



TC.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



ENDEMİK *Campanula leblebicii* TÜRÜNÜN *IN VITRO* REJENERASYON OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Yüksek Lisans Tezi

Yasemin KARTAL

Biyoloji Anabilim Dalı

İZMİR

2022

TC.
EGE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**ENDEMİK *Campanula leblebicii* TÜRÜNÜN *IN VITRO*
REJENERASYON OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Yasemin KARTAL

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ademi Fahri PİRHAN

İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Başar SEVİNDİK

Biyoloji Anabilim Dalı
Botanik Yüksek Lisans programı

İZMİR

2022

KABUL VE ONAY

Yasemin KARTAL tarafından Yüksek Lisans tezi olarak sunulan “ENDEMİK *Campanula leblebicii* TÜRÜNÜN *IN VITRO* REJENERASYON OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş vetarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı :

Raportör Üye :

Üye :

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “ENDEMİK *Campanula leblebicii* TÜRÜNÜN *IN VITRO* REJENERASYON OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / / 20..

İmzası

Adı-Soyadı

ÖZET

**ENDEMİK *Campanula lebleicii* TÜRÜNÜN *IN VITRO* REJENERASYON
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

KARTAL, Yasemin

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ademi Fahri PİRHAN

İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Başar SEVİNDİK

Mayıs 2022, 37 sayfa

Campanulaceae familyasının üyeleri yaklaşık 420 tür ile Güney ve Doğu Afrika, Güney Asya ve Kuzey Meksika’da yayılış göstermektedir (Federov, 1957; Lammers, 2007). *Campanula* türünün ana tür çeşitliliği daha çok Doğu Akdeniz dağ sıraları ve Kafkasya bölgesidir. *Campanula* türlerinin endemizm olarak en fazla yayılış gösterdiği bölgeler; Doğu Akdeniz, Balkanlar, Kafkaslar ve Türkiye’dir.

Bu tez çalışmasında Türkiye endemiği olan *Campanula lebleicii* Yıldırım türünün *in vitro* yöntemlerle çoğaltım olanaklarının araştırılmıştır. *In vitro* yöntemlerle kallus, kök ve sürgün oluşumu ve daha sonra aklimatizasyon aşaması sonrası gelişim aşamaları incelenmiştir. Kallus, kök ve sürgün oluşumu için yaprak ve yaprak sapı eksplantları, farklı konsantrasyonlarda NAA (0.3 mg/l), ZEA (0.5, 1, 2, 3 mg/l), BA (0.5, 1, 2, 3 mg/l) ve GA₃ (0.5, 1, 2, 3 mg/l) bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Yaprak ve yaprak sapı eksplantları yüzey sterilizasyonu protolu oluşturulup sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra 0,3 mg/L NAA + 0,5 mg/L ZEA, 0,3 mg/L NAA+ 1 mg/L ZEA, 0,3 mg/L NAA+ 2 mg/L ZEA, 0,3 mg/L NAA+3 mg/L ZEA ve 0,3 mg/L NAA+0,5 mg/L BA, 0,3 mg/L NAA+ 1 mg/L BA, 0,3 mg/L NAA+ 2 mg/L BA, 0,3 mg/L NAA+ 3 mg/L BA konsantrasyonlardaki besi yerlerine 2 kez alt kültüre alınmıştır. Son alt kültür işlemi 0,3 mg/L NAA+0,5 mg/L GA₃, 0,3 mg/L NAA+ 1 mg/L GA₃, 0,3 mg/L NAA+ 2 mg/L GA₃, 0,3 mg/L NAA+ 3 mg/L GA₃ konsantrasyonlarına sahip ortamlara alınmıştır. Yapılan denemeler 5 eksplant olacak şekilde 5 tekerrürlü ve tesadüfi parseller deneme desenine göre kurulmuştur.

Çalışma sonucunda ise tüm eksplantlarda kök, kallus ve sürgün oluşumu görülmüş olup en çok gelişim yaprak sapı eksplantlarında gerçekleşmiştir. Kallus, kök ve sürgün gelişimi %73,3333 oranında 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L BA konsantrasyonuna sahip MS ortamında gerçekleşmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Campanula*, endemik, rejenerasyon, *in vitro*, İzmir



ABSTRACT**INVESTIGATION ON THE POSSIBILITIES OF *IN VITRO* REGENERATION
OF ENDEMIC SPECIES *Campanula leblebicii***

KARTAL, Yasemin

MSc in Biology

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ademi Fahri PİRHAN

Co-Supervisor: Asst. Prof. Dr. Başar SEVİNDİK

May 2022, 37 pages

Members of the Campanulaceae family are distributed in Southern and Eastern Africa, Southern Asia and Northern Mexico with approximately 420 species (Federov, 1957; Lammers, 2007). The main species diversity of the Campanula species is mostly the Eastern Mediterranean mountain ranges and the Caucasus region. The regions where Campanula species are most widespread as endemism; Eastern Mediterranean, Balkans, Caucasus and Turkey.

In this thesis study, in vitro reproduction possibilities of *Campanula leblebicii* Yıldırım, which is endemic to Turkey, were investigated. Callus, root and shoot formation and then the developmental stages after acclimatization were investigated by in vitro methods. Leaf and petiole explants for callus, root and shoot formation, different concentrations of NAA (0.3 mg/l), ZEA (0.5, 1, 2, 3 mg/l), BA (0.5, 1, 2, 3 mg/l) and GA3 (0.5, 1, 2, 3 mg/l) were cultured in MS medium containing plant growth regulators. After the surface sterilization protocol is created and sterilization process is completed for leaf and petiole explants, 0.3 mg/L NAA + 0.5 mg/L ZEA, 0.3 mg/L NAA+ 1 mg/L ZEA, 0.3 mg/L NAA+ 2 mg/L ZEA, 0.3 mg/L NAA+3 mg/L ZEA and 0.3 mg/L NAA+0.5 mg/L BA, 0.3 mg/L NAA+ 1 mg/L BA, 0, It was subcultured twice to media at concentrations of 3 mg/L NAA+ 2 mg/L BA, 0.3 mg/L NAA+ 3 mg/L BA. Final subculture 0.3 mg/L NAA+0.5 mg/L GA3, 0.3 mg/L NAA+ 1 mg/L GA3, 0.3 mg/L NAA+ 2 mg/L GA3, 0.3 mg /L NAA+ was taken into media with 3 mg/L GA3 concentrations. Trials were set up as 5 explants with 5 replications and random plots design.

As a result of the study, root, callus and shoot formation were observed in all explants, and the most development was realized in petiole explants. Callus, root and shoot development was 73.3333% in MS medium with 0.3 mg/L NAA + 1 mg/L BA concentration.

Keywords: Campanula, endemic, regeneration, in vitro, İzmir





ÖNSÖZ

Bu tez çalışması kapsamında endemik tür olan *Campanula leblebicii* Yıldırım bitkisinde *in vitro* rejenerasyon protokol geliştirme çalışmaları ilk kez gerçekleştirilmiştir. *Campanula leblebicii* Yıldırım yok olma tehlikesi yaşayan bir tür olarak tanımlanmaktadır. Bu tez çalışması kapsamında, kritik endemik kategorisinde yer alan *Campanula leblebicii* Yıldırım türünün farklı eksplantları ile (yaprak ve petiol) *in vitro* rejenerasyon protokolünün belirlenmesi ve doku kültürü teknikleri ile çoğaltılması amaçlanmıştır.

Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalında ve Ege Üniversitesi Botanik Bahçesi Herbaryum U.A.M doku kültürü laboratuvarında gerçekleştirilen bu tez çalışmasının pandemi dönemi dahil olmak üzere, birçok zorlukta ve titizlikle yürütüldüğünü belirtmek isterim.

Araştırmanın başlangıcından bitimine kadar eleştiri ve desteklerini esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Ademi Fahri PİRHAN ve Dr. Öğr. Üyesi Başar SEVİNDİK hocalarıma ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Yasemin KARTAL

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ.....	xii
İÇİNDEKİLER.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
TABLolar DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 <i>Campanula</i> L. İle İlgili Genel Bilgiler	3
2.2 <i>Campanula</i> L. cinsinin dünyada yayılışı	3
2.3 <i>Campanula leblebicii</i> Yıldırım.....	4
2.3.1 Morfolojisi	5
2.3.2 <i>Campanula</i> Türleri Üzerinde Yapılan İn Vitro Çalışmalar	7
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1 Bitkisel Materyallerin Toplanması	11
3.2. Metot.....	11
3.2.1 Çalışmada Kullanılacak Malzemelerin Sterilizasyonu.....	11
3.2.2 Besin Ortamı ve İçeriği.....	12
3.2.3 Yüzey Sterilizasyon Protokolünün Gerçekleştirilmesi.....	14
3.2.4. Eksplantların Kültüre Alınma İşlemi.....	15
3.2.5 Deneme Deseni ve Veri Analizleri.....	15
4. BULGULAR	16
4.1 <i>In vitro</i> Rejenerasyon Bulguları	16

4.1.1 Kallus Gelişim Bulguları	16
4.1.2 Sürgün Gelişim Bulguları	19
4.1.3 Kök Gelişim Bulguları	22
5. TARTIŞMA	27
6. SONUÇLAR	29
7. ÖNERİLER	29
KAYNAKLAR DİZİNİ	31
TEŞEKKÜR	36
ÖZGEÇMİŞ	37



ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Campanula leblebicii</i> Yıldırım' mın dağılımı (▲), <i>C. mugeana</i> (○) <i>C. koyuncui</i> and (●) and <i>C. teucroides</i> (★) (Yıldırım, 2018).	4
2.2 <i>Campanula leblebicii</i> Yıldırım arazideki görünümü.	6
2.3 <i>Campanula leblebicii</i> Yıldırım A) Yapısı B) Çiçek C) Stigma ve stil D) Gövde yaprakları F) Kapsül G) Rozet yapraklar (Yıldırım, 2018).	7
3.1 <i>Campanula leblebici</i> Yıldırım eksplantları için uygulanan yüzey sterilizasyon protokolü. A) Akan musluk suyu altında 30 dk bekletme B) Sterilizasyon için kullanılanlar C) %70' lik alkolde 1 dk bekletme D) % 30'luk NaOCl' de 15 dk bekletme E) Steril saf su ile durulanma.	14
3.2 Eksplantların kültüre alındıktan sonraki görüntüsü	15
4.1 A) 4 hafta karanlık ortamda kalan yaprak sapı eksplantının kallus görüntüsü B) 8 hafta sonunda 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L BA konsantrasyonunda yaprak sapı eksplantında oluşan kallus görüntüsü	17
4.2 Yaprak sapı eksplantlarında sürgün oluşumu A) 8. Haftada gelişen sürgün B) 12. Haftada gelişen sürgün	22
4.3 Yaprak sapı eksplantlarında kök oluşumu A) ZEA konsantrasyonunda gelişen kök B) GA ₃ kullanıldıktan sonraki gelişen kök	25
4.5 GA ₃ 'lı ortamda kavanoza alınmış ve çimlenmiş yaprak eksplantı görüntüsü	25
4.4 A) 4 hafta sonunda karanlık ortamda oluşan kallus ve kök görüntüsü B) 8 hafta sonunda oluşan kök, sürgün ve çimlenme görüntüsü C) Aklimatizasyon aşamasından önce çimlenmiş yaprak eksplantı	24
4.6 Kök oluşan eksplantların aklimatizasyonu A) Steril ortamdan alınan eksplant B) Fungusit ile steril edilmiş toprağa aktarım C) Aktarım sonrası streçlenmiş bitkiler	27

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Rejenerasyon denemeleri için kullanılacak besi yeri içeriği	12
3.2 Rejenerasyon denemelerinde kullanılacak olan bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonları	13
3.3 Son alt kültür aşamasında hazırlanan ortamlar	13
4.1 Farklı konsantrasyonlardaki yaprak ve yaprak sapı eksplantlarında kallus gelişim oranları (%)	17
4.2 <i>Campanula leblebicii</i> Yıldırım türünde, farklı konsantrasyonlarda farklı eksplant tiplerinden elde edilen kallus oluşum oranına ait analiz sonuçları	17
4.3 Son alt kültür işleminden sonra sürgün gelişim oranları (%)	20
4.4 <i>Campanula leblebici</i> Yıldırım türünde, farklı konsantrasyonlarda farklı eksplant tiplerinden elde edilen sürgün oluşum oranına ait analiz sonuçları	22
4.5 Son alt kültür işleminden sonra kök gelişim oranları (%)	22
4.6 <i>Campanula leblebicii</i> Yıldırım türünde, farklı konsantrasyonlarda farklı eksplant tiplerinden elde edilen kök oluşum oranına ait analiz sonuçları	22

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
MS	Murashige ve Skoog besin ortamı
BA	Benzyladenine
NAA	1-naphthylacetic acid
ZEA	Zeatin
GA ₃	Gibberellik acid
°C	Santigrat derece
mg	Miligram
L	Litre
%	Yüzde
ETOH	Etil alkol
μM	Mikromolar
mM	Milimolar
cm	Santimetre
km	Kilometre
mm	Milimetre
NaOCl	Sodyum hipoklorid



1. GİRİŞ

Campanulaceae familyası, 5 alt familya, 80 cins ve 2400 tür ile yayılış göstermektedir. *Campanula L.* cinsi dünya genelinde yaklaşık olarak 420 tür ile 6 alt cinsle temsil edilir ve 18 seksiyona ayrılır (Lammers, 2007). Bunun yanı sıra *Campanula* cinsinin gen merkezi yaklaşık olarak 150 tür ile daha çok Akdeniz ve Kafkas bölgelerinin dağlık alanlarıdır. *Campanulaceae* familyasında çoğunlukla Doğu Akdeniz, Balkanlar, Kafkasya ve Türkiye’de yayılış gösteren, endemik türler bulunmaktadır (Contandriopoulos, 1984).

Campanula cinsi, Türkiye’de 102 tür ile yayılış göstermektedir. Buna ek olarak bu cinse 8 tür ve 2 alttür daha eklenmesiyle takson sayısı 120’ye çıkmıştır. (Damboldt 1978; Davis vd., 1988; Güner vd., 2000). İkinci (2012)’nin yayınlandığı listede ise 150 tür, 23 alttür ve 5 varyete olmak üzere toplamda 133 takson bulunmaktadır. Bu taksonların 67’sinin endemik olduğu bildirilmiştir. Literatüre bakıldığında, son yıllarda Türkiye’de yayılış gösteren 6 yeni tür tanımlanmıştır. *C. aktascii* Aytaç & H. Duman (Aytaç ve Duman 2013), *C. mugeana* Yıldırım (Yıldırım 2013), *C. alisan-kilincii* Yıldırım & Şenol (Yıldırım & Şenol 2014), *C. malatyensis* Mutlu & Karakuş (Mutlu & Karakuş 2015), *C. leblebicii* Yıldırım (Yıldırım, 2018) ve *C. phitosiana* Yıldırım & Şentürk (Yıldırım vd., 2019) türleri ile ülkemizdeki *Campanula* taksonlarının sayısı 139’a çıkmıştır. Yeni yayınlanan türlerle birlikte, *Campanula* cinsinin ülkemizdeki endemizm oranını % 52,5 olmuştur. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı’na (Ekim vd., 2000) göre dört *Campanula* türü CR kategorisindedir. (*C. damboldtiana*, *C. peshmenii*, *C. sorgerae* ve *C. yaltirikii*). Son yıllarda adlandırılarak tehlike kategorisinde tanımlanmış olan *C. aktascii*, *C. malaytensis*, *C. leblebicii* ve *C. phitosiana* türlerinin de IUCN kriterlerine göre CR kategorisinde olduğu bildirilmiştir. (Aytaç ve Duman 2013; Duman 2013; Mutlu ve Karakuş 2015; Yıldırım 2018; Yıldırım vd., 2019).

Campanula leblebicii Yıldırım’ın bulunduğu alanda koyun ve keçi sürülerinin aşırı otlatılması, bölge yakınlarında bir yangın kulesi ve bir baz istasyonunun bulunması ayrıca popülasyonun yakınlarında piknik faaliyetlerinin gerçekleştirilmesi bitki popülasyonunu tehlike altına sokmaktadır. Kırmızı listede olan ve yok olma tehlikesi ile karşı karşıya kalan *C. leblebicii* Yıldırım türünün korunması için önlemlerin alınması gerekmektedir. *C. leblebicii* Yıldırım kazmofit bir bitki tür olup sınırlı alanda bulunmaktadır (Yıldırım, 2018). Bunun için

tohumlarının alınıp çimlenmesi gibi geleneksel yöntemlerle kültüre alınması ve çoğaltılması zor olan bu gibi bitkilerin özellikle endemik oluşundan ötürü genetik kaynaklarımızın da korunması ve kültüre alınmasında biyoteknolojik yöntemler yaygın şekilde kullanılmaktadır (Babaoğlu ve ark., 2001). Bitki biyoteknolojisi kapsamında genetik kaynaklarımızın kültüre alınması ve çoğaltılmasında en önemli ve etkili tekniklerden biri de doku kültürüdür.

Doku kültürü; aseptik koşullarda yapay bir besin ortamında hücre, doku veya organ gibi eksplantların (embriyo, tohum, gövde, sürgün, kök, kallus, tek hücre ya da polen vb.) kontrollü bir biçimde yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesi olarak tanımlanabilir (Gözükırmızı, 2011). Bitki genetik çeşitliliğinin korunmasında 1970’den bu yana biyoteknolojinin sunduğu imkanlardan yararlanarak özellikle *in vitro* veya doku kültürü kullanılarak problemlere çözüm bulma eğilimi gelişmiştir (İlhan, 2017). Doku kültürü çalışmaları bitki germplazmını toplama, çoğaltma ve saklama amacıyla yoğun olarak kullanılmaktadır (Engelmann 1991; Bunn vd., 2007).

Bitki biyoteknolojisinde *in vitro* şartlarda bitkilerin çoğaltılıp geliştirilmesi ve koruma altına alınması için uygun rejenerasyon protokollerin geliştirilmesi ilk ve en önemli adımdır. Doku kültüründe rejenerasyon protokolünün geliştirilmesi her bitki için farklılık göstermektedir. Kullanılacak eksplantların, besi yerlerinin, bitki büyüme düzenleyicilerinin ve uygulanacak sterilizasyonun belirlenmesi oldukça önem taşımaktadır. Daha sonra kullanılan eksplantlardan oluşan kallusun bitki büyüme düzenleyicileri ile uyarılarak organogenesis çalışmaları yapılmaktadır. Organogenesis hücre ve dokulara baskı uygulayıp, bazı değişikliklere sebep olarak, sürgün veya kök taslağı diye adlandırılan, tek kutuplu ve vasküler sistemin kökenini aldığı dokuya bağlı yapının oluşmasını sağlayan işleme denilmektedir. Bu çalışmada da organogenesis sonucu kökleri gelişmiş bitkilerin aklimatizasyon aşamaları gözlenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 *Campanula* L. İle İlgili Genel Bilgiler

Campanulaceae tropik bölgelerden soğuk bölgelere kadar tüm kıtalarda kozmopolit bir yayılışa sahiptir. *Campanulaceae* üç alt familyaya ayrılmaktadır. Bu üç familyanın bulunduğu bölgeler sınırlıdır. Bu bölgeler ise; *Cyphioideae* güney Afrika'da, *Cyphocarpoideae* orta Şili'de ve *Nemacladoideae* güneybatı Kuzey Amerika'da dağılım göstermektedir. Fakat *Campanulaceae* familyasının tamamına baktığımızda %18'i Asya, %11'i Avrupa, %11'i Kuzey Amerika, %6'sı Polinezyada ve %4'ü Avustralasyada'dır (Lammers et. al., 2007).

Ekolojik olarak da *Campanulaceae* familyası çeşitlilik göstermektedir. Familyadaki türlerin çoğunluğu dağ habitatlarında meydana gelen mezofitlerdir. *Campanulaceae* familyası çoğunlukla bozkır veya orman-bozkır alanlarında, kalker veya karbonatlı şistler üzerinde, kaya yarıklarında yetişir. Köke veya kalınlaşmış rizoma sahip olan tek yıllık otlar ya da çok yıllık çalılar şeklinde yayılım göstermektedir. Kökünde süt benzeri sıvılar bulunabilmektedir. Yaprakları ise stipülsüz ve alternat şeklinde olup çiçekleri; ışınal simetrlili ve hermafrodit özellik göstermektedir.

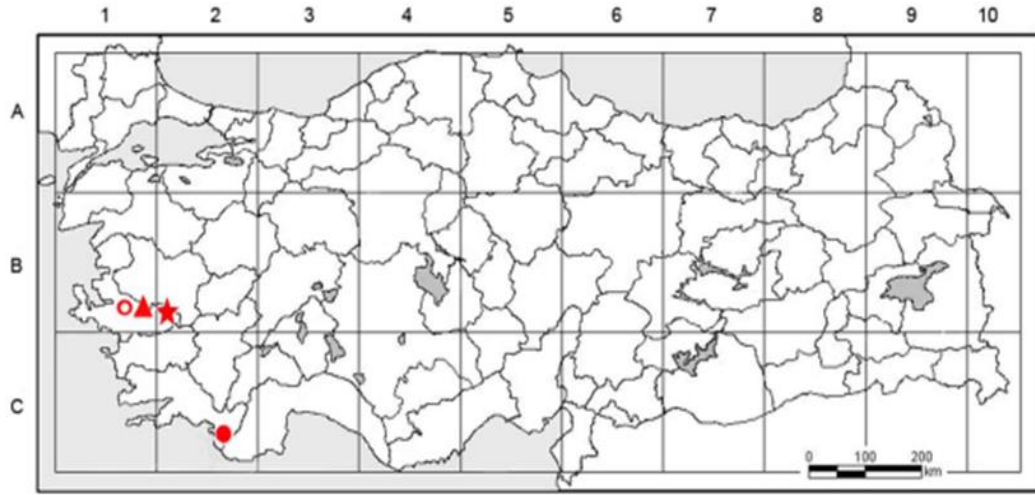
2.2 *Campanula* L. cinsinin dünyada yayılışı

Campanulaceae familyasının en büyük cinsi olan *Campanula* L. yaklaşık olarak dünyada 420 tür içermektedir. Bu türler Afrika, Güney Asya ve Kuzey Meksika olmak üzere dünyanın belirli yerlerinde bulunmaktadır (Federov, 1957; Lammers, 2007). Ana türlerin merkezi dağılımları ise Kafkasya ve Doğu Akdeniz dağ sıralarıdır (Fedorov ve Kovanda, 1976; Contandriopoulos, 1984). *Campanula* taksonlarının bir çoğu sınırlı alana adapte olmuş, kazmofit ve endemik bitkilerdir. *Campanula* cinsinin endemizm bakımından yoğun bulunduğu bölgeler ise Kafkaslar, Balkanlar, Akdeniz ve Türkiye'dir (Borsch ve diğerleri, 2009; Khansari ve diğerleri, 2012). Türkiye *Campanula* L. cinsinin 126 tür ve 66 endemik takson ile yayılış gösterdiği merkezlerden biridir. Türkiye'de endemizm oranı %53'tür. (Damboldt, 1978; Davis vd., 1988; Güner, 2000; İkinci, 2012; Mutlu ve Karakuş, 2015; Yıldırım, 2013; Yıldırım ve Şenol, 2014). Bu endemik türlerden biri de *Campanula leblebicii* Yıldırım bitkisidir.

2.3 *Campanula leblebicii* Yıldırım

Campanula leblebicii Yıldırım Türkiye’de sadece İzmir ilinin, Kemalpaşa ilçesindeki Ovacık köyünde bulunmaktadır. Ovacık köyünde de Bozdağ silsilesinin bir parçası olan Çaldede Dağı’nın zirvesinde bulunmaktadır. Yetiştirme alanı oldukça sınırlıdır ve yerel endemiktir. Habitatı filit - şistoz kaya üzerinde 1350-1385 m yüksekliğindedir. *Campanula leblebicii* Yıldırım’ ın yaşam alanı 0.043km²’dir ve bu alanda yaklaşık olarak 800 - 900 bireyin yaşadığı tahmin edilmektedir. Fakat koyun ve keçi sürülerinin aşırı otlatılması, bölge yakınlarında bir yangın kulesi ve bir baz istasyonunun bulunması ve popülasyonun yakınlarında piknik faaliyetlerinin gerçekleştirilmesi bitki popülasyonunu tehlike altına sokmaktadır. IUCN (2016) kriterlerine göre *C. leblebicii* Yıldırım türü, “Kritik Tehlike Altında” (CR) B2ab (ii, iii, v) olarak değerlendirilmektedir (Yıldırım, 2018).

C. leblebicii Yıldırım 2014 yılında Prof. Dr. Hasan YILDIRIM tarafından keşfedilmiştir. Yeni türün ismi, bitki sistematigi ve taksonomisinde uzman olan Erkuter LEBLEBİCİ’ nin onuruna seçilmiştir. *C. leblebicii* Yıldırım türünün Türkçe karşılığı ise “İzmirçanı” olarak geçmektedir (Yıldırım, 2018).



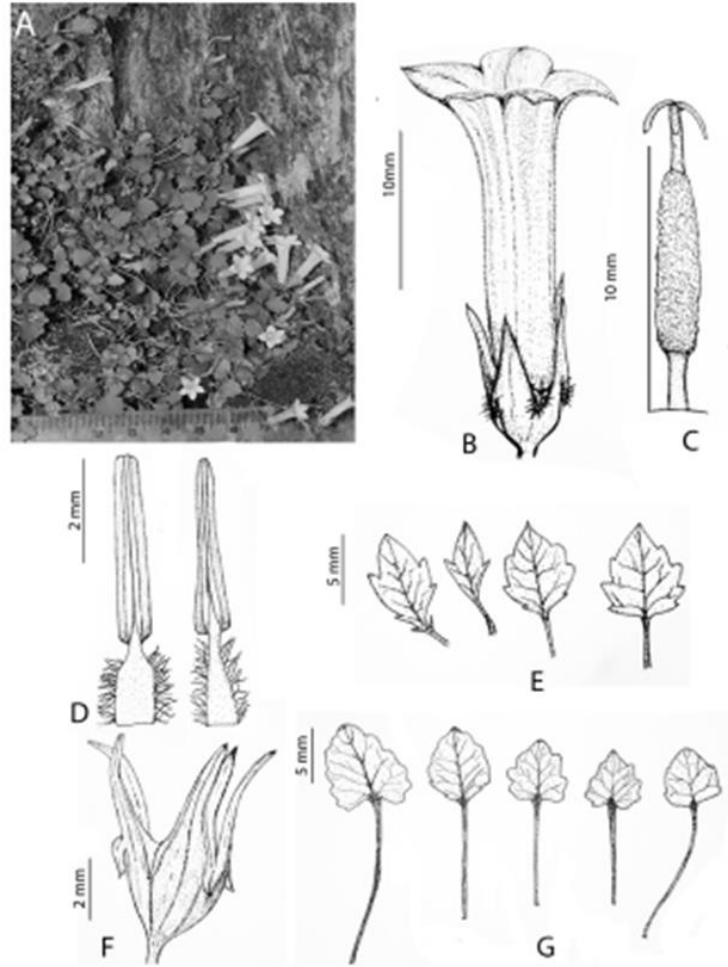
Şekil 2.1 *Campanula leblebicii* Yıldırım’ ın dağılımı (▲), *C. mugeana* (○), *C. koyuncui* and (●) and *C. teucroides* (★) (Yıldırım, 2018).

2.3.1 Morfolojisi

Detaylı yapılan morfolojik çalışmalar sonucu *C. leblebicii* Yıldırım türünün *Rupestres* kesitinin bir üyesi olduğunu göstermiştir. *C. leblebicii* Yıldırım türünün kökleri tüysüz, bazal yaprakları tüysüz ve yarım küre şeklinde, kordat ile deltoit arasındadır ve 3-13 x 4-14 mm'dir, yaprak sapı ise 7-26 mm'dir. Gövdesel olarak; deltoid ve mızraksı yapıdadır ve bazen yaprak sapı üzerinde 1-2 mm'lik loblar üzerinde, 3-10 x 4-10 mm, 2-7 mm petiyolat olduğu belirtilmiştir. Çiçek durumu, 1- 5 çiçekli, Corolla $\frac{1}{5}$ - $\frac{1}{6}$ kadarı bölünmüş olup dışarı doğru tüysüz ila çok küçük tüylüdür. Corolla lobları 2-3x2-3 mm, tüpü ise 2-4 mm genişliğindedir. Kaliks lobları dar ve üçgen - mızraksı şeklinde olup sivri, 4-7 x 1-2 mm ve tüylüdür. Bitki üzerindeki tırnağa benzeyen ek çıkıntılar, 1-1.3 x 1-1.5 mm hafif ağsı damarlı ya da pürüzsüz, parlak kahverengimsi, alt veya üst yüzeyi tüysüz, çiçeklenmeden sonra büyümez ve kenarı biraz kısa kaba tüylü veya tüsüzdür. Stigma lobları ve lokulus sayıları, 3. Kapsül, piramit şeklinde, tüylü, 2-2.5 x 3-3.5 mm, 3 bölümlü ve 3 kapaklıdır. Tohum ise genellikle yassı, elipsoid dikdörtgen şeklinde olup, 0.3-0.4 x 0.5-0.6 mm, koyu kahverengidir.



Şekil 2.2 *Campanula leblebicii* Yıldırım arazideki görünümü.



Şekil 2.3 *Campanula leblebicii* Yıldırım A) Yapısı B) Çiçek C) Stigma ve stil D) Gövde yaprakları F) Kapsül G) Rozet yapraklar (Yıldırım, 2018).

2.3.2 *Campanula* Türleri Üzerinde Yapılan *In Vitro* Çalışmalar

In vitro şartlarda bitki doku teknikleri kullanılarak çoğaltılması ve geliştirilmesi klasik yöntemlere nazaran daha çok denenmekte ve kullanılmaktadır. Bitki doku kültürü teknikleri içerisinde yer alan organogenesis, hücre ve dokulara bitki büyüme düzenleyicileri ile uyarılarak sürgün veya kök dokularının oluşumunu sağlamaktır. Organogenesis, in direkt ve direkt organogenesis olarak ikiye ayrılmaktadır. Organogenesis’inde içerisinde yer aldığı doku kültürü teknikleri ile generatif yoldan çoğaltılıp, geliştirilmesi zor olan bitkilerin bitki parçacıkları veya hücrelerinden yeni bitki oluşumu sağlanmaktadır. *Campanula L.* Türlerinde organogenesis dahil birçok doku kültürü çalışmaları yapılmıştır. Endemik *Campanula* türlerinde yapılan *in vitro* çalışmalardan bazıları ise şu şekilde sıralanmaktadır:

Brandt (1992) *C. isophylla* ve *C. pyramidalis* türünde küçük tomurcukları ve sürgünlerin bazal kısımlarını 1-2 mg/l BA konsantrasyonuna sahip MS besiyerinde kültüre almış ve *in vitro* rejenerasyon protokolü oluşturmuştur.

Vardja ve ark. (2000) *Campanula isophylla* türünün sürgün uçlarını ve nodal eksplantlarını 0-5.0 mg/l IBA veya 2-5 mg/l BA konsantrasyonlarında ve kinetin veya zeatin konsantrasyonlarını içeren MS besiyerinde kültüre almışlardır. Sürgün gelişiminin daha çok 2 mg/l BA+0.1 mg mg/l IBA ve 2% süzkroz içeren MS besiyerinde olduğunu belirtmişlerdir.

Sriskandarajah ve ark. (2001) *Campanula carpatica* Jacq. türünde hipokotil ve kotiledon eksplantları kullanarak sürgün oluşum oranlarını incelemişlerdir. TDZ bitki büyüme düzenleyicisinin BA' dan 6 kat daha etkili olduğunu ve hipokotil eksplantlarının kotiledon eksplantlarına göre iki kat daha fazla sürgün verdiğini belirtmişlerdir.

Frello ve ark. (2002) *C. carpatica* Jacq. türünün iki çeşidinde de kotiledon eksplantlarından kallus elde etmiş ve sürgün gelişimlerini sağlamışlardır. Eksplantları 0.05-2 mg/l 2.4-D+0-2 mg/l NAA+0-4 mg/l BA konsantrasyonları içeren MS30 bazal besiyerinde kültüre almışlardır. Her iki çeşit için en etkili bitki büyüme düzenleyici konsantrasyonlarını 0.5 mg/l NAA, 0.05 mg/l 2.4-D, 0.75 mg/l BA olarak belirlemişlerdir.

Joung ve ark. (2002) *C. glomerata* yaprak eksplantlarını BA, 2iP ve NAA bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonlarını içeren MS besiyerinde kültüre almışlardır. Çalışmada araştırmacılar eksplantları düşük ışık yoğunluğunda ve düşük sıcaklıkta (14°C) kültüre almışlardır. En etkili besi yerinin 4 mg/l BA +0.1 mg/l NAA konsantrasyonuna sahip MS besi yeri olduğunu ve yüksek ışık yoğunluğunun rejenerasyonu baskıladığını rapor etmişlerdir.

Seglie ve ark. (2008) *Campanula barbata* L., *C. latifolia* L., *C. rapunculoides* L., *C. spicata* L., ve *C. trachelium* L. türlerinin tohumlarını 0.02 mg/l NAA, 1 mg/l BA ve 2 mg/l kinetin konsantrasyonlarını içeren MS besiyerinde kültüre almışlardır. En etkili çimlenme oranını *C. rapunculoides* türünde %53 ve %56 olarak tespit etmişlerdir.

Sriskandarajah ve ark. (2008) *Campanula carpatica*, *C. haylodgensis*, *C. portenschlagiana* ve *C. poscharskyana* türlerinde karanlıkta büyütülen petiol eksplantlarından elde edilen sürgünlerin nodlarını kullanarak %95'lik bir rejenerasyon oranı yakaladıklarını ve

serada aydınlıkta yetiştirilen bitkilerden alınan eksplantlarda gelişme oranını %12 olarak belirlemişlerdir. Karanlık uygulamalarının besiyeri ile birlikte rejenerasyona olumlu etki ettiklerini belirlemişlerdir. En etkili besi yerini 10 mg/l TDZ ve 0.25 mg/l NAA içeren MS besi yeri olarak belirlemişlerdir.

Airo ve ark. (2010) İtalya'ya endemik ve yok olma tehlikesi altında olan *C. sabatia* türünün farklı popülasyonunda, her popülasyondan 20 bitkicik olacak şekilde, 1.33 μ M BA içeren MS besiyerinde kültüre almışlardır. Kültüre aldıkları bitkilerin 25 gün sonra kök oluşturdıklarını belirtmişlerdir. Araştırmacılar aklimatizasyon başarısını %25 olarak belirlemişlerdir.

Paunescu (2010) Romanya'ya endemik ve tehlike altında olan *C. polymorpha* türünde tekli nodları kullanmışlardır. En etkili besi yerini 0.1 mg/l NAA ve 1 mg/l BA olarak belirlemiştir. Bu besi yerinde gelişen sürgünlerin 4-5 cm iken 3-4 hafta sonra bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besiyerinde kök verdiklerini belirtmiştir.

Sivanesan ve ark. (2011) *C. punctata* Lam. var. *rubriflora* türünde somatik embriyogenesis protokolü geliştirmişlerdir. Araştırmacılar petiolleri ve yaprak eksplantlarını kullanmışlardır. Eksplantları 2.0 mg/l 2.4-D ve 1 mg/l BA içeren MS besiyerinde kültüre almışlar ve yaprak eksplantı başına 19.5, petiol eksplantı başına ise 31.2 adet somatik embriyo elde etmişlerdir. Eksplantları, 2 hafta karanlıkta ve 3 hafta aydınlıkta kültüre aldıklarında, etkili somatik embriyo oluşumları sağlandığını belirtmişlerdir. Globular embriyoların %0.3 aktif kömür ve 1 mg/l GA₃ içeren MS besiyerinde çimlendiklerini belirtmişlerdir. Araştırmacılar aklimatizasyon oranını %94 olarak bildirmişlerdir.

He ve ark.(2012) *C. glomerata* türünde yapraklı sürgünleri eksplant kaynağı olarak kullanmış ve en iyi gelişimin 0.6 mg/l 6-BA + 0.3 mg/l NAA içeren MS besiyerinde meydana geldiğini belirtmiştir. Adventif tomurcukların en iyi gelişim gösterdiği besi yerini de White+ 1.5 mg/l GA₃ + 0.1 mg/l IAA olarak belirlemişlerdir. Kök oluşumunun ise 1/3 MS+ 0.1 mg/l IAA + 0.2 mg/l NAA içeren besiyerinde olduğunu saptamışlardır.

Seglie ve ark. (2012) *Campanula barbata* L., *Campanula latifolia* L., *Campanula rapunculoides* L., *Campanula spicata* L., ve *Campanula trachelium* L türlerinin tohumlarının 1- naphthaleneacetic acid (NAA), 6-benzyladenine (BAP) ve kinetin içeren ½ MS besi yerinde

çimlendirilmesi üzerine araştırma yapmışlardır. Çimlendirme zamanı, %50 çimlenme zamanı, son çimlenme oranını incelemişlerdir. *C. rapunculoides* türünde 2 hafta içerisinde büyüme düzenleyici içeren besiyerinde %53, büyüme düzenleyici içermeyen besiyerinde %56'lık çimlenme oranı elde etmişlerdir. Diğer türler arasında belirtilen parametrelerde istatistiksel olarak bir fark bulamamışlardır. Bununla birlikte *C. barbata* türünde hiçbir gelişme elde edemediklerini bildirmişlerdir.

Agud (2014) *Campula rotundifolia* 'nın çiçek tomurcuklarını MS vitamin ile desteklenmiş hormonsuz SH ve oksin olarak AIB - 0,5-1,0 mg/l ile kombine edilmiş, 2iP veya BA içeren V1'den -V6'ya kadar isimlendirdikleri besi yerlerinde kültüre almışlardır. En etkili rejenerasyonun %80-88 ile BA içeren V6 besiyerinde elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Grigoriadou ve ark. (2014) *Campanula incuva* türünde tohum çimlendirme üzerine çalışma yapmışlardır. Sürgün oluşumlarını 1mM 6-benzyladenine (BA) ve 0.1 mM indole-3-butyric acid (IBA) konsantrasyonu içeren MS besiyerinde gözlemlemişlerdir. Elde edilen sürgünlerin büyümeleri üzerine 1–8 mM BA ve 1–8mM Kinetinin etkilerini incelemişlerdir. Bu sürgünler üzerinde sitokinin ve oksin etkilerini incelemek için 8 mM BA ile 0, 1, 5, ve 10 mM IBA kombinasyonlarını içeren MS besi yeri kullanmışlardır. Köklenme için ise 0, 0.5, 1, 5 ve 10 mM IBA kullanmışlardır. Eksplant başına etkili sürgün oluşumunun 8 mM içeren MS besiyerinde olduğunu belirtmişlerdir.

Röper ve ark. (2015) *C. portenschlagiana* x *C. poscharskyana* ve *C. medium* x *C. formanekiana* melezlerinde ovül eksplantlarını farklı izolasyon süreleri ve çimlenme zamanlarına göre *in vitro* rejenerasyonda kültüre almışlardır. *C. medium* x *C. formanekiana* melezlerinde çiçeklenmeden 3 hafta sonra alınan tohumların bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besiyerinde *in vitro*'da %47 oranında çimlendiğini belirtmişlerdir. Kendilenen tohumlarda en yüksek oran ise çiçek başına 79 ± 21 ile *C. medium* türünde elde etmişlerdir.

Kolomiets ve ark. 2016 *C. sclerophylla* türünde mikroçoğaltım ve yavaş büyütme ile tehlike altındaki bu türü koruma altına almaya çalışmışlardır. En iyi kardeşlenme oranını eksplant başına 7.2 ile 3 mg /L BA ve 1 mg/l IBA içeren yarım MS besi yerinde olduğunu belirtmişlerdir. Eksplantları alt kültüre almadan 7°C'de 23 lüks ışıktaki 9 ay boyunca kültüre almışlardır.

3. MATERİYAL VE METOT

3.1 Bitkisel Materyallerin Toplanması

Campanula leblebicii Yıldırım vejetasyon döneminde, 1385 m yüksekliğinde, 38° 20' K, 27° 38' D konumunda, İzmir ilinde Kemalpaşa ilçesinde bulunan Çaldede Dağı'ndan toplanmıştır.

Araştırmada rejenerasyon çalışmalarında bitkisel materyal olarak *Campanula leblebicii* Yıldırım türünün yaprak ve petiol eksplantları kullanılmıştır. *Campanula leblebicii* Yıldırım türüne ait herbaryum örnekleri E.Ü. Botanik Bahçesi ve Herbaryum Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bulunmaktadır.

Toplanan bitkiden herbaryum örneği alınmıştır. Herbaryum numarası AD3762'dir.

3.2. Metot

Tez çalışmasında *in vitro* denemelerinin tamamı Ege Üniversitesi Botanik Bahçesi ve Herbaryum Araştırma ve Uygulama Merkezi'ndeki doku kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 Çalışmada Kullanılacak Malzemelerin Sterilizasyonu

In vitro çalışmalarda, çalışmanın yapılacağı laboratuvar ve çalışmada kullanılacak malzemelerin sterilizasyon işlemi oldukça önemlidir. Doku kültürü çalışmalarında hazırlanacak besi ortamlarının kontamine olmamasına dikkat edilmelidir. Bu tez çalışmasında da kullanılacak malzemelerin (erlen, cam kavanoz, petri, bistüri, pens, filtre kağıdı v.b.) yüzey sterilizasyonu için otoklav kullanılmıştır. Otoklava girmeden önce kullanılacak tüm ekipmanlar %96'lık alkol ile silinip alüminyum folyo ile sarılmıştır. Daha sonra her biri otoklav poşetine konulup 121 °C'de 1 atm basınçta 15 - 20 dakika otoklavlanarak sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır. Çalışmaya başlamadan önce steril kabin en az 30 dakika önce çalıştırılmış ve %70'lik etil alkol ile steril hale getirilmiştir.

3.2.2 Besin Ortamı ve İçeriği

Denemelerde besi yeri olarak MS (Murashige ve Skoog 1962) ortamı kullanılmıştır. MS besin ortamının içeriği Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1 Rejenerasyon denemeleri için kullanılacak besi yeri içeriği

Makro elementler	mg/l
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ x 2H ₂ O	440
MgSO ₄ x 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Mikro elementler	mg/l
H ₃ BO ₃	6.2
MnSO ₄ x 1H ₂ O	16.9
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	10.6
KI	0.830
Na ₂ MoO ₄ x 2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ x 5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ x 6H ₂ O	0.025
Sakkaroz	30
pH	5.8
Bitki Büyüme Düzenleyicileri	
2,4-D	(0-0,5-1-2 mg/l)
BA	(0-0,5-1-2 mg/l)
Kin	(0-0,5-1-2 mg/l)
NAA	(0-0,5-1-2 mg/l)
Vitaminler ve aminoasitler	mg/l
Myo-inostol	100.0
Pyridoxine-HCl	50
Nicotinik Asit	50

Thiamin – HCL	10
Glycine	2.0
Diğer Kimyasallar	g/l
Gelrite	4

Tablo 3.2 Rejenerasyon denemelerinde kullanılacak olan bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonları

Hormon No	NAA (mg/L)	ZEA (mg/L)	Hormon No	NAA (mg/L)	BA (mg/L)
Kontrol	0	0	Kontrol	0	0
1	0.3	0.5	5	0.3	0.5
2	0.3	1	6	0.3	1
3	0.3	2	7	0.3	2
4	0.3	3	8	0.3	3

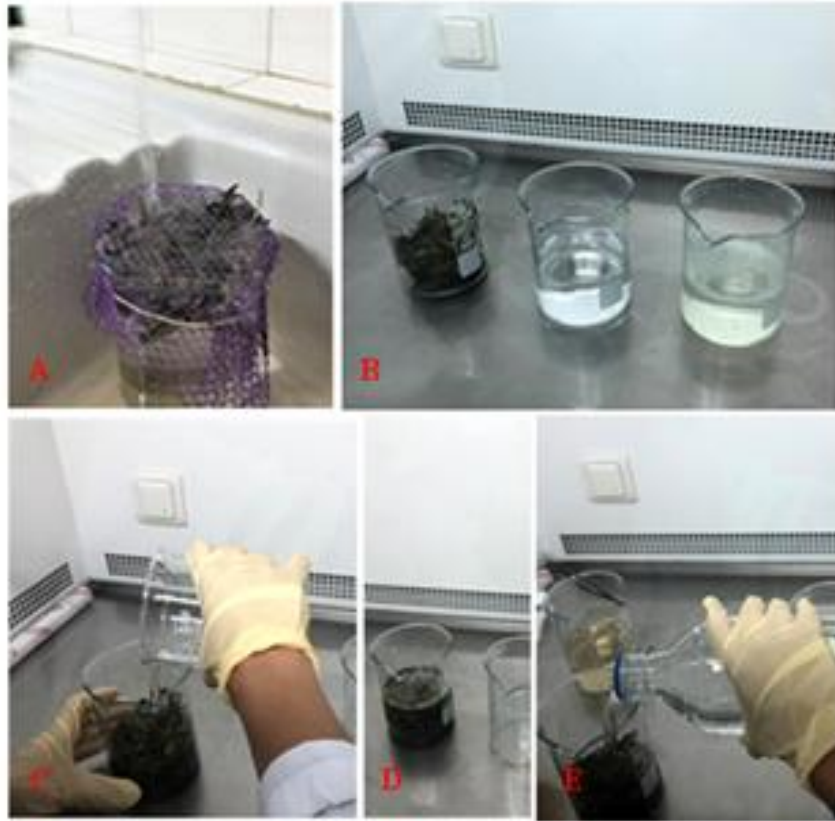
Tablo 3.3 Son alt kültür aşamasında hazırlanan ortamlar

Hormon No	NAA (mg/L)	GA ₃ (mg/L)	Hormon No	NAA (mg/L)	BA (mg/L)
Kontrol	0	0	Kontrol	0	0
1	0.3	0.5	5	0.3	0.5
2	0.3	1	6	0.3	1
3	0.3	2	7	0.3	2

4	0.3	3	8	0.3	3
---	-----	---	---	-----	---

3.2.3. Eksplantların Yüzey Sterilizasyon

Campanula leblebicii Yıldırım bitkisinin yaprak ve petiol eksplantları, yüzey sterilizasyonu için ilk olarak 30 dakika boyunca akan musluk suyu altında bekletilmiştir. Daha sonra steril kabin içerisine alınıp önceden hazırlanmış olan %70'lik EtOH içerisinde 1 dakika boyunca bekletilmiş ve sonrasında steril saf su ile bir kere yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında %30' luk NaOCl (Domestos 4.5 % aktif klorin, v/v, NaOCl; Domestos) 'de 15 dakika boyunca çalkalanmış ve steril saf su ile üç kere yıkanarak durulanarak yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir.

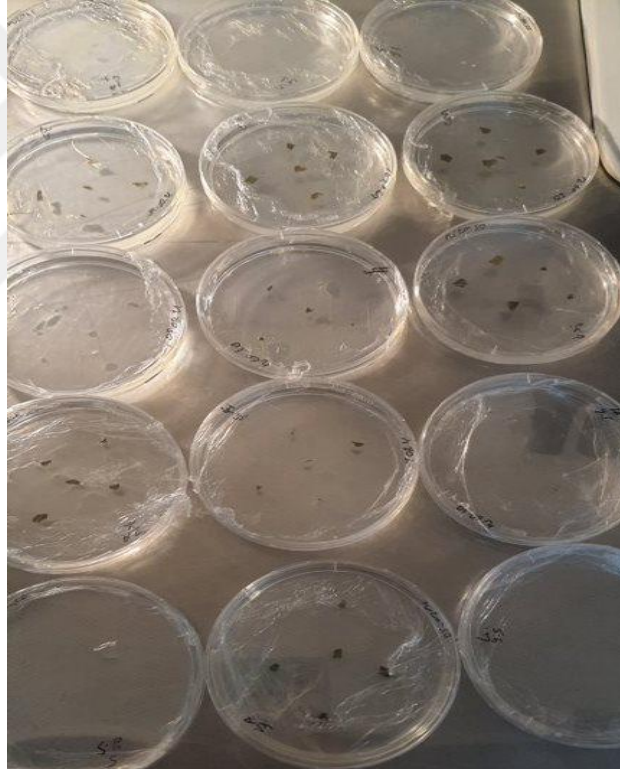


Şekil 3.1 *Campanula leblebicii* Yıldırım eksplantları için uygulanan yüzey sterilizasyon protokolü. A) Akan musluk suyu altında 30 dk bekletme B) Sterilizasyon için kullanılanlar C) %70' lik alkolde 1 dk bekletme D) % 30'luk NaOCl' de 15 dk bekletme E) Steril saf su ile durulanma.

3.2.4. Eksplantların Kültüre Alınması

Kültüre alınacak eksplantların sterilizasyonu tamamlandıktan sonra, steril laminar flow kabin içerisinde sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır. Bitkisel materyallerden steril pens ve bistüri ile 0,5-1 cm uzunluğunda yaprak ve yaprak sapının kesitleri alınmıştır. Özellikle yaprak sapında eksplantlarında nod aralarına dikkat edilmiştir.

Kültüre alınma işlemi tamamlandıktan sonra 4 hafta boyunca karanlık ortamda $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında bekletilmiştir. Karanlık ortamdan alınan eksplantlar aynı konsantrasyonlara sahip besi yeri ortamlarına alt kültüre alınmıştır. Alt kültüre alınan eksplantlar aydınlık ortamda bekletilmişlerdir. 8 Haftanın sonunda ilk grup bitki büyüme düzenleyicilerinden ZEA yerine GA_3 kullanılmıştır (Tablo 3.3) ve son alt kültür işlemi tamamlanmıştır.



Şekil 3.2 Eksplantların kültüre alındıktan sonraki görüntüsü

3.2.5 Deneme Deseni ve Veri Analizleri

Denemeler tesadüf parselleri desenine göre kurulmuştur ve her kültür ortamı için 5 tekerrür (5 petri) her petride 5 eksplant olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Hesaplanan yüzde

(%) değerlere açı transformasyonu uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlar JMP 8 paket programında istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

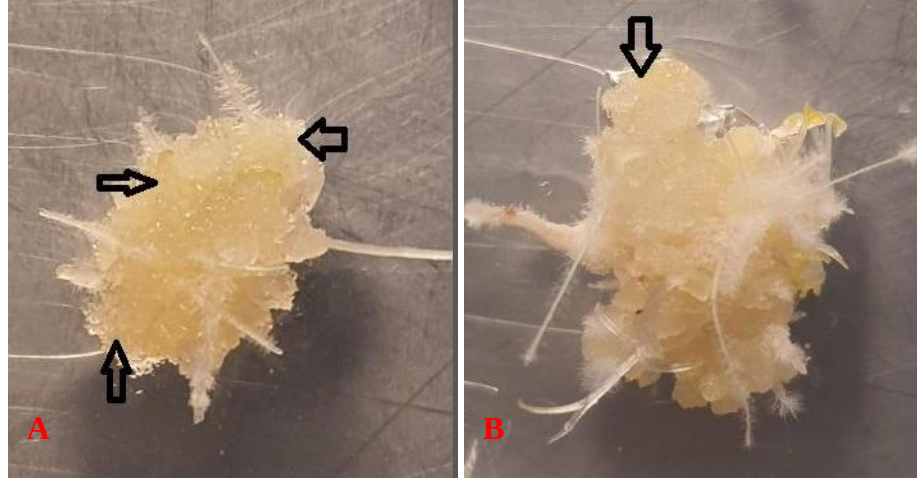
4. BULGULAR

4.1 *In vitro* Rejenerasyon Bulguları

4 hafta karanlık ortamda kalan eksplantlardan alınan gözlemler sonucunda kontrol grubu haricinde her iki grupta yaprak ve yaprak sapı eksplantlarında kallus oluşumu görülmüştür. Yoğunlukla 2. grupta olmak üzere iki grupta kök oluşumu da gözlenmiştir. Bir ayın sonunda petriler aynı konsantrasyona sahip ortamlarda alt kültüre alınıp aydınlık ortamda bırakılmıştır. Alt kültüre alındıktan sonraki gözlemlere bakıldığında tüm konsantrasyonlara sahip ortamlarda kök ve kallus gelişiminin yanında sürgün gelişimi de görülmektedir. Son alt kültür işleminde ise ilk gruptaki bitki büyüme düzenleyici konsantrasyonları aynı bırakılmış 2. grupta NAA+GA₃ (mg/L) konsantrasyonları hazırlanmış ve alt kültüre alınma işlemi gerçekleştirilmiştir. Son alt kültüre alınma işleminden sonra alınan gözlemlerde sürgün ve kök gelişimlerinin yanı sıra çimlenmenin de daha iyi geliştiği görülmüştür.

4.1.1 Kallus Gelişim Bulguları

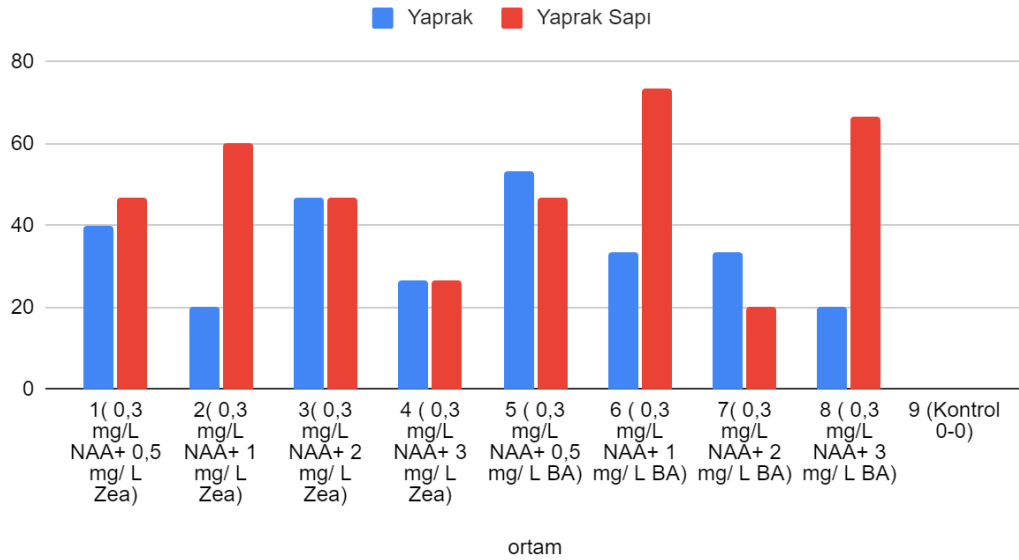
Yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilen eksplantlar NAA + Zea ve BA + NAA'nın farklı konsantrasyonların içeren MS besiyerinde 4 hafta boyunca karanlık ortamda kültüre alındıktan sonra tüm besi yerlerinde (Tablo 4.1) kallus gelişimi tespit edilmiştir.



Şekil 4.1 A) 4 hafta karanlık ortamda kalan yaprak sapı eksplantının kallus görüntüsü B) 8 hafta sonunda 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L BA konsantrasyonunda yaprak sapı eksplantında oluşan kallus görüntüsü gelişim

Tablo 4.1 Farklı konsantrasyonlardaki yaprak ve yaprak sapı eksplantlarında kallus gelişim oranları (%)

, Yaprak ve Yaprak Sapı



Tablo 4.2 *Campanula leblebicii* Yıldırım türünde, farklı konsantrasyonlarda farklı eksplant tiplerinden elde edilen kallus oluşum oranına ait analiz sonuçları

Konsantrasyon	Kallus (%) Yaprak	Kallus (%) Yaprak sapı
kontrol	0	0
1	40abc (38.85)	46.66ab (43.07)
2	20c (26.57)	60.00a (51.14)
3	46.66ab (42.70)	46.66ab (43.07)
4	26.66bc (30.79)	30.79bc (26.66)
5	53.33a (46.92)	46.66ab (43.07)
6	33.33abc (34.63)	73.33a (63.84)
7	33.33abc (35.01)	26.57bc (20.00)
8	20c (26.57)	66.66a (60.00)

LSD_{yaprak}:24.70, LSD_{yapraksapı}:22.54 ($p \geq 0,05$)

Parantez içerisindeki değerler yüzde değerlerin açı transformasyonu uygulanmış değerlerdir. Farklı harfler farklılıkları belirtmektedir.

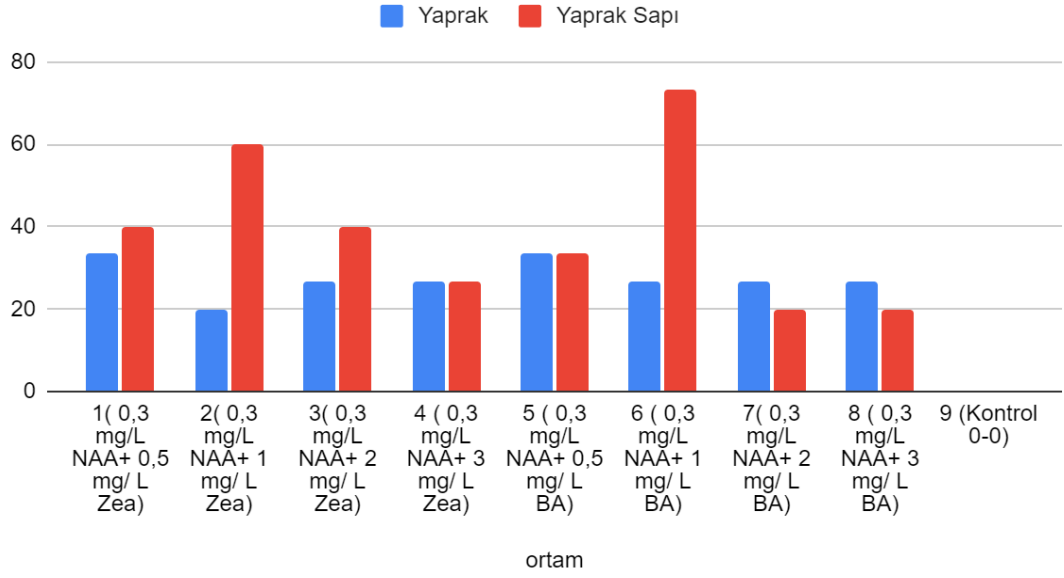
Gözlemler sonucunda kallus gelişimi daha çok yaprak sapı eksplantlarında görülmektedir. Yapraklarının yapısı itibari ile yaprak sapına oranla daha yumuşak dokulu olması ve daha çok enfeksiyon görülmesinden dolayı daha az gelişim gösterdiği düşünülmektedir. *Campanula leblebicii* Yıldırım türünün yaprak sapının daha dayanıklı olması kültüre alınma işleminden sonra daha hızlı kallus gelişimi görülmektedir. Yine grafikte görüldüğü üzere %73,3333 oranı ile en fazla gelişim 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L BA konsantrasyonuna sahip MS besiyerinde görülmektedir.

4.1.2 Sürgün Gelişim Bulguları

Kallus gelişimi gözlendikten sonra aynı konsantrasyonlara sahip ortamlara alt kültüre alınıp aydınlık ortamda bırakılmışlardır. Aydınlık ortamda da 3-4 hafta boyunca bırakılmışlardır. Bu sürenin sonunda gözlemlere bakıldığında kallus ve sürgün oluşumu görülmüştür.

Tablo 4.3 Farklı konsantrasyonlardaki yaprak ve yaprak sapı eksplantlarında sürgün gelişim oranları (%)

, Yaprak ve Yaprak Sapı



Tablo 4.4 *Campanula leblebici* Yıldırım türünde, farklı konsantrasyonlarda farklı eksplant tiplerinden elde edilen sürgün oluşum oranına ait analiz sonuçları

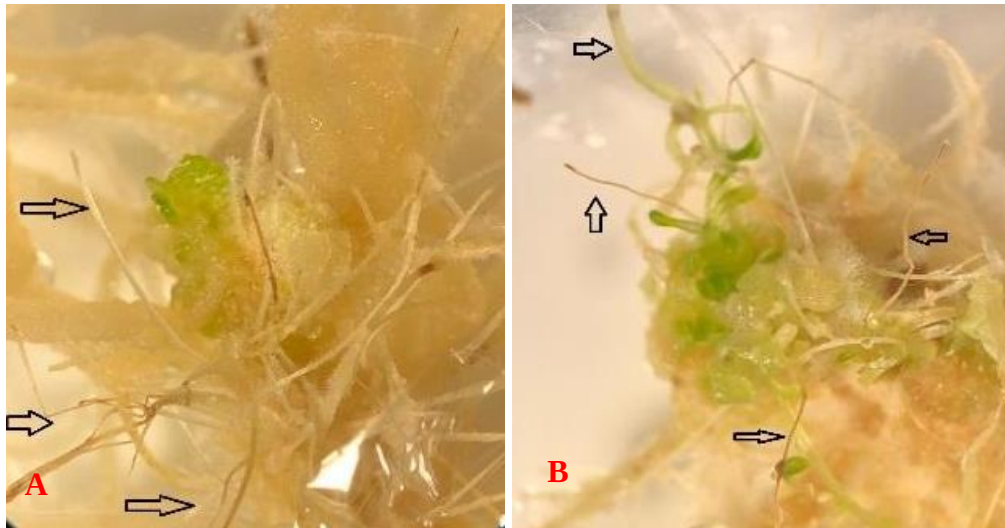
Konsantrasyon	Kallus (%) Yaprak	Kallus (%) Yaprak sapı
kontrol	0	0
1	40abc (38.85)	46.66ab (43.07)
2	20c (26.57)	60.00a (51.14)
3	46.66ab (42.70)	46.66ab (43.07)
4	26.66bc (30.79)	30.79bc (26.66)

5	53.33a (46.92)	46.66ab (43.07)
6	33.33abc (34.63)	73.33a (63.84)
7	33.33abc (35.01)	26.57bc (20.00)
8	20c (26.57)	66.66a (60.00)

LSD_{yaprak}:24.70, LSD_{yapraksapı}:22.54 ($p \geq 0,05$)

Parantez içerisindeki değerler yüzde değerlerin açı transformasyonu uygulanmış değerlerdir. Farklı harfler farklılıkları belirtmektedir.

Sürgünler kallus gelişimlerinde olduğu gibi %73,3333 oranında yaprak sapında ve 0.3 mg/L NAA + 1 mg/L konsantrasyonuna sahip MS besiyerinde görülmüştür. Fakat kallus gelişiminden farklı olarak 0.3 mg/L NAA + 3 mg/L BA konsantrasyonuna sahip MS besi yerinde sürgün gelişimi oldukça az görülmektedir (Tablo 4.3). Bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen kontrol grubu dışında tüm MS besiyerlerinde kallus gelişimin yanında sürgün gelişimi de görülmektedir.



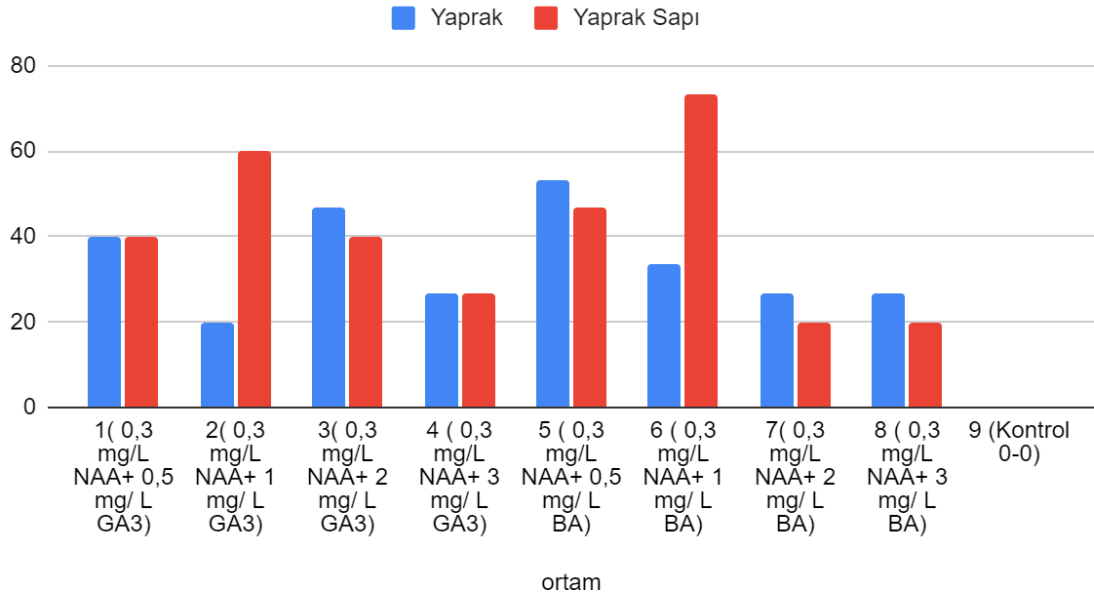
Şekil 4.2 Yaprak sapı eksplantlarında sürgün oluşumu A) 8. Haftada gelişen sürgün B) 12. Haftada gelişen sürgün

4.1.3 Kök Gelişim Bulguları

Eksplantları ikinci alt kültüre alınma işleminden sonra kök yapıları görülmeye başlanmıştır. Son alt kültürden sonra tüm eksplantlar aydınlık ortamda bırakılmışlardır ve çimlenmenin yanında kök yapıları da güçlenmiş ve uzamışlardır.

Tablo 4.5 Son alt kültür işleminden sonra kök gelişim oranları (%).

, Yaprak ve Yaprak Sapı



Tablo 4.6 *Campanula leblebicii* Yıldırım türünde, farklı konsantrasyonlarda farklı eksplant tiplerinden elde edilen kök oluşum oranına ait analiz sonuçları

Konsantrasyon	Kallus (%)	Kallus (%)
	Yaprak	Yaprak sapı
kontrol	0	0

1	40abc (38.85)	46.66ab (43.07)
2	20c (26.57)	60.00a (51.14)
3	46.66ab (42.70)	46.66ab (43.07)
4	26.66bc (30.79)	30.79bc (26.66)
5	53.33a (46.92)	46.66ab (43.07)
6	33.33abc (34.63)	73.33a (63.84)
7	33.33abc (35.01)	26.57bc (20.00)
8	20c (26.57)	66.66a (60.00)

LSD_{yaprak}24.70, LSD_{yapraksapı}:22.54 ($p \geq 0,05$)

Parantez içerisindeki değerler yüzde değerlerin açı transformasyonu uygulanmış değerlerdir. Farklı harfler farklılıkları belirtmektedir.

Kök gelişim oranları kallus ve sürgün gelişiminde de olduğu gibi en fazla 0.3 mg/L NAA + 1 mg/L BA konsantrasyonlarını içeren MS besiyerinde ve yaprak sapı eksplantlarında görülmektedir. Sürgünler 0.3 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA kombinasyonuna sahip MS

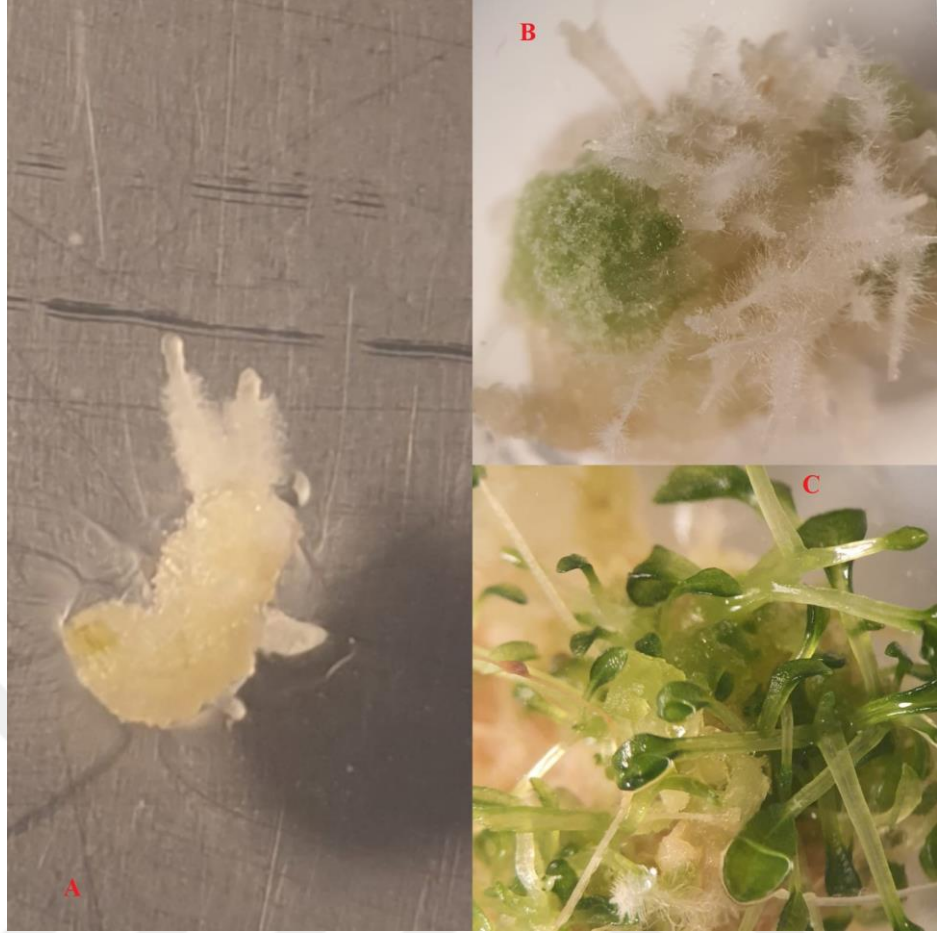
besiyerinde ve tüm eksplantlarda aynı oranda gelişim göstermişken köklerde tam tersi olarak yapraklarda daha iyi gelişim olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3 Yaprak sapı eksplantlarında kök oluşumu A) ZEA konsantrasyonunda gelişen kök B) GA₃ kullanıldıktan sonraki gelişen kök.



Şekil 4.5 GA₃ 'lı ortamda kavanoza alınmış ve çimlenmiş yaprak eksplantı görüntüsü.



Şekil 4.4 A) 4 hafta sonunda karanlık ortamda oluşan kallus ve kök görüntüsü B) 8 hafta sonunda oluşan kök, sürgün ve çimlenme görüntüsü C) Aklimatizasyon aşamasından önce çimlenmiş yaprak eksplantı.



Şekil 4.6 Kök oluşan eksplantların aklimatizasyonu A) Steril ortamdan alınan eksplant B) Fungusit ile steril edilmiş toprağa aktarım C) Aktarım sonrası streçlenmiş bitkiler.

5. TARTIŞMA

Bitki biyoteknoloji alanı insan veya hayvan bazlı tahribat sonrası yok olma tehlikesi ile karşı karşıya olan veya sınırlı bölgede yaşayan ve kritik listede olan endemik bitkilerin korunması için güncel bir kullanım alanı sunmaktadır. Doku kültürü de biyoteknoloji alanının içinde yer almaktadır. Doku kültürü yöntemi; bitkilerin, aseptik koşullarda *in vitro* ortamlarda vejetatif çoğaltım ve gelişim yöntemidir. Doku kültürü vejetatif dokuların sahip olduğu totipotensi yeteneği sayesinde bitkiler yaprak, kök ve gövde gibi parçalarından çoğaltılıp geliştirilebilmektedir. Birçok *Campanula* türü de çiçeklerinin güzelliği nedeniyle ekonomik değere sahiptir ve bu türlerin bazıları üzerinde doku kültürü çalışmaları yapılmıştır.

Bu tez çalışmasında da sınırlı bir alanda yetişen ve endemik olan *Campanula leblebicii* Yıldırım türünün doku kültürü ile çoğaltımının optimizasyonu belirlenmiştir. *In vitro* koşullarda yaprak ve yaprak sapı eksplantlarının kullanılarak çoğaltılan bitkinin yüzey sterilizasyonu ve *in vitro* rejenerasyon protokolü belirlenmiş olup, köklenme ve çimlenme aşamalarına kadar gözlem alınıp son olarak aklimatizasyon aşaması gerçekleştirilmiştir. *In vitro* çimlendirme çalışmalarında MS besiyerinde bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı derişimlerinde çimlenme ve kök oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır. Oluşturulan protokoller daha önce çalışmamış ve kritik listede olan *Campanula leblebicii* Yıldırım türünün doku kültürü yoluyla çoğaltılıp, *ex situ* koşullarda süs bitkisi olarak yetiştirilmesine ve ülkemiz için ekonomik değer olarak kazandırılmasına olanak sağlayabilir.

Brandt'ın 1991 yılında yaptığı çalışmada *Campanula isophylla* Moretti' nin mikro çoğaltılması için bir yöntem tarif edilmektedir. *C. isophylla* Moretti türünün *in vitro* çalışmasında primer eksplantlar olan aksiller ve apikal tomurcuklu 2 mm gövde segmentleri kullanılmış olup 15 ml MS besi yeri içerisinde 4.4 µM benziladenin (BA) kullanılmıştır. Eksplantlardan kök oluşumu için gözlemler aldıklarında küçük eksplantlarda kök ve sürgün oluşumu gözlenemediğini belirtmişlerdir. Kök oluşumu için makro besin miktarları yarıya düşürülmüş ve BA konsantrasyonun yanında NAA da eklenmiş olduğunu ve bunun kallus oluşumuna teşvik edici olduğunu göstermişlerdir.

Bu tez çalışmasında *Campanula leblebicii* Yıldırım türünde BA konsantrasyonun kök oluşumunu teşvik ettiğini ama asıl önemli olan bitki büyüme düzenleyicisinin NAA olduğunu görmekteyiz. En iyi kök gelişiminin 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L BA olduğu en iyi ikinci gelişme gösteren ortamın da 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L GA₃ konsantrasyonuna sahip ortamlarda olduğu görülmektedir. Bu durumda *C. leblebicii* Yıldırım için asıl önemli olanın 0,3 mg/L NAA konsantrasyonun olduğunu söyleyebiliriz.

Karimiani ve Serek' in 2018 yılında süs bitkisi için yetiştirilen *C. portenschlagiana* ve *C. carpatica* türleri üzerinde çalışma yapmışlardır. Çalışmada uygun eksplantların bulunup eksplantlardan sürgün geliştirme üzerinedir. Sürgün rejenerasyonu için kullanılan eksplantlar 3 ay boyunca doku kültürü ile çoğaltılan bitkilerin yaprak sapları ve olgunlaşmış sera bitkilerinin yaprak saplarıdır. Çalışma sonucunda NAA (0.5, 1.0 ve 2.0 mg L⁻¹) ve TDZ (1.0, 2.0, 3.0 ve 5.0 mg L⁻¹) konsantrasyonlarında en iyi sürgünü olgunlaşmış sera bitkilerinin yaprak saplarında gözlemlediklerini belirtmişlerdir.

Bu tez çalışmasında da doğal yayılış gösterdikleri alandan alınan bitkilerin yaprak ve yaprak sapı eksplantları kullanılmıştır. En iyi sürgün oluşumları yaprak sapı eksplantlarında 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L BA konsantrasyonunda görülmüştür.

Sriskandarajah ve arkadaşları 2008 yılında *Campanula carpatica*, *C. haylodgensis*, *C. portenschlagiana* ve *C. poscharskyana* türleri üzerinde çalışma yapmışlardır. Karanlık ortamda büyütülen yaprak sapı eksplantlarından sürgünlerin elde ettiklerini belirtmişlerdir. Karanlık ortamda gelişen ve besiyeri ile birlikte geliştirilen *in vitro* rejenerasyon protokolünün olumlu etkilerini göstermişlerdir. Sürgünlerin gelişim gösterdiği en etkili MS besiyerinin 10 mg/l TDZ ve 0.25 mg/l NAA konsantrasyonunu içeren ortamlar olduğunu belirlemişlerdir.

Bu tez çalışmasında ise ilk 4 hafta boyunca karanlıkta kalan yaprak ve yaprak sapı eksplantlarından yaklaşık tüm ortamlarda kallus gelişimi görülmüştür. Kallus gelişiminin yanında ve kallus gelişimine oranla daha az sürgün gelişimi de görülmektedir. Grafik 4.2.'de de görüldüğü üzere en iyi sürgünler 0,3 mg/L NAA ve 1 mg/L BA konsantrasyonlardaki ortamlarda görülmektedir. Sriskandarajah ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmadan farklı olarak TDZ yerine ZEA ve BA kullanmamızın sürgün gelişimini olumlu etkilediği görülmektedir.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, *C. leblebicii* Yıldırım türünün *in vitro* koşullarda üretimi ve oluşan kallus, sürgün, kök ve sonunda çimlenmenin gözlemlenmesi ve aklimatizasyon işlemi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, *C. leblebicii* Yıldırım türünün bitki biyoteknolojisi yöntemlerinin uygulandığı en kapsamlı çalışmadır. Çalışmadan elde edilen sonuçların özetleri aşağıda maddeler halinde verilmiştir.

- Yapılan yüzey sterilizasyon yöntemi denemelerinden, *C. leblebicii* Yıldırım türünden alınan eksplantlarına %70'lik EtOH içerisinde bekletilmesi ve steril saf su yıkanma işlemi sonrasında %30' luk NaOCl' de 15 dk boyunca muamele edilmesinin en etkili yüzey sterilizasyonu yöntemi olduğu belirlenmiştir.
- *C. leblebicii* Yıldırım 'dan alınan eksplantlarından kallus, sürgün ve kök oluşması için en etkili MS besi ortamının 0,3 mg/L NAA + 1 mg/L BA olduğu belirlenmiştir.
- Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre sitokininlerden BA ve ZEA'nın, oksinlerden NAA'nın sürgün ve kök oluşumunda daha etkili olduğu belirlenmiştir.
- Çalışmada elde edilen sonuçlara göre giberellinin çimlenmede etkili olduğu gözlemlenmiştir.
- Çimlenen eksplantların aklimatizasyon aşamasında uygun ortamların sağlanamaması sonucu başarılı bir sonuç alınamamıştır.

7. ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, *Campanula leblebicii* Yıldırım türünün yaprak ve yaprak sapı eksplantları kullanılarak *in vitro* koşullarda başarıyla köklendirilmiş ve çimlendirilmiştir. Aklimatizasyon aşamasından sonra bitki başarılı şekilde yetiştirilememiştir. Daha sonraki çalışmalarda aynı protokol takip edildikten sonra aklimatizasyon şartlarının uygunluğu sağlanabilir ve daha sağlıklı bitkiler yetiştirilebilir. Ayrıca bu çalışmada yaprak ve yaprak sapı eksplantları kullanılmıştır. Daha sonra yapılacak çalışmalarda farklı eksplantlar ve teknikler kullanılabilir. Yapılacak olan bu çalışmalardan elde edilecek farklı sonuçlar ile bu çalışmasından elde

edilen sonuçlar karşılaştırıldığında, bu türlerin *in vitro* koşullarda çimlendirilme protokolleri oluşturulabilir.

Campanula leblebicii Yıldırım bitkisinin alınacak eksplantlardan kallus kültürleri oluşturulabilir ve bu kallus kültürleri üzerinden haploidizasyon, somatik emriyogenesis veya organogenezle çok sayıda fide oluşturma çalışmaları denenebilir.

In vitro koşullarda çimlendirilip toprak koşullarına adaptasyonu başarılı şekilde gerçekleştirilirse *C. leblebicii* Yıldırım türünün ekonomik değeri süs bitkisi olarak kazandırılabilir.



KAYNAKLAR DİZİNİ

Alçitepe, E., 2005, Türkiye’de yayılış gösteren *Campanula* L. cinsine ait *Quinqueloculares* (Boiss.) Phitos (*Campanulaceae*) seksiyonu türleri üzerinde morfolojik, anatomik ve palinolojik bir çalışma, Doktora Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Alçitepe, E., 2010, Studies on seed morphology of *Campanula* L. section *Quinqueloculares* (Boiss.) Phitos (*Campanulaceae*) in Turkey. Pakistan Journal of Botany 42: 1075-1082.

Alçitepe E., 2011, New combinations in *Campanula* Sect. *Quinqueloculares* from Turkey. *Pak J Bot* 4: 2243–2254.

Alçitepe, E., Everest, A. and Sungur, MA., 2011, Some soil parameters in *Campanula* species (sect. *Quinqueloculares*) from Mediterranean climate areas in Turkey. African Journal of Agricultural Research 6(7)/1735-1743.

Alçitepe, E. and Yıldız, K., 2010, Taxonomy of *Campanula tomentosa* Lam. and *C. vardariana* Bocquet from Turkey, *Turk J Bot*, 34: 231-240.

Agud, E. M., 2014, *Campanula rotundifolia* L specie endangered with extinction, conserved through in vitro techniques. Analele Universității din Oradea, Fascicula: Protecția Mediului, 23, 565-576.

Airo, M., Savona, M., Mascarello, C., De Benedetti, L., Nicoletti, F., Casazza, G., ..B. Ruffoni, Minuto, L., 2009, Analysis of in vitro performances and genetic variability of several *Campanula sabatia* populations in Italy. In IV International Symposium on Breeding Research on Medicinal and Aromatic Plants-ISBMAP2009 860 (pp. 109-112).

Aytaç, Z. and Duman, H., 2013, A new species and 2 new records from Turkey. *Turk. J. Bot.*, 37:1055-1060.

Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., 2001, Bitki Biyoteknolojisi Doku Kültürü ve Uygulamaları. Konya: Sel-ün Yayınları

Brandt, K., 1992, Micropropagation of *Campanula isophylla* Moretti. Plant cell, tissue and organ culture, 29(1), 31-36.

Brandt, K., 1994, Variation among and within clones in formation of roots and shoots during micropropagation of *Campanula isophylla*. Plant cell, tissue and organ culture, 39(1), 63-68.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Brandt, K., Ishimaru, K., 1998, *Campanula* (bellflower) species: in vitro culture, micropropagation, and the production of anthocyanins, polyacetylenes, and other secondary metabolites. In Medicinal and Aromatic Plants X (pp. 45-66).

Borsch T., Korotkova N., Raus T., Lobin W. and Lohne C., 2009, The petD group II intron as a species level marker: utility for tree inference and species identification in the diverse genus *Campanula* (*Campanulaceae*). *Willdenowia* 39: 7–33.

Damboldt, J., 1965, Zytotaxonomische Revision der isophyllen Campanulaceae in Europa. *Bot Jahrb Syst* 84: 302–358 (in German).

Davis, P.H., Mill, R.R and Tan, K., 1988, Flora of Turkey and East Aegean Island, Vol. 10 (Suppl.1), Edinburgh University Press. Edinburgh.

Erdağ, B., Emek. Y., 2005a., In vitro adventitious shoot regeneration of *Liquidambar orientalis* Miller. *Journal of Biological Sciences*, 5(6): 805-808.

Erdağ, B., Emek Y., 2005b., In vitro micropropagation of *Anthemis xylopoda* O. Schwarz. acritically endangered species from Turkey. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8 (5): 691-695.

Frello, S., Stummann, B. M., and Serek, M., 2002, Shoot regeneration of *Campanula carpatica* Jacq.(*Campanulaceae*) via callus phase. *Scientia horticulturae*, 93(1), 85-90.

Ghayoor Karimiani, Z., Gehl, C., & Serek, M., 2018, The establishment of effective regeneration system and in vitro culture of *Campanula*. In *XXX International Horticultural Congress IHC2018: II International Symposium on Micropropagation and In Vitro Techniques* 1285 (pp. 9-14).

Gostin, I., & Oprea, A., 2013, Anatomical investigations on endemic *Campanula romanica* Savul. and their ecological significance. *Bangladesh Journal of Botany*, 42(1), 139-144.

Grigoriadou, K., Krigas, N., and Maloupa, E., 2014, GIS-facilitated ex situ conservation of the rare Greek endemic *Campanula incurva* Aucher: Seed germination requirements and effect of growth regulators on in vitro proliferation and rooting. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 148(6), 1169-1177.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Güner, A., Ozhatay, N., Ekim, T., and Başer K.H.C.** 2000, Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol. 11 (Suppl.2), Edinburgh University Press. Edinburgh
- Joung, Y. H., Liao, M. S., Roh, M. S., Kamo, K., and Song, J. S.,** 2002, In vitro propagation of *Campanula glomerata*, 'Acaulis' from leaf blade explants. *Scientia horticulturae*, 92(2), 137- 146.
- J. W. Kadereit and C. Jeffrey.,** 2007, The Families and Genera of Vascular Plants, Springer, Berlin, 645p
- Kim, G. H., Kim, Z. H., Jeong, B. R., and Chung, J. I.,** 2004, Callus induction and shoot regeneration in *Campanula* species and their F1 hybrids in vitro. In *Vitro Cellular & Developmental Biology*, 40, 54A.
- Khansari, E., Zarre, S., Alizadeh, K., Attar, F., Aghabeigi, F. and Salmaki, Y.,** 2012, Pollen morphology of *Campanula* (*Campanulaceae*) and allied genera in Iran with special focus on its systematic implication. *Flora* 207: 203–211.
- Kolomiets, T. M., Malyarovskaya, V. I., and Samarina, L. S.,** 2016, In vitro Conservation of *Campanula sclerophylla* Kolak. *Endemic Endangered Species of Western Caucasus. Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 26(2), 143-149.
- Kovačić, S.,** 2004, The genus *Campanula* L.(*Campanulaceae*) in Croatia, circum-Adriatic and west Balkan region. *Acta Botanica Croatica*, 63(2), 171-202.
- Kovanda, M.,** 1970, Polyploidy and variation in the *Campanula rotundifolia* complex. Part 1, (General). *Rozpr Ces Akad Ved* 80: 1–95s.
- Kuss, P., Ægisdóttir, H. H., & Stöcklin, J.,** 2007, The biological flora of Central Europe: *Campanula thyrsoides* L. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 9(1), 37-51.
- Lammers, T.G.,** 2007, World checklist and bibliography of *Campanulaceae*, Kew Royal Botanic Gardens.
- Menemen, Y., Aytaç, Z. and Kandemir, A.,** 2013, Türkçe bilimsel bitki adları yönergesi. *Bağbahçe Dergisi* 47: 28–31. [in Turkish].
- Mørk, E. K., Sriskandarajah, S., & Serek, M.,** 2004, Investigation on Regeneration From Seedling Tissues of *Campanula carpatica* a *carpatica*. In *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society* (Vol. 54, p. 326).
- Murashige, T., and Skoog, F.,** 1962, A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiol. plant*, 15(3), 473-497.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mutlu, B. and Karakuş, Ş., 2015, A new species of *Campanula* (Campanulaceae), from Turkey, Phytotaxa, 234(3):287-28.

Park, J., Kovacic, S., Liber, Z., Eddie, W.M.M. and Schneeweiss, G.M., 2006, Phylogeny and biogeography of isophyllous species of *Campanula* (Campanulaceae) in the Mediterranean Area. Syst Bot 31: 862–880pp.

Paunescu, A., 2010, In vitro propagation of *Campanula polymorpha* Witas-an endemic plant of Carpathian Mountains. An Univ Oradea Fasc Biol, 17(2), 235-238.

Röper, A. C., Lütken, H., Christensen, B., Boutilier, K., Petersen, K. K., and Müller, R., 2015, Production of interspecific *Campanula* hybrids by ovule culture: exploring the effect of ovule isolation time. Euphytica, 203(3), 643-657.

Sathyanarayana Bn, and Varghese Db., 2007, Plant tissue culture: Practices and new experimental protocols. I. K. International. pp. 106.

Seglie, L., Scariot, V., Larcher, F., and Chiavazza, P., 2008, In vitro seed germination and propagation in *Campanula* spp. Italus Hortus, 16(2), 80-83.

Seglie, L., Scariot, V., Larcher, F., Devecchi, M., and Chiavazza, P. M., 2012, In vitro seed germination and seedling propagation in *Campanula* spp. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology, 146(1), 15-23.

Springer, Berlin, Heidelberg. Contandriopoulos, J., 1984, Differentiation and evolution of the genus *Campanula* in the Mediterranean region. In: Grant, W.F. (Ed.) Plant biosystematics. Academic Press, Ontario, pp. 140–175.

Sivanesan, I., Lim, M. Y., and Jeong, B. R., 2011, Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf and petiole explants of *Campanula punctata* Lam. var. Rubriflora Makino. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 107(2), 365-369.

Sriskandarajah, S., Frello, S., and Serek, M., 2001, Induction of adventitious shoots in vitro in *Campanula carpatica*. Plant cell, tissue and organ culture, 67(3), 295-298.

Sriskandarajah, S., Mibus, H., Serek, M., 2008, Regeneration and transformation in adult plants of *Campanula* species. Plant cell reports, 27(11), 1713-1720.

Sugiyama, M., 1999, Organogenesis in vitro. *Current opinion in plant biology*, 2(1), 61-64.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Wolella Ek, 2017, Surface sterilization and in vitro propagation of *Prunus domestica* L. cv. Stanley using axillary buds as explants. Journal of Biotech Research, 8:18-26 yetişen bademlerin (*Prunus amygdalus l.*) seleksiyonu. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı (doktora tezi, basılmamış), Van, 240s.

Yıldırım, H., 2013, *Campanula mugeana* sp. nov. (*Campanulaceae*), a new from western Anatolia, Turkey, Nordic J. Bot., 31:419-425.

Yıldırım, H. and Şenol, S. G. 2014, *Campanula alisan-kilincii* sp. nov. (*Campanulaceae*), a new species from eastern Anatolia, Turkey, Turk J. Bot., 38:22-30.

Yıldırım, H., 2018, *Campanula leblebicii* (*Campanulaceae*), a new chasmophyte species from western Turkey, Phytotaxa, 376:114-122.

Yıldırım, H., Şentürk, O., Özdöl, T. and Pirhan, A. F., 2019, A new bellflower *Campanula phitosiana* sp. nov. (*Campanulaceae*) from Western Anatolia, Turkey, Phytotaxa, 399(1): 025- 036.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca desteklerini ve bilgilerini esirgemeyerek yol gösteren değerli danışman hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Ademi Fahri PİRHAN ve Dr. Öğr. Üyesi Başar SEVİNDİK' e, hep yanımda olan bana her türlü desteği veren tüm arkadaşlarıma ve Ege Üniversitesi Botanik ve Herbaryum Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanlarına teşekkür ederim.



ÖZGEÇMİŞ

İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara’da tamamladı. 2015 yılında Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimine başladı ve 2019 yılında mezun oldu. 2019 yılında Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Botanik Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

