

Propagation of Some Medicinal and Aromatic Plants in Turkey by Biotechnological Methods

Mehmet SEZGİN^{1,*}, Emine KAPDAN²

¹ Department of Biology, Faculty of Science, Çankırı Karatekin University, Uluşayzı Campus, Çankırı, Turkey

² Graduate School of Natural and Applied Sciences, Çankırı Karatekin University, Çankırı, Turkey

ORCID ID: Mehmet SEZGİN: <https://orcid.org/0000-0001-7053-0371>; Emine KAPDAN: <https://orcid.org/0000-0003-4530-4860>

Received: 07.10.2019

Accepted: 09.10.2019

Published online: 20.12.2019

Issue published: 20.12.2019

Abstract: In this study, the reports covering the years 1984-2019 for propagation, reproduction, and breeding of *Sideritis perfoliata* L., *S. stricta* Boiss. & Heldr., *S. erythrantha* Boiss. & Heldr., *Leucojum aestivum* L., *Borago officinalis* L., *Cuminum cyminum* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Rosa damascena* Mill., *R. canina* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C. pres l., *Tussilago farfara* L., *Digitalis lanata* Ehrh., *D. lamarckii* Ivan., *Crocus sativus* L., *Capsicum annuum* L., *Origanum syriacum* subsp. *bevanii* (Holmes) Greuter & Burdet, *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich., *Sinapis arvensis* L., *Papaver somniferum* L., *P. bracteatum* Lindl., *Capparis spinosa* L., *Coriandrum sativum* L., *Petroselinum crispum* (Mill.) A. W. Hill., *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Ziziphus jujuba* Mill., *Peganum harmala* L., *Carthamus tinctorius* L., *Rumex acetosella* L., *Dianthus caryophyllus* L., *Ocimum basilicum* L., *Mentha spicata* subsp. *spicata* L. taxa, used for medicinal purposes in Turkey with biotechnological methods, have been reviewed. Biotechnological methods such as *in vitro* organogenesis and somatic embryogenesis can be used in plants for a sufficient amount of production and desired yield in medicinal and aromatic plants. Moreover, various breeding practices can be carried out by using biotechnological methods. In addition to the traditional methods of propagation in medicinal and aromatic plants, the provision of mass and clonal propagation via *in vitro* propagation techniques has a significant potential.

Keywords: Organogenesis, somatic embryogenesis, medicinal and aromatic plant.

Türkiye’de Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Biyoteknolojik Yöntemlerle Çoğaltılma Çalışmaları

Öz: Bu çalışmada, Türkiye’de tıbbi amaçlı olarak kullanılan *Sideritis perfoliata* L., *S. stricta* Boiss. & Heldr., *S. erythrantha* Boiss. & Heldr., *Leucojum aestivum* L., *Borago officinalis* L., *Cuminum cyminum* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *Rosa damascena* Mill., *R. canina* L., *Thymus longicaulis* subsp. *longicaulis* C. pres l., *Tussilago farfara* L., *Digitalis lanata* Ehrh., *D. lamarckii* Ivan., *Crocus sativus* L., *Capsicum annuum* L., *Origanum syriacum* subsp. *bevanii* (Holmes) Greuter & Burdet, *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich., *Sinapis arvensis* L., *Papaver somniferum* L., *P. bracteatum* Lindl., *Capparis spinosa* L., *Coriandrum sativum* L., *Petroselinum crispum* (Mill.) A. W. Hill., *Silybum marianum* (L.) Gaertn., *Ziziphus jujuba* Mill., *Peganum harmala* L., *Carthamus tinctorius* L., *Rumex acetosella* L., *Dianthus caryophyllus* L., *Ocimum basilicum* L., *Mentha spicata* subsp. *spicata* L. taksonlarının biyoteknolojik yöntemlerle üretimi, çoğaltımı ve ıslah çalışmalarına yönelik 1984-2019 yılları arasında yapılan araştırmalar derlenmiştir. Tıbbi ve aromatik bitkilere olan ihtiyacı karşılamaya yönelik üretimin yapılabilmesi ve istenen verimin alınabilmesi için, bitkilerde *in vitro* şartlarda organogenesis, somatik embriyogenesis gibi biyoteknolojik yöntemler kullanılabilir. Aynı zamanda biyoteknolojik yöntemlerle çeşitli ıslah çalışmaları da gerçekleştirilebilmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkilerde klasik çoğaltım yöntemlerinin dışında *in vitro* çoğaltım teknikleri ile yoğun ve klonal bir çoğaltımın sağlanması, büyük bir potansiyel olarak ortaya çıkmaktadır.

Anahtar kelimeler: Organogenesis, somatik embriyogenesis, tıbbi ve aromatik bitki.

1. Giriş

İnsanlık tarihi boyunca bitkilerin, sağlığı korumak ya da geri kazanmak amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Mezopotamya bölgesinde yaşamış Asurlular, Akatlar ve Sümerler gibi medeniyetlerde, bitkilerden ve hayvansal ürünlerden tedavi amaçlı ilaçların üretilerek kullanıldığı M.Ö. 3000 yıllarına ait ilk yazılı belge niteliğinde olan Ninova tabletlerinde belirtilmiştir (Genç & Kaçar, 2012). M.Ö. 2500 yıllarında da Çin’de uygulanan tıbbi yöntemlerle büyük benzerlik gösteren ve Hint bölgesinde uygulanan tıbbın en önde gelen isimlerinden olan Rig Veda, eserlerinde birçok şifalı bitki ve bitkisel üründen söz etmiştir. Eski Yunan medeniyetinde Eskulap ve modern tıbbın da atası sayılan Hipokrat da, kitaplarında 400 civarında bitki ve bitkisel ürünün tedavi amaçlı kullanımından bahsetmişlerdir. Tıbbi ve aromatik bitkiler, insanlık tarihi boyunca deneme yanılma yöntemleri ile birlikte ve günümüzde de modern eczacılık ve tıp aracılığı

ile insan, hayvan ve bitki sağlığı için kullanılmaktadır (Faydaoğlu & Sürücüoğlu, 2011; Genç & Kaçar, 2012; Mert & Dağıstan, 2016).

İnsanoğlu, bitkilerin kök, yaprak, çiçek, meyve gibi kısımlarının hangilerininin tedavi edici etkileri olduğunu deneme/yanılma, tesadüflerle veya hayvanların tükettiği bitkileri gözlemleyerek öğrenmiştir. Bitkiler o dönemlerde de gelişi güzel değil, dönemin filozoflarının önerilerine göre kullanılmıştır. İlerleyen zamanlarda bitkilerin kimyasal yapıları aydınlatılmış ve içerdikleri etkili maddeler saf olarak izole edilmiştir. Böylece “saf ve standart ilaç” kavramının temelleri atılmıştır (Tanrıseven, 2013). Bunun en güzel örneği, söğüt ağacından salisilikasitin izole edilmesi ve yapısının aydınlatılmasıdır. 1890 yılında bu bileşikten basit bir kimyasal işlemle sentetik olarak elde edilen “Aspirin” (asetil salisilik asit) insanlığın yararına sunulmuştur. Günümüzde aslında modern tıbbın yanında alternatif tıp olarak da

*Corresponding author: sezgin@karatekin.edu.tr

isimlendirilen tedavi yöntemlerinin birçoğu, bilimsel olarak araştırılıp değerlendirildikten ve tabii ki etkinlikleri ispatlandıktan sonra insan hayatına girmeye başlamışlardır (Genç & Kaçar, 2012).

Günümüz modern tıbbında kullanılan pek çok ilaç hammadde kaynağının bitkiler olduğu bilinmektedir. Avrupa'nın güneyi ile Güneybatı Asya floraları arasında bir köprü oluşturan Anadolu aynı zamanda üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bir bölgedir. Birçok cins ve seksiyonun orijini ve farklılaşım merkezidir (Akman, 1995). Anadolu'nun zengin florası, birçok tıbbi ve aromatik bitkiye ev sahipliği yapmakla kalmayıp bununla birlikte pek çok bitkinin de gen merkezidir (Arslan, Baydar, Kızık, Arık, Şekeroğlu, & Gümüscü, 2015). Ancak tüm bu zenginliğe rağmen bitki popülasyonlarından ne tam manasıyla yararlanılmakta ne de kültürel olarak üretimi yapılmaktadır.

Anadolu'da florada doğal olarak bulunan bitkilerden; hem insan hem de hayvan hastalıklarının tedavisinde (Fitoterapi), çay, gıda, baharat, boya, reçine, insektisit, zambak, uçucu yağlarından faydalanma, ip ve sepet yapımı, meşrubat, kozmetik sanayinde kullanımı gibi halk arasında yaygın bir şekilde faydalanılmaktadır. Türkiye, Dünya'da tıbbi ve aromatik bitki ticaretinde önemli bir yere sahiptir. Ülkemizden, hem nihai ürün hem de bitkisel ilaç ve kimyasal sanayi için hammadde, gıda sektöründe kullanılan bitkisel kökenli katkı maddeleri, kozmetik ve parfüm sanayi için nihai ürün ve hammadde ile boya sanayi gibi önemli sektörlerle de hammadde sağlanmaktadır (Arslan, Javani, & Taher, 2016; Genç & Kaçar, 2012;).

Bitki doku kültürü: Genel anlamda steril şartlar altında bitki hücre ya da organlarını elde etmek ve büyütme için kullanılan teknikleri açıklayan bir kavramdır (Chawla, 2002; Özcan, Babaoğlu, & Sancak, 2001;). Bitki biyoteknolojisinin önemli bir parçası olan *in vitro* çoğaltım yöntemleri, klasik yöntemlerle ıslahı zor veya tamamen imkânsız olan durumlarda çözüm sunmaktadır. Bu sayede hastalıktan, virüsten ve diğer zararlılardan arındırılmış sağlıklı bitkiler yetiştirebilmek, yoğun ve klonal çoğaltım yapabilmek, sekonder ve diğer değerli metabolitleri üretmek ve aynı zamanda miktarını artırılabilir, verimsiz, yetiştirme olasılığı düşük olan bitkilerin yetiştirilebilmesi ve genetik çeşitliliğin sağlanması mümkündür. Tüm bunlar düşük maliyetli daha az iş gücüne gereksinim duyularak klasik yöntemlere göre daha hızlı bir üretim olanağı sağlamaktadır (Acar, İşkil, & Bürün, 2017; Bayraktar, Öztürk, & Arslan, 2017; Carimi, Tortorici, Pasquale, & Crescimanno, 1998; Dilmen & Göktürk, 2016; Güven & Gürsul, 2014).

Biyoteknoloji Türkiye'de ormancılık alanında yeni sayılabilecek bir bilim dalıdır ve ormancılıkta klasik yöntemlerle birlikte ülkemiz ekonomisine önemli katkılar sağlayacağı beklenmektedir. Ayrıca orman kaynaklarının korunması ve daha fazla yararlanılması hususunda, hem bölgesel hem de uluslararası süreçler biyoteknoloji uygulamalarını gündeme getirmiştir. Bunun bir yansıması olarak Avrupa Birliği kapsamında yürütülen "Eurosilva" şebekesinin hayata geçirilmesi kapsamında, biyoteknoloji araştırmalarının önemine vurgu yapılmış, asli ve tali orman ürünlerinin çoğaltımı, ıslahı ve korunması hususunda biyoteknolojiden daha fazla yararlanılması gerektiği vurgulanmıştır.

Türkiye ekonomisine katkı sağlayabilecek olan bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin biyoteknolojik yöntemlerle üretim yöntemleri, çoğaltımı ve ıslah çalışmalarına yönelik araştırmalar derlenmiştir. *In vitro* ortamda kültüre alınmış ve çoğaltımı yapılmış bitkilerin listesi Türkçe isimleriyle birlikte Tablo 1'de verilmiştir (Güner, Aslan, Ekim, Vural, & Babaç, 2012).

Tablo 1. *In vitro* kültürü yapılan bazı tıbbi aromatik bitkilerin Latince ve Türkçe isimleri

Bitkinin Latince İsmi	Bitkinin İsmi	Türkçe İsmi
1- <i>Sideritis perfoliata</i> L.	Fincan çayı	
2- <i>Sideritis stricta</i> Boiss. & Heldr.	Tilkikuyruğu çayı	
3- <i>Sideritis erythrantha</i> Boiss. & Heldr.	Morçay	
4- <i>Digitalis lamarckii</i> Ivan.	Yüksükotu	
5- <i>Digitalis lanata</i> Ehrh. subsp. <i>lanata</i> .	Yünlü yüksükotu	
6- <i>Leucium aestivum</i> L.	Gölsoğanı	
7- <i>Papaver somniferum</i> L. var. <i>somniferum</i>	Afyonçeği	
8- <i>Papaver somniferum</i> L.	Haşhaş	
9- <i>Papaver bracteatum</i> Lindl.	Adamağusu	
10- <i>Borago officinalis</i> L.	Hodan	
11- <i>Cuminum cyminum</i> L.	Acem kimyonu	
12- <i>Coriandrum sativum</i> L.	Kişiş	
13- <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Lavanta	
14- <i>Lavandula officinalis</i> Chaix. (synonym)	Lavanta	
15- <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	Devedikeni	
16- <i>Rosa damascena</i> Mill.	Isparta gülü	
17- <i>Thymus longicaulis</i> C.Presl. subsp. <i>longicaulis</i>	Aş kekiği	
18- <i>Thymus vulgaris</i> L.	Kekik	
19- <i>Tussilago farfara</i> L.	Öksürtükotu	
20- <i>Rumex acetosella</i> L.	Kuzukulağı	
21- <i>Mentha spicata</i> L. subsp. <i>spicata</i>	Eşek nanesi	
22- <i>Cyclamen persicum</i> Mill.	Alayaprak	
23- <i>Ecballium elaterium</i> (L.) A.Rich.	Eşek hıyarı	
24- <i>Sinapis arvensis</i> L.	Hardal	
25- <i>Capparis spinosa</i> L.	Kebere	
26- <i>Capsicum annuum</i> L.	Biber	
27- <i>Rosa canina</i> L.	Kuşburnu	
28- <i>Petroselinum crispum</i> Mill. A.W.Hill.	Maydanoz	
29- <i>Crocus sativus</i> L.	Safran	
30- <i>Ziziphus jujuba</i> Mill.	Hünnap	
31- <i>Peganum harmala</i> L.	Üzerlik	
32- <i>Carthamus tinctorius</i> L.	Aspir	
33- <i>Dianthus caryophyllus</i> L.	Karanfil	
34- <i>Ocimum basilicum</i> L.	Fesleğen	
35- <i>Origanum syriacum</i> L. subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet.	Hababa	

2. Bitkilerin Çoğaltımında Kullanılan *in vitro* Teknikler

Türkiye'de yetişen bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin çoğaltımında kullanılan somatik embriyogenesis, sürgün ucu kültürü, boğum kültürü, haploid bitki üretimi (androgenesis), biyoreaktör aracılığıyla üretim, somatik melezleme ve protoplast füzyonu gibi biyoteknolojik tekniklerle yapılan çoğaltım çalışmalarının; ne amaçla yapıldığı, hangi yöntemlerin uygulandığı ve elde edilen bulgular ile ilgili bilgiler sunulmuştur. Bitki çoğaltımında kullanılan embriyo kültürü, kallus kültürü hücre kültürü gibi diğer *in vitro* teknikler de, tıbbi ve aromatik bitkilerin çoğaltım çalışmalarında kullanılabilecek birer yöntem olarak ele alınabilmektedir.

2.1 Somatik Embriyogenesis

Bitkinin somatik dokularından kapalı iletim sistemine sahip bipolar bir embriyonun üretilmesini sağlayan aseksüel gelişme süreci, somatik embriyogenesis olarak adlandırılır (Cardoza, 2008; Özcan, Babaoğlu et al., 2001). Somatik embriyogenesis, *in vitro* çoğaltım teknikleri

arasında oldukça önemli bir yöntemdir. Yoğun ve klonal bir çoğaltım için uygulanan bu teknikte embriyolar ya direkt olarak eksplant dokusundan ya da kallustan indirekt olarak oluşabilir. Genetik materyalin muhafazası, sentetik tohum üretimi, genetiği değiştirilmiş organizma üretimi, *in vitro* koşullarda çeşitli test ve çalışmalarda büyük bir potansiyel sağlayan bu teknikte başarı, genotipe, eksplant kaynağına, büyüme düzenleyici maddelere, azot kaynaklarına ve inkübasyon koşullarına bağlıdır. Somatik embriyolar aynı zamanda tohum olarak da kullanılabilir. Biyoreaktörler aracılığıyla

somatik embriyoların bol miktarda üretimi ve bunlardan sentetik tohum üretimi başarılı sonuçlar vermiştir (Fang, Wetten, & Hadley, 2004). Bu tohumların genetik materyalin muhafazası amacıyla farklı tekniklerle (sıvı azot içerisinde dondurularak, kurutma, yavaş büyüme vb.) uzun süre saklanması ve ihtiyaç duyulduğunda çimlendirilmesi mümkündür. Bu aslında, doğal çimlenme işlemini taklit eden bir olaydır. Türkiye’de bazı tıbbi aromatik bitkilerde yapılan somatik embriyogenesis çalışmalarının materyal metot ve sonuç kısımları Tablo 2’de açıklanarak ifade edilmiştir.

Tablo 2. Tıbbi aromatik bitkilerde uygulanan somatik embriyogenesis çalışmaları

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Koçak et al., 2014) - <i>Cyclamen persicum</i> Mill. (Domuz Turpu) - Boğum arası	MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: Fe-EDTA, pepton (250 mg/L), myo-inositol (100 mg/L), glycine (2.0 mg/L), NAA (0.5 mg/L), thiamine HCl (0.1 mg/L), pyridoxine-HCl (0.5 mg/L), sukroz (30 g/L), glukoz (2 g/L), gelrite (3.7 g/L), 2,4-D (2.0 mg/L) ve 2iP (0.8 mg/L) ekleyerek hazırlanmıştır. 22-25°C’de karanlıkta inkübe edilmiştir.	%80-95 oranında somatik embriyo elde edilmişler, sürgün gelişimi, bitki oluşumu gözlemlenmiştir.
-(Ovecka, Bobak, Blehova, & Kristin, 1997). - <i>Papaver somniferum</i> L. (Haşhaş) -Somatik embriyogenesis	Farklı dozlarda NAA ve KIN’ nin eklendiği MS (Murashige & Skoog, 1962) ortamında kültüre alma çalışması yapılmıştır. Tüm kültüre alma ve çoğaltım aşamasında 16 saatlik fotoperiyot ve 25 ± 2 °C sıcaklık uygulanmıştır. Elde edilen kallusları 0.1mg/L NAA, 0.1mg/L KIN, 0.1mg/L IAA ve 0.5mg/L BAP içeren MS ortamında alt kültüre alınmıştır.	Çalışmada <i>P. Somniferum</i> L. bitkisinde 0.1mg/L NAA, 0.1mg/L KIN içeren MS besin ortamında kallus elde edilmiştir. Sürgün oluşumundan önce kallus üzerinde küçük beyaz preembriyonik yapıları gözlemlenmiştir.
-(Başalma, Uranbey, Mirici, & Özer, 2008). - <i>Carthamus tinctorius</i> L. (Aspir) - Somatik embriyogenesis	<i>In vitro</i> ortamda çimlendirilerek elde edilen filizlerdeki 1-2 mm çapındaki kotiledonlar, boğum kısımlarında ki sürgünler ve kalluslar %3 sukroz ve %0.8 agar içeren MS (Murashige & Skoog, 1962) ortamına, farklı konsantrasyonlarda TDZ; 0.05, 0.1 ve 0.5 mg/L ve IBA; 0.25 ve 0.5 mg/L hormonlarını içeren (100 x 10 mm)’lik petri kaplarında kültüre alınmıştır. Meristem kültürü kotiledon dan 14 gün sonrasında direkt organogenesis ile elde edilmiştir. Kotiledon boğumları 2 - 3 cm uzunluğunda ve meristem tiptekileri 1 - 2 mm uzunluğunda MS ortamında çeşitli konsantrasyonlar da BAP (0.5 ve 1.0 mg/L) tek başına veya NAA (0.02 ve 0.2 mg/L) Magenta kaplarında (GA-7) kültüre alınmıştır.	En yüksek sürgün rejenerasyonu (%33.33) ve en yüksek sayıda sürgün adedi (6.5) MS ortamına eklenen 0.5 mg/L TDZ ve 0.25 mg/L IBA ile gözlemlenmiştir. Meristem ve kalluslardan direkt organogenesis ile 14-21 gün sonrası MS ortamında bulunan farklı dozlardaki BAP ve NAA’de gözlemlenmiştir.
- (Ljubinka, Snezana, Radmila, & Mirjana, 1987). - <i>Rumex acetosella</i> L. (Kuzukulağı) - Somatik embriyogenesis	3-4 mm uzunluğunda steril edilen eksplantları kullanılmıştır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına; thiamine (1.0 mg/L), pyridoxine HCl (1.0 mg/L), NAA (5.0 mg/L) ve %0.7 agar eklenmiştir. 3 farklı besin ortamı hazırlayıp; sürgünler %2 sukroz, BAP (2.2 mg/L) ve IAA (0.17 mg/L) ile muamele edilmiştir; alt kültürlerde sadece %6 sukroz, mannitol veya sorbitol eklenerek ya da %6’lık sukroz tek başına eklenerek ortam hazırlanıp kültüre alınmıştır. Olgunlaşmış embriyolar %6 sukroz BAP ve IAA olmaksızın sadece GA ₃ (10 mg/L) eklenerek kültüre alınmıştır. pH 7.2 ile 7.3 arasında ayarlanmıştır.	En yüksek embriyo gelişimi GA ₃ eklenen ortamda olmuştur.
- (Ebrahimie et al., 2007). - <i>Cuminum cyminum</i> L. (Kimyon) - Somatik embriyogenesis	MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: IAA (0.4 mg/L), NAA (0.4 mg/L) eklenerek pH 5.7 de 21-22°C’de inkübasyon yapılmıştır.	Üç farklı tipte eksplant oluşmuş ve embriyo gelişimi gözlemlenmiştir.

2.2. Haploid Bitki Üretimi

Somatik hücrelerde bulunan kromozom sayısı ile gamet hücrelerindeki kromozom sayısı birbirine eşit olan bitkiler haploid bitkiler olarak adlandırılır. Bu bitkiler, her lokustaki alellerden yalnızca bir seriyi bünyesinde bulundurmakta ve bu özellikleri nedeniyle ıslah ile ilgili çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Chupeau, Caboche, & Henry, 1998; Ellialtıoğlu, Sarı, & Abak, 2001; Palmer & Keller, 1997). Anter kültüründe (androgenesis) en uygun başlangıç materyali, henüz tam olgunlaşmaya erişmemiş ve içerisinde tek çekirdekli mikro sporları bulunan, ilk polen mitozu aşamasındaki anterlerdir. Çiçek tomurcukları içerisinde bu aşamada bulunan anterler, yüzey sterilizasyonundan sonra aseptik koşullarda, önceden hazırlanmış steril besin ortamına dikilir (Çağlar, Aras & Bayram, 2004; Ellialtıoğlu et al., 2001). Anter kültüründe, eksplantlar dikimlerinden yaklaşık 40 gün

sonra gelişerek embriyo halinde anterlerin içerisinde görülebilir aşamaya ulaşmaktadır. Bu olay direkt androgenesis olarak adlandırılmaktadır. Bundan farklı olarak, bazı bitki türlerinde önce kallus meydana gelmekte ve akabinde kallustan organogenesis veya embriyogenesis vasıtasıyla haploid bitkiler oluşmaktadır. Bu ikinci oluşum yoluna da indirekt androgenesis denilmektedir. Haploid bitki üretimi amacıyla yapılan çalışmaların materyal metot ve sonuç kısımları Tablo 3’de belirtilmiştir.

2.3. Somatik Hücre Melezlemesi, Protoplast Kültürü

Somatik melezleme, prezigotik eşeyssel uyumsuzluk gibi nedenlerden dolayı klasik yöntemlerle melezlemesi yapılamayan hibritlerin üretilmesinde gerek fiziksel gerekse kimyasal yöntemlerden faydalanılarak uygulanan bir kültür tekniğidir (Babaoğlu & Özcan, 2001). Üretilen somatik melez hücreden, kallus uyarımı ve bundan bitkiye

dönüşüm, sistemin en önemli parçasıdır. Genel anlamda bu işleme genetik kopyalama denilebilir ve bitkilerde yaklaşık 60 yıldan beri yapılagelmektedir (Ochatt & Power, 1992). Protoplast yönteminde ise çok hücreli bitkilerde bitki hücreleri birbirlerine hücre duvarı yapısı ile bağlanmaktadır. Bir bitki hücresinin hücre duvarı uzaklaştırıldığında geriye kalan yapıya protoplast denilmektedir. Oluşturulan bu protoplastlar izotonik ortamda canlılığını sürdürerek, kendisine yeni bir hücre duvarı sentezlerler. Mitozla çoğalarak yeni hücre birliktelikleri oluşturan hücreler (mikrokallus), daha sonra bu yapıdan da yeni bitkiler meydana getirebilmektedir.

İşte bu yöntem bitkilerin totipotensi özelliğini ortaya açıkça koymaktadır. Yani her bir bitki hücresi kendisinden yeni bir bitki oluşturabilme kapasitesine sahiptir (Babaoğlu & Özcan, 2001). Bu yöntemle yapılan çalışmaların materyal, metot ve sonuç kısımları Tablo 4’de açıklanarak ifade edilmiştir.

2.4. Sürgün Ucu Kültüründe Biyoreaktör Kullanımı

Biyoreaktörler, canlı organizma, hücre veya dokuların sıvı besi yeri içerisinde kültür ortamına zarar vermeden pH, sıcaklık, hava temini, karıştırma ve taze besi yeri ekleme işlemlerinin yapılabildiği elektronik kontrole imkân sağlayan metal, cam veya plastikten üretilmiş tanktır. Biyoreaktör içerisindeki besin ortamının şartlarını

yakından takip etmeye olanak tanıdığı gibi fiziksel ve kimyasal müdahaleye de elverişli bir sistemdir (Topçu & Çölgeçen, 2015). Tablo 5’de biyoreaktör ile çoğaltımı sağlanan tıbbi aromatik bitkilerin, çoğaltım aşamasının materyal metot ve sonuç kısımları gösterilmiştir.

2.5. Sürgün Ucu ve Boğum Kültürleri

Totipotensi özelliğine sahip bitki kısımlarından alınan (tek hücre, polen tanesi, embriyo, tohum, gövde, sürgün, kök, kallus vb.) eksplantların, besin ortamları üzerinde ve steril koşullarda yeni bitkilerin elde edilmesi amacıyla kültüre alınmasına mikroçoğaltım denir. Bitkilerin yetiştirilmesine uygun besin ortamı, bitki büyüme düzenleyici madde ve kültür ihtiyaçları yeteri kadar biliniyorsa mikroçoğaltım tekniği aracılığı ile her tür bitkinin üretimi ve çoğaltımı mümkündür (Ayabe & Sumi, 2001; Hartman & Kester, 1975; Uçar & Turgut, 2009; Wang et al., 2006). Bitkilerin *in vitro* şartlarda üretiminde tekniğin adlandırılması, kullanılan eksplantın (embriyo, meristem, anter, boğum, hücre vb.) özelliğine göre olmaktadır. Ancak çoğunlukla üretimde kallus, boğum, boğum arası yöntemi, sürgün ucu, adventif sürgün ya da tomurcuklardan rejenerasyon gibi teknikler kullanılmaktadır (Mansuroğlu & Gürel, 2001). Tablo 6’da sürgün, boğum, boğum arası, kök çimlendirme yöntemleri ile üretilen bitkilerin materyal metot ve sonuç kısımları açıklanarak anlatılmıştır.

Tablo 3. *Capsicum annuum* L.’ da anter kültürü

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Çağlar et al., 2004). - <i>Capsicum annuum</i> L. (Kırmızıbiber) - Kırmızı pul biber olarak kullanılan biberin anterleri	Eksplantlar MS (Murashige & Skoog, 1962) temel besin ortamında kültüre alınmışlardır. Ayrıca MS ortamına: myo-inositol (100 mg/L), sukroz (30 g/L) ve agar (8 g/L) ilave edilip. Büyüme düzenleyici madde olarak ise: NAA (2.0, 4.0, 6.0 mg/L) ve 2,4-D (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/L) ile BAP (0.1, 1.0, 2.0, 3.0 mg/L) ve KIN (0.1, 1.0, 5.0 mg/L) eklenmişlerdir.	<i>In vitro</i> şartlarda üç binden fazla anter kültüre alınmışlardır. Bunlardan 284 tanesi kallus meydana getirirken, doğrudan embriyogenesis de başarı sağlayamamışlardır. Kırmızı biberlerden Kahramanmaraş çeşidinde doğrudan embriyogenesis yalnızca BAP (0.1 mg/L) + NAA (4 mg/L) + aktif karbon (%0.2) + AgNO ₃ (10 mg/L) içeren MS besin ortamına dikilmiş olan anter eksplantlar da oluşmuş ve embriyo meydana getirme oranı ise %2.8 olarak belirlenmişlerdir.

Tablo 4. Protoplast kültürü ile çoğaltılan tıbbi aromatik bitkiler

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Primard, Vedel, Mathieu, Pelletier & Chavre, 1988). - <i>Sinapis arvensis</i> L. (Hardal) - Hibritleme, protoplast	<i>Brassica hirta</i> ve <i>Brassica napus</i> arasında <i>Sinapis arvensis</i> L. kullanılarak hibritleme ile protoplast yöntemi çalışılmışlardır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: B _s besin ortamın mineral tuzları agar (2.0 g/L), gelrite (3.0 g/L), sakkaroz (30 g/L), mannitol (10 g/L), BAP (0.5 mg/L), IBA (0.5 mg/L) eklenerek hazırlanmışlardır. pH 7.2 olarak ayarlanıp, 25°C’de 16 /8 saat aydınlık/ karanlık şartlarda inkübe etmişlerdir.	2-4 hafta sonunda sürgün gelişimi gözlemlenmiştir.

Tablo 5. Biyoreaktör aracılığıyla çoğaltılan tıbbi aromatik bitkiler

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
- (Georgiev et al., 2012). - <i>Leucojum aestivum</i> L. (Göl soğanı) - Boğum, boğum arası ve sürgünler	Biyoreaktör tankları içine 80 adet sürgün olacak şekilde 18°C, 22°C ve 26°C’de dikim yapmışlardır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: sakkaroz (30 g/L), agar (5.5 g/L), NAA (1.15 mg/L) ve BAP (2 mg/L) eklenmişlerdir. Sürgünler 26°C’de 16:8 h (ışık: karanlık) aydınlık koşullarda, 110 µmol (m ² ·SYLVANIA Gro-Lux) floresan ışığında büyümeye bırakılmışlardır. (F18W/GRO-LUX).	80 adet sürgünün başarılı bir şekilde gelişme gösterdiğini tespit etmişlerdir.
- (Panizza & Tognoni, 1992). - <i>Lavandula officinalis</i> Mill. (Lavanta) - Sürgün arası	Biyoreaktör tankları 25°C de 16:8 h (ışık: karanlık) aydınlık koşullarda ayarlanmışlardır. MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: sakkaroz (30 g/L), agar (6 g/L), ve büyüme düzenleyici olarak NAA, IBA, ve IAA nın farklı dozları eklenip inkübe etmişlerdir.	En yüksek köklendirme MS besin ortamına IAA (1 mg/L) ve IBA (1 mg/L) eklendiğinde gözlenmişken, NAA (0.5 mg/L)’nın tek başına eklenmesiyle en yüksek sürgün gelişimi gözlemlenmiştir.

Tablo 6. Sürgün, boğum ve boğum arası yöntemleri ile üretilen yapılan tıbbi aromatik bitkiler

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
<p>-(Uçar & Turgut, 2009). - <i>Sideritis perfoliata</i> L., <i>Sideritis stricta</i> Boiss. & Heldr., <i>Sideritis erythrantha</i> Boiss. & Heldr. (Dağ çayı) -Yaprak, yaprak sapı, boğum, boğum arası tohum</p>	<p>Çimlendirme için MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına: sakkaroz (30 g/L), agar (7 g/L) ve GA₃'ün farklı dozları eklenerek ortamı hazırlanmıştır (MS0- BBD (0 mg/L), MS1- GA₃ (5.0 mg/L), MS2- GA₃ (10 mg/L) ve MS3- GA₃ (15 mg/L) olmak üzere 4 farklı ortam hazırlanmıştır). <i>S. stricta</i> ve <i>S. perfoliata</i> türlerinde farklı eksplant kaynakları (yaprak, yaprak sapı, boğum ve boğum arası) için hazırlanan MS besin ortamına; NAA (0.5 mg/L) ile BAP'ın 1, 2, 4 mg/L dozları (MS1, MS2, MS3) ilave edilmiştir. Sonrasında yeni sürgünler, MS besin ortamına TDZ'nin farklı konsantrasyonları eklenerek rejenere edilmiştir. Kontrol olarak büyüme düzenleyici madde içermeyen temel besin ortamı (MS0) kullanılmışlardır.</p>	<p>TDZ'nin yüksek konsantrasyonunu (1.5 mg/L) içeren besin ortamlarında gelişim oranı az olurken, rejenerasyonu ve gelişim en fazla MS0 (0 (BBD))'da olduğunu gözlemlemiştir.</p>
<p>-(Yücesan et al., 2018). -<i>Digitalis lanata</i> Ehrh. subsp. <i>lanata</i> (Yünlü yüksük otu) -Sürgün rejenerasyonu</p>	<p>Steril edilen <i>Digitalis lanata</i> Ehrh. subsp. <i>lanata</i> (yüksük otu) tohumları 25 ml MS (Murashige and Skoog 1962) 30 g/L sukroz, 8 g/L Plant agar ihtiva eden ortamda petri kaplarına <i>in vitro</i> ekmişlerdir. * 6 hafta sonra gelişen yeni filizlerden 0.5 cm uzunluğunda eksplantlar alarak (0.25, 0.50, 1.0, 2.0 mg/L) IAA, NAA, IBA büyüme düzenleyicilerini ihtiva eden 330 ml'lik MS ortamında kültüre almışlardır.</p>	<p>8 hafta sonunda sürgün gelişimi gözlemiştir. 12 hafta sonunda kök üretimini MS besin ortamında 0.25 mg/L IAA içeren besin ortamında gerçekleştirmişlerdir. En yüksek 0.25 mg/L IAA, 0.50 mg/L IAA ve 0.50 mg/L IBA hormonlarını içeren ortamlarda iklimizasyona aldıklarında %95 oranında hayatta kalma oranlarını gözlemiştir.</p>
<p>-(Karaoğlu, 2004) -<i>Leucojum aestivum</i> L. (Göl soğanı) -Yapraklardan ve olgunlaşmış embriyolardan doku kültürü yolu ile çoğaltım</p>	<p>Besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog 1962) ve N6 (Chu vd. 1975) mineral tuzları ve vitaminleri kullanılmıştır. İki farklı eksplant tipi (soğan pul yaprakları ve olgunlaşmamış embriyolar) kullanılmış olup, her iki eksplant tipi için de farklı ortamlar kullanılmışlardır. Olgunlaşmamış embriyolardan soğancık oluşumu 4 farklı ortam üzerinde ve 4 ayrı aşamada yürütülmüştür. Bu ortamlar; a) Kallus teşvik ortamı (KTO): N6 mineralleri ve vitaminleri, 2.3 g/L L-prolin, 200 mg/L kazein hidrolizat, 20 g/L sukroz, BAP (1, 2 ve 4 mg/L dozlarında), NAA (0.5, 1 ve 2 mg/L dozlarında), 2.5 g/L gelrite b) Embriyo geliştirme ortamı (EGO): Kallus teşvik ortamı ve 30 g/L mannitol c) Embriyo olgunlaştırma ortamı (EOO): MS mineralleri ve vitaminleri, 60 g/L sukroz, 7 g/L agar d) Sürgün oluşturma ortamı (SOO): MS, 20 g/L sukroz, 7 g/L agar</p>	<p>Soğan pul yapraklarından en yüksek eksplant başına sürgün sayısı; 11.02 adetle 1mg/L BAP ve 1mg/L NAA içeren ortamdan elde edilirken ortamların genel ortalaması 5.16 adet olmuştur. Eksplant başına en yüksek soğancık oluşumu 6.17 adetle yine 1 mg/L BAP ve 1 mg/L NAA içeren ortamda gerçekleştirmişlerdir. Gelişen soğancıklar farklı NAA içeren ortamlar da köklendirmeye alıp ve en iyi köklendirme ortamı olarak 1 mg/L NAA içeren ortam tespit edilmiştir.</p>
<p>-(Daneshvar Royandazag, 2005) -<i>Papaver bracteatum</i> Lindl. (Haşhaş) -Adventif sürgün rejenerasyonu, Hipokotil, kotiledon ve hipokotil - kotiledon kısımları kullanılmışlardır</p>	<p>Denemelerde MS mineral, tuz ve vitaminleri (Murashige & Skoog 1962) ile %3 sukroz içeren ve %0.75'lik agar (type A, Sigma) ile katıştırılan temel besin ortamı (MS) kullanılmışlardır. Steril edilen tohumlar yine steril petri kapları içerisinde %3 sukroz içeren ve %0.8 agar ile katıştırılan MS besin ortamında 19 ±1°C' de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık foto periyodunda çimlendirmişlerdir. Her biri 4-5 mm uzunluğunda parçalara ayrılarak rejenerasyon ortamına konulmuş, çalışmada uygulanan forcing metodunda eksplantlar yüksek oranda 2,4-D, NAA ve IBA 15 mg/L içeren MS ortamlarında 3 gün süresinde bekletildikten sonra 0.24 mg/L 2,4-D ve 0.19 mg/L NAA ve vitaminler (2 mg/L glisine, 0.5 mg/L nikotinik asit, 0.5mg/L pyridoxine, 200 mg/L miyoinositol ve 0.5mg/L thiamine) içeren MS ortamına aktarmışlardır. 120 gün sonra 2,4-D, NAA ve değişik vitaminler içeren MS ortamında gelişen bitkiler aynı ortama alt kültüre almışlardır. Köklenmeyi sağlamak için, rejenere olan sürgünler 0.25, 0.50 ve 1.0 mg/L IBA içeren MS besin ortamına almışlardır.</p>	<p>Adventif sürgün rejenerasyonu amacıyla <i>Papaver bracteatum</i>' un 7 ve 18 nolu hatlarından alınan, hipokotil-kotiledon eksplantlarda sırasıyla 7. hatta en iyi sonuç 1 mg/L Kinetin, 0.5 mg/L NAA ve 0.1 mg/L GA₃ içeren MS ortamda ve 18. hattında Kinetin, 2.00 mg/L NAA ve 0.1 mg/L GA₃, 2.00 mg/L Kinetin, 2.00 mg/L NAA ve 0.1 mg/L GA₃ içeren ortamlardan elde edilmiştir. Köklenme de en iyi sonucu 0.5 mg/L IBA içeren ortamlardan elde edilmiştir.</p>
<p>-(Meriç, Tuman, Ayan, & Atak, 2019). - <i>Lavandula angustifolia</i> Mill. (Lavanta) - Sürgünlerden doku kültürü ile <i>in vitro</i> çoğaltım</p>	<p>Bitkinin sürgün kısımlarından aldıkları eksplantları kallus, sürgün ve kök oluşumu için <i>in vitro</i> ortamda doku kültürü yöntemi ile kültüre almış. Bunun için MS ortamına farklı dozlarda (1 mg/L, 1.25 mg/L, 2 mg/L) 2,4-D, BAP, IBA, NAA ekleyerek farklı ortamlar hazırlamıştır.</p>	<p>En yüksek çoğaltım %64.7 oranında MS ortamına eklenen 2 mg/L BAP ile gözlemiştir. En iyi sürgün gelişimi ise %95.6 oranında MS ortamına NAA ve IBA 'nın çeşitli dozlarda birlikte eklenmesi ile elde edilmiştir. En yüksek köklenme ise %60 oranında MS ortamında 1.25 mg/L IBA eklenmesi ile elde edilmiştir. En iyi kallus gelişimi ise %66 oranında MS besin ortamına 2 mg/L 2,4-D ve 2 mg/L BAP eklenmesi ile elde edilmiştir.</p>
<p>-(Saker, Gengaihi, Kamel, & Farid, 2010). - <i>Echallium elaterium</i> (L.) A. Rich. (Eşek hıyarı) - Doku kültürü</p>	<p>Mısır da El-Arish kentinde yetişmekte olan <i>Echallium</i> bitkisinden eksplantlar almışlardır. Steril edilen tohumları MS ortamına %3 sukroz ve 7 gr/L agar eklenen besin ortamında büyütülmüşlerdir. Üç hafta sonra gelişen filizlerden 5mm kotiledon örneklerini alıp MS ortamına farklı dozlarda büyüme düzenleyicileri NAA ve BA eklenerek kültüre almışlardır. Kallusları geliştirmek için de MS ortamına 0.2 mg/L NAA ve 2 mg/L BA eklemiştir.</p>	<p>En iyi kallus, Hipokotil ve kotiledon oluşumu MS besin ortamında 0.1-0.5 mg/L NAA ile birlikte 2 mg/L BA eklendiğinde elde edilmiştir.</p>
<p>-(Aawad, Khateeb, & Al-Ekbal, 2006). - <i>Digitalis lamarckii</i> Ivan. (Yünlü yüksük otu) - Çimlendirme için tohum, boğum arası boğum, kök, gövdeden 1 cm uzunluğunda eksplant -(Whipkey, James, & Janick, 1988). - <i>Borago officinalis</i> L. (Hodan) - Sürgün, yaprak, yaprak sapı, boğum -(Gopi & Pomurugan, 2006). - <i>Ocimum basilicum</i> L. (Fesleğen) - Boğum arası ve boğum</p>	<p>MS besin ortamına bir oksin (BBD), farklı dozlarda IAA, IBA, NAA (0.05, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/L) ilave edilmiş, pH 5.7'ye ayarlanarak hazırlanan ortamlardaki bitkiler 25°C'de inkübe edilmişlerdir.</p>	<p>En iyi sürgün gelişimi IBA (0.5 mg/L) eklenmiş ortamda kaydetmişlerdir.</p>
	<p>MS besin ortamına: B₅ besin ortamının vitamin tuzları ile birlikte thiamine (0.3 mg/L), 2,4 -D pyridoxine-HCl, myo-inositol (100 mg/L), NAA (0.5 mg/L), glisin (2 mg/L), kazein hidrolizat (1 g/L), sakaroz (30 g/L) ve agar (6g/L) eklenip pH 5.7'ye ayarlanarak, ortama almışlardır.</p>	<p>En yüksek verim: NAA (0.5 mg/L) ve thiamine (0.3 mg/L) eklenen ortamda gözlemlemiştir.</p>
	<p>MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamına BAP (1.0 mg/L), NAA (1.0 mg/L), KIN (0.5 mg/L) eklemiştir. İnkübasyon koşulları ise 25°C sıcaklık ta ve karanlığa maruz bırakarak yapmışlardır.</p>	<p>Maksimum büyüme BAP (1.0 mg/L) NAA (1.0 mg/L) ve KIN (0.5 mg/L) eklenmiş ortamda gözlemiştir.</p>

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
-(Stephen & Jayabalan, 1998). - <i>Coriandrum sativum</i> L. (Kışniş) - Çimlendirme için tohum ve sürgün, boğum, boğum arası	SH besin ortamına farklı dozlarda NAA ve GA ₃ eklemişlerdir. Dozlar: *NAA (0.05 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) *NAA (0.1 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) NAA (0.1 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) NAA (0.15 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L) NAA (0.2 mg/L)+GA ₃ (0.5 mg/L)	En iyi çiçeklendirme ve sürgün rejenerasyonu: SH besin ortamına: NAA (0.15 mg/L) ve GA ₃ (0.5 mg/L) eklenerek hazırlanan ortamda gözlemlenmiştir.
-(Moallem, Behbahani, Mousavi, & Karimi, 2012). - <i>Rosa canina</i> L. (Kuşburnu) - Kök, tohum, sürgün, boğum, boğum arası	MS besin ortamına aktif kömür (3 mg/L) ve BAP (0.25 mg/L), GA ₃ (1 mg/L), GA ₃ (0.5 mg/L) + BAP (0.25 mg/L), GA ₃ (1 mg/L) + BAP (0.25 mg/L), ve GA ₃ (1.5 mg/L) + BAP (0.25 mg/L). Köklendirme için; aktif kömür (3 mg/L) ve BAP (0.25 mg/L), NAA (1 mg/L), NAA (0.5 mg/L) + BAP (0.25 mg/L), NAA (1 mg/L) + BAP (0.25 mg/L) ve NAA (1.5 mg/L) + BAP (0.25 mg/L) eklenerek hazırlanmıştır.	En yüksek sürgün rejenerasyonu (1.5 mg/L) GA ₃ + (0.25 mg/L) BAP eklenen ortamda gözlemlenmiştir. En iyi köklenme ise: NAA (1 mg/L) ile BAP (0.25 mg/L) eklenmesiyle elde etmişlerdir.
-(Vandermoortele, Billard, Boucaud, & Gaspar, 1996). - <i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) A. W. Hill. (Maydanoz) - Boğum, boğum arası, kök -(Abbasi, Khan, Mahmood, Mushtaq, Chaudhary, & Khan, 2010). - <i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn. (Devedikeni) - Boğum, boğum arası sürgün -(Ünal, 2007; Acar et al., 2017). - <i>Crocus sativus</i> L. (Safran) - Yaprak, yaprak sapı, sürgün	MS ortamına farklı 9 (BBD) kombinasyonu denemişlerdir. BAP 'den (0 - 0.562-1.125 mg/L ile) NAA: 0, 0.465 veya 0.93 mg/L tek başına eklenerek ortamlar hazırlanmıştır.	En iyi sürgün rejenerasyonu BAP (0.562 mg/L) ve NAA (0.465 mg/L) eklenen ortamda gözlemlenmiştir.
-(Arıcı, Şan, & Kazaz, 2017). - <i>Rosa damascena</i> Mill. (Isparta Güllü) - Sürgün, boğum, boğum arası	MS besin ortamına BAP (0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0, ve 10 mg/L) veya GA ₃ ile NAA (1.0 mg/L) eklenerek hazırlanmıştır.	BAP (1 mg/L) ve NAA' da %80 oranında büyüme; BAP 'de (5 mg/L) %90 oranında büyüme gözlemlenmiştir.
-(Özudoğru, Kaya, Kırdok, İşsever, & Öztürk, 2011). - <i>Thymus longicaulis</i> subsp. <i>longicaulis</i> C. presl. (Aşkekikliği) - Kök, boğum ve boğum arası	MS besin ortamına farklı dozlarda NAA ve BAP eklenerek ortamlar hazırlanmıştır.	Sürgün rejenerasyonunda en iyi sonuç: BAP (0.04 mg/L) ve NAA (0.01 mg/L) eklenmesiyle elde etmişlerdir.
-(Soliman & Hegazi, 2013). - <i>Ziziphus jujuba</i> Mill. (Hünnap) - Boğum ve boğum arası	Besin ortamı olarak MS kullanılmışlardır. Besin ortamına: agar (7.5 g/L) ve sakaroz (30 g/L) ilave etmişlerdir. Ortamın pH'sı 5.8 olarak ayarlanmış ve agar ilavesinin ardından ısıtılarak eritilen besin ortamları 5'er ml olacak şekilde tüplere dağıtılmıştır. 32 farklı BBD kombinasyonu denemişlerdir.	En fazla sürgün gelişimi eksplant başına 4 sürgün ile MS ortamına: BAP (1.0 mg/L) + GA ₃ (0.5 mg/L) (BBD) konsantrasyonu eklendiğinde gözlemlenmiştir. En iyi kök oluşumunu MS besin ortamına: IBA (0.5 mg/L) eklenmesiyle elde etmişlerdir.
-(Ren, Rei, & Li, 2017). - <i>Tussilago farfara</i> L. (Öksürük otu) - Çimlendirme, boğum ve boğum arası	MS besin ortamına IAA, IBA, NAA ile birlikte 2,4-D (BBD) (0.01, 0.05, 0.1 veya 1.0 mg/L) dozlarında eklemişlerdir. Köklendirme için; MS Ortamına: KIN (1.0 mg/L) ve GA ₃ (0.3 mg/L) eklemişlerdir.	%97 oranında gerçekleşen sürgün rejenerasyonu, MS besin ortamına KIN (1 mg/L) ve GA ₃ (0.3 mg/L) BBD eklenen ortamda gözlemlenmiştir.
-(Harshan & Nag, 1984; Saini & Jaiwal, 2000). - <i>Peganum harmala</i> L. (Üzerlik) - <i>In vitro</i> ortamda çimlendirilen tohumların hipokotil kısımları	MS besin ortamına: %3 (w/v) sakaroz ve bitkisel gelrite (2.5 g/L) ve farklı oranlarda (BBD) kullanılmışlardır. Bunlar; sitokininlerden: BAP, 2iP ve TDZ ile oksinlerden: NAA, IAA ve IBA' dir.	En iyi büyüme MS besin ortamına NAA (0.05 mg/L) + 2iP (2 mg/L) eklendiğinde gözlemlenmiştir.
-(Ren, Rei, & Li, 2017). - <i>Tussilago farfara</i> L. (Öksürük otu) - Çimlendirme, boğum ve boğum arası	MS besin ortamında 6 farklı (BBD) kombinasyonu eklenerek kültüre alma çalışması denemişlerdir. Bu 6 farklı ortama farklı dozlarda KIN, IBA, 2,4-D, BAP (BBD) eklemişlerdir.	En iyi gelişim %96.2 oranında 6 numaralı MS besin ortamında: BAP (3.0 mg/L) + 2,4-D (2.0 mg/L) (BBD) eklendiğinde gözlemlenmiştir. Tohumların çimlenmesi ise KIN (1.0 mg/L) ve IBA (0.3 mg/L) eklenmesiyle %91 oranında olurken, en iyi kök gelişimi %95.22 oranında MS besin ortamına IBA (0.2 mg/L) (BBD) eklendiğinde gözlemlenmiştir.
-(Harshan & Nag, 1984; Saini & Jaiwal, 2000). - <i>Peganum harmala</i> L. (Üzerlik) - <i>In vitro</i> ortamda çimlendirilen tohumların hipokotil kısımları	İlk önce %0.8 agar ve %3 sakaroz ile hazırlanan ortama tohumlar ekilmiş. Çimlenen tohumlar MS besin ortamına BAP olmadan yalnızca 0.04 ve 0.09 mg/L oranlarında NAA eklenerek kültüre almışlardır. Farklı dozlarda BAP, NAA ve GA ₃ eklenerek hazırlanan ortamlar da kültür çalışması denemişlerdir.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Özdemir, Uğur, Yıldırım & Kahrizb, 2015). - <i>Mentha spicata</i> subsp. <i>spicata</i> L. (Bahçe nanesi) - Boğum ve boğum arası	Tohumların çimlendirilmesinde büyüme düzenleyici madde içermeyen MS besin ortamı kullanılmışlardır. Hipokotil kısımdan alınan eksplantlar BAP (0.25, 0.50, 1.0, 2.0 mg/L) ve NAA' nın (0, 0.25, 0.50 mg/L) 16 farklı kombinasyonunu içeren MS besin ortamına dikmişlerdir. Köklendirme aşamasında ise MS besin ortamına IBA (0.5 mg/L) ilave edilerek dikip, pH 5.8 olarak ayarlanmışlardır.	GA ₃ hormonu eklenen ortamda hiç büyüme gözlemlenmiştir. Kallusun meydana gelme oranları %1.67 ile %87.67 arasındadır. Bu oluşum yüzdesinin BAP (2 mg/L) içeren MS besin ortamında en düşük miktarda ve BAP (0.25 mg/L) + NAA (0.50 mg/L) içeren MS besin ortamında en yüksek miktarda olduğu ifade etmişlerdir. %26.13 ile %97.33 oranlarında sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Sürgün rejenerasyonu BAP (0.50 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında en az miktarda meydana gelirken, BAP (2.0 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında ise en fazla miktarda meydana geldiğini açıklamışlardır.
-(Çetin, Kazaz & Göktürk, 2007). - <i>Dianthus caryophyllus</i> L. (Karanfil) - Sürgün ucu (0.5 - 1 cm)	Sürgün oluşumu için MS besin ortamına ilave edilen KIN, BAP ve NAA' in farklı dozları denemişlerdir. Köklendirme için iki farklı ortam hazırlanmıştır. MS besin ortamına IBA (2.0 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek ilk ortam, IBA (0.05 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek diğer ortam hazırlanmıştır.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Türker & Hatipoğlu, 2018). - <i>Origanum syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet (Dağ kekikği, hababa) - Yaprak diski, boğum, tomurcuk	MS besin ortamına 2,4-D veya NAA' in (0; 0,25; 0,5; 0,75 ve 1,0 mg/L) dozları ile BAP veya KIN 'in (0; 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 mg/L) dozları eklemişlerdir.	GA ₃ hormonu eklenen ortamda hiç büyüme gözlemlenmiştir. Kallusun meydana gelme oranları %1.67 ile %87.67 arasındadır. Bu oluşum yüzdesinin BAP (2 mg/L) içeren MS besin ortamında en düşük miktarda ve BAP (0.25 mg/L) + NAA (0.50 mg/L) içeren MS besin ortamında en yüksek miktarda olduğu ifade etmişlerdir. %26.13 ile %97.33 oranlarında sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Sürgün rejenerasyonu BAP (0.50 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında en az miktarda meydana gelirken, BAP (2.0 mg/L) + NAA (0.25 mg/L) içeren MS besin ortamında ise en fazla miktarda meydana geldiğini açıklamışlardır.
-(Çetin, Kazaz & Göktürk, 2007). - <i>Dianthus caryophyllus</i> L. (Karanfil) - Sürgün ucu (0.5 - 1 cm)	Sürgün oluşumu için MS besin ortamına ilave edilen KIN, BAP ve NAA' in farklı dozları denemişlerdir. Köklendirme için iki farklı ortam hazırlanmıştır. MS besin ortamına IBA (2.0 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek ilk ortam, IBA (0.05 mg/L) ve BAP (0.01 mg/L) eklenerek diğer ortam hazırlanmıştır.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.
-(Türker & Hatipoğlu, 2018). - <i>Origanum syriacum</i> subsp. <i>bevanii</i> (Holmes) Greuter & Burdet (Dağ kekikği, hababa) - Yaprak diski, boğum, tomurcuk	MS besin ortamına 2,4-D veya NAA' in (0; 0,25; 0,5; 0,75 ve 1,0 mg/L) dozları ile BAP veya KIN 'in (0; 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 mg/L) dozları eklemişlerdir.	En iyi sürgün gelişimi MS ortamına 1.125 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA eklenmesiyle %75 oranında gözlemlenmiştir.

Literatür, Tür, Eksplant	Kültür Koşulları	Sonuç
-(Chalak, Elbitar, Cordahi, Hage & Chehade, 2003). - <i>Capparis spinosa</i> L. (Kapari) - Tomurcuk, nodul, apikal kısımlar, tohum	<i>In vitro</i> çoğaltım için Lübnan ekotipinin tohumları ve nodal tomurcukları eksplant olarak kullanılmışlardır. Tohumlar hormonsuz MS ortamına (%71) ve steril su (%64) vererek çimlendirmişlerdir. Oluşan filizler MS ortamına BAP (1.5 mg/L) , IBA (0.05 mg/L) ± GA ₃ (0.1 mg/L), eklenerek kültüre almışlardır. Her altı haftada bir 2-3 düğümlü sürgün bölümlerinin alt kültürlenmesi ile aynı ortamda sürgün çoğaltımı yapmışlardır. Bitkinin apikal ve nodul kısımlarından aldıkları 1-2 cm uzunluğundaki eksplantlar 3 farklı MS ortamında inkübe etmişlerdir.	Sürgünlerin yüksek köklenme tepkisi (%87), IAA çözeltisi (100 mg/L) ile karanlıkta 4 saatlik süre ile muamele dildikten sonra elde etmişlerdir.
-(Rodriguez, Rey, Cuozzo, & Ancora, 1990). - <i>Capparis spinosa</i> L. (Kapari) - Tomurcuk, nodul, apikal kısımlar, tohum	- MS1 (MS mineral tuzlardan 0.5 0.327 mg/L myo-inositol ve 0.265 mg/L thiamine eklemiştir), -MS2 (mineral tuzlardan modifiye dilmiş MS ortamı nitrattan az miktarda, CaCl ₂ , MgSO ₄ eklemiştir ve 0.325 mg/L m-inositol, 0.795 mg/L thiamine, 32.5 6.04 mg/L NAA, 0.102 mg/L pyridoxine-HCl and 3.036 mg/L C ₆ H ₈ O ₆ (askorbik asit) - MS3 MS2 ile aynı şartları eklemiştir sadece CaCl ₂ MS1'e göre beş kat artırmışlardır.	Yüksek oranda köklenme (%70) ekim yapıldıktan 20 gün sonra MS1: 5.25 mg/L IAA içeren ortamda kaydetmişlerdir. Sürgün gelişimi MS2' ye eklenen BAP (0.45 mg/L) ve IAA (0.05 mg/L) lı ortamda 20 gün sonunda gözlemiştir.

3. Sonuçlar ve Tartışma

Moleküler yöntemlerle birlikte bitki biyoteknolojisini oluşturan *in vitro* çoğaltım teknikleri, kısa zamanda, yüksek kalitede ve bol miktarda ürün elde etmek amacıyla Dünya'da birçok ülkenin kullandığı bir üretim ve ıslah şeklidir. Pestisit ve herbisitlere karşı dayanıklı, yüksek besin kalitesine sahip, meyvelerde olgunlaşma zamanının aromanın artırılması gibi konular, üzerinde çalışılan başlıca konulardır. Bu anlamda, Türkiye'nin tıbbi ve aromatik bitki çeşitliliği bakımından yüksek bir potansiyele sahip olması, *in vitro* yöntemlerle çoğaltım ve kültüre alma, bu potansiyelin değerlendirilmesi bakımından oldukça önemlidir. Ancak bu yöntemlerin yeterince kullanılmaması, doğadan klasik usullerle ve tahribata neden olacak kadar bilinçsiz bir şekilde tıbbi ve aromatik özelliğe sahip bitkilerin toplanması, geleceğimiz için büyük bir kaygı yaratmaktadır. Bitkilerin bilinçsiz bir şekilde toplanması ekolojinin tahribatına ve bazı türlerin yok olmasına sebep olmaktadır. Ülkemizde hem çeşitlilik hem de miktar bakımından oldukça yoğun bir şekilde bulunan tıbbi aromatik bitkiler en kısa zamanda kültüre alınarak koruma altına alınmalıdır. Bu korumanın kapsamı yok olma tehlikesi altında bulunan ve bulunmayan aynı zamanda ticari olarak kıymetli olan tüm türler için mümkün mertebe geniş tutulmalıdır. *In vitro* koşullar altındaki üretimde istatistiksel anlamda bir standartın sağlanması, optimizasyonun gerçekleştirilmesi ile mümkün olacak ve başarı seviyesini belirlemede yardımcı olacaktır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin kültüre alınmasında ve çoğaltılmasında *in vitro* tekniklerin araştırmacı ve üreticiye sunduğu imkanlar, günümüze kadar bu konuda yapılmış olan çalışmaların büyük bir kısmının toparlandığı bu çalışmadan kolaylıkla anlaşılabilir.

Sonuç olarak, sürdürülebilir ormancılık yaklaşımı çerçevesinde odun hammaddesi, yan ürün ve rekreasyonel amaçlı ormanların kullanımı oldukça önemlidir. Türkiye'de tıbbi ve aromatik bitkilerinin sürdürülebilir bir şekilde yönetimi, biyoteknoloji bilimi sayesinde ve çağın gerisinde kalmadan teknik bakımdan ve teknoloji bakımından gelişerek, bu alandaki sorunlara karşı yeni çözüm yolları bularak, donanımlı personel yetiştirerek ve tabii alt yapıyı hazırlayarak mümkündür. Bu anlamda planlanmış olan yeni üretim, yoğun ve klonal çoğaltım ile birlikte ıslah çalışmaları, yer ve zamanın verimli kullanılması, fizyolojik ve biyolojik sorunların çözümünde *in vitro* çoğaltım tekniklerinden yararlanılması, flora çeşitliliği bakımından eşsiz orman ve meralarımız için gerçek bir fırsattır.

Kaynaklar

- Aawad, Z., Khateeb, J., & Al-Ekbal, H. (2006). Using tissue culture technique for the production of cardiac glycosides from roots of *Digitalis lamarkii* Ivan plantlets (var excelsior mixed). *Iraqi Journal of Pharmaceutical Science*, 15(1), 92-98.
- Abbasi, B.H., Khan, M.A., Mahmood, T., Mushtaq, A., Chaudhary, M.F., & Khan, M.A. (2010). Shoot regeneration and free-radical scavenging activity in *Silybum marianum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(3), 371-376.
- Acar, S.Y., İşkil, R., & Bürün, B. (2017). Safran (*Crocus sativus* L.) bitkinde biyoteknolojik çalışmalar. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 259-269.
- Akman, Y., & Ketenoglu, O. (1992). *Vejetasyon Ekolojisi ve Araştırma Metodları*. Ankara, Turkey, Ankara Üniversitesi Döner Sermaye İşletmesi Yayınları, 341 pp.
- Ancı, Ş.E., Şan, B., & Kazaz, S. (2017). Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill)'in *in vitro* koşullarda klonal çoğaltımı. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(2), 239-252.
- Arslan, N., Baydar, H., Kızıl, S., Karık, Ü., Şekeroğlu, N., & Gümüşcü, A. (2015). *Türkiye Ziraat Mühendisliği 8. Teknik Kongresi* (pp. 483-507) Ankara, Turkey, 600pp.
- Arslan, N., Javani, M., & Taher, M. (2016). Tıbbi bitkilerin yetiştiriciliğinde iyi tarım uygulamaları. *Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi*, 16(1), 32-38.
- Ayabe, M., & Sumi, S. (2001). A novel and efficient tissue culture method- "stem-disc dome culture"- for producing virus free garlic (*Allium sativum* L.). *Plant Growth Regulators*, 20, 503-507-30.
- Babaoğlu, M., & Özcan, S. (2001). *Protoplast kültürü ve somatik melezleme*. In M. Babaoğlu, E. Gürel & S. Özcan (Eds.) *Bitki Biyoteknolojisi I* (pp. 89-136). Konya, Turkey, 374 pp.
- Başalma, D., Uranbey, S., Mirici, S., & Özer, K. (2008). TDZ x IBA induced shoot regeneration from cotyledonary leaves and *in vitro* multiplication in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *African Journal of Biotechnology*, 7(8), 960-966.
- Bayraktar, K.Ö.V., Öztürk, G., & Arslan, D. (2017). Türkiye'de bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin üretimi ve pazarlamasındaki gelişmelerin değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26, 216-229.
- Cardoza, V. (2008). *Tissue Culture: The manipulation of plant development*. In C.N., Stewart (Ed.), *Plant Biotechnology and Genetics: Principles, Techniques, and Applications* (pp. 113-134). New York, USA, 413 pp.
- Carimi, F., Tortorici, M.C., Pasquale, F., & Crescimanno, F.G. (1998). Somatic embryogenesis and plant regeneration from undeveloped ovules and stigma/style explants of sweet orange navel group [*Citrus sinensis* (L.) Osb.]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 54, 183-189.
- Chalak, L., & Elbitar, A. (2006). Micropropagation of *Capparis spinosa* L. subsp. *Rubestris* Sibth. & Sm. by nodal cuttings. *Indian Journal of Biotechnology*, 5(4), 555-558.
- Chawla, H.S. (2002). *Introduction to plant biotechnology*. Boca Raton, USA, Science Publishers, 760 pp.
- Chupeau, Y., Caboche, M., & Henry, Y. (1998). The very first androgenetic plants. In Y. Chupeau, M. Caboche, & Y. Henry (Eds.), *Androgenesis and Haploid Plants* (pp.1-7). Paris, France, Springer, 122 pp.
- Çağlar, G., Aras, V., & Bayram, A. (2004). Kurutmalık kırmızıbiberlerde androgenesis yoluyla *in vitro* haploid embriyo uyartımı. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17(1), 87-94.
- Çetin, E.S., Kazaz, S., & Göktürk, B.N. (2007). Farklı besin ortamlarının karanfil (*Dianthus caryophyllus* L.) sürgün ucu kültürü üzerine etkileri. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 24(2), 1-8.

- Daneshvar Royandazag, S. (2005). *Papaver Bracteatum* Lindl. Ve *Papaver Pseudo-Orientalis* (Fedde) Medw.' De Adventif Sürgün Rejenerasyonu (Master Thesis). Ankara Üniversitesi, Ankara, Turkey.
- Dilmen, R., & Göktürk, B.N. (2016). Yağ gülü (*Rosa damascena* Mill.)'nde doku kültürü uygulamaları. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11(2), 134-141.
- Ebrahimie, E., Naghavi, M.R., Hosseinzadeh, A., Behamta, M.R., Manijeh, M., Sarrafi, D.A., & Spangenberg, G. (2007). Induction and comparison of different *in vitro* morphogenesis path ways using embryo of cumin (*Cuminum cyminum* L.) as a model material. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 90, 293-311.
- Ellialtıoğlu, Ş., Sarı, N., & Abak, K. (2000). Haploid bitki üretimi. In M. Babaoğlu, E. Gürel, & S. Özcan (Eds.), *Bitki Biyoteknolojisi I* (pp.137-189). Konya, Turkey, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 pp.
- Fang, J., Wetten, A., & Hadley, P. (2004). Cryopreservation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) somatic embryos for long term germplasm storage. *Plant Science*, 166(3), 669-675.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M.S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
- Genç, L., & Kaçar, O. (2012). Tıbbi ve aromatik bitkilerin tarım ve hayvancılık alanlarında kullanımı. In A. Kınay, & B. Özyılmaz (Eds.). *Birinci Tıbbi aromatik bitkiler sempozyumu Bildirileri Kitabı* (pp 7-28). Tokat, Turkey, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Press., 537 pp.
- Georgiev, V., Ivanov, I., Berkov, S., Ilieva, M., Georgiev, M., Gocheva, T., & Pavlov, A. (2012). Galanthamine production by *Leucojum aestivum* L. shoots culture in a modified bubble column bioreactor with internal sections. *English Life Sciences*, 12(5), 534-543.
- Gopi, C., & Ponnuragan, P. (2006). Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Biotechnology*, 126(2), 260-264.
- Güven, A., & Gürsul, I. (2014). Bitki doku kültürlerinde sekonder metabolit sentezi. *Gıda Dergisi*, 39(5), 299-306.
- Harshan, M.L., & Nag, T.N. (1984). Antimicrobial principles from *in vitro* tissue culture of *Peganum harmala* L. *Journal of Natural Production*, 47(2), 365-367.
- Hartman, H.T., & Kester, D.E. (1975). *Plant propagation principles and practices*. New Jersey, USA, Pearson, 662 pp.
- Karaoğlu, C. (2004). *Göl soğanı (Leucojum aestivum L.) 'nın in vitro koşullarında hızlı çoğaltımı* (Master Thesis) Ankara Üniversitesi, Ankara, Turkey.
- Koçak, M., Izzüç, T., Sevidik, B., Tütüncü, M., Curuk, P., Şimşek, Ö., Kaçar, A.Y., Jaime, A., Silvac, T., & Yalçın, Y. (2014). Somatic embryogenesis of Turkish *Cyclamen persicum* Mill. *Scientia Horticulturae*, 172(9), 26-33.
- Ljubinka, U., Snezana, B., Radmila, V., & Mirjana, N.K. (1987). Induction of somatic embryogenesis and embryo development in *Rumex acetosella* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 11(2), 133-139.
- M.W. Fowler, G.S. Warren, & M. Moo-Young (Eds.), *Plant Biotechnology: Comprehensive Biotechnology* (pp.99-127). New York, USA, pp.81.
- Mansuroğlu, S., & Gürel, M. (2001). Mikroçoğaltım. In M. Babaoğlu, E. Gürel, & S. Özcan (Eds.) *Bitki biyoteknolojisi I* (pp.262-281). Konya, Turkey, 374 pp.
- Meriç, S., Tuman, C. B., Ayan, A., & Atak, Ç. (2019). Optimization of tissue culture media-inducing essential oil production of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 25(1), 85-99.
- Mert, A., & Dağistan, E. (2016). Tıbbi ve aromatik bitkilerin ekonomik önemi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ekonomisi Bölümü Yayınları*, 1, 1-8.
- Moallem, S., Behbahani, M., Mousavi, E., & Karimi, N. (2012). Direct regeneration of *Rosa canina* L. through tissue culture. *Annual Edition Trakia Journal of Science*, 10(3), 23-25.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologie Plant*, 15,473-497.
- Ochatt, S.J., & Power, J.B. (1992). Plant regeneration from cultured protoplasts of higher. In M.W. Fowler, G.S. Warren, & M. Moo-Young (Eds.), *Plant Biotechnology: Comprehensive Biotechnology* (pp.99-127). New York, USA, Oxford Pergamon Press., 367 pp.
- Ovecka, M., Bobak, M., Blehova, A., & Kristin, J. (1997). *Papaver somniferum* regeneration by somatic embryogenesis and shoot organogenesis. *Biologia Plant Journal*, 40(3), 321-328.
- Özcan, S., Babaoğlu, M., & Sancak, C. (2001). Somatik embriyogenesis In M. Babaoğlu, E. Gürel, & S. Özcan (Eds.), *Bitki Biyoteknolojisi I* (pp.71-88). Konya, Turkey, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 pp.
- Özdemir, F.A., Uğur, M., Yıldırım, B., & Kahrizb, M.P. (2015). *Mentha spicata* L. subsp. *spicata* L. ve *M. spicata* hipokotilinden *in vitro* çoklu sürgün rejenerasyonu. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(2), 126-129.
- Özüdoğru, E.A., Kaya, E., Kırdok, E., İşsever, A., & Öztürk, S. (2011). *In vitro* propagation from young and mature explants of Thyme (*Thymus vulgaris* and *T. longicaulis*) resulting in genetically stable shoots. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 47(2), 309-320.
- Palmer, C.E., & Keller, W.A. (1997). Pollen embryos. In K.R. Shivanna, & V.K Sawhney (Eds.), *Pollen Biotechnology for Crop Production and Improvement* (pp.392-422). Cambridge, UK, Cambridge University Press., 500 pp.
- Panizza, M., & Tognoni, F. (1992). Micropropagation of lavender (*Lavandula officinalis* Chaix x *Lavandula latifolia* Villars cv. Grosso). In Y.P.S. Bajaj (Eds.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry Journal* (pp.295-305) Pisa, Italy, Springer, 593 pp.
- Primard, C., Vedel, F., Mathieu, C., Pelletier, G., & Chavre, A.M. (1988). Interspecific somatic hybridization between *Brassica napus* and *Brassica hirta* (*Sinapis alba* L.). *Theoretical Apple Genetic*, 75, 546-552.
- Ren, J.W., Rei, L.Y., & Li, X.L. (2017). Tissue culture of callus and establishment of regeneration system of *Tussilago farfara* petiole. *Europepmc.org*. 42(20), 3895-3900.
- Rodriguez, R., Rey, M., Cuzzo, L., & Ancora, G. (1990). *In vitro* propagation of Caper (*Capparis spinosa* L.). *In vitro Cellular & Developmental Biology*, 26, 531-536.
- Saini, R. & Jaiwal, P.K. (2000). *In vitro* multiplication of *Peganum harmala*-an important medicinal plant. *Indian Journal of Experimental Biology*, 38(5), 499-503.
- Saker, M., Gengaihi, S.E., Kamel, A., & Farid, M. (2010). Influence of differentiation state, salt stress and methyl jasmonate on *in vitro* production of cucurbitacins from tissue cultures of *Ecballium elaterium* and *Cucumis prophetarum* endemic to Egypt. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 4(1), 28-32.
- Soliman, H.I., & Hegazi, G.A.M. (2013). *In vitro* clonal propagation and molecular characterization of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). *Life Science Journal*, 10(2)-573-582.
- Stephen, R., & Jayabalan, N. (1998). *In vitro* flowering and seed setting formation of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Current Science Association Journal*, 74(3), 195-197.
- Tanrıseven, A. (2013). Tıbbi aromatik bitkiler biyo sağlık ve ekonomi. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 3, 44-58.
- Topçu, Ş., & Çölgeçen, H. (2015). Bitki sekonder metabolitlerinin biyoreaktörlerde üretilmesi. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 8(2), 9-29.
- Türker, A., & Hatipoğlu, R. (2018). Dağ kekigi (*Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart)'nin mikroçoğaltımı. *Ormanlık Araştırma Dergisi*, 5(2), 97-111.
- Uçar, E., & Turgut, K. (2009). Bazı dağ çayı (*Sideritis*) türlerinin *in vitro* çoğaltımı. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1), 51-57.
- Ünalı, E.Ü. (2007). A plant exposed to danger: saffron (*Crocus sativus* L.). *Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi* 17(2), 53-69.
- Vandermoortele, J.L., Billard, J.P., Boucaud, J., & Gaspar, T.H. (1996). Micropropagation of parsley through axillary shoot proliferation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 44(1), 25-30.
- Wang, L., Wang, G., Hong, N., Tang, R., Deng, X., & Zhang, H. (2006). Effect of thermotherapy on the elimination of Apple stem grooving virus and apple chlorotic leaf spot virus for *in vitro*-cultured pear shoot tips. *Horticultural Sciences*, 41(3), 729-732.
- Whipkey, A., James, E., & Janick, S.J. (1988). *In vivo* and *in vitro* lipid accumulation in *Borago officinalis* L. *JAOCs*, 65(6), 979-985.
- Yücesan, B.B., Eker, İ., Lazzarini, L.E.S., Aslam, N., Mohammed, A., Pinto, J.E.B.P., Kreis, W., & Gürel, E. (2018). Shoot-tip cultivation and cardenolide content analysis of natural populations of *Digitalis lanata* Ehrh. subsp. *lanata* (wooly foxglove) in the Thrace region. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science*, 4(1), 55-62.