

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAZDAĞI'NDA YETİŞEN OĞULOTU, ADAÇAYI VE
KEKİK TÜRLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ
YÖNTEMİYLE MUHAFAZASI VE ÇOĞALTILMASI

Onur Sinan TÜRKMEN

Danışman:
Doç. Dr. Hakan TURHAN

Ocak, 2009
ÇANAKKALE

**KAZDAĞI'NDA YETİŞEN OĞULOTU, ADAÇAYI VE
KEKİK TÜRLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ
YÖNTEMİYLE MUHAFAZASI VE ÇOĞALTILMASI**

**Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı**

Onur Sinan TÜRKMEN

**Danışman:
Doç. Dr. Hakan TURHAN**

**Ocak, 2009
ÇANAKKALE**

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

ONUR SİNAN TÜRKMEN tarafından DOÇ. DR. HAKAN TURHAN yönetiminde hazırlanan “KAZDAĞI’NDA YETİŞEN OĞULOTU, ADAÇAYI VE KEKİK TÜRLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMİYLE MUHAFAZASI VE ÇOĞALTILMASI” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Harun BAYTEKİN

Yönetici

Doç. Dr. Hakan TURHAN

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Murat ŞEKER

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi:16/01/2009

Prof. Dr. Neşet AYDIN

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Babam Faruk TÜRKMEN'e ithaf olunur...

TEŞEKKÜR

Dünya görüşü, eğitimlikleri ve üzerimde olan emeklerinden dolayı başta danışman hocam Doç. Dr. Hakan TURHAN'a ve tüm bölüm ve fakülte hocalarıma sonsuz kez teşekkür ediyorum. Kuşkusuz zor zamanlarımda hep yanımda olan halam Dilek KARAHAN ve babaannem Şerife MOCUK'a, mesai arkadaşım Arş. Gör. Fatih KAHRIMAN'a, yüksek lisans arkadaşım Ziraat Mühendisi Özge TOPÇU'ya, tür teşhislerinde önemli yardımı geçen Botanik ve Ekoloji Ana Bilim Dalı Öğretim Elemanı Arş. Gör. Ersin KARABACAK'a ve Zihni'ye çok teşekkür ediyorum. Annem Ayşe TÜRKMEN, abim Ozan TÜRKMEN ve tüm aile bireylerim, benim maddi ve manevi desteklerim başımdan hiç eksik olmayın. Ayrıca bu çalışmayı 2007-16 Proje Numarası ile destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Onur Sinan TÜRKMEN

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BA	Benziladenin
IBA	İndol-3-bütirik Asit
M	Molar
MS	Murashige ve Skoog
NAA	Naftalin Asetik Asit
SD	Serbestlik Derecesi
ssp.	Subspecies (alttür)
2,4-D	2,4 Diklorofenoasetik Asit
μ M	Mikro Molar

**KAZDAĞI'NDA YETİŞEN TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLERDEN OĞULOTU,
ADAÇAYI VE KEKİK TÜRLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMİYLE
MUHAFAZASI VE ÇOĞALTILMASI**

ÖZET

Bu araştırmada, Çanakkale yöresinde ve Kazdağı florasında yetişen bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin doku kültürüne yanıtlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür. *Lamiaceae* familyasındaki *Melissa*, *Oreganum*, *Sideritis*, *Salvia*, ve *Thymus* Kazdağı florasında bulunan bazı tıbbi ve aromatik bitki türleridir. Denemelerde Murashige ve Skoog (MS) temel besi ortamı kullanılmış ve bu bitki türleri üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkileri incelenmiştir. Kekik, oreganum ve oğulotu bitkisinin yetiştiği en uygun ortamın büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamı olduğu bulunmuştur. Adaçayı bitkisinde koyu yeşil ve yumuşak yapıdaki kallus gelişimi MS+0,5mg/l BA+0,5mg/l NAA'lı ortamda, kahverengi sert yapıdaki kalluslar ise 0,5mg/l BA+2,0mg/l NAA besi ortamından elde edilmiştir. Sonuç olarak bu araştırmada incelenen bitki türleri (*Sideritis trojana* hariç) doku kültürüne başarı ile aktarılmış ve çoğaltılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mikroçoğaltım, Kallus, Büyüme Düzenleyici, Flora

Bu çalışma, 2007/16 Proje Numarası ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

IN VITRO PROPAGATION AND CONSERVATION OF LEMON BALM, SAGE AND THYME SPECIES GROWN IN IDA MOUNT

ABSTRACT

In this study, the aim was to determine tissue culture responses of some medicinal and aromatic plants grown in flora of Ida Mount and Çanakkale Region. The study was carried out at Department of Field Crops, Agricultural Faculty, Canakkale Onsekiz Mart University. Lemon balm, oreganum, siderites, sage and thyme which belong to Lamiaceae family were investigated. In the experiments, Murashige and Skoog (MS) was used as basal medium and the effects of different growth regulators on growth of these species were examined. The results showed that the best medium for lemon balm, oreganum and thyme was to be MS medium without growth regulators. In sage, dark green and soft callus growth was obtained on MS medium supplemented with 0.5mg/l BA and 0.5mg/l NAA whereas brown and hard calli were obtained on MS medium supplemented with 0.5mg/l and 2.0mg/l NAA. As a result, all plant species (except *Sideritis trojana*) investigated in this study were successfully transferred to tissue culture and micropropagate.

Key Words: Micropropagation, Callus, Growth Regulators, Flora

This project is supported by Canakkale Onsekiz Mart University Commission of Scientific Research Projects with project number 2007/16.

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU	i
İTHAF	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
BÖLÜM 1- GİRİŞ	1
1.1. Doku Kültürü Yöntemleri	2
1.2. Kazdağı'nın Önemi	4
1.3. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Kullanımı	6
1.4. Araştırmanın Amacı	8
BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	9
2.1. Genel Doku Kültürü.....	9
2.2. Bodur Kekik.....	10
2.3. Oğulotu	10
2.4. İzmir kekiği.....	11
2.5. Adaçayı.....	11
2.6. Sarıkız Çayı.....	12
BÖLÜM 3- MATERYAL VE YÖNTEM.....	14
3.1. Bitki Materyallerinin Floradan Temini	14
3.2. Besi Ortamının Hazırlanması	16
3.3. Eksplant Sterilizasyonu	17
3.4. Kültür İşlemleri	17
3.5. Uygulamalar ve Denemelerin Kurulması	17
3.6. Alınan Ölçüm ve Gözlemler	19
3.7. Deneme Düzeni ve Verilerin Analizi.....	20

BÖLÜM 4- BULGULAR VE TARTIŞMA.....	21
4.1. Bodur Kekik.....	21
4.1.1. Bitki Boyu.....	22
4.1.2. Kullanılabilir Eksplant Sayısı	22
4.1.3. Dal Sayısı	23
4.1.4. Kök Uzunluğu	24
4.1.5. Kök Skoru	24
4.1.6. Yeşil Ağırlık	25
4.1.7. Kuru Ağırlık	26
4.1.8. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon	26
4.1.9. Tartışma	27
4.2. Oğulotu.....	29
4.2.1. Bitki Boyu.....	29
4.2.2. Kullanılabilir Eksplant Sayısı	30
4.2.3. Dal Sayısı.....	30
4.2.4. Kök Uzunluğu	31
4.2.5. Kök Skoru	32
4.2.6. Yeşil Ağırlık	32
4.2.7. Kuru Ağırlık	33
4.2.8. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon	34
4.2.9. Tartışma	35
4.3. İzmir Kekiği	37
4.3.1. Bitki Boyu.....	37
4.3.2. Kullanılabilir Eksplant Sayısı	38
4.3.3. Dal Sayısı	38
4.3.4. Kök Uzunluğu	39
4.3.5. Kök Skoru	40
4.3.6. Yeşil Ağırlık	41
4.3.7. Kuru Ağırlık	41
4.3.8. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon	42
4.3.9. Tartışma	42
4.4. Adaçayı.....	44
4.4.1. Kallus Ağırlığı.....	45
4.4.2. Kallus Renk Skoru	45

4.4.3. Kallus Sertlik Skoru	46
4.4.4. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon	47
4.4.5. Tartışma	47
4.5. Sarıkız Çayı.....	49
BÖLÜM 5- SONUÇ VE ÖNERİLER.....	50
KAYNAKLAR.....	51
TABLolar	I
ŞEKİLLER	III
YAŞAM ÖYKÜSÜ	VI

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Biyoteknolojinin kullanımı çok eski zamanlara uzanmaktadır, ilk kez Sümerliler tarafından bira ve ekmek yapımında mayaların kullanılmasıyla başladığı bilinmektedir (Krishna ve Reddy, 2005). Biyoteknoloji tanım olarak kısaca canlı organizmaların belirli amaçlar doğrultusunda teknolojiye kullanılması anlamına gelmektedir. Günümüzde biyoteknoloji; mikroorganizma, hücre, doku, organ vb. biyolojik yapıların insan yararına değiştirilmesi, kullanılması ve çoğaltılması üzerine çalışan bilim dalı olarak da tanımlanabilir. Tarımsal biyoteknoloji çalışmalarının temelini ise doku kültürü yöntemleri oluşturmaktadır. Doku kültürü kısaca bitkilerin steril ortamlarda üretilmesi şeklinde tanımlanabilir. Doku kültürü yöntemlerinin uygulama alanları geniş bir çeşitlilik gösterir. Bunlar;

- Bilimsel çalışmalarda bitkilerin gelişimleri ve gelişim mekanizmalarının incelenmesi,
- Islah materyalinin hızlı ve güvenli bir şekilde geliştirilmesi,
- Genetik olarak birbirinin aynısı bitkilerin üretilmesi,
- Hastaliksız, sağlıklı bitkilerin laboratuvar koşullarında çoğaltılması ve muhafazası,
- Bir bitki kısmı kullanılarak çok sayıda bitkinin elde edilmesi,
- Mevsime bağlı kalmadan anaç bitki materyallerinin laboratuvar ortamında üretilmesi,
- Bitkisel ilaç, antioksidan, gıda katkı maddesi ve kozmetik ürünlerinin saf ve yoğun miktarlarda üretilmesi,
- Bitkisel enzim, protein vb. ürünlerin elde edilmesi,
- Gen kaynaklarının korunma altına alınması olarak sayılabilir.

Ülkemiz coğrafi konumu ve iklim şartlarının uygunluğu sebebiyle birçok bitki türünü barındırmaktadır. 1999 yılı FAO verilerine göre, Avrupa'da var olan bitki çeşitliliğinin yaklaşık 11.000 tür civarında olduğu saptanmıştır. Bu bitki türlerinin yaklaşık 9.500 tanesinin ülkemizde bulunduğu ve bunların içerisinde 3.000 kadarının endemik türler olduğu belirlenmiştir. Bu yönüyle ele alındığında ülkemiz gerek endemik türler gerekse gen kaynakları varlığı bakımından oldukça zengin bir birikime sahiptir. Dünya nüfusunun %80 kadarının halk sağlığı ve beslenme ihtiyacında, ilaç sektörünün ise hammadde ihtiyacının %25'e yakını, tıbbi ve aromatik bitkiler karşılanmaktadır. Dünyada yaklaşık

13.000 bitki türü ilaç olarak kullanılmaktadır. Günümüzde 100.000 bileşik bitkilerden elde edilmekte ve her yıl bu rakama yaklaşık 4.000 bileşik eklenmektedir. Gelişmiş ve gelişmekte olan bir çok ülkede yoğun (entansif) tarıma alternatif olarak tıbbi ve aromatik bitki tarımı desteklenmektedir. Bu sayede tarım alanlarının sürdürülebilirliği artmakta, biyoçeşitlilik desteklenmekte, tarımsal gelir kolları çeşitlenmekte, tarıma bağlı sanayi gelişmekte, yeni iş kolları genişleyerek işsizlik sorunun azalmasına çözüm önerisi sunulmaktadır (Kızmaz, 1999).

Tedavisi geliştirilememiş kanser, alzaimer, parkinson, aids gibi birçok hastalığa bitkisel tedavi yolları aranmaktadır. Dünya üzerindeki birçok araştırma kuruluşunda hastalıklara bitki odaklı çözüm geliştirilmiş ya da geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bazı kanser türlerine ise de bitkisel çözümler getirilmiştir. Bu bitkilere en önemli örneklerin başında porsuk ağacı (*Taxus brevifolia*) taksol etken maddesi (göğüs kanseri) ve rozet çiçeği bitkisi Vincristine etken maddesidir (kemoterapi) (Fowler, 2006; Cordell ve diğ., 2001; Mulabagal ve Tsay, 2004). Bazı bitkiler ekonomik ve sağlık açısından önemli kimyasal bileşiklerini yoğun miktarlarda üretirken, bazı bitkiler ise çok düşük oranlarda biyokimyasallar üretir, bazı bitki türleri ise bitki yaşının ilerlediği çok geç dönemlerde önemli bileşiklerini üretir. Tıbbi ve aromatik açıdan bu derecede önemli olan bitki kimyasallarının yoğun miktara yakın düzeyde üretilmesi bitki doku kültürü yöntemleri kullanılarak gerçekleşir. Son zamanlardaki çalışmalarda oğulotu, adaçayı gibi *Lamiacea* ailesine ait bitkilerin düşük miktarda ürettikleri bazı biyokimyasallarının alzaimer gibi hastalıkların tedavisinde olumlu sonuç verdiği rapor edilmektedir (Akhondzadeh ve diğ., 2003 a, b; Perry ve Pickering, 1999).

1.1. Doku Kültürü Yöntemleri

Bitki doku kültürü, bitki besin elementleri, vitaminler, su, katılaştırıcı ve gerekli durumlarda bitki büyüme düzenleyicileri eklenen ağzı kapalı ışık geçirebilen steril kaplarda, sterilize edilmiş bitki materyalinin, steril kabin altında bu kaplara yerleştirilerek yerleştirilmesi işlemidir. Doku kültürü yöntemi steril koşullarda, sürekli ve aynı genetik yapıya sahip bitkilerin üretimidir (Ahloowalia ve diğ., 2002). Bitkinin gelişmesi için en uygun çevre şartları (pH, ışık, sıcaklık ve nem) ve istenmeyen mikrobiyal gelişimler kontrol altında olmalıdır.

Bitki doku kültürü farklı yöntemler altında toplanmaktadır. Eksplant adı verilen yeni bitkiyi oluşturacak bitki parçasının ana bitkinin hangi kısmından alındığına, üretilecek formuna ve gelişim safhalarına göre (meristem, organ, anter, ovül, kallus, hücre, protoplast, somatik embriyogenesis vb. kültürler) farklı yöntemlerle isimlendirilir.

Doku kültüründe en yaygın ve etkili olarak kullanılan yöntem meristem kültürüdür. Meristem kültürü, bitkilerin büyüme konileri bulunan koltuk altı ya da tepe sürgünlerinin eksplant olarak kullanılarak yapıldığı çoğaltım tekniğidir (Turhan, 1997). Bitkisel üretimde meristem kültürü yönteminin kullanılmasının diğer yöntemlerden üstün yanı somoklonal varyasyon riskinin daha az olması yanında daha kolay ve ucuz bir yöntem olmasıdır.

Organ kültürü, bitkiden elde edilmek istenen etken maddenin yoğun olduğu kök, sürgün gibi organların, bitki büyüme düzenleyicileri yardımıyla diğer organlar olmadan, üretildiği doku kültürü yöntemidir. Organ kültürü ile metabolit üretimine en fazla üzerinde durulan örnek genetik stabilite ve yüksek üreme katsayısına sahip olması nedeniyle; kök oluşumuna neden olan *Agrobacterium rhizogenes* bakterisi yardımıyla olanıdır (Giri ve Narasu, 2000). Kök oluşumuna neden olması dolayısıyla kök oranını artırarak kökte yer alan ikincil metabolit üretiminde artış sağlamaktadır. Ayrıca farklı uygulamalarla da kök oranının artırılması üzerine çalışmalar da yapılmaktadır (Suresh ve diğ., 2005; Savitha ve diğ., 2005). Tekstil ve kozmetik sanayisinde kullanılan *Alkanna tinctoria* bitkisinde Alkannin ikincil metabolizma ürününü üretmek amacıyla Gerardi ve diğ. (1998) olgunlaşmamış tohumlarla başladıkları 2,4-D'li büyüme düzenleyicili MS ortamında iki farklı kök kültürü hattına ulaşmışlardır. Alt kültüre aldıkları kök kültürlerinde en yüksek alkannin seviyesine alt kültürden 6 gün sonra, 2,4-D büyüme düzenleyicili, katılaştırıcısız ve amonyum tuzsuz ortamda ulaşılmıştır.

Kallus kültürü, yara dokusu oluşturularak bu dokuların üretildiği doku kültürü yöntemidir. Organ oluşumunun gerçekleşmediği, farklılaşmanın olmadığı, yara dokularına kallus denilmektedir. Oksin ve sitokinin grubu büyüme düzenleyici miktarlarının dengelendiği durumlarda oluşan kallus hücreleri sürekli bir çoğalma eğilimindedir ancak etken fitokimyasal içerikleri bütün bitkide bulunan miktardan daha düşüktür (Bourgand ve diğ., 2001). Bu nedenle kallus kültürüyle biyo elementlerin üretilmesi düşünülmez. Kallus kültürü, süspansiyon kültürünün başlangıcı ya da organ oluşumuyla seri üretimin amaç edinildiği bir geçiş kültürüdür.

Hücre süspansiyon kültürü, üretilen kallus hücrelerinin serbest forma geçirilerek sıvı besi ortamına yerleştirilip sürekli çalkalama yoluyla ortam içinde homojen dağıtılmasıyla üretilmesidir (Hartmann ve diğ., 2002). Böylece hücreler çoğaldıkça hücrelerin ürettiği ikincil metabolizmaların üretimi gerçekleştirilebilir, diğer yandan da sıvı ortamın her damlasında hücre bulunması sebebiyle yeni bitki geliştirilmesi için eksplantlar yerine bu sıvı kullanılabilir. Kallus kültüründe olduğu gibi süspansiyon kültüründe de ikincil metabolizma ürünlerini arttıracak koşullar sağlanmalıdır. Hücre kültürünün bir sonraki aşamasında gen transferi ve somatik melezleme çalışmaları da uygulanabilmektedir.

Hücre süspansiyon kültürünün otomasyon sistemlerle kontrol edildiği yetiştirme ortamına biyoreaktör denilmektedir. Karıştırıcılarla sirkülasyon sağlanarak, eksilen bitki besin elementleri, vitamin ve büyüme düzenleyiciler bilgisayarlı sistemlerle biyosensör adı verilen mekanizmalar ile besin elementleri, pH, sıcaklık vb. otomatik olarak kontrol edilerek ilave edilir. Bitki hücrelerinin ilk olarak biyoreaktör benzeri yapıdaki bir cihazda alt kültüre alınışı 1950 yılında Nickell ve Burkholder isimli iki araştırmacı tarafından yapılmıştır (Caplin, 1963).

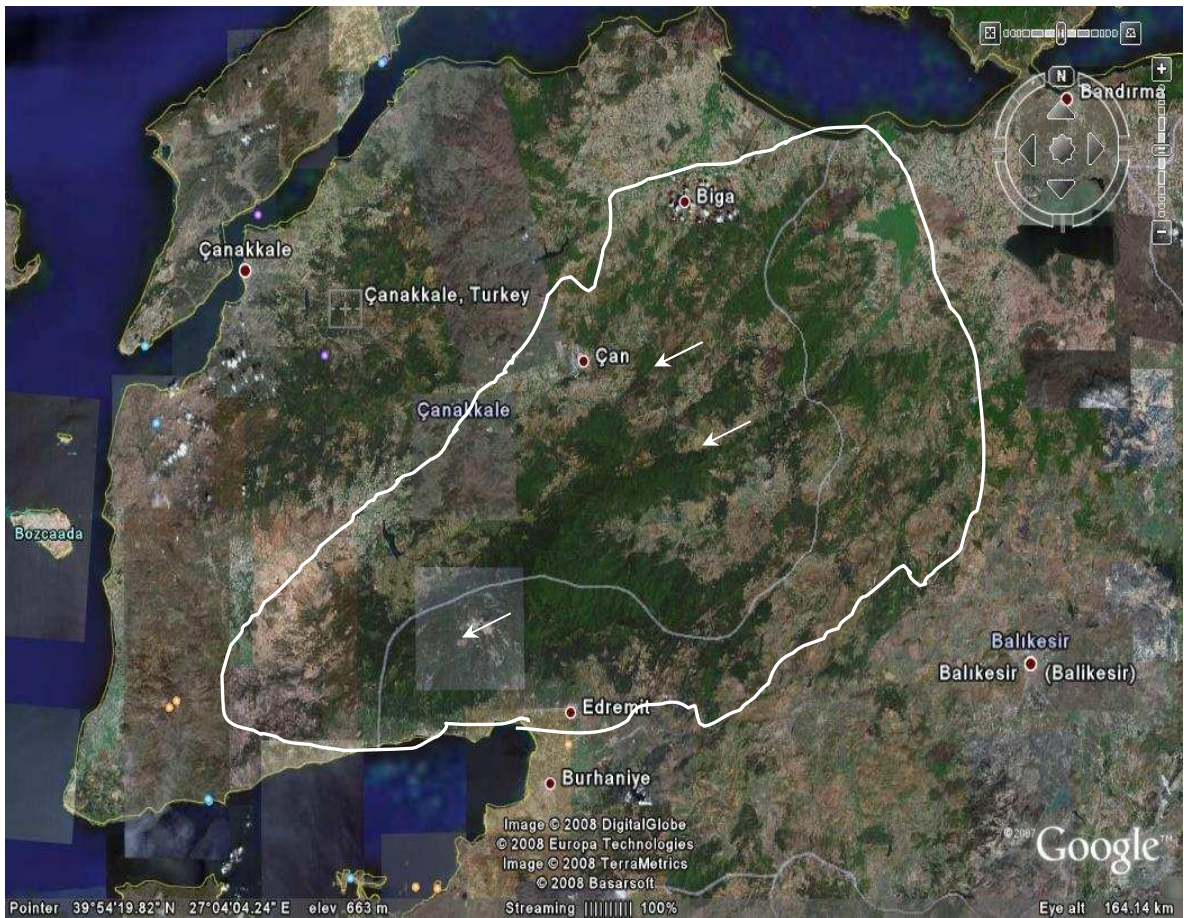
Bitkiler, canlılar yararına çalışan kimya fabrikaları olarak düşünülebilir. Biyoreaktörler de bu kimyasal tepkimelerin amaca göre yönlendirildiği seri üretim bantlarıdır. Kimyasal elementler yetiştirme ortamına eklenerek üretilmek istenen ikincil metabolizma ürünlerinin bitki tarafından üretilmesi gerçekleştirilir. Bir diğer yol da substrat olarak gerekli bileşik yetiştirme ortamına ilave edilerek bitkide gerçekleşen kimyasal dönüşümlerin tamamı yerine son basamaktaki tepkimenin gerçekleşmesi sağlanır. Böylelikle ikincil metabolitler daha etkin ve yoğun bir şekilde elde edilmiş olur. Bu amaçla çeşitli biyoreaktörler geliştirilmiştir, bu araçlarla bitki hücre kültürleri dışında antifungal, antiviral ve antimikrobiyal birçok ürün üretilmektedir (Bourgauğ ve diğ., 2001).

1.2. Kazdağı'nın Önemi

Kazdağı'nda yetişen 32 bitki türünün ve 80 bitki taksonunun (endemik) dünya üzerinde yalnızca bu yükseltide yetişmesi sebebiyle Kazdağı bir dünya mirasıdır (Satıl ve diğ., 2006). Ayrıca Kazdağı'ndan kültüre alınıp ekonomik üretimi yapılan ve yöredeki insanlar tarafından toplanarak çevre halk pazarlarında satılan kayıt altına alınmayan çok sayıda bitki türü bulunmaktadır. Kazdağı'nın bir kısmı 1993 yılında 2873 sayılı yasa

gereğince Milli park sınırlarına dahil edilmiştir. Milli Park sınırları içerisindeki türler, yerinde koruma altına (*in situ*) alınmıştır, yerinden uzak kontrol altında (*ex situ*) koruma ise kısmı türlerle sınırlı olarak bazı üniversite demonstrasyon bahçelerinde yapılmaktadır.

Kazdağı ve birçok orman varlığı, zararlı ve hastalık salgınları, küresel ısınma, altın, bor gibi değerli yeraltı kaynaklarının arama ve çıkarma aktiviteleri sonucunda tehlike altında kalmaktadır. Bu biyotik ve abiyotik tehlikeler birçok değerli canlı türünün yok olması anlamına gelmektedir. Kazdağı bu tehlikeler altında olması nedeniyle ülke gündeminde sıkça yer almaktadır.



Şekil 1. Beyaz çizgi ile çevrelenmiş alan Kazdağı yükseltilerini ve okla işaretlenen kısımlar örneklerin alındığı yerleri göstermektedir (Anonim, 2008).

1.3. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Kullanımı

İnsanoğlu tıbbi ve aromatik bitkileri çok uzun yıllardır kullanmaktadır. Sentetik kimyasalların kullanılmasında bazı sorunlar gözlenmeye başlanmıştır. Tarımda ve tıpta ilaç ve gıda sanayisinde kullanılan sentetik birçok kimyasalın yan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bu nedenle doğal bitkisel ilaç kullanımına dönüş başlamıştır ve ilaç piyasasında çok sayıda bitkisel ilaç yer almaktadır. Tedavi ve sağlıklı yaşam amaçlı üretilecek olan bitkisel ürünlerin üretiminden işlenmesine kadar geçen sürede de biyoteknoloji bilim dalı adına görev düşmektedir.

Türkiye florasında yaklaşık 9.000 bitki türü yer almaktadır ve bunların 500'ü tıbbi ve aromatik amaçlı kullanım potansiyeline sahiptir (Nakipoğlu, 1996). Tıbbi ve aromatik bitkilerin önemi ve bunlara olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Dünyada 100'ü aşkın tıbbi ve aromatik bitki türünün tarımı yapılırken ülkemizde yalnız 15 türün küçük alanlarda tarımı yapılmaktadır (Arslan, 1997). Türkiye de *Salvia* cinsine ait 87 tür bulunmaktadır (Davis, 1982).

Çanakkale yöresi tıbbi ve aromatik bitkiler bakımından zengin kabul edilen yerlerden birisidir. Özellikle Kazdağı çok sayıda bitki türünü barındırması açısından dünyaca öneme sahiptir. Davis (1965-1988)'in kayıtlarına göre Kazdağı'nda 355 bitki türü bulunmakta, bunların 116 tanesi tıbbi ve aromatik özellik içermektedir.

Bitki yapılarındaki bitki biyokimyasallarının saf orana yakın eldesi, doku kültürü yöntemleriyle mümkündür. Bu işlem biyoreaktörler adı verilen yoğun etken madde üretimi için geliştirilmiş özel üretim tanklarında yapılmaktadır. Bitkisel üretimde yararlanılan bu üretim modeli tıbbi ve aromatik bitkilerden yararlanarak yapılmaktadır. İlaç, koku, tat ve aroma sanayisinde kullanılan tıbbi ve aromatik bitkilerin bazılarının yararlanılan etkili madde miktarları bitki tarafından çok düşük oranda üretilmektedir. Biyoreaktörler bu ürün miktarlarının artırılmasında kullanılmaktadır. Dudak çiçekli bitkiler (*Lamiacea*) ailesi önemli biyokimyasal içeriklerinin olduğu bitki ailesi olması ve düşük miktarlarda önemli etken madde içermeleri dolayısıyla en önemli tıbbi ve aromatik bitkiler grubudur. Bu yoğun üretim için öncelikle bitkilerin sterilizasyonu, üretimi ve etken maddenin en yüksek veriminin olduğu gelişim şartlarının incelenmesi gerekmektedir.

Fide ve tohumluk amaçla tıbbi ve aromatik bitkilerin geliştirilmesi ve anaç üretimi için doku kültürü yöntemi uygun bir yöntemdir. Aynı genetik yapıya sahip tıbbi ve aromatik bitki fidanlarının iklime bağlı kalmaksızın çok fazla sayıda üretilmesi doku kültürü yöntemiyle sağlanır. Bu durum tek bitki klonu kullanılarak aynı anda hasat yapılabilecek, yüksek yeşil ağırlığa ve etkili madde miktarına sahip bitkilerin üretilmesine olanak sağlar. Mutasyon ıslahı yöntemi, hücre füzyonu ya da anter kültürü yöntemiyle geliştirilecek tohumluk materyaller, diğer yöntemlere oranla ıslah süresinin kısalmasına sebep olacaktır.

Doku kültürü yöntemleriyle *ex situ* koruma şeklinde önemli gen bankalarının oluşturulması sağlanmaktadır. Yok olma tehlikesi altındaki ve önemli gen kaynaklarının steril şartlarda üretilmesi ve uzun yıllar steril şartlarda koruma altına alınması doku kültürü yöntemiyle sağlanarak doğal mirasa sahip çıkılması sağlanmaktadır.

Adaçayı, halk arasında antimikrobiyal, antibiyotik ve boğaz iltihaplarının giderilmesi amacıyla kullanılır. Salvin, carnosol asit, cirsimaritin ve cineol oranı yüksek, alpha-thujone, beta-thujone, oleanolic asit, thujone oranı düşük olması istenmektedir (Saraçoğlu, 2005). Adaçayı kullanılan bitkisel çayların tüketimi yönünden ilk sırada gelir. İngiltere’de pazar ve üretimi olan 10 önemli bitkiden birisidir. Dünya üzerinde 3 600 000 İngiliz Sterlini tutarında ticaretinin olduğu bilinmektedir. Tipik bir Akdeniz bitkisi olan tıbbi adaçayı özellikle Avrupa’nın güney kısımlarında kireçli bölgelerde yetişmektedir. Dalmaçya ve Makedonya’nın deniz seviyesinden 800m yüksekliğe kadar olan bölgeleri asıl gen kaynağı olarak gösterilen adaçayının yabani formlarına orta Avrupa’da da rastlanılmaktadır (Ayanoglu, 1999). Ülkemizin yıllık adaçayı ihracatı yılda 1,5 milyon dolar civarındadır (Anonim,1997).

Oğulotu türlerinin gen merkezi güney Avrupa, ön Asya ve kuzey Amerikanın güney kısımlarıdır (Sarı ve diğ., 2001). Oğulotu geleneksel olarak yaygın bir şekilde sakinleştirici, spazm giderici ve antibakteriyel olarak (Bağdat ve Coşge, 2005), ve uyku düzenleyici özelliğe sahiptir, bayan hastalıkları ve mide rahatsızlıklarında da ağrı kesici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda adaçayı ile birlikte kullanımının Alzaimer rahatsızlığı üzerine olumlu sonuçları olduğu bilgisine ulaşılmıştır. Önemli bileşikleri; citral (gerenial ve neral), citronellal, linalool, geronioldür. Oğulotu’nun üretilmesindeki en büyük

güçlük yağ üretiminin ve uçucu yağ miktarlarının çok düşük olmasıdır. Bitkinin toprak üstü kısımlarındaki ortalama uçucu yağ miktarı %0,14 olduğu bildirilmektedir (Turhan, 2006).

Thymol ve carvacrol kekiğin önemli etken maddeleridir. Türkiye, dünya bitki ticaretinde, Çin ve Hindistan'dan sonra üçüncü ülke durumundadır. İhraç edilen yıllık doğal bitki miktarı 30.000 ton civarındadır (Satıl ve diğ., 2004). Çeşitli adlarla ihraç edilen bitkiler arasında "kekik" adıyla toplanıp satılanların miktarı ise 8.000 ton civarındadır (Satıl ve diğ., 2004).

Gen merkezi Akdeniz olan ve Dünya'da 38 türü bulunan oreganumun 24 türü Türkiye'de doğal florada bulunmaktadır ve 16 alt türü de endemiktir. Yemek soslarında, çorba, salata ve et yemeklerinde kullanılan İzmir kekiğinin iyi bir antiseptik, mide ağrı giderici, balgam söktürücü ve terletici etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Tepe ve diğ., 2004).

1.4. Araştırmanın Amacı

Bu araştırmanın amacı, önemli tıbbi ve aromatik bitkilerden olan adaçayı, bodur kekik ve oğulotu türlerinin doku kültürüne alınması ve çoğaltılması için uygun besi ortamlarının belirlenmesidir. Ayrıca denemeler sonunda bu bitkilerin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda muhafazası da amaçlanmaktadır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Genel Doku Kültürü

White (1943) tarafından yayınlanan bitki doku kültürü el kitabında, bitki doku kültürü başlangıcının, hücre ve totipotensi teoreminin ortaya atıldığı, 1834-1900'lü yıllar olarak bildirilmektedir. Yine aynı kaynakta ilk bitki doku kültürü çalışmaların 1893 yılında Rechinger tarafından başlandığı ve Rechinger'in en uygun yetiştirme ortamı ve çoğaltım için en küçük bitki parça büyüklüğü üzerine ilk çalışmayı yaptığı anlatılmaktadır. 1902 yılında Gottlieb Haberlandt fotosentetik sürece yeni bir yaklaşımda bulunduğunu bildirmektedir. Totipotensi teoremini genişleterek uzun yıllar bitki doku kültürü üzerine çalışarak ün kazanan Haberlandt 1920'li yıllardaki modern biyoteknoloji ve doku kültürü çalışmalarlarıyla bilim dalına yön vermiştir.

Murashige ve Skoog (1962)'un beş yıllık bir çalışmanın ürünü olan *Solanaceae* familyası gelişimi için en uygun doku kültürü ortamı olan kendi adlarıyla bilinen Murashige ve Skoog (MS) besi ortamını geliştirmeleri bitki biyoteknolojisi için çok önemli bir gelişme olarak kabul edilir.

Joos ve diğ. (1983), 1970–1975 yılları arasında *Agrobacterium tumefaciens* bakterisi yardımıyla gen aktarımı bitki biyoteknolojisinin yanı sıra bilim dünyası açısından da bir milat olduğunu belirtmektedir.

Misawa (1994) yayımladığı kitabında besi ortamında kullanılacak oksin miktarının genellikle 0,1 ile 50µM arasında olduğunu ve bitki türlerine göre çeşitlilik gösterdiğini ifade etmiştir.

Leyser (1998), bitki hormonları üzerine hazırladığı derlemesinde, aynı yoğunluktaki hormona, farklı türlerin, dokuların, farklı gelişme evrelerinin, çok farklı tepkiler vereceğini belirtmiştir.

Leonardi ve diğ. (2001), Gravilya bitkisinin iki farklı türünün üretilmesi ve köklendirilmesi üzerine yaptıkları çalışmada oksinin köklenmede ve sitokinin sürgün oluşumunda türler üzerine etkilerinin farklı olduğunu saptamışlardır.

Frimpong ve diğ. (2008) maun ağacının vejetatif üretimi üzerine yaptıkları çalışmada IBA konsantrasyonunun ve bitki yaşı ve köklenmesi üzerine etkisini incelemiştir.

Araştırmamızda yer alan bitki türlerine ait önceki çalışmalar aşağıda alt başlıklar halinde sunulmuştur.

2.2. Bodur Kekik

Erdağ ve diğ. (1999) kekik türü *Thymus sipyleus*'un doku kültürü yöntemiyle kültüre alma çalışmalarında *Thymus sipyleus*'un yaprak ve yaprak sap eksplantları ile 0,4mg/l NAA ve 3,0mg/l BA ilaveli MS ortamında % 100 verimle kallus oluşturmuşlardır.

Tiseserat ve diğ. (2002) *Thymus vulgaris*'in *in vitro* ortamda, oluşturdukları yapay oksijen ve karbondioksit atmosferinin bitki gelişimini, morfogenezini ve ikincil metabolit değişimleri üzerine etkilerini incelemiştir. MS besi ortamıyla oluşturdukları büyüme düzenleyicisiz ortamda en yüksek thymol seviyesine %10 ve %21 oksijenli ortamda ulaşılmıştır.

Thymus mastichina bitkisinin doku kültürü ortamında triacontanol uygulamasına tepkisini uçucu yağ verimi açısından incelemiştir. Uçucu yağ veriminde triacontanol uygulaması ile bir artış gözlemlenmiştir ancak diğer bitki büyüme düzenleyicileri ile bir korelasyon gözlemlenmemiştir (Fratenale ve diğ., 2003).

2.3. Oğulotu

MS doku kültür ortamında oğulotu bitkisinde % 95 uyum ile en etkili sürgün ve en güçlü kök oluşumunu 5,71 µM IAA ve 13,9 µM kinetin ilavesiyle sağlamışlardır (Meszaros ve diğ., 1999).

Tantos ve diğ. (1999), oğulotu bitkisi üzerine yaptıkları doku kültürü çalışmasında triacontanol bitki büyüme düzenleyicisinin kök miktarı ve uzunluğu üzerine olumlu etkide bulunduğu, canlı ağırlığı klorofil içeriğini ve sürgün gelişimini teşvik ettiği ve bitki kuru madde miktarı ve fotosentetik aktivite üzerinde olumsuz bir etkide bulunmadığı belirlenmiştir.

Silva ve diğ. (2005), MS besi ortamı kullanılarak bitki büyüme düzenleyicilerinin oğulotu bitkisi gelişimi üzerinde etkisini incelediği bir çalışmada 11,42 µM IAA'nın en etkili sürgün gelişimini teşvik ettiği sonucuna ulaşmışlardır.

2.4. İzmir kekiği

Goleniowski ve diğ. (2003), *Oreganum vulgare*×*applii* bitkisinin doku kültürü yöntemiyle üretilmesi üzerine çalışmışlardır. En iyi gelişimi 0,28µM BA ve 0,53µM NAA katkılı MS ortamında (22,2 boğum/ bitki) gözlemlemişlerdir.

El-Gengaihi ve diğ. (2006) oreganum türlerinin *in vitro* kallus üretimi üzerine bir çalışma yapmışlardır. 2,4-D, NAA ve BAP'ın farklı yoğunluklarıyla yaptıkları çalışmada en yüksek kallus verimine *Oreganum vulgare* türünde ulaşmışlardır. Moleküler ve etken madde incelemelerinde üzerinde çalıştıkları türler arasında önemli farklılıkların olduğunu tespit etmişlerdir.

2.5. Adaçayı

Morimoto ve diğ. (1994) *Salvia miltiorrhiza*'dan kallus kültürü yöntemiyle Litospermik asit B ve Rosmarinik asit ürettiklerini kayıt etmiştir.

Lui ve diğ. (2000), (*Salvia sclarea*) adaçayı bitkisinde doku kültürü yöntemi ile olgunlaşmamış tohum embriyosundan organogenesis ile bitki üretimi ve çoğaltımı üzerine çalışmışlardır. Kallus oluşumunu 9,05µM 2,4-D'lı ortamda sağlayarak en uygun organogenesisi düşük konsantrasyon olan IAA, IBA (0,98µM)'lı ortamlarda elde etmişlerdir.

Karam ve diğ. (2003), (*Salvia fruticosa*) yabani adaçayı bitkisinde kallus, hücre süspansiyon kültürüyle rosmarinik asit üretimi üzerine çalışmışlardır. En yüksek kök gelişimi oranı ve rosmarinik asit verimine (2,62mg/100mg kuru ağırlık) B5 ortamında 2,7µM NAA ve %4 sukroz ilavesiyle ulaşmışlardır. En büyük kallus oranına (0,79 g) MS ortamında 6,9µM TDZ ve 3,0µM IAA ilavesiyle ulaşılmıştır.

Botla ve diğ. (2003), (*Salvia officinalis*) adaçayı bitkisinde hücre süspansiyon kültürü ile biyokütle üzerine çalışmışlardır. MS ortamında 10,5µM NAA ve 4,5µM N₆-BA ilaveyle, 5- 7,7g/l ursolik asit üretimi gerçekleştirmişlerdir.

Kintzios ve diğ. (2004), (*Salvia officinalis*) bitkisinde kinetin ve 2,4-D bitki büyüme düzenleyicilerinin, rosmarinik asit miktarı üzerine etkisini incelemişlerdir. 4,5µM 2,4-D uygulamasıyla 25,9g/l, kinetin uygulamasıyla da 29,0g/l rosmarinik asit oluşumunun en etkili miktar olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

2.6. Sarıkız çayı

Sideritis angustifolia bitkisinin tekli hücre kültürü üzerine yapılan çalışmada sürgün tomurcukları rejenerasyona en iyi 0,5µM NAA ve 8,8µM BA'lı MS ortamında ulaşıldığı bildirilmektedir (Sanchez-Gras ve Segura, 1988).

Sideritis angustifolia yaprak ekspantından bitki rejenerasyonunu etkileyen faktörler üzerine yapılan çalışmada, ışığın sürgün rejenerasyonu üzerine olumlu etkide bulunduğunu, diğer yandan yaprak ekspantından gelişmiş olan kallusların, hipokotil kültüründen daha iyi bir rejenerasyon kabiliyetine sahip olduğu bulunmuştur (Sanchez-Gras ve Segura J., 1989).

Granados ve diğ. (1994), *In vitro* ortamda doku kültürü yöntemiyle üretilen *Sideritis foentes* bitkisinden biyolojik aktivite ile ondokuz farklı ürün üretmişlerdir.

Sideritis angustifolia protoplastlarının izolasyonu, kültürü ve rejenerasyonu üzerine yapılan çalışmada 6,0µM BA+2,0µM NAA ilaveli sıvı MS ortamında protoplastlar ayrılmış ve kallus miktarı artmıştır. Sonrasında 8,0µM BA ve 2,0µM NAA'lı ortama alınan kalluslarda adventif sürgünler görülmüştür bu sürgünler hormonsuz MS ortamında kolayca köklenerek üretilmiştir (Faria ve diğ., 1998).

Erdağ ve Yürekli (2000) *Sideritis Sipylea* Boiss. üzerine yaptığı uygulamalar içerisinde kallus gelişiminin yalnızca 0,4mg/l NAA+ 3,0mg/l BA içerikli MS besi ortamında olduğunu vurgulamaktadır.

Obon de Castro ve Rivera-Nunez 1994 yılında yaptığı çalışmaya göre Kafkasya'dan Kanarya adaları arında kalan bölgede *Sideritis* bitkisinin 150'den fazla türü bulunur. Huber-Morath (1982)'a göre de Türkiye florasında bulunan 46 *Sideritis* türünden 36'sı ve 10 tane alttürü de endemiktir. Linearol *Sideritis trojana* bitkisinin temel bileşeni olarak bulunmuştur (Aslan ve diğ., 2006).

Akı ve orduk (2008) *Sideritis trojana* bitkisinin kallus gelişimi üzerine yaptıkları çalışmada 3,0mg/l Kinetin+0,1mg/l 2,4-D içerikli MS ortamında kallus gelişiminin olduğunu gözlemişlerdir.

BÖLÜM 3

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışma 2006-2009 yılları arasında Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dardanos Tarla Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama Arazisi, Aklimitizasyon Odası, Tarla Bitkileri Bölümü Doku Kültürü ve Biyoteknoloji Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

3.1. Bitki Materyallerinin Floradan Temini

Arazi çalışmaları, yöreye yapılan teknik ziyaretler ve yazılı kaynaklardan yararlanarak hedeflenen bitkilerin doğal yetiştiği alanlar belirlenmiştir (Davis, 1962). Yılın belli dönemlerinde Kazdağı'na araziye çıkılarak bitkiler tohum ve çelik şeklinde laboratuvar ortamına getirilmiştir. Bitkilerin alındığı mevkiiler ve alınan kısımları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Kazdağı florasından toplanan bitki türleri ve bulunduğu yerler

Bitki Türü	Bitki Örneği	Toplandığı Yer
Adaçayı (<i>Salvia tomentosa</i>)	Köklü	Çan İlçesi Ormanlık Alan
Bodur kekik (<i>Thymus longicaulis</i>)	Tohum	Kazdağı Sarıkız Mevkii
Oğulotu (<i>Melissa officinalis</i>)	Köklü	Kalkım İlçesi Ormanlık Alan
İzmir kekiği (<i>Oreganum onites</i>)	Tohum	Kalkım İlçesi Ormanlık Alan
Sarıközçayı (<i>Sideritis trojana</i>)	Köklü	Kazdağı Sarıkız mevkii

Bitki örnekleri laboratuvar ortamında saksılara dikilip, uygun dönemlerde Dardanos Yerleşkesi Tarımsal Uygulama ve Araştırma alanına dikilmiş. Bitkilerin teşhisi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü tarafından yapılmıştır. Toplanan bitkilere ait bazı fotoğraflar aşağıda sunulmuştur (Şekil 2).



Şekil 2. Bodur kekik bitkisi *Thymus longicaulis* (Kazdağı zirve-Özgün).



Şekil 3. (a) Oğulotu Kazdağı yerel ekotip bitkisi (b) Yerel Oğulotu hattı (Özgün).



Şekil 4. *Sideritis trojana* Sarıkız çayı *ex-situ* koruma Terzioğlu Yerleşkesi (Özgün).

3.2. Besi Ortamının Hazırlanması

Murashige ve Skoog (1962) temel besi ortamı birçok bitki türünün doku kültürü uygulamasında kullanılmaktadır (Tablo 2). Besi ortamına %3'lük sukroz eklenip, deneme planına göre büyüme düzenleyiciler eklenerek, pH 5,7–5,8'ye ayarlanmıştır. Denemelerde 0,4 litre hacminde otoklava dayanıklı vidalı kapaklı plastik kaplar kullanılmıştır. Besi ortamına sterilizasyon öncesinde %2,5 Gellan-gum katılaştırıcı olarak ilave edilmiştir. Her bir kaba 40 ml besi ortamı konularak 1,06 atm basınçta 121°C'de 20 dakika süreyle otoklav edilmiştir.

Tablo 2. MS Besi Ortamı İçeriği

Kimyasal	Miktar (mg/l)
KNO ₃	1900,0
NH ₄ NO ₃	1650,0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370,0
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440,0
KH ₂ PO ₄	170,0
Na ₂ EDTA	33,6
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3
KI	8,6
H ₃ BO ₃	6,2
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,83
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
Nicotinic acid	0,5
Pyridoxine-HCl	0,5
Thiamine-HCl	0,1
Glycine	2,0
Myo-Inositol	100,0

3.3. Eksplant Sterilizasyonu

Kazdağı'ndan alınan örnekler su ile temizlenip 3 kez sıvı sabunla yıkanıp durulanmıştır. 30sn %70'lik etil alkol sonrasında 20dk %20'lik ticari çamaşır suyu (%1'lik sodyum hipoklorid) ile muamele edilmiştir. Steril kabin altında ve steril şartlarda steril saf su ile 3 kez durulanarak bitki büyüme düzenleyicisiz MS içerikli yetiştirme kaplarına dikimi gerçekleştirilmiştir.

3.4. Kültür İşlemleri

Tohumlar sterilizasyon sonrası MS besi ortamında çimlendirilerek steril bitkiler elde edilmiş ve eksplantlar bu bitkilerden alınmıştır. Meristem kültürü işlemi koltuk altı sürgünlerinden ortalama 1cm uzunluğunda eksplant alınarak büyüme doğrultusuna uygun yönde besi ortamına aktarılmıştır. Eksplantların ekim yönünün bulunabilmesi meristemin altında kalan sap kısmı biraz daha uzun bırakılmıştır. Kallus kültürü için bitki yaprakları kullanılmıştır. Yaprak ana damarını içeren yaklaşık 1cm² kesitler alınarak yaprağın ışığa bakan kısmı yukarıya gelecek şekilde ortama yerleştirilmiştir. Steril işlemler steril kabin altında yapılmıştır. Besi ortamlarına yerleştirilmiş kapların ağızları sıkıca kapatılarak yetiştirme odasında konulup gelişimleri gözlenmiştir. Doku kültürü kaplarına yerleştirilen bitkilerin gelişmeleri 25°C sıcaklıkta, 3000 lüks beyaz florasan ışığı altında, 16 saat fotoperiyotta yetiştirme odasına aktarılmıştır.

3.5. Uygulamalar ve Denemelerin Kurulması

Araştırmada, doku kültürü ortamında oksin türevi bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı yoğunluklarının Kazdağı doğal florasında yetişen adaçayı, bodur kekik, oğulotu, İzmir kekiği ve sarıkız çayı bitkileri üzerine etkisi üzerine çalışılmıştır. Kültüre alınan bitkilerin bazıları aşağıda sunulmuştur (Şekil 5 ve 6).

Tüm bitki türlerinde temel besi ortamı olarak MS kullanılmıştır. Tohumu elde edilen bitkilerin tohumları sterilize edilip çimlendirmek amacıyla, köklü olarak toplanan canlı bitki türlerinin ise sürgün uçları sterilizasyondan sonra büyüme düzenleyici ilavesiz MS besi ortamında belirli bir süre tutulmuşlardır. Bitki büyüme düzenleyicisiz ortamda 2-3 hafta tutulmasının sebebi herhangi bir kontaminasyonun olmamasının temin edilmesi yanında tohumların çimlenmesini ve sürgün uçlarının ise kısmen büyümesini sağlamaktır. Denemelere daha sonra bu steril bitkilerden eksplant alınarak başlanmıştır.

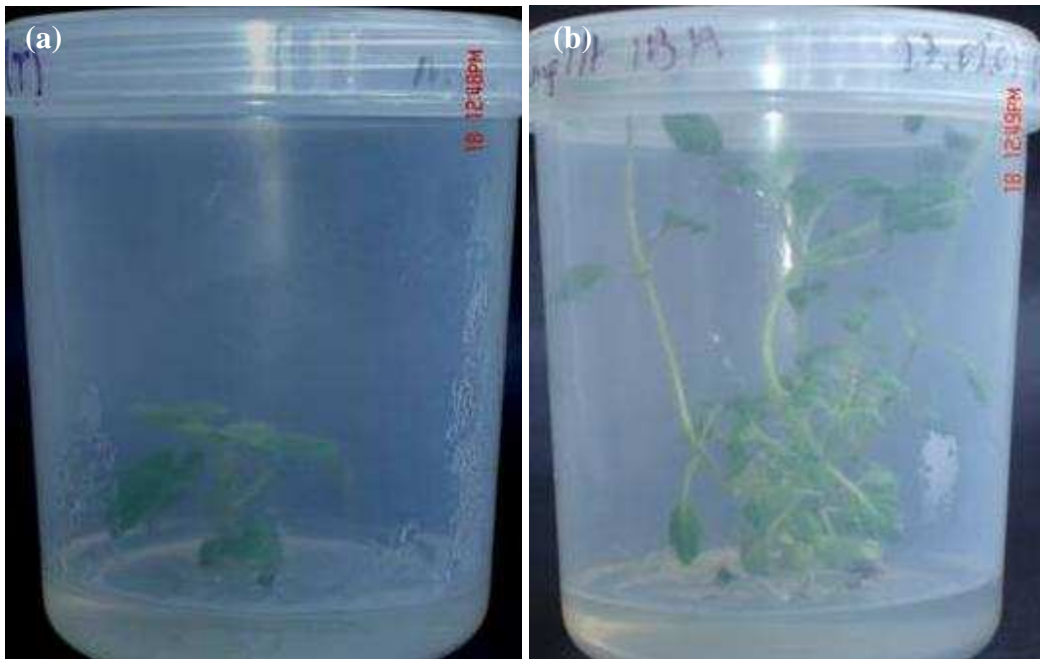
Denemede kullanılan türler ve besi ortamları Tablo 3 ve 4’de verilmiştir. Sarıkız çayı *Sideritis trojana* ise oksidatif reaksiyon dolayısıyla birçok kez kültüre alınmaya çalışılsa da 1. haftanın sonunda ölmüştür, bu sebeple bu bitki tabloda yer almamaktadır.

Tablo 3. Bodur kekik, oğulotu ve İzmir kekiği bitkileri meristem kültürü denemesi kurulum düzeni

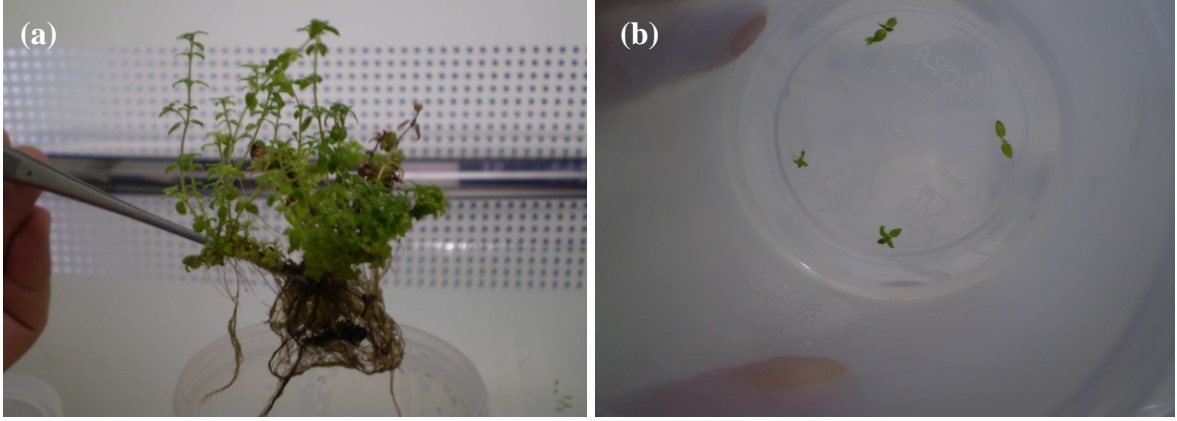
Bodur kekik (<i>Thymus logicaulis</i>)	Oğulotu (<i>Melissa officinalis</i>)	İzmir kekiği (<i>Oreganum onites</i>)
MS+0,0mg/l NAA	MS+0,0mg/l IBA	MS+0,0mg/l IBA
MS+0,5mg/l NAA	MS+0,5mg/l IBA	MS+0,5mg/l IBA
MS+1,0mg/l NAA	MS+1,0mg/l IBA	MS+1,0mg/l IBA
MS+2,0mg/l NAA	MS+2,0mg/l IBA	MS+2,0mg/l IBA

Tablo 4. Adaçayı kallus kültürü denemesi kurulum düzeni

Adaçayı (<i>Salvia tomentosa</i>)
MS+0,5mg/l BA+0,5mg/l NAA
MS+0,5mg/l BA+1,0mg/l NAA
MS+0,5mg/l BA+2,0mg/l NAA
MS+0,5mg/l BA+0,5mg/l NAA



Şekil 5. a) *In vitro* şartlarda tohumdan gelişen oğulotu bitkisi b) *In vitro* şartlarda tohumdan gelişen İzmir kekiği bitkisi.



Şekil 6. Bodur kekik bitkisi *in vitro* ortamda alt kültüre alınması (a) ekim öncesi (b) ekim sonrası (Özgün, 2008).

3.6. Alınan Ölçüm ve Gözlemler

Yetiştirme odasında tutulan bitkilerde deneme sonunda çeşitli ölçüm ve gözlemler alınmıştır. Ölçümler kültüre alındığı tarihten adaçayında 65 gün, bodur kekikte 60 gün, oğulotunda 60 gün, İzmir kekiğinde 65 gün sonunda yapılmıştır. *In vitro* ortamda yürütülen denemelerde aşağıda tanımlanan ölçüm ve gözlemler alınmıştır.

Bitki Boyu: Besi ortamının yüzeyinden sürgün ucu meristemine kadar olan kısmı ölçülmüş ve cm olarak ifade edilmiştir.

Kullanılabilir Eksplant Sayısı: Bir bitkide tekrar bitki rejenerasyonu için kullanılacak 1,0cm uzunluğunda aksiler meristem içeren eksplant sayısıdır.

Dal Sayısı: Bir eksplanttan gelişen ana sürgün dışındaki dal sayısını ifade eder.

Kök Uzunluğu: Bir eksplanttan gelişen en uzun kök ölçülmüş ve cm olarak ifade edilmiştir.

Kallus büyüklüğü: Her bir kallusun eni ve boyu ölçülüp ortalaması alınarak (cm ifadesiyle) bulunan değerdir.

Kallus Ağırlığı: Kallus üzerindeki besiy ortam kalıntılarının yumuşak bir kağıt havlu ile uzaklaştırıldıktan hemen sonra hassas terazide (g) olarak tartımı ile elde edilmiştir.

Yeşil Sürgün Ağırlığı: Eksplanttan gelişen besiy ortamı üzerindeki sürgünlerin (g) cinsinden yeşil ağırlığını ifade eder. Yeşil ağırlık bitkinin kuru madde ve bünyesine aldığı su miktarıyla ilgili önemli bir fikir vermektedir. Yeşil ağırlık ölçülürken dikkat edilen en önemli nokta bitkilerin tartım sırasında nem kaybetmemesini sağlamak olmuştur. Besiy ortamı kaplarının kapakları açılır açılmaz bitkiler ivedilikle tartılmıştır.

Kuru Sürgün Ağırlığı: Yeşil sürgün ağırlığı için ölçülen sürgünler kurutulduktan sonra hassas terazide tartılmıştır.

Kallus Rengi Skoru: Açıktan koyu renge doğru 1'den 9'a kadar bir skala ile değerlendirilmiştir (1: yeşil, 3: koyu yeşil, 5: açık kahve, 7: kahve, 9: koyu kahve).

Kallus Sertliği Skoru: Pens ile kalluslara baskı yapıp 1'den 9'a kadar bir skala ile değerlendirilerek jelimsi yumuşaktan, serte doğru değerler verilmiştir (1: çok yumuşak, 3: yumuşak, 5: orta sert, 7: sert, 9: çok sert)

3.7. Deneme Düzeni ve Verilerin Analizi

Tüm denemeler tesadüf blokları deneme desenine göre yürütülmüştür. Adaçayı ve bodur kekik denemeleri 4 tekerrür ve her bir tekerrür 4 bitkiden oluşmuştur. Oğulotu ve İzmir kekiği denemeleri de 4 tekerrürlü olup her bir tekerrürde ise 5 bitki bulunmaktadır. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SAS programında PROG GLM'e göre yapılmıştır (SAS Institute Inc.1989, Cary, North Caroline). Ortalamalar arasındaki farklar ise %5 düzeyinde LSD testine göre belirlenmiştir.

BÖLÜM 4 BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada Kazdağı florasında yetişen *Lamiacea* familyasına ait bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin doku kültüründe farklı besi ortamlarındaki yanıtları belirlenmiştir. Araştırmada elde edilen bulgular ve tartışma bitki türüne göre alt başlıklar altında aşağıda sunulmuştur. Bitkilere ait varyans analiz tabloları ise incelenen karakterlerden önce bitki tür başlıkları altında verilmiştir.

4.1. Bodur Kekik

Farklı yoğunlukta NAA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen bodur kekik bitkisinin bitki boyu, eksplant sayısı, dal sayısı, kök uzunluğu, kök skoru, yeşil ağırlık ve kuru ağırlık karakterleri açısından varyans analizi sonuçları incelendiğinde uygulamalar (besi ortamları) arasında istatistiki açıdan önemli bir farkın olduğu bulunmuştur (Tablo 5). Doku kültürü uygulamalarında bitki boyu, bitki gelişimini, kullanılabilir eksplant sayısı da bitki çoğaltma kat sayısını belirleyen en önemli unsurdur. Doku kültüründe bitki gelişiminin ölçülmesinde ve tekrar bitki çoğaltılmasında kullanılan bir eksplanttan elde edilen dal sayısı doku kültürü uygulamalarının başarısını belirler. Dal sayısı bir bitkide ana sürgün dışındaki yan dallar sayılarak belirlenmiştir. Kök uzunluğu bitkideki en uzun kök ölçülerek, kök skoru ise bitkideki köklerin gelişim durumuna göre 0'dan 9 a doğru değer verilerek tespit edilmiştir. Kök uzunluğu ölçümü kök gelişimi için bir fikir vermekle birlikte kök hacmi veya gelişimini her zaman tam olarak yansıtmamaktadır. Bu nedenle kök ile ilgili bu ölçüm yanında kök skoru da belirlenmiştir. Kuru ağırlık ve yeşil ağırlık bitki tarafından üretilen biyokütlenin miktarını belirler ve önemli diğer iki karakterdir.

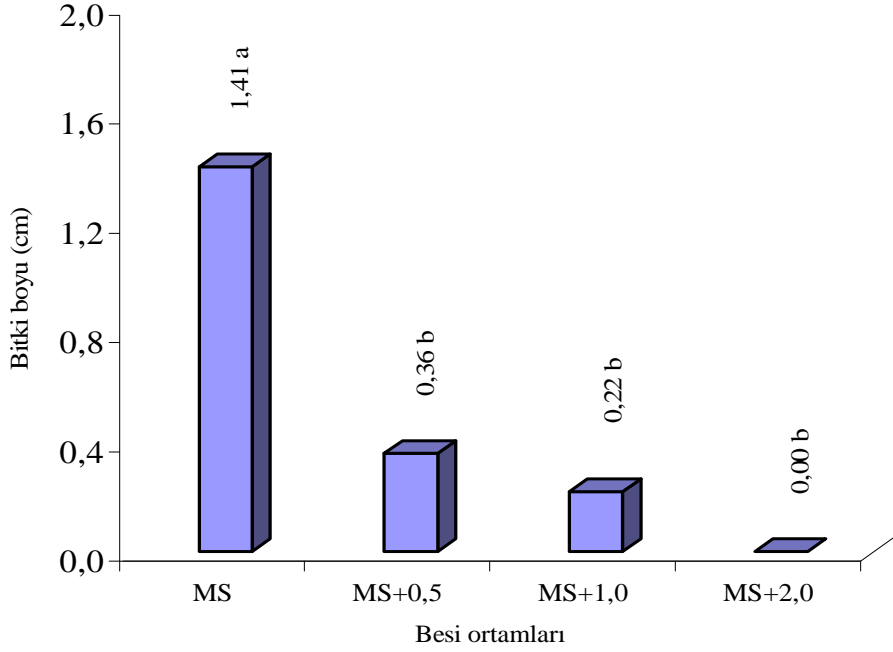
Tablo 5. *In vitro* koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen bodur kekik bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması						
		Bitki Boyu	Eksplant Sayısı	Dal Sayısı	Kök Uzunluğu	Kök Skoru	Yeşil Ağırlık	Kuru Ağırlık
Uygulama	3	1,570**	14,406**	4,272*	2,187*	2,464*	0,0100**	0,00026**
Tekerrür	3	0,769	3,722	1,900	0,812	1,318	0,0011	0,00012
Hata	15	0,196	1,989	1,456	0,562	0,433	0,0013	0,00004

*ve** sırasıyla:0,05 ve 0,01 düzeyinde önemlidir.

4.1.1. Bitki Boyu

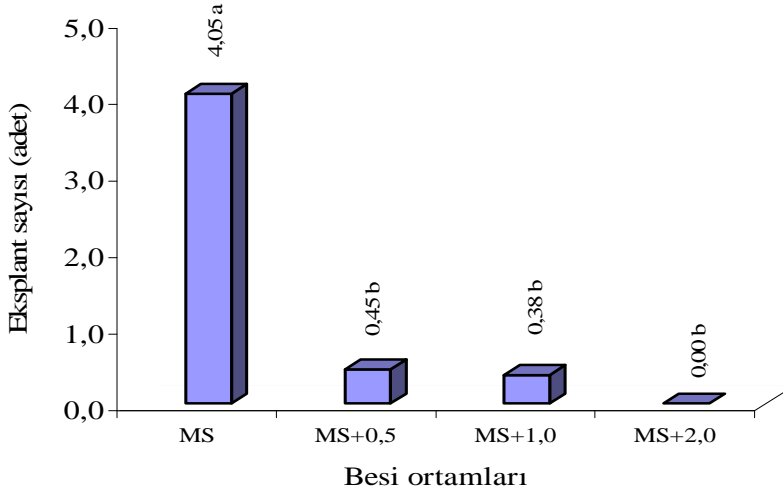
Denemede kullanılan 4 farklı besi ortamı bitki boyu açısından birbiri ile karşılaştırıldığında en yüksek boylu bitkiler ortalama 1,41cm ile büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamından elde edilmiştir (Şekil 7). Buna karşılık en fazla yoğunlukta büyüme düzenleyici (2,0mg/l NAA) içeren MS besi ortamında ise bitki gelişimi gözlenmemiştir. Bodur kekikte MS besi ortamına NAA ilavesinin sürgün gelişimine herhangi bir olumlu etkisi gözlenmemiştir.



Şekil 7. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}$: 0,71).

4.1.2. Kullanılabilir Eksplant Sayısı

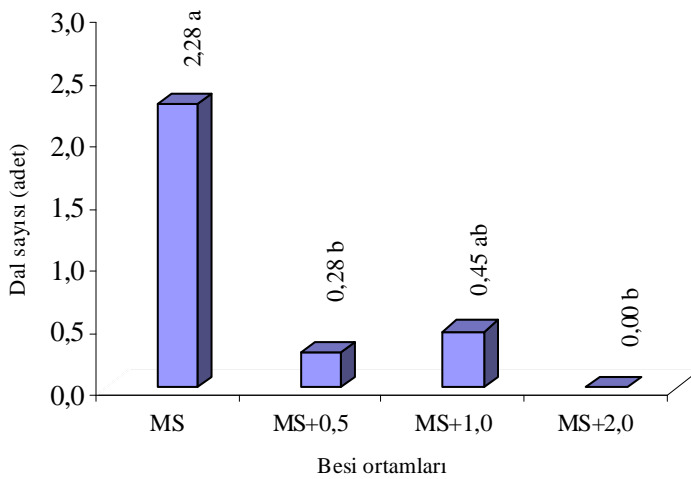
Şekil 8'de NAA'nın farklı yoğunluklarına bağlı olarak bodur kekik bitkisindeki eksplant sayılarının değişimi verilmiştir. En yüksek eksplant sayısına büyüme düzenleyicisiz MS besi ortamında bitki başına 4,05 eksplant sayısı ortalamasına ulaşılmıştır. 0,5mg/l ve 1,0mg/l NAA içeren ortamların bitki başına eksplant sayıları yaklaşık aynıdır. Bodur kekik bitkisinin MS besi ortamında NAA ilavesi ile bitki başına eksplant ortalamalarında önemli bir azalma saptanmıştır.



Şekil 8. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının eksplant sayısı üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}$: 2,26).

4.1.3. Dal sayısı

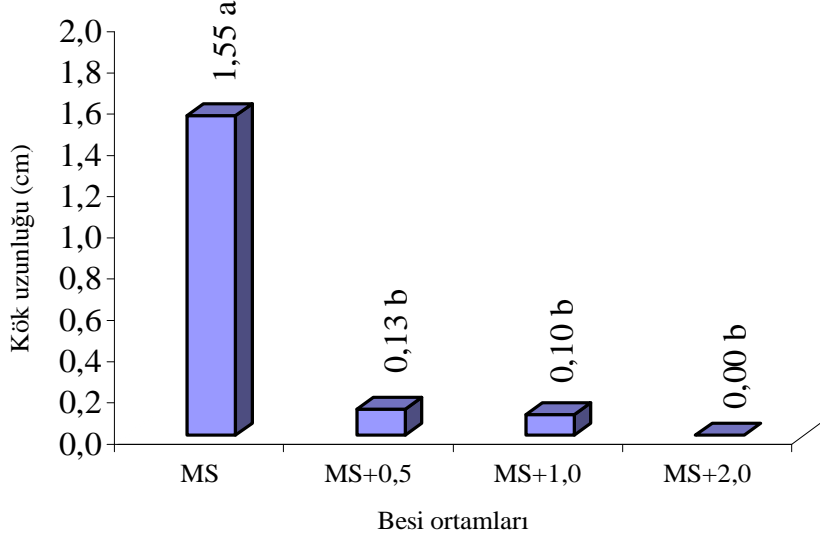
Oksin grubu bitki büyüme düzenleyicisi NAA'nın *in vitro* ortamda bodur kekik bitkisinin sürgün gelişimi üzerine etkisi olumsuz yönde olmuştur. İstatistiki açıdan uygulamalar arasındaki farkın önemli olduğu bulunmuştur. Şekil 9'da görüldüğü gibi en fazla dal sayısı büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamında eksplant başına ortalama 2,28 adet olarak elde edilmiştir. Bunu 1,0mg/l NAA ve 0,5mg/l NAA sırasıyla 0,45 ve 0,28 ile izlemiştir.



Şekil 9. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının dal sayısı üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur ($LSD_{0,05}$:1,93).

4.1.4. Kök Uzunluğu

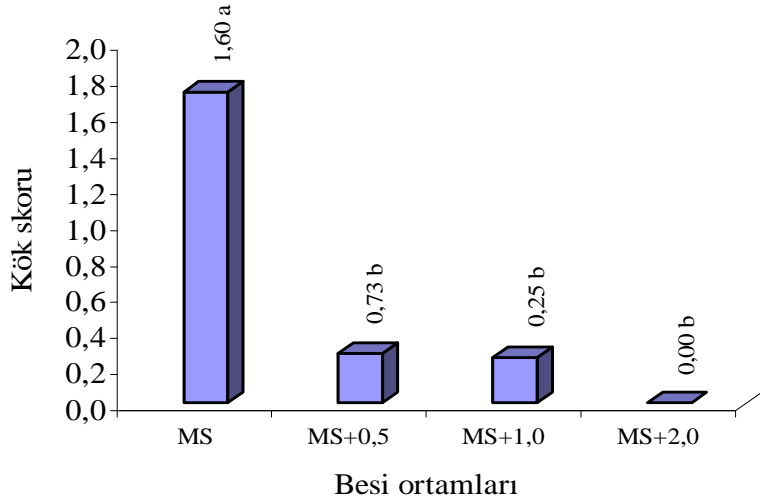
Sürgün gelişiminde olduğu gibi kök gelişiminde de en uzun kökler (1,51cm) MS besi ortamından elde edilmiştir (Şekil 10). Büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamı diğer NAA içeren besi ortamlarından kök uzunluğu bakımından farklı bulunmuştur.



Şekil 10. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök uzunluğu üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}:1,20$).

4.1.5. Kök Skoru

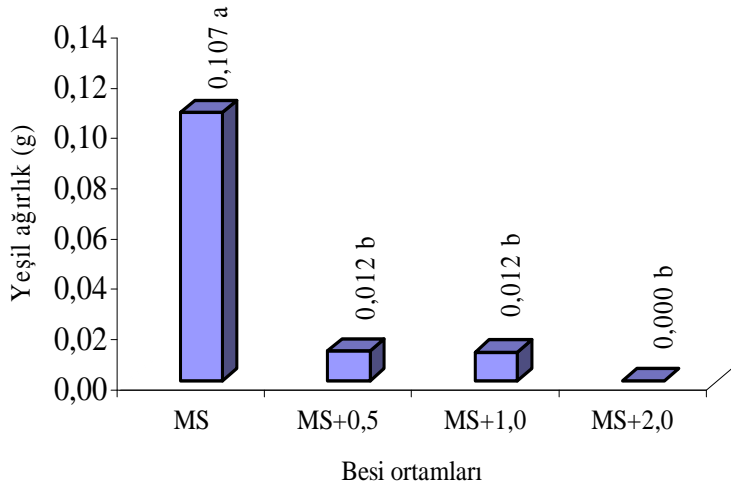
Kullanılan NAA büyüme düzenleyicisinin kök skoruna veya gelişimine katkısının olumlu yönde olmadığı görülmüştür (Şekil 11). Hatta en yüksek doz olan 2,0mg/l NAA'da hiçbir bitki gelişimi gözlenmemiştir. Yalnızca MS içeren besi ortamında bitkiler daha iyi bir kök sistemine sahip olmuştur.



Şekil 11. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök skoru üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}$: 1,05).

4.1.6. Yeşil Ağırlık

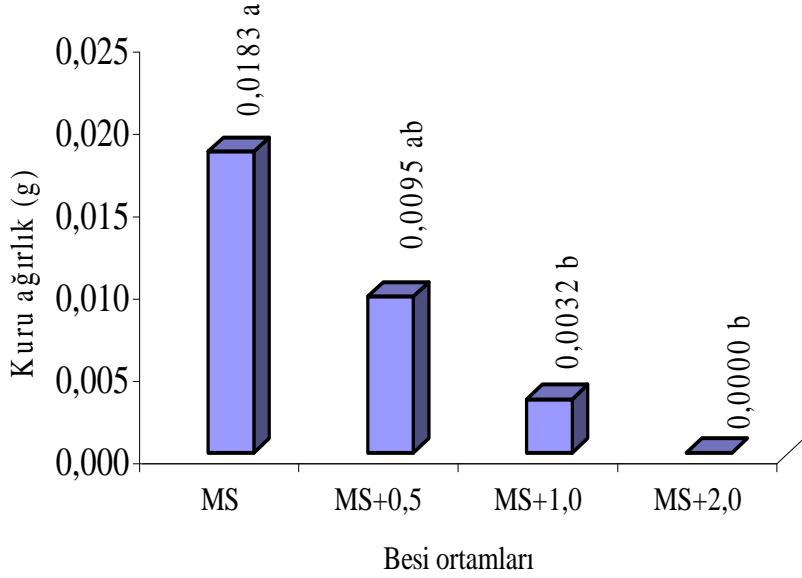
Bodur kekik bitkisi doku kültürü ortamına NAA ilavesiyle yeşil ağırlıkta önemli bir azalma göstermiştir (Şekil 12) En fazla yeşil ağırlık büyüme düzenleyicisiz MS uygulamasında gözlenmiştir (0,107g). 2,0mg/l NAA'da hiç bodur kekik gelişimi gözlenmediği için yeşil ağırlık da sıfır olmuştur.



Şekil 12. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının yeşil ağırlık üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}$: 0,057).

4.1.7. Kuru Ağırlık

Şekil 13’de görüldüğü gibi besi ortamlarındaki NAA yoğunluğu arttıkça kuru ağırlıkta da önemli bir azalma gözlenmiştir, büyüme düzenleyicisiz uygulama en yüksek ağırlık 0,0183g ile diğer uygulamalardan istatistiksel açıdan önemli derecede farklıdır.



Şekil 13. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kuru ağırlık üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}$: 0,0096).

4.1.8. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon

Tablo 6’de görüldüğü gibi steril şartlarda farklı yoğunlukta NAA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen bodur kekik bitkisinde ölçülen özellikler arasındaki ilişkiler belirlenmiştir.

Çalışmada bodur kekik bitkisinin incelenen karakterler arasında önemli korelasyonların olduğu bulunmuştur. Yalnızca kök uzunluğu ve kök skoru ile dal sayısı ve yeşil ağırlık arasındaki korelasyonlar düşük ve önemsiz bulunmuştur. Diğer ölçülen tüm karakterler arasındaki korelasyonlar önemli bulunmuştur.

Özellikle bitki boyu ile eksplant sayısı, dal sayısı, kök skoru ve kuru ağırlık arasında olumlu ve önemli ilişki saptanmıştır. Korelasyon tablosunda görüldüğü gibi bitki boyu ölçülen tüm karakterleri olumlu yönde etkilemiştir. Diğer bir deyişle bitki boyu arttıkça

diğer karakterlerden alınan ölçümlerde de artış olmuştur. Eksplant sayısı ile diğer karakterler arasındaki ilişkiler de bitki boyuna benzer yönde olmuştur (Tablo 6).

Tablo 6. *In vitro* koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen bodur kekik bitkisinin incelenen karakterler arasındaki korelasyon tablosu

	Bitki Boyu	Eksplant Sayısı	Kök Uzunluğu	Kök Skoru	Dal Sayısı	Yeşil Ağırlık
Eksplant Sayısı	0,80***					
Kök Uzunluğu	0,89***	0,57*				
Kök Skoru	0,91***	0,62**	0,97***			
Dal Sayısı	0,59**	0,93***	0,45	0,45		
Yeşil Ağırlık	0,57*	0,86***	0,45	0,49	0,86***	
Kuru Ağırlık	0,77***	0,74**	0,50*	0,54*	0,71**	0,66**

*, ** ve ***: Sırasıyla 0,05, 0,01 ve 0,001 düzeyinde önemlidir.

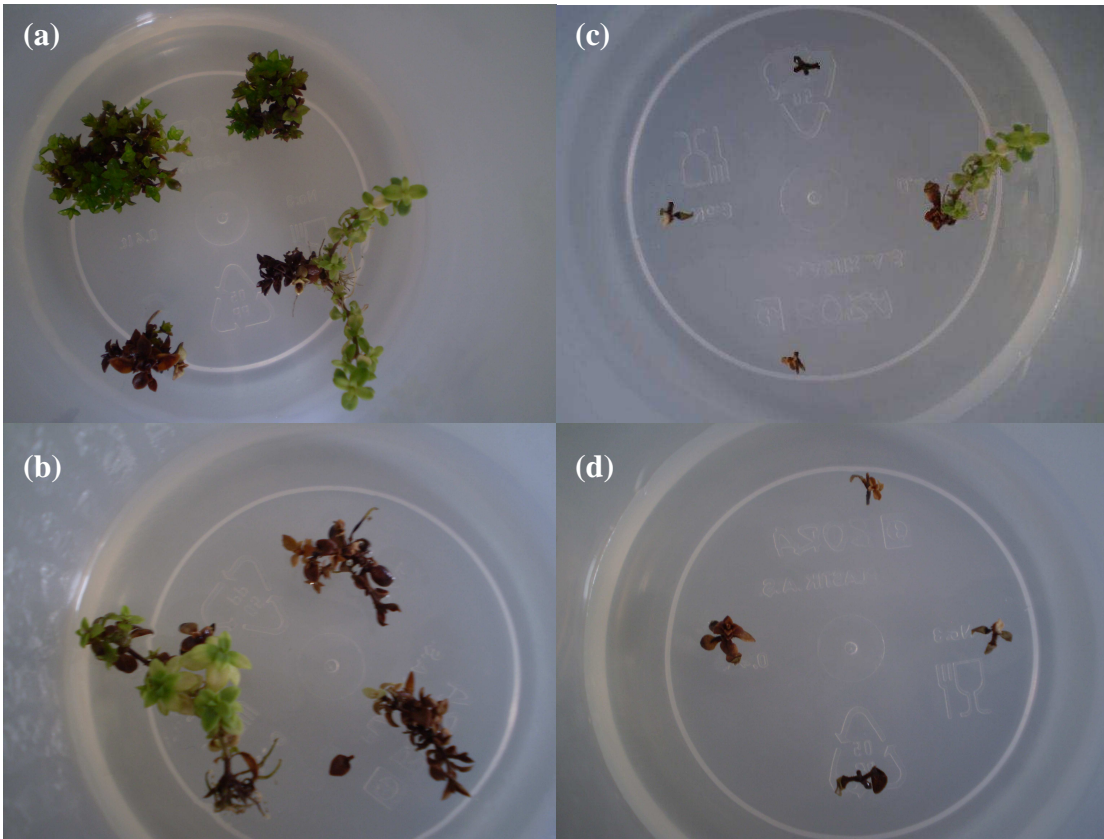
4.1.9. Tartışma

Kekik bitkisi ile ilgili doku kültürü çalışmaları geçmişte çeşitli araştırmacılar tarafından yürütülmüştür. Bu konuda, Mendes ve Romano (1999) bir *Thymus* türü olan *Thymus mastichina* üzerine yaptığı doku kültürü çalışmasında en iyi kök ve sürgün gelişiminin 1,0mg/l NAA içeren MS besi ortamından elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yine Fratenale ve diğ. (2003)'nin triacontanolün *Thymus mastichina*'nın doku kültüründe seri üretimi ve ikincil metabolizma ürünleri üretim sistemi üzerine yaptıkları çalışmada Triacontanol, BA ve IBA farklı yoğunluklarının etkilerini incelemişlerdir. Bitki boyu açısından 0,1mg/l IBA ve büyüme düzenleyicisiz MS grubu arasında istatistiki açıdan bir fark gözlenmemiştir. Saez ve diğ. (1994) ise *Thymus piperella* L. bitkisi 6,6µM BA ve 2,8µM IAA içeren modifiye edilmiş MS'te en iyi gelişimi sağladığı ve yine 2,8µM IAA içeren MS besi ortamında da köklendiğini bildirmişlerdir.

Bu araştırmada, kullandığımız bodur kekik türü *Thymus longicaulis*'de bitki boyu açısından ortalama 1,41cm ile en iyi gelişim büyüme düzenleyici içermeyen MS'ten elde edilmiştir. En yüksek eksplant sayısı 4,05 ile büyüme düzenleyicisi içermeyen uygulamasında elde edilmiştir. Yine büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamında diğer ölçülen karakterler de 0,5, 1 ve 2,0mg/l NAA içeren besi ortamlarına oranla daha iyi sonuçlar vermiştir. Bodur kekik bitkisinin doku kültüründe MS besi ortamına NAA

ilavesinin olumlu bir etki göstermediği söylenebilir. Yukarıda sunulan önceki çalışmalarda bazı büyüme düzenleyicilerinin bitki gelişimine olumlu katkıda bulunduğu görünmesine rağmen bu bulgularında yalnız MS'in olumlu sonuç verdiği bulunmuştur (Şekil 14). Önceki çalışmalar ile bizim bulgularımız arasındaki farklılıklar kullanılan farklı kekik türünden kaynaklanmış olabilir. Kaldı ki önceki çalışmalarda da farklı kekik türlerinin farklı besi ortamlarında daha iyi sonuç verdiği görünmektedir.

İzmir kekiği bitkisinde göze çarpan en önemli bulgu, 0,5 ile 1,0mg/l NAA lı ortamların kuru ağırlık ile yeşil ağırlık verileri arasındaki farkın farklı çıkmasıdır. Bunun nedeni; 1,0mg/l NAA'lı ortamdaki dallanmanın fazla olmasıdır. Dallanma genç dal sayısını arttırmıştır, genç sürgünlerin nem kaybı yaşlı sürgünlerden daha fazla olacağı için, kuru ağırlık ile yeşil ağırlık arasında fark bu sebeple artmıştır.



Şekil 14. Bodur kekik bitkisinin *in vitro* gelişimi (a)MS (b)MS+0,5mg/l NAA (c)MS+1,0mg/l NAA (d) MS+2,0mg/l NAA (Özgün).

4.2. Oğulotu

Kazdağı'ndan elde edilen oğulotu bitkisinin doku kültürü ortamında farklı ortamlara verdiği tepki incelenen karakterler bakımından bu kısımda incelenecektir.

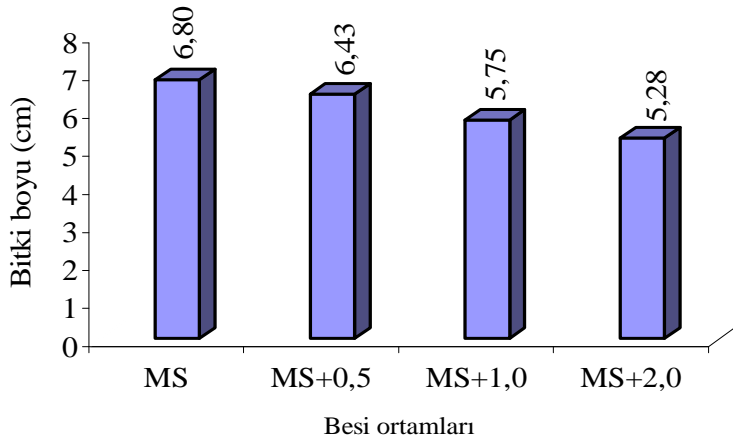
Aşağıda verilen varyans analiz tablosunda görüldüğü gibi, farklı büyüme düzenleyicili MS besi ortamlarında yetiştirilen oğulotu bitkisinde incelenen tüm karakterler açısından varyans analiz sonuçlarında önemli bir farkın olmadığı bulunmuştur (Tablo 7). Doku kültürü uygulamalarında bitki boyu, kullanılabilir eksplant sayısı, dal sayısı, kök uzunluğu, kök skoru, yeşil ağırlık ve kuru ağırlık bitki gelişiminin önemli göstergeleridir.

Tablo 7. *In vitro* koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması						
		Bitki Boyu	Eksplant Sayısı	Dal Sayısı	Kök Uzunluğu	Kök Skoru	Yeşil Ağırlık	Kuru Ağırlık
Uygulama	3	1,97	1,94	0,21	5,93	1,36	0,03	0,002
Tekerrür	3	1,40	3,82	0,14	3,94	1,06	0,13	0,002
Hata	15	1,49	1,72	0,16	4,65	1,91	0,05	0,002

4.2.1. Bitki Boyu

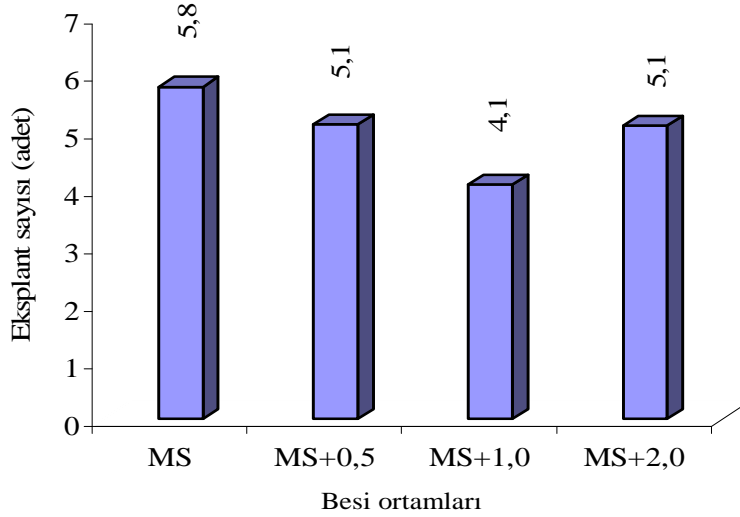
Besi ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi önemsiz olmasına rağmen en uzun bitkiler 6,80cm ile MS besi ortamında elde edilmiştir (Şekil 15). En kısa boylu bitkiler 5,28cm boy ortalamasıyla 2,0mg/l IBA içeren besi ortamında elde edilmiştir.



Şekil 15. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi.

4.2.2. Kullanılabilir Eksplant Sayısı

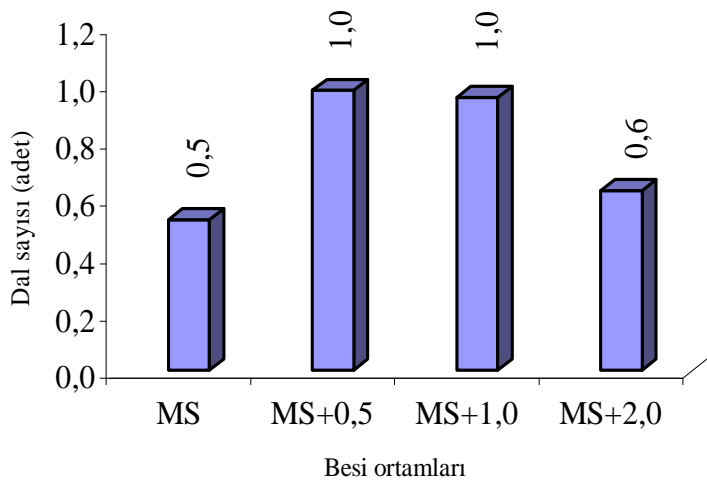
Farklı yoğunlukta IBA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen oğulotu bitkisi eksplant sayısı açısından incelendiğinde, en fazla kullanılabilir eksplant sayısına 5,8 adetle MS besi ortamında ulaşılmıştır. En düşük eksplant sayısı 1,0mg/l IBA'lı ortamda (4,1 adet) elde edilmesine karşı, uygulamalar arasında istatistiki açıdan farklılık bulunmamıştır (Şekil 16).



Şekil 16. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının eksplant sayısı üzerine etkisi.

4.2.3. Dal sayısı

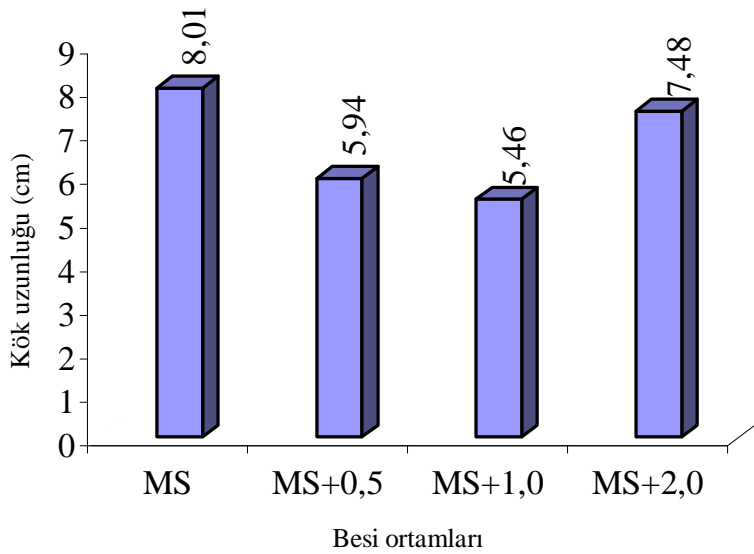
Uygulamalar arasında istatistiki farkın olmamasına rağmen en yüksek ortalama dal sayısı 0,5 ve 1,0g/l IBA içeren besi ortamlarından elde edilmiştir. (Şekil 17).



Şekil 17. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının dal sayısı üzerine etkisi.

4.2.4. Kök Uzunluğu

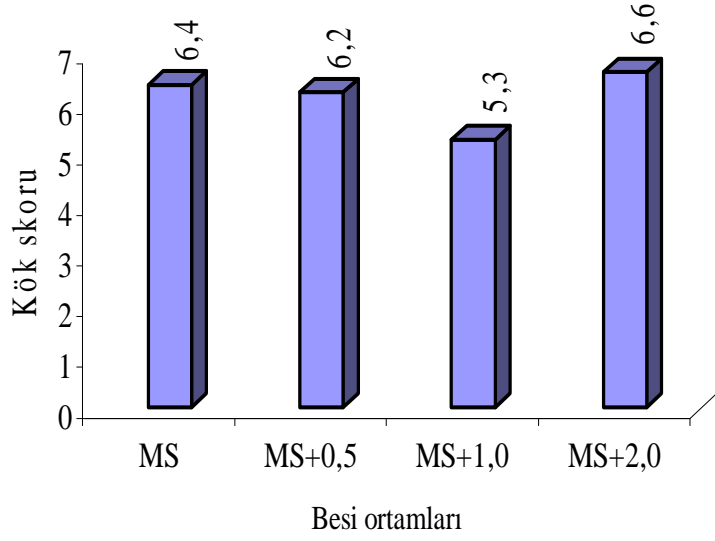
Farklı besi ortamında yetiştiren bitkilerden elde edilen ortama kök uzunlukları Şekil 18’de gösterilmiştir. En yüksek ortalama kök uzunluğu büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besi ortamındaki bitkilerden elde edilirken IBA’nın düşük yoğunluklarında kök uzunluğu daha az olmuştur. En yüksek yoğunlukta IBA içeren MS besi ortamında ise kök gelişimde bir artışın olduğu belirlenmiştir.



Şekil 18. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök uzunluğu üzerine etkisi.

4.2.5. Kök Skoru

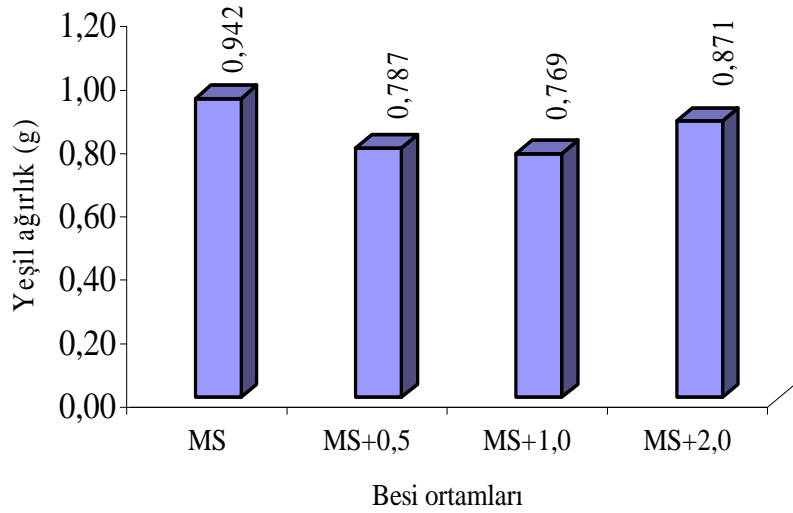
Farklı besi ortamlarında yetiştirilen oğulotu bitkilerin ortalama kök skoru değerleri birbiriyle karşılaştırıldığında, farkı istatistiki bakımdan önemli olmasına rağmen en yüksek kök skoru değeri MS+2,0mg/l IBA’lı ortamda, 6,6 ile elde edilmiştir (Şekil 19).



Şekil 19. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök skoru üzerine etkisi.

4.2.6. Yeşil Ağırlık

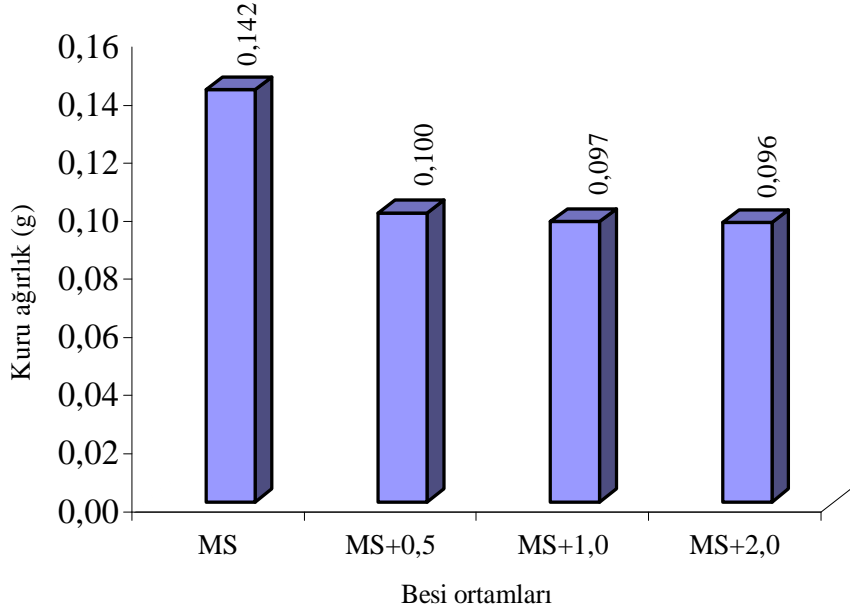
Farklı besi ortamlarında yetiştirilen bitkilerde ortalama yeşil ağırlıkla değerleri incelendiğinde ortalamalar arasındaki fark önemsiz olmasına rağmen, en fazla yeşil ağırlık 0,942g ile IBA içermeyen uygulamadan elde edilmiştir (Şekil 20).



Şekil 20. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının yeşil ağırlık üzerine etkisi.

4.2.7. Kuru Ağırlık

Şekil 21’de görüldüğü gibi farklı yoğunlukta IBA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen oğulotu bitkisi kuru ağırlık açısından incelendiğinde ortalamalar arasında önemli farkın olmadığı görülmektedir. En yüksek kuru ağırlık 0,142g ile MS besi ortamından elde edilmiştir.



Şekil 21. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kuru ağırlık üzerine etkisi.

4.2.8. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon

Korelasyon tablosundan da anlaşılacağı gibi steril şartlarda farklı yoğunlukta IBA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen oğulotu bitkisinin incelenen özellikler bakımından yakınlıkları incelenmiştir (Tablo 8).

Oğulotu bitkisinin bitki boyundaki artışa bağlı olarak tüm özelliklerde az ya da çok değişim olmuştur. Denilebilir ki bitki boyunun değişimi oğulotu bitkisinde tüm incelenen özellikler üzerinde etkilidir (Tablo 8).

Eksplant sayısı ile yeşil ağırlık ve dal sayısı arasında korelasyon tablosunda görüldüğü gibi çok önemli, kuru ağırlık ile eksplant sayısı arasında da önemli bir ilişki gözlenmiştir. Eksplant sayısı ile kök skoru ve uzunluğunun değişimi arasında küçük de olsa bir ilişki görülmektedir. Beklendiği gibi, kök uzunluğu ile kök skorunun değişimleri

arasında çok önemli bir korelasyon görülmektedir. Kök skoru ile kuru ağırlık değişimlerin paralelliği açısından çok küçük bir ilişki görülmektedir. Yeşil ağırlığın dal sayısı ve kuru ağırlık ile arasında çok önemli bir ilişki bulunmaktadır. Ayrıca dal sayısı ile kuru ağırlık arasında önemli bir korelasyon söz konusudur. Buna karşılık yeşil ağırlık ile kök uzunluğu ve kök skoru arasında bir korelasyon gözlenmemiştir.

Tablo 8’de görüldüğü gibi steril şartlarda farklı yoğunlukta NAA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen bodur kekik bitkisinde ölçülen özellikler arasındaki ilişkiler belirlenmiştir.

Tablo 8. *In vitro* koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu bitkisinin incelenen karakterler arasındaki korelasyon tablosu

	Bitki Boyu	Eksplant Sayısı	Kök Uzunluğu	Kök Skoru	Dal Sayısı	Yeşil Ağırlık
Eksplant Sayısı	0,80***					
Kök Uzunluğu	0,89***	0,57*				
Kök Skoru	0,91***	0,62*	0,87***			
Dal Sayısı	0,59*	0,93***	0,28	0,38		
Yeşil Ağırlık	0,57*	0,86***	0,25	0,42	0,86***	
Kuru Ağırlık	0,72**	0,73**	0,41	0,59*	0,65**	0,64**

*, ** ve ***: Sırasıyla 0,05, 0,01 ve 0,001 düzeyinde önemlidir.

4.2.9. Tartışma

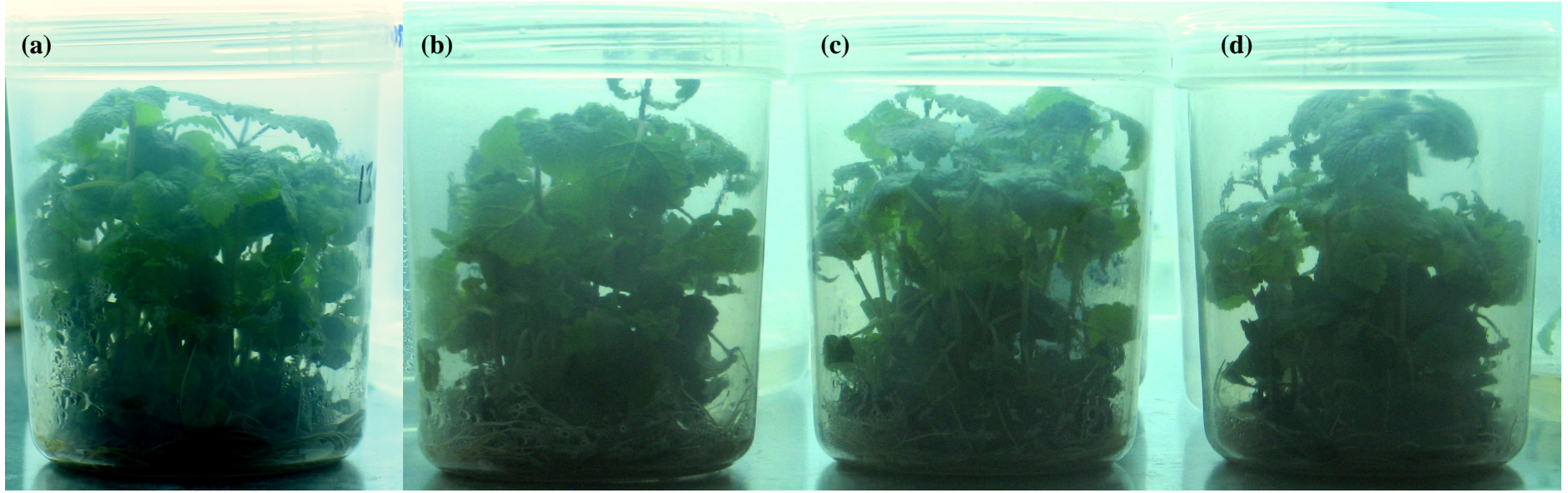
Bu çalışmada diğer bir Kazdağı’na özgü tıbbi ve aromatik bitki oğulotudur (*Melissa officinalis*). Sürgün gelişimi ve sürgün gelişimi ile ilgili karakterler göz önüne alındığında en iyi gelişim büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamından alınmıştır. Bu besi ortamında kök gelişimini de yeterli düzeyde olmakla birlikte 2,0mg/l IBA içeren MS ortamında daha iyi bir kök gelişimi gözlenmiştir.

Melissa officinalis’in doku kültüründe üretimi amacıyla sınırlı olmakla birlikte geçmişte çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırma sonuçları kullanılan besi ortamları bitki genotipine ve araştırmacılara göre farklılıklar göstermektedir. Bu araştırmalardan birisi Ghiorghita ve diğ., (2005) tarafından farklı büyüme düzenleyicilerinin kullanıldığı *Melissa officinalis*’in *in vitro*’da morfogenetik yanıtlarının belirlenmesi üzerinedir. Araştırmada 2,0mg/l IBA’nın canlı ve sağlıklı bitkiler geliştirme açısından daha iyi sonuç verdiği

bildirilmektedir. Bizim bulgularımızda da 2,0mg/l IBA içeren ortamın kök gelişimine diğer kullanılan ortamlara nazaran daha iyi sonuç verdiğini bulunmuştur. Diğer bazı araştırmalarda Silva ve diğ. (2005) oğulotu bitkisinin *in vitro* şartlardaki büyüme düzenleyicisiz MS ortamı ile 11,42µM IAA katkılı MS ortamı arasında, oğulotu bitkisi kök skoru ve dal sayısı bakımından istatistiki açıdan bir farkın olmadığını bildirmişlerdir. Aynı çalışmada eksplant sayısı ve bitki boyu bakımından 11,42 µM IAA katkılı MS ortamının, büyüme düzenleyicisiz MS ortama göre istatistiki açıdan p=0,05 değerinde daha fazla eksplant ve bitki boyunun gelişiminin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Korelasyon verileri açısından; dal sayısı, bitki boyu ve eksplant sayısı ile, yeşil ağırlık da kök uzunluğu ve kök skoru ile aralarında önemli düzeyde korelasyon bulunmamaktadır. Bu karakterler dışındaki tüm özellikler arasında önemli korelasyonlar saptanmıştır.

Bu bölümde sonuç olarak oğulotu genotipinde aksiler meristem kültürü için en uygun besi ortamının büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamı olduğu belirlenmiştir (Şekil 22). Fakat şuda unutulmamalıdır ki bir bitki için kullanılacak besi ortamı türe ve kültür tipine göre (organ, doku, meristem kallus vb.) değişkenlik göstermektedir.



Şekil 22. Oğulotu bitkisinin *in vitro* gelişimi (a)MS (b)MS+0,5mg/l IBA (c)MS+1,0mg/l IBA (d) MS+2,0mg/l IBA (Özgün).

4.3. İzmir kekiği

Farklı yoğunlukta IBA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen İzmir kekiğinde uygulamaların bitki boyu, eksplant sayısı, dal sayısı, kök uzunluğu, yeşil ağırlık ve kuru ağırlık üzerine etkisinin varyans analizleri bakımından istatistiki açıdan önemsiz olduğu bulunmuştur. Yalnızca kök skoru istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

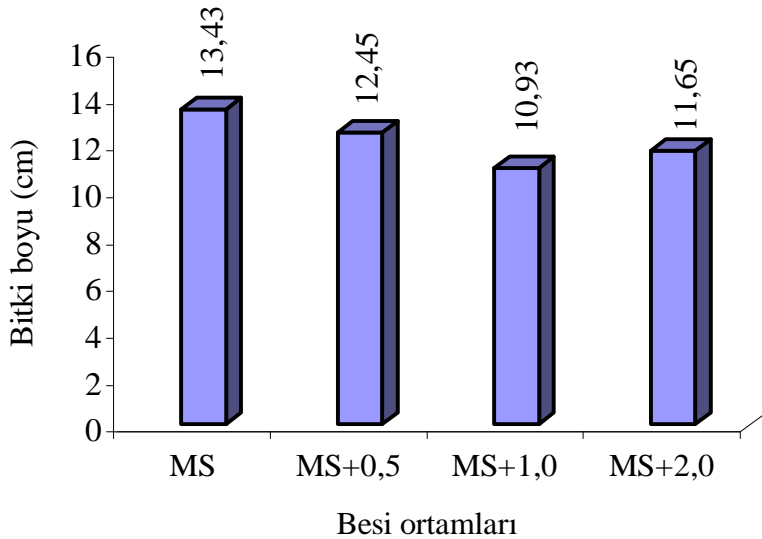
Tablo 9. *In vitro* koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen İzmir kekiği bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması						
		Bitki Boyu	Eksplant Sayısı	Dal Sayısı	Kök Uzunluğu	Kök Skoru	Yeşil Ağırlık	Kuru Ağırlık
Uygulama	3	4,62	0,23	0,32	0,61	1,83**	0,008	0,00016
Tekerrür	3	6,97	0,73	0,46	0,50	0,50	0,001	0,00006
Hata	15	5,06	2,17	0,22	0,38	0,22	0,004	0,00007

** : 0,01 düzeyinde önemlidir.

4.3.1. Bitki Boyu

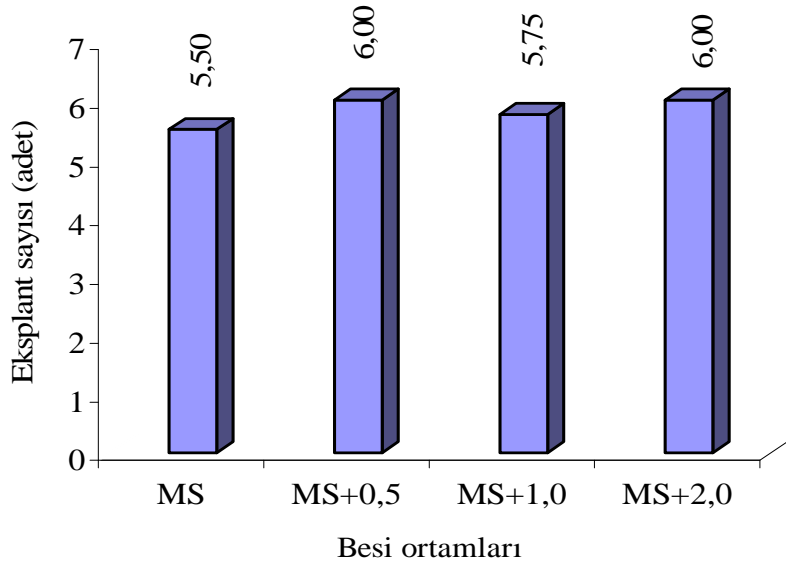
Şekil 23'de görüldüğü üzere en uzun bitki boyu MS uygulamasında, en kısa boy da 1,0 g/l IBA içeriğindeki besi ortamında ulaşılmasına karşın uygulamalar arasında istatistiki açıdan fark görülmemiştir.



Şekil 23. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi.

4.3.2. Kullanılabilir Eksplant Sayısı

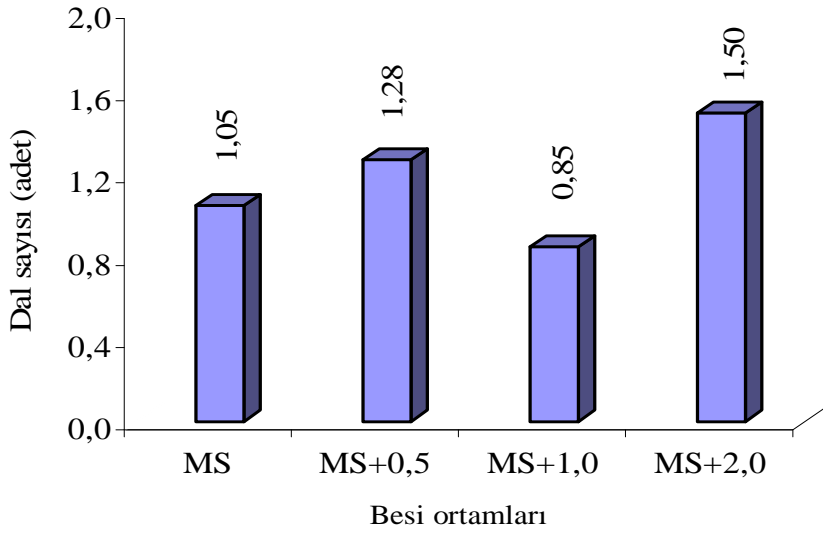
Farklı yoğunlukta IBA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen İzmir kekiği bitkileri eksplant sayısı açısından incelendiğinde kullanılan besi ortamları arasında önemli bir farkın olmadığı bulunmuştur. En fazla eksplant sayısı MS ve 2,0mg/l IBA+MS ortamında (6 adet), en düşük miktar ise MS uygulamasında (5,5 adet) elde edilmiştir (Şekil 24).



Şekil 24. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının eksplant sayısı üzerine etkisi.

4.3.3. Dal sayısı

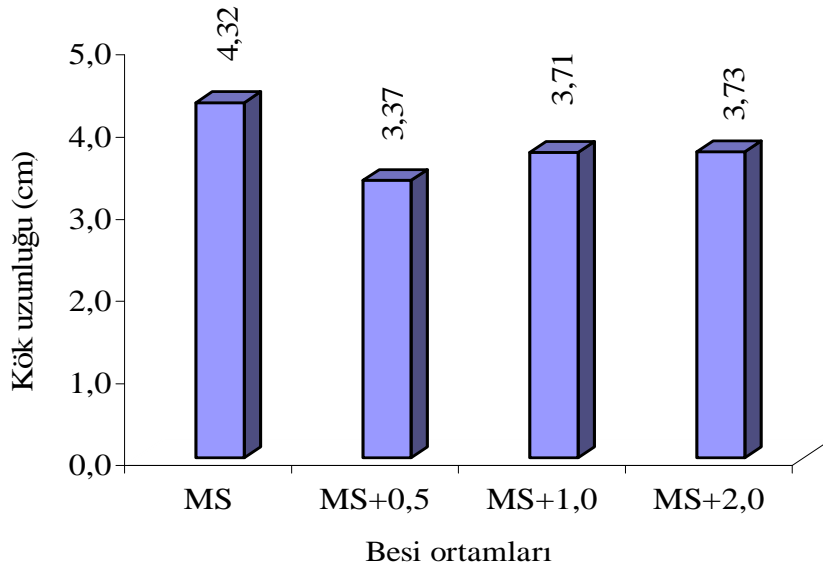
Uygulamalar arasında istatistiki açıdan fark olmamasına rağmen Şekil 25’de görüldüğü üzere en fazla dal sayısı 2,0mg/l IBA içerikli besi ortamında (1,5 adet), en az dal sayısına da 1,0mg/l IBA içerikli besi ortamında 0,85 adet sürgün/bitki elde edilmiştir.



Şekil 25. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının dal sayısı üzerine etkisi.

4.3.4. Kök Uzunluğu

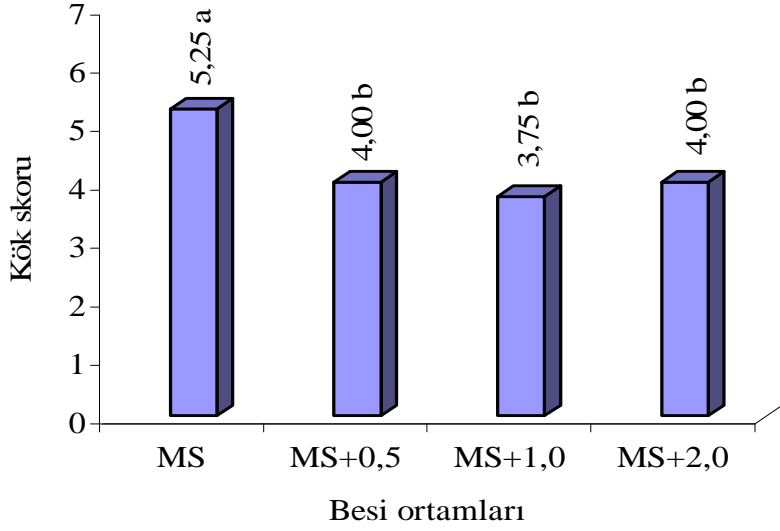
Şekil 26'da görüldüğü üzere en fazla kullanılabilir kök uzunluğuna MS ortamında (4,32cm), en kısa kök uzunluğuna da 0,5mg/l IBA içerikli besi ortamında (3,37cm) ulaşılmasına karşın uygulama ortalamaları arasında istatistiki açıdan fark görülmemiştir.



Şekil 26. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök uzunluğu üzerine etkisi.

4.3.5. Kök Skoru

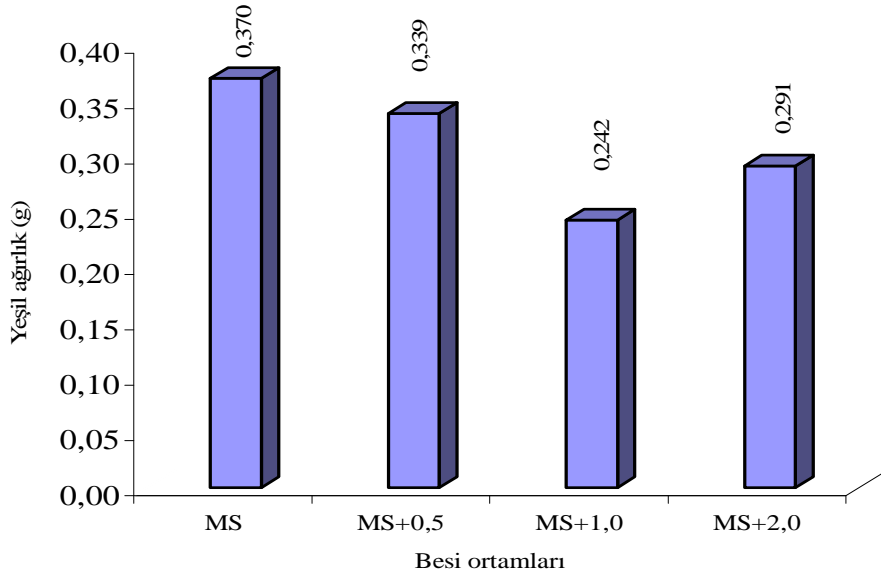
Şekil 27’de görüldüğü üzere en yüksek kök skoru IBA eklenmeyen besi ortamında (5,25), en az kök skoruna da 1,0mg/l IBA içerikli besi ortamında (3,75) ulaşılmıştır. 0,5, 1 ve 2,0mg/l IBA içerikli ortamlarda gelişen İzmir kekiği bitkilerinin kök skoru bakımından aralarında farkın önemli olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 27. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök skoru üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}:0,75$).

4.3.6. Yeşil Ağırlık

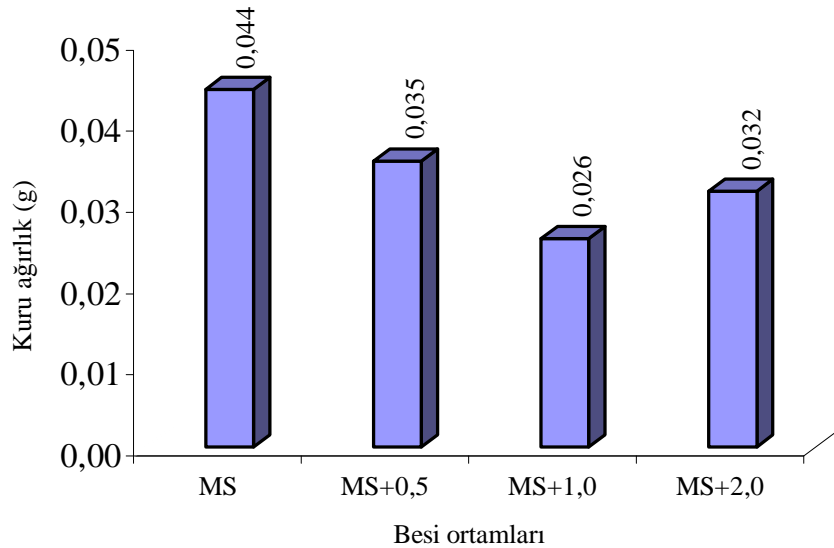
Şekil 28’de görüldüğü gibi en fazla yeşil ağırlığa 0,370 g ile MS besi ortamında, en az yeşil ağırlığa da 1,0mg/l yoğunluktaki IBA içeren MS besi ortamında (0,242 g) ulaşılmasına karşın uygulamalar arasında istatistiki açıdan fark görülmemiştir.



Şekil 28. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının yeşil ağırlık üzerine etkisi.

4.3.7. Kuru Ağırlık

Şekil 29’da görüldüğü gibi en fazla kuru ağırlığa MS grubunda (0,044g), en az kuru ağırlığa da 1,0mg/l yoğunluktaki (0,026g) IBA içerikli besi ortamında ulaşılmasına karşın uygulamalar arasında istatistiki açıdan fark görülmemiştir.



Şekil 29. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kuru ağırlık üzerine etkisi.

4.3.8. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon

İzmir kekiğinin korelasyon tablosunda incelenen karakterlerin birbirine bağımlı değişimi yada ilişkisi görünmektedir. Tablo 10'deki korelasyon tablosunda steril şartlarda farklı yoğunlukta IBA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen İzmir kekiği bitkisinin incelenen özellikler bakımından ilişkileri incelenmiştir.

Tablo 10'de de görüleceği gibi kök uzunluğu ile dal sayısı, yeşil ağırlık ve kuru ağırlık arasında herhangi bir korelasyon bulunmaktadır. Ayrıca kök skoru ile dal sayısı ve yeşil ağırlık arasında da aynı şekilde bir korelasyonun olmadığı görülmektedir. İncelenen diğer tüm karakterler arasında bir korelasyon söz konusudur. Örneğin bitki boyunun artışıyla, eksplant sayısı, kök uzunluğu, kök skoru, dal sayısı, yeşil ve kuru ağırlık değer ortalamalarında bir değişim olmuştur (Tablo 10).

Tablo 10. *In vitro* koşullarda İzmir kekiği bitkisinde incelenen karakterler arasındaki korelasyonlar

	Bitki Boyu	Eksplant Sayısı	Kök Uzunluğu	Kök Skoru	Dal Sayısı	Yeşil Ağırlık
Eksplant Sayısı	0,78***					
Kök Uzunluğu	0,89***	0,57*				
Kök Skoru	0,91***	0,62**	0,87***			
Dal Sayısı	0,59**	0,93***	0,28	0,38		
Yeşil Ağırlık	0,57*	0,86***	0,25	0,42	0,86***	
Kuru Ağırlık	0,72**	0,73**	0,41	0,59*	0,65**	0,64**

*, ** ve ***: Sırasıyla 0,05, 0,01 ve 0,001 düzeyinde önemlidir.

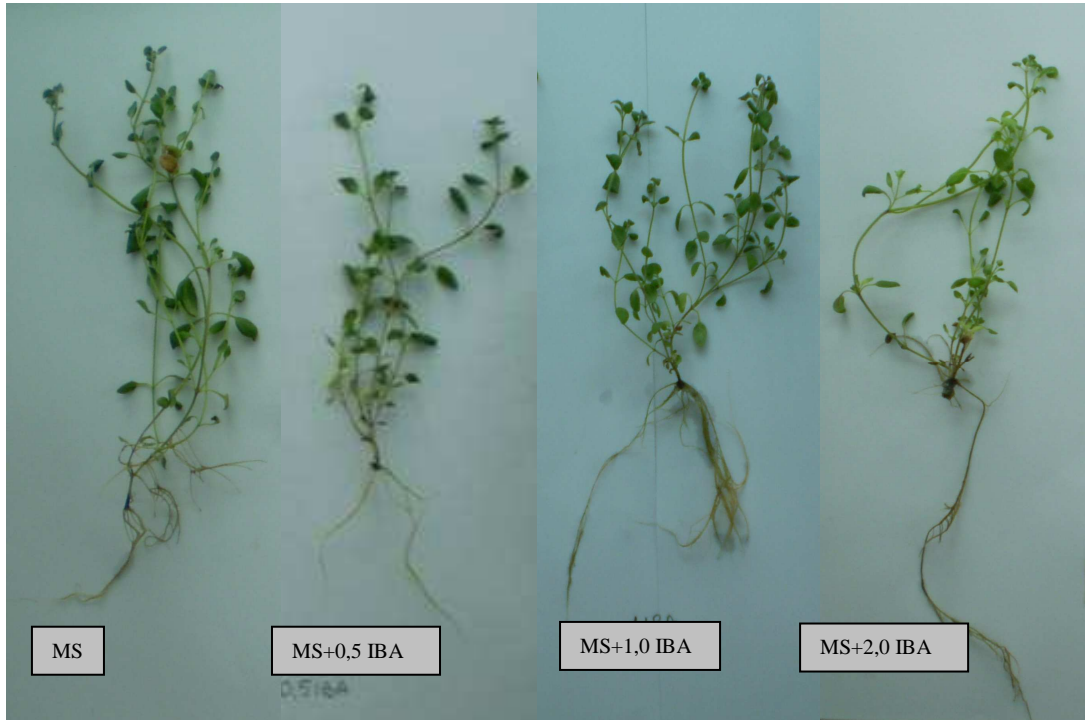
4.3.9. Tartışma

Çalışmamızın bu bölümünde İzmir kekiği türü *Oreganum vulgare*'nin *in vitro* ortamda yedi farklı özellik üzerine farklı besi ortamlarının etkisi incelenmiştir. Kök skoru dışındaki incelenen tüm özellikler açısından uygulamalar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. *Oreganum* türlerinin meristem kültürü üzerine yapılan pek fazla çalışma bulunmamaktadır. Yapılan bir çalışmada Goleniowski ve diğ. (2003), *Oreganum vulgare x applii* bitkisinde meristem kültürü yapmışlardır. Çalışmada istatistiki açıdan IBA ve BA'nın eksplant sayısı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaşmışlardır.

Farklı besi ortamlarında yetiştirilen İzmir kekiği bitkilerinde elde edilen ortalama kök skoru değerleri arasında önemli farkın olduğu tespit edilmiştir. Ortalama kök uzunlukları arasında istatistiki bakımdan önemli farkların olmamasına rağmen en uzun kökler yine MS besi ortamında elde edilmiştir. Kök skoru ölçümleri görsel olarak kök uzunluğu, sayısı ve hacmi dikkate alınarak yapılmaktadır. Bu nedenle MS besi ortamında kökler uzun olması yanında daha fazla dallanma gösterdiği gözlenmiştir. Bu nedenle büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamında diğer besi ortamlarına oranla daha yüksek kök skoru elde edilmiştir. *In vitro* bitkilerin *in vivo* koşullara aktarılmasında güçlü kök sistemine sahip olmaları bir avantajdır. Eğer iyi bir kök gelişimine sahip olmayan *in vitro* bitkiler laboratuvar koşulları dışına çıkarıldığında adaptasyon yetenekleri de zayıf olmaktadır.

Ölçülen karakterler arasındaki korelasyonlar, özellikle bitki boyu ve eksplant sayısının tüm karakterler ile yüksek bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Sürgün gelişiminin bir göstergesi olan bitki boyunun diğer karakterler ile pozitif ve önemli bir ilişkinin olması beklenen bir durumdur. Turhan (1997) patateste yapmış olduğu çalışmada benzer sonuçlara ulaşmıştır.

Sonuç olarak aksiler sürgünler kullanılarak İzmir kekiği bitkisi büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamında başarı ile muhafaza edilmiş ve çoğaltılmıştır (Şekil 30).



Şekil 30. İzmir kekiği bitkisinin *in vitro* gelişimi sonunda hasat edilmiş şekli.

4.4. Adaçayı

Yapılan çalışmada adaçayı bitkisi (*Salvia tomentosa*) büyüme düzenleyicisiz MS ortamında meristem kültürüne alınmıştır. Bu bitkilerin büyüme düzenleyicisiz ortamda sürgün ya da kök geliştiremediği, yalnızca yaprak oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 31). Büyüme düzenleyici içeren bazı besi ortamları denenmesine rağmen sürgün gelişimi sağlanamamıştır. Zamanın kısıtlı olması nedeniyle sürgün elde etme çalışmalarına son verilerek, bu bitkilerden alınan yapraklar kallus kültürü için eksplant olarak kullanılmıştır. Kallus denemesi ile ilgili bulgular aşağıda sunulmuştur.



Şekil 31. Adaçayıda MS ortamında bitki gelişimi.

Kallus ağırlığı da besi ortamında üretilen kallus özelliği hususunda önemli bir veridir. Farklı yoğunlukta NAA ve BA içeren MS besi ortamlarında yetiştirilen adaçayı bitkisinin kallus ağırlığı açısından varyans analizleri incelendiğinde uygulamalar arasında istatistiki açıdan farkın olmadığı kallus sertlik skoru ve renk skoru açısından ise yüksek derecede önemli bir fark bulunmuştur (Tablo 11).

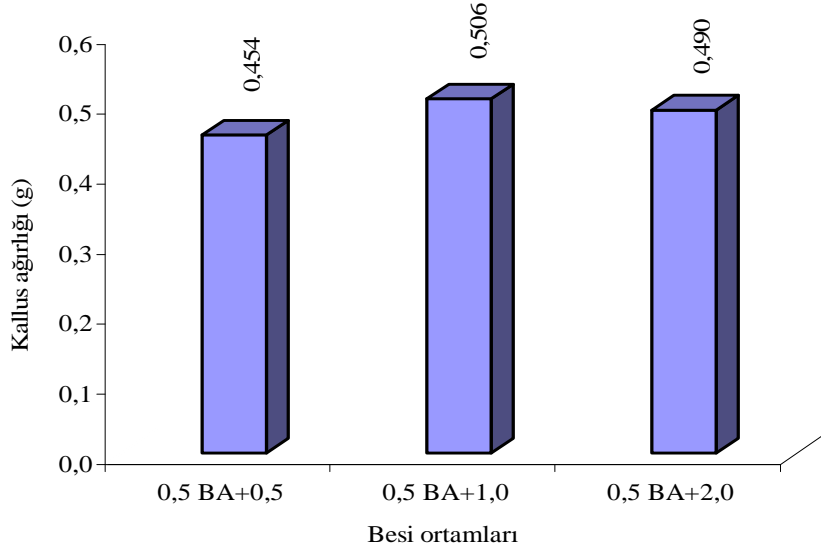
Tablo 11. *In vitro* koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen adaçayı bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması		
		Kallus Ağırlığı	Kallus Renk Skoru	Kallus Sertlik Skoru
Uygulama	3	0,0029	22,173***	38,88***
Tekerrür	3	0,0053	0,063	0,35
Hata	11	0,0068	0,082	0,23

***: 0,001 düzeyinde önemlidir.

4.4.1. Kallus Ağırlığı

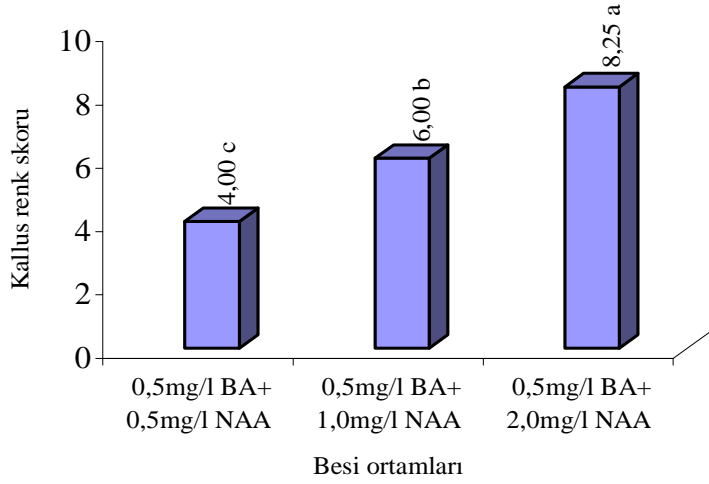
Şekil 32’de görüldüğü üzere kallus büyüklüğünde değişen bitki büyüme düzenleyicisine bağlı olarak istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlenmemiştir. En uygun kallus ağırlığına 0,5mg/l BA+ 1,0mg/l NAA’lı ortamda (0,506g) ulaşılmıştır.



Şekil 32. Adaçayında farklı 0,5mg/l BA ilavesinde değişen NAA yoğunlukları içeren besi ortamlarının kallus ağırlığı üzerine etkisi.

4.4.2. Kallus Renk Skoru

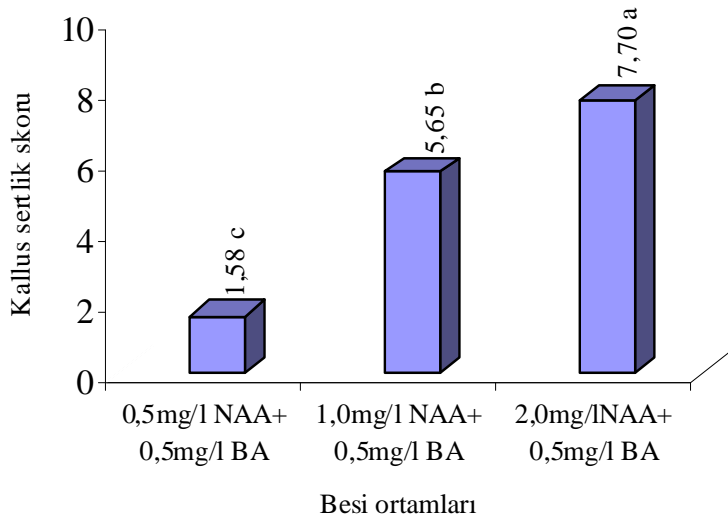
Çalışmada 3 farklı besi ortamı kallus renk skoru açısından birbiri ile karşılaştırıldığında en koyu renkli bitkiler 0,5mg/l BA+2,0mg/l NAA’lı ortamda elde edilmiştir (Şekil 33). Buna karşılık en açık renkli kallus 0,5mg/l BA+0,5mg/l NAA’lı MS ortamında elde edilmiştir. Adaçayında BA sabit kalırken NAA’nın artan yoğunluklarında kallus renginde açık yeşilden, koyu kahve rengine doğru koyulaşma görülmüştür bu artış istatistiksel açıdan yüksek oranda önemli görülmüştür.



Şekil 33. Adaçayında farklı 0,5mg/1 BA ilavesinde değişen NAA yoğunlukları içeren besi ortamlarının kallus renk skoru üzerine etkisi. (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}$: 0,50).

4.4.3. Kallus Sertlik Skoru

Şekil 34’de görüldüğü üzere BA sabit kalırken artan NAA yoğunluklarında kallus sertliğinde de bir artış tespit edilmiştir. En sert kallus yapısı 7,70 skor ile 2,0mg/1 ve 0,5mg/1 BA içeren MS besi ortamından elde edilmiştir. En yumuşak ve gevşek kalluslar ise 0,5mg/1 NAA ve 0.5mg/1 BA içeren MS besi ortamından elde edilmiştir.



Şekil 34. Adaçayında farklı 0,5mg/1 BA ilavesinde değişen NAA yoğunlukları içeren besi ortamlarının kallus sertlik skoru üzerine etkisi (Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında 0,05 düzeyinde fark yoktur. $LSD_{0,05}$: 0,83).

4.4.4. İncelenen Karakterler Arasındaki Korelasyon

Tablo 12. *In vitro* koşullarda farklı yoğunlukta farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen adaçayı bitkisi kalluslarının incelenen karakterler arasındaki korelasyon tablosu

	Kallus Ağırlığı	Kallus renk skoru
Kallus renk skoru	0,27	
Kallus sertlik skoru	0,29	0,97 ***

***: 0,001 düzeyinde önemlidir.

Adaçayında kallus gelişimi üzerine incelenen karakterlerin korelasyon tablosu Tablo 12’de verilmektedir.

Kallus rengi ile kallus sertlik skoru arasında istatistiki açıdan yüksek oranda önemli bir korelasyon bulunurken, diğer karakterler açısından istatistiksel yönde bir korelasyona ulaşılmamıştır (Tablo 12).

4.4.5. Tartışma

Bu araştırmamızda kullanılan adaçayı türü *Salvia tomentosa*’nın *in vitro* ortamda 4 farklı özellik üzerine, 3 farklı besi ortamının etkisi incelenmiştir. Uygulamalar arasındaki NAA artış oranına bağlı olarak kallus boyutunda ve kallus ağırlığında istatistiksel bir değişim gözlenmemiştir. Artan NAA oranlarına bağlı olarak kallus renginde koyu yeşil renkten kahve rengine doğru koyulaşma ve kallus sertlik skorunda da artış gözlenmiştir, bu değişim istatistiki açıdan önemli bir farklılık yaratmaktadır.

Kintzios ve diğ. (2004) *Salvia fruticosa* ve *Salvia officinalis* bitkilerinin somatik embriyogenesis üzerine yaptıkları çalışmasında NAA ve BA nın farklı yoğunluklarında en iyi kallus oluşumunun *Salvia fruticosa* bitkisindeki 10,5mg/l NAA+10,5mg/l BA yüksek ışıklı ortamda, *Salvia officinalis* bitkisinde ise tüm uygulamalarında %100 kallus oluşumunu görmüşlerdir.

Korelasyon verileri açısından; yalnızca kallus renk skoru ile kallus sertliği arasında bir korelasyon bulunmaktadır, diğer karakterler arasında bir korelasyon söz konusu olmamaktadır.

Kallus bilindiği gibi, doku farklılaşmasının olmadığı yara dokularıdır. Kallus uygun büyüme düzenleyicisi ilavesi istenilen dokulara dönüştürülebilir. Kallus sertliği bu yara hücrelerinin birbirleriyle sıklıklarını vermektedir. Süspansiyon kültüründe daha gevşek, yumuşak hücreler istenmektedir.

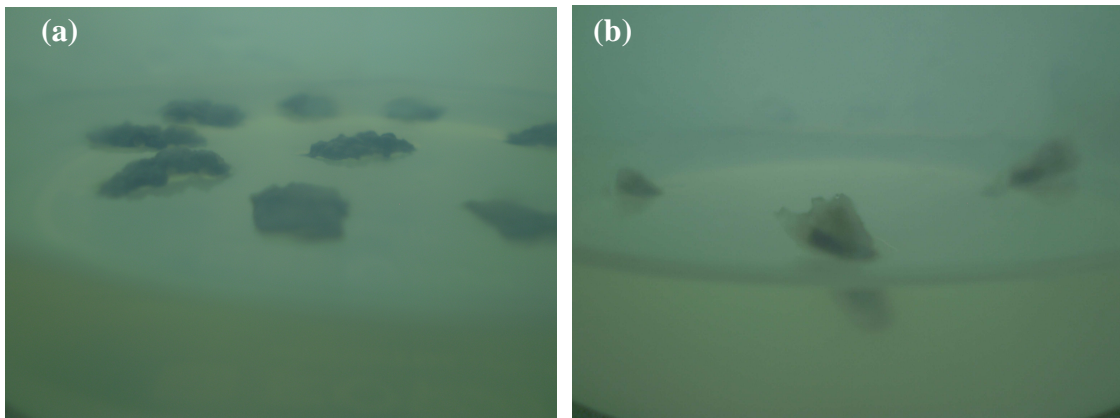
Sonuç olarak adaçayında denenen tüm uygulamalarda kallus elde edilmiştir. Tartışma bölümünün başında da belirtildiği gibi NAA artışıyla kallus rengi koyulaşmış ve sertleşme görülmüştür. Korelasyon tablosunda da anlaşılacağı gibi kallus rengiyle sertliği arasında bir ilişki bulunup diğer karakterler arasında bir korelasyon bulunmamaktadır.

4.5. Sarıkız Çayı

Sakız çayı, çevre semt pazarlarında satılan, ticari değeri olan bir Kazdağı endemik bitkisidir. Bunun yanında tohumlarının çimlenme oranı ve adaptasyon kabiliyeti çok düşüktür. Yoğun sterilizasyonda bitkiler zarar görüp ölmektedir (Şekil 36 b). Sterilizasyon sırasında bitkilerde Sterilizasyonu sağlanarak MS besisi ortamında sürgün gelişimine bırakılan bitkiler kök geliştirememekte ve oksidatif kararmayla ölmektedirler (Şekil 35). MS+ 3,0mg/l Kinetin+ 0,1mg/l 2,4-D+100mg/l askorbik asitli, MS+0,5mg/l IBA+0,5mg/l BA, MS+0,5mg/l BA, MS+0,5m/l IBA, 0,5mg/l IBA+0,5mg/l BA, MS+0,5mg/l IBA+1,0mg/l BA, ortamlar denenmiş yalnızca MS+100mg/l askorbik asitli ortama yerleştirilen yaprak eksplantlarında kallus benzeri yapılar görülmüştür (Şekil 36 a).



Şekil 35. Sarıkız çayı (*Sideritis trojana*) *in vitro* ortamda gelişimi (Özgün).



Şekil 36. a) *Sideritis trojana*'da kallus benzeri dokular b) yoğun şiddette sterilizasyon sonrası meydana gelen ölü bitki parçaları (Özgün).

BÖLÜM 5

SONUÇ ve ÖNERİLER

Doku kültürü, ülkemizde çok yakın zamandır uygulama sahası bulmuş bir konudur ve ülkemiz gen kaynaklarının doku kültürü yöntemiyle üretilme çalışmaları çok sınırlıdır. Çalışmada Kazdağı'nda tıbbi ve aromatik açıdan önemli *Lamiaceae* familyasına ait belirlenen beş bitki tür ve alt türleri ele alınmıştır. Bu bitki türlerinin doku kültürüne alınması amacıyla en uygun besi ortamlarının belirlenmesine çalışılmıştır.

Yapılan denemeler sonucunda bodur kekik bitkisinin (*Thymus longicaulis*) yetiştiği en uygun ortamın büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamı olduğu bulunmuştur. Aynı şekilde İzmir kekiği (*Oreganum onites*) ve oğulotu (*Melissa officinalis*) için de en uygun besi ortamının MS olduğu belirlenmiştir. MS yanında bazı büyüme düzenleyici içeren besi ortamlarında da iyi sonuç alınmasına rağmen ekonomik açıdan büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamı bodur kekikte olduğu gibi bu iki bitkide de önerilebilir. İzmir kekiği MS besi ortamında sadece iyi bir sürgün gelişimi değil aynı zamanda iyi bir kök gelişimi de göstermiştir.

Adaçayı (*Salvia tomentosa*) bitkisinde kallus rengi ve sertliği besi ortamı göre değişmektedir. Koyu yeşil ve yumuşak yapıdaki kallus gelişimi 0,5mg/l BA+0,5mg/l NAA, kahverengi sert yapıdaki kalluslar için ise 0,5mg/l BA+2,0mg/l NAA besi ortamından elde edilmiştir.

Kazdağı ülkemiz ve dünya açısından çeşitli bitkisel genetik kaynakları içermesi sebebiyle önemli bir gen merkezidir. Çeşitli sebeplerden dolayı meydana gelebilecek doğal felaketleri altında bitkisel gen kaynaklarının da yok olması mümkündür. Bu çalışma sonunda, denemelerde kullanılan bitki materyallerinin doku kültüründe yetiştiği uygun ortamlar belirlenmiştir. Yine bu çalışmanın sonuçları, nesli tehlikede olan bitkiler belirlendikten sonra bunların *in vitro* da korunma olanaklarının araştırılması yanında gelecekte bu bitkiler üzerine yapılacak biyoteknolojik çalışmalara olanak sağlaması açısından önemlidir. Sonuç olarak sarıkız çayı hariç adaçayı, bodur kekik, oğulotu ve İzmir kekiği bitki türleri çeşitli düzeylerde doku kültüründe başarı ile yetiştirilmiştir. Son olarak, araştırmada ele alınan bu bitki türleri için gelecekte daha kapsamlı ve çeşitli düzeylerde çalışmaların yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Ahloowalia B. S., Prakash J., Savangikar V.A. ve Savangikar C., 2002. Plant Tissue Culture. Low Cost Options For Tissue Culture Technology in Developing Countries. *FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food And Agriculture Proceedings of a Technical Meeting. Vienna, 26–30 August 2002*, 3-10.
- Akhondzadeh S., Noroozian ., Mohammadi M., Ohadinia S., Jamshidi A. H. ve Khani M., 2003a. Melissa Officinalis Extract in The Treatment of Patients With Mild to Moderate Alzheimer’s Disease: A Double Blind, Randomised, Placebo Controlled Trial. *Journal of Neurol Neurosurg Psychiatry*, 74: 863–866
- Akhondzadeh S., Noroozian M., Mohammadi M., Ohadinia S., Jamshidi A. H. ve Khani M., 2003b. Salvia Officinalis Extract in The Treatment of Patients With Mild to Moderate Alzheimer’s Disease: A Double Blind, Randomized and Placebo-Controlled Trial. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 28: 53–59.
- Akı C. ve Corduk N., 2008. Callogenesis of Kazdağı endemic Plants *Sideritis trojana*. *Proceeding of The Scientific Conference of Hellenic Association for Biological Sciences*, Thessaloniki, Greece 12-13.
- Anonim, 1997.(27 Aralık 2008) D.İ.E. Dış Ticaret İstatistikleri, http://www.tuik.gov.tr/AltKategori.do?ust_id=13
- Anonim, 2008. (27 Aralık 2008) Google Earth, <http://earth.google.com/>
- Aslan İ., Kılıç T., Gören A. C. ve Topçu G., 2006. Toxicity of Acetone Extract of *Sideritis trojana* and 7-epicandicandiol, 7-epicandicandiol diacetate and 18-acetylsideroxol Against Stored pest *Acanthoscelides obtectus* (Say), *Sitophilus granarius* (L.:) and *Ephestia kuehniella* (Zell.). *Industrial Crops and Products*, 23:171-176.
- Arslan N., 1997. Türkiye’de Ekonomik Önemli Olan Doğal Tıbbi Bitkilerimizin Kültüre Alınması. *II Tarla Bitkileri Kongresi*, 22-25 Eylül 1997, Samsun, XLVI-XLIX.
- Ayanoğlu F. ve Özkan C. F., 1999. Tıbbi Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) çeliklerinde Kök Oluşumu ve Gelişimi Esnasında Mineral Element Konsantrasyonunda Meydana Gelen Değişiklikler ve IBA Etkisi. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24: 677- 682.
- Bağdat R. B. ve Coşge B., 2005. The Essential Oil of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.), Its Components and Using Fields. *Journal of Faculty of Agriculture*, OMU. 21(1): 116- 121.

- Botla Z., Baricevic D. ve Raspor P., 2003. Biomass Segregation in Sage Cell Suspension Culture. *Biotechnology Letters, Kluwer Academic Publishers*. 25: 61- 65.
- Bourgaud F., Gravot A., Milesi S. ve Gontier E.. 2001. Production of Plant Secondary Metabolites: A Historical Perspective. *Plant Science*, 161: 839–851.
- Caplin, S. M., 1963. Effect of Initial Size on Growth of Plant Tissue Cultures. *American Journal of Botany*, 50 (1): 91- 94.
- Cordell G. A., Quinn-Beattie M. L. ve Farnsworth N. R., 2001. The Potential of Alkaloids in Drug Discovery. *Phytotherapy Research*, 15: 183- 205.
- Davis P. H., 1965. Flora of Turkey and East Aegean Islands. 1(10), Edinburgh.
- El-Gengaihi S., Taha H. S. ve Kamel A.M., 2006. *In vivo* and *in vitro* Comparative Studies of *Oreganum* Species. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 4:(3,4) : 127-134.
- Erdağ B. B. ve Yürekli A. K., 1999. *Thymus sipyleus* Boiss. (Lamiaceae)'un *In vitro* çoğaltılması. *Turkish Journal Biology*, 24: 81- 86.
- Erdağ B. B. ve Yürekli A. K., 2000. Callus Induction and Shoot Regeneration of *Sideritis Sipylea* Boiss. (Lamiaceae). *Bulletin of Pure and Applied Science* 19B (1): 41- 46.
- Faria J. L. C., Kostenyuk I. ve Segura J., 1998. Isolation, Culture and Plant Regeneration From Protoplast of *Sideritis angustifolia*. *Journal of Plant Physiology*, 153: 251- 254.
- Fowler M. W., 2006. Plants, Medicines and Man. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 86: 1797–1804.
- Fraternale D., Giamperi L., Ricci D., Rocchi M.B.L., Guidi L., Epifan F. ve Marcotullio M.C., 2003. The Effect Of Triacantanol on Micropropagation and on Secretory System of *Thymus Mastichina*. *Plant Cell, Tissue And Organ Culture*, 74: 87–97.
- Frimpong O. E., Karnosky D. F., Storer A. J. ve Cobbinah J. R., 2008. Key Roles of Leaves, Stockplant Age and Auxin Concentration in Vegetative Propagation of Two African Mahoganies: *Khaya anthotheca* Welw. And *Khaya ivorensis* A. Chev. *New Forests*, 36:115 -123.
- Gerardi C., Mita G., Grillo E., Giovinazzo G. ve Miceli A., 1998. *Alkanna tinctoria* T. (Alkanets): *In vitro* Culture and the Production of Alkannin and other Secondary Metabolites. In: Bajaj Y. P. S., Eds., *Biotechnology in Agriculture and Forestry 41, Medicine and Aromatic Plants 10* Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York p: 14-27.

- Giri A. ve Narasu M. L., 2000. Transgenic Hairy Roots: Recent Trends and Applications. *Biotechnology Advances*, 18: 1– 22.
- Ghiorghi I. G., Elena D., Maftai T ve Daniela N. N., 2005. Investigations on The *in vitro* Morphogenetic Reaction of *Melissa officinalis* L. Species. *Genetica și Biologie Moleculara*, 119-126.
- Goleniowski M. E., Flamarique C., ve Bima P., 2003. Micropropagation Of Oregano (*Oreganum vulgare x Applli*) From Meristem Tips. *In vitro Cellular Development Biology - Plant*, 39: 125-128.
- Granados A. G., Martines A., Onorato M. E., Parra A., Recondo M B., Rivas F., Arrebola M. L. ve Socorro O., 1994. Products With Biological Activity Obtained from *In vitro* Micropropagated *Sideritis foetens*. *Phytochemistry*, 35 (3); 645-650.
- Harthmann T. H., Kester D. E., Davies F. T. ve Geneve R. L., 2002. Callus, Cell and Protoplast Culture Systems: Plant Propagation, Principles and Practices. (7th Ed.) *Prentice Hall Press*, New Jersey 661- 665.
- Joos H., Timmerman B., Montagu Van M. ve Schell J, 1983. Genetic analysis of Transfer and Stabilization of *Agrobacterium* DNA in Plant Cells. *The EMBO Journal* (2) 12: 2151- 2160.
- Karam N. S., Jawad F. M., Arikat N. A. ve Shibli R. A., 2003. Growth and rosmarinic acid accumulation in callus, cell suspension, and root cultures of wild *Salvia fruticosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 73: 117–121.
- Kızmaz M., 1999. Production of Medicinal, Culinary and Aromatic Plants in Turkey. Proceedings of The International Expert Meeting Organized By The Forest Products Division FAO Forestry Department and the FAO Regional Office for the Near East 19 - 21 May 1997 Cairo, Egypt.
- Kintzios S., Nikolaou A. ve Skoula M., 2004. Somatic Embryogenesis and *in vitro* Rosmarinic Acid Accumulation in *Salvia officinalis* and *Salvia fruticosa* Leaf Callus Cultures. *Plant Cell Reports*, 18 (6): 462-466.
- Krishna P. S. J. ve Reddy G. P., 2005. Agricultural Biotechnology in Developing Countries: Nature and ‘Code’ in Meeting The Needs of Resource Poor. *Asian Biotechnology and Development Review*, 7 (3): 37- 53.
- Leonardi C., Ruggeri A. ve Malfa S., 2001. Hormone Effects on *in vitro* Proliferation and Rooting of *Gravillea* Explants. *Scientia Horticulture*, 90: 335-341.
- Leyser H. M. O., 1998. Plant hormones. *Current Biolog*, 8 (1): 5- 7.

- Liu W., Chilcott C. E., Reich R. C. ve Hellmann G. M., 2000. Regeneration of *Salvia sclarea* via Organogenesis. *In vitro Cellular Development Biology Plant*, 36: 201-206.
- Mendes M. L. ve Romano A., 1999. *In vitro* Cloning of *Thymus mastichina* L. Field-Grown Plants. *Acta Horticulturae*, 502: 303-306.
- Meszaros A., Bellon A., Pinter E. ve Horvath G., 1999. Micropropagation of Lemon Balm. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 57 (2): 149-152.
- Misawa M., 1994. Plant Tissue Culture: An Alternative for Production of Useful Metabolite. *Agricultural Services Bulletin (FAO)*, 108, 87p.
- Morimoto S., Goto Y. ve Shoyama Y., 1994. Production of Lithospermic Acid B and Rosmarinic Acid in Callus Tissue and Regenerated Plantlets of *Salvia miltiorrhiza*. *Journal of Natural Products* 57: 817-823.
- Mulabagal V. ve Tsay H. S., 2004. Plant Cell Cultures - An Alternative and Efficient Source for the Production of Biologically Important Secondary Metabolites. *International Journal of Applied Science and Engineering*, 2(1): 29-48.
- Murashige T. ve Skoog T. F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays With Tobacco Tissue Cultures. *Physiolgia Plantarum*, 15: 473-479.
- Nakipoğlu M., 1996. Yerleşim ve Çevre Sorunları: *Çanakkale İli Sempozyum Bildirisi*, 62p.
- Perry E. K. ve Pickering A. T., 1999. Medicinal Plants and Alzheimer's Disease: From Ethnobotany to Phytotherapy *Journal of Pharm Pharmacology*, 51: 527-534.
- Saez F., Sanchez P. ve Piqueras, A., 1994. Micropropagation of *Thymus piperella*, *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 39 (3): 269-272.
- Sanchez-Gras M. C. ve Segura J., 1988. Regeneration of *Sideritis angustifolia* (Labiatae) Plants Form Single Cell Culture. *Journal of Physiology* 133; 116-118.
- Sanchez-Gras M. C. ve Segura J., 1989. Factors Affecting Plant Regeneration from Leaf Explants of *Sideritis angustifolia* Lag. (Labiatae) Cultured *in vitro*. *Gartenbauwissenschaft*, 54 (2): 90-93.
- Saraçoğlu İ. A., 2005. Bitkilerde Sağlık Mucizesi. Sadrigrafik Mat. ve Med. Hiz. LTD. ŞTİ 3. Baskı. Antalya. 173 p.
- Sarı A. O. 2001. Farklı Kökenli *Melissa officinalis* L. (oğulotu)'lerin Menemen ve Bozdağ Ekolojik Koşullarında Bazı Agronomik ve Kalite Özellikleri Üzerine Araştırma. (Doktora Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Bornova-İZMİR.

- Satıl F., Dirmenci T. ve Tümen G., 2004. XIV. Türkiye'de Yeni Bir Endemik Tür: *Sideritis gulendamaiae* H.Duman & F.A. Karaveliogulları Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, Eds. Başer K.H.C. ve Kırmır N. Web'de yayın tarihi: Haziran 2004 <http://documents.anadolu.edu.tr/bihat/e-kitap/gtumenpdf.pdf> ISBN 975-94077-2-8.
- Satıl F., Dirmenci T. ve Tümen G., 2006. Kazdağı Milli Parkının Öncelikli Korun Alanların Sınıflandırılması ve Önemli Bitkileri. *Kazdağları II. Ulusal Sempozyumu Bildirileri 22-25 Haziran 2006- Çanakkale*, 391-401.
- Savitha B.C., Thimmaraju R., Bhagyalakshmi N. ve Ravishankar G.A., 2005. Different Biotic and Abiotic Elicitors Influence Betalain Production in Hairy Root Cultures of *Beta vulgaris* in Shake-flask and Bioreactor. *Process Biochemistry*, 41 : 50–60
- Silva S. S., Alice. L., Celso S. L., Rosane A. S. ve Gilc S.. 2005. Essential Oil Composition of *Melissa officinalis* L. *in vitro* Produced under the Influence of Growth Regulators. *Journal of Brazil Chemical Society*, 16 (6B): 1387-1390.
- Suresh, B., Bais H. P., Raghavarao K. S. M. S., Ravishankar G.A. ve Ghildyal N.P., 2005. Comparative Evaluation of Bioreactor Design Using *Tagetes patula* L.. *Hairy Roots as a Model System. Process Biochemistry*, 40 : 1509–1515.
- Tantos A., Meszaros A., Kissimon J., Horvath G. ve Farkas T ., 1999. The Effect of Triacntanol on Micropropagation of Balm., *Melissa officinalis* L. *Plant cell reports*, 19 (1): 88- 91.
- Tepe B., Daferera D., Sökmen M., Polissiou M. ve Sökmen A., 2004. The *in vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities of The Essential Oil and Various Extracts of *Oreganum syriacum* L. var *bevanii* *Journal of The Science of Food and Agriculture Journal Science Food Agriculture*, 84: 1389- 1396.
- Tisserat B., Vaughn S.F. ve Silman R., 2002. Influence Of Modified Oxygen and Carbon Dioxide Atmospheres on Mint and Thyme Plant Growth, Morphogenesis and Secondary Metabolism *In vitro. Plant Cell Report*, 20: 912- 916.
- Turhan H., 1997. Salinity Studies in Potato (*Solanum tuberosum* L.). PhD Dissertation (Doktora Tezi). The University of Reading. UK., 252.
- Turhan H., 2006. Lemon Balm. In: Peter K.V., Ed. *Handbook of Herbs and Spices*, (Vol. 3). Woodhead Publishing Limited, Cambridge. 390-399.
- White P, R., 1943. A Hand Book Of Plant Tissue Culture. *The Science Press Printing Company*, Lancaster, Pennsylvania, 277p.

TABLÖLAR

Tablo1. Kazdağı florasından toplanan bitki türleri ve bulunduğu yerler	14
Tablo 2. MS Besi Ortamı İeriği	16
Tablo 3. Bodur kekik, oğulotu ve izmir kekiği bitkileri meristem kùltürü denemesi kurulum düzeni.....	18
Tablo 4. Adaçayı kallus kùltürü denemesi kurulum düzeni.....	18
Tablo 5. <i>In vitro</i> koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen bodur kekik bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları	21
Tablo 6. <i>In vitro</i> koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen bodur kekik bitkisinin incelenen karakterler arasındaki korelasyonu tablosu.....	27
Tablo 7. <i>In vitro</i> koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları....	29
Tablo 8. <i>In vitro</i> koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu bitkisinin incelenen karakterler arasındaki korelasyon tablosu	34
Tablo 9. <i>In vitro</i> koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen izmir kekiği bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları	37
Tablo 10. <i>In vitro</i> koşullarda izmir kekiği bitkisinde incelenen karakterler arasındaki korelasyonlar	42
Tablo 11. <i>In vitro</i> koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen adaçayı bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları....	44
Tablo 12. <i>In vitro</i> koşullarda farklı yoğunlukta büyüme düzenleyicileri içeren besi ortamında yetiştirilen adaçayı bitkisinin ölçülen karakterlere ait varyans analizi sonuçları....	47

ŞEKİLLER

Şekil 1. Beyaz çizgi ile çevrelenmiş alan Kazdağı yükseltilerini ve okla işaretlenen kısımlar örneklerin alındığı yerleri göstermektedir.....	5
Şekil 2. Bodur kekik bitkisi <i>Thymus longicaulis</i>	15
Şekil 3. (a) Oğulotu Kazdağı yerel ekotip bitkisi (b) Yerel Oğulotu hattı (Özgün).....	15
Şekil 4. <i>Sideritis trojana</i> Sarıkız çayı <i>ex-situ</i> koruma Terzioğlu Yerleşkesi	15
Şekil 5. a) <i>In vitro</i> şartlarda tohumdan gelişen oğulotu bitkisi b) <i>In vitro</i> şartlarda tohumdan gelişen izmir kekiği bitkisi	18
Şekil 6. Bodur kekik bitkisi <i>in vitro</i> ortamda alt kültüre alınması (a) ekim öncesi (b) ekim sonrası	19
Şekil 7. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi	22
Şekil 8. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının eksplant sayısı üzerine etkisi	23
Şekil 9. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının dal sayısı üzerine etkisi	23
Şekil 10. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök uzunluğu üzerine etkisi	24
Şekil 11. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök skoru üzerine etkisi.....	25
Şekil 12. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının yeşil ağırlık üzerine etkisi	25
Şekil 13. Bodur kekikte farklı NAA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kuru ağırlık üzerine etkisi	26
Şekil 14. Bodur kekik bitkisinin <i>in vitro</i> gelişimi (a)MS (b)MS+0,5mg/l NAA (c)MS+1,0mg/l NAA (d) MS+2,0mg/l NAA	28
Şekil 15. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi	29
Şekil 16. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının eksplant sayısı üzerine etkisi.	30
Şekil 17. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının dal sayısı üzerine etkisi	31

Şekil 18. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök uzunluğu üzerine etkisi.....	31
Şekil 19. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök skoru üzerine etkisi	32
Şekil 20. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının yeşil ağırlık üzerine etkisi	33
Şekil 21. Oğulotunda farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kuru ağırlık üzerine etkisi	33
Şekil 22. Oğulotu bitkisinin <i>in vitro</i> gelişimi (a)MS (b)MS+0,5mg/l IBA (c)MS+1,0mg/l IBA (d) MS+2,0mg/l IBA	36
Şekil 23. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi	37
Şekil 24. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının eksplant sayısı üzerine etkisi	38
Şekil 25. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının dal sayısı üzerine etkisi	39
Şekil 26. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök uzunluğu üzerine etkisi.....	39
Şekil 27. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kök skoru üzerine etkisi.....	40
Şekil 28. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının yeşil ağırlık üzerine etkisi	41
Şekil 29. İzmir kekiğinde farklı IBA (mg/l) yoğunlukları içeren besi ortamlarının kuru ağırlık üzerine etkisi	41
Şekil 30. İzmir kekiği bitkisinin <i>in vitro</i> gelişimi sonunda hasat edilmiş şekli	43
Şekil 31. Adaçayında MS ortamında bitki gelişimi	44
Şekil 32. Adaçayında farklı 0,5 BA (mg/l) ilavesinde değişen NAA yoğunlukları içeren besi ortamlarının kallus ağırlığı üzerine etkisi.	45
Şekil 33. Adaçayında farklı 0,5 BA (mg/l) ilavesinde değişen NAA yoğunlukları içeren besi ortamlarının kallus renk skoru üzerine etkisi.....	46
Şekil 34. Adaçayında farklı 0,5 BA (mg/l) ilavesinde değişen NAA yoğunlukları içeren besi ortamlarının kallus sertlik skoru üzerine etkisi	46
Şekil 35. Sarıkız çayı (<i>Sideritis trojana</i>) <i>in vitro</i> ortamda gelişimi	49

Şekil 36. a) *Sideritis trojana*'da kallus benzeri dokular b) yoğun şiddette sterilizasyon sonrası meydana gelen ölü bitki parçaları 49

YAŞAM ÖYKÜSÜ

25 Ocak 1983 Yılında Balıkesir'in Edremit İlçesi'nde doğdum, İlk ve orta eğitimimi Edremit'te, lisans öğrenimimi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitkisel Üretim, Tarla Bitkileri Alt Programından mezun olarak tamamladım. 2005 yılında Leonardo Da Vinci Staj Bursuyla İspanya'da 3 ay süreyle Organik Tarım üzerine staj yaptım. 2001 yılından bu yana Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Halk Müziği Topluluğu'nda vurmali çalgılar üzerine amatör müzik yapmaktayım. Ayrıca Biyoteknoloji ve Gen Bilimleri (BiyoGen) Topluluğu Akademik Danışmanlığı görevini yürütmekteyim. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü kadrosuyla Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.