

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN *SALVIA*
***SCLAREA*' DA SEKONDER METABOLİTLER ÜZERİNE**
ETKİLERİ

Merve GEBEŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Danışman

Prof. Dr. Semiha ERİŞEN

Eylül, 2022

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNİN *SALVIA*
SCLAREA' DA SEKONDER METABOLİTLER ÜZERİNE
ETKİLERİ**

Merve GEBEŞ tarafından hazırlanan tez çalışması 19.09.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Semiha ERİŞEN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Semiha ERİŞEN, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Sevgi MARAKLI, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üye. Hüseyin SERVİ, Üye
İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Semiha ERİŞEN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "Farklı Büyüme Düzenleyicilerinin *Salvia sclarea*'da Sekonder Metabolitler Üzerine Etkileri" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Merve GEBEŞ

İmza



Aileme...

TEŐEKKÜR

Yüksek lisans öğrenim sürecim içerisinde elimden tutan, tekrar çalışmaya başlamamı sağlayan, bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, çok kıymetli hocam Prof. Dr. Semiha ERİŞEN' e, yaptığım çalışmalar sırasında sabırla yol gösterici olan, saygıdeğer Dr. Öğr. Üyesi Hüseyin SERVİ' ye, hayatımın her aşamasında bana destek olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

Merve GEBEŞ



İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ	vii
KISALTMA LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ	x
ABSTRACT	xiii
1 GİRİŞ	1
1.1 Literatür Özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı	3
1.3 Hipotez	4
2 GENEL BİLGİLER	5
2.1 <i>Salvia sclarea</i> L.....	5
2.2 Bitki Büyüme Düzenleyicileri	8
2.2.1 Büyüme Teşvik Edici Hormonlar	9
2.2.2 Büyüme Engelleyici Hormonlar	12
2.3 Bitkisel Hormonların Gen Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	13
2.4 Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Tarımda Kullanımı	14
2.5 Sekonder Metabolitleri.....	15
2.5.1 Terpenler (Terpenoidler)	16
2.5.2 Fenolik Bileşikler.....	16
2.5.3 Alkaloidler	17
3 MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1 Materyal.....	18
3.1.1 <i>S. sclarea</i> tohumları	18
3.1.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar ile alet ve cihazlar.....	18
3.2 Çalışmanın Yöntemi	20
3.2.1 Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	20
3.2.2 Sitokininlerin Uygulanması	21
3.3 Sitokin Uygulamalarının Değerlendirilmesi	22
3.4 Sekonder Metabolit İçeriklerinin Belirlenmesi.....	23
3.5 Verilerin Değerlendirilmesi.....	26
4 SONUÇ VE ÖNERİLER	27

4.1 BBD' lerin Bitki Büyümesi ve Gelişimine Etkisi.....	27
4.2 BBD' lerin Sekonder Metabolit İçeriğine Etkisi	33
4.3 Öneriler.....	36
KAYNAKÇA	51
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR	61



SİMGE LİSTESİ

%	Yüzde
μM	Mikromolar
gr	Gram
L	Litre
Mg	Miligram
MS	Murashige and Skoog
N	Normalite
Ppm	Milyonda bir



KISALTMA LİSTESİ

BAP	Benzilaminopurin
BPA	Benzol fenilalanin
Ca	Kalsiyum
GC-MS	Gaz kromatografisi- kütle spektrometresi
HCl	Hidroklorik asit
IAA	İndol asetik asit
IBA	İndolbütirik asit
JA	Jasmonat
KIN	Kinetin
<i>m</i> -T	<i>Meta</i> -topolin
NAA	Naftelen asetik asit
NaOH	Sodyum hidroksit
PA	Poliamin
PAA	Fenil asetik asit
PBZ	Fenilbutazon
SA	Salisilik asit
TDZ	Thidiazuron

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 <i>S. sclarea</i> bitkisi	6
Şekil 2.2 Gen aktivitesinin hormonal kontrolü.....	13
Şekil 3.1 Çimlenen <i>S. sclarea</i> tohumları.....	20
Şekil 3.2 45 günlük <i>S. sclarea</i> bitkileri.....	21
Şekil 3.3 Sitokinin uygulaması yapılacak olan bitkiler	21
Şekil 3.4 Kurutulmuş bitki organları.....	23
Şekil 3.5 Ekstraksiyon işlemi	24
Şekil 3.6 Bitki ekstralarının elde edilmesinde kullanılan evaporatör	24
Şekil 3.7 <i>S. sclarea</i> ekstresi	25
Şekil 3.8 GK/MS cihazı.....	25

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 <i>S. sclarea</i> sınıflandırılması	5
Tablo 2.2 Oksin çeşitleri.....	9
Tablo 2.3 Sekonder metabolitlerin sınıflandırılması	16
Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar	18
Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar	19
Tablo 3.3 Kullanılan BBD ve çözücüleri.....	22
Tablo 4.1 BBD uygulamalarının <i>S. sclarea</i> 'da bitki büyüme ve gelişimine etkisine ait varyans analizi sonuçları	28
Tablo 4.2 BBD uygulamalarının <i>S. sclarea</i> 'da yaprakta bitki büyüme ve gelişimine etkisine ait sonuçlar	31
Tablo 4.3 BBD uygulamalarının <i>S. sclarea</i> 'da y. sapında bitki büyüme ve gelişimine etkisine ait sonuçlar	32
Tablo 4.4 Yaprak hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu	38
Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu.....	44

Farklı Büyüme Düzenleyicilerinin *Salvia sclarea*' da Sekonder Metabolit Üzerine Etkileri

Merve GEBEŞ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Semiha ERİŞEN

Salvia sclarea antibakteriyel, antiseptik, antifungal, antikanserojen, antiinflamatuvar özelliklere sahip tıbbi bir bitkidir. Sahip olduğu değerli metabolitlerin üretimini arttırmak amacıyla yapılan *in vitro* çalışmalarda bitki büyüme düzenleyicilerinin etkili olduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmada *in vivo* ortamda *S. sclarea* bitkisine uygulanan farklı konsantrasyonlarda (25, 50, 100mg/L) 4 farklı bitki büyüme düzenleyicinin (BAP, KIN, TDZ, *m*-T) bitki büyüme ve gelişimi ile sekonder içeriğe etkileri değerlendirilmiştir. Bitki büyüme ve gelişimi yaprak sayısındaki artış, yaprak ile yaprak saplarının yaş ve kuru ağırlıkları bakımından değerlendirilmiştir. Uygulamalar sonucunda bitki büyüme düzenleyicilerinin yaprak sayısının artışı bakımından anlamlı farklılığa neden olmadığı fakat yaprak ve yaprak saplarının yaş ve kuru ağırlıklarına etkisinin istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. BAP ve KIN bitki büyüme ve gelişimi üzerinde benzer etkiye sahip iken ve *m*-T'nin diğerlerine

göre daha yüksek oranda arttırıcı etki gösterdiği belirlenmiştir. Uygulamalar sonrası kurutulmuş yaprak ve yaprak saplarının hekzan ekstreleri hazırlanarak içerikleri GK/MS ile analiz edilmiştir. Ekstrelerde yüksek oranda yağ asidi türevleri ile terpen ve *n*-alkan türevleri tespit edilmiştir. Sekonder metabolit içeriğinin uygulanan BBD çeşidi ve konsantrasyonuna bağlı olarak kalitatif ve kantitatif olarak değiştiği, yaprak ve yaprak sapında bu etkilerin farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar *m*-T'nin bitki büyüme ve gelişimini arttırmada daha etkili olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte sekonder metabolitlerin üretiminde bitki büyüme düzenleyici uygulamalarının farklılık göstermesi nedeniyle istenilen metabolitin üretiminde her bir metabolit için uygun bitki büyüme düzenleyicisinin tespit edilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bitki büyüme düzenleyicileri, sekonder metabolit, *in vivo*

Effect of Different Growth Regulators on Secondary Metabolites in *Salvia sclarea*

Merve GEBEŞ

Department of Molecular Biology and Genetics

Master's Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Semiha ERİŞEN

Salvia sclarea is a medicinal plant with antibacterial, antiseptic, antifungal, anticarcinogenic, anti-inflammatory properties. Plant growth regulators have been shown to be effective in *in vitro* studies to increase the production of valuable metabolites. In this study, the effects of 4 different plant growth regulators (BAP, KIN, TDZ, *m*-T) applied to *S. sclarea* plant *in vivo* at different concentrations (25, 50, 100 mg/L) on plant growth and development and secondary content were evaluated. Plant growth and development was evaluated with the increase in the number of leaves, the fresh and dry weights of leaves and petioles. As a result of the applications, it was determined that the plant growth regulators did not cause a significant difference in terms of the increase in the number of leaves, but the effect on the fresh and dry weights of the leaves and petioles showed a statistically significant difference. It was determined that BAP and KIN had similar effects on plant growth and development, and *m*-T had a higher enhancing effect than the others. After the applications, hexane extracts of the dried leaves and petioles were prepared and their contents were analyzed by GK/MS. High levels of fatty acid derivatives and terpene and *n*-alkane

derivatives were detected in the extracts. It was determined that the content of secondary metabolites changed qualitatively and quantitatively depending on the type and concentration of PGR applied, and these effects differed in leaves and petiole. The results obtained showed that *m*-T was more effective in increasing plant growth and development. However, since plant growth regulator applications differ in the production of secondary metabolites, it is necessary to determine the appropriate plant growth regulator for each metabolite in the production of the desired metabolite.

Keywords: Plant growth regulators, secondary metabolite, *in vivo*



1.1 Literatür Özeti

Bitkileri biyotik ve abiyotik stres durumlarına karşı koruyan, temel fizyolojik olaylarda görev almayan, ihtiyaç durumuna göre bitkinin çeşitli kısımlarında sentezlenen bileşikler sekonder metabolitler olarak adlandırılmaktadır (Bakır, 2020). Bitkilerin bütün organlarında üretilebilirler. Antioksidan (Taylor ve Grotewold, 2005), anti-fungal (Pitarokili ve diğerleri, 2003) anti-bakteriyel, anti-inflamatuar özelliğe ve kanserli dokularda sitotoksik etkiye sahiptirler (Afonso ve diğerleri, 2019). Besin endüstrisinde (Doğan ve Doğan, 2012), parfüm üretiminde (Caniard ve diğerleri, 2012), patojenlerle mücadelede (Cavalieri ve Caporali, 2010), metaller ile kirletilmiş toprakları arındırmada kullanılırlar (Angelova ve diğerleri, 2016).

Zengin sekonder metabolit içeriğine sahip türleri içeren *Salvia*, Lamiaceae/Labiatae ailesine dâhil en fazla sayıda tür barındıran cinstir. *Salvia* türleri dünyanın her yerinde yetişebilme özelliğine sahiptirler (Ghorbani ve Esmailzadeh, 2017). Bu cinse ait türler polifenol, fenolik bileşikler ve flavonoidler (flavon, flavonol, flavonol glikozid) açısından fazlasıyla zengindir. Bitki içindeki bileşenler coğrafi ve iklimsel farklılıklar, kullanılan ekstraksiyon yöntemi, seçilen bitki organı ve gen farklılıklarına göre değişebilmektedir (Russo ve diğerleri, 2013). *Salvia* türlerinde genel olarak en fazla miktarda bulunan yağ asitleri linoleik asit, linolenik asit ve oleik asittir (Bağcı ve diğerleri, 2004). Doğal yaşam alanı Kuzey Akdeniz Havzası, Kuzey Afrika ve Orta Asya'nın bazı bölgeleri olarak belirlenmiştir. Yetiştirildiği alanlar ise volkanik kayalık yamaçları, ormanlar, tarlalar ve yol kenarları şeklinde belirlenmiştir (Eker ve diğerleri, 2022).

Dünyanın her yerinde yetişebilen bitkinin Akdeniz ve Avrupa'da yetişmesine ılıman iklim ve subtropikal iklim olanak sağlamıştır (Aćimović ve diğerleri, 2018).

Salvia türlerinde var olan değerli sekonder metabolit üretimini artırmak için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır, Bitki Büyüme Düzenleyicisi (BBD) uygulamaları bu yöntemlerden sadece bir tanesidir (Yağcı ve diğerleri, 2008). Aşağıda BBD kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalara ait örneklere yer verilmiştir.

Salvia officinalis ile gerçekleştirilen *in vitro* çalışmada besin ortamına ilave edilen sitokininlerin sekonder metabolit içeriğini arttırdığı ve sekonder metabolit artışında en etkili sitokininin Kinetin (KIN) olduğu tespit edilmiştir (Seabra ve diğerleri, 2002; Santos-Gomes ve diğerleri, 2003). *S. fruticosa* ile gerçekleştirilen çalışmada *in vitro* ortamda kallus, hücre süspansiyon ve kök kültürü ile *in vivo* ortamda yetiştirilen bitkilerdeki rosmanirik asit (RA) miktarı karşılaştırılmıştır. *In vivo* ortamda yetiştirilen bitki yapraklarından elde edilen RA miktarına kıyasla kallus kültüründen elde edilen RA miktarının 2 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir. Kallus oluşumu ve RA birikimi için 6.9 μ M Thidiazuron (TDZ) ve 3 μ M indol 3 asetik asit (IAA) önerilmiştir (Karam ve diğerleri, 2003).

Salvia leriifolia Benth. ile gerçekleştirilen çalışmada ise çeşitli BBD' lerin farklı kombinasyonlarını içeren ortamlardan elde edilen kallus ve hücre süspansiyon kültürlerindeki fenolik bileşik miktarları belirlenmiştir. Kallus kültüründe 5mg/L naftalin asetik asit (NAA)+5mg/L benzilaminopurin (BAP) destekli Murashige ve Skoog(MS) (MurashigeandSkoog, 1964) besiyerinde fenolik bileşik (rosmanirik asit) miktarının arttığı ve 16.72 mg/L olduğu belirlenmiştir (Modarres ve diğerleri, 2018).

Salvia viridis e ait *in vitro* gerçekleştirilen çalışmada ise 4 farklı sitokinin çeşidinin (BAP, BPA, *m*-T, rBAP) farklı konsantrasyonlarda (0.5, 1, 2 mg/L) uygulanmasının sekonder metabolit üretimi üzerine etkisi araştırılmış ve sekonder metabolit üretiminde BBD' lerin etkili olduğu belirlenmiştir. *meta*-Topolin (*m*-T)' nin fenil etanoid (fenolik bileşik) miktarını önemli şekilde

arttırdığı ve BAP' ın ise RA ve fenolik bileşiklerin üretimini arttırdığı belirlenmiştir (Grzegorzcyk-Karolak ve diğerler, 2020).

S. sclarea ile yapılan *in vivo* çalışmada KIN, İndolasetikasit (IAA), Paclobutrazol (PBZ) uygulamaları yapılarak bitkinin büyüme ve gelişmesi ile temel bileşen verimi belirlenmiştir. KIN, IAA ile PBZ' nin çiçeklenme, sürgün sayısı, bitki ağırlığı ve yağ verimi üzerinde yaptığı etki belirlenmiştir. KIN ve PBZ yağ verimini artırdığı belirlenmiştir (Singh ve diğerleri, 2008).

S. sclarea L. ile *in vitro* ortamda gerçekleştirilen çalışmada da sitokin grubu (BAP, KIN, TDZ, *m*-T) BBD uygulamalarının sekonder metabolit birikimi üzerine etkileri araştırılmıştır. *S. sclarea* yapraklarındaki sekonder metabolitlerin içeriği ve miktarında, uygulanan sitokin çeşidine bağlı olarak farklılık gözlemlendiği ve değerli bir metabolit olan fitol'ün *m*-T içeren ortamda en yüksek artışı gösterdiği belirlenmiştir (Erişen ve diğerleri, 2020).

1.2 Tezin Amacı

Bitki büyüme düzenleyicilerinin tarımda yaygın şekilde kullanıldıkları bilinmektedir. *Salvia* cinsine ait türlerde genellikle *in vitro* kültürlerde sitokinlerin sekonder metabolit üretimine etkileri ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır. *In vivo* ortamda *S. sclarea* bitkisinde PBZ, IAA ve KIN' ın büyüme-gelişim ile sekonder içerikte değişimlere neden olduğu bildirilmiştir (Sing, 2008). Bununla birlikte Erişen ve diğerleri, (2020)' nin *S. sclarea* ile gerçekleştirdiği çalışmada *in vitro* ortamda 4 farklı BBD (BAP, KIN, TDZ, *m*-T) kullanmışlar ve sonuçta sekonder metabolit içeriğinde kullanılan BBD çeşidine bağlı değişimlerinin olduğu gözlemlenmiştir. Bu araştırmalardan yola çıkılarak bu çalışmada *in vivo* ortamda yetiştirilen *S. sclarea* bitkisine uygulanan farklı (BAP, KIN, TDZ, *m*-T) sitokin kaynaklarının bitki büyüme-gelişimine etkileri ile sekonder metabolit içeriğine etkilerinin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Geçmişten günümüze BBD kullanılarak *in vivo* ve *in vitro* ortamda yetiştirilen çeşitli bitkilerde, sekonder metabolit içeriğindeki değişimler kaydedilmiştir. *S. sclarea* tıbbi değeri yüksek ve aromatik bir bitkidir. Bu tez çalışmada *in vivo* ortamda yetiştirilen *S. sclarea* bitkisine uygulanan BAP, KIN, TDZ ve *m*-T sitokininlerin bitki büyüme ve gelişimini etkileyeceği bunun yanı sıra bitkideki sekonder metabolit içeriğinde hem çeşit hem de miktar olarak değişime neden olacağı bir durum ortaya çıkacağı beklenmektedir.



GENEL BİLGİLER

2.1 *Salvia sclarea* L.

Misk adaçayı (*S. sclarea*) (Carrubba ve diğerleri, 2002) halk arasında şabla, ayı şablası, adaçayı, tüylü adaçayı, ayı kulağı olarak bilinir (Doğanoğlu ve diğerleri, 2006). *S. sclarea* tıpta (Peano ve Moretti, 2002), kozmetikte (Caniard ve diğerleri, 2012), çeşitli içeceklerin üretiminde (Gonceariuc Balmuş ve Cotelea, 2016), eczacılıkta kullanılan (Gülçin ve diğerleri, 2004). Ekonomik değeri yüksek tıbbi ve aromatik bir bitkidir. Lamiaceae familyası *Salvia* cinsinde yer alan bitkinin sınıflandırılması Tablo 2.1' de gösterilmiştir (GBIF Database).

Tablo 2.1 *S. sclarea* sınıflandırılması

Alem: *Plantae*

Şube: *Tracheophyta*

Sınıf: *Magnoliopsida*

Takım: *Lamiales*

Aile: *Lamiaceae*

Cins: *Salvia*

Tür: *Salvia sclarea*

S. sclarea bitkisi soluk kahve, sert kabuklu ve kazık kök yapısına sahiptir. Kök uzunluğu 15-70 cm arasında değişebilmektedir. Gövde yapısı dikdörtgenimsi, 50-100 cm uzunluğunda olabilmektedir. Gövde dik yapılıdır ve büyüdükçe dallanma göstermektedir. Bitki gövdesi gri-beyaz görünüme sahiptir bunun

sebebi bitki yüzeyinde bulunan uçucu yağ içeren tüylerdir. Bitkinin yapraklarının alt ve üst yüzeyi tüylerle kaplı, basit, geniş ve oval yapılıdır. Yaprak damarları belirgin şekilde görülmektedir. Bitkide yapraklar karşılıklı bir şekilde dizilmektedirler. Yaprak sapı 3-9 cm aralığında değişebilmektedir. Bitkide çiçekler 2-6 çiçekten oluşan dairesel diziliş göstermekte ve zigomorf simetridir. Çiçekler 2-3 mm aralığında değişen çiçek sapıyla bağlanmaktadır. Çiçekler üst ve alt dudak olmak üzere 2 parçalıdır, üst dudak 2 dişli ve oval bitişli bir yapıya sahipken alt dudak 2 dişli bir yapıya sahiptir (Özdemir ve Şenel, 1999). Çiçek rengi leylak veya kremi yapıda olabilmektedir (Şekil 2. 1). Çiçeklerin Mayıs-ağustos aylarında açtığı bilinmektedir. Bitki iki yıllık veya kısa yaşamlı çok yıllık bitki olarak tanımlanmaktadır.



Şekil 2.1 *S. sclarea* bitkisi (Doğan, 2019)

S. sclarea sklareol, manool, salvipison, 7-oksoroylenon, ferruginol, mikrostejiol, kandidissiol, 2,3-dehidrosalvipison, oksoferruginol, karyofillen oksit, spatulenol, 6-hidroksiluteolin-6,7,3',4'-tetra metil eter, salvigenin, 6-hidroksiapigenin-7,4'-dimetil eter, 4-metil apigenin, apigenin, luteolin, α -amirin, β -sitosterol gibi çeşitli sekonder metabolitleri içermektedir. Bunlar içinde sklareol yüksek değere sahip bir metabolittir (Caissard ve diğerleri, 2012). 2015 yılında yapılan bir çalışmada Türkiye'de yetişen *S. sclarea* bitkisinde 37 çeşit temel yağ asiti tespit edilmiştir. Bu yağ asitleri içinde en fazla oranda bulunan temel yağ asitlerinin spatulenol, karyofillen oksit, linolil asetat, linalool olduğu belirlenmiştir (Doğan ve diğerleri, 2015). *S. sclarea* sklareol yüksek değere sahip bir metabolittir metabolik faaliyetlere katkısının yanı sıra antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip önemli bir diterpendir (Ulubelen ve diğerleri, 1994; Van den Brule ve diğerleri, 2002).

Kozmetik amaçlı amber üretiminde temel madde olarak kullanılmakla beraber (Schmiderer ve diğerleri, 2007), kanser hücreleri üzerinde apoptotik etkileri de bulunmaktadır (Dimas ve diğerleri, 2001; Dimas ve diğerleri, 2007).

Bitkiye ait ekstreler ve yağlar uzun yıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla bitkiden elde edilen ekstrelerin ve yağların etkileri ortaya konulmuştur. Aşağıda bu çalışmalara yer verilmiştir:

S. sclarea' nin aseton ve kloroform ile elde edilen ekstrelerinin antioksidan ve antibakteriyel etkileri olduğu belirlenmiştir. *Bacillus megaterium*, *Proteus vulgaris*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus brevis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* ve *Mycobacterium smegmatis* bakterileri üzerinde *E. coli* hariç antibakteriyel ve *Penicillium frequentans*, *Fusarium equiseti*, *Aspergillus candidus* ve *Byssosclamyces fulva* mantarları üzerindeki antifungal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Gülçin ve diğerleri, 2004). Linalil asetat, linalol ve germakrene temel yağları *E. coli*, *S. aureus*, *B. pumilus*, *K. pneumoniae*, *B. subtilis*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerinde hücre zarının geçirgenliğini etkileyerek antibakteriyel etki gösterdiği rapor edilmiştir (Cui ve diğerleri, 2015).

S. sclarea' dan elde edilen yağlar, ratlar ile yapılan bir çalışmada deri altı dokusuna enjekte edilerek ve solunum yoluyla uygulanarak çalışma sonucunda antidepresan ilaçlara benzer etki yaptığı belirlenmiştir (Seol ve diğerleri, 2010). Yine *S. sclarea* ekstrelerinin protozoalar üzerinde toksik etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Kırmızıbekmez ve diğerleri, 2011).

Bitkinin saçak kök kültürlerinde belirlenen 4 diterpernin (ferruginol, salvipison, atiopinin, 1-aksoatiopinin) insanda lösemi kanserine sebep olan lenfoblastik NALM-6, promyolectic HL-60 ve çoklu ilaç direncine sahip HL-60 ADR hücreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bitkide bulunan diterpenlerden salvipisone ve aethiopinone' nin yüksek etkiye sahip olmakla birlikte sitotoksik etki gösterdikleri de belirlenmiştir (Ro'z' alskia ve diğerleri, 2014).

Fareler üzerine yapılan çalışmalarda bitkiye ait yağların antidiyabetik (Raafat ve Habib, 2018) ve rahim kasları üzerinde oksitosin benzeri etkiye sahip olduğu

belirlenmiştir (De Golier ve Adamson, 2021). Bununla birlikte bitkinin yaprak ve çiçeklerinin etanol ekstraktlarının α -glukozidaz, α -amilaz, pankreatik lipaz, bütiril-kolinesteraz enzimleri üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Ekin ve diğerleri, 2019).

2.2 Bitki Büyüme Düzenleyicileri

Bitkilerde üretilen, az miktarda salgılanmaları olumlu veya olumsuz etki göstermeleri için yeterli olan, üretildiği kısımda etkin olabildiği gibi bitkinin diğer kısımlarına taşınabilen, tek başına veya birlikte fizyolojik değişikliğe sebep olabilen kimyasallara bitki hormonları denilmektedir. Hormonlar bitki bünyesinde sürekli olarak etkileşim halindedirler. Bu etkileşim sayesinde hormonlar bitkide pozitif veya negatif geri bildirim sağlayarak hormon düzeyini dengede tutmaktadırlar (Kaynak ve Ersoy, 1997).

Bitkilerde fizyolojik olayları düzenleyen bu kimyasalların bileşik yapıları keşfedildikten sonra sentetik olarak üretilmeye başlanmıştır. Hem doğal hormonlar hem de sentetik olarak üretilen kimyasallar birlikte Bitki Büyüme Düzenleyici maddeler olarak adlandırılmaktadır (Halloran ve Kasım, 2002).

Bitki hormonları büyümeyi teşvik edici ve engelleyici olarak gruplandırılmaktadırlar. BBD'leri Oksinler, Sitokininler, Giberellinler, Absisik asit, Etilen olmak üzere 5 ana grupta toplanmaktadır. Bunlardan ilk üçü büyümeyi teşvik edici, diğerleri büyümeyi engelleyici etki yapmaktadır. Günümüzde Poliaminler (PA), Jasmonatlar (JA), Brassinosteroidler (BR) ve Salisilik asit (SA) bitki hormonu olarak kabul edilmektedir. BBD'ler tarımda bitki gelişimini düzenlemek için bitkinin ihtiyacına ve bitki türüne göre farklı çeşitte ve miktarda bitkilere uygulanabilmektedir (Gürel ve diğerleri, 2016). BBD'lerin aktif bir şekilde görevlerini yerine getirebilmeleri için uygulama zamanı, miktarı, diğer BBD'ler ile olan ilişkisi, uygulamanın yapıldığı bitki türü temel şartlar arasındadır (Kaynak ve İmamgiller, 1997).

2.2.1 Büyümeyi Teşvik Edici Hormonlar

2.2.1.1 Oksinler

Bitkilerde keşfi yapılan ilk hormonlardır. Işığa duyarlı olan oksinler tohum veya bitki parçalarından kök oluşumunu sağlamaktadır. Büyüme, partenokarpik meyve oluşumu ve apikal dominansiyi önleme gibi görevleri bulunmaktadır (Kaynak ve Ersoy, 1997). 1926'da yulaf bitkisinde büyüme teşvik eden bir madde olduğu ve bu maddeye büyütücü anlamında Oksin adı verildiği bilinmektedir. İndolasetikasit (IAA) ise keşfi yapılan ilk oksin hormonudur. Triptofan aminoasitinden sentezlenmektedir. Oksinler gövde ve dal uçları, genç yapraklar ve tohumlarda sentezlenmektedir (Kocaçalışkan, 2012). Bitkiler dışında bakteriler, alg ve mantarlarda bulunabilmektedir. Oksin çeşitleri Tablo 2.2'de gösterilmiştir (Kacar, 2015).

Tablo 2.2 Oksin çeşitleri

Doğal oksinler	Sentetik oksinler
İndol asetik asit (IAA)	Naftelen asetik asit (NAA)
İndolbutirikasit (IBA)	2,4-Diklor fenoksi asetik asit (2,4-D)
Fenil asetik asit (PAA)	2, 4, 5-Triklor fenoksi asetik asit (2,4,5-T)
4-Kloroindol-3 asetik asit (4-Cl-IAA)	2-Metoksi-3,6 diklorobenzoik asit

2.2.1.2 Giberellinler

İlk defa *Gibberalle fujikuroi* adlı mantarda keşfedilmiştir (Halloran ve Kasım, 2002). Adını pirinç bitkisinde gereğinden fazla boy uzamasına sebep olan bu mantardan almıştır. Kök ve gövde uçlarında, yaprak ve tomurcuklarda, gelişmekte olan tohum ve meyvelerde sentezlenmektedir (Kacar, 2015). Bitkilerde dormansinin ortadan kaldırılması, bitkinin bölünmesi ve büyümesi, kalıtsal boy kısalığının ortadan kaldırılması, partenokarpik meyve oluşumu,

amilaz üretiminin artışı, bazı uzun gün bitkilerinin çiçek açması giberellinlerin etkileri arasındadır (Kaynak ve İmamgiller, 1997).

2.2.1.3 Sitokininler

Sitokininlerin adenin bazına çeşitli yan grupların eklenmesiyle aktif hale gelen bazik hormonlar olduğu bilinmektedir. İslah çalışmalarında ve doku kültüründe sürgün gelişimini desteklemek için kullanılan sitokininler kök uçlarında üretilip diğer bitki kısımlarına taşınmaktadır. Sitokininler hücre bölünmesinin gerçekleşmesini, tohum dormansisinin kırılmasını sağlamaktadır. Ayrıca klorofilin yapısının korunmasını sağlayarak yaprakların sararmasını ve protein yıkımına engel olarak yaprakların yaşlanmasını geciktirdikleri bilinmektedir (Kumlay ve Eryiğit, 2011). Doku kültürü çalışmalarında bütün bunların gerçekleşmesi için oksin ile birlikte kullanılmaları gerekmektedir (Öktüren ve Sönmez, 2005). Oksin ve sitokinin belirli ölçülerde birbirlerinin etki göstermelerini önleyebilir bu sebepten kullanılan hormon miktarlarının dengeli bir biçimde ayarlanması gerekmektedir. Kullanılan hormon miktarları bitki türüne, ortam şartlarına, kullanılan hormon çeşidine göre değişmektedir (Gaspar ve diğerleri, 1996). Bütün bunların yanında sitokininlerin bitkilerde fenolik içerik miktarını, serbest radikal önleyici aktiviteyi ve antioksidan aktivitesini artırıcı yönde etki gösterdiği bilinmektedir (Amoo ve diğerleri, 2012). Günümüzde 30' dan fazla sitokinin çeşidinin var olduğu tespit edilmiştir (Algül ve diğerleri, 2016).

Zeatin, izopentanil adenin, zeatin ribozid ribosilzeat, dihidrozeatin doğal sitokininlerdir. Zeatin hormonu yüksek bitkilerde en fazla miktarda bulunan doğal hormondur. Adenin, kinetin, etoksi etil adenin, benziladenin sentetik sitokininlerdir (Kacar, 2015). Bunlar dışında TDZ sentetik sitokininlerdendir (Babaoğlu ve diğerleri, 2001).

TDZ ilk kez pamuk bitkisinin yaprak dökmesi için üretilmiştir (Arndt ve diğerleri, 1976). Adenin tipi sitokininler içinde en aktif olanı olarak kabul edilmiştir (Mok ve diğerleri, 1982). TDZ sentetik sitokininler içinde en iyi sitokinin olarak kabul edilmektedir (Guo ve diğerleri, 2011). TDZ ile yapılan doku kültürü

çalışmalarında kallus gelişiminde, sürgün gelişiminde, somatik embriyogenezde ve sekonder metabolit üretiminde TDZ' nin uyarıcı etkileri belirlenmiştir (Khan ve diğerleri, 2006; Erişen ve diğerleri, 2011; Gupta ve diğerleri, 2011, Mohammed ve diğerleri, 2019). *Meta*-topolin(*m*-T) ilk defa kavak bitkisinde keşfedilen aromatik sitokinidir (Strnad ve diğerleri, 1997). *m*-T'nin bitkilerde senesensi geciktirici etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Palavan-Ünsal ve diğerleri, 2004).

- **Sitokininlerin sinyal iletim mekanizması**

Sitokininlerin sinyal iletimini gerçekleştiren, hücre zarındaki reseptörlere bağlanan 3 çeşit taşıyıcı protein bulunduğu bilinmektedir. Bunlar; purine permease 1/2(PUB1/2), equilibrative nucleoside transporter (ENT), G subfamily ATP-binding cassette 14(ABCG14). PUB1/2 ve ENT hücre içine aktarım gerçekleştirirken, ABCG 14 hücre dışına aktarım gerçekleştirir. Arabidopsis hücre zarında tanımlanan cytokinin response 1 (CRE1)/Arabidopsis histidine kinase 4 (AHK4) sitokininin reseptörleri olarak keşfedilmiştir. Taşıyıcı proteinler aracılığı ile taşınan sitokinlerin AHK4' e bağlandığı ve ardından yüksek enerjili fosfat histidine-containing phospho transfer protein (AHP)' e aktarıldığı tespit edilmiştir. AHP çekirdek zarından içeri geçtiği ve B tipi Arabidopsis response regulator (ARR)' e bağlanarak ve cevap oluşturacak olan gen transkripsiyonunu uyardığı bilinmektedir (Jiang ve Asami, 2018).

2.2.1.4 Brassinosteroidler

Hayvan ve böcek hormonlarına benzeyen polihidroksil türevi stereoit yapısındaki hormonlardır. Bitkilerin polen, tohum ve vejetatif sürgünlerinde keşfedilmiş olan 40 BR vardır. Genç bitki kısımlarında hücre bölünmesi, farklılaşması ve büyümesini etkiledikleri belirlenmiştir. İlk keşfedilen BR, Brassinoliddir ve *Brassica napus* (kanola)'da keşfedilmiştir. BR' lerin çeşitli meyve ve sebzelerde verimi arttırdığı belirlenmiştir (Clouse, 2001). BR' ler bitkilerin stresli koşullarda yetişmesine olanak sağlamaktadırlar (Bartwal ve diğerleri, 2013).

Lavender bitkisiyle yapılan çalışmada brassinosteroidlerin çiçek verimi, uçucu yağ ve fenolik madde miktarı üzerinde arttırıcı etki yaptıkları belirlenmiştir (Aşcı ve diğerleri, 2018).

2.2.1.5 Poliaminler, Jasmonatlar ve Salisilik asit

Poliaminler iki veya daha fazla amino grubundan oluşmaktadırlar. Etki edebilmeleri için çok fazla miktarda salgılanmaları gerekmektedir. Bu durumdan dolayı BBD arasında yer almamaktadırlar (Özen ve Onay, 2013). Fakat bunun yanı sıra kök, sürgün, embriyo gelişimini arttırıcı etki gösterdikleri de bilinmektedir. Jasmonatlar ve salisilik asit BBD' ler arasına yeni katılmışlardır. Jasmonatların senesens, absisyon, yumru ve pigment oluşumu, doku farklılaşması, adventif kök gelişimini uyardıkları tespit edilmiştir. Salisilik asit ise bitkilerin dayanıklılığını arttırmak gibi fizyolojik etkileye sahiptir. Düşük miktarlarda salgılanmaları etki göstermeleri için yeterlidir (Gürel ve diğerleri, 2016).

2.2.2 Büyüme Engelleyici Hormonlar

2.2.2.1 Absisik asit

Seskiterpen yapısında bir hormon olan Absisik asit (ABA) tüm bitki organlarında dört mevsim bulunmaktadır. Çevre şartlarına göre organlardaki miktarları değişebilmektedir. Miktar olarak en fazla dormansi halindeki tohumlarda ve tomurcuklarda bulunur. Bitki büyümeye başladığında ise miktarı ya azalır ya da tamamen ortadan kalkmaktadır (Çetin, 2002).

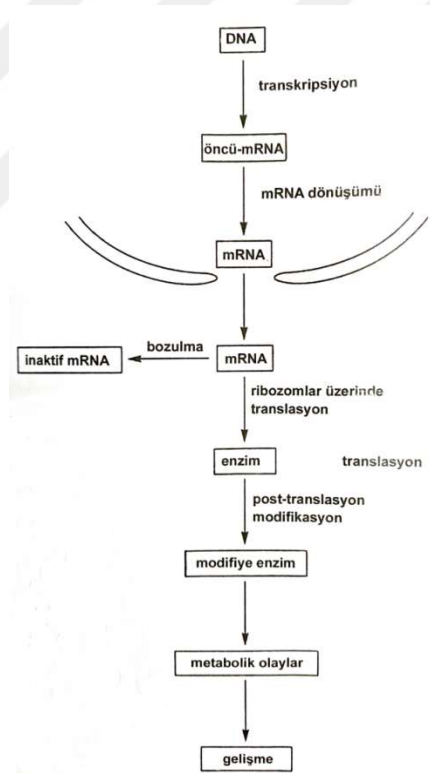
Bitkiler dışında karayosunları, algler, mantarlar ve bakterilerde de bulunan ABA'nın bitkiler üzerinde yaprak dökülmesi, tomurcuk ve tohum dormansisini uyarıcı etkiye sahip olduğu bilinmektedir. DNA, RNA ve enzim sentezini inhibe edebildiği gibi bitkilerde büyümeye engel olurken yaşlanmayı da arttırmaktadır (Ünsal, 2018). ABA'nın kuraklık stresi durumlarında miktarı artar ve stomaların kapanmasına sebep olur. Bunun dışında soğuk, kıtlık gibi stres durumlarına karşı da bitkiyi korumaktadır. DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi üzerinde engelleyici etkiye sahiptir (Del Pozo ve diğerleri, 2005).

2.2.2.2 Etilen

Etilen gaz halinde bir hormondur. Meyvede olgunlaşmayı sağlayan etilen çiçek ve yapraklarda renk değişimlerinin gerçekleşmesini sağlar (Sağlam, 2015).

2.3 Bitkisel Hormonların Gen Aktivitesi Üzerine Etkisi

Enzim sentezi hormonlar tarafından kontrol edilmektedir (Şekil 2.2). DNA' dan sentezlenen mRNA çekirdekten ayrılmadan önce hormonların etkilediği enzimler tarafından 2 noktada kontrol edilmektedir. Çekirdekten ayrılan mRNA' nın izleyebileceği 2 yol bulunmaktadır. 1. yol stoplazmaya geçen mRNA ribozomlara bağlanır. Enzime dönüşecek ise; hormonların etkisi ile fosforilasyon, metilasyon ve asetilasyon sayesinde değişikliğe uğrar. 2. yol stoplazmaya geçen mRNA ribonükleazlara parçalanır (Özen ve Onay, 2013).



Şekil 2. 1 Gen aktivitesinin hormonal kontrolü (Özen ve Onay, 2013).

2.4 Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Tarımda Kullanımı

BBD' lerin bitkilerde doğal olarak üretilmesinin yanında zirai amaçlarla da kullanıldığı bilinmektedir. Bu kullanım bitki yapraklarına püskürtülerek, sulu çözeltiler haline getirilip bitkiye verilerek ya da bitki organlarını bu çözeltilere batırarak, bitkiye enjekte ederek, bitkilerin kesik yüzeylerine temas ettirilerek yapılabilmektedir. (Kocaçalışkan, 2012).

BBD kullanımı sırasında verim alınabilmesi için dikkat edilmesi gereken hususlar bulunmaktadır: Öncelikle uygulamalar uzman kişiler tarafından yapılmalıdır. Uygulamanın yapılacağı zaman ve uygulama yapılacak miktar doğru tespit edilmelidir (Morsünbül ve diğerleri, 2010).

Oksinler; narenciye üretiminde, giberellin elma, armut, karnabahar, enginar üretiminde, sitokininler; meyve boyutunu arttırmada, çileklerin hızlı gelişmesini sağlamada, etilen patates ve karnabaharda olgunlaşmayı hızlandırdığına dair bilgiler edinilmiştir (Eriş, 2007). Elma yetiştirmede NAA kullanılması sonucu meyve gelişiminde verim elde edilmiştir. Elma ağırlığı, genişliği ve rengi artmıştır (Karakuş ve Kalyoncu, 2010).

Sitokininler tarımda tohum çimlendirmede, meyve verimini arttırmada ayrıca marul, maydanoz gibi meyvelerin toplandıktan sonra dayanıklılık sürelerini artırmak amacıyla kullanılmaktadır (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

Giberellik asit (GA_3) bağcılıkta, iri çilek yetiştirmede, çekirdeksiz armut üretiminde, bitkilerin erken çiçeklenmesinde faydalanılmaktadır (Kaynak ve İmamgiller, 1997; Korkutal ve Gökhan, 2007). Ayrıca Giberellik asit (GA_3) lale bitkisinin daha erken gelişmesi amacıyla kullanılabilir (Zengin ve Kelen, 2016).

Etilen hormonunun bitkiyi olgunlaştırıcı etkisi bulunmaktadır. Elma, kiraz, vişne, ananas, domates, biber, ceviz, fındık, kurutmalık üzümüne uygulandığında bitkilerin hasat zamanından önce ve kolay toplanmasını sağlamaktadır; ayrıca kiraz ve vişnede ayırım tabakası oluşturmaktadır. Sakız kabağı, kış kabağı ve

hıyar bitkisinde dişi çiçeklerin erkek çiçeklerden önce olgunlaşmasını sağlamaktadır (Halloran ve Kasım, 2002).

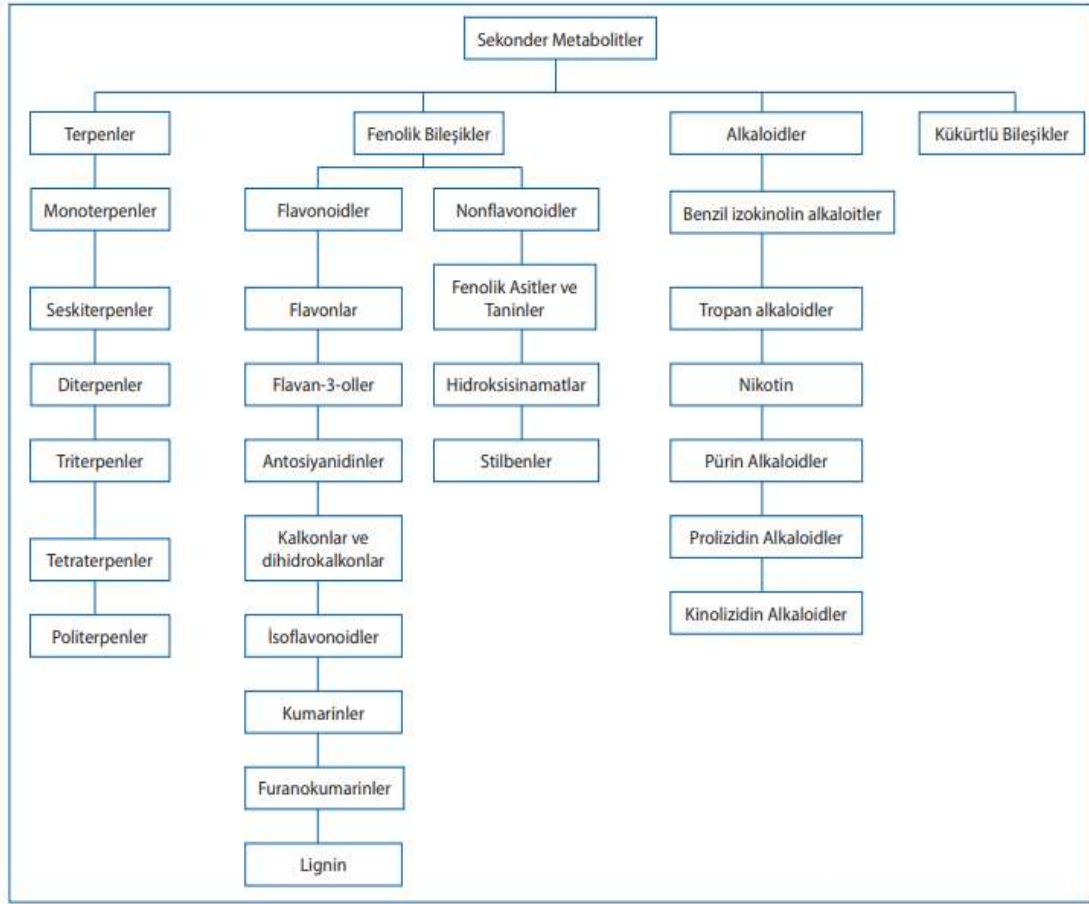
2.5 Sekonder Metabolitleri

Bitkilerde bulunan kimyasal maddeler primer ve sekonder metabolitler olmak üzere 2 gruba ayrılmaktadırlar (Tiring ve diğerleri, 2020). Primer ve sekonder metabolitlerin bölünme hatları tam anlamıyla birbirlerinden ayrılmamaktadır. Çünkü; primer ve sekonder metabolitlerin oluşturduğu ara ürünler aynı hat üzerindedir (Yeoman ve Yeoman, 1996).

Sekonder metabolitlerin hepsi tüm canlılarda bulunmak zorunda değildir. Canlıların türlerine ve cinslerine göre bulundukları sekonder metabolit çeşitleri değişebilmektedir. Çok fazla çeşitte sekonder metabolit bulunmaktadır. Sekonder metabolitler belirli zaman dilimlerinde belirli miktarlarda üretilmektedir. Sentezlendikleri ve depolandıkları bitki kısımları farklılık göstermektedir (Kürkçüoğlu, 2010). Ayrıca bitkideki miktarları bitkinin toplanma zamanına göre değişmektedir (Baydar, 2005).

Sekonder metabolitlerin bitkileri patojen organizmalara ve otçul canlılara karşı savunma görevinin olduğu tespit edilmiştir (Wink, 1988; Korukluoğlu diğerleri, 2006). Bitkilerin hayatını sürdürmesinde, tozlaşma sırasında böceklerin cezbedilmesinde görev almaktadırlar. Tozlaşma sırasında böcekleri cezbeden koku, renk ve lezzet sekonder metabolitler sayesinde oluşmaktadır (Yeoman ve Yeoman, 1996). Sekonder metabolitler (Şekil 2.1) Terpenler, fenolik bileşikler, alkaloidler, kükürtlü bileşiklerdir (Ülger ve Ayhan, 2020).

Tablo 2.3 Sekonder metabolitlerin sınıflandırılması (Ülger ve Ayhan, 2020)



2.5.1 Terpenler (Terpenoidler)

Terpenoidler en az 40.000 çeşidi olduğu tahmin edilen bitki metabolik faaliyetleri için gerekli olan ve bütün bitkilerde bulunan bileşiklerdir. Terpenoidlerin özel işlevlere sahip oldukları düşünülmektedir. Çeşit sayılarının fazla olması, doğada ne kadar fazla biyolojik olay içinde yer alabileceklerini göstermektedir (Bohlmann ve Keeling, 2008). Sekonder metabolitlerin en zengin grubudur. Bazıları memeliler için toksik etki oluşturabilmektedir (Alaca ve Neşet, 2012).

2.5.2 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşiklerin sayısı 8000' den fazladır. Bitkileri diğer canlıların zararlı etkilerine karşı ve çeşitli çevresel faktörlere karşı korumaktadırlar. Karbon halkası bulunduruşlarına göre Flavonoidler ve Non-flavonoidler olmak üzere 2

gruba ayrılırlar (Ahmed ve diğerleri, 2017). Fenolik bileşikler hastalıklara karşı bitkileri korumaktadırlar (Wuyts ve diğerleri, 2006).

2.5.3 Alkaloidler

Hastalıklar üzerinde tedavi edici etkilerinden dolayı ilaç üretiminde kullanılan alkaloidler bitkiler dışında mantar, bakteri ve bazı deniz canlıları tarafından üretilmektedirler. Anti-bakteriyel, anti-kanser, anti-viral etkilere sahiptirler (Topçu ve diğerleri, 2020).



MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 *S. sclarea* tohumları

Çalışmada *S. sclarea* bitkisi kullanılmıştır. Bitkiye ait tohumlar Ege Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü Gen Bankasından temin edilmiştir.

3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ile alet ve cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasallar (Tablo 3.1) ile alet ve cihazlar (Tablo 3.2) aşağıdaki tablolarda sunulmuştur.

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar

Kullanılan kimyasallar
• Benzilaminopurin (BAP)
• Dimetil Sülfoksit (DMSO)
• Kinetin (KIN)
• <i>Meta</i> -topolin (<i>m</i> -T)
• Murashige ve Skoog (MS)
• <i>n</i> -hekzan
• Potasyum hidroksit (KOH)
• Sodyum hidroksit (NAOH)
• Tiazuron (TDZ)

Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

• **Kullanılan alet ve cihazlar**

- İklimlendirme dolabı (SANYO)
 - Hassas terazi
 - Kurutma kağıdı
 - Evaporatör (BÜCHI)
 - Bitki büyütme kabini (GROTECH)
 - Ultrasonik su banyosu (Bandelin-SONOREX)
 - Isıtıcı manyetik karıştırıcı
 - Tüp karıştırıcı (vorteks)
 - GK-MS cihazı (Agilent)
 - Mikropipet
 - Makas-bistüri
 - Çeşitli cam malzemeler
-

3.2 Çalışmanın Yöntemi

3.2.1 Bitkilerin Yetiştirilmesi

Buzdolabında (+4 °C) saklanan *S. sclarea* tohumları çeşme suyu içinde 2 saat bekletildikten sonra 12 adet petri kabına, her petri kabında 30 adet tohum olacak şekilde çimlendirilmek üzere kurutma kağıtları arasına yerleştirildi. Distile su ile ıslatılan tohumlar 24 ± 1 °C ve karanlıkta iklimlendirme dolabına alındı. 4. gün ve 8. gün tekrar distile su ilave edildi.

Çimlenen tohumlar (Şekil 3.1), 10. gün petri kaplarından alınarak perlit ve torf (1:1) içeren saksılara, her saksıda 10 bitki olacak şekilde ekildi. Ekimi yapılan bitkiler ilk olarak ¼MS ile sulandı. Bitkiler 24 °C, 16 saat aydınlık ve 20 °C, 8 saat karanlık ortamda bitki büyütme odasında kültüre alındı. Sonrasında 3 gün ara ile 2 defa çeşme suyu ile sulanan bitkiler ardından 10 gün ara ile çeşme suyu ile sulanarak yetiştirildi.



Şekil 3.1 Çimlenen *S. sclarea* tohumları

45 gün yetiştirilen bitkilerden (Şekil 3.2) aynı gelişmişlik düzeyine sahip olanlar seçilerek perlit ve torf (3:7) içeren 1,5 litre hacmindeki saksılara, her saksıda 1 bitki olacak şekilde aktarıldı. Haftada bir ile Hoagland çözeltisiyle (Hoagland ve Arnon, 1938) 1 ay boyunca sulandı.



Şekil 3.2 45 günlük *S. sclarea* bitkileri

BBD uygulaması yapılmadan önce her bir uygulama için 5 bitki olmak üzere, gelişmişlik düzeyi birbirine benzer toplamda 60 bitki seçildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Sitokinin uygulaması yapılacak olan bitkiler

3.2.2 Sitokininlerin Uygulanması

Çalışmada sitokininlerin *S. sclarea* bitkisinde bitki büyüme ve gelişimi ile sekonder metabolit içeriğine etkisini belirlemek amacıyla, bitkiler üç farklı

konsantrasyonda (25, 50 ve 100 mg/L) 4 farklı sitokinin (BAP, KIN, TDZ ve *m*-T) içeren distile su ile sulandı.

3.2.2.1 Çözeltilerin Hazırlanması

Sitokinin içeren çözeltilerin hazırlanmasında her bir konsantrasyon için belirlenen miktarda sitokinin tartımı yapılarak uygun çözücülerde (Tablo 3.3) çözüldükten sonra distile su ile 50 mL' ye tamamlanarak tam olarak çözümleri sağlandı. Buzdolabında (+4 °C) saklandı. Uygulamalarda hazırlanan stok çözeltiler distile su ile seyreltilerek kullanıldı.

Tablo 3.3 Kullanılan BBD ve çözücüler

Uygulanan sitokin	Kullanılan çözücü
BAP	NaOH
KIN	NaOH
<i>m</i> -T	DMSO
TDZ	KOH

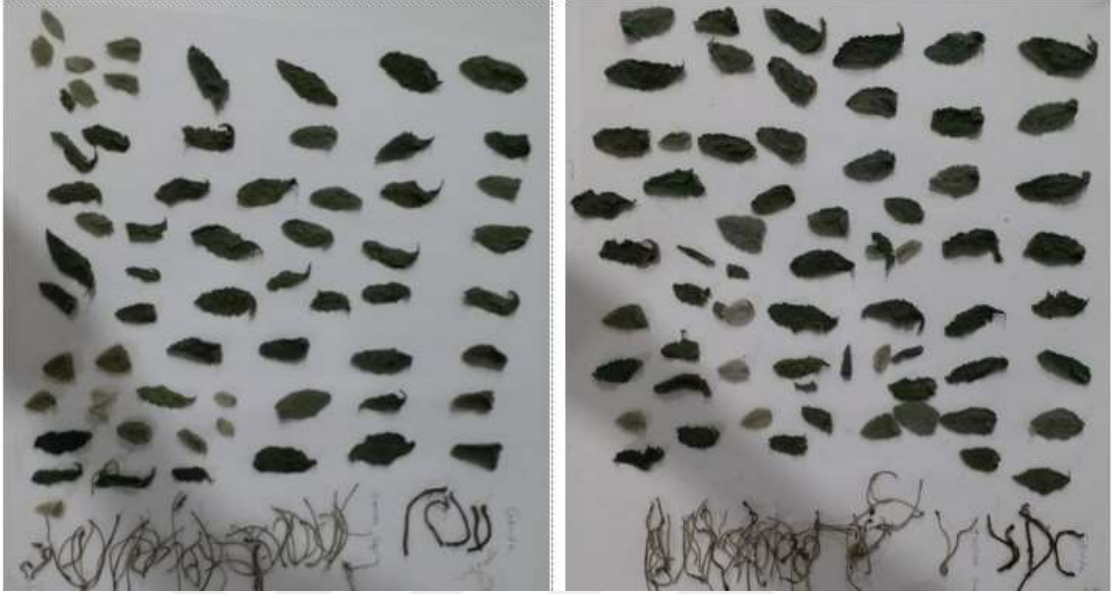
3.2.2.2 Bitkilere Sitokin Uygulamalarının Yapılması

Bitkilere ilk sitokin uygulaması, bitkiler saksılara aktarıldıktan 1 ay sonra yapıldı. Haftada 1 kez, bitkiler 100 mL sitokin içeren (25, 50, 100 mg/L) distile su ile sulandı. Bu uygulama 2 kez gerçekleştirildi. 2. uygulamadan 7 gün sonra bitkiler saksılardan alınarak toprakları uzaklaştırıldı ve bitkilerin yaprak ve yaprak sapları (y. sapı) ayrılarak oda sıcaklığında 2 hafta süre ile kurutuldu (Şekil 3.4).

3.3. Sitokin Uygulamalarının Değerlendirilmesi

Bitkilere yapılan sitokin uygulamaların bitki gelişimine etkileri ve yaprak sayısı artışı belirlenerek değerlendirildi. Uygulama öncesi ve uygulamalar tamamlandıktan sonra bitkilerdeki yapraklar sayılarak değerler kaydedildi.

Ayrıca sitokinin uygulamalarının biyokütleyle etkisini belirlemek amacıyla uygulamalar sonrasında bitkilere ait kısımlarının (yaprak ve y. sapı) yaş ve kuru ağırlıkları belirlendi.



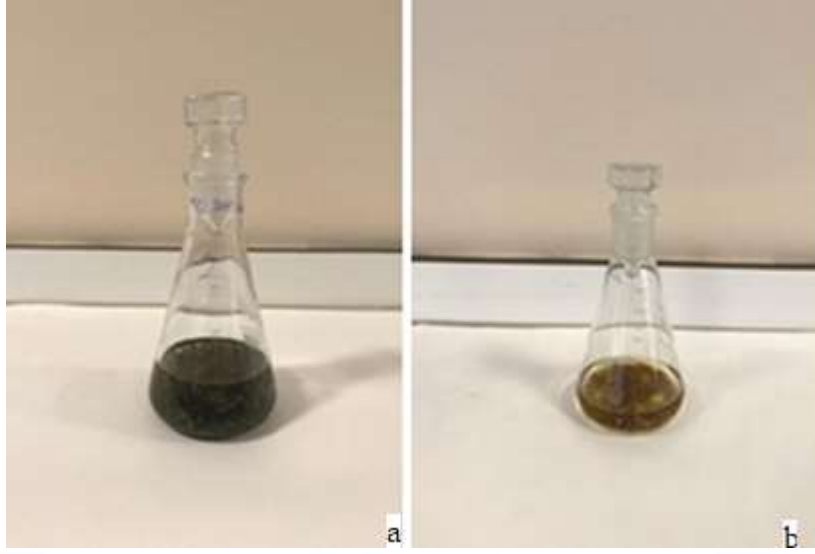
Şekil 3.4 Kurutulmuş bitki organları

3.4. Sekonder Metabolit İçeriklerinin Belirlenmesi

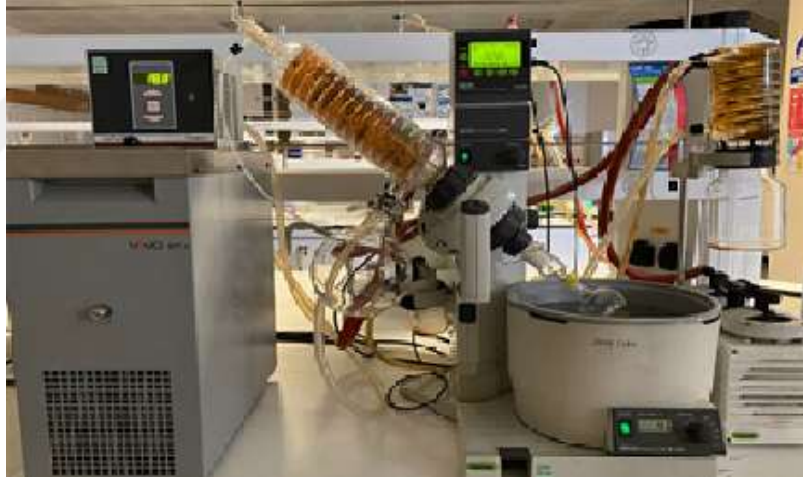
Sitokinin uygulamalarının *S. sclarea* bitkisinin sekonder metatabolit içeriğine etkisini belirlemek için bitkilerin kurutulmuş yaprak ve y. saplarının hekzan ekstreleri hazırlanarak içerikleri GK/MS ile analiz edildi. Yapılan işlemler aşağıda sunulmuştur.

Kurutulan bitki organları hassas terazide tartıldıktan sonra küçük parçalara ayrılarak erlenmayer içerisine alındı ve yaklaşık olarak 1:5 hekzan ile muamele edilerek 1 gece karanlıkta bekletildi. Daha sonra ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesi için, ultrasonik su banyosunda 1 saat bekletildi. Uygulama 2 kez tekrar edildi. Bitkide bulunan metabolit içeriğinin hekzan içerisine geçmesi sağlandı (Şekil3.5).

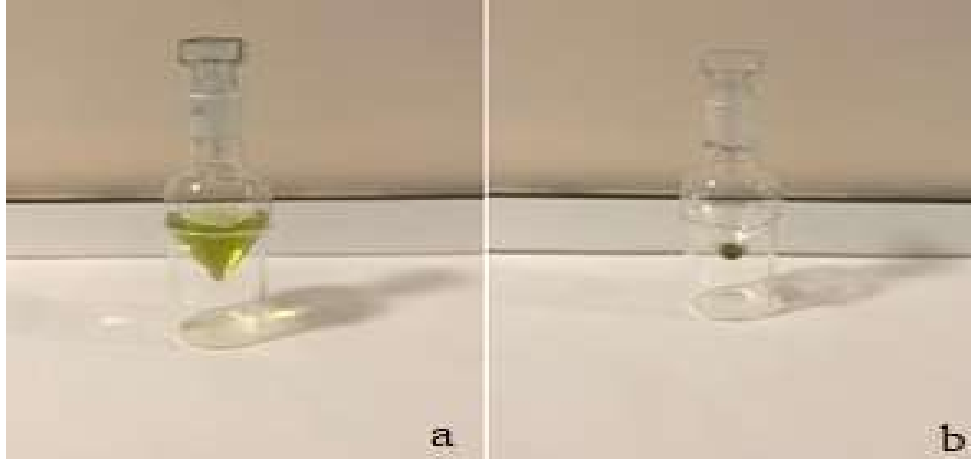
Bitki parçalarını uzaklaştırmak için çözelti filtre kâğıdı (whatman no:2) kullanarak süzüldü (Şekil 3.7), 45 °C sıcaklıkta evaporatör ile hekzan buharlaştırıldı (Şekil 3.6). Bitkide bulunan bileşenler çökelti halinde elde edildi. Vakumlu etüv ile su tamamen uzaklaştırıldı (Şekil 3.7).



Şekil 3.5 Ekstraksiyon işlemi
a. Yaprak ve b. Y. sapı çözeltilisi



Şekil 3.6 Bitki ekstralarının elde edilmesinde kullanılan evaporatör (BÜCHI)



Şekil 3.7 *S. sclarea* ekstresi

- a. Ekstraksiyon işlemi sonrası elde edilen yaprak süzöntüsü, b. Hekzan buharlaştıktan sonra elde edilen ekstre

Bütün numunelere aynı işlem uygulandıktan sonra elde edilen ekstreler hassas terazi ile tartılarak miktarları belirlendi. Ekstreler *n*-hekzan (GC-grade) ile 1/100 oranında konsantrasyonları hazırlandı. GK viallerine aktarıldı ve GK/MS cihazı kullanılarak analizler gerçekleştirildi (Şekil 3.8).



Şekil 3.8 GK/MS cihazı (Agilent)

GK-MS analizi Agilent 5975 GC-MSD sisteminde Innowax FSC kolonunda (60m x 0.25 mm, 0.25 µm film kalınlığı) helyum mobil fazı (1.0 mL/dak) ile yapıldı. GC fırın sıcaklığı 60 °C' de 10 dakika tutuldu ve 220 °C' ye 4°C/dakika hızla

çıkarıldı, bu sıcaklıkta 10 dakika sabit tutuldu ve tekrar 1 °C/dakika hızla 240 °C' ye çıkarıldı. Splitless modda analizler gerçekleştirildi. Enjeksiyon sıcaklığı 250 °C' ye, kütle spektrometresi 70 eV iyonizasyon enerjisine, tarama aralığı m/z 35 - 450 atomik kütle birimi aralığına ayarlandı.

Hekzan ekstre bileşenlerinin tanımlanması relatif gecikme zamanlarının, orijinal örneklerin gecikme zamanları ile karşılaştırılması veya relatif gecikme zamanlarının bir *n*-alkan serisi ile karşılaştırılması ile yapıldı. Ayrıca bilgisayarda ticari Wiley GK/MS Library ve NIST14 kütle spektrum kütüphaneleri ve original bileşikler ve bilinen uçucu yağ içerikleri kullanılarak bileşiklerin kütle spectrum profilleri karşılaştırılarak tanımlamalar yapıldı. Bütün analizler 2 kez tekrar edildi.

3.5 Verilerin Değerlendirilmesi

Tüm uygulamalar her saksıda 1 bitki olmak üzere 5 biyolojik tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel analizlerde SSPS for Window version 26.0 (2019) programı kullanılmıştır. Elde edilen veriler ANOVA testi ile karşılaştırılmış değerler arasındaki anlamlılık düzeyleri DUNCAN Çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında *S. sclarea* bitkisi *in vivo* ortamda yetiştirilmiş ve bitkilere farklı konsantrasyonlarda, farklı bitki büyüme düzenleyicileri uygulaması yapılmıştır. 3 aylık fidelere yapılan uygulamaların bitki büyüme ve gelişimi üzerindeki etkisini belirlemek için yaprak sayısındaki artış, yaprak ve y. sapının yaş/kuru ağırlıkları değerlendirilmiştir. Kurutulmuş yaprak ve y. sapı hekzan ekstrelerindeki sekonder metabolit içeriklerindeki değişimleri belirlemek için GK/MS analizi yapılmıştır. Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

4.1 BBD' lerin Bitki Büyümesi ve Gelişimine Etkisi

Tez çalışmasında BAP, KIN, TDZ ve *m*-T ile bunların farklı konsantrasyonlarının (25-50-100 mg/L) bitkilerin büyümesi ve gelişimine etkileri yaprak sayısındaki artış, yaprak/y. sapı yaş ve kuru ağırlıkları ile değerlendirilmiştir.

BBD çeşidinin ve konsantrasyonlarının yaprak sayısı artışı ile yaprak/y. sapı yaş ve kuru ağırlığına etkisi varyans analizi ile değerlendirildiğinde; BBD çeşidinin etkisi yaprak sayısındaki artış bakımından istatistiksel farklılık göstermezken yaprak kuru ağırlığı bakımından 0.05 düzeyinde, yaprak-y. sapı yaş ağırlığı ile y.sapı kuru ağırlığı bakımından 0.01 düzeyinde anlamlı farklılık göstermiştir. Uygulanan konsantrasyonların ve BBD çeşidi \times konsantrasyon interaksyonunun yaprak sayısı, yaprak/y. sapı yaş ve kuru ağırlığına etkisi bakımından ise uygulamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 4.1). Uygulamalar arasındaki farkın önem düzeyini belirlemek için DUNCAN testi yapılmıştır (Tablo 4.2 ve 4.3)

Tablo 4.1 BBD uygulamalarının *S. sclarea*'da bitki büyüme ve gelişimine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S.D.	Yaprak Sayısı Artış		Yaprak Yaş Ağırlığı		Yaprak Kuru Ağırlığı		Yaprak Sapı Yaş Ağırlığı		Yaprak Sapı Kuru Ağırlığı	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Genel	12										
BBD çeşidi	3	0.62	0.19	191.18	0.003**	3.95	0.03*	28.68	0.00**	0.40	0.001**
Konsantrasyon	2	0.72	0.16	29.18	0.67	29.18	0.25	0.45	0.95	0.01	0.89
BBD çeşidi × Konsantrasyon	6	0.17	-	12.81	-	0.28	-	1.33	-	0.03	-
Hata	8	0.31		16.90		0.80		1.11		0.02	

p≤0.01 düzeyinde, *p≤ 0.05 düzeyinde istatistiksel farklılık. **F: Frekans, **K.O.:** Kareler ortalaması, **S.D.:** Serbestlik derecesi

Yapılan varyans analizi sonucunda yaprak sayısının artışında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmese de yaprak sayısı bakımından en yüksek artış *m-T* (2.26) uygulanan grupta gözlenmiştir. Yaprak yaş ağırlığı ile y. sapı yaş ve kuru ağırlığı istatistiksel olarak 0.01 düzeyinde, yaprak kuru ağırlığı istatistiksel olarak 0.05 düzeyinde anlamlı farklılığa sahiptir. DUNCAN testi sonucuna göre BAP ve KIN (26.86-26.95gr) uygulanan gruplar arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamaktadır. BBD çeşitleri arasında yaş ağırlık bakımından en yüksek değer *m-T* (43.59 gr) uygulanan gruptan elde edilmiştir. Uygulanan BBD konsantrasyonlarının etkileri değerlendirildiğinde yaprak yaş ağırlıkları BAP uygulamasında 24-30 gr, KIN uygulamasında 24-32 gr, *m-T* uygulamasında 39-48 gr, TDZ uygulamasında 29-40 gr arasında değişmektedir. BBD × konsantrasyon uygulaması birlikte değerlendirildiğinde en yüksek değer 100 mg/L *m-T* (47.79 gr) uygulanan grupta olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.2).

Yaprak kuru ağırlığında da benzer şekilde BAP ve KIN (4.54-4.57gr) uygulanan gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir, en yüksek değer *m-T* (6.93 gr) uygulanan grupta gözlenmiştir. Uygulanan BBD konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemekle birlikte en yüksek değer ortalama 6.14 gr kuru ağırlığı ile 100 mg/L uygulamalarından elde edilmiştir. BBD × konsantrasyon uygulamaları birlikte değerlendirildiğinde ise yine 100 mg/L *m-T* uygulaması en yüksek (8.06 gr) sonucu vermiştir (Tablo 4.2).

Y. sapı yaş ağırlığı 0.01 düzeyinde anlamlı farklılık göstermektedir. Yaprak yaş ağırlığı ile benzer şekilde BAP ve KIN uygulamaları arasında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır. Yine en yüksek değer *m-T* (15.23 gr) uygulanan grupta gözlenmiştir. Uygulanan BBD konsantrasyonlarının etkileri değerlendirildiğinde BAP 7-9 gr, KIN 8-11 gr, *m-T* 14-17 gr, TDZ 11-14 gr arasında değişmektedir. BBD × konsantrasyon uygulaması birlikte değerlendirildiğinde de en yüksek değer 100 mg/L *m-T* (16.45 gr) uygulanan gruptan elde edilmiştir (Tablo 4.3).

Y. sapı kuru ağırlığı 0.01 düzeyinde anlamlı farklılık göstermektedir. DUNCAN testi sonucunda BAP ve KIN uygulamaları arasında (1.02-1.10 gr) bir farklılık

gözlenmediği gibi uygulamalar içinde en yüksek değer yine *m*-T (2.07 gr) uygulanan grupta gözlenmiştir. Uygulanan BBD konsantrasyonlarının etkileri değerlendirildiğinde BAP 0-1.1 gr, KIN 0.9-1.3 gr, *m*-T 1.5-2.1 gr, TDZ 1.3-1.6 gr arasında değişmektedir. BBD × konsantrasyon uygulaması birlikte değerlendirildiğinde en yüksek değer 100 mg/L *m*-T (2.07 gr) uygulanan grupta gözlenmiştir (Tablo 4.3).

Yapılan çalışma genel olarak değerlendirildiğinde *m*-T' nin Erişen ve diğerlerinin (2020) yaptığı çalışmada rapor edildiği gibi büyüme ve gelişimi arttırma bakımından en etkili BBD olduğu tespit edilmiştir. BAP ve KIN' ın bitki ve büyüme gelişimi üzerinde benzer etkiye sahip olduğu, TDZ' nin *m*-T ile karşılaştırıldığında etkisinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.2 BBD uygulamalarının *S. sclarea*'da yaprakta bitki büyüme ve gelişimine etkisine ait sonuçlar

	Yaprak Sayısı Artış (Adet)				Yaprak Yaş Ağırlık (Gr)				Yaprak Kuru Ağırlık (Gr)			
	25	50	100	Ort.	25	50	100	Ort.**	25	50	100	Ort.*
BBD	Konsantrasyon(mg/L)											
BAP	2.00	1.40	1.80	1.73	29.63	26.50	24.46	26.86c	4.65	4.21	4.78	4.54b
KİN	1.80	1.20	1.40	1.46	31.50	24.91	24.46	26.95c	5.10	3.58	5.05	4.57b
m-T	3.20	1.20	2.40	2.26	43.01	39.98	47.79	43.59a	6.49	6.25	8.06	6.93a
TDZ	1.40	1.20	1.00	1.20	37.00	29.08	39.55	35.21b	6.42	4.50	6.70	5.87ab
Ortalama	2.10	1.25	1.65		35.28	30.11	34.06		5.66	4.63	6.14	

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasında **p ≤ 0.01 veya * p ≤ 0.05 düzeyinde anlamlı farklılık vardır

Tablo 4.3 BBD uygulamalarının *S. sclarea*'da y. sapında bitki büyüme ve gelişimine etkisine ait sonuçlar

BBD	Yaprak Sapı Yaş Ağırlık (Gr)				Yaprak Sapı Kuru Ağırlık (Gr)			
	Konsantrasyon(mg/L)							
	25	50	100	Ort.	25	50	100	Ort.
BAP	8.98	8.56	7.16	8.23c	1.05	1.04	0.98	1.02b
KİN	10.73	9.48	8.93	9.71c	1.29	1.01	0.99	1.10b
<i>m-T</i>	14.69	14.56	16.45	15.23a	1.59	1.78	2.07	1.81a
TDZ	12.02	11.48	13.87	12.45b	1.60	1.31	1.60	1.50a
Ortalama	11.60	11.02	11.60		1.38	1.28	1.41	

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen gruplar arasında $p \leq 0.01$ düzeyinde anlamlı farklılık vardır

BBD' lerin bitki sürgün sayısı, yaprak sayısı, ağırlık değişimi üzerinde etkilerini ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Yapılan uygulamalarda kullanılan BBD çeşidi ve konsantrasyonu kadar, uygulama yapılan bitki çeşidininine bağlı olarak BBD etkisinin farklı olabileceği gösterilmiştir. Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisinde TDZ' nin eksplant başına sürgün sayısını olumlu yönde etkileği bununla birlikte yaprak sayısı artışı bakımından bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde BAP' ın TDZ' den daha etkili olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve Bürün, 2014). Patates bitkisinde (*Solanum tuberosum* L.) TDZ' nin bitki yaş ve kuru ağırlığı ile sürgün sayısını (Sajid ve Aftab, 2009), ananas bitkisinde (*Ananas comosus* L. Merr) ise BAP' ın sürgün sayısını ve yaş ağırlığını (Al-Saif ve diğerleri, 2011) artırdığı tespit edilmiştir. Afrika menekşesi (*Saintpaulia ionanthac* Wendl.) ile yapılan bir çalışmada sürgün gelişimi üzerinde *m-T*' nin sürgün sayısı bakımından TDZ' den daha etkili olduğu (Sevgin, 2019), *Santalum album* L. bitkisi *in vitro* kültüründe sürgün gelişimini en fazla etkileyen BBD' nin *m-T* olduğu bildirilmiştir (Manokari ve diğerleri, 2021). Aynı şekilde BAP, KIN, *m-T* uygulanarak *in vitro* yetiştirilen *Tecoma stans* L. bitkisinde sürgün gelişimi bakımından *m-T* en etkili sitokinin olduğu belirlenmiştir (Hussain ve diğerleri, 2019). Bu çalışma sonucunda da *m-T*' nin diğer BBD' lere (BAP, KIN, TDZ) göre büyüme ve gelişim üzerinde daha yüksek etki gösterdiği belirlenmiştir.

4.2 BBD' lerin Sekonder Metabolit İçeriğine Etkisi

S. sclarea' da farklı konsantrasyonlarda, farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin sekonder metabolit içeriği üzerine etkisi yaprak ve y. sapı hekzan ekstraktları GK/MS ile analiz edilerek araştırılmıştır. Uygulamalar sonrasında yaprak ve y. sapı sekonder içerikleri sırasıyla Tablo 4.4 ve 4.5 verilmiştir.

Yapılan çalışmada GK/MS analizleri sonucunda yaprakta toplam 41 çeşit, y. sapında toplam 44 çeşit metabolit belirlenmiştir. Metabolitlerin 24 tanesi hem yaprak hem de y. sapında bulunmaktadır. Analiz sonucunda yaprak ve y. sapında yağ asiti miktarının yoğunlukta olduğu gözlenmekle birlikte seskiterpen, diterpen, *n*-alkan türevlerinin de var olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.4 ve 4.5).

Yaprak analizinde fitol, 1-pentadesen, tetradekanal, hegzadekanal, dioktil adipat, hegzadekanoik asit, (*Z*)-7-hegzadesenoik asit, palmitoleik asit metabolitleri bütün uygulamalarda mevcutken, miktarları farklılık göstermektedir (Tablo 4.4). Y. sapında ise sadece palmitoleik asit ve dioktil adipat içeriğine tüm uygulamalarda rastlanmıştır (Tablo 4.5). Bazı metabolitlerin üretiminde belirli BBD çeşidi ve konsantrasyonunun etkili olduğu görülmüştür. Örneğin; yaprakta karyofillen, üretimi sadece 25 ve 50 mg/L KIN, (*Z*, *E*)- α -farnesen 25 mg/L BAP, 4,6-dimetildodekan ve 2-metil heptadekan 100 mg/L TDZ ve 50 mg/L *m*-T, heptadesen, 2-metil oktadekan ve nonadekan 100 mg/L TDZ ve *m*-T, 1-okdesen 50 mg/L *m*-T, 1-nonadesen 25 mg/L *m*-T uygulanan gruplarda belirlenmiştir.Y. sapında ise yapraktaki miktarının aksine fitol sadece 25 ve 100 mg/L TDZ uygulanan grupta belirlenmiştir. 5-metil-3-heptanon 50 mg/L KIN, 2,3,7-trimetildekan, pentadekan, 2-metil pentadekan, oktadekan, 1-eikosen 25 ve 100 mg/L TDZ, hegzadekan, 5-metil eikosan 100 mg/L TDZ, 3-metil hegzadekan 25 ve 50 mg/L KIN, 7-metil oktadekan, 4- metil oktadekan 25 mg/L KIN ve 100 mg/L TDZ, hegzadekanol 100 mg/L BAP, 1-eikosanol 25 mg/L TDZ ve 100 mg/L BAP uygulanan gruplarda belirlenmiştir (Tablo 4.4 ve 4.5).

Diterpen grubunda yer alan fitol klorofilin yapında bulunan ve klorofilin tilakoid zar üzerinde sabitlenmesini sağlayan bir bileşiktir (Ahmed ve diğerleri, 2017). Fitol kozmetikte, parfüm, temizlik malzemesi üretiminde kullanılmaktadır (Erişen ve diğerleri, 2020). Yaprakta tüm uygulamalarda tespit edilmekle birlikte en yüksek fitol değeri % 17.1 ile 100 mg/L KIN uygulamasından elde edilmiştir. Yaprak sapında ise sadece TDZ uygulamasında (25 ve 100mg/L) fitolün varlığı tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Muhtemelen fitol miktarının artması klorofilin yapısının bozulmasından kaynaklanmaktadır.

n-alkan türevi olan tetradekanal ise bakterilerde biyoluminesansa olanak sağlayan aldehit grubudur (Ulitzur ve Hastings, 1979). Bu çalışmada hem yaprak hem de y. sapında (50 mg/L BAP hariç) tüm uygulamalarda varlığı tespit edilmiştir. Fitole benzer şeklide yaprakta en yüksek değer % 15.1 ile 100 mg/L KIN uygulamasından elde edilmiştir. Yaprak sapında ise % 37.1 ile 100 mg/L *m*-

T uygulamasında tespit edilmiştir (Tablo 4.5). Tetradekanal biyolüminans mikroorganizmaların tespitinde kullanılacağı için mikrobiyoloji çalışmalarında misk adaçayının bu amaçla kullanımı önemli olabilir.

Yağ asiti türevi olan palmitoleik asit yaprak ve y. sapında tüm BBD uygulamalarında tespit edilmiştir. Palmitoleik asitin antibakteriyel etkiye sahip bir metabolittir (Watanabe ve diğerleri, 2021). Yaprak ve y. sapı analizinde yüksek oranda bulunmaktadır. Yaprakta % 65.2 ile 25 mg/L TDZ ve y. sapında % 83.0 ile 50 mg/L BAP uygulamalarında en yüksek miktarda üretilen metabolit palmitoleik asittir (Tablo 4.4).

2,4-Di-tert-butilfenolün antioksidan, anti-inflamatuvar ve antikanser, herbisit, antifungal, toksik etkilere sahip olduğu belirlenmiştir (Yoon ve diğerleri, 2006; Sang ve Kim, 2012; Chuah ve diğerleri, 2016; Garcia ve diğerleri, 2017; Nair ve diğerleri, 2020). Bu metabolit yaprakta % 2.9 ile 100 mg/L KIN, y. sapında ise % 40.1 ile 25 mg/L BAP uygulamasında en yüksek değeri vermiştir. *Hypericum retusum* Aucher bitkisinde hiperisin miktarının artırılmasında en etkili uygulamanın 50 mg/L BAP uygulaması olduğu belirlenmiştir (Asan ve diğerleri, 2015).

Yapılan çalışmada yağ asiti türevlerinin yoğunlukta olduğu belirlenmiştir. Bu durumda sitokininleri yağ asit metabolizmasına etki ettiği söylenebilir (Khalid, 2017). *S. sclarea* ile *in vitro* ortamda yapılan önceki çalışmada BBD uygulamalarının sekonder metabolit içeriğinde değişim meydana getirdiği rapor edilmiştir (Erişen ve diğerleri, 2020), bu çalışmada da uygulanan BBD çeşidine ve konsantrasyonuna bağlı olarak metabolit içeriğinin hem kalitatif hem de kantitatif olarak değiştiği belirlenmiştir. *In vitro* ortamda yetiştirilen *S. sclarea* yapraklarında sekonder metabolit içeriğinde tetradekanal, oktadekanal, hentriakontan yoğun olarak tespit edilmişken, *in vivo* ortamda yetiştirilen bitkilerin yapraklarında fitol, dioktil adipat, palmitoleik asit, 1- pentadesen, tetradekanal, y. sapında dioktil adipat ve palmitoleik asit sekonder metabolit içeriğinde yoğun olduğu tespit edilmiştir. Tetradekanal verimi üzerinde *in vitro* ortamda en fazla etkiye sahip olan sitokinin BAP iken, *in vivo* ortamda yaprakta

KIN, y. sapında TDZ olarak tespit edilmiştir. Yapraktaki fitol miktarında her iki ortamda da tüm uygulamalarda verim elde edilmiştir. Bu durum uygulamanın *in vivo* ve *in vitro* ortamda yapılmış olmasının da sonuçları etkileğini göstermektedir. Mevcut çalışmalara benzer şekilde *Alkanna orientalis* (L.) Boiss. var. *orientalis* ve endemik *Alkanna sieheana* Rech. Fil. bitkileri ile yapılan çalışmada *in vivo* ve *in vitro* ortamda yetiştirilen bitkilerin sekonder metabolit içeriklerinde farklılıklar belirlenmiştir (Yaman ve diğerleri, 2020). Sonuçlar istenilen metabolitin üretiminde, uygulamaların etkilerinin hem *in vivo* hem de *in vitro* çalışmalar ile ortaya konulmasının faydalı olacağını göstermektedir.

Bu çalışmada BBD çeşidinin ve konsantrasyonlarının farklı metabolitler üzerinde farklı etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur. Örneğin; yaprakta fitol ve tetradekanal 100 mg/L KIN uygulanan grupta en yüksek verime sahipken, palmitoleik asit 25 mg/L TDZ uygulanan grupta en yüksek verime sahiptir. Bunun dışında karyofillen yaprakta sadece 25 ve 50 mg/L KIN uygulanan grupta mevcutken, 1-pentadesen tüm uygulamalarda mevcuttur. Y. sapında 5-metil-3-heptanon sadece 50 mg/L KIN uygulanan grupta belirlenmişken, palmitoleik asit tüm uygulamalarda belirlenmiştir. Benzer şekilde BAP, KIN, TDZ ve 2IP' nin *Hypericumhirsutum* and *H. maculatum* bitkilerinde kullanılan BBD çeşidine bağlı olarak sekonder metabolit içeriğinde değişimlerin meydana geldiği ve sitokinlerin sekonder metabolit birikimini etkileyen önemli faktörler olduğu bildirilmiştir (Coste ve diğerleri, 2011).

4.3 Öneriler

S. sclarea bitkisi *in vivo* ortamda yetiştirilerek 3 farklı konsantrasyonda 4 farklı BBD uygulaması ile bitki büyüme ve gelişimi, sekonder metabolit değişimi belirlenerek, BBD ve konsantrasyon etkileri karşılaştırılmıştır. Bitki büyüme gelişiminde *m*-T en etkili BBD iken BAP ve KIN benzer etki göstermiştir. Uygulanan BBD' lere göre sekonder metabolit içeriğinde hem miktar hem de metabolit çeşidinde değişimler meydana gelmiştir. Uygulamaların etkisi organlara göre farklılık göstermektedir. Örneğin Palmitoleik asit yaprakta % 65.2 ile 25 mg/L TDZ uygulamsında en yüksek sonucu verirken y. sapında 50

mg/L BAP (% 83.0) uygulaması daha etkili olmuştur. Çalışmadan elde edilen sonuçlar kullanılan sitokininlerin bitki büyüme ve gelişimini olumlu yönde etkilediğini ve sekonder metabolit içeriğinde değişimlere neden olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla *S. sclarea*' da verim artışını ve istenilen önemli metabolitlerin üretimini sağlamak için sitokininler bir alternatif olabilir. Daha ileriki çalışmalarda sitokininlerin sekonder metabolizmaya etkileri moleküler düzeyde araştırılmalıdır. Ayrıca sitokininlerin farklı konsantrasyonları, farklı uygulama şekilleri ile yeni çalışmalar yapılabileceği gibi *S. sclarea* üzerinde *in vivo* ortamda farklı BBD uygulamalarının etkileri de ortaya konulabilir. Bitki ekstraksiyonları hekzan dışında etanol, metanol, eter, kloroform vb. organik çözücülerle gerçekleştirilerek içerik analizleri zenginleştirilebilir.

Tablo 4.4 Yaprak hekzan ekstrelerinin kimyasal kompozisyonu

RRI	RRI Lit.	Bileşik	25TDZ (%)	50TDZ (%)	100TDZ (%)	25MT (%)	50MT (%)	100M- T (%)	25KIN (%)	50KIN (%)	100KIN (%)	25BAP (%)	50BAP (%)	100BAP (%)
Seskiterpen														
1602	1612	Karyofillen	-	-	-	-	-	-	0.2	0.2	-	-	-	-
1724	1726	Germakren D	-	0.1	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3	-	-	-	-
1728	1728	(<i>Z,E</i>)- α -Farnesen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.1	-	-
2128	2135	Hekzahidrofarnesil aseton	-	-	0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.3	0.4	0.2	0.3	-
Diterpen														
1900	1901	Neofitadien	-	-	-	0.4	0.2	0.1	0.1	0.3	0.6	0.2	0.3	0.4
2621	2622	Fitol	1.8	5.2	5.3	7.5	3.8	5.6	5.9	10.2	17.1	7.3	7.3	7.0

Tablo 4.4 Yaprak hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu (devamı)

		<i>n</i>-alkan türevleri													
1453	1456	4,6-Dimetildodekan	-	-	0.1	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	-
1547	1545	1-Pentadesen	0.3	0.4	1.4	1.5	0.8	1.2	0.2	1.7	1.2	1.3	1.9	0.7	
1655	1654	1-Hekzadesen	-	-	0.3	-	0.1	0.2	-	0.3	0.3	0.2	0.3	-	
1700	1700	Heptadesen	-	-	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	
1727	1722	Dodekanal	-	-	-	1.2	-	0.8	-	1.3	2.5	1.1	1.5	1.6	
1754	1751	1-Heptadesen	-	-	0.2	0.2	0.1	0.2	-	0.3	0.3	0.2	0.3	0.3	
1762	1764	2-Metil heptadekan	-	-	0.1	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-	

Tablo 4.4 Yaprak hekzan ekstrelerinin kimyasal kompozisyonu (devamı)

1818	1815	2-Tridekanon	-	-	0.1	0.2	-	0.2	-	0.2	0.3	0.2	0.2	0.5
1846	1852	1-Oktadesen	-	-	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-	-
1860	1861	2-Metil oktadekan	-	-	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-
1900	1900	Nonadekan	-	-	0.1	-	-	0.1	-	-	-	-	-	-
1932	1933	Tetradekanal	0.6	0.8	5.2	7.4	0.2	4.0	0.4	8.5	15.1	5.3	11.1	8.5
1945	1943	1-Nonadesen	-	-	-	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-
1964	1964	2-Metil nonadekan	-	-	-	-	0.1	0.2	-	0.3	0.4	0.3	0.5	0.4
2027	2025	2-Pentadekanon	-	-	0.9	1.5	0.5	1.0	-	1.8	1.9	1.1	1.8	2.1
2132	2135	Hekzadekanal	0.2	0.3	0.5	0.9	0.1	0.5	0.2	0.7	1.6	0.7	1.3	0.9
2237	2245	2-Heptadekanon	-	-	0.2	0.2	0.1	0.2	-	0.3	0.3	0.2	0.3	0.4

Tablo 4.4 Yaprak hekzan ekstrelerinin kimyasal kompozisyonu (devamı)

2355	2353	Oktadekanal	-	-	0.8	0.9	-	0.4	-	0.3	2.1	0.5	1.6	-
2450	2452	2-Nonadekanon	-	-	0.3	0.4	0.1	0.3	-	0.5	0.6	0.4	0.7	0.8
2780	2783	1-Dokosanol	-	1.0	1.8	1.0	0.3	1.4	-	1.1	0.6	1.1	0.6	1.0
2790	2794	1-Eikosanol	-	1.4	1.4	1.4	0.8	1.2	-	2.1	1.2	1.5	1.3	1.5
Yağ asit türevleri														
1471	1483	Asetik asit oktil ester	-	-	0.3	0.4	0.2	0.3	-	0.7	0.7	0.6	0.8	1.3
2670	2670	Etil arakidat	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0	1.4	1.7	-
2713	2704	Tetradekanoik asit	-	-	1.1	0.6	0.4	0.3	-	0.3	-	-	-	-
2840	2846	Dioktil adipat	19.9	23.1	13.1	12.5	12.7	14.5	12.4	9.7	7.5	15.1	8.8	11.8

Tablo 4.4 Yaprak hekzan ekstrelerinin kimyasal kompozisyonu (devamı)

2931	2931	Hekzadekanoik asit	6.7	7.3	5.4	8.3	6.8	7.3	9.1	4.8	4.7	6.5	5.5	4.7
2997		(Z)-7-Hekzadesenoik asit	0.7	0.4	6.0	3.9	1.5	4.8	0.3	6.5	5.4	4.7	5.2	5.3
3018		Trans-2-Hekzadekanoik asit	0.9	0.5	3.4	3.2	1.5	3.7	-	4.3	3.8	3.8	4.0	4.1
3078		Palmitoleik asit	65.2	57.0	41.2	34.3	53.5	39.8	58.5	35.5	22.7	35.5	33.9	30.6
3200		Oktadekanoik asit	-	-	1.2	1.4	-	2.9	4.8	1.2	0.2	1.9	1.0	1.2
3225		Oleik asit	-	0.4	0.1	0.3	2.3	0.2	1.9	-	-	-	-	-
		Diğerleri												

Tablo 4.4 Yaprak hekzan ekstrelerinin kimyasal kompozisyonu (devamı)

2309	2315	2,4-Di-tert- bütilfenol	-	-	1.1	1.9	0.7	1.1	-	2.6	2.9	1.7	2.8	2.3
2313	2322	Gliserin	-	-	0.1	-	0.1	0.1	-	0.6	0.4	0.5	0.4	2.1
2322	2325	Dihidroaktinolid	0.2	0.3	0.3	0.8	0.4	0.4	-	0.3	0.8	0.4	0.5	0.4
2752	2768	3-Hidroksi-5,6- epoksi- β -ionon	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6	0.3	0.6	1.1
TOTAL			96.5	98.2	92.5	93.1	87.8	93.6	94.4	97.2	98.2	94.3	96.5	91.0

Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu

RRI	RRI Lit.	Bileşik	25TDZ (%)	50TDZ (%)	100TDZ (%)	25MT (%)	50MT (%)	100MT (%)	25KIN (%)	50KIN (%)	100KIN (%)	25BAP (%)	50BAP (%)	100BAP (%)
Diterpen														
2616	2622	Fitol	0.4	-	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>n</i>-alkan türevleri														
1204	1200	Dodekan	0.3	-	0.4	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-
1241	1262	2-Metil dodekan	0.5	-	0.7	0.4	0.6	-	0.8	-	-	-	-	-
1222	1265	5-Metil-3-heptanon	-	-	-	-	-	-	-	1.9	-	-	-	-
1400	1400	Tetradekan	0.2	-	0.5	-	-	-	0.6	-	-	-	-	-

Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstrelerinin kimyasal kompozisyonu (devamı)

1453	1456	4,6-Dimetildodekan	0.7	2.7	1.1	1.1	1.6	-	1.2	3.8	-	-	-	-
1461	1465	2-Metil tetradekan	-	-	-	-	-	-	0.4	1.8	-	-	-	-
1462	1461	2,3,7-Trimetildekan	0.2	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1501	1500	Pentadekan	0.4	-	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1547	1545	1-Pentadesen	0.4	-	0.5	0.9	0.9	-	0.4	2.1	-	-	-	1.7
1577	1575	2-Metil pentadekan	0.2	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1600	1600	Hekzadekan	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu (devamı)

1646	1654	2-Metil hekzadekan	-	-	1.4	1.2	1.9	-	1.4	-	-	-	-	-
1655	1654	1-Hekzadesen	0.4	5.3	0.6	0.5	0.6	-	0.6	4.9	6.5	-	-	0.5
1657	1663	3-Metil hekzadekan	-	-	-	-	-	-	0.3	1.3	-	-	-	-
1701	1700	Heptadekan	0.3	-	0.4	0.4	0.5	-	0.5	2.0	-	-	-	-
1727	1722	Dodekanal	-	6.9	-	-	-	3.6	-	-	-	7.6	-	1.5
1754	1751	1-Heptadesen	0.2	-	0.2	-	-	-	0.2	-	-	-	-	-
1805	1800	Oktadekan	0.2	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1853	1853	5-Metil oktadekan	0.7	-	0.9	0.8	1.2	-	0.2	-	-	-	-	-

Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu (devamı)

1841	1848	6-Metil oktadekan	0.3	3.2	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1846	1842	7-Metil oktadekan	-	-	0.3	-	-	-	1.0	-	-	-	-	-
1846	1852	1-Oktadesen	0.3	-	0.5	0.5	0.7	-	0.6	2.6	4.1	-	-	-
1856	1852	4-Metil oktadekan	-	-	0.3	-	-	-	0.5	-	-	-	-	-
1860	1861	2-Metil oktadekan	0.4	-	0.4	0.4	0.6	-	0.2	1.3	-	-	-	-
1900	1900	Nonadekan	0.1	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.4
1932	1933	Tetradekanal	1.2	31.7	1.3	2.1	4.0	37.1	1.2	14.4	22.0	30.6	-	5.7

Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu (devamı)

1964	1964	2-Metil nonadekan	-	-	0.2	-	-	-	0.2	1.1	-	-	-	-
2025	2025	2-Pentadekanon	0.5	3.2	0.7	0.8	1.2	7.6	0.8	1.9	-	3.7	-	1.6
2054	2058	1-Eikosen	0.2	-	0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2059	2052	5-Metil eikosan	-	-	0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2132	2135	Hekzadekanal	-	2.8	-	-	-	1.6	-	1.2	-	2.9	-	-
2355	2353	Oktadekanal	-	5.0	-	-	-	1.6	-	0.7	-	2.5	-	-
2375	2384	Hekzadekanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.6
2790	2794	1-Eikosanol	0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4
Yağ asit türevleri														

Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstrelerinin kimyasal kompozisyonu (devamı)

2840	2846	Dioktil adipat	21.5	4.9	16.3	18.6	13.7	13.3	15.3	8.4	11.4	1.9	17.0	26.1
2930	2931	Hekzadekanoik asit	6.2	-	7.1	7.3	8.6	3.2	9.3	4.5	-	-	-	6.4
2997		(<i>Z</i>)-7-Hekzadesenoik asit	0.7	-	0.8	1.2	1.8	-	-	-	-	-	-	2.6
3018		<i>Trans</i> -2-Hekzadekanoik asit	0.8	-	1.0	-	0.7	-	-	-	-	-	-	1.3
3061		Palmitoleik asit	53.7	9.8	52.1	56.9	53.0	32.0	55.6	30.8	29.5	7.7	83.0	48.7
3200		Oktadekanoik asit	2.1	-	2.0	-	-	-	2.6	-	-	-	-	-
Diğerleri														

Tablo 4.5 Yaprak sapı hekzan ekstralarının kimyasal kompozisyonu (devamı)

1431	1436	1,3-Di-tert- bütilbenzen	0.4	-	0.7	0.3	0.6	-	0.8	1.6	-	-	-	-
2309	2315	2,4-Di-tert- bütilfenol	3.4	18.5	3.9	5.2	7.8	-	4.7	13.7	24.8	40.1	-	0.5
2312	2314	Gliserin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.0	-	0.8
TOTAL			97.3	94.0	97.2	98.6	100.0	100.0	99.9	100.0	98.3	100.0	100.0	99.8

- Aćimović, M., Kiprovski, B., Rat, M., Sikora, V., Popović, V., Koren, A. ve Brdar-Jokanović, M. (2018). *Salvia sclarea*: Chemical composition and biological activity. *Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management*, 1 (1), 18-28.
- Afonso, A. F., Pereira, O. R., Fernandes, A., Calhelha, R. C., Silva, A. M., Ferreira, I. C. ve Cardoso, S. M. (2019). Phytochemical composition and bioactive effects of *Salvia africana*, *Salvia officinalis*'Icterina' and *Salvia mexicana* aqueousextracts. *Molecules*, 24 (23), 4327. <https://doi.org/10.3390/molecules24234327>.
- Ahmed, E., Arshad, M., Khan, M. Z., Amjad, M. S., Sadaf, H. M., Riaz, I., Sabir, S., Ahmet, N. ve Saboon. (2017). Secondary metabolites and their multidimensional prospective in plant life. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (2), 205-214. <https://www.researchgate.net/publication/315769340>.
- Alaca, F., ve Neşet, A. (2012). Sekonder metabolitlerin bitkiler açısından önemi. *Ziraat Mühendisliği*, 358, 48-55.
- Algül, B. E., Tekintaş, F. E. ve Günver Dalkılıç, G. (2016). Bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı ve içsel hormonların biyosentezini arttırıcı uygulamalar. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13 (2), 87 - 95.
- Al-Sahif, A. M., Hossain, A. B.M. S., Taha, R.M. (2011). Effects of benzylaminopurine and naphthalene acetic acid on proliferation and shoot growth of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) in vitro. *African Journal of Biotechnology*, 10 (27), 5291-5295. doi: 10.5897/AJB11.370.
- Amoo, S. O., Aremu, A. O., ve Van Staden, J. (2012). In vitro plant regeneration, secondary metabolite production and antioxidant activity of micropropagated *Aloe arborescens* Mill. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 111, 345-358.
- Angelova, V. R., Ivanova, R. V., Todorov, G. M. ve Ivanov, K. I. (2016). Potential of *Salvia sclarea* L. for phytoremediation of soils contaminated with heavy metals. *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, 10 (12), 780-790.
- Arndt, F. R., Rusch, R., Stillfried, H. V., Hanisch, B. ve Martin, W. C. (1976). A new cotton defoliant. *Plant Physiol*, 57 (5), 99.

- Asan, H. S., Özen, H. Ç., Onay, A., ve Asan, N. (2019). *Hypericum retusum* Aucher'in Proliferasyonu ve Hiperisin İçerikleri Üzerine Farklı BAP Konsantrasyonlarının Etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 7 (2), 10-14.
- Aşçı, Ö. A., Devenci, H., Erdeğer, A., Özdemir, K. N., Demirci, T. ve Baydar, N. G. (2018). Brassinosteroid uygulamalarının munstead lavander çeşidinde bitki gelişimi ile sekonder metabolit üretimi üzerine etkileri. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6 (10), 1448-1454.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., ve Özcan, S. (2001). *Bitki Biyoteknolojisi Doku Kültürü Uygulamaları*. Konya: Sel-Ün Yayınları.
- Bağcı, E., Vural, M., Dirmenci, T., Bruehl, L. ve Aitzetmüller, K. (2004). Fatty acid and tocopherol patterns of some *Salvia* L. species. *Z. Naturforsch*, 305-309.
- Bakır, Ö. (2020). Sekonder metabolitler ve rolleri. *Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi*, 2 (4), 39-45.
- Bartwal, A., Mall, R., Lohani, P., Guru, S. K. ve Arora, S. (2013). Role of secondary metabolites and brassinosteroids in plant defense against environmental stresses. *J Plant Growth Regul.*, 32, 216-232.
- Baydar, H. (2005). Yayla kekiği (*Origanum minutiflorum* o. schwarz et. p. h. davis)'nde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ içeriği ve uçucu yağ bileşenleri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (2), 175-178.
- Bohlmann, J., ve Keeling, C. I. (2008). Terpenoid biomaterials. *The Plant Journal*, 54, 656-669. doi: 10.1111/j.1365-3113X.2008.03449.x.
- Caissard, J.-C., Olivier, T., Delbecque, C., Palle, S., Garry, P. P., Audran, A., Valot, N., Moja, S., Nicole, F., Magnard, J.-L., Legrand, S., Baudino, S. ve Jullien, F. (2012). Extracellular localization of the diterpene sclareol in Clary Sage (*Salvia sclarea* L., Lamiaceae). *PLoS One*, 7 (10), e48253. doi:10.1371/journal.pone.0048253.
- Caniard, A., Zerbe, P., Legrand, S., Cohade, A., Valot, N., Magnard, J. L., Bohlmann, J., Legendre, L. (2012). Discovery and functional characterization of two diterpene synthases for sclareol biosynthesis in *Salvia sclarea* (L.) and their relevance for perfume manufacture. *BMC Plant Biology*, 12, 119. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-119>
- Carrubba, A., Torre, R., Piccaglia, R., ve Marotti, M. (2002). Characterization of an Italian biotype of clary sage (*Salvia sclarea* L.) grown in a semi-arid mediterranean environment. *Flavour and Fragrance Journal*, 191-194. <http://dx.doi.org/10.1002/ffj.1080>.

- Cavaliere, A., ve Caporali, F. (2010). Effects of essential oils of cinnamon, *Lavender* and *Peppermint* on germination of Mediterranean weeds. *Allelopathy Journal*, 25 (2), 441-452.
- Çetin, V. (2002). Meyve ve sebzelerde kullanılan bitki gelişmeyi düzenleyiciler. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 2, 40-50.
- Chuah, T., Norhafizah, M., Naimah, A., ve İsmail, B. (2016). Phytotoxic activity of the allelochemical, 2,4-di-tert-butylphenol on two selected weed species. *Sains Malaysiana*, 45 (6), 963-967.
- Clouse, S. (2001). Brassinosteroids. *Current Biology*, 11 (22), R904.
- Coste, A., Vlase, L., Halmagyi, A., Deliu, C. ve 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 Tiss Organ Cult (PCTOC)*, 106, 279–288. doi: 10.1007/s11240-011-9919-5.
- Cui, H., Zhang, X., Zhao, C., ve Lin, L. (2015). Antimicrobial activity and mechanisms of *Salvia sclarea* essential oil. *Botanical Studies*, 56, 16. doi: 10.1186/s40529-015-0096-4.
- De Golier, T., ve Adamson, S. (2021). Aqueous extracts of clary sage (*Salvia sclarea*) contract isolated strips of mouse uterine tissue. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10 (2), 59-64.
- Del Pozo, J. C., Lopez-Matas, M. A., Ramirez-Parra, E. ve Gutierrez, C. (2005). Hormonal control of the plant cell cycle. *Physiologia Plantarum*, 123, 173-183. doi: 10.1111/j.1399-3054.2004.00420.x.
- Dimas, K., Demetzos, C., Vaos, V., Ioannidis, P. Ve Trangas, T.(2001). Labdane type diterpenes down-regulate the expression of *c-Myc* protein, but not of *Bcl-2*, in human leukemia T-cells undergoing apoptosis. *Leukemia Research* 25, 449–454.
- Dimas, K., Hatziantoniou, S., Teleni, S., Khan, H., Georgopoulos, A., Alevizopoulos, K., Wyche, J. H., Pantazis ve P., Demetzos, C. (2007). Sclareol induces apoptosis in human HCT116 colon cancer cells in vitro and suppression of HCT116 tumor growth in immunodeficient mice. *Apoptosis*, 12, 685–694. doi: 10.1007/s10495-006-0026-8.
- Doğan , G., Hayta, Ş., Yüce, E. ve Bağcı, E. (2015). Composition of the essential oil of two *Salvia* taxa (*Salvia sclarea* and *Salvia verticillata* subsp. *verticillata*) from Turkey. *Natural Science and Discovery*, 1 (3), 62-7. doi: 10.20863/nsd. 23928.

- Doğan, H. C. (2019, Haziran 14). *Hakkında: Salvia sclarea*. Kocaeli Bitkileri: <https://kocaelibitkileri.com> adresinden alındı. Erişim Tarihi: 22.03.2022.
- Doğan, N. ve Doğan, C. (2012). Mucizevi bitki Kenevir'in (*Cannabis sativa* L.) gıda endüstrisinde kullanımı. *Bozok Veterinary Sciences*, 2 (2), 47-56.
- Doğanoğlu, Ö., Gezer, A., ve Yücedağ, C. (2006). Göller Bölgesi-Yenişarbademli Yöresi'nin önemli bazı tıbbi ve aromatik bitki taksonları üzerine araştırmalar. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 66-73.
- Eker İ, Kaya A, Çelik A, Eker N. (2022). "İbuflora (Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Kampüs Florası)". <http://www.ibuflora.com>. Erişim Tarihi: 29.05.2022.
- Ekin, H. N., Deliorman Orhan, D., Erdoğan Orhan, İ., Orhan, N. ve Aslan, M. (2019). Evaluation of enzyme inhibitory and antioxidant activity of some Lamiaceae plants. *Journal of Research in Pharmacy*, 23 (4), 749-758. <https://doi.org/10.12991/jrp.2019.184>.
- Eriş, A. (2007). *Bahçe bitkileri fizyolojisi*. Bursa: Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları No: 11.
- Erişen, S., Atalay, E., ve Yorgancılar, M. (2011). The effect of thidiazuron on the in vitro shoot development of endemic *Astragalus cariensis* in Turkey. *Turk J Bot*, 35, 521-526. doi:10.3906/bot-1009-74.
- Erişen, S., Kurt, G. ve Servi, H. (2020). In vitro propagation of *Salvia sclarea* L. by meta-Topolin, and assesment of genetic stability and seconder metabolite profiling of micropropagated plants. *Industrial Crops & Products*, 157, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112892>.
- Garcia, D., Girardi, N. S., Passone, M. A., Nesci, A., ve Etcheverry, M. (2017). Harmful effects on *Oryzaephilus surinamensis* (L.) and *Tribolium castaneum* by food grade antioxidants and their formulations in *Peanut Kernel*. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*, 3 (3), 86-92. <https://doi.org/10.17756/jfcn.2017-042>
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M. ve Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 2, 272-289.
- GBIF Database.. <https://www.gbif.org>: <https://www.gbif.org> adresinden alındı. Erişim tarihi 05.04.2022
- Ghorbani, A. ve Esmaeilzadeh, M. (2017). Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7, 433-440.

- Gonceariuc, M., Balmuş, Z. ve Cotelea, L. (2016). Genetic diversification of *Salvia sclarea* L. quality by increasing the storage capacity of the essential oil. *Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studii și comunicari. Științele Naturii*, 32, 29-36.
- Grzegorzczak-Karolak, I., Hnatuszko-Konka, K., Zarzycka, M., ve Kuzma, L. (2020). The stimulatory effect of purine type cytokinins on proliferation and polyphenolic compound accumulation in shoot culture of *Salvia viridis*. *Biomolecules*, 10, 178. doi:10.3390/biom10020178.
- Gülçin, İ., Uğuz, M. T., Oktay, M., Beydemir, Ş. ve Küfrevioğlu, Ö. İ. (2004). Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of clary sage (*Salvia sclarea* L.). *Turk J Agric For*, 28, 25-33.
- Guo, B., Abbasi, B. H., Zeb, A., Xu, L. L. ve Wei, Y. H. (2011). Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10(45), 8984-9000. doi: 10.5897/AJB11.636.
- Gupta, S. K., Liu, R. B., Liaw, S.Y., Chan, H. S. ve Tsay, H.S. (2011). Enhanced tanshinone production in hairy roots of '*Salvia miltiorrhiza* Bunge' under the influence of plant growth regulators in liquid culture. *Botanical Studies*, 52, 435-443.
- Gürel, A., Hayta, Ş., Nartop, P., Bayraktar, M., ve Fedakar, S. O. (2016). *Bitki hücre, doku ve organ kültürü uygulamaları*. İzmir: Ege Üniversitesi Basımevi.
- Halloran, N., ve Kasım, M. U. (2002). Meyve ve sebzelerde büyüme düzenleyici madde kullanımı ve kalıntı düzeyleri. *Gıda*, 5 (27), 351-359
- Hoagland D. R., Arnon D. I., (1938). *The water-culture method for growing plants without soil*. California: California Agricultural Experiment Station.
- Hussain, A. A., Ahmad, N., Anis, M., Alatar, A. A. (2019). Influence of meta-topolin on in vitro organogenesis in *Tecoma stans* L., assessment of genetic fidelity and phytochemical profiling of wild and regenerated plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 138, 339-351. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01631-5>
- Jiang, K., ve Asami, T. (2018). Chemical regulators of plant hormones and their applications in basic research and agriculture. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 82 (8), 1265-1300. <https://doi.org/10.1080/09168451.2018.1462693>.
- Kacar, B. (2015). *Genel bitki Fizyolojisi*. Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık.

- Karakuş, A., ve Kalyoncu, İ. H. (2010). Bazı elma çeşitlerinde kimyasal ve elle seyreltme uygulamalarının meyve kalitesi üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (2), 81-89.
- Karam, N. S., Jawad, F. M., Arikat, N. A., ve Shibli, R. A. (2003). Growth and rosmarinic acid accumulation in callus, cell suspension and root cultures of wild *Salvia fruticosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 73, 117-121.
- Kaynak, L., ve Ersoy, N. (1997). Bitki büyüme düzenleyicilerinin genel özellikleri ve kullanım alanları. *Akdeniz Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, 10, 223-236.
- Kaynak, L., ve İmamgiller, B. (1997). Bitki büyüme düzenleyicilerinin fizyolojik olaylardaki rolleri. *Akdeniz Üniv. Zir. Fak.Derg.*, 10, 289-299.
- Khalid, K. A. (2017). Evaluation of fixed oil and fatty acids of black cummin under cobalt or kinetin treatments. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8 (5), 1554-1559
- Khan, H., Siddique, I., ve Anis, M. (2006). Thidiazuron induced somatic embryogenesis and plant regeneration in *Capsicum annuum*. *Biologia Plantarum*, 50 (4), 789-792.
- Kırmızıbekmez, H., Atay, İ., Kaiser, M., Yeşilada, E., ve Taşdemir, D. (2011). In vitro antiprotozoal activity of extracts of five Turkish Lamiaceae species . *Natural Product Communications*, 6 (11), 1697-1700.
- Kocaçalışkan, İ. (2012). *Bitki fizyolojisi*. İstanbul: Bizim Büro Basımevi ve yayınevi.
- Korkutal, İ., ve Gökhan, Ö. (2007). İtalya üzüm çeşidinde ovaryum ve tane gelişimi üzerine büyüme düzenleyicilerin etkileri. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (1), 37-43
- Korukluoğlu, M., İrkin, R., ve Sertel, S. (2006). Salmonella ve Shigella türlerinin gelişmesini engelleyen tıbbi bitkiler ve esansiyel yağlar. *Gıda Dergisi*, 31 (6), 319-324.
- Kumlay, A. M., ve Eryiğit, T. (2011). Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyici maddeler: Bitki hormonları. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.*, 47-56.
- Kürkçüoğlu, M. (2010). *Bitki kimyası ve analiz yöntemleri*. erişim adresi: <https://avys.omu.edu.tr/storage/app/public/ocaliskan/96883/Biyokimya.pdf> 02.02.2021.

- Manokari M., Saurabhkumar R., M., Priyadharshini S., Mahesh K., M., Sandhya D., Jayaprakash K., Cokul R., M., Abhijit D., Bharat S. R. ve Mahipal S. S. (2021). Meta-Topolin mediated improved micropropagation, foliar micro-morphological traits, biochemical profiling, and assessment of genetic fidelity in *Santalum album* L. *Industrial Crops & Products*, 171, 113931.
- Modarres, M., Bahabadi, S. ve Yazdi, M. (2018). Enhanced production of Phenolic acids in cell suspension culture of *Salvia leriifolia* Benth. using growth regulators and sucrose. *Cytotechnology*, 70, 741-750. doi.org/10.1007/s10616-017-0178-0.
- Mohamed M. A-H., Aly M. K., Ahmed E. T ve Abd El-latif S. A. H. (2019). Effect of plant growth regulators on organogenesis of *Salvia officinalis* L. plants. *Minia J. of Agric. Res. & Develop.*, 39, (3), 401-414.
- Mok, M. C., Mok, D. W., Armstrong, D. J., Shudo, K., Isogaĭ, .Y. ve Okamoto, T. (1982). Cytokinin activity of n-phenyl-n'-1,2,3-thiadiazol-5-ylurea (thiadiazuron). *Phytochemistry*, 1509-1511.
- Morsünbül, T., Solmaz, S. K., Üstün, G. E., ve Yonar, T. (2010). Bitki gelişim düzenleyici (BGD)'lerin çevresel etkileri ve çözüm önerileri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 15 (1).
- Nair, R. V., Jayasree, D. V., Biju, P. G., ve Baby, S. (2020). Anti-inflammatory and anticancer activities of erythrodiol-3-acetate and 2,4-di-tert-butylphenol isolated from *Humboldtia unijuga*. *Natural Product Research*, 34 (16), 2319–2322. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1531406>.
- Öktüren, F. ve Sönmez, S. (2005). Bitki besin maddeleri ile bazı bitki büyüme düzenleyicileri (hormonlar) arasındaki ilişkiler. *Derim*, 22 (2), 20-32.
- Özdemir, C. ve Şenel, G. (1999). The morphological, anatomical and karyological properties of *Salvia sclarea* L. *Turkish Journal of Botany*, 23, 7-18.
- Özen, H. Ç. ve Onay, A. (2013). *Bitki Fizyolojisi*. Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık
- Palavan-Ünsal, N., Çağ, S. ve Çetin, E. (2004). The role of meta-topolin in senescence of wheat leaf segments. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3, 23-31.
- Peana, A. T. ve Moretti, M. D. (2002). Pharmacological activities and applications of *Salvia sclarea* and *Salvia desoleana* essential oils. *Studies in Natural Products Chemistry*, 391-423. [https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(02\)80012-6](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(02)80012-6).

- Pitarokili, D., Tzakou, O., Loukis, A. ve Harvala, C. (2003). Volatile metabolites from *Salvia fruticosa* as antifungal agents in soilborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 3294-3301.
- Raafat, K., ve Habib, J. (2018). Phytochemical compositions and antidiabetic potentials of *Salvia sclarea* L. essential oils. *Journal of Oleo Science*, 67, (8), 1015-1025. doi : 10.5650/jos.ess17187.
- Ro'z'alskia, M., Kuz'ma, Ł., Krajewska, U. ve Wysokin'ska, H. (2014). Cytotoxic and proapoptotic activity of diterpenoids from in vitro cultivated *Salvia sclarea* roots. Studies on the Leukemia cell lines. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 61 (7-8), 483-488. <https://doi.org/10.1515/znc-2006-7-804>.
- Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Delfino, S., Cardile, V., Rosselli, S. ve Bruno, M. (2013). Chemical composition and anticancer activity of essential oils of Mediterranean sage (*Salvia officinalis* L.) grown in different environmental conditions. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 042-47.
- Sağlam, N. G. (2015). Yaprak Senesensi:Fizyolojik ve moleküler düzenlenmesine bakış. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 3, 83-92. doi :10.7240/mufbed.73178.
- Sajid, Z. A. ve Aftab, F. (2009). Effect of thidiazuron (TDZ) on in vitro micropropagation of *Solanum tuberosum* L. CVS. *Desiree* and *Cardinal*. *Pak. J. Bot.*, 41 (4), 1811-1815.
- Sang, M. K. ve Kim, K. D. (2012). The volatile-producing *Flavobacterium johnsoniae* strain GSE09 shows biocontrol activity against *Phytophthora capsici* in pepper. *Journal of applied microbiology*, 113 (2), 383-398. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05330.x>.
- Santos-Gomes ve diğerleri, 2003, M. A-H., Aly, M. K., Ahmed, E. T ve Abd El-latif, S. A. H. (2019). Effect of plant growth regulators on organogenesis of *Salvia officinalis* L. plants. *Minia J. of Agric. Res. & Develop.*, 39 (3), 401-414. <https://doi.org/10.21608/mjard.2019.226607>.
- Santos-Gomes, P. C., Seabra, R. M., Andrade, P. B. ve Fernandes-Ferreira, M. (2003). Determination of phenolic antioxidant compounds produced by calli and cell suspensions of sage (*Salvia officinalis* L.). *J. Plant Physiol.*, 160, 1025 -1032. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00831>.
- Schmiderer, C., Grassi, P., Novak, J., Webwr, M., Franz, C. (2007). Diversity of essential oil glands of clary sage (*Salvia sclarea* L., Lamiaceae). *Plant Biology*, 1435- 8603.doi:10.1111/j.1438-8677.2008. 00053.x.

- Seabra, R. M., Santos-Gomes, P. C., Andrade, P. B. ve Fernandes-Ferreira, M. (2002). Phenolic antioxidant compounds produced by in vitro shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). *Plant Science*, 162, 981-987. <https://scholar.google.com>.
- Seol, G. H., Shim, H. S., Kim, P.-J., Moon, H. K., Lee, K. H., Shim, I., Suh, S. H. ve Min, S. S. (2010). Antidepressant-like effect of *Salvia sclarea* is explained by modulation of dopamine activities in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 187–190. doi:10.1016/j.jep.2010.04.035.
- Sevgin, N. (2019). Meta-Topolin ve farklı sitokinin türevlerinin Afrika Menekşesi (*Saintpaulia Ionanthac* Wendl.)’ In in vitro mikro çoğaltımı ve sürgün gelişimi üzerine etkisi. *Şirnak Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1-8.
- Singh, V., Sood, R., Ramesh, K. ve Singh, B. (2008). Effect of growth regulatory application on growth, flower, oil yield, and quality of Clary sage (*Salvia sclarea* L.). *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 14, 1–2.
- Strnad, M., Hanuš, J., Vaněk, T., Kamínek, M., Ballantine, J. A., Fussell, B. ve Hanke, D. E. (1997). Meta-topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (*Populus × canadensis* Moench., cv. *Robusta*),. *Phytochemistry*, 213-218. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00816-3](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00816-3).
- Taylor, L. P. ve Grotewold, E. (2005). Flavonoids as developmental regulators. *Current Opinion In Plant Biology*, 8, 317–323.
- Tiring, G., Satar, S. ve Özkaya, O. (2020). Sekonder metabolitler. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (1), 203-215.
- Topçu, G., Şenol, H., Alim Toraman, G. Ö. ve Altan, V. M. (2020). Natural alkaloids as potential anti-coronavirus compounds. *Bezmialem Science*, 8, 131-139.
- Ülger, T. G. ve Ayhan, N. Y. (2020). Bitki sekonder metabolitlerinin sağlık üzerine fonksiyonel etkileri. *ACU Sağlık Bil Derg*, 11 (3), 384-390. <https://doi.org/10.31067/0.2020.288>.
- Ulitzur, S. ve Hastings, J. W. (1979). Evidence for tetradecanal as the natural aldehyde in bacterial bioluminescence. *Biochemistry*, 265-267.
- Ulubelen, A., Topcu, G., Eriş, C., Sönmez, U., Kartal, M., Kurucu, S. ve Bozok-Johansson, C. (1994). Terpenoids from *Salvia sclarea*. *Phytochemistry*, 36 (4), 971 -974.

- Ünsal, U. (2018). Absisik asit-bitkilerdeki bulunuşları, fizyolojik rolleri ve nukleus asit metabolizması ile ilişkisi. *Acta Biologica Turcica*, 23 (1-4), 83-88.
- Van den Brule, S., Muller, A., Fleming, A.-J., Smart, C.-C. (2002). ABC transporter SpTUR2 confers resistance to the antifungal diterpene sclareol. *The Plant Journal*, 30 (6), 649-662.
- Watanabe, T., Yano, S., Kawai, T., Jinbo, Y. ve Nonomura, Y. (2021). Selective Antibacterial Activity of Palmitoleic Acid in Emulsions and Other Formulations. *Journal of Surfactants and Detergents*, 24 (6), 973-979. doi: 10.1002/jsde.12529.
- Wink, M. (1988). Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theor Appl Genet*, 75, 225-233.
- Wuyts, N., De Waele, D. ve Swennen, R. (2006). Extraction and partial characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa acuminata Grande naine*) roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44, 308-314.
- Yağcı, C., Toker, M. C. ve Toker, G. (2008). Bitki doku kültürü yoluyla üretilen flavonoidler. *Derleme Dergisi*, 1 (1), 47-58 .
- Yaman, C., Uranbey, S., Er, M. ve Başalma, D. (2020). In vivo ve in vitro koşullarında bazı alkanna taksonların sekonder metabolit içerikleri ve antioksidan aktiviteleri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7 (3), 618–626. <https://doi.org/10.30910/turkjans.672572>.
- Yeoman, M. M. ve Yeoman, C. L. (1996). Manipulating secondary metabolism in cultured plant cells. *New Phytologist*, 134, 553-569. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1996.tb04921.x>
- Yılmaz, E. ve Bürün, B. (2014). *In vitro* koşullarda domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) bitkisinde hipokotil ve kotiledon eksplantlarından kallus ve sürgün oluşumu. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18 (3), 105-113
- Yoon, M.-A., Jeong, T.-S., Park, D.-S., Xu, M.-Z., Oh, H. W., Song, K.-B., Woo, S. L. ve Park, H.-Y. (2006). Antioxidant effects of quinoline alkaloids and 2,4-di-tert-butylphenol isolated from scolopendra subspinipes. *Biol. Pharm. Bull.* 29 (4), 735–739. <https://doi.org/10.1248/bpb.29.735>
- Zengin, G. ve Kelen, M. (2016). Lale yetiştiriciliğinde büyüme, gelişme, kalite ve erkencilik üzerine gibberellik asit (GA₃) uygulamalarının etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 206-214. doi: 10.19113/sdufbed.33861.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Determination of the effect of plant growth regulators on secondary metabolite contents in *S. sclarea*.

6th International Congress on Advances in Bioscience and Biotechnology (ICABB),

July 25-29, 2022 Hybrid Event, Aksaray, TÜRKİYE

