştir. MS büyüme ortamda, 2 mg/L Kinetin (Kin.) ve 0.4 mg/L 1-Naftalen asetik asit (NAA) kullanımı, sırasıyla maksimum sayıda *in vitro* sürgün çoğalması ve adventif kök oluşumuyla sonuçlanmıştır. 6-benzil aminopurin (BAP) ile önceden muamele edilmiş bitkilerde metil jasmonat (200 μ M/L) ile elisitasyondan sonra, flavonoid içeriğinde yabani bitkilerde tahmin edilenden iki kat artış görülmüştür. Öte yandan, 200 μ M/L metil jasmonat, kinetin ön işlem görmüş bitkilerde flavonoid konsantrasyonunu 1.5 kat artırmıştır (Goda vd., 2017).

Baenas vd., (2016) daha önce çalışılan elisitorlar olan fitohormonlar metil jasmonat (25 μ M), jasmonik asit (150 μ M) ve salisilik asit (100 μ M), oligosakkaritler glikoz (277 mM) ve sükroz (146 mM), amino asit DL-metiyonin (5 mM) etkisinin 8 gün boyunca filizlenen *Brassica oleraceae* (brokoli), *Brassica napus* (rutabaga lahanası), *Brassica rapa* (şalgam) ve *Raphanus sativus* (Çin gül turpu ve kırmızı turp) gibi yüksek glukozinolatlar temsili türlerin üzerindeki etkisini ortaya koymuştur. Sonuçlara göre fitohormonlar metil jasmonat ve jasmonik asit ile şekerlerin, filizlerin toplam glukozinolat içeriğini, özellikle glukorafanini (MeJA ile muamele edilmiş brokoli filizlerinde 183'ten - 294 mg $\cdot$ 100 g⁻¹e), glukorafenin (MeJA ile muamele edilmiş Çin gül turpunda ve kırmızı turpta sırasıyla 33'ten 124 mg $\cdot$ 100 g⁻¹ ve 167'ten 227 mg $\cdot$ 100 g⁻¹e) ve glukobrasisin (ve MeJA ile muamele edilmiş şalgam ve rutabaga filizlerinde sırasıyla 23,4'ten 91,0 mg $\cdot$ 100 g⁻¹ 'e ve 29.6'ten 186 mg $\cdot$ 100 g⁻¹e) artırarak etkili elisitör olarak davranmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

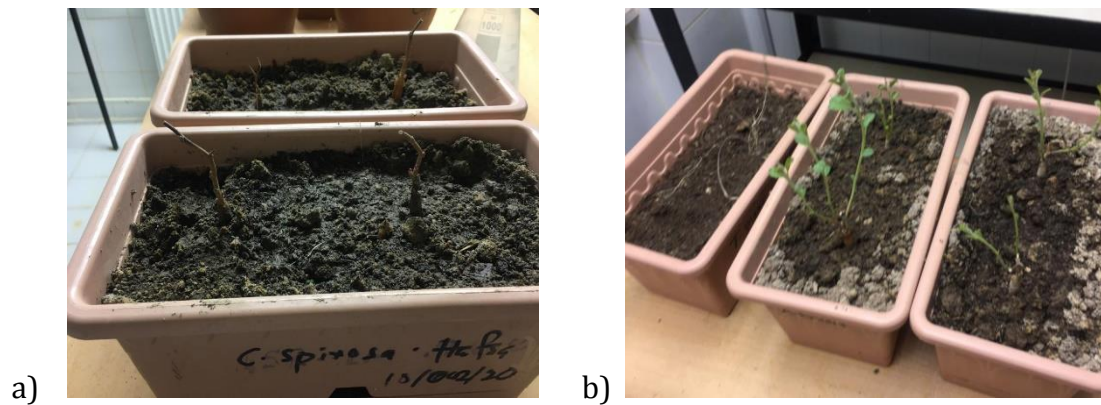
3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Araştırmada materyal olarak kapari fideleri (*Capparis spinosa* L.) kullanılmış olup, çalışma 2020-2021 yılları arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Kapari fideleri yerel fidancılardan temin edilmiştir.

3.1.2. Dönör bitkilerin yetiştirilmesi

Çalışma materyalimiz olan kapari türün özelliğine uygun olarak Nisan-Haziran ayları arasında yetiştirilmiştir. Toprak laboratuvarın hazırlık odasında, 1/3 kum-torf olacak şekilde karıştırılarak hazırlanmıştır. Fideler her bir saksıya 2 adet olacak şekilde konulmuş ve yaklaşık 10 cm derinliğe dikilmiştir. İlk dikim sonrası her bir saksıya 750 ml şebeke suyu verilmiş, saksıların tahliye kanalları özenle açık tutularak fazla suyun saksıdan dışarı çıkması sağlanmıştır. Düzenli olarak her üç günde bir olacak şekilde 300 ml su verilmiştir. Fidelerin dikiminden itibaren bitkiler, 16 saat/gündüz 8 saat/gece fotoperiyodu düzeninde, $135 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PAR ışık yoğunluğu, 23-25°C sıcaklık ve % 51-54 nem oranı (Peak Tech 3695 ile ölçülmüştür) koşulları altında ortalama 3 ay boyunca bitki büyüme kabininde yetiştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Donör bitkilerin yetiştirilmesi a)Yapraksız fotoğraflanmış fideler b) Yaprak oluşumu sonrası fotoğraflanmış fideler

3.2. Metot

3.2.1. Kùltür ortamının hazırlanması

Kùltür için Murashige ve Skoog (1962) tarafından geliştirilen MS ortamı (Çizelge 3.1) kullanılmıştır. Besiyerini hazırlamak için içerisinde 800 ml steril saf su bulunan 1 litrelik cam erlenmayer içerisine hazır MS (Sigma – M9274) ortamı konmuş ve içerisine manyetik balık atılarak manyetik karıştırıcıda içeriğin erimesi sağlanmıştır. Daha sonra 1.0 mg/ml’lik NAA (naftalen asetik asit) solüsyonundan 2.0 ml ve BAP (6-Benzil amino purin) solüsyonundan 1.0 ml alınarak ortam içeriğine eklenmiştir. Strigolakton (GR24) % 0.0001 aseton ile çözdüröltükten sonra hacim distile su ile 1000 ml olacak şekilde tamamlanmıştır. Böylece son hacimde 1.0 mg/ml’lik GR24 stok solüsyonu hazırlanmıştır. Bu solüsyondan 0.1 ml ve 0.2 ml GR24 alınarak ortam içeriğine eklenmiştir. Dört farklı uygulama için dört farklı hormon kombinasyonu içeren ortamlar hazırlanmıştır. Hacim distile su ile ortalama 1000 ml olacak şekilde tamamlandıktan sonra her ortamın pH’ı 1N NaOH, 0.1 N NaOH, 1 M HCl ve 0.1 M HCl yardımı ile 5.8’e ayarlanmıştır (Şekil 3.2.a).

Çizelge 3.1. MS Ortamı içeriği

Bileşik	Konsantrasyon (mg/l)
Makro Elementler	(MS,1962)
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
Mikro Elementler	(MS,1962)
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
H ₃ BO ₃	6.2
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA 2H ₂ O	37.3
Vitaminler	(MS,1962)
Myo-inositol	100
Pyridoxine-HCl	0.5
Nikotinik Asit	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Amino asitler	(MS,1962)
Glisin	2.0
Diğer	(MS,1962)
Ph	5.8

Erlenmayerdeki karışımın içerisine 2 g agar eklenip karışım homojen hale geldiği zaman ağzı pamuk ve alüminyum folyo ile kapatılarak otoklavda 121°C’de, 1.0 atm basınçta steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrasında ortam steril kabin içerisinde tek kullanımlık 9 cm çaplı steril petri kutularına ortalama 20’şer ml olacak şekilde (Şekil 3.2.b) dökülmüştür.

NAA, BAP ve sentetik bir strigolakton olan GR24 regülatörlerinin kallus oluşumuna etkisini değerlendirmek üzere aşağıda belirtilen miktar ve kombinasyonlarda kültür ortamları hazırlanmıştır. Daha önce kapari ile ilgi yapılan çalışmalarda NAA ve BAP oranının çeşitli kallus miktarı üzerinde önemli etkileri olduğunu belirtilmiştir (Kumari vd., 2015). Bu sebeple 2 NAA 1 BAP kontrol grubu olarak kabul edilmiştir.

1. Uygulama- NAA (2 mg/l) + BAP (1 mg/l) (Kontrol)
2. Uygulama- NAA (2 mg/l) + BAP (1 mg/l) + GR24 (0.1 µM)
3. Uygulama- NAA (2 mg/l) + BAP (1 mg/l) + GR24 (0.2 µM)
4. Uygulama- GR24 (0.2 µM)

Bu oranlar aşağıdaki formüle göre hesaplanarak eklenmiştir.

$$\mu M = \frac{M}{1000} = \frac{g}{m_a} \times \frac{1000}{v} \quad (3.1)$$

Formülde yer alan; µM, mikromoları; M,molar; g, gramı; m_a, molekül ağırlığını; v, hacmi temsil etmektedir.



a)



b)

Şekil 3.2. Kültür ortamı hazırlıkları a) Ortam oluşturulması için gerekli malzemelerin ön hazırlığı b) Ortam oluşturulduktan sonra steril kabinde petrilere dökülerek katılaşmasının sağlanması.

Çalışmanın daha sonraki aşamaları aseptik koşullarda yapılmıştır.

Besiyerleri katılaştıktan sonra etrafı parafilm ile sarılarak alüminyum folyo ile kapatılmış ve buzdolabında +4°C'de yaklaşık 4 gün kontaminasyon varlığını tespit etmek için bekletilmiştir.

3.2.2. Eksplant sterilizasyonu

Kapari bitkisinden 1,5 ile 2,5 cm arasında olan genç yapraklar tespit edilmiştir. Tespit işlemi sonrasında bu yapraklar sap kısmından kesilerek temiz bir behere alınmıştır. Behere alınan yapraklar şebeke suyu ile üzerindeki topraklardan arındırılana kadar yıkandıktan sonra yapraklar yüzey sterilizasyonu için steril kabin içerisine alınmıştır. Steril kabinde, yapraklar %70'lik etanolde 10 dakika kadar çalkalanmıştır. Yapraklar, etanolden süzüldükten sonra steril saf su ile 3-4 defa durulanarak etanolden arındırılmıştır. Yaprakların üzerine 1-2 damla Tween-20 ile birlikte %1'lik ticari çamaşır suyu sodyum hipoklorid (NaOCl) eklenerek 10 dakika süreyle çalkalanmıştır. Sonrasında steril saf su ile 3-4 defa durulanmıştır (Şekil 3.3). Ortalama 20 dakika süren yüzey sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra hazırlamış olduğumuz MS besin içeren petri kaplarına eksplantlar ekilmiş ve üzerine tarih yazılarak inkübatöre alınmıştır.

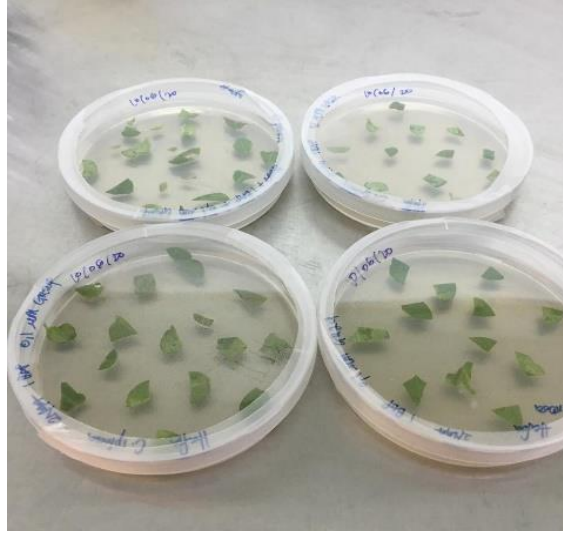


Şekil 3.3. Eksplant sterilizasyonu

3.2.3. Yaprak ayası eksplantlarının kültüre alınması

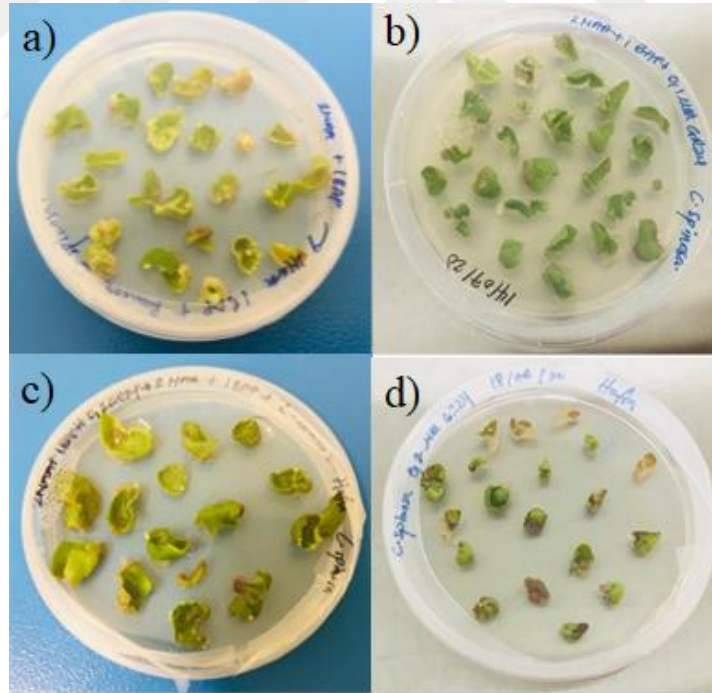
Yüzey sterilizasyonundan sonra bitki yaprak eksplantlarının önceden hazırlanan katı besiyeri ortamlarına ekimi gerçekleştirilmiştir. Eksplantın ne kontaminasyon oluşturacak kadar büyük ne de dönüşüm yeteneğini kaybedecek kadar küçük olmaması gerektiğinden steril bistüri yardımı ile kesilen 0,5 – 1 cm arası yaprak parçalarının pinset ile besiyeri ortamlarına ekimi yapılmıştır. Bir petriye ortalama 10-15 arası eksplant ekimi yapılmıştır.

Ekim işlemi sonunda petri kutularının kapakları kapatılarak, kontaminasyonu engellemek için etrafı sıkı bir şekilde parafilm bant ile kapatılmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Kültüre alınan yaprak eksplantları

Petriler bu işlemin ardından 22°C'ye ayarlanmış inkübatörde kültüre alınmıştır. Ortalama 4-5 hafta sonra kallus oluşumu gözlenmiştir (Şekil 3.5). Oluşan kalluslar 1 ay sonrasında alt kültüre alınmıştır.



Şekil 3.5. Ekim yapılan petrilerdeki kallus oluşumları a) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP b) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP + 0.1 μ M GR24 c) 2mg/l NAA + 1 ml BAP + 0.2 μ M GR24 d) 0.2 μ M GR24

3.2.4. Kallusların alt kültüre alınması

Yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların alt kültürü yine aynı içeriğe sahip MS ortamlarında yapılmıştır.

4 hafta sonra, eksplantlar 10 gün boyunca 2 mg / l NAA 1 mg / l BAP ve 30g % 99 L-ramnoz ortamında alt kültüre alınmıştır. Alt kültüre alınan kalluslar yeterli büyüklüğe ulaştığı zaman saklanmak üzere, her birinin ağırlığı tartılarak eppendorf tüplerine alınmıştır (Şekil 3.6). Eppendorf tüpleri daha sonra fenolik bileşiklerin kimyasal birikiminin incelenmesine kadar -18°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.6. Saklamak üzere kallusların tüplere alınması

Fenolik ve aromatik madde analizleri Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Fenolik madde analizi HPLC, aromatik madde analizi GC-MS cihazları ile yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Kullanılan Shimadzu Marka HPLC cihazı ile ilgili özellikler

Kullanılan Cihaz	Shimadzu HPLC Cihazı
Dedektör	DAD dedektör ($\lambda_{max}=278nm$)
Auto sampler	SIL-10AD vp
System controller	SCL-10Avp
Pump	LC-10ADvp
Degasser	DGU- 14A
Column oven	CTO-10Avp
Kolon	Agilent Eclipse XDB-C18 (250x4,60 mm) 5 mikron
Mobil faz	A: %3 asetik asit, B: Metanol
Akış Hızı	0.8 mL / dakika
Kolon sıcaklığı	30°C
Enjeksiyon hacmi	20 mikrolitre

Çizelge 3.3. GC-MS analizinde kullanılan SPME ile ilgili özellikler

Kullanılan Cihaz	Shimadzu GC 2010 PLUS GC/MS
Dedektör	250 °C
Enjeksiyon Bloğu	250 °C
Akış Hızı(ml/dakika)	1,61
Dedektör	70 Ev
İyonlaştırma Türü	EI
Kullanılan Gaz	Helyum
Kullanılan Kolon	Restek Rx-5Sil MS 30 m * 0.25 mm, 0.25 µm
Sıcaklık Programı	40°C de 2 dakika bekledikten sonra 250°C'e dakikada 4 °C'lik artışla ulaşıyor. 230°C'de 5 dakika bekliyor.
Kullanılan Kütüphaneler	Wiley, Nist, Tutor
SPME şartları	Fused silica SPME fiber CAR/PDMS 60°C de 30 dakika.
LRI değerleri	C7-C30 Alkan standardından yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.3. İstatistiksel Analiz

Denemelerde Tesadüf Parselleri Deneme Deseni kullanılmış olup, denemeler en az 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Tekrarlarda her uygulama için, kültür ortamına konulan eksplant sayıları kaydedilmiş, meydana gelen kallus miktarı her uygulama için ayrı ayrı sayılmış ve elde edilen kallus sayısının eksplant sayısına oranı ile % değer bulunmuştur. Kallus oluşum sıklığı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Kallus oluşum sıklığı (\%)} = \left[\frac{\text{Kallus sayısı}}{\text{Toplam eksplant sayısı}} \right] \times 100.$$

(3.2)

Elde edilen verilerin varyans analizi için SPSS 23.0 paket programının Oneway-ANOVA, ortalamaların karşılaştırılması için ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır.

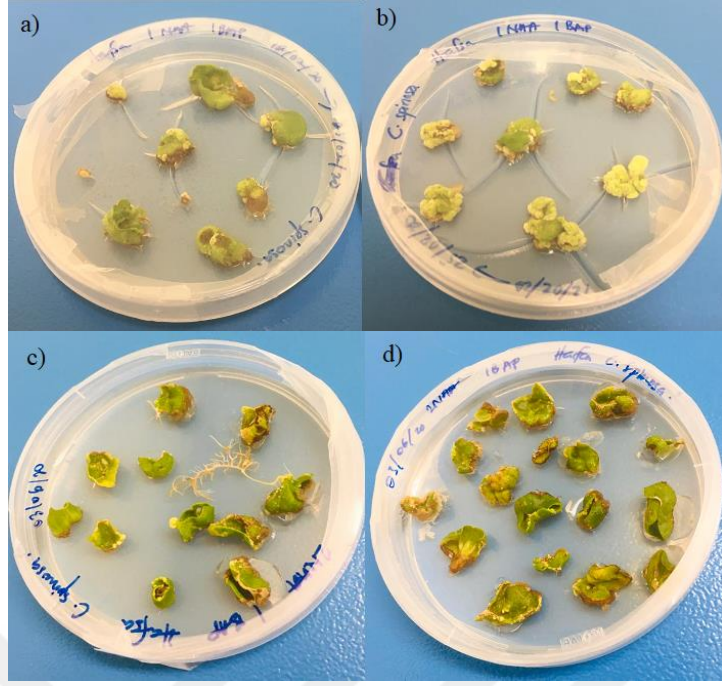
4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Farklı GR24 Uygulamalarının Kapari Kallus Oluşumuna Etkisi

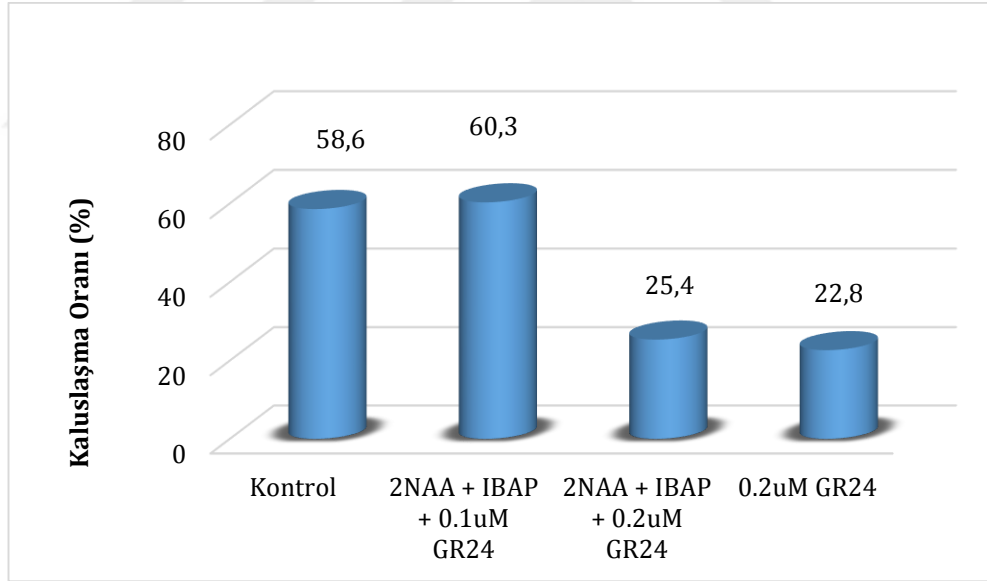
Çalışmamızda toplam 393 eksplant kullanılmış ve 6-7 hafta içerisinde 185 (% 47.07) kallus oluşumu gerçekleşmiştir. Besin ortamına 2 mg/l NAA + 1mg/l BAP+ 0, 0,1, 0,2 ve tek 0,2 µM konsantrasyonlarda GR24 eklenmek suretiyle dört farklı uygulama yapılmıştır. NAA ve BAP ile kullanılan 0,2 µM ve tek 0,2 µM GR24 uygulamalarının, 2mg/l NAA +1mg/l BAP + 0,1 µM GR24 içeren MS ortamı ile kıyasladığında, kallus oluşum sıklığını önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. En yüksek kallus oluşum yüzdeleri 2 mg/l NAA+1mg/l BAP+ 0,1 µM GR24 uygulamasında % 60.32 (Şekil 4.1b), ardından kontrol grubunda yani 2mg/l NAA+1mg/l BAP uygulamasında %58.62 (Şekil 4.1 a) , 2mg/l NAA+1mg/l BAP+ 0,2 µM GR24'te % 25.39 (Şekil 4.1c) ve tek 0,2 µM GR24'te % 22.8 (Şekil 4.1d) oranında elde edilmiştir (Şekil 4.2).

Çizelge 4.1. Çeşitli GR24 konsantrasyonlarının kapari kallus oluşumuna etkisi

Ortamlar	Toplam Eksplant Sayısı	Kallus sayısı	Gelişmemiş Eksplant Sayısı	Kalluslaşma sıklığı(%)
2mg/LNAA +1 mg/l BAP (kontrol)	147	80	67	58,6 ^a
2mg/LNAA +1 mg/l BAP + 0,1 µM GR24	126	76	50	60,3 ^a
2mg/LNAA +1 mg/l BAP + 0,2 µM GR24	63	16	47	25,4 ^b
0,2 µM GR24	57	13	44	22,8 ^b



Şekil 4.1. Alt kültüründen sonra kallus oluşumları a) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP b) 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP + 0.1 μ M GR24 c) 2mg/l NAA + 1 ml BAP + 0.2 μ M GR24 d) 0.2 μ M GR24



Şekil 4.2. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari yaprak eksplantlarından elde edilen toplam kallusların oluşum ortalamaları

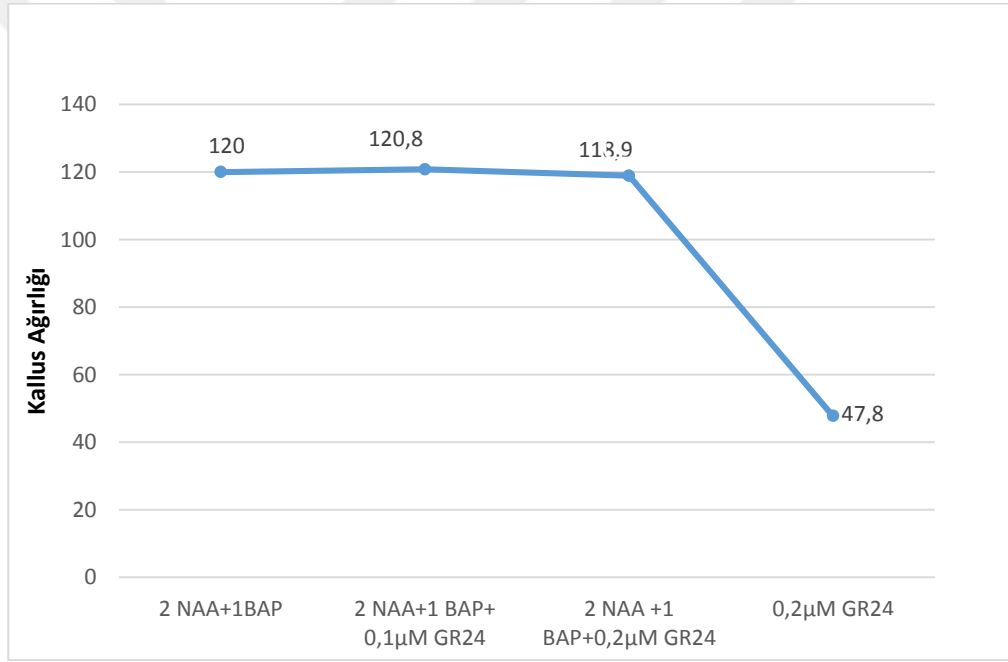
4.2. Farklı GR24 Uygulamalarının Kapari Kallus Taze Ağırlığına Etkisi

Farklı hormon uygulamalarının büyüme üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla kallus taze ağırlığı, kallusların *in vitro* kültürü tamamlandıktan sonra hassas terazide tartılmasıyla belirlenmiştir. Kalluslar daha sonra 10 gün boyunca 2 mg/

1 + 1 mg / l BAP + 30g / l ramnoz şekeri içeren ortamda alt kültüre alınmıştır. 2 mg / L NAA ve 1 mg / L BAP + 0,1 µM GR24 ile desteklenmiş MS ortamı, diğer üç ortama kıyasla kallus büyümesi ve dolayısıyla yüksek taze ağırlık için en uygun ortam olmuştur (120.8 mg). Çizelge 4.2’de elde edilen kapari kallus taze ağırlıkları gösterilmiştir. Ayrıca kallus taze ağırlığının 0.2 µM GR24 uygulamasında önemli şekilde düştüğü belirlenmiştir (Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. Çeşitli GR24 konsantrasyonlarının kapari kallus taze ağırlığına etkisi

Ortamlar	Ağırlık Ortalaması (mg)
2mg/L NAA + 1mg/L BAP (Kontrol)	120 ^a
2mg/L NAA + 1mg/LBAP+ 0,1 µM GR24	120,8 ^a
2mg/L NAA + 1mg/LBAP+ 0,2 µM GR24	118,9 ^a
0,2 µM GR24	47,8 ^b



Şekil 4.3. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari yaprak eksplantlarından elde edilen taze ağırlık ortalamaları

4.3. GR24’ün Kapari Kallus Kültüründe Toplam Fenolik Madde Üzerine Etkisi

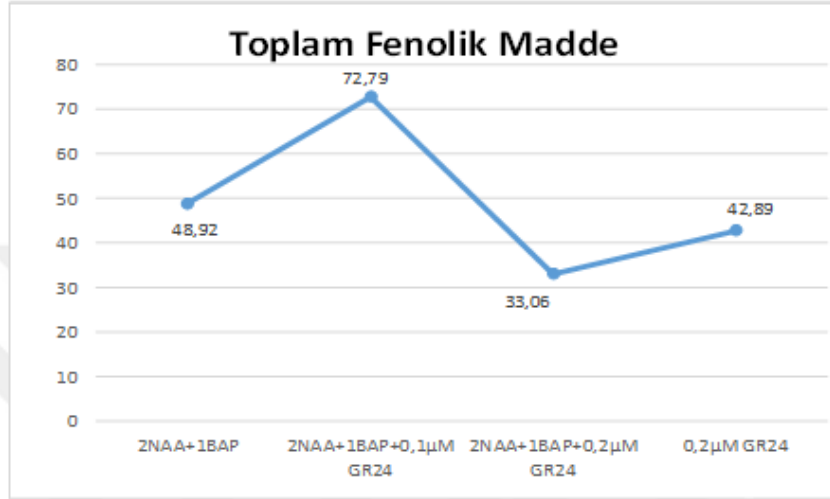
Farklı konsantrasyonlardaki GR24’ün toplam fenolik madde miktarını çeşitli oranlarda etkilediği tespit edilmiş olup ($p < 0.05$), elde edilen bulgular Çizelge ve Şekil 4.3’te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Çeşitli GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarından tespit edilen fenolik madde miktarları (µg/g).

Numune	α - Tokoferol	Klorojenik asit	Kafeik asit	Rutin	Kuersetin	Kamferol	Toplam Fenolik Madde
2NAA + 1BAP	0,22 ^a	26,1 ^c	*	12,9 ^b	5,1 ^a	4,6 ^a	48,92 ^b
2NAA + 1BAP + 0,1 µM GR24	0,09 ^b	46,4 ^a	*	16,9 ^a	5,4 ^a	4,3 ^a	72,79 ^a
2NAA + 1BAP + 0,2 µM GR24	0,06 ^b	16,2 ^d	*	6,6 ^c	5,1 ^a	4,8 ^a	33,06 ^d
0,2 µM GR24	0,09 ^b	37,4 ^b	*	2,1 ^d	*	3,3 ^b	42,89 ^c

*: tespit edilemedi.

** : Her sütunda ayrı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (p<0.05)



Şekil 4.4. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari yaprak kalluslarında tespit edilen toplam fenolik madde miktarları.

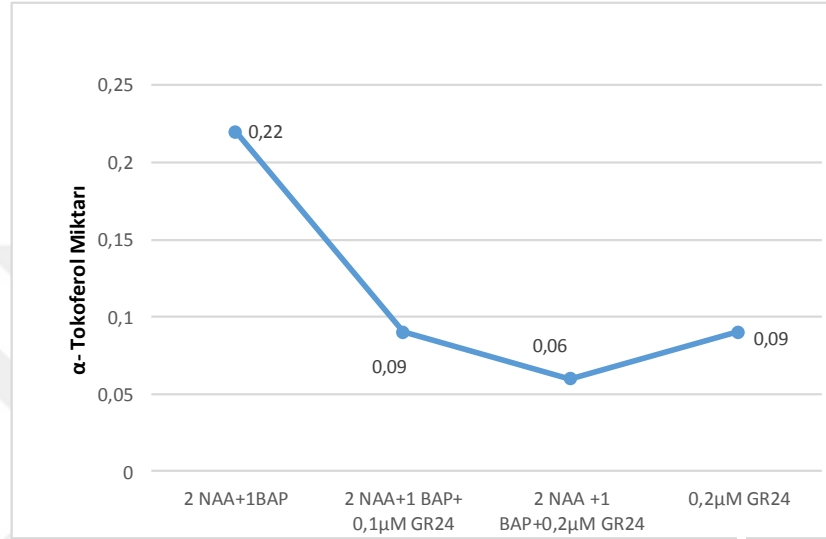
Toplam fenolik madde miktarı en yüksek 2 mg/l NAA+1 mg/l BAP + 0,1 µM GR24 uygulamasında saptanmış olup 72,79 µg/g olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla bu uygulamada toplam fenolik madde artışı miktarı %48.8.artış göstermiştir.

Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi en yüksek α-tokoferol kontrol grubunda bulunurken, GR24 uygulamaları ile α-tokoferol miktarı düşmüştür. En yüksek fenolik bileşik ise klorojenik asit olarak 46,4 µg/g ile 2mg/l NAA +1 mg/l BAP + 0,1 µM GR24 ortamda elde edilmiştir.

Yapılan hormon uygulamalarının *C. spinosa* kalluslarında α-tokoferol, klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kuersetin ve kamferol fenoliklerinin miktarı üzerine etkileri tespit edilmiştir (Şekil 4.4 ve Çizelge 4.3). Bu bileşiklerden kafeik asit kalluslarda tespit edilemezken; diğer bileşiklerin birikiminin yapılan uygulamalarla önemli derecede değiştiği tespit edilmiştir (p<0.05).

4.4. GR24'ün Kapari Kallus Kültüründe α -Tokoferol Miktarı Üzerine Etkisi

Tespit edilen önemli fenoliklerden biri olan α -tokoferolün, yapılan istatistiksel analizler sonucunda kalluslardaki birikiminin farklı GR24 uygulamalarına göre önemli derecede değiştiği tespit edilmiştir ($p<0.05$). Araştırma sonuçları Şekil 4.5'te sunulmuştur.

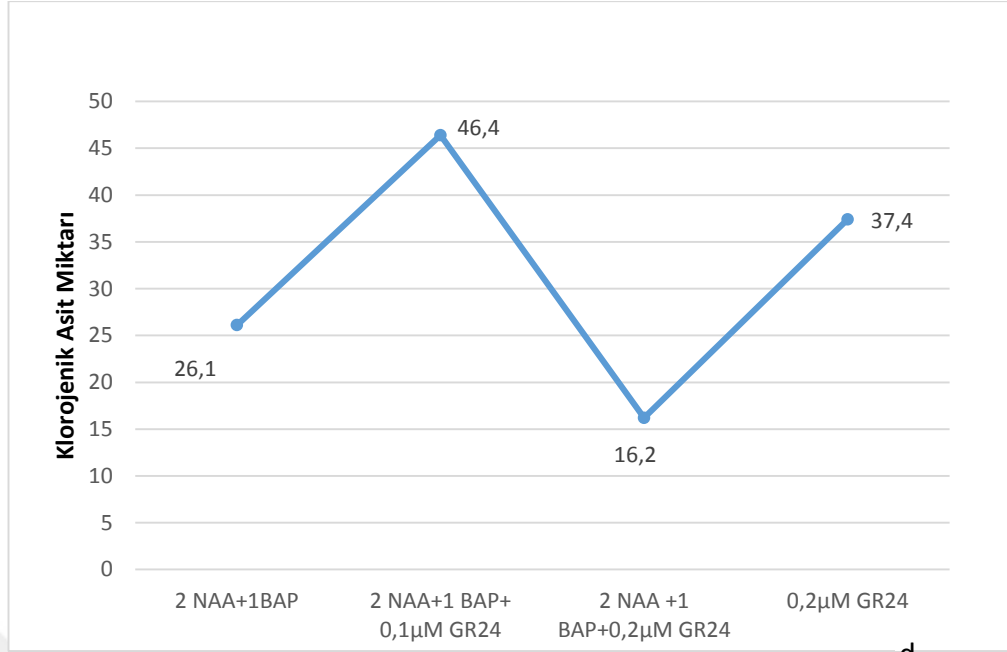


Şekil 4.5. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen α -tokoferol miktarları

En yüksek α -tokoferol miktarı kontrol grubunda (2NAA + 1BAP) 0,22µg/g olarak bulunmuştur. GR24 uygulamaları ile α -tokoferol miktarı %59,09 ve %72,72 oranlarında düşüş göstermiştir.

4.5. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Klorojenik Asit Miktarı Üzerine Etkisi

En yüksek klorojenik asit miktarı 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP + 0,1 µM GR24 uygulamasında kontrol grubuna kıyasla yükselerek 46,4 µg/g'a çıkmış ve analiz edilen fenolikler arasında en yüksek miktara sahip fenolik olarak dikkat çekmiştir. Şekil 4.6'te görüldüğü gibi 2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP + 0,1 µM GR24 ve 0,2 µM GR24, uygulamaları ile bu fenoliğin miktarı kontrol grubuna kıyasla sırasıyla % 43,75 ve % 30,2 oranında düşmüştür.



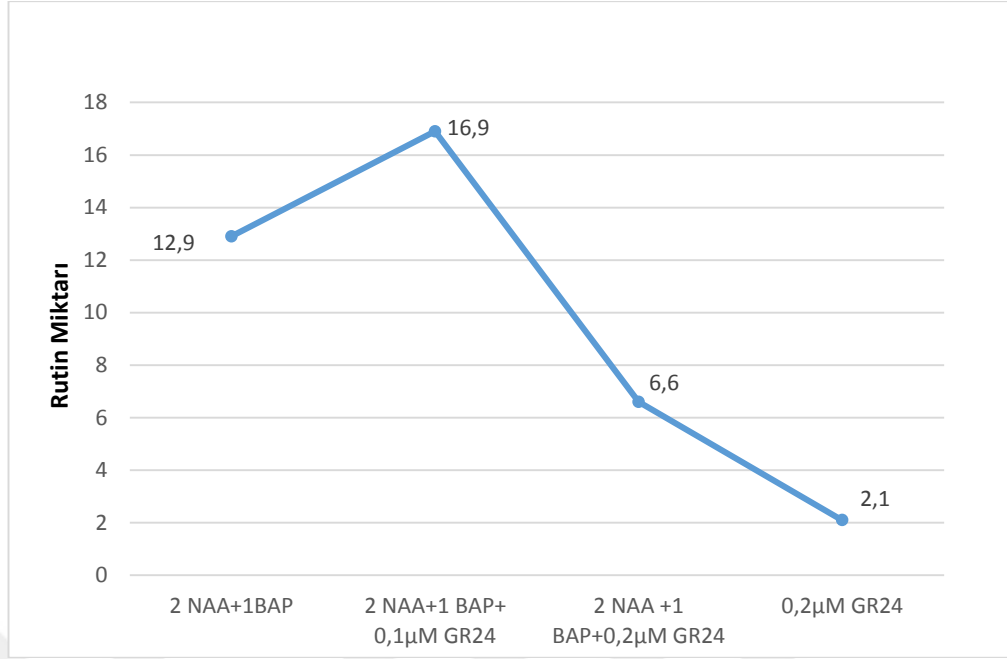
Şekil 4.6. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen klorojenik asit miktarları

4.6. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Kafeik Asit Miktarı Üzerine Etkisi

Kontrol grubu dahil hiçbir uygulamada kalluslarda kafeik asit tespit edilmemiştir.

4.7. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Rutin Miktarı Üzerine Etkisi

Rutin miktarı; kontrol grubunda 12,9 µg/g, GR24 uygulamalarında ise sırasıyla 16,9 µg/g, 6,6 µg/g ve 2,1 µg/g olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3).

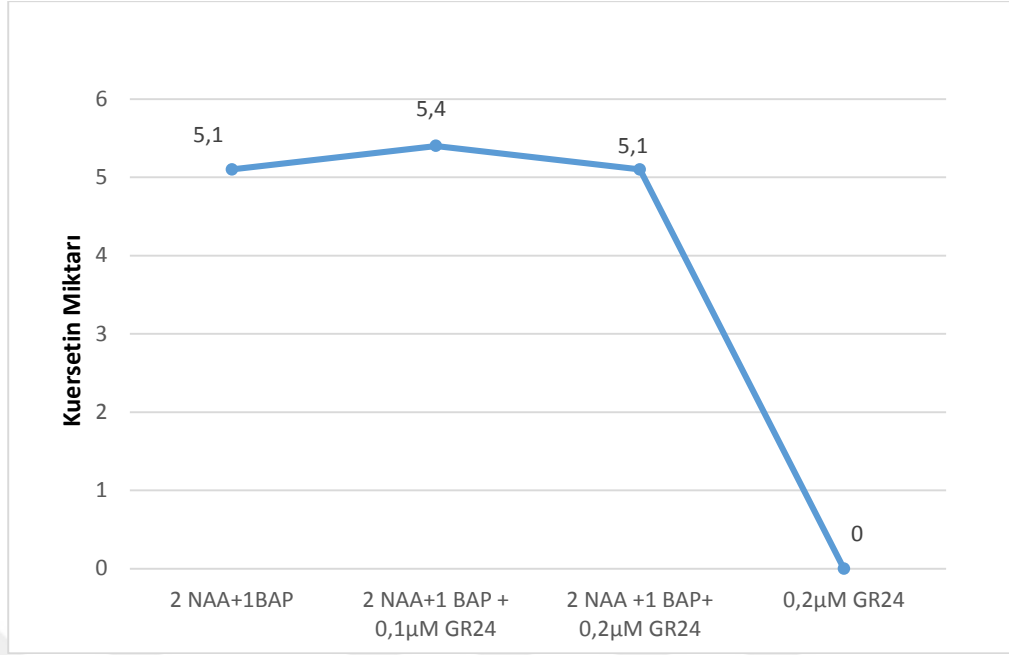


Şekil 4.7. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen rutin miktarları.

2 mg/l NAA + 1 mg/l BAP + 0,1 µM GR24 uygulaması kalluslarında rutin miktarı, kontrol grubuna kıyasla %23,67 oranında artmıştır (Şekil 4.7). Daha yüksek GR24 konsantrasyonuna sahip diğer uygulamalarda ise bu miktar kontrol grubuna göre sırasıyla % 60,95 ve % 87,57 oranında azalmıştır ($p<0.05$) (Çizelge 4.3).

4.8. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Kuersetin Miktarı Üzerine Etkisi

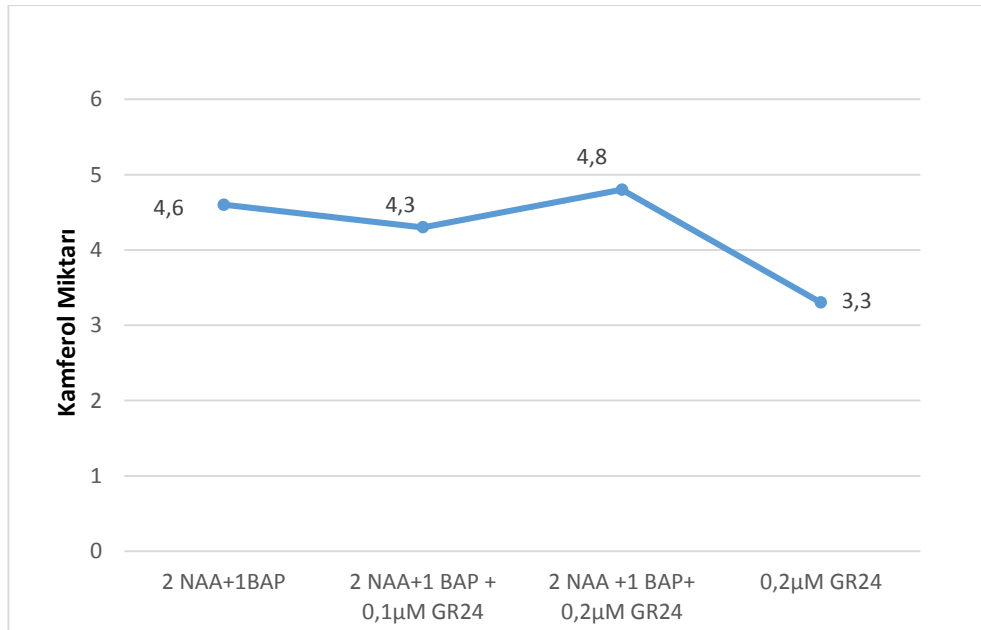
Kalluslardaki kuersetin miktarı için yapılan analizler sonucunda bu fenoliğin miktarı 0,2 µM GR24 uygulaması hariç diğer tüm uygulamalarda hemen hemen aynı miktarda bulunmuştur (5,1-5,4 µg/g) (Şekil 4.8). Bu değişim istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.3).



Şekil 4.8. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen kuersetin miktarları.

4.9. GR24'ün Kapari Kallus Kültürü Kamferol Miktarı Üzerine Etkisi

Kapari kallusları kamferol miktarının GR24 uygulamaları ile değişimi istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Uygulamalarda kamferol miktarının 4,8 ile 3,3 µg/g arasında değiştiği saptanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen Kamferol miktarları.

4.10. GR24'ün Kapari Kallus Kültüründe Toplam Aromatik Madde Üzerine Etkisi

Kapari yaprak eksplantlarından elde edilen ve çeşitli GR24 uygulamaları sonucu elde edilen kallusların aromatik madde içerikleri genel olarak aldehitler, alkoller, ketonlar, hidrokarbonlar ile türevleri ve diğerleri olmak üzere altı grup altında incelenmiştir. Tespit edilen tüm bileşiklerin listesi ve her bir GR24 uygulamasındaki nispi oranları Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Her bir aromatiğin nispi içeriği, %100 olarak tanımlanmış, 66 bileşiğin toplamına eşdeğer olması temelinde hesaplanarak nispi yüzde olarak ifade edilmiştir.

0,2 μ M GR24 uygulaması toplam aldehit miktarını %6,09'dan %7,90'a yükseltmiştir. Bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Aldehit grubunda tespit edilen bazı maddelerin miktarları da GR24 uygulamaları ile önemli derecede değişim göstermiştir. Bunlar sorbaldehyde (kontrol 0 ve 0,2 μ M GR24 %0,52) ve Hexanal (kontrolde %3,8, 2NAA+1BAP+0,1 μ M GR24'de %1,2, 2NAA+1BAP+ 0,2 μ M GR24'de %3,17 ve 0,2 μ M GR24'de %1,48) saptanmıştır ($p < 0.05$) (Çizelge 4.4).

Analizde alkol miktarı 2NAA+1BAP+ 0,1 μ M GR24 uygulamasında %68.59 ile en düşük seviyede saptanırken, diğer uygulamalarda bu miktarın önemli derecede arttığı bulunmuştur. (%85.13-%90.53 arası) ($p < 0.05$). Bununla birlikte diğer üç uygulamada istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır. Analizde miktar değişimleri önemli bulunan bileşenler; etil alkol kontrol'de %2,53 2NAA+1BAP+ 0,1 μ M GR24 uygulamasında yaklaşık 3 kat azalışla %0,83, 2NAA+1BAP+ 0,2 μ M GR24 uygulamasında yarı yarıya düşerek %1,10 ve 0,2 μ M GR24'te %1,94 olarak hesaplanmıştır. İstatistiki anlamda önemli olan diğer madde ise methyl isothiocyanate (kontrolde %83,58 ve 0,2 μ M GR24'te %87,58) olarak bulunmuştur.

Çalışmada kapari bitkisinde bulunan toplam keton miktarı kontrol grubunda %1,3 olarak tespit edilirken, 2NAA+1BAP+ 0,1 μ M GR24, 2NAA+1BAP+ 0,2 μ M GR24 ve 0,2 μ M GR24 uygulamalarında sırasıyla %19,3, %6,55 ve %0,34 olarak tespit edilmiştir. GR24'ün diğer iki bitki büyüme regülatörüyle

kombinasyonunun olumlu bir etki doğurduğu ve bu etkinin konsantrasyon azalışı ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir.

Kontrol grubunda % 0,46 olarak tespit edilen 2,3-Butanedione ve %0,28 olarak tespit edilen acetoin miktarı 2NAA+1BAP+ 0,1 µM GR24 uygulaması ile sırasıyla %2,66 ve %14,75 olacak şekilde artmıştır (p<0.05).

Aromatik bileşiklerin bir diğer alt grubu olan hidrokarbon ve türevlerinin toplam miktarı 2NAA+1BAP+ 0,1 µM GR24 uygulaması ile % 0,56'dan %5,8'e yükselmiştir. Diğer uygulama gruplarında ise önemli bir farklılık bulunmamıştır. 2NAA+1BAP+ 0,1 µM GR24 uygulaması ile miktarı önemli miktarda artan bileşenler; n-hexane (% 0,56'dan %3,47'ye), o-xylene (0'dan %0,51'e) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Diğer aromatik maddelerin toplam birikimi kontrol'de %2,37, 2NAA+1BAP+ 0,1 µM GR24 konsantrasyonda %1,43, 2NAA+1BAP+ 0,2 µM GR24'te %1,04 ve 0,2 µM GR24 grubunda %0,61 olarak saptanmıştır. Furan,2-pentyl kontrol grubunda bulunmayıp strigolaktonlu uygulamalarda tespit edilmiştir fakat gruplar arasında istatistiki önemi olmadığı ortaya çıkmıştır (p<0.05) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Farklı GR24 konsantrasyonlarında kapari kalluslarında tespit edilen aromatik bileşikler (%).

Bileşikler (CAS)	RT	2NAA +1BAP (Kontrol)	2NAA+1BAP+0,1 µM GR24	2NAA+1BAP+0,2 µM GR24	0,2 µM GR24
Aldehitler					
Ethanal	1.305	00	00	00	0.34
Acetaldehyde	1.308	0.28	00	00	00
Acetaldehyde(70-07-0)	1.313	00	00	0.41	00
Crotonaldehyde	2.229	00	00	00	0.12
2-Butenal (123-73-9)	2.231	00	00	0.23	00
Sorbaldehyde	2.746	00	00	00	0.52
2-Pentenal, (E)-	3.706	0.14	0.24	0.13	0.13
Hexanal (66-25-1)	4.693	00	3.13	00	4.03
(E)-2-Hexenal	6.192	3.80a	1.20b	3.17a	1.48b
N HEPTANAL	7.803	00	00	00	0.18
trans-2-Heptenal	9795	00	00	0.08	00
2-Heptenal, (E)- (188829-55-5)	9.800	00	00	00	0.26
Benzaldehyde (100-52-7)	9.908	0.44	0.31	00	0.23
Phenylmethanal	9.910	00	00	1.16	00
trans,trans-2,4-Heptadienal	11.322	0.33	00	0.32	0.17
2,4 HEPTADIENAL	11.889	00	00	00	0.22
2 OCTENAL	13.704	00	00	00	0.22
beta.-Cyclocitral	19.852	0.23	0.00	0.35	00
Toplam		6.09b	4.88c	6.45b	7.90a
Alkol					
Ethyl alcohol	1.378	2.53a	0.83c	1.10b	1.94b
Pentanal, 2,3-dimethyl-	1.455	00	00	0.30	00

Methyl acetate	1.540	0.37	0.29	00	00
Propanol	1.645	0.26	00	00	00
Diacetyl	1.779	00	00	00	0.22
Ethyl acetate	1.925	0.53	00	00	0.09
Methyl thiocyanate	2.898	1.11	00	00	0.25
Methyl isothiocyanate*	3.371	83.58a	66.97b	83.27a	87.53a
Butane-2,3-diol	4.603	00	0.40	00	00
Isopropyl isothiocyanate	5.540	0.43	00	0.25	00
trans-2-Hexen-1-ol	6.665	0.62	00	00	00
1-Hexanol (111-27-3)	6.795	00	0.10	00	0.41
1-Octen-3-ol (3391-86-4)	10.730	00	00	00	0.09
1-HEPTEN-6-ON, 2-METHYL-	10.900	00	00	0.21	00
Pentadecane,3,6,10,14-tetramethyl-	028.357	0.23	00	00	00
Toplam		89.66a	68.59b	85.13a	90.53a
Keton					
Acetone	1.452	00	0.68	00	00
2,3-Butanedione	1.780	0.46b	2.66a	0.98a	00c
Acetoin	2.884	0.28c	14.75a	5.38b	00d
2-Hydroxy-3-pentanone	4.910	00	0.21	00	00
Heptan-2-one	7.403	00	0.42	0.19	0.16
2-Heptanone (110-43-0)	7.408	0.10	00	00	00
2,5-Octanedione	10.897	00	00	00	0.18
6-Methyl-5-hepten-2-one	10.902	0.18	00	00	00
Acetophenone	13.919	0.30	0.58	00	00
Toplam		1.32c	19.3a	6.55b	0.34c
Hidrokarbon ve türevleri					
2-Thiapropane	1.526	00	00	0.15	00
n-Hexane	1.825	0.56b	3.47a	00c	0.42b
3-Methylpentane	1.830	00	00	0.36	00
Acetic acid, 5-hydroxy-pent-3-ynyl ester	1.930	00	0.16	00	00
2-Propanone, 1-hydroxy-	2.377	00	0.37	00	00
4-METHYLPENTANENITRILE-3,3-D2	2.580	00	0.31	00	00
Acetylpropionyl	2.715	00	0.35	00	00
o-Xylene	6.662	00	0.51	00	0.20
Styrene	7.370	00	0.29	0.10	00
p-Dichlorobenzene	11.895	00	0.35	00	00
Cyclopentacycloheptene	18.460	00	00	0.22	00
Toplam		0.56b	5.8a	0.83b	0.62b
Diğerleri					
Furan, 2,3-dihydro-	2.231	0.27	0.23	00	00
tert-Butyl cyclopropylmethyl sulfoxide	2.580	00	00	00	0.13
Furan,2-ethyl	2.753	0.76	0.81	0.55	00
Disulfide, dimethyl (624-92-0)	3.462	0.14	00	0.12	00
2,3,5-Trimethylfuran	5.042	00	0.20	0.23	00
Propane, 1-isothiocyanato-	5.535	0.70	00	00	00
Furan, 2-pentyl-	11.049	00	0.19	0.14	0.11
Oxirane, methyl-, (S)-	1.450	0.50	00	00	0.37
Toplam		2.37	1.43	1.04	0.61
Toplam Aromatik Maddeler		100	100	100	100

- Her GR24 uygulaması için ayrı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir ($p < 0.05$)
- Amerikan Kimya Derneği'nin (American Chemical Society) bir alt bölümü olan Chemical Abstracts Service (CAS), bu tanımlayıcı numaraları bilimsel literatürde tanımlanmış her bir kimyasal bileşik için verir. Kimyasal bileşiklerin birden fazla ismi olabileceği için, amaç veritabanı aramalarını kolaylaştırmaktır. Günümüz molekül veritabanlarının hemen hepsinde CAS numarasıyla arama yapılabilir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Strigolaktonun diğer büyüme hormonlarıyla (oksin ve sitokinin) kombinasyonunun kallus oluşum ve gelişimi üzerindeki etkilerine dair daha önce yapılmış herhangi çalışma yoktur.

Mdodana (2012), yabani tip *A. thaliana Col-O*'nun yanı sıra strigolaktondan yoksun ve duyarsız mutantlarının (max1-1, max2-1, max2-2, max3-9 ve max4-1) kallus kültüründeki başarısını çalışmıştır. Hipokotil ve yaprak eksplantlarını, 2,4-D ve kinetin farklı konsantrasyonları (2: 2 mg/L 2,4-D: kinetin ve 0,5: 0,05 mg/L 2,4-D: kinetin) ile desteklenen MS ortamında kültürlemiş, her iki ortamın da, tüm genotiplerin kallus indüksiyonu için uygun olduğunu göstermiştir (%83.33 ve %92.22).

Elde edilen kalluslar ayrıca sadece oksin veya sadece kinetin içeren MS ortamına aktarılmış ve 0,1 µM GR24 veya duman suyu ile desteklenmiştir. Sadece oksin kullanılan ortamda gözlemlenen pozitif büyüme uyarıcı etkisi, oksin ve strigolaktonlar arasındaki sinerjistik ilişkiye atfedilebilirken, diğer ortamdaki (sadece sitokininli) biyomas azalmasının, strigolaktonlar ve sitokininler arasındaki antagonistik etkileşimden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bu çalışma, strigolaktonların bitki büyümesi ve gelişmesinde yeni bir rol oynadığını, yani kallus kültürlerinde biyokütle üretimini arttırdığını göstermiştir.

Musallam vd. (2011), kaparinin mikro çoğaltımını yabani yaprakları eksplant olarak kullanarak gerçekleştirmiştir. En yüksek kallus oluşumu 1.2 mg/l 2,4-D + maltoz ile hazırlanmış Murashige ve Skoog (MS) ortamından elde edilmiştir.

Yine Kumari vd. (2015), *C. spinosa* yaprak segmentlerinin, çeşitli BAP ve Kinetin konsantrasyonları içeren MS ortamında kallus oluşum oranlarını araştırmış ve BAP'ın kallus oluşumunda kinetinden daha iyi sonuç verdiğini gözlemlemişlerdir. En iyi sonuç 0.1 mg / L NAA + 2.5 mg / L BAP ile desteklenen MS ortamından alınmıştır (% 80 kallus oluşumu).

Grobbelaar vd. (2014), oksin ve strigolaktonun (GR24 ve Nijmegen-1 (0.1uM) *S. frutescens* nodal eksplantlarının büyümesi üzerindeki etkisini incelemiştir. Strigolaktonların eksplant büyümesi üzerinde genellikle minimal bir etki gösterdiğini, Nijmegen-1 ve NAA kombinasyonunun, metabolit üretimi için elverişli olduğu ve NAA'nın metabolit içeriği üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir.

Strigolakton (GR24) ile L-ramnoz elisitörün etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki GR24'ün, 2mg/l NAA ve 1 mg/l BAP ile yaptığı üçlü (0, 0,1 ve 0,2 µM) ve tekli (0,2) kombinasyonların ile modifiye edilmiş büyüme ortamlarında kültüre alınan yaprak eksplantlarında kallus oluşumu, yaş ağırlığı ve fenolik bileşik miktarı tespit edilmiştir. Araştırmada *in vitro* kallus oluşumu sıklığı en yüksek, 2NAA+1BAP+ 0,1 µM GR24 konsantrasyonunda (%60,3) tespit edilmiştir fakat kontrol grubuyla arasında önemli bir fark bulunmamıştır (%58,6). Bu durum oksinler ve strigolaktonlar arasındaki sinerjik ilişkiyi düşündürmektedir (Brewer vd., 2009; Agusti vd., 2011; Hayward vd., 2009).

Çalışmamızda kallus oluşum sıklığı GR24 artışıyla olumsuz etkilenmiştir. Hem 2NAA+1BAP+ 0,2 µM GR24 (%25,4) hem de tek 0,2 µM GR24 (% 22,8) uygulamasında önemli ölçüde düşüş meydana gelmiştir.

Taze ağırlık ortalaması bakımında kallus oluşumunda olduğu gibi en yüksek kallus ağırlığı, 2NAA+1BAP+ 0,1 µM GR24 uygulamasında 120,8 mg olarak bulunmuş bunu 120 mg ile kontrol grubu izlemiştir. En düşük yaş ağırlık ise 47,8 mg olarak tek 0,2 µM GR24 uygulamasında bulunmuştur. Dolayısıyla GR24'ün artan konsantrasyonlarının ortalama kallus yaş ağırlığını önemli ölçüde düşürdüğü sonucuna varılmıştır.

GR24 yüksek miktarlarda negatif, düşük miktarlarda da pozitif yönde etki etmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, kallus oluşumu ve kallus ağırlığı için en iyi bitki hormon kombinasyonunun, 2 NAA + 1 BAP + 0,1 µM GR24 ve 2 NAA 1BAP olduğunu göstermiştir.

Bitki doku kültürü ile bitkilerin herhangi bir meristematik kısmından ikicil metabolitler elde edebilmektedir. Ancak *in vitro* koşullarda kültür ortamına eklenen değişik bitki büyüme hormonlarının miktarı ve kombinasyonu ile elisitör veya prekürsörlerin sekonder metabolitlerin biyosentez aşamalarını önemli derecede etkileyerek metabolit üretimini artırabileceği bilinmektedir (Bedir vd., 2002). Aynı zamanda bitkinin kendisinde olmayan yeni ve istenilen sekonder metabolitler bu *in vitro* kültür esnasında meydana gelen somaklonal varyasyon sebebiyle üretilebilmektedir (Miguel ve Marum, 2011).

Ana aktif bileşen olarak flavonoidler, antialerjik, antienflamatuar ve antioksidan etkiler dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktivitelerde dikkate değer bir rol oynar (Ageel vd., 1986; Trombetta vd., 2005, Panico vd., 2005). Flavonoidler, antioksidatif özelliklerinden dolayı sağlık üzerindeki olumlu etkilerine dikkat çekmiştir (Dekanski vd., 2011). Doku kültürü kullanarak bitkide bulunan değerli metabolitlerin kontrollü koşullar altında elde edilmesi geleneksel metotlarla karşılaştırılınca belirgin avantajlara sahiptir.

Rutin, kuersertin gibi flavonoid bileşiklerin kapari bitkisinde baskın olduğu saptanmıştır (Tlili vd., 2010). En iyi, hızlı ve yüksek sekonder metabolit miktarı veren *in vitro* tekniklerden biri de kallus kültürüdür (Georgiev vd., 2008). Bu sebeple çalışmamızda kaparide bulunan bu sekonder metabolitlerin yüksek kalitede ve miktarda üretilmesi adına bir protokol oluşturması için kallus kültür tekniği kullanılmış ve farklı hormon kombinasyonlarının etkisi araştırılmıştır.

Strigolaktonun kapari veya herhangi bir bitki türünün fenolik madde birikimi üzerine etkisini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız çeşitli strigolakton konsantrasyonlarının kapari bitkisinde strigolakton konsantrasyonunun kallus oluşumu ve fenolik madde içeriğine etkisinin değerlendirilmesi için yapılan ilk protokoldür.

Çalışmamızda kontrol grubu kallus analizinde toplam fenolik madde 48,92 µg/g iken, 2 NAA + 1 BAP + 0,1 µM GR24 uygulamasında kontrole göre % 48.8 artış meydana gelmiş ve 72,79 µg/g olarak tespit edilmiştir. Diğer strigolaktonlu uygulamalarda ise bu miktar çok daha düşük seviyelerde bulunmuş dolayısıyla

strigolakton konsantrasyonlarının artışı fenolik madde miktarının düşüşüne sebep olmuştur.

Kallus ağırlığı ve fenolik madde birikiminin zıt orantılı olduğunu bilinmektedir. Coenen ve Lomax'a (1997). Fenolik bileşiklerin birikimi, hücre büyümesi ile negatif yönde ilişkilidir. Genel olarak, daha yüksek fenolik bileşik konsantrasyonlarına sahip kalluslarda, daha düşük taze ve kuru ağırlık saptanmıştır. Çalışmamızda ise bunun tersine en yüksek fenolik madde birikimi 2 mg / L NAA+1 mg / L BAP+0,1 µM GR24 uygulamasında yani en yüksek kallus taze ağırlığının olduğu uygulamada saptanmıştır.

Kapari bitkisinde elisitörlerin fenolik madde miktarını artırdığına işaret eden bazı çalışmalar yapılmıştır.

Goda vd. (2017) 6-benzil aminopurin (BAP) ile önceden muamele edilmiş *Capparis spinosa* bitkilerinde metil jasmonat (200 µM / L) elisitasyonundan sonra, flavonoid miktarının yabani bitkilerde tahmin edilenden iki kat fazla artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Öte yandan, 200 µM / L metil jasmonat, kinetin ön işlem görmüş bitkilerde flavonoid konsantrasyonunu 1.5 kat artırmıştır.

Baenas vd. (2016) metil jasmonat (25 µM), jasmonik asit (150 µM) ve salisilik asitin (100 µM), *Brassica oleraceae* (brokoli), *Brassica napus* (rutabaga lahanası), *Brassica rapa* (şalgam) ve *Raphanus sativus* (Çin gül turpu ve kırmızı turp) fidelerinde yüksek glukozinolatlar üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, metil jasmonat ve jasmonik asidin fidelerin toplam glukozinolat içeriğini artırarak etkili bir elisitör olarak davrandığını göstermiştir

Bu tez kapsamında kapari kalluslarında 4 farklı hormon uygulamasında 5 ayrı fenolik madde incelenmiştir. Bunlar α-tokoferol, klorojenik asit, kafeik asit, rutin, kuersetin ve kamferol bileşikleridir.

Germano vd. (2002), Matthaus ve Özcan (2005), Tlili vd. (2009) yaptıkları çalışmalarda kapari bitkisinin flavonoid bileşikleri olan rutin (rutosit) ve kuersetin bakımından zengin bir bitki kaynağı olduğunu, ayrıca farklı

organlarının fitosteroller, tokoferoller, karotenoidler, flavonoidler ve glukozinolatlar içerdğini de rapor etmişlerdir.

Tlili vd. (2010), Tunus'un farklı bölgelerinde yetiştirilen *Capparis spinosa*'nın yaprak, tomurcuk ve çiçeklerinin karotenoid ve tokoferol içeriğini çalışmış, toplam tokoferol içeriğinin çeşitli bitki kısımlarında değişiklik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu miktar yaprak ve tomurcuklarda sırasıyla 20.19 ± 31.71 ve 2.42 ± 0.38 (mg/100g) olarak bulunmuştur.

Bazı çalışmalarda tokoferol bileşiğinin çoğunlukla yapraklarda biriktiği gösterilmiştir (Munne Bosch., 2005). Bazı araştırmacılar da bitkinin farklı organlarındaki tokoferol miktarının coğrafik konumdan etkilenebileceğini bildirmişlerdir (Lavedrine vd., 1997).

Antognoni vd. (2008), *Amaranthus caudatus* ve *Chenopodium* türleri kalluslarında α -tokoferol üretiminin bitkinin yaprak ve diğer organlarda sahip olduğu tokoferol içeriğinden çok daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Kallus kültürlerinde α -tokoferol miktarı yapraklardakinden yaklaşık 40 kat daha düşük konsantrasyonlarda bulunmuştur. Bazı durumlarda bu, özelleşmiş hücrelerin yapılarının eksikliğinden kaynaklanmaktadır (St. Pierre vd., 1999; Pasqua vd., 2003).

Kapari kalluslardaki α -tokoferol miktarı ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda en yüksek α -tokoferol miktarı $0.22 \mu\text{g/g}$ ile kallus büyümesi ve ağırlığında da etkin olan $2 \text{ mg / L NAA} + 1 \text{ mg / L BAP} + 0.1 \mu\text{M GR24}$ uygulamasından elde edilmiştir. Burada daha düşük konsantrasyonlarda GR24'ün daha etkili olduğu düşünülebilir. Fakat bununla ilgili GR24 konsantrasyon skalası genişletilerek daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir. *C. spinosa*'nın kallus kültürlerinde, α -tokoferol birikimi, kültür ortamından bağımsız olarak yapraklardakinden ($20.19 \pm 31.71 \text{ mg/100g}$) yaklaşık 1000 ile 5000 kat daha düşük çıkmıştır (Tilli vd. 2009).

Tilli vd., (2015) 5 farklı bölgelerdeki bulunan kapari tohumlarının klorojenik asit miktarını %1.23, 0, 4.55, 4.62, 1.99 olarak bulmuştur. Yine Motahareh vd., (2020) kapari yapraklarında 0,680 mg/g TA klorojenik asit elde etmiştir.

Araştırmada incelediğimiz bir diğer fenolik bileşik olan klorojenik asit en yüksek miktarda bulunan fenolik olmuştur. 2 mg / L NAA +1 mg / L BAP + 0.1 µM GR24 uygulamasında miktarı kontrol grubuna kıyasla %77,78 artarak 46,41µg/g olarak bulunmuştur. Burada GR24'ün klorojenik asit üzerindeki etkisinin pozitif olduğu söylenebilir.

Shamam vd. (2019) yaptığı çalışmada kapari yapraklarında kafeik asit miktarını 73.542 µg/ml olarak bulurken, Rezzan vd. (2013) Gaziantep florasın'dan topladığı kapari yapraklarında kafeik asit olmadığını belirtmiştir.

Çalışmamızda da kontrol grubu dahil hiçbir hormon uygulamasında kalluslarda kafeik asit tespit edilememiştir. Dolayısıyla GR24'ün kafeik asit birikimini üzerindeki etkisi değerlendirilememiştir.

Tilli vd. (2010) Tunus florasından topladıkları kapari bitkisi yapraklarında rutin ve tokoferol miktarını sırasıyla 13,52 ve 20,01 mg/100 g olarak bulmuşlardır. Ek olarak Behnaz vd. (2013), kaparinin çeşitli kısımlarındaki rutin ve kuersetin miktarını incelemiş ve bu miktarı en yüksek yapraklarda sırasıyla 25,2 ve 10,4 mg/g olarak tespit etmişlerdir.

Hussain vd (2017) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, kurutulmuş *Capparis spinosa* yapraklarından (100g) ekstraksiyon için Soxhlet yöntemi ve çözücü olarak etanol kullanıldığında, 2.728 g rutin, 8.754 g kuersetin ve 0.543 g gallik asit elde edilmiştir.

Çalışmamızda rutin miktarı 2 mg/L NAA+1 mg/L BAP + 0.1 µM GR24 uygulamasında kontrole kıyasla yaklaşık 1.5 kat artmış ve 16,9 µg/g olarak bulunmuştur. GR24 düşük konsantrasyonda kullanıldığında rutin miktarını pozitif yönde etkilemiştir.

Haifa vd. (2016), yaptığı çalışmada Tunus florasındaki *C. spinosa*'nın yapraklarında kuersetin miktarını sulu ekstraktta %36.06, alkol ekstraktta % 60.34 olarak tespit etmiştir. Palacio vd. (2012) *Larrea divaricata* yapraklarından 2 mg/ L 2,4 D ve 1 mg/ L BAP kullanılarak elde edilen kallusların kuersetin miktarını yaklaşık 6 µg/g olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda kuersetin 0,2 µM GR24 uygulaması hariç diğer tüm hormon uygulamaları kalluslarında benzer miktarlarda tespit edilmiştir (5,1-5,4µg/g). 0,2 µM GR24 uygulamasında bulunmaması NAA ve BAP'ın kuersetin birikiminde etkili hormonlar olduğunu göstermektedir.

Bitkilerin çeşitli sekonder metabolit üretiminin artırılmasına yönelik birçok *in vitro* çalışmada kültür ortamına BAP eklenmesi tavsiye edilmektedir. Örneğin, Al-Ashoush (2017) ve Udomsuk vd., (2009), BAP'nin ekstrakte edilen toplam izoflavonoidlere ek olarak bazı ikincil metabolitlerin miktarları üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu bildirmiştir. Ayrıca Kinetin'in, polifenol üretimini etkileyebilecek nükleik asitlerin sentezini etkileyerek kuersetin ve izomerin gibi polifenol gruplarını etkilediği bildirilmiştir (Shah vd., 1976).

Rodrigo vd. (1992) taze *C. spinosa*'nın rutin, kaempferol-3-glukozit, kaempferol-3 rutinosid ve kaempferol-3-rhamnorutinosid içerdiğini ve rutin miktarının diğer türlerden daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Tilli vd. (2017) kapari yaprak ekstraktlarında kamferol miktarını %3.63 olarak saptamıştır. Haifa vd. (2016) ise yaptığı çalışmada Tunus florasındaki *C. spinosa* yapraklarında kamferol tespit edememiştir. Çalışmamızda kamferol miktarı en yüksek 2 NAA + 1 BAP + 0,2 µM GR24 uygulamasında 4,8 µg/g, en düşük 0,2 µM GR24 konsantrasyonunda 3,3 µg/g olarak bulunmuştur. GR24'ün yüksek konsantrasyondaki kullanımının kamferol üretimini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Teorik olarak somatik hücrelerden rejenere olan tüm bitkilerin klon olması gerekmesine rağmen, bir dizi gözlem bunun böyle olmadığını göstermiştir (Larkin vd., 1981; Larkin vd., 1984). Bu aynı zamanda bitkiler tarafından üretilen

ikincil metabolitler için de geçerlidir. *İn vitro* çoğaltmada, ana bitkide önceden bulunmayan yeni bitki metabolitlerinin üretimi gerçekleştirilmektedir.

Somaklonal varyasyonun genetik temeli ilk raporlarda belirlenmemiş olsa da, daha yakın tarihli çalışmalar varyasyonun genetik analizini içermektedir. Bu çalışmalardan elde edilen fikir birliği, somaklonal varyasyonun kökeninin hem kültüre alınan dokudaki doğal varyasyon hem de doku kültürü şartlarından kaynaklı geçişle ilişkili değişiklikler olduğu yönündedir (Evans ve Sharp, 1986; Scowcroft, 1985).

Capparis spinosa bitkisindeki varlığı daha önce rapor edilmemiş sorbaldehit çalışmamızda 0,2 µM GR24 uygulamasında %0,52 miktarında bulunmuştur. Sorbaldehit domates, kivi, mango, patates, otlar ve baharatlarda bulunur. Lezzet verici bir madde ve bir bitki metaboliti olarak rol oynar. Çoklu doymamış yağlı bir aldehit, bir heksadienal ve uçucu bir organik bileşiktir (CHEBI: 82334). Sorbaldehit, 2,4-Hexadienal olarak da bilinir ve güzel kokulu, kırışıklık önleyici veya yaşlanma önleyici ürünler, cilt nemlendiricileri ve güneş kremleri gibi kozmetik ürünlerde kullanılmaktadır.

Bu tez kapsamında Hexenal (66-25-1) 2 NAA 1 BAP 0,1µM GR24 uygulamasında %3,13 bulunurken 0,2µM GR24 ortamında %4,03 miktarında saptanırken kontrolde hiç tespit edilmemiştir. Hexenal yıkama ve temizlik ürünleri, biyositler (örneğin dezenfektanlar, haşere kontrol ürünleri), hava bakım ürünleri, cila, parfümler, kokular, diğer kozmetikler ve kişisel bakım ürünlerinde kullanılan bir bileşiktir (ECHA-Avrupa Kimyasal Ajans).

Yine kontrol grubunda tespit edilmeyip diğer uygulamalarda belirli miktarlarda bulunan o-ksilen (orto-ksilen), bir benzen halkasının bitişik karbon atomlarına bağlı iki metil grubuna sahip aromatik bir hidrokarbondur. Analizde %0,51 ve %0,2 miktarında sırasıyla 2 NAA 1 BAP 0,1µM GR24 ve 0,2µM GR 24 ortamında saptanmıştır. O-ksilen renksiz, hafif yağlı, yanıcı bir sıvıdır. o-ksilen büyük ölçüde birçok malzeme, ilaç ve diğer kimyasalların öncüsü olan ftalik anhidrit üretiminde kullanılır (Moriera vd., 2012)

Kaparinin keskin aroması genellikle glukokaparin (metil glukozinolat) adlı hardal yağı glikozidiyle enzimatik bir reaksiyondan sonra salınan çok keskin metil izotiyosiyanattan kaynaklanır (Brevard vd., 1992; Romeo vd., 2007; Sozzi vd., 2012).

Condurso vd. (2015)'nin farklı coğrafya kökenli kapari çiçek tomurcukları karakterizasyonu için yaptıkları çalışmaya göre keskin kapari aromasının kükürt bileşikleri ve ana bileşenler olan metil-izotiyosiyanat ile ilişkili olabileceği saptanmıştır. Keskin kokulu metil izotiyosiyanat, metil glukozinolattan türetilmektedir (Romeo vd., 2007).

El-Ghorab vd. (2007) Konya florasından topladıkları kapari tomurcuk ve yapraklarında bulunan başlıca uçucu bileşiklerin metil izotiyosiyanat (% 20.0), timol (% 15.5), 4-vinil guaiacol (4.3 %), heksil asetat (% 3.6) ve trans-theaspiran (% 2.6) olduğunu rapor etmişlerdir. Bakir ve El Bishbishy (2016) kapari bitkisi üst aksamında baskın olan uçucu yağın % 24.66 ile yine metil izotiyosiyanat olduğunu bulmuşlardır.

Yukarıdaki çalışmada elde edilen sonuçlara benzer şekilde çalışmamızda da metil izotiyosiyanatlar çok yüksek oranda saptanmıştır. Kontrol grubunda (2 NAA 1 BAP) %83,58 olan miktarı 0,2µM GR24 uygulamasında %87,53 ile en yüksek değere ulaşmıştır. Burada metil izosiyanat üretimi için kallus kültürü en iyi yöntemi olduğunu açıkça söyleyebiliriz.

Sonuç olarak bu tez kapsamında 2 mg/ L NAA +1 mg / L BAP + 0.1 uM GR24 içeren ortamlarda kültüre alınan kallusların hem oluşum hem de yaş ağırlıklarının diğer ortamlara kıyasla daha yüksek olduğu ve özellikle klorojenik asit, rutin ve kuersetin fenoliklerinin birikiminde en iyi uygulamanın da bu olduğu bulunmuştur. Daha düşük konsantrasyonlarda kullanılan GR24'ün daha etkili olduğu belirlenmiş, yine de bununla ilgili ileride çok daha fazla çalışmanın gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Tıbbi veya nutrasötik özelliklere sahip çoğu bitki için kapsamlı genomik verilerin bulunmaması, metabolik yolları incelemek için yaygın genomik (örneğin,

mikrodizi tabanlı) yaklaşımların kullanılmasını zorlaştırmıştır. Elisitasyon, bitki ikincil metabolizmasında yer alan enzimlerin düzenlenmesini anlamak için çekici bir alternatif sunmaktadır.

Bu konudaki bilgilerimizin hala çok sınırlı olduğu ve strigolaktonların, ramnoz şekerinin ve diğer bitki büyüme regülatörlerinin kapari kalluslarının gelişimindeki rollerini daha iyi anlamak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu da açıktır.



KAYNAKLAR

- Afsharypuor, S.; Jeiran, K.; Jazy, A.A., 1998. First investigation of the flavour profiles of the leaf, ripe fruit and root of *Capparis spinosa* var. *Mucronifolia* from Iran. *Pharm. Acta Helv.* 72, 307–309.
- Ageel, A.M., Parmar, N.S., Mossa, J.S., Al-Yahya, M.A., Al-Said, M.S and Tariq, M., 1986. Anti-inflammatory activity of some gastrointestinally acting plant extracts and their combination. *Arzneimittelforschung*, 51, 545-553
- Agusti J, Herold S, Schwarz M, Sanchez P, Ljung K, Dun EA, Brewer PB, Beveridge CA, Sieberer T, Sehr EM, Greb T., 2011. Strigolactone signaling is required for auxin-dependent stimulation of secondary growth in plants. *Proc Natl Acad Sci USA*. 108, 20242–20247.
- Ahmed, Z.F., Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Seif El Nasr, M.M., 1972. Glucosinolates of Egyptian *Capparis* species. *Phytochemistry* 11, 251-256.
- Akiyama K, Matsuzaki K, Hayashi H., 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature.*, 435, 824-827.
- Akiyama K, Hayashi H. 2006. Strigolactones: chemical signals for fungal symbionts and parasitic weeds in plant roots. *Annals of Botany*. 97: 925– 931.
- AL-Ashoush, A., 2017. Effect of Some Chemical Factors on Production of Pentacyclic Triterpenoids In Callus and Cell Suspension Culture of *Lantana camara* L. Msc. Thesis. Faculty of Agriculture. The University of Jordan, Amman. Jordan.
- Al-Babili S, Bouwmeester HJ., 2015. Strigolactones, novel carotenoid-derived plant hormones. *Annu Rev Plant Biol.* 2015;66,161–186.
- Ali, Z.N.; Eddouks, M.; Michel, J.B.; Sulpice, T.; Hajji, L., 2007. Cardiovascular effect of *Capparis spinosa* aqueous extract. Part III: Antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Am. J. Pharmacol. Toxicol.* 2, 111–115.
- Ananya D.A., Debprasad C., 2019. 18.04.2020. New Look to Phytomedicine, 2019. <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/ethnomedicine>
- Anonim, 2014. Tripadvisor. Erişim Tarihi 20.03.2020. https://www.tripadvisor.fr/LocationPhotoDirectLink-g2014202-d12708888-i273696924-Giardino_dei_Semplici-Miasino_Province_of_Novara_Piedmont.html

- Antognoni, M., Faudale, F., Poli, S. and Biondi, F., 2008. Methyl jasmonate differentially affects tocopherol content and tyrosine amino transferase activity in cultured cells of *Amaranthus caudatus* and *Chenopodium quinoa*. *Plant Biol.* 11, 161-169.
- Arena, A., Bisignano, G., Pavone, B., Tomaino, A., Bonina, F. P., Saija, A., ... & Trombetta, D., 2008. Antiviral and immunomodulatory effect of a lyophilized extract of *Capparis spinosa* L. buds. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives.* 22(3), 313-317.
- Argentieri, M., Macchia, F., Papadia, P., Fanizzi, F. P., & Avato, P., 2012. Bioactive compounds from *Capparis spinosa* subsp. *rupestris*. *Industrial Crops and Products*, 36(1), 65-69.
- Ayaz, F. A., Demir, O., Torun, H., Kolcuoglu, Y., & Colak, A., 2008. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. *Food Chemistry*, 106(1), 291-298.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., & Özcan, S., 2001. *Plant Biotechnology I, Tissue Culture and its Applications.*
- Baenas, N., Villaño, D., García-Viguera, C., & Moreno, D. A., 2016. Optimizing elicitation and seed priming to enrich broccoli and radish sprouts in glucosinolates. *Food Chemistry*, 204, 314-319.
- Bahrani, M. J., Ramazani Gask, M., Shekafandeh, A., & Taghvaei, M., 2008. Seed germination of wild caper (*Capparis spinosa* L., var. *parviflora*) as affected by dormancy breaking treatments and salinity levels. *Seed Science and Technology*, 36(3), 776-780.
- Bakr, R. O., & El Bishbishy, M. H., 2016. Profile of bioactive compounds of *Capparis spinosa* var. *aegyptiaca* growing in Egypt. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(4), 514-520.
- Barbera G., Di Lorenzo R., 1984. The caper culture in Italy. *Acta Hort.* 144:167-171.
- Bedir, E., Tatli, I. I., Khan, R. A., Zhao, J., Takamatsu, S., Walker, L. A., Goldman, P., & Khan, I. A. 2002. Biologically active secondary metabolites from *Ginkgo biloba*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(11), 3150-3155.
- Behnaz, M., Davood, E. A., & Atena, A., 2013. Diurnal change in rutin content in *Capparis spinosa* growing wild in Tafresh/Iran. *Eur. J. Exp. Biol.* 3, 30-34.

- Biondi, S., Scaramagli, S., Oksman-Caldentey, K.-M. and Poli, F., 2002. Secondary metabolism in root and callus cultures of *Hyoscyamus muticus* L.: The relationship between morphological organisation and response to methyl jasmonate. *Plant Sci.* 163, 563-569.
- Brewer, P. B., Dun, E. A., Ferguson, B. J., Rameau, C., & Beveridge, C. A., 2009. Strigolactone acts downstream of auxin to regulate bud outgrowth in pea and *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 150(1), 482-493.
- Cebeci Z., 2009 Erişim Tarihi 20.01.2020
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Capparis_spinosa_var._spinosa.jpg
- Chedraoui, S., Abi-Rizk, A., El-Beyrouthy, M., Chalak, L., Ouaini, N., & Rajjou, L., 2017. *Capparis spinosa* L. in A Systematic Review: A Xerophilous Species of Multi Values and Promising Potentialities for Agrosystems under the Threat of Global Warming. *Frontiers in Plant Science*, 8.
- Cheng X, Ruyter-Spira C, Bouwmeester H., 2013. The interaction between strigolactones and other plant hormones in the regulation of plant development. *Front Plant Sci.* 4,199.
- Cline, M. G., 1991. Apical dominance. *The Botanical Review*, 57(4), 318-358.
- Coenen, C., & Lomax, T. L., 1997. Auxin-cytokinin interactions in higher plants: old problems and new tools. *Trends in Plant Science*, 2(9), 351-356.
- Condurso, C., Mazzaglia, A., Tripodi, G., Cincotta, F., Dima, G., Maria Lanza, C., & Verzera, A., 2015. Sensory analysis and head-space aroma volatiles for the characterization of capers from different geographic origin. *Journal of Essential Oil Research*, 28(3), 185–192.
- Cook CE, Whichard LP, Turner B, Wall ME, Egley GH., 1966. Germination of Witchweed (*Striga lutea* Lour.): Isolation and Properties of a Potent Stimulant. *Science*. 154, 1189-1190.
- Coste, A., Vlase, L., Halmagyi, A., Deliu, C., & Coldea, G., 2011. Effects of plant growth regulators and elicitors on production of secondary metabolites in shoot cultures of *Hypericum hirsutum* and *Hypericum maculatum*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 106(2), 279-288.
- Crozier A, Clifford M, Ashihara H., 2007. Phenols, Polyphenols and Tannins: An Overview. *Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*.
- Çalış, İ., Kuruüzüm-Uz, A., Lorenzetto, P. A., and Rüedi, P., 2002. (6S)-Hydroxy-3-oxo- α -ionol glucosides from *Capparis spinosa* fruits. *Phytochemistry*, 59(4), 451-457.

- Davis, P.H., 1982. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Edinburgh University Press, Vol. 7. Edinburgh.
- De Saint GA, Ligerot Y, Dun EA, Pillot J-P, Ross JJ, Beveridge CA, Rameau C., 2013. Strigolactones stimulate internode elongation independently of gibberellins. *Plant Physiol.* 163,1012–1025.
- Dekanski D., Ristić S., Radonjić N.V., Petronijević N.D., Dekanski A., Mitrović D.M., 2011. Olive leaf extract modulates cold restraint stress-induced oxidative changes in rat liver. *J. Serb. Chem. Soc.* 76,1207–1218.
- Dun EA, de Saint GA, Rameau C, Beveridge CA., 2012. Antagonistic action of strigolactone and cytokinin in bud outgrowth control. *Plant Physiol.* 158:487–498.
- Dun EA, de Saint GA, Rameau C, Beveridge CA., 2013. Dynamics of strigolactone function and shoot branching responses in *Pisum sativum*. *Mol Plant.* 6,128–140.
- El-Ghorab, A., Shibamoto, T., & Özcan, M. M., 2007. Chemical Composition and Antioxidant Activities of Buds and Leaves of Capers (*Capparis ovata Desf. var. canescens*) Cultivated in Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 19(1), 72–77.
- Elmaghrabi, A. M., Abughnia, E., & Hamoud, S., 2017. *In vitro* propagation of the wild medicinal plant, caper (*Capparis spinosa* L.). *African Journal of Biotechnology*. ISSN, 1684-5315.
- Evans, D. A., & Sharp, W. R., 1986. Applications of somaclonal variation. *Bio/technology*, 4(6), 528-532.
- Farzad Kianersi, Mohammad Reza Abdollahi, Asghar Mirzaie-asl, Dara Dastan., 2020. Plant Cell Tissue and Organ Culture. Biosynthesis of rutin changes in *Capparis spinosa* due to altered expression of its pathway genes under elicitors' supplementation. Identification and expression analysis of genes associated with secondary metabolites in medicinal species.
- Foo E, Bullier E, Goussot M, Foucher F, Rameau C, Beveridge CA., 2005. The branching gene RAMOSUS1 mediates interactions among two novel signals and auxin in pea. *The Plant Cell* 17: 464–474.
- Georgiev, V., Ilieva, M., Bley, T., & Pavlov, A., 2008. Betalain production in plant in vitro systems. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30(5), 581-593.
- Germanà, M. A., & Chiancone, B., 2008. In vitro germination and seedling development of caper (*Capparis spinosa* L.) mature seeds. *International Symposium on Biotechnology of Fruit Species*. Biotechfruit. 839, 181-186.

- Germano, M.P., Pasquale, R.D.E., V. D'Angelo, V.D., Catania, S., Silvani, V., and Costa, C., 2002. Evaluation of extracts and isolated fraction from *Capparis spinosa* L. buds as an antioxidant source. *J. Agric. Food Chem.*, 27: 1168-1171.
- Goda SM, Ahmed SA, El Sherif F, Hassanean HA, Ibrahim AK., 2017. Genetically stable plants with boosted flavonoids content after *in vitro* regeneration of the endangered *Capparis spinosa* L.
- Gomez-Roldan, V., Fermas, S., Brewer, P. B., Puech-Pagès, V., Dun, E. A., Pillot, J. P & Bouwmeester, H., 2008. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature*, 455(7210), 189-194.
- Grobbelaar, M. C., Makunga, N. P., Stander, M. A., Kossmann, J., & Hills, P. N., 2014. Effect of strigolactones and auxins on growth and metabolite content of *Sutherlandia frutescens* (L.) R. Br. microplants *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 117(3), 401-409.
- Gull, T., Anwar, F., Sultana, B., Alcaide, C. A. M., and Nouman, W., 2015. *Capparis* species: a potential source of bioactives and high-value components: a review. *Ind. Crops Prod.* 67, 81–96.
- Gunjan M., Naing T.W., Saini R.S., Ahmad A., Naidu J.R., Kumar I., 2015. Marketing trends & future prospects of herbal medicine in the treatment of various disease. *World J. Pharm. Res.* 4:132–155.
- Gupta A., Birhman K., Raheja I., Sharma S.K., Kar H.K., 2016. Quercetin: A wonder bioflavonoid with therapeutic potential in disease management. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 6:248–252.
- Haifa A.-Y., Emna M., Wafa R., Lamia H., Slim R., Mohamed N.R., Zeineb G.-G., 2016. Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous and ethanolic leaf extracts of six Tunisian species of genus *Capparis* – *Capparaceae*. *Industrial Crops and Products*. 92, 218-226, ISSN 0926-6690.
- Hall, J. C., Sytsma, K. J., & Iltis, H. H., 2002. Phylogeny of *Capparaceae* and *Brassicaceae* based on chloroplast sequence data. *American Journal of Botany*, 89(11), 1826-1842.
- Hamed, A.R., Abdel-Shafeek, K.A., Abdel-Azim, N.S., Ismail, S.I., Hammouda, F.M., 2007. Chemical investigation of some *Capparis* species growing in Egypt and their antioxidant activity. *eCAM* 4 (S1), 25-28.
- Hayward A, Stirnberg P, Beveridge C, Leyser O., 2009. Interactions between auxin and strigolactone in shoot branching control. *Plant Physiol.* 15, 400–412.
- Hu Z, Yamauchi T, Yang J, Jikumar Y, Tsuchida-Mayama T, Ichikawa H, Takamura I, Nagamura Y, Tsutsumi N, Yamaguchi S, Kyojuka J, Nakazono M., 2014. Strigolactone and cytokinin act antagonistically in regulating rice mesocotyl elongation in darkness. *Plant Cell Physiol.* 55, 30–41.

- Humphrey, A. J., & Beale, M. H., 2006. Strigol: biogenesis and physiological activity. *Phytochemistry*, 67(7), 636-640.
- Hussain, J., Bassal, M., Sarhan, H., Issam, M., & Aga, H. 2017. Qualitative and quantitative comparison of rutin, quercetin and gallic acid concentrations in Syrian *Capparis spinosa* L. Leaves. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 407-415.
- Inocencio C., Rivera D., Alcaraz F., Tomás-Barberán F.A., 2000. Flavonoid content of commercial capers (*Capparis spinosa*, *C. sicula* and *C. orientalis*) produced in Mediterranean countries. *Eur. Food Res. Technol.* 212,70–74.
- Jeong GA, Park DH. Enhanced secondary metabolite biosynthesis by elicitation in transformed plant root system: effect of abiotic elicitors. *Appl Biochem Biotechnol.* 2006;129:436–46.
- Jin JH, Shin JH, Kim JH, Chung IS, Lee HJ.,1999. Effect of chitosan elicitation and media components on the production of anthraquinone colorants in madder (*Rubia akane* Nakai) cell culture. *Biotechnol Bioprocess Eng.* 4:300.
- Johnson AW, Roseberry G. & Parker C. 1976 A novel approach to Striga and Orobanche control using synthetic germination stimulants. *Weed Research* 16, 223– 227.
- Kaçar, D., 2008. Screening of some plant species for their total antioxidant and antimicrobial activities. Master's thesis, İzmir Institute of Technology, Turkey.
- Kapulnik Y, Resnick N, Mayzlish-Gati E, Kaplan Y, Wininger S, Hershenhorn J, Koltai H., 2011. Strigolactones interact with ethylene and auxin in regulating root-hair elongation in *Arabidopsis*. *J Exp Bot.* 62, 2915–2924.
- Karataş, Ş., Altınar, D. D., & Tarin, E., 2014. Effect of enzymes for increasing amount of anthocyanin in black carrot juice. *International journal of food engineering research*, 2(2), 29-42.
- Karuppaiya, P., & Tsay, H. S., 2020. Enhanced production of podophyllotoxin, kaempferol, and quercetin from callus culture of *Dysosma pleiantha* (Hance) Woodson: An endangered medicinal plant. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 67(1), 95-104.
- Karuppusamy S., 2009. A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *in vitro* tissue, organ and cell cultures. *J Med Plants Res.* 3,1222–39.
- Khalaf, G. H. A., & Arafeh, R., 2012. *in Vitro* Root Induction and Culture of the Medicinal Plant *Capparis spinosa* L.

- Kianersi, F., Abdollahi, M. R., Mirzaie-asl, A., Dastan, D., & Rasheed, F., 2020. Identification and tissue-specific expression of rutin biosynthetic pathway genes in *Capparis spinosa* elicited with salicylic acid and methyl jasmonate. *Scientific Reports*, 10(1), 1-15.
- Kiong AL, Mahmood M, Fodzillan NM, Daud SK., 2005. Effects of precursor supplementation on the production of triterpenes by *Centella asiatica* callus culture. *Pak J Biol Sci.* 8,1160–9.
- Koltai H., 2015. Cellular events of strigolactone signalling and their crosstalk with auxin in roots. *J Exp Bot.* 66, 4855–4861.
- Korkmaz A., Kolankaya D., 2010. Protective effect of rutin on the ischemia/reperfusion induced damage in rat kidney. *J. Surg. Res.* 164, 309–315.
- Kotzé, L. M. 2010. An investigation into the effects of smoke-water and GR24 on the growth of nicotiana benthamiana seedlings (Doctoral dissertation, Stellenbosch: University of Stellenbosch, South Africa.
- Kumari, M., Asthana, N., & Kumari, R., 2015. Plantlets regeneration through callus culture in *Caparis spinosa* Linn.
- Lavedrine, F.; Ravel, A.; Poupard, A.; Alary, J., 1997. Effect of geographic origin, variety and storage on tocopherol concentrations in walnuts by HPLC. *Food Chem.* 58, 135–140.
- Locatelli M., Zengin G., Uysal A., Carradori S., De Luca E., Bellagamba G., Aktumsek A., Lazarova I., 2017. Multicomponent pattern and biological activities of seven asphodeline taxa: Potential sources of natural-functional ingredients for bioactive formulations. *J. Enzyme Inhib. Med. Chemistry.* 32, 60–67.
- Lopez-Raez JA, Kohlen W, Charnikhova T, Mulder P, Undas AK, Sergeant MJ, Verstappen F, Bugg TDH, Thompson AJ, Ruyter-Spira C, Bouwmeester H., 2010. Does abscisic acid affect strigolactone biosynthesis. *New Phytol.* 187, 343–354.
- Mangnus, E. M., & Zwanenburg, B. 1992. Tentative molecular mechanism for germination stimulation of Striga and Orobanche seeds by strigol and its synthetic analogs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(6), 1066-1070.
- Matthaus, B., & Ozcan, M., 2005. Glucosinolates and fatty acid, sterol and tocopherol composition of seed oils from *Capparis spinosa* var. *spinosa* and *Capparis ovata* desf. var. *canescens* (Coss.) Heywood. *J. Agric. Food. Chem.*, 53: 7136-7141.

- Miguel, C; Marum, L., 2011. An epigenetic view of plant cells cultured *in vitro*: somaclonal variation and beyond. J Exp Bot. 62 (11), 3713-25.
- Milde J., Elstner E.F., Grassmann J., 2004. Synergistic inhibition of low-density lipoprotein oxidation by rutin, gamma-terpinene, and ascorbic acid. Phytomedicine. 11,105–113.
- Minakuchi K, Kameoka H, Yasuno N, Umehara M, Luo L, Kobayashi K, Hanada A, Ueno K, Asami T, Yamaguchi S, Kyojuka J., 2010. FINE CULM1 (FC1) works downstream of strigolactones to inhibit the outgrowth of axillary buds in rice. Plant Cell Physiol. 51,1127–1135.
- Misawa, M., 1994. Plant tissue culture: an alternative for production of useful metabolites (No. 108). Food & Agriculture Org.
- Moghaddasian, B., Eradatmand Asli, D., & Alaghemand, A. 2012. Quantitative analysis of quercetin in different parts of *Capparis spinosa* by HPLC. Annals of Biological Research, 3(12), 5775-5778.
- Moreira, M. A., Santos, J. C., Ferreira, A. F., Loureiro, J. M., Ragon, F., Horcajada, P., & Serre, C., 2012. Reverse shape selectivity in the liquid-phase adsorption of xylene isomers in zirconium terephthalate MOF UiO-66. Langmuir, 28(13), 5715-5723.
- Motahareh K.R., Askar G., Esmaeel G., 2020. *In vitro* effects of *Capparis spinosa* L. extract on human sperm function, DNA fragmentation, and oxidative stress, Journal of Ethnopharmacology, Volume 269, 2021, 113702, ISSN 0378-8741.
- Mulabagal, V., & Tsay, H. S., 2004. Plant cell cultures-an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. International Journal of Applied Science and Engineering, 2(1), 29-48.
- Munne-Bosch, S, 2005. The role of R-tocopherol in plant stress tolerant. Journal of Plant Physiology. 162, 743–748.
- Murashige, T., & Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Musallam I., Duwayri M., Shibli R., & F. Alali, 2012. Investigation of Rutin Content in Different Plant Parts of Wild Caper (*Capparis spinosa* L.) Populations from Jordan. Research Journal of Medicinal Plants. 6: 27-36.
- Musallam I., Mahmud D., Rida A.S., 2011. Micropropagation of cappers (*capparis spinosa*) from wild plants. Functional Plant science and Biotechnology. Global science books.

- Nabavi, S. F., Maggi, F., Daglia, M., Habtemariam, S., Rastrelli, L., & Nabavi, S. M. 2016. Pharmacological effects of *Capparis spinosa* L. *Phytother. Res.* 30, 1733–1744.
- National Toxicology Program, 2003. NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of 2, 4-hexadienal (89% Trans, trans Isomer, CAS No. 142-83-6; 11% Cis, trans Isomer)(Gavage Studies). National Toxicology Program technical report series, (509), 1-290.
- Nijveldt R.J., van Nood E., van Hoorn D.E., Boelens P.G., van Norren K & van Leeuwen P.A., 2001. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74, 418–425.
- Özdemir F., Öztürk M, 1996. Studies on the autecology of *Capparis* L. Species distributed in west Anatolia. *Turkish Journal of Botany.* 20:117–127.
- Palacio, L., Cantero, J. J., Cusidó, R. M. & Goleniowski, M. E., 2012. Phenolic compound production in relation to differentiation in cell and tissue cultures of *Larrea divaricata* (Cav.). *Plant science*, 193, 1-7.
- Panico, A.M., Cardile, V., Garufi, F., Puglia, C., Bonina, F & Ronsisvalle, G., 2005. Protective effect of *Capparis spinosa* on chondrocytes. *Life Sci.*, 77: 2479-2488
- Pasqua, G., Monacelli, B., Silvestrini, A., 2003. Accumulation of essential oils in relation to root differentiation in *Angelica archangelica* L. *Eur. J. Histochem.* 47, 87-90.
- Rajesh, P., Selvamani, P., Latha, S., Saraswathy, A., & Kannan, V., 2009. A review on chemical and medicobiological applications of capparidaceae family. *Pharmacognosy Reviews*, 3(6), 378.
- Ramachandra, R.S., Ravishankar, G.A., 2002. Plant Cell Cultures: Chemical Factories of Secondary Metabolite. *Biotechnology Advances*, 20, 101-153.
- Ramezani-Gask M., Bahrani M.J., Shekafandeh A., Salehi H., Taghvaei M., Al-Ahmadi M.J., 2008. A comparison of different propagation methods of common caper-bush (*Capparis spinosa* L.) as a new horticultural crop. *Int. J. Plant Dev. Biol.* 2:106–110.
- Rasmussen A, Beveridge CA, Geelen D. 2006. Inhibition of strigolactones promotes adventitious root formation. *Plant Signal Behav.* 2012;7:694–697.
- Rasmussen A, Depuydt S, Goormachtig S, Geelen D., 2013. Strigolactones fine-tune the root system. *Planta.* 238, 615–626 (a).

- Rasmussen A, Heugebaert T, Matthyse C, Van Deune R, Boyer F-D, Goormachtig S, Stevens C, Geelen D., 2013. A fluorescent alternative to the synthetic strigolactone GR24. *Mol Plant*. 6,100–112 (b).
- Rasmussen A, Mason MD, Cuyper C, Brewer PB, Herold S, Agusti J, Geelen D, Greb T, Goormachtig S, Beeckman T, Beveridge CA., 2012. Strigolactones suppress adventitious rooting in *Arabidopsis* and pea. *Plant Physiol*. 2012;158:1976–1987.
- Rezzan, A., Ozan, E. E., Huseyin, S., Oktay, Y., & Nimet, B., 2013. Phenolic components, antioxidant activity, and mineral analysis of *Capparis spinosa* L. *African Journal of Biotechnology*, 12(47), 6643–6649.
- Rhizopoulou S., Psaras G.K., 2003. Development and structure of drought-tolerant leaves of the Mediterranean shrub *Capparis spinosa* L. *Ann. Bot.* 92, 377–383.
- Rivera, D., Inocencio, C., Obon, C., and Alcaraz, F., 2003. Review of food and medicinal uses of *Capparis* L. subgenus *Capparis* (Capparidaceae). *Econ. Bot.* 57, 515–534.
- Robins, R.J., Parr, A.J. and Walton, N.J., 1991. Studies on the biosynthesis of tropane alkaloids in *Datura stramonium* L. transformed root cultures. 2. On the relative contribution of L-arginine and L-ornithine to the formation of the tropane ring. *Planta*, 183, 196–201.
- Rodrigo, M., Lazaro, M. J., Alvarruiz, A., & Giner, V. (1992). Composition of capers (*Capparis spinosa*): influence of cultivar, size and harvest date. *Journal of Food Science*, 57(5), 1152–1154.
- Scowcroft, W. R., 1985. Somaclonal variation: the myth of clonal uniformity. In *Genetic flux in plants* (pp. 217–245). Springer, Vienna.
- Shah, R. Subbaiah, K. and Mehta, A., 1976. Hormonal effect on polyphenol accumulation in cassia tissues cultured *in vitro* R. *Canadian Journal of Botany*. 54(11) : 1240–1245
- Shamam K. O., Raid M.H.A, Sajid H. G. and Ali B. R., 2019. Study of the role of polyphenolic extract of *capparis spinosa* l. leaves as acute toxicity and antibacterial agent, *Plant Archives* Vol. 19 No. 2, 2019 pp. 3821–3829 e-ISSN:2581-6063 (online), ISSN:0972-5210.
- Sharaf M, El-Ansari MA, Saleh NA., 1997. Flavonoids of four *Cleom* and three *Capparis* species. *Biochem Syst Ecol*. 25, 161–166.
- Sher, H., & Alyemeni, M. N., 2010. Ethnobotanical and pharmaceutical evaluation of *Capparis spinosa* L, validity of local folk and Unani system of medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(17), 1751–1756.

- Siracusa, L., Kulisic-Bilusic, T., Politeo, O., Krause, I., Dejanovic, B., Ruberto, G., 2011. Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous infusions from *Capparis spinosa* L. and *Crithmum maritimum* L. before and after submission to a two-step *in vitro* digestion model. J. Agric. Food Chem. 59, 12453–12459.
- Siwach, P., & Gill, A. R. (2014). Micropropagation of *Ficus religiosa* L. via leaf explants and comparative evaluation of acetylcholinesterase inhibitory activity in the micropropagated and conventionally grown plants. 3 Biotech, 4(5), 477-491.
- Sozzi, G. O., & Chiesa, A., 1995. Improvement of caper (*Capparis spinosa* L.) seed germination by breaking seed coat-induced dormancy. Scientia Horticulturae, 62(4), 255-261.
- Sozzi, G. O., Peter, K. V., Babu, K. N., & Divakaran, M., 2012. Capers and caperberries. In *Handbook of herbs and spices* (pp. 193-224). Woodhead Publishing.
- Sökmen, A., & Gürel, E. 2001. Sekonder metabolit üretimi. Bitki Biyoteknolojisi, 1, 211-261.
- Staniszewska I, Krolicka A, Mali E, Ojkowska E, Szafranek J., 2003. Elicitation of secondary metabolites in *in vitro* cultures of *Ammi majus* L. Enzyme Microbiol Technol. 3, 565–8.
- Stirnberg P, Ward S, Leyser O., 2010. Auxin and strigolactones in shoot branching: intimately connected? Biochem Soc Trans. 38, 722–727.
- St-Pierre, B., Vazquez-Flota, F.A. and De Luca, V., 1999. Multicellular compartmentation of Catharanthus roseus alkaloid biosynthesis predicts intercellular translocation of a pathway intermediate. Plant Cell, 11, 887-900.
- Tea K., Ingrid S., Kerstin S., Laura S., Giuseppe R., 2012. The anticarcinogenic potential of essential oil and aqueous infusion from caper (*Capparis spinosa* L.), food Chemistry, Volume 132, Issue 1, Pages 261-267, ISSN 0308-8146.
- Tlili N., Khaldi A., Triki S., Munné-Bosch S., 2010. Phenolic compounds and vitamin antioxidants of caper (*Capparis spinosa*) Plant Foods Hum. Nutr. 65, 260–265..
- Tlili, N., El-Fallah, W., Saadadoui, E., Khaldi, A. H., Triki, S., and Nasri, N., 2011. The caper (*Capparis* L.): ethnopharmacology, phytochemical and pharmacological properties. Fitoterapia 82, 93–101.

- Tlili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, A., & Nasri, N., 2015. Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seeds harvested from different wild habitats. *Industrial Crops and Products*, 76, 930–935.
- Tlili, N., Nasri, N., Saadaoui, E., Khaldi, A., & Triki, S., 2009. Carotenoid and tocopherol composition of leaves, buds and flowers of *Capparis spinosa* grown wild in Tunisia. *J. Agric. Food Chem.*, 57, 5381-5385.
- Tonçer, Ö. Akın, S., 2000, Güneydogu anadolu bölgesinde keberenin ekonomik getirisi ve yetistiriciligi. *Elektronik sosyal bilimler dergisi*, c4, S9, 87-94.
- Trombetta, D., Occhiuto, F., D. Perri, D., Puglia, C & Santagati, N.A., 2005. Antiallergic and antihistaminic effect of two extracts of *Capparis spinosa* L. flowering buds. *Phytother. Res.*, 19: 29-33.
- Udomsuk, L., Jarukamjorn, K., Tanaka, H., & Putalun, W., 2011. Improved isoflavonoid production in (*Pueraria candollei*) hairy root cultures using elicitation. *Biotechnology Letters*. 33(2): 369-374.
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyojuka J, Yamaguchi S., 2008. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*. 455, 195-200.
- Vardapetyan, H. R., Oganessian, A. A., Kabasakalyan, E. E., & Tiratsuyan, S. G. 2006. The influence of some elicitors on growth and morphogenesis of *Hypericum perforatum* L. callus cultures. *Russian Journal of Developmental Biology*, 37(6), 350-353.
- Verpoorte, R., Contin, A., & Memelink, J., 2002. Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry reviews*, 1(1), 13-25.
- Vijaya SN, Udayasri PV, Aswani KY, Ravi BB, Phani KY, Vijay VM., 2010. Advancements in the production of secondary metabolites. *J Nat Prod*. 3,112–23.
- Wang, Y. T., Gan, L., Liu, W., Yu, L. J., & Li, M. T., 2007. Research on the callus inducing and the cell growth and metabolism characteristics of *Capparis spinosa* L. *Progress in Modern Biomedicine*, 7(12), 1779-1783.
- Watson L., Dallwitz MJ. 1992. "The Families of Flowering Plants". <http://delta-intkey.com/angio/www/capparid.htm>
- Williams, E.G. and Maheswaran, G., 1986. Somatic embryogenesis: Factors influencing coordinated behaviour of cells as an embryogenic group. *Ann Bot*. 57, 443-462.

- World Health Organization (WHO) Regulatory Situation of Herbal Medicines., 2013. A Worldwide Review. World Health Organization (WHO); Geneva, Switzerland.
- Wu, Y., Dor, E., and Hershenhorn, J., 2017. Strigolactones affect tomato hormone profile and somatic embryogenesis. *Planta*, 245(3), 583-594.
- Xie, X., Yoneyama, K. & Yoneyama, K., 2010. The strigolactone story. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48,93-117.
- Yamada Y, Furusawa S, Nagasaka S, Shimomura K, Yamaguchi S, Umehara M., 2014. Strigolactone signaling regulates rice leaf senescence in response to a phosphate deficiency. *Planta*. 240, 399–408.
- Yemiş, O. 2008. "Kapari acılık bileşenleri ve flavonoidlerin proses sırasındaki değişimi". Ankara Üniversitesi, Turkey.
- Yukimune, Y., Tabata, H., Higashi, Y. and Hara, Y., 1996. Methyl jasmonate induced over production of paclitaxel and baccatin III in *Taxus* cell suspension cultures. *Nature Biotech.* 14, 1129-113.
- Zhao, C., Lu, Z., Li, C., He, X., Li, Z., Shi, K., ... Zu, Y. (2014). Optimization of Ionic Liquid Based Simultaneous Ultrasonic- and Microwave-Assisted Extraction of Rutin and Quercetin from Leaves of Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) by Response Surface Methodology. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–11.
- Zwanenburg, B., Ćavar Zeljković, S., & Pospíšil, T., 2016. Synthesis of strigolactones, a strategic account. *Pest Management Science*, 72(1), 15–29.

