

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HYPERICUM L. CİNSİNDE (BİNBİRDELİK OTU)
DOKU KÜLTÜRÜNE MANYETİK ALANIN ETKİSİ

Selim İŞLEKDEMİR

Biyoloji Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 23 Kasım 2009

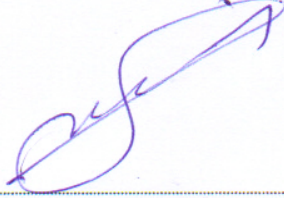
Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Sevil YALÇIN

ÇANAKKALE

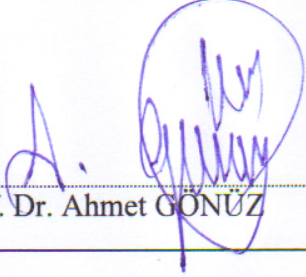
YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

Selim İŞLEKDEMİR, tarafından **Yard. Doç. Dr. Sevil YALÇIN** yönetiminde hazırlanan ***Hypericum L. Cinsinde (Binbirdelik Otu) Doku Kültürüne Manyetik Alanın Etkisi*** başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.



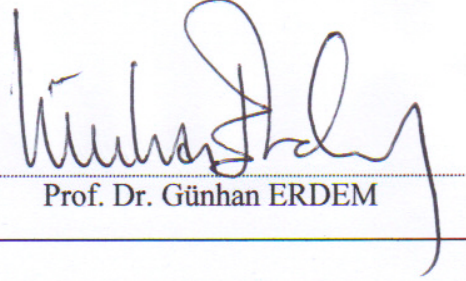
Yard. Doç. Dr. Sevil YALÇIN

Yönetici



Prof. Dr. Ahmet GÖNÜZ

Jüri Üyesi



Prof. Dr. Günhan ERDEM

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 23/11/2009

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Yüksek Lisans Tezi BAP tarafından 2009/64 no'lu projeden desteklenmiştir.

İTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında bana sabır ve özverisiyle her konuda destek olan danışman hocam Sayın Sevil YALÇIN' a;

Ziraat Fakóltesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden değerli hocam Dr. Bahri İZCİ;

Fen Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü'nden değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet GÖNÜZ, Doç. Dr. Cüneyt AKI, Yrd. Doç. Dr. Kemal Melih TAŐKIN ve Ar. Gör. Nursen ÇÖRDÜK;

İstanbul Üniversitesi Fen Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü'nde bana yardımcı dokunan tüm hocalarıma;

Her zaman yardımlarıyla ve kalpleriyle yanımda olan dostlarıma;

Bu günlere gelmemde her türlü fedakârlığı gösteren aileme ve bu yolda bana bir şekilde yardımcı dokunmuş herkese yürekten teşekkür ederim.

Selim İŞLEKDEMİR

Simgeler ve Kısaltmalar Listesi

% = Yüzde

2,4-D = 2,4 – Diklorofenoksiasetik Asit

AC = Alternatif Akım

atm = Atmosfer

BAP = 6-Benziladenopürin

C0 = Hypericum calycinum Kontrol Grubu

C1 = Hypericum calycinum 1 Kez Manyetik Alandan Geçen Grup

C3 = Hypericum calycinum 3 Kez Manyetik Alandan Geçen Grup

C5 = Hypericum calycinum 5 Kez Manyetik Alandan Geçen Grup

C9 = Hypericum calycinum 9 Kez Manyetik Alandan Geçen Grup

cm² = Santimetre Kare

DC = Doğru Akım

EMA = Elektro Manyetik Alan

EMA = Elektro Manyetik Alan

EMR = Elektro Manyetik Radyasyon

EtOH = Etil Alkol

g = Gram

HCl = Hidroklorik Asit

Hz = Herz

IAA = Indol Asetik Asit

LS = Linsmaier – Skoog Besi Yeri

m = Metre

MA = Manyetik Alan

mg = Mili Gram

ml = Mili Litre

mm = Mili Metre

mRNA = Haberci Ribonükleik Asit

MS = Murashige Skoog Besi Yeri

mT = Mili Tesla

NaOH = Sodyum Hidroksit

nm = Nano Metre

°C = Derece Santigrat

pH = Asitlik Derecesi

RNA = Ribonükleik Asit

sn = Saniye

T = Tesla

ÖZET

***HYPERICUM L.* CİNSİNDE (BİNBİRDELİK OTU) DOKU KÜLTÜRÜNE MANYETİK ALANIN ETKİSİ**

Selim İŞLEKDEMİR

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Sevil YALÇIN

Kasım 2009, Sayfa Sayısı: 57

Son yıllarda doğal tedavi yollarına, özellikle bitkisel tedaviye ilgi tüm dünyada artmıştır. Tıbbi bitkilere olan talep önemli bir gelir kaynağı oluşturmaktadır. *Hypericum perforatum* L. bitkisi, *Hypericaceae* familyasından olup Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika Birleşik Devletlerinde yetişen çok yıllık bir otsu bitkidir. Geleneksel tıpta antidepresan olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar *Hypericum calycinum* L. bitkisinin de *H. perforatum* L. ile aynı ve benzer bileşikleri içerdiğini göstermiştir.

Hypericum L. taksonları, ülser, diyabetik rahatsızlıklar, soğuk algınlıkları, mide, karaciğer ve safra rahatsızlıkları ile özellikle yanık yaralarının tedavisinde geçmişten günümüze kullanılmaktadır. *Hypericum* L. ekstraktlarının anti viral ve anti bakteriyel özellikleri bulunduğu çeşitli araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda gözlenmiştir.

Bu çalışmada *H. calycinum* L. bitkisinde Manyetik Alan (MA)'ın gövde ve yaprak eksplantlarından kallus oluşum frekansı, kallus taze ağırlığı ve hiperisin miktarları üzerine olan etkisini saptamak amaçlanmıştır.

Bu çalışma sonunda *H. calycinum* L. gövde ve yaprak eksplantlarına 0 (C0), 1 (C1), 3(C3), 5 (C5) ve 9 (C9) kez MA uygulanmıştır. Gövde eksplantlarından elde edilen kallusların oluşum frekansı C3 ve C5; yaprak eksplantlarından elde edilen kalluslarda C9

uygulamasında kontrole göre artışı gözlenmiştir. Gövde ve yaprak eksplantlarından elde edilen kalluslarda tüm MA uygulamalarında kontrole göre azalma saptanmıştır. Hiperisin miktarları gövde ve yaprak eksplantlarından elde edilen kalluslarda kontrole göre en yüksek değerin C3 uygulamasında gözlenmiş olup yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonunda, farklı manyetik alan şiddetlerinin hiperisin miktarı gövde ($P<0,01$) ve yaprak ($P<0,05$) üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur.

Anahtar Sözcükler: *Hypericum* L., Doku Kültürü, Manyetik Alan, Kallus, Taze Ağırlık, Hiperisin

ABSTRACTS

THE EFFECTS OF MAGNETIC FIELD ON THE TISSUE CULTURES OF *HYPERICUM L.*

Selim İŞLEKDEMİR

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Biology Thesis of Master of Science

Advisor: Yrd. Doç. Dr. Sevil YALÇIN

November 2009, Page Number: 57

In recent years, natural medical treatment ways, especially vegetal treatments are getting more interest all over the world. Demand on the medical plants are now an important source of income. *Hypericum perforatum* L. vegeats are from the *Hypericaceae* family which are grown as long lived herbs at Europe, Asia, North Africa and United States of America. It is used as antidepressant in traditional medics. Researchs show us that *Hypericum calycinum* L. herb has the same and similiar compounds in.

Taxons of *Hypericum* L. are commonly used as cure for ulcer, diabetes, flues, stomach, liver and bile diseases and especially burnt skin, from past to now. Also, it is seen by some researchers that extracts of *Hypericum* L. have antiviral and antibacterial effects.

This study aims to show the results of Magnetic Field (MF) on body and leaf explants about callus creation frequency, callus young weight and hypericin amount at *H. calycinum* L..

In this study, MF was applied 0 (C0), 1 (C1), 3(C3), 5 (C5) and 9 (C9) times to *H. calycinum* L. body and leaf explants. Callus creation frequencies at body do increase at C3 and C5, and for leaves, C9 has an increased frequency by well-controlled experiments. Callus amounts on both body and leaf explants are determined to be decreased at all MF applications. Hypericin amounts at calluses at body and leaf explants do reach its highest

amount at C3 application and due to statistical evaluations, effects of different quantities of Magnetic Field on hypericin amounts at body ($P<0,01$) and leaf ($P<0,05$) are found to be important.

Keywords: *Hypericum* L., Hypericin, Alcoloid, Tissue Culture, Magnetic Field, callus, fresh weight

İÇERİK	SAYFA
TEZ SINAVI SONUC BELGESİ.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	v
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	ix
BÖLÜM 1 – GİRİŞ.....	1
1.1. Hypericum L. Hakkında Genel Bilgi.....	1
1.2. Doku Kültürü Ve Manyetik Alan.....	4
BÖLÜM 2 - ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	7
2.1. Yapılan Çalışmalar.....	7
BÖLÜM 3 - 3. Materyal ve Yöntem.....	13
3.1. Deney Materyalinin Elde Edilmesi.....	13
3.2. Eksplantların Hazırlanması.....	13
3.3. Manyetik Alan Uygulaması	14
3.4. Doku Kültürü Ortamının Belirlenmesi	14
3.4.1. Doku Kültürü Ortamının Kurulması	15
3.4.2. Kültür Ortamının Hazırlanması.....	15
3.5. Farklı Manyetik Alan Şiddetleri Uygulanmış Eksplantların Kültür Ortamına Ekimi	15
3.6. Hiperisin Miktarının Saptanması	16
3.7. İstatistiksel Analizler	16
BÖLÜM 4 - 4. BULGULAR.....	17
4.1. Doku Kültürlerine Manyetik Alanın Etkisi	17

4.1.1. Manyetik Alanın <i>H. calycinum</i> L. Bitkisine Ait Gövde Eksplantların dan Kallus Oluşum Frekansı Üzerine Etkisi.....	17
4.1.2. Manyetik Alanın <i>H. calycinum</i> L. Bitkisine Ait Yaprak Eksplantların dan Kallus Oluşum Frekansı Üzerine Etkisi	19
4.1.3. Manyetik Alanın <i>H. calycinum</i> L. Bitkisine Ait Gövde Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Taze Ağırlıkları Üzerine Etkisi ..	20
4.1.4. Manyetik Alanın <i>H. calycinum</i> L. Bitkisine Ait Yaprak Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Taze Ağırlıkları Üzerine Etkisi .	21
4.1.5. Manyetik Alanın <i>H. calycinum</i> L. Bitkisine Ait Gövde Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Hiperisin Miktarına Etkisi	22
4.1.6. Manyetik Alanın <i>H. calycinum</i> L. Bitkisine Ait Yaprak Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Hiperisin Miktarlarına Etkisi	24
BÖLÜM 5 –TARTIŞMA VE SONUÇ.....	26
KAYNAKLAR.....	33
Tablolar Dizini.....	I
Şekiller Dizini.....	II
Özgeçmiş.....	III

BÖLÜM 1**1.GİRİŞ****1.1. Hypericum L. Hakkında Genel Bilgi**

Ülkemiz, bitki genetik zenginliği bakımından dünyada önemli bir yere sahiptir. Bu bitki zenginliği içerisinde tıbbi ve aromatik bitkilerin ayrı bir yeri bulunmaktadır.

Türkiye’de yaklaşık 9000 bitki türü bulunmakta olup, bunlardan binin üzerinde tür tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Arslan ve ark., 2002).

Binbirdelikotu (*Hypericum L.*), tıbbi bitki olarak kullanılan türlerden biri olup, iç piyasa da pazarlanmakta ve ihracatı yapılmaktadır. Son yıllarda kültürü ile ilgili bazı gelişmeler olmakla beraber, büyük ölçüde drogluk materyal doğal ortamlardan toplanmaktadır.

Dünyada 400 kadar türle temsil edilen *Clusiaceae* (*Hypericaceae=Guttiferae* familyasına bağlı *Hypericum L.* ülkemizde, Binbirdelik otu, Sarı kantaron, Kan otu, Yara otu, Kuzukıran, Mayasıl otu, Kılıç otu ve Püren gibi yöresel adlarla bilinen şifalı bir bitkidir. Türkiye’de 84 türü bulunan Binbirdelik otu, Marmara, Karadeniz, Ege, Orta ve Doğu Anadolu, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yayılış göstermektedir (Baytop, 1999; Kaçar, 2004).

Bitki 25-60 cm boyunda olup, çok dallıdır ve sapsarı ayrı olduğu halde bir şemsiye biçimindeki çiçekleri 5 parçalı, korolla altın sarısı renkli ve kenarları siyah renkli guddeli tüyler ile çevrilidir. Erkek organları çok adette ve 3 demet halinde bir araya toplanmıştır. Yapraklar ışığa karşı tutulduğunda, yağ guddeleri (salgı cepleri), parlak noktacıklar halinde kolaylıkla görülür (Baytop, 1972, 1999).



Şekil 1.1.1. *H. calycinum* L. genel görünüşü ((a))

<http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/goz/photo/regular/hiperi3.jpg>

Yurdumuz *Hypericum* türleri bakımından önemli bir gen merkezidir. *Hypericum* türleri içerisinde tıbbi amaçlı kullanımı en yaygın olan *H. perforatum* L.' dur (Şekil 1.1.1.)

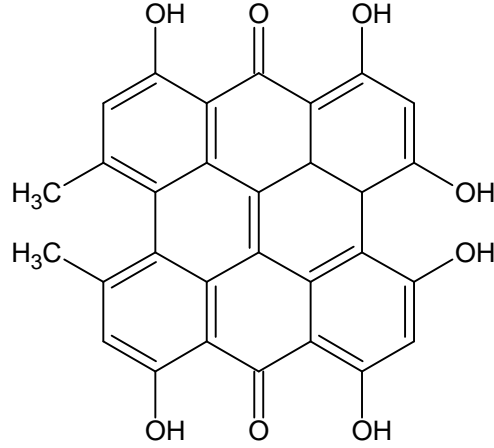
Bu türün anti depresan (Wentworth ve ark., 2000; Oztürk, 1997), anti viral, anti bakterial (Meral ve Karabay, 2002; Keleş ve ark. 2001), kanser (Cooper, 2006; Ali ve ark., 2001), yara ve yanıklarda iyileştirici etkileri vardır (Neves ve ark., 2009; Vollmer ve Rosenson, 2004).

H. perforatum L. ile aynı cins olan *H. calycinum* benzer kimyasalları içermekte olup *H. perforatum*' a iyi bir alternatif oluşturmaktadır (Erken ve ark., 2001; Gönüz ve ark., 2007).

Hypericum L. yapısında çok sayıda biyolojik aktif kimyasal gruplar tespit edilmiştir. Bunlardan en önemlileri naftodiantronlar (hiperisin, psödohiperisin, protohiperisin v.b.); flavonoidler (kamferol, kersetin, luteolin, hiperin, hiperosid v.b.); floroglusinoller (hiperforin, furohiperforin v.b.) ve esansiyel yağlardır. Hiperisin ve hiperforin, *Hypericum* L.' in gösterdiği klinik etkilerin çoğundan sorumlu olup üzerinde en çok çalışılan bileşenleridir. *Hypericum perforatum* L.' de çiçeklerin ve yaprakların çevresinde gözle açıkça görülebilen siyah oval noktacıklar *Hypericum perforatum* L. için karakteristiktir. Bu

oval noktacıklar (salgı cepleri), hiperisin toplama ve özel flavonoid moleküllerini içeren kısımlardır (Baytop, 1972, 1999; Kaçar 2004).

Hiperisin, *Hypericum perforatum* L.' dan elde edilen bilinen en güçlü fotosensitif doğal pigmenttir (Şekil 1.1.2.).



Şekil 1.1.2. Hiperisin' in moleküler yapısı (Lenard ve ark., 1993)

Bugün *Hypericum* bitkisi ekstraktları daha çok hafif ve orta şiddetteki depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. Ağız yoluyla verilen fotosensitif özellikteki hiperisin' in, deri fototoksitesine yol açmadığı ve yapılan çeşitli klinik çalışmalar sonucunda bilinen sentetik antidepresanlar kadar etkili olduğunu göstermektedir (Hışıl, 2005).

Hiperisinin, yapılan klinik çalışmalar sonucunda EMT-6 fare meme kanseri hücrelerinde mitokondrial fonksiyonları baskıladığı, insan glioma hücreleri üzerinde de toksik etkisini mitokondrial fonksiyonları bozarak gösterdiği ortaya konmuştur. AY-27 sıçan mesane karsinoma hücrelerinde sitotoksitesini apoptozis ile gösterirken HL-60 insan lösemi hücrelerinde apoptozisten nekrozise kadar değişen bir spektrumda etkisi görülmüştür. Hiperisinin HL-60 lösemik hücrelerinde belirgin bir sitotoksititeye neden olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur. Kemirgenler üzerinde gerçekleştirilen *in-vivo* tümör çalışmalarında, *Hypericum* ekstraktları ve Hiperisin ile umut verici sonuçlar elde edilmiştir (Hışıl, 2005).

Hiperikum ile yapılan çalışmalar sonunda; hiperikum ekstratları ve içeriğinde yoğun olarak bulunan hiperisinin geniş anti-tümöral ve anti-depresan etkinlik gösterdiği; yine Sökmen' in (2001) yaptığı bir çalışmada da *Hypericum capitatum* hücre kültürlerinden elde edilen bir özütte HIV-I' e karşı zayıf bir anti-retroviral etkisi olduğu saptanmıştır.

1.2.Doku Kültürü ve Manyetik Alan

Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları=eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir.

Bitkilerde vejetatif yolla çoğaltım kök sürgünleri, aşı, çelik gibi yollarla yapılabilir. Ancak son yıllarda bitki doku kültürü teknikleri kullanılarak yapılan in vitro mikro çoğaltma yöntemleri ile generatif ve vejetatif olarak çoğaltılmasında zorluk çekilen bitkiler, kısır hibrid bitkiler, somatik hibrid bitkiler kolaylıkla çoğaltılabilmektedir (Alikamanoğlu, 1999).

Bitkilerin doğrudan rejenerasyonu meristematik doku eksplantlarından kolaylıkla oluşabilir. Meristem, sürekli olarak bölünebilme yeteneğine sahip hücrelerin oluşturduğu dokulardır (Önder, 1999). Bu nedenle in vitro çalışmalarda özellikle kök uçları, genç yapraklar, nodlar, olgun embriyolar eksplant olarak kullanılır (Rao, 1996, İpekçi, 2001).

Bitki doku kültürü teknikleri meristem kültürleri, kallus kültürleri, haploid kültürler, süspansiyon kültürleri, protoplast kültürleri kurulabilir ve bitkilerin vejetatif olarak çoğaltılması, genetik yapının korunması ve somaklonal varyasyonlardan başka bir ifade ile in vitro koşullarda kültür ortamında spontan olarak meydana gelen mutasyondan yararlanılarak yeni varyetelerin geliştirilmesi sağlanabilir (Alikamanoğlu, 1999).

Son yıllarda özellikle yüksek ekonomik ve tıbbi değere sahip bitkilerin hızlı bir şekilde geliştirilmesinde ve kısa zamanda daha çok ürün elde edilmesinde, doku kültürü tekniklerinin yanında yapay olarak oluşturulan MA bitkilere uygulanmaktadır.

MA hareketli ve elektrik yüklü zerrecilerin, güç etkisinde kaldığı boşluk olup atomların içindeki elektronların çekirdek etrafında ve kendi etraflarında dönmeleri sonucu oluşur. MA doğrudan gözle görülemeyen veya kolayca hissedilemeyen fakat sonuçları görülebilen veya hissedilebilen bir olgudur.

Dünya atmosferine düşen göktaşlarının insanlara zarar vermesini önleyen atmosfer içindeki gazlardır. Dünya atmosferine giren göktaşı sürtünmeden dolayı yanarak parçalanmaktadır. Atmosfer içindeki gazlar yanında dünya atmosferinin koruyucu tabakalarından biri de dünyayı saran MA dır. Yeryüzünün MA' ı dünyanın çekirdeğinin

sahip olduğu özellikler nedeniyle oluşmaktadır. Dünya küre şeklinde bir mıknatıs gibidir. Dolayısıyla etrafında bir MA oluşturmaktadır. Dünya'nın MA' 1, dünyanın dönme eksenine 11 derecelik bir açı yapar. Bu 11 derecelik açı nedeniyle coğrafik kuzey ve güney kutupları ile manyetik kuzey ve güney kutupları farklıdır. Ayrıca dünya'nın MA' 1 vektörel bir büyüklüktür. Bir noktadaki MA bu vektörün yönü ve şiddetiyle bağlantılıdır. Dünya çekirdeği, demir ve nikel gibi manyetik özelliği olan ağır elementleri içerir. Dünya çekirdeği 2 kısımdan oluşmakta olup iç çekirdek katı, dış çekirdek ise sıvı haldedir. İç çekirdeğin etrafında hareket eden dış çekirdeğin bu hareketi mıknatıslanma etkisi yaparak MA oluşturur.

İnsanlar doğada var olan iç ve dış MA yanında kendi ürettikleri cep telefonları, elektrikli ev cihazları ve yüksek gerilim hatları gibi MA kirliliği etkisi altındadırlar. MA oluşturan cihazlar hayatımızın bir parçası haline gelmiş bulunmaktadır (Bold, 2003).

Günlük yaşantımızda kullandığımız çeşitli taşıtlar ve elektrikli ev aletleri de manyetik alan oluşturan ortamlardır (Aksoy, 2006). Elektrik ve manyetik alanın biyolojik organizmalar üzerinde oluşturduğu etkilerin çeşitliliği hem hücrelerde, hem de organizmalar üzerinde yapılan araştırmalar sonucunda incelenmiştir (Goodman ve ark., 1995; Şeker ve Çerezci, 2000; Şeker ve Korkut, 2005).

Yapay olarak oluşturulan MA' ın canlı sistemlere nasıl etki ettiği tam anlamıyla anlaşılmasına karşın, MA' ın canlıların normal fonksiyonları üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Hücre seviyesinde yapılan çalışmalarda G₁ fazında RNA ve protein sentezinin, MA şiddet değişikliklerinden etkilendiği ve MA' a maruz kalan hücrelerde, hücre bölünme hızında bir artış olduğu bildirilmiştir (Negishi ve ark., 1999; Muraji ve ark., 1998).

MA' ın bitki gelişimi üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar ilk defa Ssawostin (1930) tarafından yapılmıştır. Ssawostin MA' ın etkisine bağlı olarak buğday fidelerinin boylarında % 100 bir artış olduğunu saptamıştır (Mericle ve ark., 1964). Yine MA' la yapılan çalışmalarda ayçiçeği, tahıl ve soya gibi çeşitli bitkilerde verimin MA' dan olumlu bir şekilde etkilendiği saptanmıştır (Bosica 1990; E –Ws ve ark., 1995; Phirke ve ark., 1996).

Son 20-25 yıl içerisinde bilimsel çevreler tarafından giderek daha fazla ilgi çekmeye başlayan manyetik alan (MA) ve elektromanyetik alan (EMA) birbirleriyle ilintili

olaylardır. Elektrik ve manyetik alanlar herhangi bir elektrikli, aleti çevreleyen görünmez kuvvet çizgileridir. Dünyadaki fırtınalar ve diğer atmosferik olaylar elektrik alanı oluştururlar. Dünya aslında statik (durağan) alanlar oluşturur ve çok derinde bulunan çekirdek kısmında akan elektrik akımlarının MA' lar ürettikleri düşünülmektedir.

MA veya EMA biyolojik sistemler ile etkileştiğinde bitkilerin normal fonksiyonları üzerinde meydana gelen etkilerin değerlendirilmesi zordur. Bunun temel nedenlerinden başlıcaları, biyolojik sistemlerin çok karmaşık yapılı olmalarıdır. Yapılan çalışmalar sonucunda 10^{-3} - 10^{-2} T' lık (Tesla) bir manyetik alan dizisinin, ara ürünlerin elektron dönüşlerini etkilemesiyle kimyasal reaksiyonların etkilendiğini ve bu etkilerin biyolojik bir takım sonuçlara yol açmak için bir potansiyele sahip olduğu ileri sürülmektedir (Belyavskaya ve ark.; Formicheva ve ark., b; Grundler ve ark., 1992). Elektriksel veya MA' ların etkilerine ilişkin birçok deney, hem karmaşık yapılı hem de basit yapılı canlılar üzerinde gerçekleştirilmiştir (Oldacay Yalçın, 2002; Dardeniz, 2007; Özdiç, 2008).

Bu araştırmaya; *Hypericum calycinum* L. türüne ait farklı manyetik alan şiddetleri uygulanmış gövde ve yapraklardan kurulan kültürlerde, kallus oluşum frekanslarına, kallus taze ağırlıkları gibi büyüme ve gelişme parametrelerine ayrıca *Hypericum*' un içerdiği önemli bir madde olan hiperisin miktarındaki değişimler üzerine manyetik alanın etkisini belirlemek amacıyla başlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Yapılan Çalışmalar

Ülkemizde yöresel olarak Binbirdelik otu, Kantaron, Kan otu, Kılıç otu, Mayasıl otu, Yara otu, Kuzu kıran ve İngilizcede St. John's wort adıyla bilinen *Hypericum L.*, Avrupa, Asya, Kuzey Afrika ve Amerika Birleşik Devletlerinde yetişen çok yıllık bir bitkidir. Geleneksel tıpta antidepresan amaçlı tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Bayram ve ark., 2004; Nia ve Bayram, 2005).

Çeşitli klinik çalışmalar göstermiştir ki, kantaron bilinen sentetik antidepresanlar kadar etkilidir. Hafif ve orta şiddetteki depresyon tedavisinde kantaron'un ekstraktlarının kullanımı üzerinde çeşitli çalışmalarda mevcuttur (Bombardelli ve Morazzoni, 1995; Linde ve ark., 1996).

Yapılan bir başka çalışmada Hiperforin' in taze kantaron otunda %2-4 konsantrasyonda bulunduğu ve havaya maruz kaldığında kararsız hale geldiği gösterilmiştir. Aynı çalışmada Hiperisin' in piridin ve diğer organik bazlarda kırmızı renkli fluoresans özellikli çözelti verecek şekilde çözündüğü, alkali sulu çözücülerde de çözündüğü ve pH 11,5' un altında çözeltilerde kırmızı, pH 11,5' un üzerinde ise yeşil renk gösterdiği (kırmızı fluoresans) saptanmıştır (Hışıl ve ark., 2005).

Hiperisin'in yine insan servikal karsinoma HeLa ve fare T hücre hibridoma serilerinde mitokondrial sitokrom C' nin sitozole salınmasını uyararak apoptozis ile sitotoksiste oluşturduğu gözlenmiştir (Hopfner, 2003).

Hwang ve ark. (2001) yaptıkları bir çalışmada U-937 insan histiyositik lenfoma hücrelerinde hiperisinin diferansiyasyon-apoptozis etkinliğini bulmuşlardır.

Zobayed ve ark. (2003) balon tipi bir bioreaktörde ilaç yapımında kullanılan önemli biomoleküllerden hiperforinin üretiminin artırılmasında ortamdaki sukroz ve CO miktarının etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Dünya literatüründe St. John's wort olarak bilinen kantaron (*Hypericum perforatum L.*) günümüzde depresyon tedavisinde de yaygın olarak kullanılan çok yıllık bir tıbbi bitkidir. In vitro şartlarda *Hypericum L.* ile yapılan bir çalışmada, yaprak diskleri ve gövde segmentleri kinetin, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (0,5, 1 ve 1,5 mg l⁻¹) ve sukroz (30, 40

ve 50 g l-1) içeren Murashige & Skoog ortamlarında, karanlık şartlarda ve $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ de sekiz hafta boyunca kültüre alınmıştır. Bitki büyüme düzenleyicileri içeren bütün ortamlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Ancak, kallus oluşum sıklığı bakımından en yüksek değerler 30 g l⁻¹sukroz, 0,5 mg l⁻¹ 2,4-D ve 0,5 mg l⁻¹ kinetin içeren MS ortamından elde edilmiştir. Elde edilen kalluslar sürgün oluşumu için 1 mg l⁻¹ benzyladenine; kök oluşumu için ise 1 mg l⁻¹ indolacetic acid içeren MS ortamlarında alt kültüre alınmışlardır. Kallus başına sürgün sayısı ve hiperisin içeriği bu sürgünlerde araştırılmış, yaprak disklerinden gelişen kallusların oluşturduğu rejenerantlarda bu değerler daha yüksek olup sırasıyla 19 sürgün/kallus ve % 0,048 olarak tespit edilmiştir (Ayan ve ark., 2005).

EMA ve MA değişimlerinin, biyolojik sistemler üzerindeki etkileri biyoloji, tıp ve tarım ile uğraşan birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. Özellikle son yıllarda, dünyada birçok bilim adamı manyetik alanın canlılar üzerindeki olumsuz etkilerinin yanında, olumlu biyolojik etkileri üzerinde de araştırmalara başlamıştır. Yapılan denemeler sonucunda elde edilen verilere göre, manyetik alanın organizmaların canlılık aktivitelerinde bazı değişimlere neden olduğu saptanmıştır. Manyetik alanın tarım alanına yönelik çeşitli uygulamaları sonucunda Rusya'da pamuk ve tahıl veriminde artış sağladığı gözlenmiş (Akhmedova ve ark., 1985); Romanya'da mısır ve buğdayda büyümeyi teşvik ettiği bulunmuş (Bosica ve Zeri, 1990); Hindistan'da yerfıstığının büyümesinde ve veriminde artış sağlamış (Vakharia ve ark., 1991); Corica papaya türünde polen oluşumunu ve tüp gelişimini hızlandırdığı tespit edilmiş (Alexander ve Ganeshan, 1990) ve Japonya'da çileklerin yaprak sayı ve alanları ile çilek veriminde artış sağladığı saptanmıştır (Matsuda ve ark., 1993). Çeşitli manyetik alan uygulamalarının tohum çimlenmesi, ürün verimi, solunum oranı, sıcaklık kaybı, tohumdaki kimyasal değişiklikler ve fide gelişim parametreleri üzerine etkileri araştırma konusu olmuştur.

Yapılan bir çalışmada, 50-60 örstedlik manyetik alan şiddetine maruz bırakılan %7,3 ve %9,6 'lık nem oranlarına sahip soya tohumlarından gelişen fidelerin %9,6 nem oranında daha olumlu etkisine rastlanmıştır (Atak, 1996).

Carbonell ve ark. (2000) pirinç (*Oryza sativa* L.) bitkisi ile yaptıkları MA çalışmasında pirinç tohumlarına farklı şiddetlerde kısa ve uzun süreli MA uygulamışlar ve 24. saatte en iyi çimlenme yüzdesinin kontrol grubunda % 3, 150 mT' lık MA' a sürekli maruz bırakılan tohumlarda % 13 olduğunu, 48. saatte ise bu değerlerin kontrol grubunda % 72, manyet grubunda ise % 90'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Daha sonraki saatlerde

zamana bağı olarak kontrol ile MA' a maruz bırakılan tohumlar arasında çimlenme yüzdesi bakımından farkların azaldığı bildirilmiştir.

Lahana ile yapılan bir çalışmada ise 0,5 mT şiddetinde EMA uygulandığında bitkilerin çimlenme oranlarında kontrole göre % 20 artış olduğu saptanmıştır (Namba ve Sasao, 1995).

Yine yapılan bir başka çalışmada yerfıstığı tohumları 10 mT MA şiddetine maruz bırakıldıklarında çimlenme oranlarında kontrole göre % 17,6'lık bir olduğu artış saptanmıştır (Vakharia ve ark. 1991).

Majd ve ark. (2009) *Brassica nupus* L. tohumlarına üçer tekerrürlü olmak üzere, 30, 60 ve 90 dakika sürelerle 3,7-4,7 mT DC ve 2,7-3,5 mT AC manyetik alana maruz bırakmışlardır. Sonuç olarak manyetik alan uygulamalarının tohum çimlenmesi üzerine önemli bir etkisi olmadığını gözlemişlerdir. Ancak kök uzaması bakımından DC manyetik alanın AC manyetik alana göre daha etkili olduğunu gözlemişlerdir. Hipokotillerin büyümesinde 2,7 mT (AC) uygulamasının tüm zamanlarında artış gözlemişlerdir. Ancak DC ve AC manyetik alanın en yüksek dozu olan 3,7 mT uygulamalarında hipokotillerde %10 ile %40 arasında büyümede inhibisyon gözlenmiştir. 4,5 mT uygulanmış tohumlarda, MA uygulanmamış tohumlara oranla yan köklerde %25 artış gözlemişlerdir.

Charchoglyan ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada, *Hypericum perforatum* L. Sürgün kültüründe Hiperforin'in polifreniletid aşilfloroglisinol grubundan üç türevini bulmuşlardır. Bu bileşiklerin birikimi seko-hiperforinlerin oluşumu için morfogenez kültürlerin önemli bir özelliğidir. Seko-hiperforinin yapısı LC-DAD, -MS, ve -NMR ile doğrudan açıklanmıştır. Çoklu sürgün kültürlerinde, hiperforinden seko-hiperforin oluşumu fitohormon olan N⁶-benzilaminopurin (BAP) ve naftalin-1-asetik asit (NAA) 'den güçlü bir şekilde etkilenmektedir. BAP 'ın artan oranları hiperforin düzeyini uyardığı ve NAA 'nın düzeyindeki artış ise seko-hiperforin düzeyini arttırdığı saptanmıştır.

Vashisth ve Nagarajan (2009) yaptıkları çalışmada Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) üzerine yaptıkları çalışmada tohumlara 0, 250 mT' ve 50 mT' lik adımlarla ve 1' den 4 'e kadar 1 saatlik adımlarla MA uygulamışlardır. Çimlenme hızı, uzama hızı ve kuru ağırlıkları üzerine MA'ın etkisi araştırılmıştır. En yüksek manyetik alan etkisi 50 ve 250 mT da ve 2 saat maruz bırakılan tohumlarda tespit edilmiştir. Tohumların manyetik alana maruz kalmasının tohum zarı bütünlüğünü değiştirdiğini ve hücrel iletim ve

geçirgenliğini azalttığını saptanmıştır. Bir aylık fideler de istatistiksel olarak daha yüksek kuru ağırlık, kök yüzey alanı, kök uzunluğu ve sayısına ulaştığı bulunmuştur. Çimlenen tohumlarda kontrole göre α -amilaz, dehidrogenaz ve proteinaz aktivitesi daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, manyetik alanın etkisiyle ortaya çıkan yüksek enzimatik aktivite sayesinde tohumların hızlı çimlendiğini ve daha çabuk geliştiğini göstermişlerdir.

Rakosy-Tican ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada *Solanum tuberosum* (Kültür patatesi), *Solanum chacoense*, *S. microdontum*, ve *S. verrucosum* kallus kültürleri kullanmışlardır. Kültürleri farklı sürelerde manyetik alana maruz bırakmışlardır... Elde edilen fidelerde yaş ağırlık, sürgün sayısı, sürgün boyu, klorofil (a ve b) ve karoten miktarlarını üzerine kontrol grubuna göre MA' ın olumlu bir etkisinin olduğu saptanmıştır.

Pietruszewski ve ark. (2007) elektromanyetik alan (EMF) ve elektromanyetik radyasyonun (EMR) bitki gelişiminde fizyolojik ve sitolojik etkilerini araştırmışlardır. Manyetik uyarının tohumlar üzerinde pozitif etkisinin olduğunu saptamışlardır. Yapılan analizler sonunda EMF ve EMR' nun ekim öncesi uygulamalarında çimlenme yüzdesi, büyüme hızı ve çimlenme oranı üzerine pozitif etkisi olabileceğini ve bunun düşük çimlenme kapasitesine sahip tohumlar için önemli bir parametre olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Ayçiçeği, soya, buğday gibi çeşitli bitkilerde yapılan çalışmalarda MA' ın, tohumların kontrole göre çimlenme yüzdelerinde ve çimlenme sürelerinin kısalmasında olumlu bir etkisinin olduğu saptanmıştır (Lebedev ve ark., 1975; Gubbels, 1982; Atak ve ark., 2000).

Aladjadiyan ve Yielva (2002) manyetik alanla yaptıkları bir başka çalışmada tütün bitkisinde manyetik alanın tohum çimlenme yüzdesinde artışa yol açtığını bulmuşlardır.

Manyetik alana maruz bırakılan buğday tohumlarında tohumların çimlenmesinde ve çimlenme sırasında bitkilerin besin ihtiyacını karşılamada önemli bir role sahip olan alfa amilaz, beta amilaz ve glutation S-transferaz enzimlerin miktarlarında değişimler olduğunu saptamıştır (Rochalska ve Grabowska, 2007).

Belyavskaya (2004) yaptığı bir çalışmada, farklı bitki türlerinin zayıf manyetik alanın ilk kökün büyümesini engellediğini ortaya koymuştur.

Dardeniz ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada düşük frekanslı EMA'nın (0,15 mT) *Cardinal* üzüm çeşitlerinde köklenme ve vejetatif gelişim parametreleri üzerine olumlu etkileri olduğunu bulmuşlardır.

Manyetik alanın doku kültürlerindeki etkilerinin belirlenmesi bu konuda yapılacak çalışmalara yardımcı olacaktır. Bu amaçla yapılan bir çalışmada J-357 soya çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. Soya tohumları steril koşullarda çimlendirilmiş ve sürgün ucu kültürleri kurulmuştur. Petri kutuları içerisindeki eksplantlar 2,9 – 4,6 mT'lık manyetik alandan 2,2, 6,6 ve 19,8 saniyelik sürelerde geçirilmiştir. Kontrol ve manyetik alana maruz bırakılan eksplantlardan rejenere olan sürgün sayıları, kök oluşumları, yaş ağırlık ve klorofil miktarları belirlenmiştir. Sürgün oluşumu kontrol grubunda %61,91 iken bu oran tüm manyetik alan uygulamalarında artmış ve 2,2 ve 6,6 saniyelik sürelerde manyetik alana maruz bırakılan eksplantlarda sırasıyla % 86,96 ve % 74,36'ya yükselmiştir. Yine kök oluşum yüzdesi kontrolde % 14,29 iken aynı sürelerde manyetik alandan geçirilenlerde bu oran sırasıyla % 26,08 ve % 35,90'a yükselmiştir. Rejenere olan bitkilerin yaş ağırlıkları belirlenmiş ve 6,6 sn süre için manyetik alan uygulanan eksplantlardan rejenere olan fidelerde yaş ağırlıkları kontrole göre önemli olarak artmıştır. Manyetik alanın klorofil miktarları üzerine etkileri belirlenmiş ve 2,2 sn süreyle manyetten geçirilenlerde klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarlarında bir artış saptanmıştır (Atak, 2003).

Criveanu ve Taralunga (2006) yaptıkları çalışmada *Mentha x piperita*, *Mentha spicata*, *Mentha villosa*, *Calendula officinalis* eksplantlarının ekildiği besiyerlerine 0,4 x10⁻⁴T, 3x10⁻⁴T ve 0 T manyetik alan uygulamışlardır. Sonrasında kallus oluşum frekansı ve büyüme miktarlarını ölçmüşlerdir. En yüksek kallus oluşum frekansı ve büyüme miktarları 3x10⁻⁴T uygulanmış bitki kalluslarında saptanmıştır. Ancak *Calendula officinalis* bitkisinin büyüme miktarı ise kontrolde en yüksek seviyede saptanmıştır.

Yapılan bir çalışmada *H. calycinum* L. bitkisini katı LS besiyerine ekilip doku kültürü tekniği ile kallus oluşturulmuş ve sonra bunları sıvı LS besiyerine aktararak hücre kültürü elde edilmiştir. Sonuçta kültür ortamındaki hücrelerin Hiperisin üretebildikleri gösterilmiştir (Klingauf ve ark., 2005; Boubakir ve ark., 2005).

Santarem ve Artista (2003) yaptıkları çalışmada *Hypericum perforatum* L. en uygun yetiştirme ortamı sağlanarak, in vitro şartlarda ve doğal ortamda yetiştirilen bitkilerin Hiperisin madde miktarlarını karşılaştırmışlardır. Hiperisin miktarı analizleri sonucunda, in

vitro koşullarda ve doğal ortamlarda yetiştirilen bitkilerin sürgün ve yapraklarındaki Hiperisin miktarları arasında bir fark olmadığı saptanmıştır.

Yaycılı ve Alikamanoğlu (2005), *Paulownia tomentosa* ve *Paulownia fortunei* bitkileri ile yaptıkları bir çalışmada, bitki tohumlarını 2,9-4,8 mT ve 1 m s⁻¹ hızla ve 2,2, 6,6 ve 19,8 saniye sürelerle geçirip doku kültürüne almışlardır. 28 günün sonunda bitki yaş ağırlık, yükseklik, yaprak sayısı ve klorofil miktarlarını karşılaştırıp her 3 uygulamanın da kontrole göre MA uygulanan örneklerde daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Soya doku kültüründe yapılan bir çalışmada, manyetik alanın soya doku kültüründe peroksidaz aktiviteleri araştırılmıştır. Sürgün örnekleri petri kaplarına konarak 2,2 ve 19,8 saniye periodluk manyetik alanlarda 2,9 - 4,6 mT' lık MA akı yoğunluğundaki magnetlerin bulunduğu bir düzenekte maruz bırakılmıştır. Elde edilen sürgünlerin sürgün ve kök değişim oranı, net ağırlıklar, klorofil miktarları, toplam RNA konsantrasyonları ve peroksidaz aktiviteleri, kontrol ve denek sürgün örnekleri ele alınmıştır.

Sürgün formasyon oranı kontrol grubunda 28,57 iken, bu oran 2,2 ve 19,9 saniye manyetik bağlı olarak 94,33 ve 78,18 değerlerine yükseliş göstermiştir. Yine aynı periyotlar da uygulanan MA' a göre kök formasyonları kontrollerde % 4,76 iken bu oran deney grubunda % 47,17 ve % 54,54 oranlarına yükselmiştir. Net ağırlıklar ise, deney grubu, kontrollere göre daha ağır oldukları saptanmıştır. Klorofil a ve Klorofil b ve toplam klorofil içerikleri kontrollerle karşılaştırıldığında, 2,2 saniye periyotlu MA uygulanan gruplarda % 21, % 13 ve % 18 oranlarında daha yüksek olarak görülmüştür.

Peroksidaz aktiviteleri tüm manyetik alan uygulamalarında kontrole göre artış göstermiştir. Fidelerin toplam RNA konsantrasyonları da kontrollere göre büyük oranda artış olduğu bulunmuştur. 2,2 s periodlu manyetik alana maruz bırakılan sürgün örneklerindeki rejenerasyon ve bitki büyümesi, kontrollere göre artış göstermiştir (Atak, 2007).

Yapılan çalışmalar *Hypericum calycinum* L. hücre kültüründe Hiperisin' in homologu olan Hiperforin iskeletinin üretilebileceğini göstermiştir (Klingauf ve ark., 2005; Boubakir ve ark., 2005).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. DeneY Materyalinin Elde Edilmesi

Bu çalışmada *Hypericum* türü olan *Hypericum calycinum* L. gövde ve yaprakları kullanılmıştır.

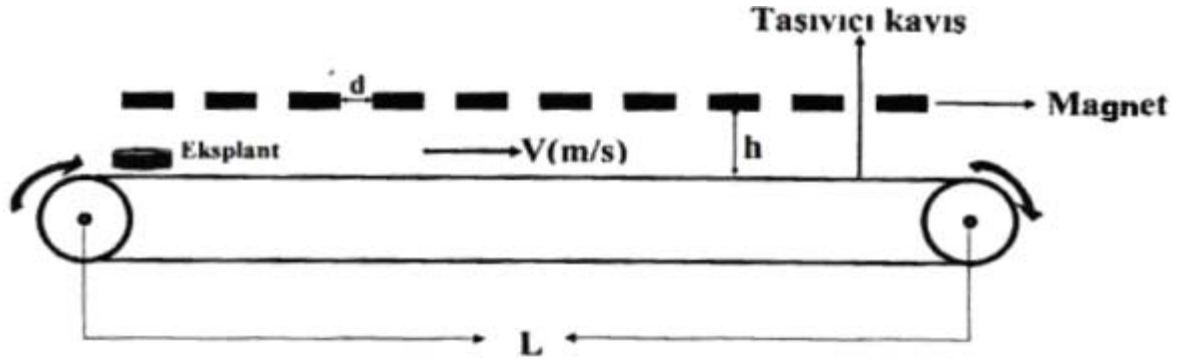
DeneY materyali Eylül 2008 ve Eylül 2009 tarihlerinde Çanakkale'nin Bayramiç İlçesine bağlı Ayazma bölgesinden taze olarak toplanmıştır. Bitkilerin teşhisi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden Prof. Dr. Ahmet GÖNÜZ tarafından yapılmıştır.

3.2. Eksplantların Hazırlanması

Farklı Manyetik alan şiddetleri uygulanacak olan *Hypericum calycinum* L. eksplant gruplarını oluşturabilmek için önce bitkilerdeki genç yapraklar ve gövdeler toplanarak, uygulanacak MA şiddetlerine göre etiketlenmiş temiz polietilen poşetlere yerleştirilmiştir.

3.3. Manyetik Alan Uygulaması

Manyetik alan uygulamaları için Onsekiz Mart Üniversitesi Eğitim Fakültesinde bulunan manyetik alan düzeneği kullanılmıştır (Şekil 3.3.1). En uygun manyetik alan şiddetlerini belirlemek amacıyla *H. calycinum* L. bitkisinin en üstteki genç yapraklar ve taze gövdeler toplanıp etiketlenmiş torbalara aktarılmıştır. Materyaller, $h = 0,025$ m' lik bir magnet yüksekliğinde, 3,8 - 4,8 mT 'lık bir manyetik akı yoğunluğunda magnetlerin oluşturduğu ve 1m/sn 'lük hıza sahip bir hareketli bir banttın oluşan bir düzeneden genç yapraklar ve taze gövdeler ayrı ayrı gruplar halinde, Kontrol, 1 kez , 3 kez , 5 kez ve 9 kez olacak şekilde MA dan geçirildi (Gaul, 1977; Yalçın, 1992). Materyaller oda sıcaklığında, saat 12:00-13:00 arasında manyetik alandan geçirilerek soğuk zincir içerisinde ekim kabinine taşınmıştır.



$L = 1,2$ m (Taşıyıcı kayış uzunluğu)

$h = 0,025$ m (Örnek ile magnetler arası uzaklık)

$d = 0,15$ m (Magnetler arası uzaklık)

$n = 10$ (Magnet sayısı)

$v = 1$ m/s (Manyetik alandan geçiş hızı)

Şekil 3.3.1. Manyetik alan düzeneği

3.4. Doku Kültürü Ortamının Belirlenmesi

Farklı manyetik alan uygulaması yapılan *H. calycinum* L. eksplantlarının kallus oluşumu için ihtiyaç duydukları optimum besiyeri koşullarının belirlenmesi için 8 g l^{-1} Agar-Agar, 30 g l^{-1} sukroz ve $4,43 \text{ g l}^{-1}$ MS' e ek olarak aşağıdaki hormon kombinasyonları denenmiştir.

- 1- 1 g l^{-1} Kinetin
- 2- 1 g l^{-1} 2,4-D
- 3- 1 g l^{-1} BAP
- 4- 1 g l^{-1} IAA
- 5- $0,5 \text{ g l}^{-1}$ Kinetin + $0,5 \text{ g l}^{-1}$ 2,4-D
- 6- $0,5 \text{ g l}^{-1}$ Kinetin + $0,5 \text{ g l}^{-1}$ BAP
- 7- $0,5 \text{ g l}^{-1}$ 2,4-D + $0,5 \text{ g l}^{-1}$ BAP
- 8- Hormon Yok

Bu seçenekler içinde en iyi sonuç 5 numaralı uygulamadan elde edilmiş olup çalışmada bu besiyeri kullanılmıştır (Pretto ve Santarem, 2000; Yayıncı, 2003; Erkara ve Tokur, 2004; Ayan, 2005).

3.4.1. Doku Kültürü Ortamının Kurulması

Doku kültürü ortamının kurulmasında, kallus oluşumu için gereken optimum koşullar dikkate alınarak çalışılmıştır. Bunun için 8 g l⁻¹ Agar-Agar, 30 g l⁻¹ sukroz, 0,5 mg l⁻¹ 2,4-D ve 0,5 mg l⁻¹ kinetin içeren MS besi yeri kullanılmıştır (Ayan ve ark., 2005).

3.4.2. Kültür Ortamının Hazırlanması

0,5 mg 2,4-D 3ml EtOH + 2ml saf su içerisinde, ısıtıcılı manyetik karıştırıcı yardımıyla çözüldü. 0,5 mg Kinetin 3ml ve 1 Normal NaOH çözeltisi + 2 ml saf su içerisinde çözüldü. 1 Litrelik beher içerisinde 700 ml saf su konularak içerisinde 4,43 g MS, 30 g Sukroz ve 8 g Agar-Agar çözüldü. Büyüme düzenleyici çözeltileri besiyerine eklendi. Besi yeri saf su ile 1000 ml' ye tamamlandı. pH 1 Normal HCl çözeltisi titre edilerek 5,8' e düşürüldü. Hazırlanan besiyeri ağzı hafif aralık bırakılmış cam şişe ile 20 dakika, 1 atm basınçta otoklavlandı. Otoklav sonrası şişe oda ısısına düşünce steril kabin içerisinde, yine otoklav ile sterilize edilmiş 30 petriye pay edildi ve soğumaya bırakıldı (Ayan ve ark., 2005)

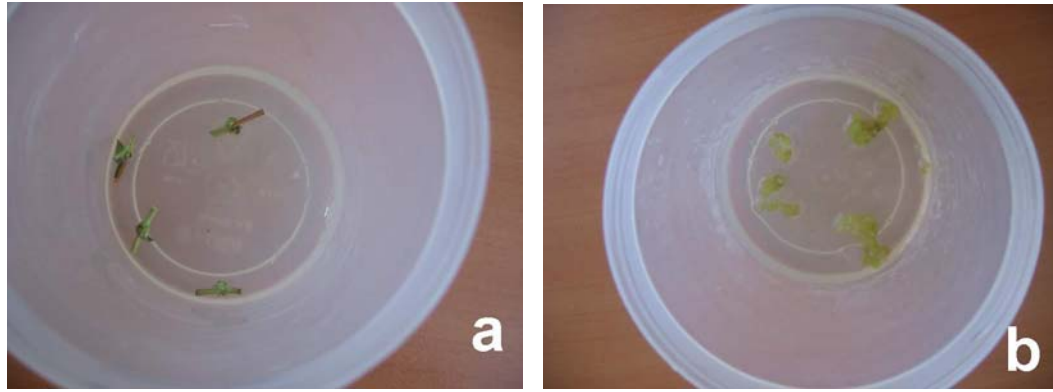
3.5. Farklı Manyetik Alan Şiddetleri Uygulanmış Eksplantların Kültür Ortamına Ekimi

Farklı manyetik alan şiddetleri uygulanan materyaller soğuk zincir aracılığı ile uygun kültür ortamına ekimi için bir saatten daha kısa bir sürede laboratuara ulaştırıldı.

Soğuk zincir içerisinde laboratuara taşınan gövde ve yapraklar burada her grup ayrı ayrı % 20 sodyumhipoklorit (Kokusuz ve katkısız ticari çamaşır suyu) + % 0,05 Twin 20 içeren çözeltide 20 dakika, % 70 lik Etil alkolde 1 dakika sterilize edildi. Sterilizasyonu engelleyici hava kabarcıklarının ortamdaki uzaklaştırılması için aralıklarla steril pens ile karıştırıldı. Bu işlemlerin sonunda beherlerin dış yüzeyleri % 70 lik etanol ile sterilize edilerek steril kabine aktarıldılar. Yapraktan 0,5 cm²'lik ve gövdeden 15mm'lik eksplantlar alındı. Bu parçalar her petride 4 eksplant ve her grup için 3 tekerrür (Petri) olmak üzere kültür ortamına (8 g l⁻¹ Agar-Agar, 30 g l⁻¹ sukroz, 0,5 mg l⁻¹ 2,4-D ve 0,5 mg l⁻¹ kinetin içeren MS) ekim yapıldı (Ayan ve ark., 2005; Yayıncı, 2003).

Yaprakların dışa bakan kenar kısımları kesilerek, gövde eksplantları da kesik uçları besi yerine temas edecek şekilde yerleştirilerek yara oluşumu sağlandı (Ayan ve ark., 2005).

Eksplantlar 5 hafta 26 ± 2 °C ve karanlık gün periyoduna sahip büyüme kabine yerleştirildi (Şekil 3.5.1.).



Şekil 3.5.1. Eksplantların besiyerine ekimi (a), 5 hafta sonra kallus oluşan kalluslar (b)

3.6. Hiperisin Miktarının Saptanması

Kontrol ve manyetik alan uygulanan gövde ve yaprak eksplantlarının besiyerine ekimi sonrasında eksplantlardan yetiştirilen kalluslar 5 haftanın sonunda saf su ile temizlenip yaş ağırlıkları ölçüldü. 50 mg örnek 10 ml kloroform içeren şişelere konulup homojenize edildi. Son işlemde örnekler 13000 x g ile 10 dakika santrifüj edildi. Renksiz süpernatant pipetle alındı ve metanol ile değiştirildi. Örnekler 40°C lik su banyosunda 18 saat homojenize edildi. Santrifüjden sonra 1 ml süpernatant test tüpüne alındı. 590 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri saptandı. Hiperisin formülünde yerine konularak (%) hiperisin miktarları hesaplandı (Ayan ve ark., 2005).

$$\% \text{ Hiperisin (mg)} = \frac{A.590}{718} \times \frac{1}{(\text{gram}) \text{ örnek} / 100 \text{ ml}} \times 100$$

3.7. İstatistiksel Analizler

Kontrol ve MA' a maruz bırakılan gövde ve yaprak eksplantlarından oluşan 5 haftalık kallusların tartılan taze ağırlıklarının ve Hiperisin miktarlarının istatistiksel değerlendirilmeleri, TOTEMSTAT paket programında varyans analizine ve Duncan çoklu testine göre yapıldı. (Düzgüneş, 1987; Sumbüloğlu, 2000)

4. BULGULAR

Tüm çalışmalar, Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü ve Eğitim Fakültesi laboratuvarlarında 2 yıl süreyle yürütülmüştür.

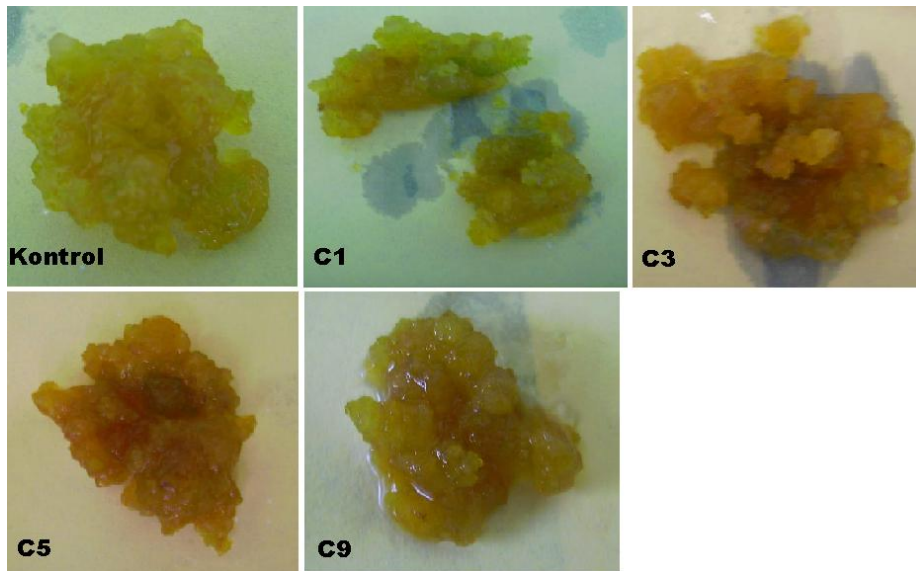
Bu çalışmada *H. calycinum* L. bitkisinden elde edilen gövde ve yapraklar Ağustos 2009 tarihinde 0, 1, 3, 5, 9 kez MA' dan geçirilip 5 hafta sonra oluşan kallusların, kallus oluşum yüzdesi, yaş ağırlığı ve hiperisin içeriği araştırılmıştır. Elde edilen veriler bu bölüm de irdelenmiştir.

4.1.Doku Kültürlerine Manyetik Alanın Etkisi

4.1.1. Manyetik Alanın *H. calycinum* L. Bitkisine Ait Gövde Eksplantlarından Kallus Oluşum Frekansı Üzerine Etkisi

Manyetik Alanın *H. calycinum* L doku kültürü üzerine etkisini saptamak amacı ile bu bitkiye ait gövdeler 3,8 - 4,8 mT 'lık manyetik akı yoğunluğundan sırasıyla 0, 1, 3, 5 ve 9 kez geçirilerek manyetik alan uygulamaları yapıldı.

Bu manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. gövdeler kültür ortamına ekimi yapılarak 5 hafta gözlemlendi ve manyetik alanın *H. calycinum* L. kallus kültürlerinin gelişimine olan etkisi saptandı (Şekil 4.1.1.).



Şekil 4.1.1.1. Kontrol ve farklı manyetik alan şiddetine maruz bırakılan *H. calycinum* L. Gövde eksplantlarından oluşan kalluslar (5.Hafta)

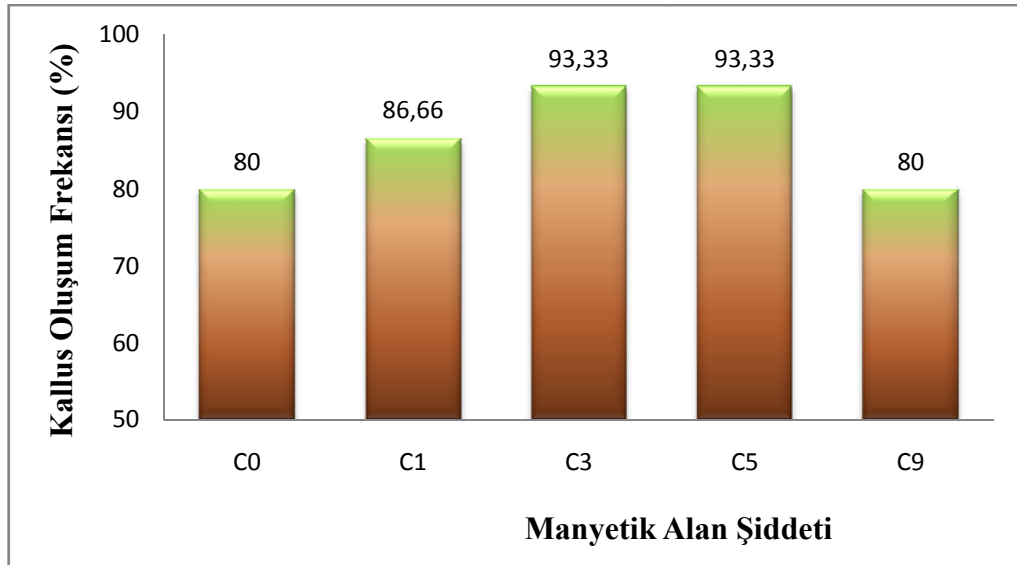
Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L gövde eksplantlarından kallus oluşum frekansı Çizelge 4.1.1.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.1.1. Kontrol ve farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L gövde eksplantlarından kallus oluşum frekansı (5. Hafta).

Uygulama	Kallus Oluşum Frekansı (%)
C0	80
C1	86.66
C3	93.33
C5	93.33
C9	80

Çizelgede de görüldüğü gibi 5.hafta sonunda manyetik alan şiddetine maruz bırakılmayan kontrol grubunda (C0), kallus oluşum yüzdesi % 80 iken manyetik alana maruz bırakılan C1 uygulamasında % 86,66' ya, C3 ve C5 uygulamalarında % 93,33' e yükseldiği, ancak C9 uygulamasında kontrole göre bir farklılık göstermediği saptandı.

Gözlemler sonucunda manyetik alanın, *H. calycinum* L. gövde eksplantlarından kurulan kültürlerde kallus oluşum yüzdesini C1, C3 ve C5 uygulamalarında kontrole göre artırdığı görülmektedir (Şekil 4.1.1.2)



Şekil 4.1.1.2. Manyetik alanın *H. calycinum* L.' un, gövde eksplantlarından kallus oluşum frekansı üzerine etkisi

4.1.2. Manyetik Alanın *H. calycinum* L. Bitkisine Ait Yaprak Eksplantlarından Kallus Oluşum Frekansı Üzerine Etkisi

Manyetik alanın *H. calycinum* L doku kültürü üzerine etkisini saptamak amacı ile aynı bitkiye ait yaprakları 3,8 – 4,8 mT manyetik akı yoğunluğundan sırasıyla 0, 1, 3, 5 ve 9 kez geçirilerek manyetik alana maruz bırakıldı.

Bu manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan ve kültüre alınan *H. calycinum* L yaprak eksplantları 5 hafta gözlemlendi ve manyetik alanın *H. calycinum* L. Kallus oluşum frekansına etkisi saptandı.

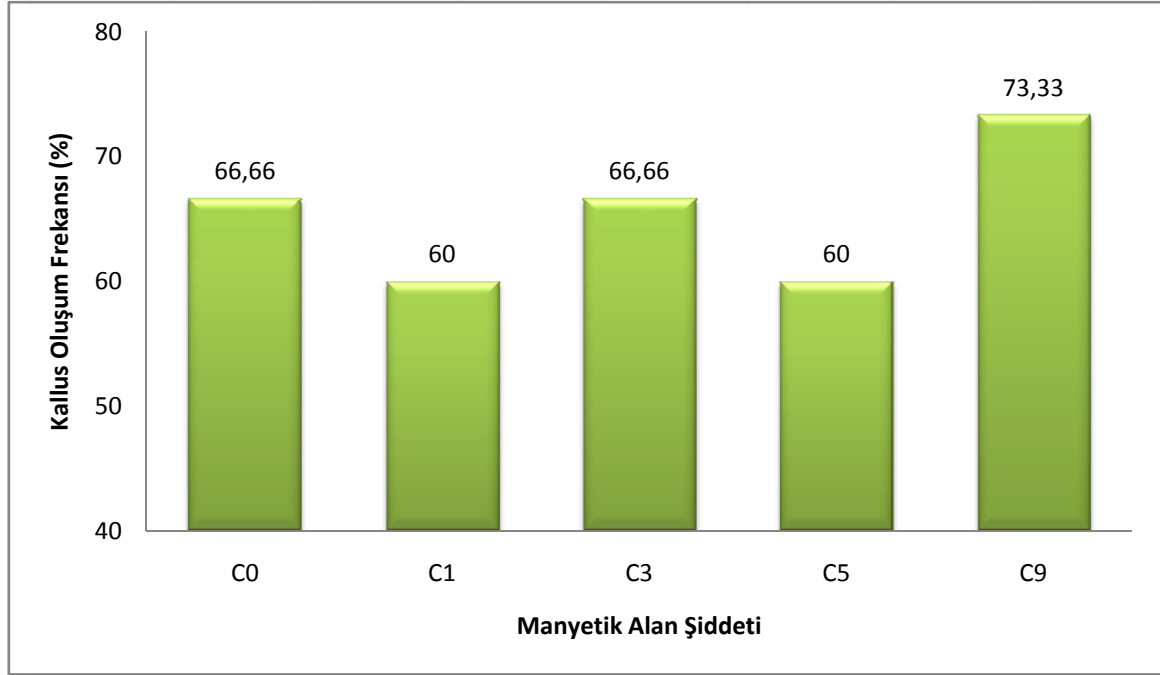
Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. yaprak eksplantlarından kallus oluşum frekansı Çizelge 4.1.2.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1.2.1 Kontrol ve farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. yaprak eksplantlarından kallus oluşum frekansı (5. Hafta).

Uygulama	Kallus Oluşum Frekansı (%)
C0	66,66
C1	60
C3	66,66
C5	60
C9	73,33

H. calycinum L. yapraklarına uygulanan farklı manyetik alan şiddetleri sonucu eksplantlardan oluşan kallusların yüzdesi, kontrol ve C3 uygulamalarında % 66,66 iken C1 ve C5 uygulamalarında % 60’a düşmüştür. Kallus oluşum frekansı kontrole göre C9 uygulamasında % 73,33 ‘e yükselmiştir.

Elde edilen bu sonuçlara göre, *H. calycinum* L. yaprak eksplantlarından kurulan kültürlerde kallus oluşum yüzdesinin C3 uygulamasında kontrole yaklaştığı ancak C9 uygulamasında kontrole göre artırdığı saptandı (Şekil 4.1.2.1).



Şekil 4.1.2.1. Manyetik alanın *H. calycinum* L.' un yaprak eksplantlarından elde edilmiş kallusların oluşum frekansı üzerine etkisi

4.1.3. Manyetik Alanın *H. calycinum* L. Bitkisine Ait Gövde Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Taze Ağırlıkları Üzerine Etkisi

H. calycinum L. bitkisine ait gövdeler kontrol ve farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılmış ve kurulan eksplant kültürlerinde 5.hafta sonunda oluşan kallusların ortalama taze ağırlıkları Çizelge 4.1.3.1 ve Şekil 4.1.3.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.1.3.1. Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. gövde eksplantlarından elde edilen kallusların taze ağırlıkları (5. Hafta).

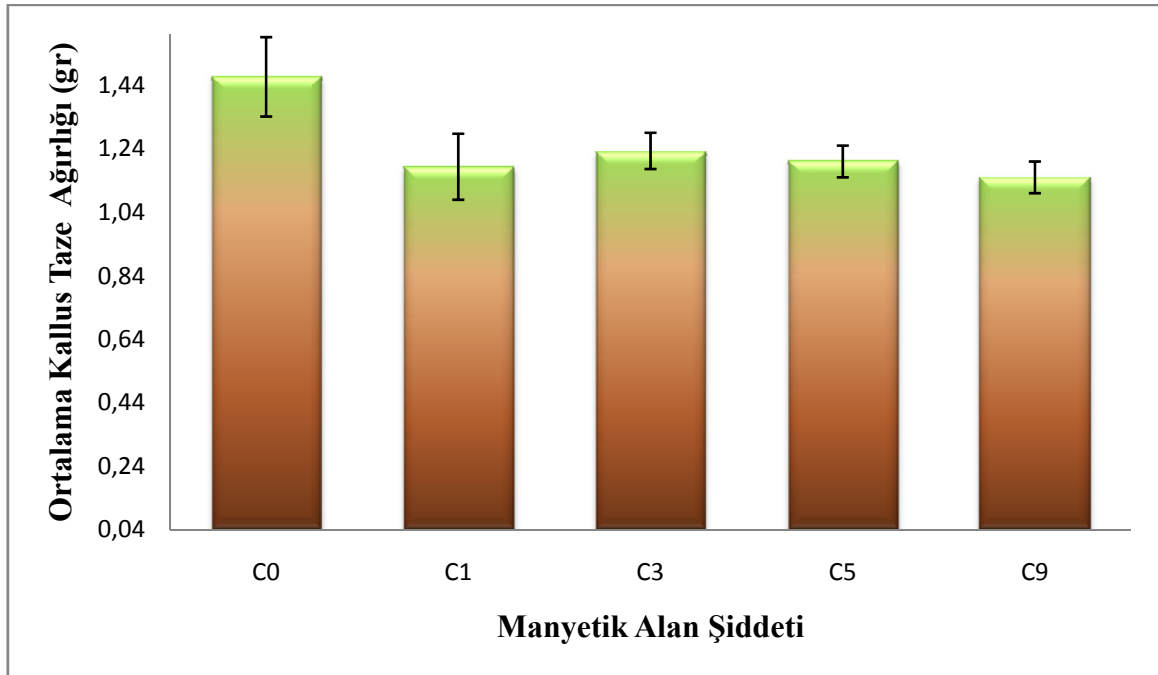
Uygulama	Kallus Taze Ağırlığı (gr)
C0	1,466±0,125 a*
C1	1,183±0,104 b
C3	1,233±0,057 b
C5	1,200±0,05 b
C9	1,150±0,05 b

*Aynı harfle gösterilmeyenler, kontrol ve uygulanan tüm manyetik alan şiddetlerinde kallus taze ağırlık ortalamaları arasındaki farkların; Duncan çoklu testine göre 0,05 seviyesinde önemli olduğunu göstermektedir.

± standart sapma

Çizelgede göüldüğü gibi 5. hafta sonunda kontrol grubunda oluşan kallusların taze ağırlığı 1,466 g' dır. Bu değeri C1 uygulamasında 1,183 g, C3 uygulamasında 1,233 g, C5 uygulamasında 1,200 g ve C9 uygulamasında 1,150 g' lık azalış göstermiştir.

Gövde eksplantlarından elde edilen kallusların yaş ağırlıklarının, MA' ın tüm uygulamalarında (C1, C3, C5, C9), kontrole göre (C0) azalmanın saptanması, farklı manyetik alan şiddetlerinden etkilendiğini göstermektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonunda, farklı manyetik alan şiddetlerinin kontrole göre kallus taze ağırlığı üzerindeki azaltıcı etkisi önemli bulunmuştur ($P<0,05$).



Şekil 4.1.3.1. Manyetik alanın *H. calycinum* L.' un gövde eksplantlarının, kallus taze ağırlığı üzerine etkisi

4.1.4. Manyetik Alanın *H. calycinum* L. Bitkisine Ait Yaprak Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Taze Ağırlıkları Üzerine Etkisi

Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. bitkisine ait gövdelerden kurulan eksplant kültürlerinden elde edilen kontrol ve muamele gruplarına ait kallusların ortalama taze ağırlıkları Çizelge 4.1.4.1 ve Şekil 4.1.4.1 'de verilmiştir.

Çizelge 4.1.4.1 Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların taze ağırlıkları (5. Hafta).

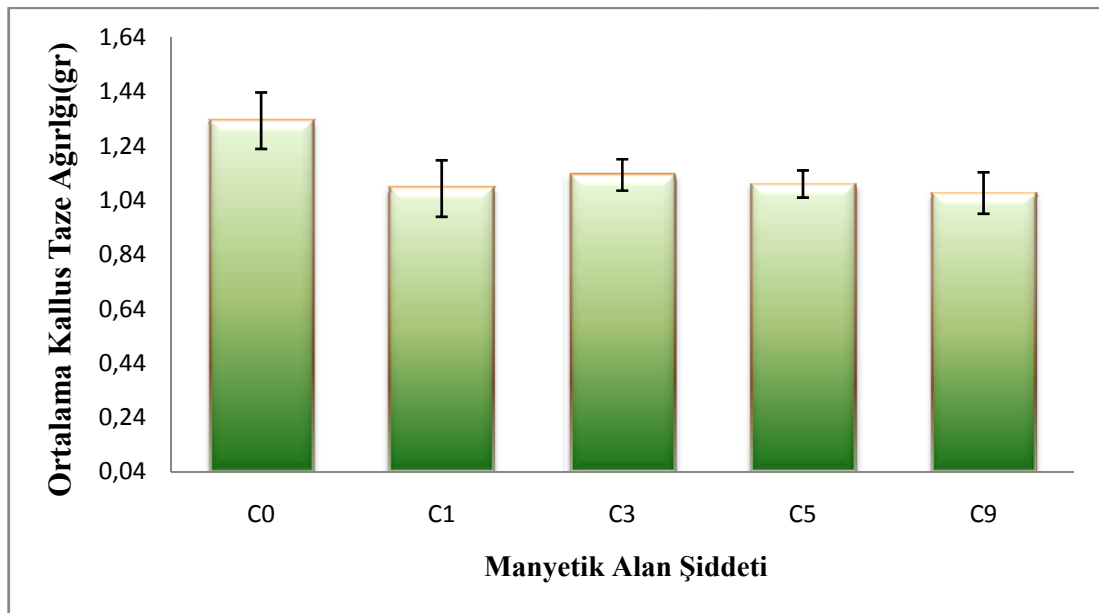
Uygulama	Kallus Taze Ağırlığı (gr)
C0	1,333±0,104 a *
C1	1,083±0,104 b
C3	1,133±0,057 b
C5	1,100±0,05 b
C9	1,066±0,076 b

* Aynı harfle gösterilmeyenler, kontrol ve uygulanan tüm manyetik alan şiddetlerinde kallus taze ağırlık ortalamaları arasındaki farkların; Duncan çoklu testine göre 0,05 seviyesinde önemli olduğunu göstermektedir.

± standart sapma

Çizelgede görüldüğü gibi 5. hafta sonunda kontrol grubunda oluşan kallusların taze ağırlığı 1,333 g' dır. Bu değer C1 uygulamasında 1,083 g, C3 uygulamasında 1,133 g, C5 uygulamasında 1,100 g ve C9 uygulamasında 1,066g'lık azalış göstermiştir

Yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların yaş ağırlıklarının, MA' ın tüm uygulamalarında (C1, C3, C5, C9), kontrole göre (C0) azalmanın saptanması, farklı manyetik alan şiddetlerinden etkilendiğini göstermektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonunda, farklı manyetik alan şiddetlerinin kallus taze ağırlığı üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ($P<0,05$).



Şekil 4.1.4.1. Manyetik alanın *H. calycinum* L. yaprak eksplantı kallus yaş ağırlığı üzerine etkisi

4.1.5. Manyetik Alanın *H. calycinum* L. Bitkisine Ait Gövde Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Hiperisin Miktarına Etkisi

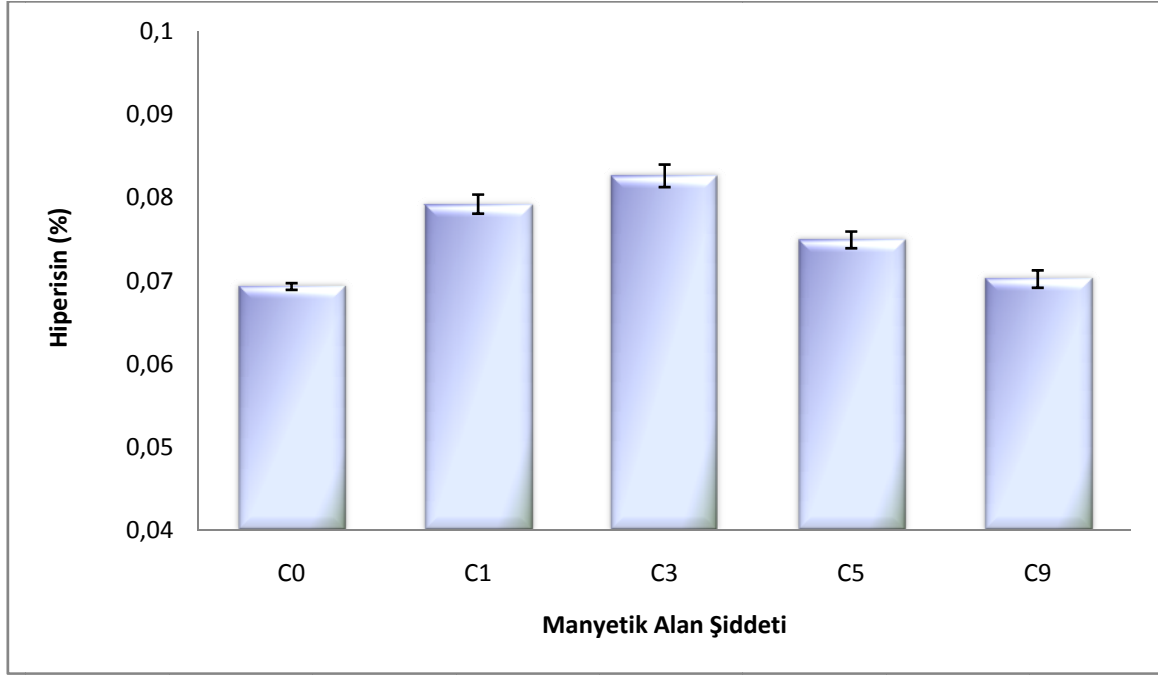
Manyetik alan şiddeti uygulanan *H. calycinum* L. gövdelerinden oluşturulan eksplantlarından elde edilen kalluslarda kontrol ve muamele gruplarında hiperisin miktarını saptamak amacı ile spektrometrik ölçümler yapıldı. 590 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülerek hiperisin miktarları hesaplandı. Çizelge 4.1.5.1 'de görüldüğü gibi farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan gövde eksplantlarından gelişen kalluslardaki hiperisin miktarlarında, kontrol grubu eksplantlarından gelişen kallus hiperisin miktarlarına göre bir artış olduğu saptanmıştır. C3 manyetik alan uygulaması yapılan gövde eksplantlarından gelişen kalluslar da bulunan hiperisin miktarı, diğer gruplardan gelişen kallusların hiperisin miktarlarına göre belirgin bir artış göstermektedir (Şekil 4.1.5.1).

Çizelge 4.1.5.1. Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. gövde eksplantlarından elde edilen kallusların hiperisin miktarları (5. Hafta).

Uygulama	Kallus Hiperisin Miktarı (%)
C0	0,0693±0,0004 d*
C1	0,0792±0,0011 b
C3	0,0826±0,0013 a
C5	0,0749±0,0010 c
C9	0,0702±0,0010 d

* Aynı harfle gösterilmeyenler, kontrol ve uygulanan tüm manyetik alan şiddetlerinde kallus hiperisin miktarları ortalamaları arasındaki farkların; Duncan çoklu testine göre 0.01 seviyesinde önemli olduğunu göstermektedir.

Farklı manyetik alan şiddetleri uygulanan *H. calycinum* L. gövde eksplantlarından elde edilen kallusların hiperisin miktarları üzerine etkisi Duncan çoklu testine göre incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre manyetik alan uygulamalarında kontrol ile aralarındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur ($P < 0,01$).



Şekil 4.1.5.1. Manyetik alanın *H. calycinum* L. gövde eksplantlarından elde edilen kallusların hiperisin miktarları üzerine etkisi

4.1.6. Manyetik Alanın *H. calycinum* L. Bitkisine Ait Yaprak Eksplantlarından Elde Edilen Kallusların Hiperisin Miktarlarına Etkisi

Manyetik alan şiddeti uygulanan *H. calycinum* L. yapraklardan oluşturulan eksplantlardan elde edilen kalluslarda kontrol ve muamele gruplarında spektrometrik ölçümler yapılarak, 590 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ölçülerek hiperisin miktarları hesaplandı.

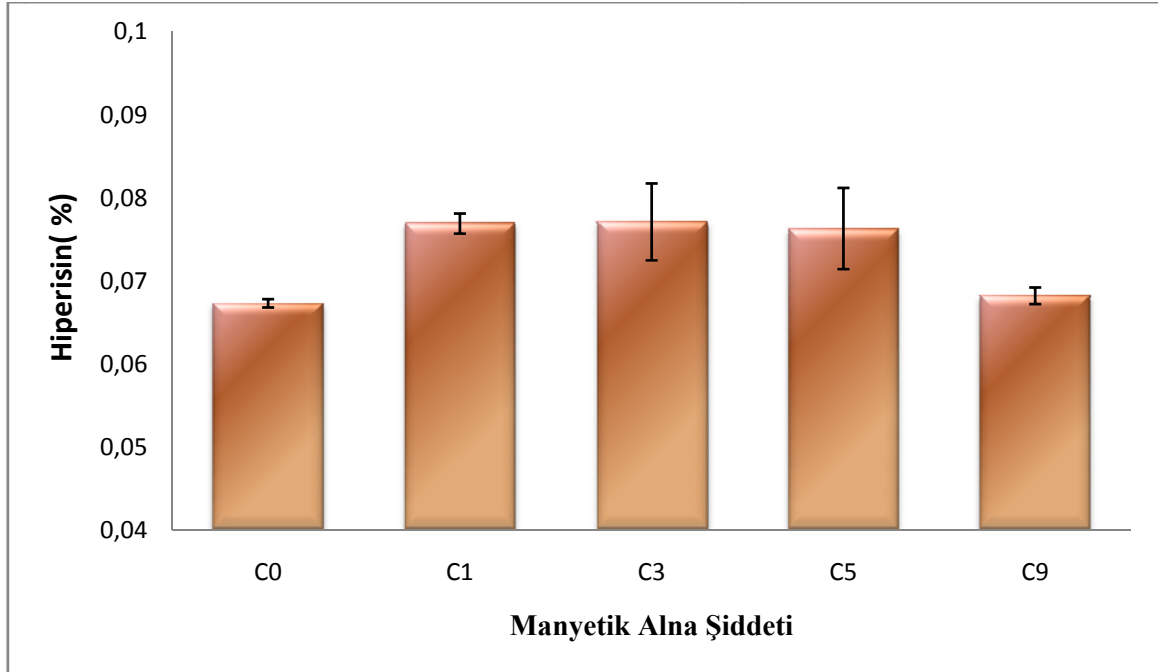
Çizelge 4.1.6.1 'de görüldüğü gibi C1, C3 ve C5 manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan yaprakların eksplantlarından gelişen kalluslardaki hiperisin miktarlarında, kontrol grubu gövde eksplantlarından gelişen kallus hiperisin miktarlarına göre bir artış olduğu saptanmıştır. C9 manyetik alan uygulamasında ise hiperisin miktarının kontrole yakın bir artış gösterdiği bulunmuştur (Şekil. 4.1.6.1).

Çizelge 4.1.6.1. Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan *H. calycinum* L. yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların hiperisin miktarları (5. Hafta).

Uygulama	Kallus Hiperisin Miktarı (%)
C0	0,0673±0,0005 b*
C1	0,0769±0,0012 a
C3	0,0771±0,0046 a
C5	0,0763±0,0048 a
C9	0,0682±0,0010 b

* Aynı harfle gösterilmeyenler, kontrol ve uygulanan tüm manyetik alan şiddetlerinde kallus hiperisin miktarları ortalamaları arasındaki farkların; Duncan çoklu testine göre 0.05 seviyesinde önemli olduğunu göstermektedir.

Farklı Manyetik alan şiddetleri uygulanan *H. calycinum* L. yapraklardan elde edilen eksplantlarından oluşan kallusların hiperisin miktarları üzerine etkisi Duncan çoklu testine göre incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre manyetik alan uygulamalarında kontrol ile aralarındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur ($P < 0.05$).



Şekil 4.1.6.1. Manyetik alanın *H. calycinum* L. yaprak eksplantından elde edilen kallusun hiperisin miktarları üzerine etkisi

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada tıbbi anlamda önemli bir bitki olan *H. calycinum* L. için rejenerasyonu yüksek seviyede teşvik eden besi yeri belirlenmiş, gövde ve yaprak eksplantlarından kurulan kültürlerde MA'ın etkisi saptanmıştır.

Günümüzde yüksek kaliteli üretim materyali oluşturmak ve çeşitlerin yetersiz yönlerini geliştirmek amacıyla geleneksel bitki ıslah metotlarının yanında alternatif metotlar da kullanılmaktadır. Bu metotlardan biride MA'ın bitkilere uygulanmasıdır. Aynı zamanda in vitro kültürlerin bitki biyolojisine girmesi bazı problemlerin çözülmesi için çok etkili bir araç ve yeni bir metot olmuştur.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda MA'ın çeşitli bitki özellikleri üzerine olumlu etkileri olduğu gözlenmiştir. MA'ın canlıların molekül ve hücreleri üzerine etkilerini belirlemek için yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar yanında, bitki büyümesinin hızlandırılması ve verimin artırılması ile ilgili olarak çeşitli bitkilerle yapılan çalışmalar, MA'ın olumlu yönde bir etkisi olduğu görüşünü desteklemektedir (Bosica ve Zeri, 1990; Hayashi ve ark., 1992; E-WS ve ark., 1995; Dias ve ark., 1998; Preto ve Santarem, 2000; Karppinen ve ark., 2007).

Alikamanoğlu ve ark. (2007) *Paulownia tomentosa* doku kültürü üzerine MA ve gama radyasyonun etkisini araştırmışlar, MA'ın *Paulownia tomentosa* kültürlerinin bitki yenilenmesini arttırdığını ve desteklediğini gözlemlemişlerdir. Uygulanan radyasyon dozunun yenilenme yeteneğini düşürdüğünü, MA'la kombine edildiğinde ise tekrar desteklendiğini belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, MA'ın bitki yaş ağırlığı, yaprak sayısı ve klorofil miktarı üzerine olumlu etkileri, radyasyonun ise aynı parametrelerde negatif etkilerinin olduğu saptanmış, MA ve gama radyasyonunun birlikte uygulandığı durumlarda ise bu parametrelerin radyasyon dozuna bağlı olarak değiştiği ve MA tarafından radyasyonun etkisinin indirgendiği belirlenmiştir.

Çalışmamızda *Hypericum* bitkisinde yapılacak in vitro MA çalışmalarında kullanılacak optimum MA şiddetinin belirlenmesi için *H. calycinum* L. gövde ve yaprak örneklerinden oluşturulan eksplantlardan gelişen kalluslar kullanılmıştır.

Doku kültürü kurulmasında *H. calycinum* L. eksplantlarının kallus oluşumu için ihtiyaç duydukları optimum besiyeri koşulları olarak 8 g l⁻¹ Agar-Agar, 30 g l⁻¹ sukroz, 0,5 mg l⁻¹ 2,4-D ve 0,5 mg l⁻¹ kinetin içeren MS besi yeri belirlenmiştir.

Bitki doku kültüründe rejenerasyonun yüksek seviyede olması besiyeri ve besi yerine eklenen hormon konsantrasyonlarına bağlıdır (Rao ve ark., 1996).

Yaptığımız bu çalışmada optimum *Hypericum calycinum* L. için uygun besi yeri koşullarını oluştururken elde ettiğimiz sonuçlara benzer sonuçlar da *Hypericum*' un başka bir türü olan *H. perforatum* L. türünde yapılan bir çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada *H. perforatum* L. eksplantlarından kallus oluşumunun 30 g l⁻¹ sukroz, 0,5 mg l⁻¹ 2,4-D ve 0,5 mg l⁻¹ kinetin içeren MS ortamında en yüksek seviyede olduğu rapor edilmiştir (Ayan ve ark., 2005).

Bitki hormonları, bitkilerin büyüme ve gelişmesini kontrol altına alan en önemli içsel faktörlerden biridir. Bitki hormonları büyüme ve gelişme olaylarında belli bir takım etkilerinden ve düzenleyici özelliklerinden dolayı bitki büyüme düzenleyicileri olarak adlandırılırlar (Önder ve Yentür, 1999).

Hypericum doku kültürü çalışmalarında rejenerasyon, bitkinin çeşitli kısımlarından alınan eksplantlarla teşvik edilmektedir. Çalışmamızda doku kültürlerinin kurulması için *H. calycinum* L. gövde ve yaprak eksplantları kullanılmıştır. Gövde ve yaprak eksplantları 0, 1, 3, 5 ve 9 kez MA' dan geçirilerek kallus oluşum yüzdeleri belirlenmiştir.

Bu çalışmada doku kültürleri kurulan *H. calycinum* L. gövde eksplantlarından elde edilen kontrol bitkilerinin kallus oluşum frekansı % 80 iken C1, C3, C5 ve C9 MA uygulamalarında sırasıyla % 86,6, % 93,3, % 93,3 ve % 80' dir. Gövde eksplantlarına uygulanan farklı manyetik alan şiddetlerinin kallus oluşum yüzdesini kontrole göre artırdığı, ancak C9 uygulamasında kontrole göre bir farklılık göstermediği saptandı.

H. calycinum L. yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların oluşum frekansları kontrol de % 66,6, C1 de % 60, C3 de % 66,6, C5 de % 60 ve C9 da % 73,3 olarak belirlendi. Yaprak eksplantlarına uygulanan farklı manyetik alan şiddetlerinin kallus oluşum yüzdesinin kontrole göre bir artış göstermediği, ancak C9 uygulamasında kontrole göre bir artış olduğu saptandı.

Bais ve ark. yaptıkları çalışmada *Hypericum perforatum* L. doku kültürüne en uygun eksplantın yapraktan elde edildiğini, maksimum verimin karanlık koşullarda olduğunu, ayrıca hiperisin ve diğer alkaloidlerin kallus aşamasında oluşabileceğini göstermişlerdir (Bais ve ark., 2002).

MA' ın, bitkilerin meristem hücrelerinde, hücre metabolizmalarını etkileyen bir faktör olduğu, mitoz bölünme üzerinde önemli etkisinin bulunduğu ve bitkilerde hücre siklusunda G₁ fazının değişmesine neden olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Fomicheva ve ark., 1992; Belyavskaya ve ark., 1992; Fomicheva ve ark., 1992).

Bitkilerin sahip oldukları genotipik farklılıklar sebebiyle MA' a verecekleri cevapta farklı olmaktadır. Bu nedenle her bitki çeşidinde istenilen en yüksek verimin elde edilmesi için uygun MA şiddet aralığının saptanması gerekmektedir (Yalçın, 2002).

Atak ve ark. yaptıkları bir çalışmada *Paulownia* tohumlarının çimlenmesinde MA' ın olumlu etkisini göstermişlerdir. 12. günde 4,7-5,7 mT' lık MA' a 19,8 sn maruz bırakılan *P. tomentosa* tohumlarında çimlenme yüzdesi ve fide sayısı kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Yine Atak ve ark. 3,8-4,8 mT' lık MA' dan geçirilen bütün *P. elongala* tohumlarında kontrole göre daha fazla çimlenme meydana geldiğini ve kontrol grubunda çimlenme oranı % 40 iken MA' a 2,2 sn maruz bırakılan tohumlarda bu oranın % 50,67' ye yükseldiğini belirtmişlerdir (Atak ve ark., 2000).

Cesestino ve ark. meşe (*Quercus suber* L.) bitkisinde *in vitro* MA çalışması yaparak kurdukları somatik embriyo kültürlerine 50 Hz, 15mT' lık EMA uygulamışlar ve embriyogenezin, genotipin yanısıra MA' a maruz bırakılma süresi ile teşvik veya inhibe edilebileceğini ortaya koymuşlardır (Celestino ve ark., 1998).

Bitkilere uygulanan MA' ın, bitki gelişiminin çeşitli parametrelerinde değişimler meydana getirdiği bir çok bitki çeşidi ile yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir (Muraji ve ark., 1998; Fomicheva ve ark., 1992).

Araştırmamızda *H. calycinum* L. Gövde ve yaprak eksplantları ile kurulan kültürlerde MA şiddetinin bitki gelişimi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla kültür ortamında rejenere olan bitkilerin kallus taze ağırlıkları saptanmıştır. Kültür ortamında rejenere olan *H. calycinum* L. bitkisinin taze ağırlıkları MA' dan etkilenmektedir.

Gövde ve yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların taze ağırlıklarının, MA' ın tüm uygulamalarında (C1, C3, C5, C9), kontrole göre (C0) azalmanın saptanması, farklı manyetik alan şiddetlerinden etkilendiğini göstermektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonunda, farklı manyetik alan şiddetlerinin kallus taze ağırlığı üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0,05$).

Lucchesini ve ark. *Prunus cerasifera* doku kültürü üzerine MA' ın etkisini araştırmışlar ve kurulan kültürlerde kontrole göre sürgün sayısında, köklerine oranında, bitki uzunluğunda, ayrıca bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlardan farklı olarak bitki taze ağırlığında bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir (Lucchesini ve ark., 1992).

Yine Corneanu ve ark. yaptıkları *Aloe arborescens* bitkisinden kurdukları in vitro kültürlerde MA' ın kök rejenerasyonunu ve sürgün oluşumunu teşvik ettiğini bildirmişlerdir (Corneanu ve ark., 1994).

Atak ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada soya doku kültürlerinde rejenerasyonun MA tarafından uyarıldığını belirlemişlerdir. Kontrole göre ve MA' a maruz bırakılan eksplantlardan rejenere olan sürgün sayıları, kök durumları, yaş ağırlık ve klorofil miktarlarında da artış olduğunu saptamışlardır.

Yaycılı ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada *Paulownia* doku kültürü üzerine 2,9 – 4,8mT olan manyetik alanı 0, 2,2, 6,6 ve 19,8 sn süre ile uygulamışlar, MA şiddetinin süresine bağlı olarak kültürde bitki rejenerasyonunu hızlandırdığı, bitki taze ağırlığı, bitki boyu, yaprak sayısı ve klorofil miktarını artırdığını bulmuşlardır.

MA' ın biyolojik etkilerini gösteren çalışmalara göre, MA hücre çoğalmasını artırmaktadır. MA' ın hücre siklusunun G1 evresinde RNA ve protein sentezinde önemli değişikliklere neden olduğu ve 3,5 mT şiddetindeki MA' a maruz bırakılan hücrelerde mRNA ve toplam RNA düzeylerinde artış meydana geldiği belirtilmiştir. Nitekim 10^{-3} - 10^{-2} T arasındaki bir MA aralığının, elektron spin sistemini etkileyerek kimyasal reaksiyonları başlattığı bilinmektedir. Bununla birlikte biyolojik sistemlerde MA etkisinin, ara kimyasal reaksiyonlar üzerindeki etkinliği henüz tam anlamı ile saptanamamıştır (Negishi ve ark., 1999; Grundler ve ark., 1992; Belyavskaya ve ark. 1992; Lebedev, 1975)

Hypericum perforatum L., çok eskiden beri yaraları iyi edici olarak bilinen bir tıbbi bitkidir. Günümüzde ise dâhilen antispazmotik, kabız, yatıştırıcı ve kurt düşürücü ve

antidepresif, haricen ise antiseptik olarak kullanılır (Baytop, 1999). Son yıllarda yapılan çalışmalarda karaciğer üzerine koruyucu etkisinin de olduğu belirlenmiştir (Aydın, 1990).

Bayram ve ark (2002), yaptıkları çalışmada, Bornova ekolojik koşullarında yetiştirilen *Hypericum perforatum* L. bitkisine ait A-klonlarını incelemişler özellikler bakımından çok geniş bir varyasyon gösterdiğini belirlemişlerdir. Varyasyonun alt ve üst sınır değerleri dikkate alındığında, elde çok iyi bir genotipik çeşitliliğin bulunduğunu ve ıslah çalışmaları sonucunda ise, verimi yüksek klonların elde edilme olasılığının olduğu saptanmıştır. Diğer yandan *Hypericum perforatum* L. bitkisi için bir kalite göstergesi olan Hiperisin oranı saptanmış ve yüksek tiplerin seçimi ile hiperisin içeriği bakımından daha iyi bitkilerin ortaya konmasının mümkün olabileceği ortaya konmuştur.

Özellikle günümüzde tıbbi değere sahip bitkilerin hızlı bir şekilde geliştirilmesinde ve tıbbi bitkilerin etken maddelerinin artırılmasında doku kültürü gibi bazı çalışmaların yanında, yapay olarak oluşturulan MA ve EMA uygulamaları kullanılmaktadır. Buradan yola çıkarak çalışmamızda *Hypericum* gövde ve yaprak eksplantları ile kurulan kültürlerde Hiperisin miktarı üzerine MA' ın etkisi saptanmıştır.

Çalışmamızda farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan gövde eksplantlardan gelişen kalluslardaki hiperisin miktarlarının, kontrol grubu gövde eksplantlarından gelişen kallus hiperisin miktarlarına göre bir artış gösterdiği saptanmıştır. C3 manyetik alan uygulaması yapılan gövde eksplantlarından gelişen kalluslar da bulunan hiperisin miktarı, diğer gruplardan gelişen kallusların hiperisin miktarlarına göre belirgin bir artış göstermektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonunda, farklı manyetik alan şiddetlerinin hiperisin miktarı üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ($P<0,01$).

C1, C3 ve C5 manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan yaprakların eksplantlarından gelişen kalluslardaki hiperisin miktarları, kontrol grubu gövde eksplantlarından gelişen kallus hiperisin miktarlarına göre bir artış göstermiştir. C9 manyetik alan uygulamasında ise hiperisin miktarının kontrole yakın bir artış gösterdiği bulunmuştur. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonunda, farklı manyetik alan şiddetlerinin hiperisin miktarı üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ($P<0,05$).

Ayan ve ark. (2005) *Hypericum perforatum* L. Üzerine yaptıkları çalışmada önce optimum besiyeri olarak bizim de çalışmamızda tespit ettiğimiz 30 g l⁻¹ sukroz, 0,5 mg l⁻¹

2,4-D ve 0,5 mg l⁻¹ kinetin içeren MS besi yerini ve bu besi yerinde yetişen bitkilerdeki hiperisin miktarını % 0,048 olarak artış gösterdiğini bulmuşlardır.

Çalışmamızda, son yıllarda tıbbi bir bitki olarak kullanılan *Hypericum* bitkisine uygulanan manyetik alanın in vitro şartlardaki etkisi çeşitli parametrelerde araştırılmış, ayrıca optimum MA değeri belirlenmiştir.

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalar sonucunda;

- Manyetik alanın, *H. calycinum* L. gövde ve yaprak eksplantlarından gelişen kallus oluşum frekansı üzerine kontrole göre, gövdede C3 ve C5 uygulamalarında, yaprakta C9 uygulamalarında arttırıcı bir etkisinin olduğu,
- Manyetik alanın, *H. calycinum* L. gövde ve yaprak eksplantlarından gelişen kallus taze ağırlığı üzerine kontrole göre tüm MA uygulamalarında azaltıcı bir etkisinin olduğu,
- Manyetik alanın, *H. calycinum* L. gövde ve yaprak eksplantlarından gelişen kallus hiperisin miktarı üzerine tüm MA uygulamalarının kontrole göre arttırıcı bir etkisinin olduğu, özellikle her iki grupta da C3 uygulamalarının kontrole göre en yüksek seviyeye ulaştığı ve istatistiksel olarak bu durumun anlamlı olduğu saptanmıştır.

ÖNERİ:

Bu çalışma; MA uygulanan *H. calycinum* L. gövdelerinden elde edilen eksplantlarından oluşan kallusların, yaprak eksplantlarından elde edilen kalluslara göre daha fazla hiperisin içerdiğini ortaya koymuştur. Bu durum hem in vitro koşullarda hiperisin üretiminin kesintisiz sağlanabilmesi, hem de sistemin doğa koşullarından bağımsız olması avantajlarıyla ilaç sanayi için tavsiye edilebilir bir yöntem olarak düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- Akhmedova M., Tofazzal K. ve Alasaad L., 1985. Some Changes In The Biochemical Induces Of Cotton Pollen Under The Influence Of On Electromagnetic Field, CAB Abs., *Uzbekskii-Biologicheski-Zhurnal*, 4: P: 47- 49.
- Aksoy H., 2006. Elektromanyetik Alanların İnsan Lenfosit Kültürü Ve Bazı Bitkiler Üzerine Etkileri, Gazi Üniv., Fen Bil.Ens. (Doktora Tezi).
- Aladjadjıyan A., 2002. Study Of The Influence Of Magnetic Field On Some Biological Characteristics Of Zea Mais. *Journal Of Central European Agriculture*, 3 (2): P: 89-94.
- Alexander M.P. ve Ganeshan S.,1990. Electromagnetic Field Induced Invitro Pollen Germination And Tube Growth. *Current Science*, 59(5): P: 276- 287.
- Ali S. M., Olivo M., Yuen G. Y. ve Chee S. K., 2001. Induction Of Apoptosis By Hypericin Through Activation Of Caspase-3 In Human Carcinoma Cells. *International Journal Of Molecular Medicine* 8: 521-530
- Alikamanoğlu S., Yaycılı O., Atak Ç. ve Rzakoulieva A., 2007. Effect Of Magnetic Field And Gamma Radiation On Paulownia Tomentosa Tissue Culture. *Biotechnol. & Biotechnol. EQ.*, 1: 49- 53.
- Alikamanoğlu S., 1999. İn Vitro Tekniklerle Haploid Şeker Pancarı (Beta Vulgaris L.) Bitkisinin Eldesi Ve Somatik Mutasyonların Oluşturulmasında Gama Radyasyonunun Kullanılması. Doktora tezi. İ.Ü. Fen Bilimleri Enst. İstanbul.
- Arslan N., Gürbüz B. ve Gümüşçü A., 2002. *Tıbbi Bitkiler İsim Kılavuzu*. Ankara Üniversitesi
- Atak Ç., Emiroğlu Ö., Alikamanoğlu S. ve Rzakoulieva A., 2003. Stimulation Of Regeneration By Magnetic Field In Soybean (*Glycine Max L. Merrill*) Tissue Cultures. *Journal Of Cell And Molecular Biology*, 2: P: 113- 119.
- Atak Ç., Yurttaş B., Yalçın S., Mutlu D. ve Rzakoulieva A., 1996, Manyetik Alanın Soya Tohumları Üzerine Etkisi. *XIII Ulusal Biyoloji Kongresi*. 17-20 Eylül 1996, İstanbul.

- Atak Ç., Alikamanoğlu S., Danilov V.I., Rzakoulieva A., Yurttaş B. ve Topçul F., 2000. Effect Of Magnetic Field On Paulmynia Seeds. *Com. J.I.N.R. Dubna*: P: 1-14.
- Ayan A. K., Çırak C., Kevseroğlu K. ve Sökmen A., 2005. Effects Of Explant Types And Different Concentrations Of Sucrose And Phytohormones On Plant Regeneration And Hypericin Content In *Hypericum Perforatum L.* *Turk J Agric For* 29 P: 197-204 © TÜBİTAK
- Aydın S., 1990.: *Hypericum Perforatum L.*'Un Hepatoprotektif Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Anadolu Üniversitesi, A987.
- Bais H. P., Walker T. S., Mcgrew J. J. ve Vivanco J. M., 2002. Factors Affecting Growth Of Cell Suspension Cultures Of *Hypericum Perforatum L.* (St. John's Wort) And Production Of Hypericin. *In Vitro Cellular & Developmental Biology —Plant* 38: P: 58–65
- Bayram E., Arabacı O. Ve Çakmak H. E., 2002. Bornova Ekolojik Koşullarında *Hypericum Perforatum L.* Klonlarının Agronomik Özelliklerinin Ve Hypericin Oranlarının Belirlenmesi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 39 (3): S: 41-48
- Bayram E., Geren H, Avcı A. B. ve Arabacı O., 2004. Farklı Kökenli Bazı Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum L.*) Populasyonlarının Verim ve Kalite Özellikleri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 41(2) S: 49-58
- Baytop A. 1972. Farmasötik Botanik. *İstanbul Üniv. Eczacılık Fak. İstanbul.* S.246.
- Baytop T., 1999. Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi (Geçmişte Ve Bugün). İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, İstanbul, S: 166-167.
- Belyavskaya N. A., 2004. Biological Effects Due To Weak Magnetic Field On Plants. *Advances In Space Research* 34, P: 1566–1574
- Belyavskaya N.A., Fomicheva V.M., Govorun R.D. ve Danilov V.I., 1992. Structural-Functional Organization Of The Meristem Cells Of Pea, Lentil And Flax Roots In Conditions Of Screening The Geomagnetic Field. *Biophysics*, Vol.37, No.4, P: 657-666.

- Bohn T., Fabritius E., Kauth S., Plötz S. ve Hesemann C., 1996. First Result Of Comparative Investigations About Callus And Suspension Cultures Of Seven *Hypericum* Species, *Institute Of Genetics, University Of Hohenheim, D-70599*
- Bold A., Toros H. Ve Şen O., 2003. Manyetik Alanın İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkisi, III. *Atmosfer Bilimleri Sempozyumu*, 19-21 Mart, İTÜ, İstanbul. ISBN.975-561-236-X.
- Bombardelli E., ve Morazzoni P., 1995. *Hypericum Perforatum*. *Fitoterapia*, 66,1: 43-68.
- Bosica I. ve Zeri F., 1990. Effect Of Electromagnetic Field (EMF) Treatment In The Presence Of Nitrogen On Cereal Plant Growth. *Seed Abst.*, 013- 03315.
- Boubakir Z., Beuerle T., Liu B. ve Beerhues L., 2005. The First Prenylation Step In Hyperforin Biosynthesis. *Phytochemistry* 66, 51–57
- Carbonell M.V., Martinez E. ve Amaya J.M., 2000. Stimulation Of Germination In Rice (*Oryza sativa* L.) By A Static Magnetic Field. *Electro And Magnetobiology*, 19(1): P: 121-128.
- Celestino C., Picazo M.L., Toribio M., Alvarez-Ude J.A. ve Bardasano J.L., 1998. Influence Of 50 Hz Electromagnetic Fields On Recurrent Embryogenesis And Germination Of Cork Oak Somatic Embryos. *Plant Cell, Tissue And Organ Culture* 54: P: 65-69.
- Charchoglyan A., Abrahamyan A., Fujii I., Boubakir Z., Gulder T. A. M., Kutchan T. M., Vardapetyan H., Bringmann G., Ebizuka Y. Ve Beerhues L., 2007. Differential Accumulation Of Hyperforin And Secohyperforin In *Hypericum Perforatum* Tissue Cultures. *Phytochemistry* 68: P: 2670–2677
- Cooper E. L., 2006. *Ecam* 2006; 3(2), P: 167–169
- Corneanu M., Corneanu G., Badica C., Minea R., Bica D. ve Vekas L., 1994. In Vitro Organogenesis At *Aloe Arborsscsns* (Liliaceae). *Revue Roumanie De Biologie. Sene De Biologie Vegetale* 39: P: 45-52.
- Criveanu H. R. Ve Taralunga G., 2006. Influence Of Magnetic Fields Of Variable Intensity On Behaviour Of Some Medicinal Plants. *Journal Of Central European Agriculture* Vol 7, No 4

- Dardeniz A. ve Tayyar Ş., 2007. Elektro Manyetik Alanın Cardinal Üzüm Çeşidi Kalemlerinin Vejetatif Gelişimi Üzerindeki Etkileri, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), P: 23-28
- Dias A. C. P., Tomas-Barber F. A., Fernandes-Ferreira M. ve Ferreres F., 1998. Unusual Flavonoids Produced By Callus Of Hypericum Perforatum. *Phytochemistry*. Vol. 48. No. 7. P: 1165-1168
- Düzgüneş O., Kesici T. ve Kavuncu O., 1987. Araştırma ve Deneme Metodları, *Ankara Üniv., Ziraat Fakültesi Yayınları* 1021, Ders kitabı: 295
- E -W.S., Lian C.C., Zhang J.L. ve Shi Z.Z., 1995. Effect Of Magnetization On The Main Characters Of Soybean. *CAB Abstracts*.
- Erkara İ. P. ve Tokur S., 2004. Morphological And Anatomical Investigations On Some Hypericum L. Species Growing Naturally In And Around Eskisehir. *Trakya Univ J Sci*, 5(2): P:97-105
- Erken S., Malyer H. ve Demirci F., 2001. Chemical Investigations On Some Hypericum Species Growing In Turkey-I *Chemistry Of Natural Compounds* 37(5), P: 434-438,-OCT
- Fomicheva V.M., Govorun R.D. ve Danilov V.L., 1992. Proliferative Activity And Celi Reproduction In The Root Meristems Of The Pea, Lentil And Flax In The Conditions Of Screeningthe Geomagnetic Field. *Biophysics*, Vol. 37, No.4, P: 645-648.
- Fomicheva V.M., Zaslavskii V.A., Govorun R.D. ve Danilov V.I., 1992. Dynamics Of RNA And Protein Synthesis In The Cells Of The Root Meristem Of The Pea, Lentil And Flax. *Biophysics*, Vol. 37, No.4, P: 649-656.
- Goodman E.M., Greenebaum B. ve Marron M.T., 1995. Effects Of Electromagnetic Fields On Molecules And Cells. *Int Rew Cytology A Survey Of Cell Biology* (Edt: Jean K.W. And Jarvik J.), 158: P: 279- 338
- Gönüz A., Aktaş S. ve Sevim İ., (2007) Bayramiç Yöresi İçin Yeni Bir Alternatif Ekonomik Değer Hypericum Calycinum L. (St. John's Wort). *Bayramiç Sempozyumu* ISBN: 978-975-8100-65-1, S: 97-103

- Grundler W., Kaiser F., Keilmann F. ve Walleczek J., 1992. Mechanisms Of Electromagnetic Interaction With Cellular Systems. *Naturwissenschaften* 79: P: 551-559.
- Gubbels G.H., 1982. Seedling Growth And Yield Response Of Flax, Buckwheat, Sunflower And Field Pea After Preseeding Magnetic Treatmant. *Can. J. Plant Sci.* 62: S: 61- 64.
- Hayashi M., Kano A. ve Goto E., 1992. The Pulsed Electro-Magnetic Field Stimulation Effect On Development Of Prunus Cerasifera M. Vitro Derived Plantlets. *Acta Horticulture* 319: S: 131-136.
- Hışıl Y, şahin F. ve Omay S,B., 2005. Kantaronun (Hypericum Perforatum L.) Bileřimi Ve Tibbi Önemi, *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, Sayı: 4, Cilt : 15
- Hopfner M, Maaser K, Theiss A, Lenz M, Sutter A.P. ve Kashtan H., 2003. Hypericin Activated By An Incoherent Light Source Has Photodynamic Effects On Esophageal Cancer Cells. *Int J Colorectal Dis* 18(3): P: 239-247
- <http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/goz/photo/regular/Hiperi3.jpg> (Resim H. Calycinum) (Eriřim Tarihi: 15.07.2009)
- Hwang M.S., Yum Y.N., Joo J.H., Kim S., Lee K.K. ve Gee S.W., 2001. Inhibition Of C-ErbB-2 Expression An Activity In Human Ovarian Carcinoma Cells By Hypericin. *Anticancer Res* 21: P: 2649-2655
- İpekçi Z., Altinkut A., Kazan K., Bajrovic K. ve Gözükırmızı N., 2001. High Frequency Plant Rejeneration From Nodal Explants Of Paulownia Elongata. *Plant Biology* 3, P: 113-115.
- Kaçar O. ve Azkan N., 2004. Sarı Kantaron' da (Hypericum Perforatum L.) Hiperisin Ve Üst Drog Herba Verimi İle Bazı Morfolojik Ve Agronomik Özellikler Arasındaki İlişkiler, *Uludağ Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 18(2): S:109-122
- Karppinen K., Hokkanen J., Tolonen A., Mattila S. ve Hohtola A., 2007. Biosynthesis Of Hyperforin And Adhyperforin From Amino Acid Precursors In Shoot Cultures Of Hypericum Perforatum. *Phytochemistry* 68 P: 1038–1045

- Keleş O., Ak S., Bakirel T. ve Alpınar K., 2001. Türkiye'de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi. *Turk J Vet Anim Sci* 25, S: 559-565
TÜBİTAK
- Klingauf P., Beuerle T., Mellenthin A., El-Moghazy S. A. M., Boubakir Z. ve Beerhues L. 2005. Biosynthesis Of The Hyperforin Skeleton In *Hypericum Calycinum* Cell Cultures. *Phytochemistry* 66, P: 139–145
- Lebedev S.I., Baranskii P.I., Litvinenko L.G. ve Shiyan, L.T., 1975. Physiobiochemical Characteristics Of Plants After Presowing Treatment With A Permanent Magnetic Field. *Soviet Plant Physiol* 27. P: 84-89.
- Lenard J., Rabson A. ve Vanderloef R., 1993. Photodynamic Inactivation Of Infectivity Of Human Immunodeficiency Virus And Other Enveloped Viruses Using Hypericin And Rose Bengal: Inhibition Of Fusion And Syncytia Formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* Vol. 90, P: 158-162, Medical Sciences
- Linde K., Ramirez G., Mulrow C.D., Pauls A., Weidenhammer W. ve Melchart D., 1996. St John's Wort For Depression An Overview And Meta-Analysis Of Randomised Clinical Trials. *BMJ* 3;313: P: 253-258
- Lucchesini M., Sabatini A.M., Vitagliano C. ve Dario P., 1992. The Pulsed Electromagnetic Field Stimulation Effect On Development Of *Prunus Cerasifera* In Vitro Derived Plantlets. *Acta Horticulture* 319: P: 131-136.
- Majd A., Shabrangi A., Bahar M. Ve Abdi S., 2009. Effect Of AC And DC Magnetic Fields On Seed Germination And Early Vegetative Growth In *Brassica Napus* L. *Progress In Electromagnetics Research Symposium Proceedings*, Moscow, Russia, August P: 18-21
- Matsuda T., Asou H., Kobayashi M. ve Yonekura M., 1993. Influences Of Magnetic Fields On Growth And Fruit Production Of Strawberry. *Acta Horticulture*, 348: P: 378-380.
- Meral G. ve Karabay N. Ü., 2002. In Vitro Antibacterial Activities Of Three *Hypericum* Species From West Anatolia. *Turkish Electronic Journal Of Biotechnology Special Issue*, P: 6-10

- Mericle R.P., Mericle L.W., Smith A.E., Campbell W.F. ve Montgomery D.J., 1964. Plant Growth Responses, Biological Effects Of Magnetic Fields. *Plenum Press, Newyork*, P: 183-195.
- Muraji M., Nishimura M., Tatebe W. ve Fujii T., 1992. Effect Of Alternating Magnetic Field On The Growth Of The Primary Root Of Corn. *IEEE Transaction On Magnetics*, Vol. 28, No. 4, P: 1996-2000.
- Namba K., Sasao A. ve Shibasawa S., 1995, Effect Of Magnetic Field On Germination And Plant Growth. *Acta Horticulture* 399, P: 143-147.
- Negishi Y., Hashimoto A., Tsushima M., Dobrota C., Yamashita M. ve Nakamura T., 1999. Orowth Of Pea Epicotyl in Low Magnetic Field Implication For Space Research. *Adv. Space. Res.* Vol.23, No. 12, P: 2029-2032.
- Neves J. M., Matos C., Moutinho C., Queiroz G. ve Gomes L. R., 2009. Ethnopharmacological Notes About Ancient Uses Of Medicinal Plants In Trás-Os-Montes (Northern Of Portugal). *Journal Of Ethnopharmacology* 124, P: 270–283
- Nia R. A. ve Bayram E., 2005. Geliştirilmiş Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) Klonlarının Bazı Agronomik ve Teknolojik Özellikleri. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 42(2), S: 11-22
- Oldacay S.Y., 2002. Gama Radyasyon İle Işınlanmış Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) Çeşitlerinin Üzerine Manyetik Alanın Etkisi. (Doktora Tezi.) İ.Ü. Fen Bilimleri Enst. İstanbul.
- Oztürk Y., 1997. Testing The Antidepressant Effects Of *Hypericum* Species On Animal Models. *Pharmacopsychiatry*. 30 (SUPPL. 2). P: 125-128
- Önder N. Ve Yentür S., 1999. Bitkilerin Büyüme Gelişme, Farklılaşma Ve Hareket Fizyolojisi, *I.Baskı, İstanbul Üniversitesi Yayınları*, No: 4135, İstanbul.
- Özdiñ N., 2008, Gama Radyasyonu İle Işınlanmış Soya (*Glycine Max* L. *Merrill*) Çeşitleri Üzerine Manyetik Alanın Etkisi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniv., *Fen Bilimleri Ens.* (Yüksek Lisans Tezi).

- Phirke P.S., Kubde A.B. ve Umbarkar S.P., 1996. The Influence Of Magnetic Field On Plant Growth. *Seed Sci. & Technol.*, 24: P: 375- 392.
- Pietruszewski S., Muszyński S. ve Dziwulska A., 2007. Electromagnetic Fields And Electromagnetic Radiation As Non-Invasive External Stimulants For Seeds (Selected Methods And Responses). *Int. Agrophysics*, 21, P: 95- 100.
- Pretto F. R. ve Santarem E. R., 2000. Callus Formation And Plant Regeneration From Hypericum Perforatum Leaves. *Plant Cell, Tissue And Organ Culture* 62, P: 107–113.
- Rakosy-Tican L., Aurori C. M. Ve Morariu V. V., 2005. Influence Of Near Null Magnetic Field On In Vitro Growth Of Potato And Wild Solanum Species. *Bioelectromagnetics* 26: P: 548-557
- Rao, C.D., Goh, C.J. ve Kumar, P.P., 1996. High Frequency Plant Regeneration From Excised Leaves Of Paulownia Spp. Cultured In Vitro. *Plant Cell Reports* 16, P: 204-209.
- Rochalska M. Ve Grabowska K., 2007. Influence of magnetic fields on the activity of enzymes: α - and β -amylase and Glutathione S-transferase (GST) in Wheat Plants. *International Agrophysics*. vol. 21, no2, P: 185-188
- Santarem E. R. ve Astaría L. V., 2003. Multiple Shoot Formation In Hypericum Perforatum L. And Hypericin Production. *Braz. J. Plant Physiol.*, 15: P: 43-47
- Sökmen A., 2001. Antiviral And Cytotoxic Activities Of Extracts From Tehe Cell Cultures And Respective Parts Of Some Turkish Medicel Plants. *Turk J Biol*, 25, P: 343-350 © TÜBİTAK
- Sümbüloğlu K. ve Sümbüloğlu V., 2000. Biyoistatistik. *Hatipoğlu Yayınevi*, Ankara
- Şeker S. ve Çerezci O., 2000. Radyasyon Kuşatması. Elektriğin Ve Nükleer Enerjinin Sağlığımıza Etkileri. *Boğaziçi Üniversitesi Yayınevi*, İstanbul.
- Şeker S. ve Korkut A., 2005. Tehlikeli Oyuncak. Hayykitap- ISBN 95-9059-01-0 2, Acil Serisi-1, İstanbul.

- Vakharia D.N., Davariya R.L. ve Paramesvvaran M., 1991. Influence Of Magnetic Treatment On Groundnut Yield And Yield Attribntes. *Indian J. Plant Physiol.*, Vol XXXIV, No.2, P: 131-136.
- Vashisth A. Ve Nagarajan S., 2009. Effect On Germination And Early Growth Characteristics In Sunflower (*Helianthus Annuus*) Seeds Exposed To Static Magnetic Field. *J Plant Physiol*, Sep 22.
- Vollmer J. J., Rosenson J., 2004. *Journal Of Chemical Education* • Vol. 81 No. 10
- Wentworth J. M., Agostini M., Love J., Schwabe J. W. ve Chatterjee V. K. K., 2000. St John's Wort, A Herbal Antidepressant, Activates The Steroid X Receptor. *Journal Of Endocrinology* 166, R11–R16
- Yaycili O. ve Alikamanoglu S., 2005. The Effect Of Magnetic Field On Paulownia Tissue Cultures. *Plant Cell, Tissue And Organ Culture*, Volume 83, Number 1. P:109-114
- Zobayed S. M. A., Murch S. J., Rupasinghe H. P. V. Ve Saxena P. K., 2003. Elevated Carbon Supply Altered Hypericin And Hyperforin Contents Of St. John's Wort (*Hypericum Perforatum*) Grown In Bioreactors. *Plant Cell, Tissue And Organ Culture* Volume 75, P: 143–149

Çizelgeler Dizini

Çizelge No	Çizelge Adı	Sayfa No
Çizelge 4.1.1.1	Kontrol ve farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan <i>H. calycinum</i> L gövde eksplantların dan kallus oluşum frekansı (5. Hafta).....	19
Çizelge 4.1.2.1	Kontrol ve farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan <i>H. calycinum</i> L. yaprak eksplantların dan kallus oluşum frekansı (5. Hafta).....	20
Çizelge 4.1.3.1	Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan <i>H. calycinum</i> L. gövde eksplantlarından elde edilen kallusların taze ağırlıkları (5. Hafta).....	21
Çizelge 4.1.4.1	Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan <i>H. calycinum</i> L. yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların taze ağırlıkları (5. Hafta).....	23
Çizelge 4.1.5.1	Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan <i>H. calycinum</i> L. gövde eksplantlarından elde edilen kallusların hiperisin miktarları (5. Hafta).....	24
Çizelge 4.1.6.1	Farklı manyetik alan şiddetlerine maruz bırakılan <i>H. calycinum</i> L. yaprak eksplantlarından elde edilen kallusların hiperisin miktarları (5. Hafta).....	26

Şekiller Dizini

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1.1.1.	<i>H. calycinum</i> L. genel görünüşü.....	2
Şekil 1.1.2.	Hiperisin' in moleküler yapısı (Lenard ve ark. 1993).....	3
Şekil 3.3.1.	Manyetik alan düzeneği.....	14
Şekil 3.5.1.	Eksplantların besiyerine ekimi (a), 5 hafta sonra kallus oluşan kalluslar (b).....	16
Şekil 4.1.1.1.	Kontrol ve farklı manyetik alan şiddetine maruz bırakılan <i>H. calycinum</i> L. Gövde eksplantlarından oluşan kalluslar (5.Hafta)....	18
Şekil 4.1.1.2.	Manyetik alanın <i>H. calycinum</i> L.' un, gövde eksplantlarından kallus oluşum frekansı üzerine etkisi.....	19
Şekil 4.1.2.1.	Manyetik alanın <i>H. calycinum</i> L.' un yaprak eksplantlarından elde edilmiş kallusların oluşum frekansı üzerine etkisi.....	21
Şekil 4.1.3.1.	Manyetik alanın <i>H. calycinum</i> L.' un gövde eksplantlarının, kallus taze ağırlığı üzerine etkisi.....	22
Şekil 4.1.4.1.	Manyetik alanın <i>H. calycinum</i> L. yaprak eksplantı kallus yaş ağırlığı üzerine etkisi.....	23
Şekil 4.1.5.1.	Manyetik alanın <i>H. calycinum</i> L. gövde eksplantlarından elde edilen kallusların hiperisin miktarları üzerine etkisi.....	25
Şekil 4.1.6.1.	Manyetik alanın <i>H. calycinum</i> L. yaprak eksplantından elde edilen kallusun hiperisin miktarları üzerine etkisi.....	26

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Selim İŞLEKDEMİR

Doğum Yeri: Çanakkale

Doğum Tarihi: 28.07.1981

EĞİTİM DURUMU

Ön Lisans Öğrenimi: Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir M. Y. O., Endüstriyel Elektronik Programı, Ön Lisans, BALIKESİR

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Lisans, ÇANAKKALE

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, ÇANAKKALE

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce (Orta), Japonca (Başlangıç Seviyesi)

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI –Diğer

b) Bildiriler -Uluslararası –Ulusal:

Ulusal Biyoloji Kongresi (Haziran 2008), Poster Sunumu

Sevil YALÇIN, **Selim İŞLEKDEMİR**, Manyetik Alandan Geçirilmiş Suyun Buğday (*Triticum aestivum* L.) Tohumları Üzerine Etkisi

I.Uluslararası Bilim Çalıştayı (Prof. Dr. Suzan Erbaş Anısına) (8-9 Mart 2007)

Doğan S. , **İşlekdemir S.**, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesinde Görev Yapan Öğretim Elemanlarının Türkiye'deki Bilimin Durumu Ve Gelişimi Hakkındaki Görüşlerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Araştırma

I.Uluslararası Bilim Çalıştayı (Prof. Dr. Suzan Erbaş Anısına) (8-9 Mart 2007)

Yalçın S.,Doğan S. , **İşlekdemir S.**, 2004 fen ve Teknoloji Dersi ile 2000 Fen Bilgisi dersi öğretimi Programına göre Hazırlanan İlköğretim 5. Sınıf ders kitaplarının Biyoloji Konularının içerik Analizi ile karşılaştırılması

c) Katıldığı Projeler

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Kısmi Zamanlı, Bilgisayarların Bakım ve Onarımı
(2002)

Bilsat Bilgisayar, Teknik Servis Elemanı ve Satış Sorumlusu (2003 – 2006)

Tesco Kipa, Elektronik Reyon Elemanı (2008 – 2009)

İLETİŞİM

E-posta Adresi: selim_islekdemir@hotmail.com