

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MEŞE SARIBAŞI (*Centaurea ptosimopappa* HAYEK) BİTKİSİNİN
IN VİTRO KÜLTÜRE ALINMASI VE KALLUS KÜLTÜRLERİNİN
OLUŞTURULMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

BANU DOĞAN

KOCAELİ 2023

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MEŞE SARIBAŞI (*Centaurea ptosimopappa* HAYEK) BİTKİSİNİN
IN VİTRO KÜLTÜRE ALINMASI VE KALLUS KÜLTÜRLERİNİN
OLUŞTURULMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

BANU DOĞAN

Prof. Dr. Ahmet AYGÜN
Danışman, Kocaeli Üniv.

.....

Prof. Dr. Fazıl ÖZEN
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniv.

.....

Prof. Dr. Bekir ŞAN
Jüri Üyesi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv.

.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 25.01.2023

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ

Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez/proje çalışmada,

- Bu tezin/projenin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu,
- Çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı,
- Bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi,
- Bu çalışmanın Kocaeli Üniversitesi'nin abone olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Fen Bilimleri Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun olduğunu,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Tezin/Projenin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez/proje çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.

☒ Bu tez/proje çalışmasının herhangi bir aşaması hiçbir kurum/kuruluş tarafından maddi/alt yapı desteği ile desteklenmemiştir.

☐ Bu tez/proje çalışması kapsamında üretilen veri ve bilgiler tarafından no'lu proje kapsamında maddi/alt yapı desteği alınarak gerçekleştirilmiştir.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

.....
(İmza)

.....
(Öğrencinin Adı Soyadı)

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI

Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/projemin tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda belirtilen koşullarla kullanıma açma izninin Kocaeli Üniversitesi'ne verdiğimi beyan ederim. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin/projemin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanımı bana ait olacaktır.

Tezin/projenin kendi özgün çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin/projenin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricinde YÖK Ulusal Tez Merkezi/ Kocaeli Üniversitesi Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- ☐ Enstitü yönetim kurulu kararı ile tezimin/projemin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.
- ☐ Enstitü yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin/projemin erişime açılması mezuniyet tarihinden itibaren 6 ay ertelenmiştir.
- ☒ Tezim/projem ile ilgili gizlilik kararı verilmemiştir.

.....
(İmza)

.....
(Öğrencinin Adı Soyadı)

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca her zaman yardım ve desteğini benden esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Ahmet AYGÜN'e, deneysel araştırmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sabırla ve sebatla benimle laboratuvar da çalışma yapan en büyük destekçim sayın Doç. Dr. Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL'a,

Deneysel çalışmalarımı yaptığım Bitki Biyoteknoloji Laboratuvarı kurucusu ve çok değerli hocam Prof. Dr. Fazıl ÖZEN'e, bilgisini ve deneyimlerini esirgemeyen Doç. Dr. Arda ACEMİ'ye teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımda kullandığım tohumların temini için Prof. Dr. Kazım MAVİ'ye ayrıca teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarımın her aşamasında sabırla benimle ilgilenen ve yardımını esirgemeyen doktora öğrencisi sevgili Buse Çökmez'e, Merve Çakır'a, Hanife Aldemir'e, Nazlı Cen'e, Merve Yavuz'a, Ahmet Öztürk'e en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Öğretmen arkadaşlarım sevgili; Esmâ Nur Kozluca'ya ve Kevser Çuhadaroğlu'na, Betül Doruk'a, Merve Arslan'a benim sorumlugumu kendi sorumlulukları gibi bildikleri ve bu yolda her zaman yanımda oldukları için ayrıca teşekkür ederim.

Maddi ve manevi olarak desteklerini hiçbir zaman bırakmayan eğitim hayatımda benden sadece kendimi geliştirmemi bekleyen ve zorlanıyorum devam edemeyeceğim dediğim de başarabilirsin sabret diyen annem Seher Doğan'a, babam İsmail Doğan'a, ablalarım Esmâ, Kadriye, Elif ve kardeşim Melik'e, abim gibi olan enişterime en büyük teşekkürü borç bilirim.

Bana kitap okumayı sevdiren, okuduğumuz kitapları beraber yorumladığımız, her konuşmamız bilimsel bir atmosferde geçen, 3 defa üniversiteyi kazandığı halde imkansızlıktan dolayı okuyamayan, ama kendini bir bilim insanı gibi geliştiren, yaşadığı günlerde keşfedilememiş bir cevher olan, 2022 yılı mart ayında bize vedan eden Sevgili Amcam Şevket DOĞAN' a ithafen...

Ocak-2023

Banu DOĞAN

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN VE ARAŞTIRMA FONU DESTEĞİ.....	i
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	v
TABLolar DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vii
ÖZET.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Asteraceae Familyası.....	2
2.2. Centaurea L.....	2
2.3 Kallus Kültürü.....	3
3.KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
4.MALZEME VE YÖNTEM.....	12
4.1. Malzeme.....	12
4.1.1. Bitkisel Materyal.....	12
4.2. Yöntem.....	13
4.2.1. Sterilizasyon Çalışmaları.....	13
4.2.2. Tohumların Yüzey Sterilizasyonu.....	13
4.2.3. Kullanılan Besin Ortamı Sterilizasyonu.....	13
4.2.4. Tohum Çimlendirme Denemeleri.....	15
4.2.4.1. Seyreltilmiş MS besisi ortamında çimlendirme.....	15
4.2.4.2. GA ₃ içeren MS besisi ortamında çimlendirme.....	15
4.2.4.3. Steril bitki toprağında (S.B.T.) çimlendirme.....	15
4.2.4.4. İki fazlı besin ortamında çimlendirme.....	15
4.2.4.5. Sıvı MS besisi ortamında çimlendirme.....	15
4.2.4.6. Steril pamuk içerisinde çimlendirme.....	16
4.2.5. Mikroçoğaltım Denemesi.....	16
4.2.7. Köklendirme Denemesi.....	17
4.2.6. Kallus Kültürü Denemesi.....	17
5.BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
5.1. Tohum Çimlendirme Denemeleri.....	19
5.2. Mikroçoğaltım Denemesi.....	21
5.3. Köklendirme Denemesi.....	23
5.4. Kallus Denemesi.....	25
5.5. Tartışma.....	31
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	36
KAYNAKLAR.....	38
KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4. 1.	<i>Centaurea ptosimopappa</i> bitkisinin Türkiye’deki dağılımı.....	12
Şekil 4. 2.	<i>Centaurea ptosimopappa</i> bitkisinin tohumlarına ait görünümeler	12
Şekil 4. 3.	MS besiyerinde çimlenmeye alınan tohumlar (A), steril pamuk ortamına ekilen tohumların görünümü (B).....	16
Şekil 4. 4.	Kallus kültürü, yaprak ve gövde eksplantı örneğinin görünümü.....	17
Şekil 5. 1.	Farklı ortamlarda çimlendirilen tohumların görünümü (A: steril pamuk, B: steril toprak, C: ½ MS besiyeri)	20
Şekil 5. 2.	Sürgünlerin gelişim aşamalarına ait görüntüler(soldan sağa; çimlendirme denemesi, Birinci alt kültür, İkinci alt kültür).....	22
Şekil 5. 3.	İkinci alt kültür aşamasında sürgünlerde meydana gelen çoğalmanın görünümü	22
Şekil 5. 4.	2,0 mg/L ve 4,0 mg/L IBA uygulamalarında köklenme ve sürgün gelişimine ait görüntüler	24
Şekil 5. 5.	2,0 mg/L IBA uygulamasında kök oluşumu (A: yandan, B: alttan görünüm).....	24
Şekil 5. 6.	3,0 mg/L BAP+ 0,5 mg/L NAA ortamında yaprak eksplantında kallus oluşumu	27
Şekil 5. 7.	3,0 mg/L BAP+ 0,0 mg/ NAA ortamında gövde eksplantı kallus oluşumu ve kalluslardan sürgün gelişimi (A), 3,0 mg/L BAP+ 1,0 mg/L NAA içeren MS ortamında kallus, sürgün ve kök oluşumu (B)	29
Şekil 5. 8.	Gövde eksplantında oluşan kök ve sürgün oluşumu, deneme öncesi (A), deneme sonrası (B).....	29

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4. 1.	Çalışmada kullanılan MS (Murashige and Skoog 1962) besin ortamının içeriği.....	14
Tablo 4. 2.	Kallus kültürü oluşturmada bitki üzenleyicilerinin kombinasyonları	17
Tablo 5. 1.	Farklı kültür ortamlarında <i>Centaurea</i> tohumlarının çimlenme oranları.....	19
Tablo 5. 2.	Meşe sarıbaşı tohumlarının farklı ortamlar da çimlenme hızı	21
Tablo 5. 3.	Mikroçoğaltım denemesinde 1. ve 2. alt kültüründe sürgün sayısı ve kalitesi	22
Tablo 5. 4.	Meşe sarıbaşı sürgünlerinde köklenme oranı, kallus oranı, kök uzunluğu, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu	23
Tablo 5. 5.	Bitki büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonlarının kallus oluşturma oranları	26
Tablo 5. 6	Yaprak eksplantı kallus büyüklüğü, dokusu, rengi ve kallusta oluşan yapılar	28
Tablo 5. 7.	Gövde eksplantı kallus büyüklüğü, dokusu, rengi ve kallusta oluşan yapılar.....	30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

atm	: Atmospheric Pressure (Atmosfer Basıncı)
°C	: Celsius (Santigrat Derece)
cm	: Centimeter (Santimetre)
diğ.	: Other (Diğer)
g	: Grams (Gram)
mg	: Miligram
ml	: Milliliter (Mililitre)
L	: Liter (Litre)
µM	: Micromolar (Mikromolar)
pH	: Poer of Hydrogen (Hidrojen Potansiyeli)
ppm	: Parts Per Million (Milyonda Bir Kısım)
%	: Percentage (Yüzde)

Kısaltmalar

BA	: 6-Benzyl Adenine (6- Benzil Adenin)
BAP	: 6-Benzylaminopurine (6- Benzilaminopürin)
B5	: Gamborg Nutrient Medium (Gamborg Besin Ortamı)
GA ₃	: Gibberellic Acid (Giberellik Asit)
HCl	: Hydrochloric Acid (Hidroklorik asit)
IAA	: Indole Acetic Acid (İndol Asetik Asit)
IBA	: Indol-3-Butyric Acid (İndol-3- Bütirik Asit)
IUCN	:International Union For Conservation of Nature (Uluslararası Doğayı Koruma Birliği)
MS	: Murashige ve Skoog Besin Ortamı
mT	: Meta-topolin
NAA	: Naphthalene Acetic Acid (Naftalen Asetik Asit)
NaClO	:Sodium Hypochlorite (Sodyum Hipoklorit)
NaOH	: Sodium Hydroxide (Sodyum Hidroksit)
KIN	: Kinetin
KNO ₃	: Potassium Nitrate (Potasyum Nitrat)
SH	: Schenk and Hildebrandt Nutrient Medium (Schenk ve Hildebrandt Besin Ortamı)
TDZ	: Thidiazuron
WH	: White Nutrient Medium (White Besin Ortamı)
2,4-D	: 2,4-D Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D Diklorofenoksi Asetik Asit)
2IP	: 2IP Isopentenyladenine (2- İzopenteniladenin)

MEŞE SARIBAŞI (*Centaurea ptosimopappa* HAYEK) BİTKİSİNİN *IN VİTRO* KÜLTÜRE ALINMASI VE KALLUS KÜLTÜRLERİNİN OLUŞTURULMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

ÖZET

Bu çalışmada Hatay florasında endemik olarak yetişen *Centaurea ptosimopappa* Hayek (Meşe sarıbaşı) bitkisinin tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlendirilerek kültüre alınması ve elde edilen *in vitro* bitkilerden yaprak ve gövde eksplantlarından kallus kültürlerinin oluşturulması amaçlanmıştır. Çimlendirme denemeleri için seyreltilmiş (1/2, 1/5 ve 1/10) Murashige ve Skoog (MS) besin ortamı, farklı dozlarda Giberellik asit (GA₃) (0,0, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) içeren MS besin ortamı, farklı dozlarda GA₃ (0,0, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) içeren steril bitki toprağı, iki fazlı besin ortamı (sıvı/katı), sıvı MS ve steril pamuk ortamlarında tohumlar *in vitro* kültüre alınmıştır. En yüksek çimlenme oranı %26,7 ile steril pamuk ortamında tespit edilmiştir. Çimlenen tohumlardan oluşan *in vitro* bitkilerden sürgün uçları alınarak 1,0 mg/L BA+ 0,1 mg/L IBA+ 0,5 mg/L GA₃ içeren MS besiyerinde 2 kez alt kültür yapılarak çoğaltılmıştır. Çoğaltılan sürgünlerden kallus oluşumu için yaprak ve gövde eksplantları alınmıştır. Bu eksplantlar, kallus oluşturmak amacıyla 6- Benzilamino Pürinin (BAP) (0,0, 1,0, 2,0 ve 3,0 mg/L), Naftalen Asetik Asit (NAA) (0,0, 0,5, 1,0, 2,0 ve 3,0 mg/L) ya da (0,0, 0,5, 1,0, 2,0 ve 3,0 mg/L) 2-4 Diklorofenoksi Asetik Asit (2,4-D) ile oluşturduğu kombinasyonları içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Yapraktan alınan eksplantta 1 mg/L BAP ilaveli ortamda, gövdeden alınan eksplantta ise 1,0 mg/L BAP + 2,0 mg/L NAA ilaveli ortamlarda %100 kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Ayrıca *in vitro* çoğaltılan sürgünler köklendirilmek üzere farklı dozlarda (0,0, 0,5, 1,0, 2,0 ve 4,0 mg/L) IBA içeren ortamlarda köklendirilmiştir. En iyi köklenme oranı 4,0 mg/L IBA ilaveli MS ortamında %77,7 oranında tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitki Büyüme Düzenleyici, *Centaurea ptosimopappa* Hayek, Çimlenme, Endemik Bitki.

RESEARCH ON *IN VITRO* CULTURE AND CALLUS CULTURES PROTOCOLS OF MEŞE SARIBAŞI (*Centaurea ptosimopappa* HAYEK) PLANT

ABSTRACT

In this study, it was aimed to cultivate the seeds of *Centaurea ptosimopappa* Hayek (Meşe sarıbaşı) plant, which grows endemic in the flora of Hatay, by germinating *in vitro* conditions and to establish callus cultures from leaf and stem explants obtained from *in vitro* plants. MS medium containing diluted (1/2, 1/5 and 1/10) Murassige Skoog (MS), Gibberellic acid (GA₃) (0.0, 0.5, 1.0, and 2.0 mg/L) doses for germination trials, (0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/L) sterile plant soil containing GA₃, dual phase medium (liquid/solid), liquid MS and sterile cotton media were cultured *in vitro*. The seeds were germinated in the best sterile cotton with a germination rate of 26.7 % shoot tips were taken and augmented by subculture 2 times in MS medium containing 1.0 mg/L BA+ 0.1 mg/L IBA+ 0.5 mg/L GA₃. Leaf and stem explants were taken for the formation of reproduced shoots callus. For the callus formation potential of these explants; (0.0, 1.0, 2.0 and 3.0 mg/L) 6- Benzylamino Purine (BAP), (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 and 3.0 mg/L) Naphthalene Acetic Acid (NAA) and (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 and 3.0 mg/L) were cultured in combinations of 2-4 Dichlorophenoxy Acetic Acid (2,4-D). 100% callus formation was observed in the media with the addition of 1.0 mg/L BAP in the explant taken from the leaf and in the media with the addition of 1.0 mg/L BAP + 2.0 mg/L NAA in the explant taken from the stem. In addition, *in vitro* propagated shoots were cultured in IBA containing media for rooting (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mg/L). The best root formation was determined at the rate of 77.7% in the medium with 4.0 mg/L IBA.

Keywords: Plant Growth Regulator, *Centaurea ptosimopappa* Hayek, Germination, Endemic Plant.

1.GİRİŞ

Türkiye coğrafi konumu nedeniyle çok zengin bitki örtüsüne ev sahipliği yapmaktadır. Ülkemiz topraklarında yaklaşık 12,000 bitki türü olduğu ve türlerden 3,649 tanesinin endemik olduğu bilinmektedir (Şenkul ve Kaya, 2017). Bu bitkiler ekonomik, tıbbi, farmakolojik, gıda, peyzaj, tarım gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. *Centaurea* cinsinin yabani türleri terapötik potansiyele sahiptir ve birçok çeşidi biyolojik olarak aktif bileşikler içerir. Bu bileşikler antitümör, antidiyabetik, antienflamatuar, antidepresan, antiromatizmal ve antimikrobiyal enzimatik özellikler içerir. Genellikle halk tıbbında iştah acııcı, akne önleyici, migren tedavisinde, kanser tedavisinde, ishal kesici, bitkilerin çiçekleri idrar söktürücü, tonik olarak, hemoroid, peptik, ülser ve soğuk algınlığı gibi hastalıkların tedavilerinde kullanılmaktadır (Sharonova ve diğ., 2021).

Bazı endemik türler çok dar alanda yayılış göstermektedir (Akyüz, 2016). Ülkemizin Hatay ve Osmaniye florasında dar bir alanda yetişen *Centaurea ptosimopappa* türünün doğada tükenme riskinin yüksek olması ve türün neslinin korunması biyoçeşitlilik için önem taşımaktadır. Bilinçsiz tarım, orman yangınları, kentleşme, sanayileşmenin artması, değişen iklim koşulları gibi birçok antropojenik veya doğal faktörler endemik türlerin neslinin tükenmesine ya da azalmasına neden olmaktadır. Nesli tükenme tehlikesi altındaki türlerin kaybolmaması, gelecek nesillere aktarılabilmesi için tohumların korunması ve çoğaltılması gerekmektedir. *In vitro* teknikler kullanılarak türlerin çoğaltılması genetik zenginliğin korunması için önemlidir. (Ekinci, 2019)

Bitkilerin farklı sebeplerle sayılarının azalması mevcut bitkilerin ihtiyacı karşılayamamasından dolayı *in vitro* çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmanın amacı *Centaurea ptosimopappa* tohumların *in vitro* teknikler kullanılarak çimlendirilmesi ve oluşan fidelerin yaprak ve gövde eksplantlardan kallus oluşturma potansiyellerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Asteraceae Familyası

Compositae veya Asteraceae olarak bilinen familyaya ait bitkiler dünyanın birçok kıtasında yayılış göstermektedir (Çelik, 2015). 1,911 cins ve 13 alt familyası bulunan bu familyanın tanımlanmış 32,913 türü olduğu bilinmekte ve her geçen gün yeni türlerin keşfi yapılmaktadır (Rustaiyan ve diğ., 2021). Asteraceae familyası Türkiye'nin en büyük bitki çeşitliliği olan 3 familyasından biridir. Filogenetik merkezi Güney Amerika bölgesi olduğu düşünülen bu familyaya ait çoğu türe ülkemiz ev sahipliği yapmaktadır ve ülkemizde ki türlerin %54'ü endemiktir. Bilinen 194 taksonun 105 tanesi endemik türdür (Canlı, 2018; Bremer ve diğ., 1992). Türlerin coğrafik dağılışı genellikle denize ve yükseltiye bağlı olarak değişmektedir. Tek yıllık ve çok yıllık türleri vardır (Jafarinia ve diğ., 2019). Bu türler içerdikleri sekonder metabolitler sayesinde birçok alanda kullanılmaktadır. Bitkilerin farklı bölümlerinde oluşan sekonder metabolitlerden elde edilen ekstratlar tıp, eczacılık, gıda gibi alanlarda oldukça fazla kullanılmaktadır. Bu metabolitlerin kontrollü koşullarda *in vitro* yöntemlerle artırılmasına dair çalışmalar yapılmaktadır.

2.2. Centaurea L.

Asteraceae familyasının en geniş taksonunu Centaurea türleri oluşturmaktadır. Bu cinse ait 700 tür olduğu ve bu türlerin endemizim oranının yüksek olduğu bilinmektedir (Sharonova ve diğ., 2021). Bu cinsin bitkileri peygamber çiçeği, çoban kaldıran, Meşe sarıbaşı, yıldız dikenler, timur diken, kantaron gibi farklı isimlerle halk arasında bilinmektedir. Türler çok sayıda çiçek oluşturmakta ve bu çiçekler kırmızı, sarı ve mavi renklerinin farklı tonlarını içermektedir. Meyveleri aken yapısındadır (Demir, 2008).

Çalışmada kullanılan türün sistematik sınıflandırması; Plantae (Bitkiler Alemi), Magnoliophyta (Kapalı tohumlular), Magnoliopsida (İki çenekliler), Asterales, Asteraceae (Papatyagiller), Centaurea (Peygamber çiçeği), *Centaurea ptosimopappa* Hayek (Meşe sarıbaşı), şeklindedir (URL-2).

Centaurea ptosimopappa Akdeniz bölgesinde yayılış göstermekte olup 6. ve 9. aylarda çiçeklenen çalı formunda çok yıllık bir bitkidir. Osmaniye ve Hatay illerinin Pinus ve Quercus ormanlarında endemik olarak bulunmaktadır. Yaklaşık olarak 150-1350 m rakımlarda yetişmektedir. *Centaurea ptosimopappa* türü Türkiye Bitkileri Kırmızı Veri Kitabında duyarlı kategorisinde nesli tükenme tehlikesi altında olan VU (zarar görebilir) olarak kayıt edilmiştir. Bu türün bitkileri tıbbi alanda, farmakolojide, gıda sektöründe ve yem bitkisi olarak kullanılmaktadır. İçeriğinde barındırdığı farklı sekonder metabolitler ekonomik anlamda oldukça değerlidir (URL-2). Sekonder metabolit olarak genellikle flavonoidler, diterpenler, seskiterpenler ve alkaloidler içermektedir (Çağlar, 2011). *Centaurea* türlerinden elde edilen sekonder metabolitler oldukça çeşitli ve ekonomik değeri yüksek bileşiklerdir. Diğer familyalara kıyasla Asteraceae familyasının sekonder metabolitleri daha fazla kullanılmaktadır (Rustaiyan ve diğ., 2021). Bu bileşiklerin önemi her geçen gün artmaktadır. Şekil 2.1.' de *Centaurea* türüne ait görüntüler verilmiştir.



Şekil 2. 1. *Centaurea ptosimopappa* bitkisinin doğal habitatından görüntüleri (URL-1)

2.3. Kallus Kültürü

Kallus dilimize Latince'den callum kelimesinden gelmektedir. Kallus eski tabiri ile, Türkçede sert doku anlamına gelmekte olup hücrenin yara aldıktan sonra büyümesi sonucu kalloz biriktirmesidir. Son zamanlarda, totipotensi özelliği olan yani bölünebilme yeteneğini kaybetmemiş farklılaşan dokuların meydana getirdiği “hücre yığını” terimi olarak bilinmektedir. Bitki doku kültürü yöntemlerinden bir tanesi kallus kültürüdür. Kallus kültürü ile bir materyal kullanılarak çok sayıda yeni materyaller üretilebilir (Aygün ve Erdemel, 2016). *In vitro* koşullarda ana bitkiden alınan farklı ekplantlarda yara dokusu oluşturulur. Bu dokular bitki büyüme düzenleyicileri içeren kültür

ortamlarına dikim yapılarak morfolojik düzensizliğe sahip yeni hücre yığınları oluşturur. Bitki büyüme düzenleyici olarak 2,4-D, IAA, KIN, BAP, IBA' nın farklı kombinasyonları denenmektedir (Mariana ve diğ., 2018). Kültür şartlarında fiziksel ve kimyasal ihtiyaçların karşılanması gerekmektedir. Ortam koşullarından sıcaklık, ışık, inkübasyon süresi ve bitki büyüme düzenleyici maddeler kallus oluşumunu etkileyen faktörlerdir (Mohanlall, 2020).

Kallus kültürleri kontrollü koşullarda kurulduğu için mevsimsel olaylardan etkilenmemektedir. Bu nedenle istenildiği zaman kallus elde edilebilir. Bu kalluslar protoplast kültüründe, genetik çalışmalarda, bitkisel aşı çalışmalarında, indirekt yolla organ elde edilmesinde, sekonder metabolitlerin üretilmesi gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Sekonder metabolitler bitkilerin elzem metabolizma ürünü olmayıp özel yollarla ürettikleri bileşiklerdir (Aygün ve Erdemel, 2016). Bitkilerden sekonder metabolit eldesi için kallus oluşumu gerçekleştikten sonra hücre süspansiyon kültürleri kurularak metabolit üretimi yapılabilir. Bitkiler strese uğradıkları zaman metabolitleri artırma yoluna girerler. Bu yüzden kallus kültürleri abiyotik veya biyotik strese uğratıldıkları zaman metabolitlerde artış olduğu bildirilmektedir ve böylece var olandan daha fazla metabolit elde etme olanağı sağlanmaktadır (Ramachandra Rao ve diğ., 2002; Sökmen ve diğ., 2001).

3.KAYNAK ÖZETLERİ

Farklı bitki türlerinde son 50 yıldır *in vitro* çoğaltım çalışmaları yapılmaktadır. Bu çalışmalarda başlangıçta bitki dokularının sterilizasyonu üzerine kimyasalların doz ve süreleri denenmiştir. Diğer yandan farklı bitki dokularından (eksplant) *in vitro* rejenerasyon ve mikroçoğaltım çalışmalarında bitki büyüme düzenleyici maddelerin etkileri araştırılmıştır. Bitkilerin çoğaltılmasının yanında *in vitro* teknikler kullanılarak etken madde elde etme konusunda çalışmalar yapılmıştır.

Özel Alev (2002), süs bitkisi olarak kullanılan nesli tükenme tehlikesi altında olan *Centaurea tchihatcheffii* türünde *in vitro* çoğaltma çalışmaları yapmıştır. Doğada yetişen bitkilerden alınan eksplantlar yüzey sterilizasyonuna tabi tutularak *in vitro* kültürler oluşturmuştur. Ön uygulama olarak 4 °C de soğukta bekletmeye alınan 250 adet tohum, 13 gün sonra kültür ortamında ekime alınmıştır. Ekimden 150 gün sonra sadece 1 tohumda çimlenme gözlemlenmiştir. Sürgün çoğaltımında en iyi sürgün gelişimi 0,5 mg/L BAP+ 0,01 mg/L CPA içeren ortamlarda elde ettiğini bildirmiştir. En iyi köklenme ortamı ise 0,25 mg/L IBA içeren MS besin ortamında gözlemlendiğini bildirmiştir.

Perica (2003), tarafından *Centaurea rupestris* L. tohumlarının *in vitro* çoğaltımı üzerine bir araştırma yapılmıştır. Hırvatistan endemiği olan *C. rupestris* bitkisi sekonder metabolitleri güçlü bir antibakteriyel özelliğe sahiptir. *In vitro* ortamda steril edilen tohumlar MS besiyerinde tüplerde çimlendirilmiştir. Elde edilen fidelerin kökleri kesildikten sonra BA ve GA₃ ilaveli ortamda sürgün rejenerasyonu için kültüre alınmıştır. 1µM BA ve 2,9 µM GA₃ ilaveli ortamda eksplant başına 11,88 adet sürgün gelişimini en yüksek verim olarak elde etmiştir. Sürgünlerin köklendirilmesi için 3 µM IBA ilaveli ½ MS ortamında %58 oranında başarılı kök oluşumu bildirmiştir. Köklendirilen sürgünler steril bitki toprağında iklimlendirme aşamasını tamamladıktan sonra seraya aktarılmıştır.

Janarthanam ve diğ. (2010), *Stevia rebaudiana* sekonder metabolitlerinin *in vitro* ortamda bitki büyüme düzenleyicileri kullanılarak arttırılmasına dair bir çalışma yapmışlardır. Asteraceae familyasına ait *Stevia* bitkisi çok yıllık bir bitkidir. Bu türün tohumlarının çimlenme oranı doğal şartlarda oldukça düşüktür. Türün sekonder metabolitleri ekonomik alanda ve tıbbi alanda kullanılmaktadır. Yapılan çalışmada bitkinin yaprak ve nodal ekplantlarını BA, KIN, 2,4-D, NAA, IAA ve IBA kombinasyonlarını içeren MS

besiyerinde kültürlere almışlardır. Kallus oluşturma potansiyeli 0,5 mg/L 2,4-D, 1,0 mg/L KIN, 0,5 mg/L NAA içeren ortamlarda yüksek oranda kaydedilmiştir. Çalışmada yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların diğ r eksplantlara göre daha fazla sekonder metabolit ierdiğı saptanmıştır.

Wani ve diğ. (2010), *Tridax procumbens* L. türünün yaprak, boğ m arası ve sürgün ucu eksplantlarından kallus oluşturmaya yönelik çalışma yapmışlardır. Araştırmada Asteraceae familyasına ait *Tridax procumbens* L. türünün sekonder metabolitlerinin farklı alanlarda kullanıldığı, özellikle Hindistan geleneksel tıbbında yaygın kullanılan şıfalı bir bitki olduğı bildirilmiştir. Bu çalışmada yaprak ve sürgün ucu eksplantları 0,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L BAP veya 0,5 mg/L 2,4-D + 0,5 mg/L KIN içeren ortamlarda, boğ m arası eksplantlarına göre daha hızlı ve daha çok kallus oluşturmuştur. Boğ m arası eksplantında 2,0 mg/L 2,4-D ve 0,5 mg/L BAP ilaveli ortamda kallus oluşumunu en fazla tespit etmişlerdir. Bu türün yapraklarından elde edilen kallusların sekonder metabolit üretiminde kullanılmasının gövde eksplantlarına göre daha uygun olduğı bildirilmiştir

Y zbaşıoğ lu ve diğ. (2012), Hatay florasında yayılış gösteren *Centaurea arifolia* türü için IUCN (Uluslararası Doğayı Koruma Birliğı) kategorisinde DD (veri yetersiz) olarak kayıt edilen türün *in vitro* oğaltımı üzerine bir araştırma yapmışlardır.  n uygulama olarak soğukta bekletme ve sülfürik ait uygulaması yapılan tohumlar steril edildikten sonra   MS besiyerinde çimlendirmeye almışlardır. 6 hafta sonunda imlenen fidelerin yaprak eksplantları kallus rejenerasyonu için BAP, NAA, 2,4- D kombinasyonlarında kültüre alınmıştır.  n uygulamaların çimlenme üzerinde etkisinin olmadığı,   MS besiyerinde çimlenme oranının %25 olduğı ve alınan sonuçlar doğrultusunda bu türün çimlenmesinin zor olduğunu belirlenmiştir. 1,0 mg/L BAP ve 0,1 mg/L NAA ilaveli ortamlarda sürgün ve kallus rejenerasyonunun en iyi olduğı tespit edilmiştir. Gelişen sürgünler 1,0 mg/L IBA ortamında başarılı bir şekilde köklendirilmiştir.

Sürücü ve diğ. (2012), nesli tükenme tehlikesi altında olan *Scorzonera ahmet-duranii* türüne ait tohumların *in vitro* koşullarda çoğaltılması yönünde araştırma yapmışlardır. Güney Batı Toroslarda teşhis edilen bu endemik tür dar bir florada yetişmektedir. Steril edilen tohumlar MS besiyerinde imlendirilmiştir. Oluşan fidelerinden alınan farklı eksplantlar (kotiledon, yaprak, hipokotil ve kök) organogenezis oluşturması için KIN ve NAA kombinasyonlarını içeren besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Alınan

eksplantların kallus oluşturma oranı 1,0 mg/L KIN+ 0,5 mg/L NAA kombinasyonlarında eksplant başına 2,9 g kallus olarak elde edilmiştir. Sürgün gelişimi için en iyi ortamı 1,5 mg/ KIN+ 0,1 mg/L NAA ilaveli ortam olarak bulmuşlardır. Apikal uçların sürgün oluşturma performansı diğer dokulara göre daha iyi olduğunu gözlemlenmiştir.

Özler (2014), tarafından nesli tükenmekte olan Ankara endemik türü *Centaurea tchihatcheffii* tohumlarının *in vitro* çoğaltımı için 1,0, 2,0 ve 3,0 mg/L GA₃ dozlarının MS besiyerinde çimlenme üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Steril koşullarda çimlendirilen fidelerin sürgün gelişimi ve mikroçoğaltımı için deneme çalışması yapılmıştır. 2,0 mg/L GA₃ ilaveli ortam çimlendirme için uygun bulunmuştur. Mikroçoğaltım denemesinde 0,5 mg/L IBA+ 0,5 mg/L BAP kombinasyonunda eksplant başına adet olarak sürgün gelişimi 2,0 cm olarak kayıt edilmiştir. Steril sürgünlerin köklendirilme denemesinde 1,0 mg/L IBA içeren besin ortamında %86 oranında başarı sağlandığını bildirmiştir.

Demirel (2015), Tunceli yöresine ait iki endemik tür olan *Centaurea fenzi* ve *Centaurea derderiifolia* bitkilerine ait tohumların çimlenmesini hızlandırmak için araştırma yapmıştır. Ön uygulama olarak tohumların yarısı 4 ay boyunca soğukta katlamaya alınmıştır. Katlamaya alınan ve alınmayan tohumlar %1-5 KNO₃, 50-100 ppm GA₃ çözeltisinde farklı sürelerde bekletilmiştir. Tohumların ekimi B5, WH, MS ve SH ortamlarında yapılmıştır. WH ortamında soğukta bekletilmeyen *Centaurea derderiifolia* tohumlarında %50'sinde çimlenme kayıt edilmiştir. Ön uygulama işleminde istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. *Centaurea fenzi* tohumlarında ise en iyi çimlenmesi *in vivo* koşullarda gözlenmiştir.

Aydoğan ve Erdağ (2015), İzmir bölgesinde dar bir alanda yayılış gösteren *Centaurea zeybeki* türünün *in vitro* ortamda çoğaltma ve kallus oluşturma potansiyelini araştırmışlardır. Türe ait tohumları 1,0 mg/L GA₃ içeren distile suda çimlendirmişlerdir. Çimlendirilen fidelerin yaprakları eksplant olarak kullanılmıştır. Kallus denemeleri için eksplantlar TDZ, BA, KIN içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. %100 oran ile kallus oluşumu 0,005 mg/L ve 0,001 mg/L TDZ içeren ortamlarda gözlenmiştir. 0,2 mg/L KIN bulunan ortamda kallus oluşumu %5, 0,5 mg/L BA ortamında %52 olarak kayıt edilmiştir. Kallus oluşturmak için KIN içeren ortam uygun görülmesede, aynı ortam sürgün gelişimi için eksplant başına 6,2 adet sürgün ile iyi bir sonuç vermiştir. Köklendirme denemesinde MS ve 1/2 MS ortamları arasında istatistiksel bir fark

bulunamamış ve köklendirmeye alınan sürgünlerin %15'i 0,5 mg/L IBA içeren ortamda köklenmiştir.

Traykova ve diğ. (2015), nesli kritik olarak tehlike altında olan *Centaurea davidavii* Bulgar endemik türünün 9 adet tohumunu MS besiyerinde kültüre almışlardır. Sürgün rejenerasyonu için BAP, 2İP ve TDZ' nin farklı konsantrasyonları denenmiştir. 0,5 mg/L BAP ilaveli ortamda eksplant başına 3,6 adet sürgün ve aynı ortamda yapraktan kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Yarı kuvvetli ortamda kolayca kök oluşturan bitkiler başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırılmıştır.

Stanilova ve diğ. (2016), *Centaurea davidavii* türünün genetik kaynaklarının korunması için *in vitro* teknikler ile çimlendirme denemesi yapmışlardır. Bulgaristan florasında en çok bulunan endemik bitkiler Astereaceae familyasının *Centaurea* türleridir. Bu bitkilerden *C. davidavii* türü doğal koşullarda çimlenme potansiyeli düşük olduğu ayrıca türün çevresel faktörlerin etkisiyle neslinin azalma tehlikesinin olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada temel besiyeri MS ortamında tohumları steril koşullarda çimlendirmişlerdir. Oluşan sürgünlerin doku kültürü uygulamalarında genetik olarak değişikliğe uğrayıp uğramadığını ISSR analizi yaparak test etmişler ve genetik bütünlüğün korunduğu sonucuna varmışlardır.

Valletta ve diğ. (2016), Asteraceae familyasına ait *Cenaturea cineraria* türünün İtalya Bölgesel Kırmızı Listesinde nesli tükenme tehlikesi altında olduğu bildirilmiş olup bitkinin neslinin devam ettirme amacıyla *in vitro* çoğaltım denemeleri yapmışlardır. Çimlendirme denemeleri için 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık, gündüz 20 °C, gece 10 °C de çimlenmeye alınan tohumlarda %67,5 başarı sağlanmışlardır. Sürgün rejenerasyonu denemesinde 0,5 mg/L BAP + 2,0 mg/L KIN içeren MS besiyerinde kültüre alınan eksplantlarda %74 oranında çoklu sürgünler elde etmişlerdir. Köklendirme ortamı olarak 0,5 mg/L IBA içeren kültür ortamında sürgünlerin %100'ünde köklenme gözlemlenmiştir. Köklenen sürgünlerden %74'ü dış koşullara başarılı bir şekilde alıştırılmıştır.

Atalay ve Erişen (2017), kritik tehlike altında olan *Centaurea lycaonica* türünün neslinin devamı için *in vitro* çoğaltım teknikleri kullanmışlardır. Tohumlar GA₃ içeren ve içermeyen temel besiyeri MS ortamında çimlenmeye alınmış en yüksek çimlenme %20

oranıyla hormonsuz ortamda elde edilmiştir. Sürgün rejenerasyonu için BAP, KIN, TDZ içeren MS besiyerine steril nodal eksplantları dikilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı en yüksek 0,5 mg/L BAP içeren ortamda elde edilmiştir. Kallus oluşturma potansiyelinin araştırılması için yeni oluşan sürgünlerden alınan yaprak eksplantları, NAA, KIN, BAP ve TDZ ilaveli ortamda kültüre alınmıştır. Oluşan kalluslar bitki büyüme düzenleyicisinin türüne göre farklılık göstermiştir. Köklendirme denemesinde en iyi sonuç 2,0 mg/L IAA içeren ortamda %90 oranıyla kayıt edilmiştir. Köklenen bitkileri başarıyla dış koşullara aktarıldığını bildirmişlerdir.

Durak (2017), tatlandırıcı ve süs bitkisi olarak kullanılan *Stevia rebaudiana* bitkisinin mikroçoğaltım protokolü oluşturmak için gövde segmenti ve boğum arası eksplantlarını kullanarak bir araştırma yapmıştır. Eksplantların sürgün oluşturma kapasitesi için kontrol uygulaması yanında BAP ve KIN içeren ortamlar kullanılmıştır. Kallus kültürü denemesinde ise materyal olarak yaprak ve boğumlardan alınan eksplantlar kullanılmıştır. Steril edilen eksplantlar TDZ, IBA, BAP, 2,4- D ve Zeatin ilaveli MS besi yerlerinde kültüre alınmıştır. Sürgün gelişiminde en iyi sonucu kontrol uygulaması verirken kallus denemesinde ise en iyi sonucu 1,0 mg/L TDZ + 1,0 mg/L IBA ilaveli MS ortamı verdiğini bildirmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada sekonder metabolit olan fenolik bileşiğin 5,0 mg/L 2İP ve 2,0 mg/L IBA içeren ortamda da en yüksek miktarda ortaya çıktığı belirlenmiştir.

Birecikli (2018), ekonomik değeri olan Asteraceae familyasına ait *Carthamus tinctorius* L. türün *in vitro* ortamda çimlendirme çalışmasında MS (1/2, 1/4 ve kontrol), aydınlığın ve karanlığın etkisi, karbon kaynağı farklılığının çimlenme üzerindeki etkisini araştırmıştır. Çalışmada 1/4 MS, 30 g/L sakkaroz ve ışıklı ortamın çimlenme için daha etkili olduğu saptanmıştır. Sürgün rejenerasyonu için BAP ve KIN kombinasyonlarında steril fidelerden elde edilen sürgünler MS besiyerinde kültüre alınmıştır. 0,5 mg/L BAP ilaveli ortamda sürgün gelişimi eksplant başına 5,3 adet olarak elde edilmiştir. Gelişen sürgünlerin köklendirme ortamı olarak 2,0 mg/L NAA içeren ortam uygun bulunmuştur.

Latifian ve diğ. (2018), *Tagetes minuta* türünde *in vitro* teknikler kullanılarak çoğaltım yöntemleri üzerine bir çalışma yapmışlardır. Endüstriyel olarak değeri olan *Tagetes minuta* yaydığı hoş kokularda oldukça dikkat çekmektedir. Bu türe ait bitkiler ılık iklimlerde yayılış göstermektedir. *In vitro* ortamda steril edilmiş tohumlar MS besin ortamında çimlenmesi için kültüre alınmıştır. Çimlendirilen fidelerin hipokotil

eksplantları BAP ve IAA ilaveli ortamlar da kallus oluşturması için kültüre alınmıştır. En iyi kallus oluşturan ortamın içeriğini 12,5 µM BAP+ 62,5 µM IAA olarak bulunmuştur.

Türkoğlu ve diğ. (2018), nesli tükenme tehlikesi altında olan *Centaurea fenzlii* endemik türünün korunması ve neslinin devamı için *in vitro* ortamda çoğaltma çalışmaları yapmışlardır. 2,60 µM GA₃ içeren MS besiyerinde %35 oranında çimlenme kayıt etmişlerdir. Çimlenen fidelerin yaprakları sürgün gelişimi ve kallus oluşturması için kültüre alınmıştır. En iyi kallus oluşumu %86,7 oranıyla 4,44 µM BAP+ 10,64 µM NAA içeren ortamda, en iyi sürgün rejenerasyonu ise 8,88 µM BAP+ 2,688 µM NAA içeren ortamda gözlenmiştir. 4,90 µ M IBA ortamında köklendirilen sürgünlerden %60'ı başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırılmıştır.

Mariana ve diğ. (2018), tıbbi alanda kullanılan Asteraceae familyasına ait Meksika endemik *Ageratina pichinchensis* türünden sekonder metabolit üretmek için çalışma yapmışlardır. Bu alışmada KIN, 2,4-D ve NAA ile oluşturduğu kombinasyonları denemişlerdir. Kallus oluşumu en fazla %81,7 oranla 0,1 mg/L KIN + 1,0 mg/L NAA içeren kültür ortamında elde edilmiştir. Oluşan kallusların bej rengine ve gevrek yapıda olduğu bildirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda bu türün sekonder metabolit üretimde bu şekilde kullanılabileceği saptanmıştır.

Coskun ve diğ. (2019), içeriğinde birden çok sekonder metabolit barındıran *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) bitkisinin metabolit içeriğinin arttırılmasına dair bir çalışma yapmışlardır. Yaprak eksplantı kullanılarak BAP ve NAA'nın kallus oluşturma potansiyellerini araştırmışlardır. Kallus indüksiyonunun en fazla olduğu ortam olarak 1,0 mg/L BAP ve 2,0 mg/L NAA ilaveli MS besiyeri olduğu belirlenmiştir. 200 µM melatonin elisitrnn sekonder metabolit arttırılması için ideal olduğunu bildirmişlerdir

Ekinci (2019), tarafından *Centaurea amaena* tohumlarının *in vitro* hızlı çoğaltımı üzerine yapılan araştırmada MS besiyerinde çimlendirilen tohumlardan oluşan fideler eksplant olarak kullanılmıştır. Oluşan sürgünler TDZ, BAP, NAA içeren kültür ortamına dikim yapılmıştır. TDZ ortamında %100 kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Kklenmeye alınan sürgünlerde en yüksek %50 oranıyla kök oluşumu 2,0 mg/L IBA ortamında elde edilmiştir.

Kaya ve diğ. (2019), Hatay endemik bitkisi *Centaurea ptosimopappa* tohumlarının *in vivo* çimlendirilmesi üzerine çalışma yapmışlardır. Tohumlar 24 saat boyunca %3 KNO₃ ve 250, 500 ppm GA₃ çözeltisinde bekletildikten sonra 0,2 cm derinlikte torf ortamına ekmişlerdir. Uygulama yapılmayan tohumları, 0,2 ve 1 cm derinliklerde torfa ekim yapmışlardır. 500 ppm GA₃ içeren ortamda %99 oranıyla çimlenme gözlemlenmiş olup ortalama çimlenme süresini 11 gün olarak kayıt etmişlerdir. Kök uzunluğu en fazla 6,3 cm ile aynı ortamda belirlenmiştir.

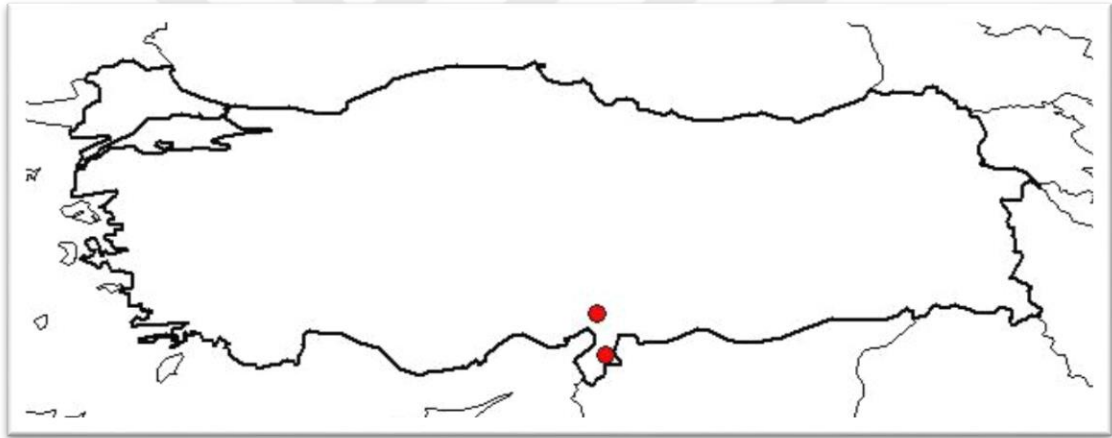
Kaya (2022), tarafından tıbbi alanda ve süs bitkisi olarak kullanılan *Centaurea depressa* için üretim protokolü oluşturma çalışması yapılmıştır. Sterilizasyon denemelerinde %50 NaOCI çözeltisi içerisinde 10 dk bekletme önerilmiştir. Tohumlar %30 sakkaroz ve %8 agar içeren MS besiyerinde çimlendirmeye alınmıştır. Sürgün rejenerasyonu için eksplant olarak kotiledon, boğum, hipokotil, yaprak ve gövde parçaları BAP ve NAA destekli besi yerlerine dikilmiştir. 0,2 mg/L BAP ve 0,5 mg/L NAA içeren ortamlarda en fazla sürgün gelişimi olduğu kayıt edilmiştir. 0,4 mg/L IBA ortamında ise en yüksek oranda köklendirme yapılarak köklenen bitkilerin başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırıldığını bildirmiştir. Ayrıca antibakteriyel denemelerde kullanılan bakteri türlerinde *Centaurea depressa* 'nın inhibe edici özelliği olduğu bildirilmiştir.

4. MALZEME VE YÖNTEM

4.1. Malzeme

4.1.1. Bitkisel Materyal

Bu çalışmada bitkisel materyal olarak Asteraceae familyasına ait *Centaurea ptosimopappa* HAYEK türü kullanıldı. Bu tür ülkemizin Akdeniz bölgesinin Hatay ve Osmaniye illerinde endemik olarak yayılış göstermektedir (Şekil 4.1.). Çalışma da kullanılan bitkiye ait tohumlar (Şekil 4.2.) Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi öğretim üyesi Prof. Dr. Kazım Mavi'den temin edildi. Tohumlar ekim yapılacak zamana kadar cam kavanoz içerisinde oda sıcaklığında muhafaza edildi. Bitkinin tohumları siyah renkte küçük ve sert bir kabuk yapısına sahiptir (Şekil 4.3.).



Şekil 4. 1. *Centaurea ptosimopappa* bitkisinin Türkiye'deki dağılımı (URL-2)



Şekil 4. 2. *Centaurea ptosimopappa* bitkisinin tohumlarına ait görünüm

4.2. Yöntem

4.2.1. Sterilizasyon Çalışmaları

4.2.2. Tohumların Yüzey Sterilizasyonu

Ekimi yapılacak tohumlardan aynı morfolojik özelliğe sahip dolu ve büyük olgun tohumlar seçildi. Bu çalışmada sodyum hipokloritin (NaClO) ticari formu kullanıldı. Seçilen tohumlar ilk olarak çeşme suyu ile yıkandı ve sonrasında %15 NaClO çözeltisi içerisinde 15 dakika süre ile çalkalanarak yüzey sterilizasyonuna tabi tutuldu. Tohumlar, sodyum hipokloritten arındırmak için 3 kez 5'er dakika steril su ile durulandı.

4.2.3. Kullanılan Besin Ortamı Sterilizasyonu

Yapılan bu çalışmada kültür ortamı olarak farklı dozlarda bitki büyüme düzenleyici içeren ve içermeyen ortamlar kullanıldı. Kültür ortamı hazırlanması için beher içerisine 200 ml distile saf su, 4,4 g/L (MS) Murassige and Skoog (1962) ortamı, 7 g/L agar ve 30 g/L sakkaroz eklendikten sonra karıştırılarak bir çözelti elde edildi. Büyümeyi düzenleyici maddeler eklendikten sonra üzeri saf su ile 1 L'ye tamamlandı ve pH'sı 1 N HCl ve 1 N NaOH ile 5,7-5,8'e ayarlandı. Hazırlanan çözelti 121 °C sıcaklıkta, 1,2 atm basınç altında 15 dakika boyunca otoklavda steril edildi.

Tablo 4. 2. Çalışmada kullanılan MS (Murashige and Skoog 1962) besin ortamının içeriği (Babaoğlu ve diğ., 2002)

Makro Elementler	mg/L
NH ₄ NO ₃	1650,0
KNO ₃	1900,0
CaCl ₂ 2H ₂ O	440,0
MgSO ₄ 7H ₂ O	370,0
KH ₂ PO ₄	170,0
Mikro Elementler	
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	0,2
CuSO ₄ 5H ₂ O	0,0025
CoCl ₂ 5H ₂ O	0,0025
Na ₂ EDTA	37,3
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
Vitaminler	
Myo-inositol	100,0
Nicotinic acid	0,5
Pyridoxine-HCl	0,5
Thiamin-HCl	0,1
Glycine	2,0

4.2.4. Tohum Çimlendirme Denemeleri

Araştırmada bütün tohumlar ve tohumların ekildiği ortamlar deneme işlemi öncesinde steril edildi. Çimlendirme amacıyla hazırlanan besin ortamlarına dikilen tohumlar 25 °C sıcaklık, 16 saat aydınlık/8 saat karanlık koşullardaki iklim odasında inkübe edildi. Çimlenen tohumların sayımı iki gün ara ile 3 hafta süreyle yapılmış ve kökçüğün testadan 2-3 mm çıkışı çimlenmiş tohum olarak kabul edildi.

4.2.4.1. Seyreltilmiş MS besisi ortamında çimlendirme

Steril edilmiş tohumlar steril kabin içerisinde 1/2, 1/5 ve 1/10 kuvvetinde hazırlanan besin ortamlarına ekildi.

4.2.4.2. GA₃ içeren MS besisi ortamında çimlendirme

Steril edilmiş tohumlar 0,0, 0,5, 1,0, 2,0 ve 3,0 mg/L GA₃ içeren MS besin ortamları üzerine ekildi.

4.2.4.3. Steril bitki toprağında (S.B.T.) çimlendirme

Tohum ekimi yapılacak magentalara aynı miktarda koyulan bitki toprağı, farklı dozlardaki GA₃ (0,0, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) içeren çözeltiler ile sulandıktan sonra otoklav içerisinde 15 dakika bekletilerek steril edildi. Sonrasında steril edilen tohumlar magenta başına 10 adet olacak şekilde ekildi ve 25 °C sıcaklıkta 16/8 saat fotoperiyotta inkübe edildi

4.2.4.4. İki fazlı besin ortamında çimlendirme

0,6 g/L agar ve 30 g/L sakkaroz içeren MS besiyeri hazırlanıp steril edildikten sonra steril kabin içerisinde magentalara yaklaşık 15 ml olacak şekilde dağıtıldı. Kültür ortamı oda sıcaklığında yarı katı hale geldikten sonra agar içermeyen aynı ortam hazırlanıp yarı katı ortamların üzerine dökülerek çift fazlı bir ortam elde edildi ve bu ortama steril tohumlar ekildi.

4.2.4.5. Sıvı MS besisi ortamında çimlendirme

Agar içermeyen MS besisi ortamında steril tohumların ekimi yapıldı.

4.2.4.6. Steril pamuk içerisinde çimlendirme

Magenta içerisine yerleştirilen ince katman halindeki pamuk, distile su ile ıslatılarak otoklavda steril edildikten sonra tohumlar pamuk üzerine ekildi.



Şekil 4.3. MS besiyerinde çimlenmeye alınan tohumlar (A), steril pamuk ortamına ekilen tohumların görünümü (B)

Tohum çimlendirme denemeleri tesadüf parselleri deneme düzenine göre 3 tekerrürlü her tekerrürde 10 tohum olacak şekilde kuruldu.

Çimlenme oranı (%): Tohum ekiminden 10 gün sonrasında çimlenen tohum sayısını yapılarak; $[\text{Çimlenen tohum sayısı} / \text{Toplam tohum sayısı} \times 100]$ formülü ile çimlenme oranı yüzde olarak bulundu (Yılmaz ve Kısakürek, 2020).

Ortalama çimlenme hızı denklemi (MGT);

$$(MGT = \sum Dn / \sum n) \quad (4.1)$$

formülü ile hesaplandı. Bu formülde n gün sayısını, D ise n günde çimlenen tohum sayısını belirtmektedir (Değirmenci, 2019).

4.2.5. Mikroçoğaltım Denemesi

Bu çalışmada çimlendirilmiş tohumlardan elde edilen fidelerin 2-3 cm'lik tepe tomurcuğu bulunan sürgünleri, 1,0 mg/L BA+ 0,1 mg/L IBA+ 0,5 mg/L GA₃ içeren MS besi ortamında kültüre alınarak çoğaltım yapıldı. Aynı ortam bileşiminde 4 hafta arayla 2 kez

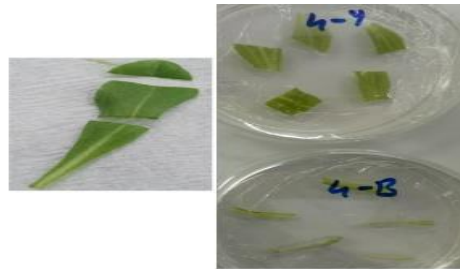
alt kültür yapıldı. Kültür koşulları 25 °C sıcaklık ve 16/8 fotoperiyot uygulanmıştır. Alt kültürlerin sonunda eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu değerleri belirlendi.

4.2.7. Köklendirme Denemesi

In vitro çoğaltılan sürgünlerin kök oluşturmaları için IBA'nın etkileri incelendi. Bu amaçla besin ortamına farklı dozlarda (0,0, 0,5, 1,0, 2,0 ve 4,0 mg/L) IBA dozları ilave edildi. Temel besin ortamı olarak MS besiyeri kullanıldı. Besin ortamına 30 g/L sakkaroz, 7 g/L agar ilave edildi ve ortam pH 5,8 olarak ayarlandı. Bu deneme tesadüf parselleri deneme düzenine göre 3 tekerrürlü, her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde yapıldı. Kültürler iklim dolabında 25±2 °C, 16 saat aydınlık ortamda 4 hafta inkübasyona tabi tutuldu ve bu sürenin sonunda köklenme oranı (%), kök uzunluğu (cm), sürgün uzunluğu (cm), sürgün sayısı (adet) ve kallus oranı (%) belirlendi.

4.2.6. Kallus Kültürü Denemesi

In vitro sürgünlerden elde edilen yaprak ve gövde eksplantları kallus kültürü oluşturmak amacıyla kullanıldı (Şekil 4.5.). Araştırmada farklı dozlardaki BAP'nın (0,0, 1,0, 2,0 ve 3,0 mg/L), NAA (0,0, 0,5, 1,0 2,0 ve 3,0 mg/L) ve 2,4-D (0,0, 0,5, 1,0, 2,0 ve 3,0 mg/L) ile oluşturduğu kombinasyonların kallus oluşumu üzerine etkilerine bakıldı. Temel besin ortamı olarak MS ortamı kullanıldı ve ortama 7 g/L agar ve 30 g/L sakkaroz ilave edildi. Ortamların pH'sı 5,8 olarak ayarlandı. Eksplantlar 25±2 °C sıcaklıkta, karanlık koşullarda 4 hafta süre ile inkübasyona tabi tutulmuştur. Bu süre sonunda yaprak ve gövde eksplantlarından kallus oluşturma oranı (%), kallus rengi (oluşan kalluslar beyaz, yeşil, sarı ve kahve renkli olarak belirlendi), kallus dokusunun tipi (yumuşak ve sert) ve kallus büyüklüğü (skala: 4: çok büyük, 3: büyük, 2: orta, 1: küçük) bakıldı. Denemeler tesadüf parselleri deneme düzenine göre 4 tekerrürlü, her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde kuruldu.



Şekil 4.4. Kallus kültürü, yaprak ve gövde eksplantı örneğinin görünümü

Tablo 4. 3. Kallus kültürü oluşturmada bitki büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonları

Ortam Numarası	Kombinasyonlar (mg/L)	Ortam Numarası	Kombinasyonlar (mg/L)
1	Kontrol	21	Kontrol
2	0,0 BAP+ 0,5 NAA	22	0,0 BAP+ 0,5 2,4-D
3	0,0 BAP+ 1,0 NAA	23	0,0 BAP+ 1,0 2,4-D
4	0,0 BAP+ 2,0 NAA	24	0,0 BAP+ 2,0 2,4-D
5	0,0 BAP+ 3,0 NAA	25	0,0 BAP+ 3,0 2,4-D
6	1,0 BAP+ 0,0 NAA	26	1,0 BAP+ 0,0 2,4-D
7	1,0 BAP+ 0,5 NAA	27	1,0 BAP+ 0,5 2,4-D
8	1,0 BAP+ 1,0 NAA	28	1,0 BAP+ 1,0 2,4-D
9	1,0 BAP+ 2,0 NAA	29	1,0 BAP+ 2,0 2,4-D
10	1,0 BAP+ 3,0 NAA	30	1,0 BAP+ 3,0 2,4-D
11	2,0 BAP+ 0,0 NAA	31	2,0 BAP+ 0,0 2,4-D
12	2,0 BAP+ 0,5 NAA	32	2,0 BAP+ 0,5 2,4-D
13	2,0 BAP+ 1,0 NAA	33	2,0 BAP+ 1,0 2,4-D
14	2,0 BAP+ 2,0 NAA	34	2,0 BAP+ 2,0 2,4-D
15	2,0 BAP+ 3,0 NAA	35	2,0 BAP + 3,0 2,4-D
16	3,0 BAP+ 0,0 NAA	36	3,0 BAP+ 0,0 2,4-D
17	3,0 BAP+ 0,5 NAA	37	3,0 BAP+ 0,5 2,4-D
18	3,0 BAP+ 1,0 NAA	38	3,0 BAP+ 1,0 2,4-D
19	3,0 BAP+ 2,0 NAA	39	3,0 BAP+ 2,0 2,4-D
20	3,0 BAP+ 3,0 NAA	40	3,0 BAP+ 3,0 2,4-D

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Tohum Çimlendirme Denemeleri

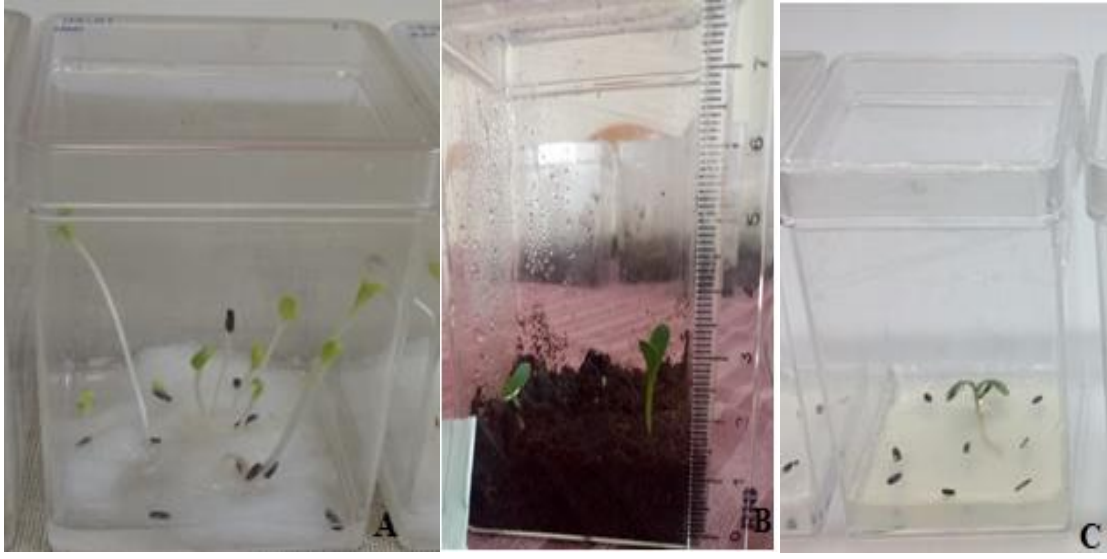
Meşe sarıbaşı (*Centaurea ptosimopappa*) tohumlarında *in vitro* çimlendirme denemeleri aşamasında farklı ortamlar kullanılmıştır. Yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar (1/2, 1/5 ve 1/10) oranlarında seyreltilmiş MS ortamları ve farklı dozlarda (0, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) GA₃ içeren MS ortamları yanında steril bitki toprağı, çift faz MS ortamı, sıvı MS ortamı ve steril pamuk ortamlarında çimlendirilmeye alındı.

In vitro ortamda gerçekleştirilen denemelerin sonuçları incelendiği zaman farklı ortamların Meşe sarıbaşı tohumlarında çimlenme oranı ve çimlenme hızında farklılıkların olduğu saptandı. Farklı ortamlarda çimlendirilen tohumların çimlenme oranları (%) Tablo 5.1.'de verildi.

Tablo 5. 1. Farklı kültür ortamlarında *Centaurea* tohumlarının çimlenme oranları

Çimlendirme Ortamı		Çimlenme (%)
Seyreltilmiş MS Besin Ortamı	1/2	3,0 ^{B*}
	1/5	5,0 ^B
	1/10	6,7 ^B
GA ₃ İçeren MS Besin Ortamı	MS	0,0 ^B
	0,5 mg/L GA ₃	0,0 ^B
	1,0 mg/L GA ₃	0,0 ^B
	2,0 mg/L GA ₃	0,0 ^B
Steril Toprak Ortamı	Kontrol	16,7 ^B
	0,5 mg/L GA ₃	5,6 ^B
	1,0 mg/L GA ₃	8,9 ^B
	2,0 mg/L GA ₃	7,6 ^B
İki Fazlı Ortam		0,0 ^B
Sıvı MS		0,0 ^B
Steril Pamuk		26,7 ^A

* Farklı harfler ile gösterilen veriler arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testine göre p≤0,05 hata seviyesinde önemlidir



Şekil 5. 1. Farklı ortamlarda çimlendirilen tohumların görünümü (A: steril pamuk, B: steril toprak, C: ½ MS besiyeri)

Ortamlar arasında istatistiksel olarak önemli fark olduğu belirlendi. Steril pamuk ortamında yapılan çimlendirme de %26,7 oranla en iyi çimlenme olduğu tespit edildi. Bu ortamı steril bitki toprağı, 1,0 mg/L GA₃ ve 2,0 mg/L GA₃ içeren steril bitki toprağına ekilen tohumlardaki çimlenme oranları sırasıyla %16,7, %8,9 ve %7,6 olarak takip etmiştir. GA₃ içermeyen MS ortamı ve 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L GA₃ içeren MS besin ortamı ve sıvı MS ortamlarında hiç çimlenme olmamıştır.

Meşe sarıbaşı bitkisinin tohumlarındaki çimlenme hızı 0,1-4,1 gün arasında değişim göstermektedir. Tablo 5.2. verilen tohumların çimlenme hızı incelendiği zaman en iyi çimlenme hızı sırasıyla; steril pamukta 0,1 gün, 2 mg/L GA₃ içeren steril bitki toprağında ve 1/10 MS ortamında 1,3 gün olarak kayıt edildi. En yavaş çimlenme 1/2 MS besin yerinde 4,1 gün olarak belirlendi.

Her ne kadar farklı ortamlarda çimlenme hızında farklılıklar tespit edilsede bu farklılık istatistiki olarak önemli bulunmadı. Farklı ortamlara ait çimlenen tohumların görselleri Şekil 5.1.'de verildi.

Tablo 5. 2. Meşe sarıbaşı tohumlarının ortamlarda çimlenme hızı

Çimlendirme Ortamı		Çimlenme Hızı(gün)
Seyreltilmiş MS Besin Ortamı	1/2	4,1*
	1/5	3,3
	1/10	1,3
GA ₃ İçeren MS Besin Ortamı	MS	0,0
	0,5 mg/L GA ₃	0,0
	1,0 mg/L GA ₃	0,0
	2,0 mg/L GA ₃	0,0
Steril Toprak Ortamı	Kontrol	2,0
	0,5 mg/L GA ₃	2,2
	1,0 mg/L GA ₃	1,5
	2,0 mg/L GA ₃	1,3
İki Fazlı Ortam		0,0
Sıvı MS		0,0
Steril Pamuk		0,1

*İstatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

5.2. Mikroçoğaltım Denemesi

Steril şartlarda *in vitro* ortamda çimlendirilmiş fidelerden elde edilen sürgün ucu eksplantları; 1,0 mg/L BA+ 0,1 mg/L IBA+ 0,5 mg/L GA₃ içeren kültür ortamında 2 kez alt kültür yapılarak çoğaltıldı. Elde edilen bulgular Tablo 5.3.'te, sürgünlerin gelişim aşamaları Şekil 5.2.'de verildi.

Birinci alt kültürde ortalama sürgün sayısı 3,9 adet iken bu sayı ikinci alt kültürde 9,2 adet olmuştur. Aynı şekilde 1. alt kültürde sürgün uzunluğu 1,3 cm belirlenirken ikinci alt kültürde 2,5 cm çıkmıştır.

Tablo 5. 3. Mikroçoğaltım denemesinde 1. ve 2. alt kültüründe sürgün sayısı ve kalitesi

Alt Kùltürler	Ortalama Sürgün Sayısı (adet)	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm)
Birinci Alt Kùltür	3,9	1,3
İkinci Alt Kùltür	9,2	2,5



Şekil 5. 2. Sürgünlerin gelişim aşamalarına ait görüntüler (soldan sağa; çimlendirme denemesi, Birinci alt kùltür, İkinci alt kùltür)



Şekil 5. 3. İkinci alt kùltür aşamasında sürgünlerde meydana gelen çoğalmanın görünümü

5.3. Köklendirme Denemesi

Bu aşamada Meşe sarıbaşı bitkisinin mikroçoğaltım aşamasında elde edilen sürgünler 0,0 0,5, 1,0, 2,0 ve 4,0 mg/L IBA dozlarını içeren MS besin ortamlarına dikilerek köklendirilmeye alındı. Çalışmada elde edilen sonuçlar Tablo 5.4.'te verildi.

Tablo 5. 4. Meşe sarıbaşı sürgünlerinde köklenme oranı, kallus oranı, kök uzunluğu, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu

IBA (mg/L)	Köklenme Oranı (%)	Kallus Oranı (%)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet)	Ortalama Sürgün Uzunluğu (cm)
Kontrol	6,7 B*	26,6 ^{ÖD}	2,5 ^{ÖD}	1,0 ^{ÖD}	1,6 ^{ÖD}
0,5	0,0 B	0,0	0,0	2,2	2,1
1,0	9,0 B	33,3	3,5	1,8	2,3
2,0	13,3 B	33,3	3,7	1,4	1,6
4.0	77,7 A	26,6	2,1	1,5	2,2

* Farklı harfler ile gösterilen veriler arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testine göre $p \leq 0,05$ hata seviyesinde önemlidir.

^{ÖD} İstatistiki olarak önemli değil

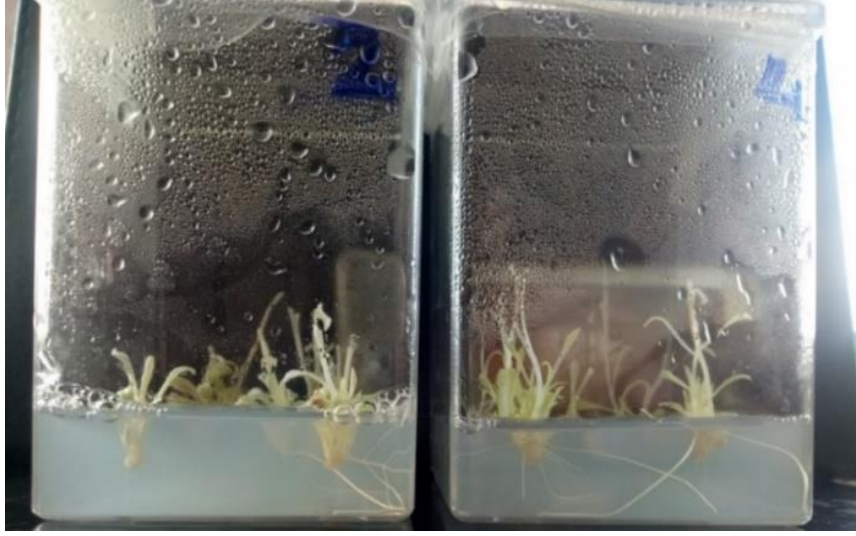
En yüksek köklenme oranı 4,0 mg/L IBA ilave edilmiş MS ortamında %77,7 oranında elde edildi. Bunu %13,3 oranıyla 2,0 mg/L IBA içeren ortam takip etmiştir. Bu iki değer arasındaki farklılık istatistik olarak önemli bulundu. 0,5 mg/L IBA içeren ortamda hiç köklenme elde edilmedi.

Kök uzunluğu bakımından en uzun kök 3,7 cm ile 2,0 mg/L IBA içeren ortamda elde edildi. Bunu 1,0 mg/L IBA içeren ortam 3,5 cm takip etmiştir. Köklenme olan sürgünlerde en kısa 2,1 cm kök uzunluğuna 4,0 mg/L IBA içeren ortamda elde edildi.

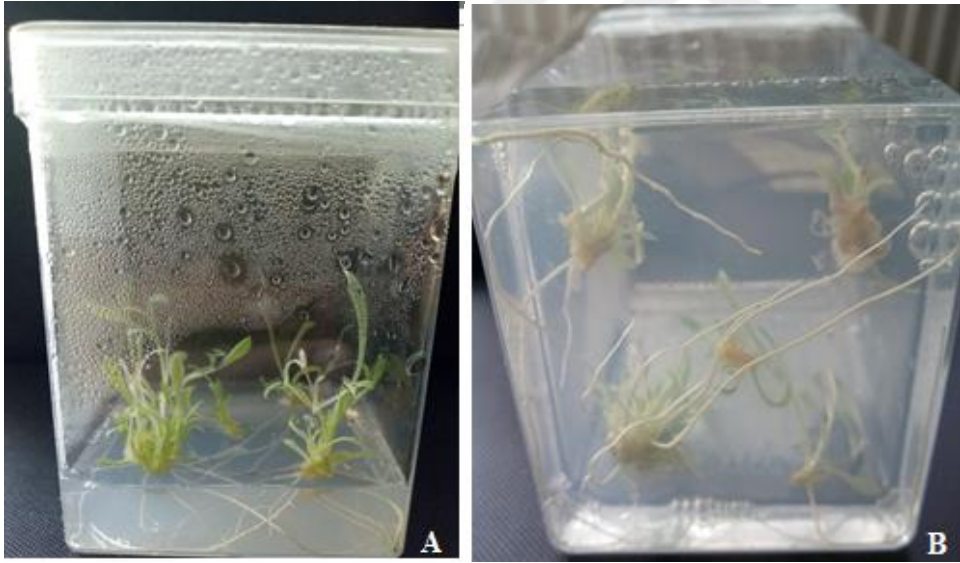
Bu veriler arasındaki farklılık istatistiki olarak önemli bulunmadı. Ayrıca köklendirme ortamında bile sürgünlerden yeni sürgün oluşumu gözlemlendi.

Köklenme olmayan 0,5 mg/L IBA içeren ortamda en fazla sürgün oluşumu gözlemlendi. Diğer ortamlarda 1,0-1,8 adet ile 2,2 adet arasında yeni sürgün oluşumu gözlemlendi.

Köklendirme ortamına alınan sürgünlerde kallus oluşumunda ortamlar arasında farklılık gözlemlenmedi. Sürgünlerde kallus oranı ise %0-33,3 arasında bir değişim gösterdi.



Şekil 5. 4. 2,0 mg/L ve 4,0 mg/L IBA uygulamalarında köklenme ve sürgün gelişimine ait görüntüler



Şekil 5. 5. 2,0 mg/L IBA uygulamasında kök oluşumu (A: yandan, B: alttan görünüm)

Köklendirme ortamında dikilen sürgünlerde sürgün uzaması tespit edildi. Sürgün uzunluğu olarak 1,6-2,1 arasında bir varyasyon tespit edildi. Ancak bu değerler arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmadı.

5.4. Kallus Denemesi

Meşe sarıbaşı bitkisine ait yaprak ve gövde eksplantlarının kallus oluşumu için farklı ortam kombinasyonları denenmiştir (Tablo 5.4.).

Yaprak eksplantlarında %0-100 oranında kallus oluşumu belirlenmiştir. %100 kallus oluşumu 1,0 mg/L BAP + 1,0 mg/L NAA, 1,0 mg/L BAP + 2,0 mg/L NAA, 1,0 mg/L BAP + 0,0 mg/L 2,4-D, 3,0 mg/L BAP + 0,5 mg/L 2,4-D, 3,0 mg/L BAP + 3,0 mg/L 2,4-D ortamlarında gözlemlendi. Kontrol, 0,0 mg/L BAP+ 0,5 mg/L NAA, 1,0 mg/L BAP+ 0,0 mg/L NAA, 0,0 mg/L BAP+ 1,0 mg/L 2,4-D, 0,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L 2,4-D, 0,0 mg/L BAP+ 3,0 mg/L 2,4-D, 2,0 mg/L BAP + 3,0 mg/L 2,4-D içeren ortamlarda kallus oluşumu gözlemlenmedi (Tablo 5.5.).

Gövde eksplantı kallus denemesinde kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonlarına ait istatistiksel oranlar Tablo 5.5.'te verildi. En iyi kallus oluşumu 3,0 mg/L BAP+ 1,0 mg/L 2,4-D ve 1,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L NAA içeren ortamlarda %100 oranında kayıt edildi. Bunu takiben 2,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L NAA ve 1,0 mg/L BAP+ 0,5 mg/L NAA ilaveli edilen ortamlarda %95 oranında kallus oluşumu saptandı.

Kontrol, 0,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L NAA, 0,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L 2,4-D, 0,0 mg/L BAP+ 3,0 mg/L 2,4-D, 1,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L 2,4-D, 1,0 mg/L BAP+ 3,0 mg/L 2,4-D kombinasyonlarını içeren ortamlarda kallus oluşumu gözlemlenmedi.

Yaprak ve gövde eksplantlarında ortak olarak; 1,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L NAA ilaveli ortamda %100 kallus oluşumu gözlemlendi.

Yaprak ve gövde eksplantlarında ortak olarak; Kontrol, 0,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L 2,4-D, 0,0 mg/L BAP+ 3,0 mg/L 2,4-D, 1,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L 2,4-D, 1,0 mg/L BAP+ 3,0 mg/L 2,4-D ilaveli ortamlarda kallus oluşumu gözlemlenmedi.

Tablo 5. 5. Bitki büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonlarının kallus oluşturma oranları

Ortam Numarası	Kombinasyonlar (mg/L)	Yaprak Eksplantı Kallus (%)	Gövde Eksplantı Kallus (%)
1	Kontrol	0,0 ^C	0,0 ^F
2	0,0 BAP+ 0,5 NAA	0,0 ^C	40,0 ^{ABCDEF}
3	0,0 BAP+ 1,0 NAA	90,0 ^A	25,0 ^{BCDEF}
4	0,0 BAP+ 2,0 NAA	0,0 ^C	0,0 ^F
5	0,0 BAP+ 3,0 NAA	70,0 ^{AB}	40,0 ^{ABCDEF}
6	1,0 BAP+ 0,0 NAA	0,0 ^C	5,00 ^{EF}
7	1,0 BAP+ 0,5 NAA	70,0 ^{AB}	95,0 ^{AB}
8	1,0 BAP+1,0 NAA	100,0 ^A	55,0 ^{ABCDEF}
9	1,0 BAP+ 2,0 NAA	100,0 ^A	100,0 ^A
10	1,0 BAP+ 3,0 NAA	85,0 ^{AB}	45,0 ^{ABCDEF}
11	2,0 BAP+ 0,0 NAA	85,0 ^{AB}	75,0 ^{ABCDE}
12	2,0 BAP+ 0,5 NAA	70,0 ^{AB}	40,0 ^{ABCDEF}
13	2,0 BAP+ 1,0 NAA	75,0 ^{AB}	85,0 ^{ABCD}
14	2,0 BAP+ 2,0 NAA	100,0 ^A	95,0 ^{AB}
15	2,0 BAP+ 3,0 NAA	95,0 ^A	95,0 ^{AB}
16	3,0 BAP+ 0,0 NAA	45,0 ^{ABC}	40,0 ^{ABCDEF}
17	3,0 BAP+ 0,5 NAA	60,0 ^{ABC}	35,0 ^{ABCDEF}
18	3,0 BAP+ 1,0 NAA	67,5 ^{AB}	25,0 ^{BCDEF}
19	3,0 BAP+ 2,0 NAA	47,5 ^{ABC}	25,00 ^{BCDEF}
20	3,0 BAP+ 3,0 NAA	85,0 ^{AB}	85,0 ^{ABCD}
21	0,0 BAP+0,0 NAA	65,0 ^{AB}	50,0 ^{ABCDEF}
22	0,0 BAP+ 0,5 2,4-D	45,0 ^{ABC}	20,00 ^{CDEF}
23	0,0 BAP+ 1,0 2,4-D	0,0 ^C	10,0 ^{EF}
24	0,0 BAP+ 2,0 2,4-D	0,0 ^C	0,0 ^F
25	0,0 BAP+ 3,0 2,4-D	0,0 ^C	0,0 ^F
26	1,0 BAP+ 0,0 2,4-D	100,0 ^A	85,0 ^{ABCD}
27	1,0 BAP+ 0,5 2,4-D	40,0 ^{ABC}	10,0 ^{EF}
28	1,0 BAP+ 1,0 2,4-D	75,0 ^{AB}	15,0 ^{DEF}
29	1,0 BAP+ 2,0 2,4-D	0,0 ^C	0,0 ^F
30	1,0 BAP+ 3,0 2,4-D	0,0 ^C	0,0 ^F
31	2,0 BAP+ 0,0 2,4-D	80,0 ^{AB}	40,0 ^{ABCDEF}
32	2,0 BAP+ 0,5 2,4-D	90,0 ^A	45,0 ^{ABCDEF}
33	2,0 BAP+ 1,0 2,4-D	90,0 ^A	90,0 ^{ABC}
34	2,0 BAP+ 2,0 2,4-D	25,0 ^{BC}	5,00 ^{EF}
35	2,0 BAP + 3,0 2,4-D	0,0 ^C	10,0 ^{EF}
36	3,0 BAP+ 0,0 2,4-D	80,0 ^{AB}	60,0 ^{ABCDEF}
37	3,0 BAP+ 0,5 2,4-D	100,0 ^A	65,0 ^{ABCDEF}
38	3,0 BAP+ 1,0 2,4-D	95,0 ^A	100,0 ^A
39	3,0 BAP+ 2,0 2,4-D	90,0 ^A	50,0 ^{ABCDEF}
40	3,0 BAP+ 3,0 2,4-D	100,0 ^A	85,0 ^{ABCD}

* Farklı harfler ile gösterilen veriler arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma testine göre $p \leq 0,05$ hata seviyesinde önemlidir

Yaprak eksplantlarında %100 kallus oluşturan ortamlara ait yapılan incelemelerde; 3,0 mg/L BAP+ 3,0 mg/L 2,4-D ortamında oluşan kalluslar 2 birim, sert yapıda, kahve rengi, 3,0 mg/L BAP+ 0,5 mg/L 2,4-D ortamında 1 birim, sert yapıda, kahve rengi, 1,0 mg/L BAP+ 0,0 mg/L 2,4-D ortamında 3 birim, yumuşak yapıda, sarı, 1,0 mg/L BAP+ 1,0 mg/L NAA ortamında 3 birim, yumuşak, beyaz renkte kalluslar kayıt edildi. (Tablo 5.6.)

Denemede yaprak eksplantında 2,0 mg/ BAP+ 1,0 mg/L NAA (13 no'lu), 3,0 mg/L BAP (16 no'lu), 3,0 mg/L BAP+ 0,5 mg/L NAA (17 no'lu) ve 3,0 mg/L BAP+ 1,0 mg/L NAA (18 no'lu) içeren ortamlarında kallus oluşumu istatistiksel olarak farklı gruplarda bulunmasına rağmen 13 no'lu ortamda yaprak oluşumu, 16 no'lu ortamda sadece sürgün gelişimi, 17 no'lu ortamda sürgün gelişimi ve yapraklanma, 18 no'lu ortamda sürgün gelişimi ve kök oluşumu gözlenmiştir. 13 no'lu ortamda kallus yapısı yumuşak, beyaz 2 birim, 16 no'lu ortamda 1 birim, yumuşak yapıda, sarı renkli, 17 no'lu ortamda 3 birim, sert yapıda, beyaz renkli, 18 no'lu ortamda ise 3 birim yumuşak yapıda, beyaz renkli kalluslar gözlemlendi.



Şekil 5. 6. 3,0 mg/L BAP+ 0,5 mg/L NAA ortamında yaprak eksplantında kallus oluşumu

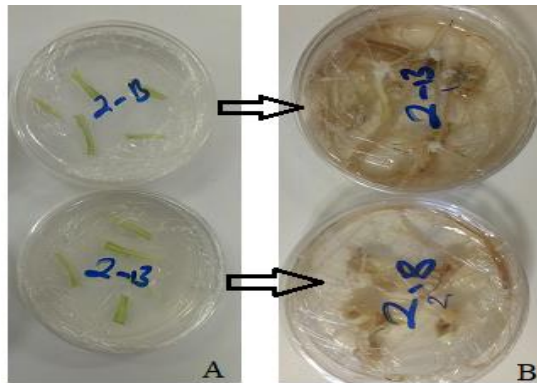
Tablo 5. 6. Yaprak eksplantı kallus büyüklüğü, dokusu, rengi ve kallusta oluşan yapılar

Kombinasyonlar (mg/L)	Kallus Büyüklüğü	Kallus Dokusu	Kallus Rengi	Kallusta Oluşan Yapılar
Kontrol	-	-	-	-
0,0 BAP+ 0,5 NAA	-	-	-	-
0,0 BAP+ 1,0 NAA	2	Yumuşak	Beyaz	-
0,0 BAP+ 2,0 NAA	-	-	-	-
0,0 BAP+ 3,0 NAA	2	Sert	Beyaz	-
1,0 BAP+ 0,0 NAA	-	-	-	-
1,0 BAP+ 0,5 NAA	3	Sert	Beyaz	-
1,0 BAP+1,0 NAA	3	Yumuşak	Beyaz	-
1,0 BAP+ 2,0 NAA	3	Yumuşak	Sarı	-
1,0 BAP+ 3,0 NAA	3	Sert	Kahve	-
2,0 BAP+ 0,0 NAA	3	Sert	Beyaz	-
2,0 BAP+ 0,5 NAA	3	Sert	Sarı	-
2,0 BAP+ 1,0 NAA	2	Yumuşak	Beyaz	Yaprak
2,0 BAP+ 2,0 NAA	3	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 3,0 NAA	2	Yumuşak	Yeşil	-
3,0 BAP+ 0,0 NAA	1	Yumuşak	Sarı	Sürgün
3,0 BAP+ 0,5 NAA	3	Sert	Beyaz	Sürgün- Yaprak
3,0 BAP+ 1,0 NAA	3	Yumuşak	Beyaz	Sürgün- Kök
3,0 BAP+ 2,0 NAA	2	Sert	Beyaz	-
3,0 BAP+ 3,0 NAA	3	Yumuşak	Beyaz	-
0,0 BAP+0,0 NAA	2	Sert	Beyaz	-
0,0 BAP+ 0,5 2,4-D	2	Yumuşak	Yeşil	-
0,0 BAP+ 1,0 2,4-D	-	-	-	-
0,0 BAP+ 2,0 2,4-D	-	-	-	-
0,0 BAP+ 3,0 2,4-D	-	-	-	-
1,0 BAP+ 0,0 2,4-D	3	Yumuşak	Sarı	-
1,0 BAP+ 0,5 2,4-D	1	Sert	Beyaz	-
1,0 BAP+ 1,0 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
1,0 BAP+ 2,0 2,4-D	-	-	-	-
1,0 BAP+ 3,0 2,4-D	-	-	-	-
2,0 BAP+ 0,0 2,4-D	2	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 0,5 2,4-D	2	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 1,0 2,4-D	2	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 2,0 2,4-D	1	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 3,0 2,4-D	-	-	-	-
3,0 BAP+ 0,0 2,4-D	3	Sert	Beyaz	-
3,0 BAP+ 0,5 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
3,0 BAP+ 1,0 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
3,0 BAP+ 2,0 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
3,0 BAP+ 3,0 2,4-D	2	Sert	Kahve	-

Denemede gövde eksplantında kallus oluşum oranı %50 ve altı olan bazı ortamlarda sürgün gelişimi ve köklenmeler olduğu tespit edildi. (Tablo 5.7.) 0,0 mg/L BAP +0,5 mg/L NAA (2 no'lu) ve 0,0 mg/L BAP+ 3,0 mg/L NAA (5 no'lu) içeren ortamlarda saçak köklenmeler ve sürgün gelişimi olduğu gözlemlendi. Bu ortamlarda oluşan kallus yapıları sırasıyla 3 birim, sert yapıda, beyaz ve 1 birim, sert yapıda, beyaz renktedir. Araştırmada, 3,0 mg/L BAP+ 0,0 mg/L NAA (16 no'lu), 3,0 mg/L BAP+ 1,0 mg/L NAA (18 no'lu), 3,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L NAA (19 no'lu) ilaveli ortamlarda sürgün gelişimi, 3,0 mg/L BAP+ 0,5 mg/L NAA (17 no'lu) içeren ortamda sürgün ve yaprak gelişimi, 3,0 mg/L BAP + 3,0 mg/L NAA (20 no'lu) ve kontrol gruplarında sürgün gelişimi ve saçak kök oluşumu gerçekleşti. Şekil 5.8.'de kalluslarda meydana gelen değişimler gösterildi.



Şekil 5. 7. 3,0 mg/L BAP+ 0,0 mg/ NAA ortamında gövde eksplantı kallus oluşumu ve kalluslarda sürgün gelişimi (A), 3,0 mg/L BAP+ 1,0 mg/L NAA içeren MS ortamında kallus, sürgün ve kök oluşumu (B)



Şekil 5. 8. Gövde eksplantında oluşan kök ve sürgün oluşumu, deneme öncesi (A), deneme sonrası (B)

Tablo 5. 7. Gövde eksplantı kallus büyüklüğü, dokusu, rengi ve kallusta oluşan yapılar

Kombinasyonlar (mg/L)	Kallus Büyüklüğü	Kallus Dokusu	Kallus Rengi	Kallusta Oluşan Yapılar
Kontrol	-	-	-	-
0,0 BAP+ 0,5 NAA	1	Sert	Beyaz	Kök- Sürgün
0,0 BAP+ 1,0 NAA	1	Sert	Beyaz	-
0,0 BAP+ 2,0 NAA	-	-	-	-
0,0 BAP+ 3,0 NAA	1	Sert	Beyaz	Kök- Sürgün
1,0 BAP+ 0,0 NAA	1	Yumuşak	Beyaz	-
1,0 BAP+ 0,5 NAA	3	Sert	Beyaz	-
1,0 BAP+1,0 NAA	2	Sert	Beyaz	-
1,0 BAP+ 2,0 NAA	3	Yumuşak	Sarı	-
1,0 BAP+ 3,0 NAA	2	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 0,0 NAA	1	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 0,5 NAA	1	Yumuşak	Beyaz	-
2,0 BAP+ 1,0 NAA	2	Yumuşak	Beyaz	-
2,0 BAP+ 2,0 NAA	2	Yumuşak	Sarı	-
2,0 BAP+ 3,0 NAA	2	Yumuşak	Yeşil	-
3,0 BAP+ 0,0 NAA	1	Yumuşak	Beyaz	Sürgün
3,0 BAP+ 0,5 NAA	2	Yumuşak	Beyaz	Sürgün- Yaprak
3,0 BAP+ 1,0 NAA	3	Yumuşak	Beyaz	Sürgün- Kök
3,0 BAP+ 2,0 NAA	3	Yumuşak	Beyaz	Sürgün
3,0 BAP+ 3,0 NAA	3	Yumuşak	Beyaz	Sürgün- Kök
0,0 BAP+0,0 NAA	3	Yumuşak	Beyaz	-
0,0 BAP+ 0,5 2,4-D	1	Yumuşak	Sarı	-
0,0 BAP+ 1,0 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
0,0 BAP+ 2,0 2,4-D	-	-	-	-
0,0 BAP+ 3,0 2,4-D	-	-	-	-
1,0 BAP+ 0,0 2,4-D	2	Sert	Beyaz	-
1,0 BAP+ 0,5 2,4-D	1	Sert	Beyaz	-
1,0 BAP+ 1,0 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
1,0 BAP+ 2,0 2,4-D	-	-	-	-
1,0 BAP+ 3,0 2,4-D	-	-	-	-
2,0 BAP+ 0,0 2,4-D	2	Yumuşak	Beyaz	-
2,0 BAP+ 0,5 2,4-D	2	Yumuşak	Beyaz	-
2,0 BAP+ 1,0 2,4-D	2	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 2,0 2,4-D	1	Yumuşak	Kahve	-
2,0 BAP+ 3,0 2,4-D	1	Yumuşak	Kahve	-
3,0 BAP+ 0,0 2,4-D	2	Yumuşak	Beyaz	-
3,0 BAP+ 0,5 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
3,0 BAP+ 1,0 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
3,0 BAP+ 2,0 2,4-D	1	Sert	Kahve	-
3,0 BAP+ 3,0 2,4-D	2	Sert	Kahve	-

5.5. Tartışma

Yapılan bu çalışmada Meşe sarıbaşı tohumlarının *in vitro* ortamda farklı besi yerlerinde çimlendirilmesi ile kültüre alınması *in vitro* çoğaltılması ve kallus kültürlerinin oluşturulması amaçlanmıştır.

Seyreltilmiş MS besi yerlerinde yapılan denemelerde 1/2, 1/5 ve 1/10 oranlarında MS kullanıldı ve çimlenme oranı en yüksek 1/10 MS besiyerinde %6,7 olarak tespit edildi. *In vitro* şartlarda kullanılan besin ortamlarında ki mineral madde miktarları farklılık göstermektedir (Padilla ve diğ., 2003). Kullanılan besin ortamının içeriğinde ki mineral madde miktarının artması tohumun su almasını yani ozmotik basıncı azaltmaktadır. Bu durumda tohumun endospermine su girişi engellenerek çimlenme oranı düşmektedir. Bizim çalışmamızda MS dozu arttıkça çimlenen tohum yüzdesinin azaldığı görüldü. Tohum çimlenmesinin besiyerinin yoğunluğu ile ters orantılı olduğu gözlemlendi. Yüzbaşıoğlu ve diğ. (2012) *Centaurea arifolia* türünü *in vitro* koşullarda ½ MS ortamında başarılı bir şekilde çimlendirmişlerdir. Emek ve Erdağ (2013) *Rhaponticoides mykalea* da yaptıkları çalışmada WH ve MS besiyeri içeren ortamlarda en fazla çimlenmeyi (%10) mineral oranı düşük olan WH besiyerinde kayıt etmişlerdir. Bu çalışmalarla bizim bulgularımız paralellik göstermektedir.

Meşe sarıbaşı tohumlarının ekildiği, GA₃ dozları içeren MS besi yerlerinde çimlenme olayı gözlemlenmemiştir. Giberellik asit dormansiyi kırarak tohum çimlenmesini hızlandırmada etkili olduğunu önce yapılan birçok araştırma da bildirilmektedir (Iglesias ve Babiano, 1997, Nadjafi ve diğ., 2006). Nitekim *in vitro* koşullarda çimlendirmeye alınan *Centaurea tchihatcheffii* tohumlarının çimlenmesini 2 mg/L GA₃ içeren kültür ortamında en yüksek oranda bildirmişlerdir (Okay ve diğ., 2014). Göztaş (2008) *Centaurea kotschy* tohumlarında yaptığı çimlendirme denemesinde farklı dozlarda GA₃ etkisini araştırmış en iyi çimlenme sonucunu 10 mg/L GA₃ ilaveli ortamda %57,5 olarak gözlemlenmiştir. Ayrıca araştırmacı 100 mg/L'den daha fazla GA₃ içeren ortamların çimlenmede negatif etki yaptığını bildirmiştir. GA₃'ün konsantrasyonlarının artması tohumda birikerek toksik etki göstereceği bunda çimlenmeyi azaltacağı yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir (Aygün, 2022). Cavusoglu ve Sulusoglu, 2015 GA₃'in

tohum çimlenmesinde etkisi bitki cinsine, türüne, uygulama süresine göre farklılık gösterebileceği sonucuna varmışlardır.

Diğer yandan Demirel (2015) tarafından yapılan çalışmada ön uygulama olarak GA₃ 'te bekletmeye tabi tutulan *Centaurea fenzlii* tohumları WH besiyerinde ekime alındıktan 12 gün sonra çimlenme olduğu kayıt edilmiştir.

Ayrıca steril bitki toprağında denenen 1,0 mg/l GA₃ dozlarında çimlenme en fazla %8,9 oranla izlenmesi toprağın karanlık etkisi oluşturduğu ve toprak içeriğindeki mineral değerlerinde ki farklılıktan kaynaklı GA₃'ün çimlenmede etkisi olduğunu düşündürmektedir. Ancak bizim çalışmamızda GA₃'ün çimlenme üzerine olumlu bir etkisinin olmadığı gözlemlendi. Diğer çalışmaların tersine bir etki göstermesi tamamen genotip etkisi olduğu düşünülebilir.

Diğer yandan distile sulu steril pamuk ortamında %26,7 oran ile en yüksek çimlenme kayıt edildi. *Centaurea zeybeki* türünde yapılan çalışmada MS, WH, B5 ve distile suda çimlenmeye alınan tohumlardan en yüksek çimlenme oranın distile suda olduğunu bildirilmektedir (Kurt ve Erdağ, 2009). Khan ve diğ. (2003) *Aeluropus lagopoides*, *Urochondra setulosa* ve *Sporobolus ioclados* türlerinde yaptıkları çalışmalarda distile su ortamının en iyi çimlenme sağladığını, mineral madde miktarının artmasının çimlenmeyi azalttığını bildirmişlerdir. Çalışılan türler farklı olsa da araştırma sonuçları benzerlik göstermektedir.

Tohumları çimlenmesi zor ve uzun süre alan türlerde yapılan çalışmada, çift fazlı ortamın çimlenme süresini azalttığı ve çimlenme oranını arttırdığı bildirilmektedir (Thomas ve diğ., 2006). Ancak çalışmada çift fazlı ortamda çimlenme olayı gerçekleşmemiştir. Bu farklılığın genetik yapıdan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yine MS ortamının yoğunluğunun da bu olumsuzluğu ortaya çıkarabileceği kanaatindeyiz.

Çimlendirilen tohumlardan elde edilen bitkilerden *in vitro* çoğaltım yapılmıştır. Çoğaltma ortamı olarak 2,0 mg/L BA+ 0,1 mg/L IAA+ 0,5 mg/L GA₃ içeren MS ortamı kullanılmıştır. Mikroçoğaltım aşamasında 1. alt kültürde sürgün sayısı eksplant başına ortalama 3,9 adet iken ikinci alt kültürde 9,2 adet olduğu görüldü. 2 alt kültüre alınan sürgünlerde kardeşlenme oranının fazla olması nedeniyle sürgün sayısı artmıştır.

Özler (2014) *C. amaena* türünde yaptığı çalışmada 0,5 mg/L IBA+ 0,5 mg/L BAP ilaveli ortamda eksplant başına 2,5 adet sürgün elde etmiştir. Ayrıca BAP dozunun artmasının vitrifikasyona neden olduğunu, lakin ortama GA₃ ilavesinin vitrifikasyonu azaltacağını bildirmiştir. Okay ve diğ. (2014) *Centaurea tchihatcheffii* 'de yaptığı denemede 0,5 mg/L IBA+ 0,5 mg/L BAP kombinasyonunda eksplant başına 2,1 adet sürgün elde etmişlerdir. Bir başka çalışmada *Centaurea macrocephala* 'da en iyi sürgün gelişimini 0,5 mg/L BA 'da elde etmişlerdir (Hosoki ve diğ., 1997). Nitekim bu çalışmalarla kıyaslandığında bizim çalışmamızda eksplant başına elde edilen sürgün sayısı daha fazla bulunmuştur. Bu sonuçlar seçilen ortam bileşiminde *Centaurea ptosimopappa* türünün *in vitro* çoğaltılabileceğini göstermektedir.

Oksinler genel olarak pratikte kök oluşturmak için kullanılan bitki büyüme düzenleyecileridir. Oksin içerisinde en fazla kullanılan ve etkisi daha fazla olan IBA 'dır. Bu nedenle yapılan çalışmada IBA 'nın konsantrasyonları kullanılmıştır. En iyi köklenme 4 mg/L IBA içeren ortamda 77,7 oranında gözlemlenirken 0,5 mg/L IBA 'da köklenme olmamıştır (Tablo 5.4.). Nitekim bizim çalışmamızla paralel olan, *in vitro* koşullarda zor kök oluşturduğu bildirilen *C. fenzilli* bitkisi köklendirme denemesinde en iyi sonucu 0,1 mg/L IBA 'da vermiştir (Türkoğlu ve diğ., 2018).

Centaurea tchihatcheffii türünün *in vitro* köklendirme denemesinde 0,3 mg/L IBA destekli kültür ortamında 12. günden sonra köklenmenin başladığı bildirilmiştir (Özel Alev, 2002). Ekinci (2019) tarafından yapılan *in vitro* çalışmada steril ortamda büyütülen *Centaurea amaena* sürgünleri 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L IBA içeren temel besiyeri MS 'de köklenmesi için kültüre alınmıştır. Maksimum kök oluşumu 2,0 mg/L IBA içeren ortamda %50 oranında kayıt edilmiştir. Bizim çalışmamızda da 2,0 mg/L IBA ortamında %13,3 oranında köklenme sağlamıştır.

Ancak yüksek dozlarda IBA bitkilerde köklenmeyi artırırken kök uzamasını ve dallanmayı olumsuz yönde etkilemektedir. Diğer yandan kallus oluşumuna neden olmakta bu kallus oluşumu iletim demetlerinin boşaltılmasına ve bitkilerin yaşama oranının azalmasına neden olmaktadır. *Centaurea cineraria* türünde IBA dozunun artmasıyla köklerde kallus rejenerasyonun da artışı gözlemlenmiştir. Bu araştırmada 0,5 ve 1,0 mg/L IBA ilaveli ortamların köklenme durumları karşılaştırıldığına 0,5 mg/L de uzun ve daha fazla sayıda kök olduğunu kayıt etmişlerdir. Bizim çalışmamızda 0,5 mg/L

IBA içeren ortamda kök oluşumu gözlenmezken 4,0 mg/L IBA içeren ortamda kök uzunluğu 2,1 cm, 1,0 mg/L IBA'da 3,5 cm olması bu ifadeyi doğrular niteliktedir. Kök oluşumu olmayan 0,5 mg/L IBA içeren ortamda eksplant başına sürgün sayısı diğer ortamlara kıyasla daha yüksek (2,2 adet) olarak bulundu.

Centaurea tchihatcheffii türünün *in vitro* da koşullarda köklendirilmesinde kontrol uygulamasında %70,7, 0,1 mg/L IBA içeren ortamda %81,6, 1,0 mg/L IBA içeren ortamda %86,3 oranında kök oluşumu bildirilmiştir (Özler, 2014). Bu çalışmada da bizim sonuçlarımızı destekler nitelikte oksin dozunun artmasına paralel olarak köklenme oranının arttığı görülmektedir.

Sürgün ucu kültürü ile *in vitro* çoğaltılan *Centaurea ptosimopappa* bitkisinin sürgünlerinden elde edilen gövde segmenti ve yaprak parçalarından kallus oluşturmaya yönelik yapılan çalışmada BAP, NAA ve 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlarının oluşturduğu MS besi ortamı kullanıldı. Denemeler sonucunda konsantrasyon farklılıklarının ve kullanılan eksplantın kallus oluşumunda etkisi önemli bulundu (Tablo 5.5.).

Yaprak eksplantlarının parçaları gövde eksplantlarına göre kullanılan kombinasyonlarda daha fazla kallus oluşturduğu belirlendi. Benzer şekilde Janarthanam ve diğ. (2010) *Stevia rebaudiana* bitkisinde kallus gelişimi için yaptıkları çalışmada yaprak ve boğum arası eksplantları kullanmışlardır ve en iyi kallus oluşumunu yaprak eksplantında gözlemlemişlerdir. *S. rebaudiana*'da yapılan başka bir çalışmada yaprak ve boğum eksplantlarında kallus kültürü denemesi yapılmış, yaprakta oluşan kallusların boğum eksplantlarına oranla daha verimli olduğu tespit edildi (Durak, 2017). Bu çalışmadan elde edilen bulgular çalışmamız ile uyum içermektedir. Asteraceae familyasından *Tridax procumbens* türünde yapılan kallus denemelerinde, yaprak eksplantlarında kallus oluşumu 0,5 mg/L 2,4-D ve 0,5 mg/L BAP içeren ortamda maksimum düzeyde kayıt edilmiştir (Wani ve diğ., 2010). Aydoğan ve Erdağ (2015) *Centaurea zeybekii* türünde yaptıkları çalışmada yaprak eksplantının 0,5 mg/L BA içeren ortamda en yüksek oranda kallus oluşturduğunu bildirmişlerdir. Araştırma yapılan bu denemede yaprak eksplantlarında 1,0 mg/L IBA+ 3,0 mg/L NAA içeren ortamda %100 oranında yumuşak yapıda kalluslar meydana gelmiştir.

Centaurea montana bitkisinde yaprak eksplantlarında yapılan kallus denemesinde 1 mg/L 2,4-D ilaveli ortamda %75 oranında kallus oluşumu, 3,0 mg/L 2,4-D+ 0,5 mg/L BAP ilaveli ortamda %70 oranında sert yapıda kallus oluştuğunu bildirilmektedir (Alaiwi ve diğ., 2012). Genel olarak çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile önceki çalışmalardan elde edilen sonuçların uyumlu olduğu görülmektedir.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Centaurea türlerinin çoğu ülkemiz sınırları içerisinde endemik olarak yayılış göstermektedir. Endemik türlerin bazıları dar bir florada bulundukları için nesilleri çeşitli sebeplerle azaltmakta ve yok olma tehlikesi altındadırlar. Bu türlerin içerdiği sekonder metaboliter; flovonoidler, seskiterpenler, fenolik bileşikler, alkaloidler vb. gibi bileşikler; ekonomik, tıbbi, tarım, gıda, farmakoloji gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır (Canlı, 2018). Kullanılan bu metabolitlerin elde edilmesi ve yıl boyunca üretim yapılabilmesi için bitki doku kültürü yöntemleri kullanılmaktadır. Bu çalışmada kullanılan *Centaurea ptosimopappa* türü tıbbi alanda kullanılmakta ve nesli zarar görebilir olarak kayıtlarda geçmektedir (URL-2). Türün neslinin devamı için *in vitro* çoğaltma tekniklerine dair bir literatür çalışması bulunmamaktadır. *In vitro* teknikler kullanılarak çimlendirme denemeleri ile bitkinin çoğaltılması için uygun ortam belirlenmeye çalışıldı. Ayrıca içerdiği sekonder metabolitlerin tayin edilmesinde ve artırılmasında bir aşama olarak kullanılan kallus kültürü için temel besin ortamına ilave edilmesi gereken en uygun bitki büyüme düzenleyici kombinasyonlarının belirlenmesi üzerine çalışıldı.

Yapılan denemeler sonrasında elde edilen sonuçların özeti aşağıda verildi.

Centaurea ptosimopappa bitkisine ait tohumların çimlendirme denemesinde kullanılan farklı ortamlardan; en iyi çimlenmeyi distile sulu steril pamukta %26,7 oranında elde edildi. Bu oranın çok düşük olması nedeniyle, çimlenmeyi arttırıcı başka araştırmaların yapılması gerektiği sonucuna varıldı.

GA₃'ün kullanıldığı MS besi yerlerinde çimlenme meydana gelmemiştir. GA₃'ün çimlenmede etkili olamamasının bitkinin genetik yapısı ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Kallus kültürü denemelerinde kullanılan yaprak ve gövde segmenti eksplantlarında yaprak eksplantlarının kallus oluşturma potansiyelinin gövde segmenti eksplantlarına göre daha yüksek olduğu belirlendi ve yaprak eksplantlarının kallus kültürü oluşturmada kaynak olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Farklı kombinasyonlarda kullanılan BAP, 2,4-D ve NAA'nın birden çok kombinasyonunun %100 oranında kallus ürettiği gözlemlendi. Yaprak eksplantı kallus

denemesi için kullanılan 1,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L NAA'nın %100 oranında kallus oluşturması ve oluşan kallusların diğer kalluslara göre büyük (3 birim) ve yumuşak doku olması, bu kültürün geleecek çalışmalarda kullanılmasının hem daha az kimyasal kullanılmasında, hemde maddi olarak daha uygun olabileceği kanaatine varıldı. Ayrıca yapılan gözlemlerde yumuşak doku oluşturan kallusların sürgün, yaprak ve kök oluşturma potansiyelinin daha fazla olduğu görüldü. Bu sonuçlarla kallus kültürü ile indirek organogenesis çalışmalarının yapılabilieceği dşnencesi meydana gelmiştir. Yumuşak dokulu kallusların sekonder metabolit üretiminde kullanılan hücre süspansiyon kltrleri için daha uygun olması da bir avantaj olarak karşımıza çıkmaktadır.

Gövde eksplantı kallus denemesinde; 1,0 mg/L BAP+ 2,0 mg/L NAA ilaveli ortamın %100 oranında verim vermesi ve oluşan kallusların yumuşak yapıda, 3 birim büyüklüğünde olması bu ortamın daha elverişli olduğunu göstermektedir.

Köklendirme denemesi için kullanılan 4,0 mg/L IBA içeren ortamın %77 oranında köklenmesi bu ortamın sürgünlerinin kklendirilerek bitki üretiminde kullanılabileceğini göstermektedir. Bunun yanında farklı uygulamalarında yapılarak köklendirme oranının artırılabilieceği düşünülmektedir.

Yapılan denemeler sonucunda sunulan bu verilerin bundan sonraki yapılacak çalışmalarda yol gösterici olacağı düşünülmektedir. Sonraki çalışmalarda sekonder metabolitlerin araştırılması, süspansiyon kltrlerinin kurulması ve farklı elisitrlerin denenmesi çalışmalarında önemli katkılar sağlayacağı dşnlmekte ve önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Akyüz, T. (2016). *Centaurea pseudoscabiosa* Boiss. Buhse (Asteraceae) Tür Kompleksi ve Yakın İlişkili Taksonların Akrabalık İlişkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, 438617.
- Alaiwi, W., Sairam, R., Josekutty, P., Potlakayala, S., Karelia, D., Goldman, S. (2012). *In Vitro* Regeneration, Flowering and Cell Culture of *Centaurea* Species. *African Journal Of Biotechnology*, 11(9), 2296-2302, DOI: 10,5897/ajb11,1119.
- Atalay, E., Erişen, S. (2017). High Frequency Regeneration of Critically Endangered Endemic Plant *Centaurea lycaonica*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(11), 6356-6363.
- Aydoğan, S., Erdağ, B. (2015). Callus Induction and Adventitious Shoot Regeneration of *Centaurea zeybekii* Wagenitz: Endangered Endemic Plant. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(2), 1–8, DOI: 10,17100/nevbiltek.210944.
- Aydoğan, S., Erdağ, B. (2016). Tehlike Altındaki Endemik Bitki *Centaurea zeybekii* Wagenitz 'nin Kallus İndüksiyonu. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(2), 1–8, DOI: 10,17100/nevbiltek.210944.
- Aygün, A., Erdemel, H. B., (2016) Bazı *Prunus* spp Türlerinin Tohumlarından Kallus Kültürlerinin Oluşturulması. *Akademik Ziraat Dergisi*, 5(1), 9–12.
- Aygün, D. C. A. (2022). Defne (*Laurus nobilis* L.) Bitkisinin *In Vitro* Doku Kültürü ile Üretilme Olanaklarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 329537.
- Babaoğlu, M., Gürel, S., Özcan, S. (2002). *Bitki Biyoteknolojisi Vol. 1, Doku Kültürü ve Uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Vakıf Yayınları.
- Birecikli H. A. (2018). Balcı Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşidinin Mikroçoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Batman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Batman, 504265.
- Bremer, K., Jansen, R. K., Karis, P. O., Källersjö, M., Keeley, S. C., Kim, K.-J., Michaels, H. J., Palmer, J. D., Wallace, R. S. (1992). A Review of the Phylogeny and Classification of the Asteraceae. *Nordic Journal of Botany*, 12(2), 141–148. DOI: 10,1111/j.1756-1051,1992,tb01281.
- Çağlar, F. P. (2011). *Tanacetum zahlbruckneri* Nab. Grierson Bitkisi Üzerinde Yağ Asitleri Tayini ve Biyoaktivite Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 297060.

- Canlı, C. (2018). Bazı Endemik *Centaurea* L. (Asteraceae) Türlerinin Fitokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi ve İlaç Sanayinde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 495298.
- Cavusoğlu A., Sulusoğlu M., (2015). The Effects of Exogenous Gibberellin on Seed Germination of the Fruit Species. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 8 (1): 06-09.
- Çelik, O. (2015). Hatay’da Yayılış Gösteren Bazı Endemik *Centaurea* (Asteraceae) Türlerinin Autekolojik Açidan Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay, 542612.
- Coskun, Y., Duran, R. E., Kilic, S. (2019). Striking Effects of Melatonin on Secondary Metabolites Produced By Callus Culture of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 138(1), 89–95, DOI: 10.1007/s11240-019-01605-7.
- Değirmenci, C. (2019). Tohum Çimlenme Hızının Ekolojik Önemi ve Farklı Çimlenme Hızı Hesaplama Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 591211.
- Demir, S. (2008). *Centaurea depressa* Bieb.’n Sekonder Metabolitlerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir. 229954.
- Demirel, S. (2015). Bazı *Centaurea* spp. Türlerinin *In Vivo* ve *In Vitro* Koşullarda Çimlenme Olanaklarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van. 398798.
- Durak, Z. (2017). *Stevia rebaudiana* Bertoni (Asteraceae)’ da *In Vitro* Üretim Çalışmaları. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 467967.
- Ekinci, Ö. (2019). Kritik Endemik *Centaurea amaena*’nın Doku Kültürü Yöntemleriyle Hızlı Çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri, 596539.
- Emek, Y., Erdag, B. (2013). *In Vitro* Propagation of Critically Endangered Endemic *Rhaponticoides mykalea* (Hub.-Mor.) by Axillary Shoot Proliferation. *In Current Progress in Biological Research*, 9, 203-213 DOI: 10.5772/55599.
- Hosoki, T., Kimura, D. (1997). Micropropagation of *Centaurea macrocephala* Pushk. ex Willd. by Shoot-axis Splitting. *Hort Science*, 32(6), 1124–1125.
- Iglesias, R. G., Babiano, M. J. (1997). Endogenous Absciscic Acid During the Germination of Chick-Pea Seeds. *Physiologia Plantarum*, 100(3), 500–504. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1997.tb03054.x.

- Jafarinia, M., Jafarinia, M. (2019). A Review of Medicinal Properties of Some Asteraceae Family Plants on Immune System. *Report of Health Care*, 5(2), 1–7.
- Janarthanam, B., Gopalakrishnan, M., Sekar, T. (2010). Secondary Metabolite Production in Callus Cultures of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 45(3), 243–248.
- Kaya, A. Ç. (2022). *Centaurea depressabieb*'in *In Vitro* Bitki Rejenerasyonu ve Antibakteriyel Aktivite Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Kaya, S., Uzunoğlu, F., Kayıkçı S., Mavi, K. (2019). Hatay Florasında Bulunan *Centaurea ptosimopappa* Hayek Türünün Tohumla Çoğaltma Yöntemlerinin Saptanması ve Fide Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. 5. *Süs Bitkileri Kongresi*, Bursa, 9-11 Ekim.
- Khan, M. A., Gulzar, S. (2003). Light, Salinity and Temperature Effects on the Seed Germination of Perennial Grasses. *American Journal of Botany*, 90(1), 131–134. DOI: 10.3732/ajb.90.1.131.
- Kurt, S., Erdağ, B. (2009). *In Vitro* Germination and Axillary Shoot Propagation of *Centaurea zeybekii*. *Biologia*, 64(1), 97–101, DOI: 10.2478/s11756-009-0003-0.
- Latifian, E., Arvas, Y. E., Kaya, Y., (2018). Effects of Different BAP and IAA Concentrations on Micropropagation of *Tagetes minuta* Plant *In International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 1(2), 96-104.
- Mariana, S. R., Bahena, S. M., Antonio, R. E., Antonio, B. A., Francisco, C. S., Judith, G. C., Juan, J. A. F., Irene, P. A., Alvarez, L. (2018). Establishment and Phytochemical Analysis of A Callus Culture From *Ageratina Pichinchensis* (Asteraceae) and Its Anti-Inflammatory Activity. *Molecules*, 23(6), 1258, DOI: 10.3390/molecules23061258.
- Mohanlall, V. (2020). Plant Cell Culture Systems for the Production of Secondary Metabolites, *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6(1), 35–47. DOI: 10.9790/264X-0601023547.
- Nadjafi, F., Bannayan, M., Tabrizi, L., Rastgoo, M. (2006). Seed Germination and Dormancy Breaking Techniques for *Ferula Gummosa* and *Teucrium polium*. *Journal of Arid Environments*, 64(3), 542–547. DOI: 10.1016/j.jaridenv.2005.06.009.
- Okay, Y., Ellialtıoğlu, Ş., Demir, K., Tipirdamaz, R., Savcı E., A., Özler, H., Gümüş, C., Günöz, A. (2014). *Sentorya (Centaurea tchihatchefii* Fish Mey.) Endemik Bitkisinin Çoğaltımı Üzerinde Çalışmalar. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 7(1), 42–48.
- Özel Alev, Ç. (2002). *Centaurea tchihatcheddii*'nin *In Vitro* Çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Özler, H. (2014). Endemik *Centaurea tchihatcheffii* Fish Mey. (Yanardöner) Bitkisinde *In Vitro* Koşullarda Poliploid Bitki Elde Etme Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara, 382405.
- Padilla, I. M. G., Encina, C. L. (2003). *In Vitro* Germination of Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) Seeds. *Scientia Horticulturae*, (97), 219–227. DOI:10.1016/S0304-4238(02)00160-7.
- Perica Curkovic, M. (2003). *In Vitro* Propagation of *Centaurea rupestris* L. *Acta Biologica Cracoviensis Series Botanica*, 45(2), 127–130.
- Ramachandra Rao, S., Ravishankar, G. A. (2002). Plant Cell Cultures, Chemical Factories of Secondary Metabolites. *Biotechnology Advances*, 20(2), 101–153. DOI: 10.1016/S0734-9750(02)00007-1.
- Rustaiyan, A., Faridchehr, A. (2021). Constituents and Biological Activities of Selected Genera of the Iranian Asteraceae Family. *Journal of Herbal Medicine*, 25, 100405, DOI: 10.1016/j.hermed.2020.
- Şenkul, Ç., Kaya, S. (2017). Türkiye Endemik Bitkilerinin Coğrafi Dağılımları. *Türk Coğrafya Dergisi*, 69,109-120, DOI: 10.17211/tcd.322515.
- Sharonova, N., Nikitin, E., Terenzhev, D., Lyubina, A., Amerhanova, S., Bushmeleva, K., Rakhmaeva, A., Fitsev, I., Sinyashin, K. (2021). Comparative Assessment of the Phytochemical Composition and Biological Activity of Extracts of Flowering Plants of *Centaurea cyanus*, *Centaurea jacea* and *Centaurea scabiosa*. *Plants*, 10(7),1279. DOI: 10.3390/plants10071279.
- Sökmen, A., Gürel, E., (2001). Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.
- Stanilova, M., Banchева, S., Petrov, S., Petrova, G. (2016). Inter-Simple Sequence Repeat Analysis of Genetic Fidelity *In Vitro* Micropropagated Plants of the Endangered Plant Species *Centaurea davidavii* Urum. (Asteraceae), *First National Conference of*, Sofia, 71–78.
- Sürücü, C., (2012). Türkiye Endemiği *Scorzonera ahmet-duranii*'de Organogenez. Yüksek Lisans Tezi, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zonguldak, 320680.
- Thomas, T. D., Maseena, E. A. (2006). Callus Induction and Plant Regeneration in *Cardiospermum halicacabum* Linn. an Important Medicinal Plant. *Scientia Horticulturae*, 108(3), 332–336. DOI: 10.1016/j.scienta.2006.02.008
- Traykova, B., Stanilova, M., Banchева, S., Gorgorov, R., Delcheva, M. (2015). Ex Situ and in Situ Conservation of *Centaurea pseudaxillaris* (Asteraceae) By Means of *Plant Biotechnology*. 137–145, ISSN: 1314-6246.

- Türkoğlu, N., Özdemir A., F., Keskin, N., Khawar M., K. (2018). Efficient Protocol for Multiple Micro-Shoot Regeneration From Endanger, Endemic and Ornamental Plant *Centaurea fenzlii* Reichardt. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27, 1076–1080.
- URL-1: file:///C:/Users/User/Downloads/T%C3%BCrkiyebitkileri.com%20-%20Centaurea%20ptosimopappa%20-%20T%C3%BCrkiyebitkileri.com.pdf, (Ziyaret tarihi: 6 Kasım 2022).
- URL-2: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1_tax_id=5480 (Ziyaret tarihi: 15 Ekim 2022).
- Valletta, A., Pasqua, G. (2016). Strategies for Ex Situ Conservation of *Centaurea cineraria* Subsp. *Circae* (Asteraceae), An Endemic Plant From Lazio (Italy). *Plant Biosystems*, 150(2), 323–332, DOI: 10.1080/11263504.2014.1001464.
- Wani, M., Pande, S., More, N. (2010). Callus Induction Studies in *Tridax procumbens* L. *International Journal of Biotechnology Applications*, 2(1), 11–14. DOI: 10.9735/0975-2943.2,1,11-14.
- Yılmaz, M. B., Kısakürek, Ş. (2020). *Lolium perenne* L. Çeşitlerinde Kuraklık Stresinin Çimlenme ve Erken Fide Gelişimi Üzerine Etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 3, 539-538. DOI: 10.18016/ksutarimdoga.vi.777692.
- Yüzbaşıoğlu, E., Dalyan, E., Bona, M., Öz, G. (2012). In Vitro Propagation of Endemic Plant *Centaurea arifolia* Boiss. Taxa. *In IUFS Journal of Biology IUFS J Biol* 71(2), 121-127.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Doğın B., Aygün A., (2020), Sekonder Metabolitler ve Üretim Yolları, *Uluslararası Fen Bilimleri Kongresi*, Körfez/Kocaeli 19-20 Haziran.



ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini Sakarya’da tamamladı. 2014 yılında başladığı Kocaeli Üniversitesi Eğitim Fakültesi Fen Bilgisi Öğretmenliği Bölümün’ den 2018 yılında Fen Bilgisi Öğretmeni olarak mezun oldu. 2018-2023 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı. 2020-2021 tarihleri arasında özel bir öğrenci yurdunda “Yönetim Memuru” olarak çalıştı. 2021-2022 eğitim öğretim yılında İstanbul/ Kağıthane ilçesinde Profilo Barış İmam Hatip Ortaokulunda Fen Bilgisi öğretmenliği yaptı.

