T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SATER (*Satureja hortensis* L.) BİTKİSİNİN *İN VİTRO* MİKROÇOĞALTIMI VE ETKEN MADDE VARYABİLİTESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Muhammed Mansur ÖZGEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR
Ocak - 2018

T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Muhammed Mansur ÖZGEN tarafından yapılan "Sater (*Satureja hortensis* L.) Bitkisinin İn vitro Mikroçoğaltımı ve Etken Madde Varyabilitesi Üzerine Çalışmalar" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Doç. Dr. Özlem TONÇER

Üye : Yrd. Doç. Dr. Vedat PİRİNÇ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Özgür KARAKAŞ

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 22/01/2018

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../20

Doç.Dr.Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜR V.

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasına karar verilmesinde, laboratuvar ortamının kullanılmasında, çalışma materyalinin temini, tezin tüm aşamalarında ve yazılmasında desteklerini esirgemeyen Tez Danışman hocam Sayın Doç. Dr. Özlem TONÇER'e ve laboratuar çalışmalarında yardımını esirgemeyen Prof. Dr. Süleyman KIZIL'a teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerinden dolayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne (PROJE NO: ZİRAAT.15.007) teşekkür ederim.

Ayrıca, tüm yaşamım ve eğitim hayatım sırasında yanımda olan aileme ve eşime teşekkür ederim.

Muhammed Mansur ÖZGEN

Ocak 2018

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR……. I

İÇİNDEKİLER……..... II

ÖZET……..... IV

ABSTRACT……..... V

ÇİZELGE LİSTESİ……..... VI

ŞEKİL LİSTESİ……..... VII

KISALTMA VE SİMGELER…… VIII

1. GİRİŞ……..... 1

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…… 7

3. MATERYAL ve METOT…….. 17

3.1. Materyal……..... 17

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplantlar ……..... 17

3.2. Metot……..……..... 18

3.2.1. Laboratuar Çalışmaları ……..... 18

3.2.1.1. Eksplantların Ön Hazırlığı ve Sterilizasyonu ……..…….. 18

3.2.1.2. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Besin Ortamları...…….... 18

3.2.1.3. Kültür Koşulları……... 20

3.2.1.4. *İnvitro* Çalışmalar……..……..... 20

- Bitki Rejenerasyonu…….…… 20

- Köklendirme Ortamı……..... 22

3.2.2. Tarla Denemesi…….……... 22

3.2.3. Uçucu Yağ Bileşiminin Tayini…… 23

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi…… 23

4. BULGULAR VE TARTIŞMA…… 25

4.1. Agronomik Çalışmalar……. 25

4.1.1. Bitki Boyu…… 25
4.1.2. Dal Sayısı (adet/bitki)…….. 25
4.1.3. Taze Herba Verimi (g/bitki)……. 27
4.1.4. Kuru Herba Verimi (g/bitki)…… 27
4.1.5. Kuru Yaprak Verimi (g/bitki)…….. 27
4.2. Laboratuar Çalışmaları……. 27
5. SONUÇ VE ÖNERİLER……..……..... 39
6. KAYNAKLAR……..... 41
ÖZGEÇMİŞ……... 45

ÖZET

SATER (*Satureja hortensis* L.) BİTKİSİNİN *İN VİTRO* MİKROÇOĞALTIMI VE ETKEN MADDE VARYABİLİTESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Muhammed Mansur ÖZGEN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

2018

Sater otu ülkemizde yaygın bir şekilde üretimi olan ve ihracatı yüksek seviyede bulunan tek yıllık bir kekik türüdür. Bu tez çalışması, *Satureja hortensis* bitkisinin laboratuar ortamında *in vitro* mikroçoğaltım yoluyla çok sayıda fide üretmek ve dış ortamda saksı denemesi şeklinde yetiştirilen bitkilerde uçucu yağ bileşenleri kompozisyonunu belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma 2016 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü laboratuar ve seralarında yürütülmüştür. Laboratuar ortamında sater bitkisinin tohumları MS besin ortamında çimlendirilerek eksplantlar alınmıştır. Hipokotil ve kotiledon eksplantları BAP ve KİN'in farklı konsantrasyonlarını içeren MS + 0.2 mg/L IBA ortamlarına konulmuştur. Eksplantların tamamında kallus oluşumu gözlenmiştir. En yüksek sürgün oluşumunun kotiledon eksplantından %100 ile 1.5 mg/L KİN ortamında oluştuğu görülmüştür. En yüksek köklendirme oranının kotiledon eksplantından %100 ile 0.75 mg/L KİN ortamında ve hipokotil kısmında ise %100 ile 0.75 mg/L BAP ve 2.25 mg/L BAP'da oluştuğu gözlenmiştir. *Satureja hortensis* L. bitkisinin sera ortamında tek bitkilerden alınan gözlemlerde; bitki boyunun 31.00-48.00 cm, dal sayısının 7-26 adet, taze herba veriminin 21.12-77.15 g/bitki, kuru herba veriminin 6.85-25.66 g/bitki ve kuru yaprak veriminin 4.17-16.33 g/bitki olduğu gözlenmiştir. Ayrıca çiçeklenme döneminde elde edilen uçucu yağda, 21 bileşen tespit edilmiş ve bunlar içerisinde ana bileşenlerin karvakrol, γ–terpinen, p-simen, Delta-2-carene, Acetylthymol ve Myrcene saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Satureja hortensis* L., mikroçoğaltım, tohum, BAP, KİN, uçucu yağ

ABSTRACT

STUDIES ON *IN VITRO* MICROPROPAGATION OF SAVORY (*Satureja hortensis* L.) PLANT AND VARIABILITY OF ACTIVE SUBSTANCES

MSc THESIS

Muhammed Mansur OZGEN

DEPARTMENT OF FIELD CROPS
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DICLE UNIVERSITY

2018

Savory which is a kind of thyme is an annual plant that is widely produced in our country and exports at a high level. This thesis study was carried out in order to produce a large number of seedlings through the laboratory environment of the *Satureja hortensis* plant *in vitro* and to determine the composition of the essential oil components in the plants grown as pot experiment in the outdoor environment. The study was caaried out in the laboratories and the greenhouses Department of Field Crops of the of the Faculty of Agriculture University of Dicle in 2016. The seeds of the savory plant were germinated in the MS nutrient medium and the explants were taken. Hypocotyl and cotyledon explants were placed in MS + 0.2 mg/L IBA media containing different concentrations of BAP and KIN. Callus formation was observed in all of the explants. The highest shoot formation was observed in cotyledon explants at 100% to 1.5 mg/L KIN medium. The highest rooting rate was observed in cotyledon explants at 100% to 0.75 mg/L KIN medium and at hypocotyl at 100% to 0.75 mg/L BAP and 2.25 mg/L BAP. Observations from single plants in the green house environment of *Satureja hortensis* L. the plant of height 31.00-48.00 cm, number of branches 7-26, fresh herb yield 21.12-77.15 g/plant, dry herb yield 6.85-25.66 g/plant and dry leaf yield 4.17-16.33 g/plant were found. Also, 21 components during the flowering period were found in obtained volatile oil and the main components were determined as carvacrol, γ–terpinene, p-cymene, Delta-2-carene, Acetylhymol and Myrcene.

Key words: *Satureja hortensis* L., micropropagation, seed, BAP, KIN, essential oil

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 1.1.	Türkiye'nin Yıllar Üzerinden Kekik Üretimi, İhracatı ve İthalatı	2
Çizelge 3.1.	MS (Murashige ve Skoog 1962) Ortamında Bulunan Maddeler ve Konsantrasyonları	19
Çizelge 3.2.	Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Stok Çözelti Konsantrasyonları	20
Çizelge 3.3.	*Satureja hortensis* Bitkisinin Kotiledon ve Hipokotil Eksplantlarının MS Besin Ortamında Farklı Konsantrasyonlarda BAP ve IBA (0.2 mg/L) içeren denemeleri	21
Çizelge 3.4.	*Satureja hortensis* Bitkisinin Kotiledon ve Hipokotil Eksplantlarının MS Besin Ortamında Farklı Konsantrasyonlarda KİN ve IBA (0.2 mg/L) içeren denemeleri	21
Çizelge 3.5.	GC-MS Çalışma Koşulları	23
Çizelge 4.1.	Diyarbakır Koşullarında *Satureja hortensis* Bitkisinin Morfolojik ve Agronomik Özelliklerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	25
Çizelge 4.2.	Diyarbakır Koşullarında Yetiştirilen *Satureja hortensis* Bitkisinin Agronomik ve Morfolojik Özelliklerine Ait Veriler (adet/bitki)	26
Çizelge 4.3.	*S. hortensis* Tohumlarının MS Besin Ortamında Çimlenme Oranları (%)	28
Çizelge 4.4.	*Satureja hortensis* Bitkisinde Farklı Eksplant, Farklı Hormon Tipi ve Oranlarından Elde Edilen Sürgün Oluşum Oranının (%) Varyans Analiz Sonuçları	29
Çizelge 4.5.	*Satureja hortensis* Bitkisinde Farklı Eksplant, Farklı Hormon Tipi ve Oranlarından Elde Edilen Köklendirme Oranının (%) Varyans Analiz Sonuçları	30
Çizelge 4.6.	Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda KİN ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Sürgün Oluşum Oranı(%)	31
Çizelge 4.7.	Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda KİN ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Köklendirme Oranı (%)	32
Çizelge 4.8.	Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda BAP ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Sürgün Oluşum Oranı(%)	33
Çizelge 4.9.	Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda BAP ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Köklendirme Oranı (%)	34
Çizelge 4.10.	Çiçeklenme Döneminde *Satureja hortensis* Bitkisinde Bileşenlerde Gözlenen Kimyasal Kompozisyon (%)	36
Çizelge 4.11.	Çiçeklenme Döneminde *Satureja hortensis* Bitkisi Uçucu Yağına Ait FID Sonuçları (%)	37

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.1.	*Satureja hortensis* bitkisinin ülkemizde yayılış gösterdiği iller	4
Şekil 3.1.	Sater bitkisinin doğal ortamda görünümü	17
Şekil 3.2.	Çimlendirilmiş *Satureja hortensis* bitkisinden hipokotil ve kotiledon eksplantları alınması zamanındaki görünüm	17
Şekil 3.3.	Laboratuar çalışmalarının yapıldığı steril kabin (a), bitki büyütme dolabı (b) ve çalışma odasının görüntüsü (c)	18
Şekil 3.4.	*Satureja hortensis* bitkisinin tohumlarının saksılarda çimlendirilmesi (a) ve bitkinin sera ortamında gelişimi (b)	22
Şekil 4.1.	*Satureja hortensis* bitkisinin tohumlarının laboratuar ortamında petri kapları içerisinde çimlendirilmesi	28
Şekil 4.2.	*İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA + 1.5 mg/l KİN içeren MS besin ortamında kotiledon eksplantının sürgün oluşum görüntüsü	32
Şekil 4.3.	*İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA + 0.75 mg/l KİN içeren MS besin ortamında kotiledon eksplantının köklendirme görüntüsü	32
Şekil 4.4.	*İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA + 4.5 mg/l BAP içeren MS besin ortamında hipokotil eksplantının sürgün oluşum görüntüsü	34
Şekil 4.5.	*İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA + 0.75 mg/l BAP içeren MS besin ortamında hipokotil eksplantının köklendirme görüntüsü	34

KISALTMA VE SİMGELER

2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksi asetik asit
BAP	: 6-Benzilaminopürin
BBD	: Bitki büyüme düzenleyicileri
cm	: Santimetre
g/L	: Gram/litre
GA_3	: Gibberellik asit
IAA	: İndol-3-asetik asit
KİN	: Kinetin
IBA	: İndol-3-butirik asit
LS	: Linsmaier ve Skoog (1965)
MS	: Murashige ve Skoog (1962)
mg/L	: miligram/litre
mm	: milimetre
NAA	: α-Naftalen asetik asit
NH_4	: Amonyum
NO_3	: Nitrat
PGR	: Plant Growth Regulators
TDZ	: Thidiazuron
^oC	: Santigrat derece (Celcius)
WPM	: Woody Plant Medium (Lloyd ve McCown, 1981)
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromol

1. GİRİŞ

Doğaya dönüşün bir slogan halini aldığı günümüzde tıbbi bitkilerin kullanımı giderek artmaktadır. Buna son yıllarda gerek dünyada gerekse ülkemizde tıbbi bitkilerle tedavi anlayışının hızla gelişmesi de artı bir ivme kazandırmıştır. Birçok tıbbi bitkinin farmakolojik ve klinik deneylerle farklı etkilerinin ispat edilmesinden sonra kullanımlarında büyük artışlar olmuştur. Tıbbi ve aromatik bitkiler bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ile hastalıkların önlenmesi ve tedavi edilmesinde geleneksel ve modern tıpta ilaç olarak kullanılmaktadır. Terapötik kullanımlarının yanı sıra bu bitkiler gıda takviyesi, bitkisel çay, aroma ve tat ile baharat olarak gıdaların çeşnilendirilmesinde kullanılmaktadır. Ayrıca bu bitkiler, içerdikleri maddelerin etkilerinden dolayı parfümeri ve kozmetik sanayisinin başka kollarında da yaygın bir kullanım alanı bulunmaktadır.

Türkiye'nin Akdeniz, Avrupa-Sibirya ve İran-Turan floristik bölgelerinin kesiştiği noktada olması zengin bir biyoçeşitlilik ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca, Karadeniz ve Akdeniz bölgelerinin coğrafik yapısının kıyıya paralel şekilde yer alması, Ege Bölgesi'nde ise dik yer alması nedeniyle Anadolu'da değişik iklim tiplerinin oluşmasına doğrudan katkıda bulunmaktadır. Bu durumda yağış, sıcaklık, nem gibi iklim özelliklerinde bölgeler arasında büyük farklılıklar oluşmasına neden olmaktadır. Ülkemizde tür, alt tür ve çeşitler dikkate alındığında 12.000 civarında bitki taksonu, 10 bin civarında tür mevcut olup, bunların 3.649'u endemiktir (Güner ve ark. 2012).

Türkiye florasında yer alan birçok bitkinin farklı kısımları gıda, tıbbi veya diğer amaçlarla toplanmakta; yurt içinde değerlendirildiği gibi ihraç da edilmektedir. Bunların içerisinde Lamiaceae familyasına dahil cins ve türler önemli yer tutmaktadırlar. Lamiaceae familyası yeryüzünde 220 cins ve 4000 tür civarında iken, Türkiye'de ise kaynaklara göre farklılık göstermekle beraber 44 cins ve 573 türle (725 takson) temsil edilmektedir (Sadıkoğlu 2005).

Son yıllarda doğada mevcut genetik kaynaklarımızı kullanarak tarıma ve ülke ekonomisine kazandırılan bitkilerin sayısı giderek artmaktadır. Kekik bunlardan en önemlisini oluşturmaktadır. Kekik türleri uçucu ve aromatik yağ içerdiklerinden eczacılık ve parfümeri sanayisinde önemli rol oynamakta olup, tedavide uçucu yağların ya da bu yağlardan elde edilen terpenik maddelerin (timol), antiseptik, antibakteriyel,

antispazmodik, antiastmatik, ekspektoran ve fungusit etkilerinden yararlanılmaktadır (Tanker ve İliulu 1981).

Genel olarak Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde bir bitkiye farklı isimler verilirken, çok fazla sayıda cins ve türe değişik yörelerimizde kekik denilmektedir. Ülkemizde pek çok cins kekik olarak tanımlanmaktadır. Bu cinslerden *Thymus* cinsinin 38 türü, *Origanum* cinsinin 23 türü, *Satureja* cinsinin 14 türü, *Thymbra* cinsinin 2 türü ve *Coridothymus* cinsinin 1 türü florada yer almaktadır (Baydar 2005). Bu cinslere ait türlerin yüksek uçucu yağ oranı ile birlikte karvakrol ve timol bileşenlerini içermesi ve benzer kullanım alanlarına sahip olması sonucunu doğurmaktadır.

Çizelge 1.1. Türkiye'nin Yıllar Üzerinden Kekik Üretimi, İhracatı ve İthalatı

Yıl	Üretim Miktarı		İhracat		İthalat	
	Tarladan Hasat (Ton)	Doğadan Toplama (Ton)	Miktar (Ton)	Değer (1000$)	Miktar (Ton)	Değer (1000$)
2000			7387.89	15366.35	564	1164.34
2001			8459.23	15479.36	124.66	192.58
2002			8331.46	13444.24	1048.34	1150.92
2003			8790.57	14067.92	61.71	151.63
2004	7000	1225	9776.99	16733.27	45.1	86.23
2005	6400	0.974	10424.51	17882.55	67.85	159.02
2006	7979	0.892	12201.96	22608.24	320.06	497.16
2007	5350	3863	11308.30	39493.28	2340.82	4455.70
2008	10082	2050	9682.73	42877.56	850.74	2485.83
2009	12329	1176	11474.66	28662.42	460.37	1198.23
2010	11190	1412	12957.01	28137.77	985.41	2148.41
2011	10953	0.971	1158.51	29854.12	911.74	1851.86
2012	11598	1786	13964.41	39916.64	1687.97	3341.97
2013	13658	1875	14813.27	56315.88	1695.37	4303.70
2014	11752	2493	15583.14	60050.88	1360.19	3654.24

Kekiğin kültüre alınması, tarımının başlatılması ile daha önce doğadan toplamada karşılaşılan ve pazarlamada sorun teşkil eden uçucu yağ oranının düşük olması, zamansız toplama sonucu oluşan düşük kalite, içerisinde kekik dışında rastlanan yabancı maddeler karıştırılması ayrı bir müdahaleye gerek kalmadan azalmış ve ihracatçı istediği özelliklerde standart ve devamlılığı olan materyal temin etmeye başlamıştır. Doğadan toplanan kekiklerde ihracatçı %2 uçucu yağ oranını temin etmede zorlanırken, geliştirilmiş hatlarla tarlada yetiştirilen kekiklerde %4'ün üzerinde uçucu yağ elde edilmeye başlanmıştır. Ayrıca pazara daha ucuz kekik sunulmaya başlanmıştır. Sonuçta daha önce küçük çapta kekik üretip ihraç eden pek çok ülke Türkiye ile rekabet edemeyip kekik tarımını terk etmiştir (Sarı ve Altunkaya, 2015). Tüm bu gelişmeler

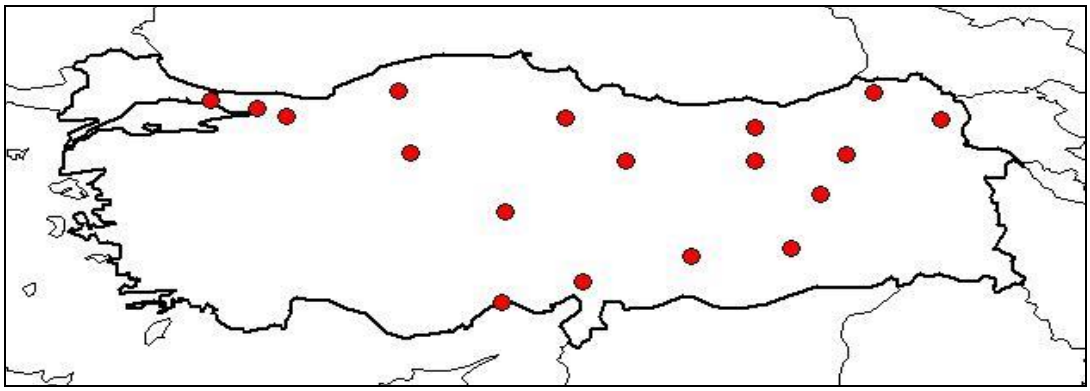
Türkiye'nin dünya pazarındaki kekik hakimiyetini perçinlemiş, dünyada kekiğin ihracat hacmi yaklaşık 12-13 bin ton civarındadır. Türkiye'de ise son yıllarda 12-15 bin ton civarında, elde edilen gelir ise 60 milyon doları aşmıştır (Çizelge 1.1.).

Satureja hortensis L. Lamiaceae familyasında bulunan *Satureja* cinsinde yer alır. Tek yıllık bir kekik türü olan bitkinin kökleri hariç geriye kalan kısımları içecek, baharat ve uçucu yağ eldesinde kullanılır. *Satureja* cinsine ait olan S. *hortensis* L.'in sinonimi *S. laxiflora*'dır. *S. hortensis* L. türünün S. *hortensis* L. var. *grandiflora* Boiss. ve *S. hortensis* L. var. *speciosa* Nab. olmak üzere iki alt türü vardır. *Satureja* cinsine dahil bir çok tür geleneksel kullanımları ve isimleri kekik, sivri kekik, geyik otu, zater, sater, kılıç kekik, keklik otu, çatlı ya da firibu olarak değişen birçok isimle bilinmektedir (Baytop 1999).

Satureja hortensis bitkisinin hasat zamanı bölgelere göre değişebilmekte, bazı bölgelerde çiçeklenmeden önce hasat yapılırken bazı bölgelerde de çiçeklenme sonrası hasat yapılabilmektedir. Ayrıca, bitkinin hasat zamanı ve yayılışı lokal ve yıllık iklim şartlarına göre de değişkenlik göstermektedir. Bununla birlikte, hasat zamanı genellikle Temmuz-Eylül aylarında yapılmaktadır (Satıl ve ark. 2002).

S. hortensis L. bitkisinin herbasından faydalanılmaktadır. Baytop (1984) %0.3-2 arasında değişen oranlarda uçucu yağ bulunduğunu bildirmiştir. Ayrıca uçucu yağında fenolik yapıda olan karvakrolun % 20-30 oranında olduğunu bildirmiştir. *S. hortensis* L. bitkisinden elde edilen droglar pek çok farmakolojik ve tedavi edici özelliklere sahiptir. İçerdiği flavonoid ve kafeik asit bileşikleri farmasötik ve kozmetik endüstrilerinde virütik, antimikrobiyal ve bağışıklık sistemini güçlendirici özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır (Dinç 2014).

Ülkemizde *S. hortensis* L. bitkisi genellikle İç Anadolu Bölgesi (Amasya, Ankara, Nevşehir, Sivas), Marmara (İstanbul, Sakarya), Doğu ve Güneydoğu Anadolu (Erzincan, Tokat, Erzurum, Adıyaman, Adana, Diyarbakır) ve Karadeniz Bölgesi'nde (Samsun, Zonguldak) doğal yayılış göstermektedir (Şekil 1.1.). *Satureja* cinslerinin birçok türünün ticareti yapılmakta olup, Ege ve Akdeniz Bölgeleri ticaretin yoğun olduğu bölgeler olarak karşımıza çıkmaktadır (Satıl ve ark. 2002).



Şekil 1.1. *Satureja hortensis* bitkisinin ülkemizde yayılış gösterdiği iller

Tıbbi ve aromatik bitkilerde fotosentez sırasında primer metabolitler yanısıra üretilen sekonder metabolitlerde büyük öneme sahiptir. Primer (birincil) ve sekonder (ikincil) metabolitler olarak ikiye ayrılan bitki kimyasallarından primer metabolitler doğada oldukça yaygın olarak bulunur. Primer metabolitler yüksek bitkilerin tohum ve vejetatif yapılarında oldukça fazla miktarda bulunur ve bitkinin fiziksel gelişimi için hücre metabolizmasındaki temel görevlerinden dolayı gereklidirler. Birçok yüksek bitki, bitki aminleri, nadir amino asitler, alkoloid, terpen, fenolik bileşikler ve glikozidler gibi ekonomik değeri yüksek olan organik kimyasalları yapısında biriktirerek zengin bir hammadde kaynağı oluştururlar. Doğal bitki ürünleri (fitokimyasallar) olan farmasötikler, agrokimyasallar, koku ve tadlandırıcılar, doğal renklendiriciler, biyopestisitler ve gıda katkı maddeleri gibi endüstrinin birçok dalında kullanılmaktadırlar (Oskay ve Oskay 2009).

Sekonder metabolitler, bitkilerde çok önemli fonksiyonları olan karmaşık yapılı kimyasal bileşenlerdir. Sekonder metabolitler bitkisel kökenli bileşikler olması nedeniyle farklı bir yapıda olup, bu metabolitler içinde bulunan yada yer alan fenolik bileşikler üstlenmiş oldukları görevlerinden dolayı büyük önem taşımaktadırlar. Ayrıca fenolik bileşiklerin, antikanserojen ve antimikrobiyal etkiler göstererek insan sağlığı üzerine yapıcı etkilerinin olduğu gözlenmiştir (Çetin ve ark. 2011).

Sekonder metabolitlerin daha önceleri bitkilerde herhangi bir fonksiyona sahip olmadığı düşünülürken son yıllarda yapılan çalışmalar durumun hiç de öyle olmadığını bitki yapısında önemli rol aldığını ortaya koymuştur. Giderek önemi artan bu bileşikler, bitki yaşamı için mutlak gerekli maddeler olmamakla birlikte bitkinin çeşitli stres

durumlarında (U-V ışınları, herbisit, vb.) savunma mekanizması olarak sentezlenmeye başladığı ortaya konmuştur (Güven ve Gürsul 2014).

Günümüz şartlarında sekonder metabolitlerin hızlı ve çoklu üretimi, hücre kültürü yöntemiyle yapılmaktadır. Katı besiyerinde bitki ya da embriyonun büyütülmesi, kallusun uygun dokulardan elde edilmesi, meydana gelen kallusların sıvı besi yerinde gelişmesi sonucunda hücre süspansiyon kültürlerinin yapılması ile sekonder metabolitler üretilmektedir (Oskay ve Oskay 2009).

Son zamanlarda doku kültürleri ile aromatik ve tıbbi bitkilerin mikroçoğaltım tekniklerinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Mikroçoğaltımın birçok avantajları bulunmaktadır. Örneğin; hastalık ve zararlılardan arındırılmış saf bitkisel materyaller elde etmede, mevcut geleneksel tekniklerle üretimi zor olan türlerin kolay üretimini sağlamada, üstün genotipleri seri üretmede, mevsime bağlı kalmadan her dönemde geniş alanlara ve iş gücüne ihtiyaç duymadan üretime imkân sağlamada avantajları görülmektedir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerin içerdikleri etkili maddelerinin genotip ve çevreye bağlı olarak değişkenlik gösterdiği bilinmektedir. Doğası gereği ya da geleneksel yöntemlerle çoğaltımı yapılan bitkilerin metobolit ekstraksiyonları, uçucu yağ bileşimleri ve oranları, kuru ve yaş drog verimleri gibi nitelikleri değişebilir. Son zamanlarda mikroçoğaltım tekniği, tohum ve çelikle üretimin dezavantajlarını ortadan kaldırmıştır. Vejetatif olarak daha hızlı ve fazla miktarda, aynı genetik yapıya sahip fide çoğaltımına imkân tanımaktadır. Bu avantajlarının yanında çevre şartlarına karşı duyarlı olan tıbbi ve aromatik bitkilerinde mikroçoğaltım tekniği geleneksel üretim yöntemlerine karşı alternatif bir üretim şeklidir (Kara 2011; Erkoyuncu ve Yorgancılar 2015).

Kekik üretiminde lider olma potansiyeli taşıyan ülkemizde, Diyarbakır ili önemli bir üretici konumundadır. İlimizde yetiştirilen kekik başta olmak üzere bu bitkiye ait mikroçoğaltım yönteminin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Böylece ekonomik değere sahip kekik bitkisinin geleneksel çoğaltım yönteminden farklı olarak *in vitro* ortamda daha hızlı ve çok miktarda bitkisel materyalin elde edilmesi zamana ve mekâna bağımlı kalmaksızın çoğaltımı mümkün olacaktır. Çalışmada *in vitro* eksplant olarak kullanılan hipokotil ve kotiledon gibi fide kısımlardan çoğaltımın gerçekleşmesi amaçlanmış ve

böylece bir fide ile başlayacak çoğaltımla 8-10 adet sürgün elde edilerek çok sayıda bitkinin üretilmesi gerçekleşmiş olacaktır. Geliştirilecek *in vitro* çoğaltım metodu sayesinde kekik bitkisinin doğal koşullarda yetiştirildiğinde ekolojik faktörler nedeniyle meydana gelebilecek tıbbi ve aromatik özelliklerin değişimi önlenmiş olunacak ve söz konusu içerik stabil olarak korunmuş olunacaktır. Ticari olarak değerlendirilen bu bitkinin tıbbi ve aromatik özelliği muhafaza edilerek *in vitro* mikroçoğaltım ile ekonomik bir boyut kazanacağı düşünülmektedir. Ayrıca, ıslah materyali olma özelliği taşıyan bu bitkinin ıslah süreci kısaltılarak arzu edilen içeriğe sahip türün *in vitro* mikroçoğaltımı ile zaman kaybının da önüne geçilmiş olunacaktır.

Mikroçoğaltım ile bitki üretiminin temel amaçlarından biri de istenilen özelliklere sahip bitki klonlarının üretilmesine olanak sağlamasıdır. Bitkilerin içerdiği sekonder metabolitlerin sınırlı miktarda olması, istenilen miktarda ve ekonomik olarak bu maddelerin üretilmesini sınırlamaktadır. Bunun yanında bazı metabolitlerin sınırlı sayıda türlerde bulunması, bu türlerin yetiştiği ekolojilerin kendilerine özel olması ve bunların yetiştiriciliğinde ortaya çıkan sorunlar dikkate alındığında bu bitkilerin ve metabolitlerinin üretiminde biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması gerekliliği bir zorunluluk olarak ortaya çıkmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerin doku kültürü teknikleri ile çoğaltılması veya sekonder metabolitlerin hücre kültürleri ile üretilmesi doğal çeşitliliğin korunmasına katkı sağlayacaktır. Zira her yıl bu bitkilerin doğadan bilinçsizce toplanması birçok bitki türünü tehdit etmektedir.

Bu tez çalışması ile tek yıllık bir kekik türü olan *Satureja hortensis* bitkisinin *in vitro* mikroçoğaltımı ve bu türün uçucu yağ bileşenleri bakımından değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca, bu çalışma ile bu türde gelecekte yapılacak araştırmalara temel olma özelliği ile bir model olacağı düşünülmektedir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Satureja hortensis bitkisi ile yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır. Tez konumuz ile ilgili daha önce yapılan çalışmalardan bazıları yayın yıllarına göre aşağıda belirtilmiştir.

Baytop (1984), *S. hortensis* bitkisinin iştah açıcı, gaz söktürücü, idrar artırıcı, midevi ve cinsel gücü arttırıcı gibi tedavi edici etkilere sahip olduğunu ve ülkemizde sater, zater, geyik otu, çibriska ve çubriza isimleriyle bilindiğini bildirmektedir. Ayrıca çalışmasında; bitki boyunun 10-30 cm arasında değiştiğini, uçucu yağ oranının % 0.3-2 arasında olduğunu ve ana bileşenin % 20-30 oranında karvakrolden ibaret olduğunu bildirmektedir.

Calvo ve Segura (1988), *In vitro* koşullarda yetiştirilmiş *L. latifolia* ve *L. stoechas* türlerinde bitkilerden kök, kotiledon ve hipokotil eksplantlarından sürgün üretimi için, farklı konsantrasyonlar ve kombinasyonlarda NAA, IAA ya da 2,4-D ile BAP ya da KİN içeren ortamlarda yürüttükleri çalışmada bütün ortamlarda kallus ve sürgün oluşumu gözlediklerini bildirmişlerdir.

Arrebola ve ark. (1997), Mikroçoğaltımda *Satureja obovata* türünün genç ve olgun eksplantları kullandıkları çalışmalarında; *in vitro* ortamda nutletlerin giberellik asit ile ön uygulamaya tabi tutulmasının uygun olmadığını bildirmişlerdir. Genç ve olgun materyalde optimum sürgün poliferasyonunun 2.22 µM N^6-benzyladenine içeren in vivo ortamdan elde edilirken, genç sürgünlerin köklenme ve akklimizasyonunun başarılı olduğunu, olgun sürgünlerin ise *in vitro* ortamda 4.92 µM indole-3-butrik asit ardından oksin içermeyen ortamda üç gün süre ile bekletilmesi ile köklendiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, akklimizasyon aşamasında olgun bitkilerden köklenenlerin hayatta kalma şansının % 95'den fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Tansı ve Tonçer (1999), Diyarbakır koşullarında *Satureja hortensis* L. kekik türünde birtakım biyolojik, morfolojik ve tarımsal özelliklerini belirlemişler. Tek bitkilerde alınan sonuçların oldukça değişken olduğunu ve bitkiler arasında büyük bir varyasyon olduğunu saptamışlardır.

Rout ve ark. (2000), yeni gelişmiş tekniklerin gelecek yüzyılda bu protokollerin optimal seviyelerini sağlamak ve uygulanabilir mikroçoğaltımın ticari bir şekilde kolaylaştırması yoluyla birçok bitki türünün yüksek rejenarasyon elde edilmesinde,

tasarladıkları çalışmalarında iyi gelişmiş hücre kültür metotları geliştirmede ve diğer biyoteknolojik yaklaşımlar ile birleştirilip ve genetik transformasyonda gözden geçirmişler.

Kızıl ve Tonçer (2001), Diyarbakır koşullarında yaygın olarak bulunan *Satureja hortensis* L.'in elverişli bitki sıklığının kalite ve tarımsal özellikleri üzerine etkisini saptamak amacı ile yürüttükleri çalışmalarında agronomik veriler istatistiksel olarak önemli bulunmuş, S.hortensis için drog, yaprak ve taze herba verimleri açısından optimum ekim sıklığının 30×20 ya da 20×30 cm olabileceği önerilmiştir.

Baher ve ark. (2002), yaptığı çalışmada sulama sıklığının *Satureja hortensis* L. bitkisinin agronomik özelliklerine ve uçucu yağ bileşenleri üzerine etkilerini belirlemişlerdir. Su stresi altında bitkinin yaş ve kuru ağırlığı ile beraber boyunun da azaldığını, uçucu yağın ana bileşenlerinin karvakrol ve γ-terpinen olduğunu bildirmişlerdir.

Ghannadi (2002), İran'da yetiştirdiği *Satureja hortensis* tohumlarından hidrodistilasyon ile elde ettiği uçucu yağın bileşimini incelediği çalışmasında, uçucu yağ oranını % 0.3 olarak belirlemiş, yağın %96.7'sini yansıtan 42 komponent tespit etmiştir. Araştırıcı yağın ana bileşenlerini karvakrol (59.7%), ɣ-terpinene (12.8%) ve p-cymene (9.3%) olarak bildirmiştir.

Chizzola (2003), Fransa'dan gelen *Satureja montana* L. türünün uçucu yağ bileşimini ortaya koydukları çalışmasında ana bileşenlerin karvakrol, p-cymen ve ɣ-terpinen olduğunu, çalıştığı tüm populasyon örneklerinde bu bileşenlerin olduğunu saptamışdır.

Omidbaigi ve Hejazi (2004), *Satureja hortensis*'in Almanya ve Macaristan kökenli bitkilerini Tahran'ın kuzey bölgesinde bulunan Zardband bölgesinde aynı iklim koşullarında yetiştirmiş ve sırasıyla 26 ve 29 bileşik tespit etmişlerdir. Araştırıcılar, farklı kökenli *Satureja hortensis* örneklerinde uçucu yağ bileşenlerinin farklı olduğunu ortaya koyarken; karvakrol, p-cymen, ɣ-terpinen, α-terpinen ve myrcen gibi ana bileşenlerin miktarında fazla değişkenlik görülmediğini bildirmişlerdir.

Özcan ve Chalcat (2004), 2001-2002 yıllarında Türkiye'de hasat edilen *Satureja hortensis* örneklerinde 58 bileşen belirlemişlerdir. Ana bileşenleri sırasıyla α-terpinen (%2.34-2.66), p-cymen (%21.82-14.64), ɣ-terpinen (%18.92-23.09) ve β-karyofilin

(%3.75-4.56) olduğunu bildirmişlerdir. Her iki yılda da aldıkları örneklerde monoterpenik hidrokarbonların baskın olduğunu tespit etmişlerdir.

Sefidkon ve ark. (2006), *Satureja hortensis'*i full çiçeklenme döneminde hasat ederek farklı yöntemlerin (Güneş, 45 ºC fırın ve gölge) kurutmaya etkisini belirlemişlerdir. Araştırıcılar, uçucu yağ oranlarının gölgede kurutmada % 0.94, fırında kurutmada % 1.06 ve güneşte kurutmada % 0.87 olarak değiştiğini saptamışlardır. Farklı kurutma metotları kullanarak yaptıkları çalışmalarında major bileşikleri carvacrol (% 46-48.1) ve γ- terpinen (% 37.7-39.4) olarak tespit etmişlerdir.

Chishti ve ark. (2006), *Lavandula officinalis*'in sürgün eksplantını kullanarak yaptıkları çalışmada, en verimli hızlı çoğaltım protokolünü geliştirmek amacıyla farklı oranda BAP, KİN ve IAA içeren MS ortamı kullanmışlardır. En iyi adventif sürgün oluşumu (%80) 2 mg/l BAP ile yapılan MS ortamında belirlenmiştir.

Areej (2007), tarafından yapılan araştırmada *L.angustifolia* ve *L.latifolia* bitkilerinin boğum arasından eksplantlar alınarak farklı konsantrasyonlardaki KİN'in, 0.05 mg/L NAA+MS ve 0.5mg/L BA+MS içeren besin ortamlarına konularak en yüksek sürgün oluşumunu ve en iyi köklenme oranını bitkilerde belirlemiştir.

Yılmaztekin ve ark. (2008),tarafından yapılan çalışmada ise Dünya genelindeki gıda katkı maddelerine yönelik pazarın % 25'ini oluşturan aroma maddeleri yıllık yaklaşık olarak 7 milyar dolar bir pazar payına sahip olduğu bildirilmiştir. Aroma maddelerinin geçmişten beri bitkilerden elde edildiğini, ancak bitkilerde çok az miktarlarda bulunan bu maddelerin saflaştırılmalarının zor ve pahalı olduğundan dolayı son dönemlerde alternatif olarak biyoteknolojik yöntemlerin üzerinde durulduğunu vurgulamışlardır.

Aşcı (2009), Çukurova koşullarında *Satureja hortensis* L. 'nin agronomik özellikleri ve teknolojik özelliklerini incelediği çalışmasında; bitkinin tarımsal ve teknolojik özelliklerini değerlendirmeye almıştır. Araştırıcı uçucu yağ oranı gözönüne alındığında çiçeklenme başlangıcının en uygun hasat zamanı olduğunu, uçucu yağın ana bileşenlerinin ise carvacrol, γ-terpinen ve p-cymene olduğunu saptamıştır.

Kızıl ve ark. (2009), *Satureja hortensis*'de en uygun hasat döneminin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada; en yüksek kuru yaprak verimi, taze ve kuru herba verimi tam çiçeklenme döneminden elde edildiğini, uçucu yağı oluşturan ana

bileşenlerin sırasıyla thymol, ɣ-terpinen, carvacrol ve cymol olarak belirlemişlerdir. Araştırıcılar, thymol'ün ɣ-terpinen aksine çiçeklenme döneminin sonuna doğru arttığını, tam çiçeklenme döneminde yapılan hasadın en yüksek uçucu yağ verimini ortaya koyduğunu bildirmişlerdir.

Alizadeh ve ark.(2010), *Satureja hortensis*'in verim üzerine farklı gübre dozlarının taze ve kuru ağırlık, uçucu yağ, toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. *S.hortensis*'te 0, 50, 1000 ve 1500 mg/bitki olarak uygulanan dozların taze ve kuru ağırlığı arttırdığını ortaya koymuşlardır. 1000 ve 500 mg/bitki gübre dozlarının uçucu yağ veriminin arttığını tespit etmişlerdir. Araştırıcılar, 19 farklı bileşen tespit etmişler, ana bileşenlerin karvakrol (%59.2-43.9), ɣ-terpinen (%40.2-30.7), α-terpinen (%4-2.8) ve p-cymen (%2.2-1.8) olduğunu bildirmişlerdir. Araştırıcılar, uygulanan farklı gübre dozlarının uçucu yağ oranını değiştirmediğini ancak karvakrol, ɣ-terpinen ve α-terpinen oranlarını değiştirdiğini, antioksidan aktivitesi ve total fenolik içeriğini arttırdığının sonucuna varmışlardır.

Hadian ve ark.(2010), İran koşullarında *Satureja hortensis* bitkisinde morfolojik değişiklikleri ve fitokimyasal karakterlerini belirledikleri çalışmada, uçucu yağda 29 bileşik tanımlamışlar ve ana bileşikleri karvakrol (%83.3-42.0), ɣ-terpinen (%28.5-0.5) ve p-cymen (%17.1-1.0) olarak bildirmişlerdir.

Ionescu ve ark. (2011), Kalogenesis tekniğini kullanarak sater'in *in vitro* koşullarda üretimini amaçlamışlar, pratik ve uygun sonuçlar için bitki tohumlarının kullanılması ile aseptik kültür koşullarının oluşturulmasını ve ekzojen fitohormonların etkisi ile kallus elde etmek için yaprak, kök, kotiledon, epikotil ve hipokotilin *satureja* için uygun eksplantlarının olduğunu vurgulamışlardır.

Katar ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada Ankara şartlarında *Satureja hortensis* L. bitkisinde çiçeklenme başlangıcı, % 40–60 çiçeklenme, tam çiçeklenme ve tohum oluşumu başlangıcında olmak üzere 4 farklı zamanda hasat yapmışlar, verim değerleri ile sekonder metabolitlerin değişkenlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kara (2011), yaptığı çalışmada mikroçoğaltım yolu ile çok sayıda bitki üretimini gerçekleştirmek amacıyla; sürgün oluşumu, bitkicik ağırlığı, kök oluşumu ve sağ kalma oranının tiplere, sürgün ve köklenme ortamlarına göre değişiklik gösterdiğini

belirlemiştir. En iyi köklenme oranının 0.49 mg/L BA içeren sürgün ortamı ile 0.46 mg/L NAA içeren köklenme ortamı birleşiminden oluştuğunu bildirmiştir.

Ramak ve ark. (2011), *Satureja khuzistanica*'nın bitkicik rejenerasyonu ve *in vitro*'daki tohum çimlenmesi için geliştirdikleri protokolde, sürgün proliferasyonu için nod eksplantlarını BAP (2 ve 5 mu M) ve IBA'nın kombinasyonu ile KİN ve BAP'ın farklı konsantrasyonları ile birleştirilmiş LS ortamında kültüre almışlardır. Araştırıcılar, çoklu sürgünlerin nodal eksplantlardan elde edildiğini, en yüksek sıklıkta sürgün oluşumunun (%77) IBA ile BAP konsantrasyonundan, köklenme için en iyi koşulların IBA'nın 2.5 mu M etkili oluşan LS ortamında gözlendiğini bildirmişlerdir.

Navroski ve ark. (2012), *Satureja hortensis* türünün internodal dal ve segmentlerinde ve apikal sürgünlerinde farklı büyüme düzenleyicilerin kallus oluşumuna etkisini değerlendikleri çalışmada, eksplantları *in vitro* fideciklerden izole etmişler ve NAA (0 ve 1 µM) ve BAP (0, 5, 10, 15 ve 20 µM) içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Değerlendirmenin 30. Gününde NAA daha iyi sonuç verirken, BAP'ın eklenmesiyle daha iyi sonuçlar alınmış ve bu faktörler arasında interaksiyon olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, artan BAP konsantrasyonlarında kırılgan kallus oluşturma yüzdesinin azaldığını, kompakt kalluslarda ise artan BAP konsantrasyonlarının yüzdeyi arttırdığını bildirmişlerdir. İnternodal dal segmentlerinde de aynı eğilimin gözlendiği, kallus oluşumunun NAA kullanıldığında oldukça rizogenik olduğu vurgulanmıştır. Sonuç olarak BAP kullanımının bitkilerin rejenerasyonunda ve metabolit üretiminde önerildiği sonucuna varılmıştır.

Pistelli ve ark. (2013), Aromatik bitkilerin mikroçoğaltımlarının doğada sürdürülebilirliğini garanti altına almak, doğal ekosistemlerde korunmasında ve standart ürün temin etmede önemli rol oynadığını vurgulamaktadırlar. Araştırıcılar yaptıkları çalışma ile; Head Space katı faz mikro ekstraksiyon yöntemini (HS-SPME) yabani bitkiler ile *in vitro* bitkilerden elde edilen uçucu yağları karşılaştırmışlar, mikroçoğaltım tekniğinin yabani yetişen bitkiler gibi aynı aromatik koku ile karakterize olabileceğini bildirmişlerdir.

Dinç (2014), organik ve inorganik gübrenin sater bitkisinde bazı agronomik ve teknolojik karakterler üzerine yapılan araştırmada elde edilen uçucu yağda değişiklikler

olduğu bildirilmiştir. Uçucu yağdaki kavrakrol oranı en fazla olurken (% 39.90–62.36), karvakrolü (% 17.14-25.71) değerleriyle ɣ-terpinenin izlediğini belirlemiştir.

Karimi ve ark. (2014), *Satureja hortensis*'de en yüksek kallus oluşum sıklığı yüzdesinin (% 96.67) mg/L 2,4-D ile 2 mg/L KİN destekli MS ortamında hipokotil eksplantlarından elde ettiklerini, *S. avromanica*'da ise 0.5 mg/L 2,4-D, 0.5 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA destekli ortamların hipokotil kallus oluşumunda en iyisi olduğunu bildirmektedirler. Araştırıcılar, *Satureja hortensis* türünün hipokotil segmentlerinden elde edilen kallusların, yeni bitkicik oluşturma sıklığının yaprak segmentlerinden türetilenden daha yüksek bulunduğunu, ancak *Satureja avromanica*'nın hipokotil segmentlerinin 1 mg/L BA ve 1 mg/L IBA destekli MS ortamında sürgün rejenerasyonunda (% 87.30) gibi bir oranla bitkicik rejenerasyonunda daha etkili bulunduğunu bildirmişlerdir.

Sahraroo ve ark. (2014), *Satureja khuzistanica* türü için ilk kez geliştirdikleri protokol ile taze sürgün eksplantlarını IBA'nın farklı konsantrasyonlarını MS ve B5 içeren ortamlarda denemişlerdir. 1.0 mg/L IBA+5.0 mg/L BAP içeren B5 ortamının 2.0 mg/L IBA+2.0 mg/L BAP içeren MS ortamına göre kallus oluşumunda 4 kat daha etkili olduğunu saptamışlardır (% 96 en yüksek indüksiyon oranı). Araştırıcılar, maksimum büyüme indeksi (2.89 ve 2.63) ve maksimum kallus biyokütlesi (2.34 ve 2.33 g taze ağırlık) sırasıyla 1.0 mg/L IBA+5.0 mg/l BAP içeren B5 ortamı ile 1.0 mg/L IBA+1.0 mg/L KİN içeren MS değişken ortamdan elde etmişlerdir.

Türközü ve ark. (2014), Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) bitkisinde en uygun eksplant tipi, karbonhidrat kaynağı ve alt kültür sayısını belirlemek için *in vitro* koşullarda doku kültürü yolu ile çoğaltımı araştırmışlardır. Farklı besin ortamlarında en iyi gelişimin 'Sürgün ucu x Toz şeker' birleşiminden oluştuğunu, besin ortamına GA_3 eklenmesinin gelişimi olumsuz etkilediği ve en uzun köklerin ise 0.5 mg/L IBA konulan MS ve yarım MS içeren ortamlardan oluştuğunu saptamışlardır.

Daneshvar-Royandezagh ve ark. (2015), Labiatae familyasından uçucu yağ içeren *Thymbra spicata* L. bitkisinde mikroçoğaltımın kısa sürede çok sayıda fide üretmeye yardımcı olduğunu bildirmektedirler. Araştırıcılar, *in vitro* da büyüyen bitkilerden elde edilen kotiledon nodlarındaki eksplantların mikroçoğaltımının 0.05 mg/L TDZ (Thidiazuron) ve 0, 0.01, 0.02, 0.04, 0.08 ve 0.12 mg/L NAA içeren MS

ortamında kültüre almışlar, gelişen sürgünler 0.5 mg/L IBA (Indole-3-butyric acid) ile desteklenmiş MS ortamında köklendirmişler, sonuç olarak kotiledon nodlarından kolaylıkla rejenerasyon sağlandığını bildirmişlerdir.

Erkoyuncu ve Yorgancılar (2015), geniş kapsamlı kullanım alanına sahip olan sekonder metabolitlerin doğal koşullar altında bitkilerden elde edilmesi sırasında çeşitli zorluklarla karşılaşılmıştır. Sınırlı olan üretim, tüketici isteklerinin değişmesi ile birlikte doğal maddelerin kullanımındaki talep artışını yeterli düzeyde karşılayamadığından sekonder metabolitlerin üretiminde biyoteknolojik yöntemlerin alternatif bir yöntem olduğu, farklı *in vitro* uygulamaların sekonder metabolitlerin biyosentez ve birikimini arttırılması için kullanıldığı belirtilmiştir.

Mozafari ve ark. (2015), *Satureja avromanica*'da hızlı ve etkin *in vitro* mikroçoğaltım için geliştirdikleri protokollerinde; bitkilerden yaprak, disk ve kök tipi eksplantları kullanmışlardır. Araştırmalarını boğum ve yaprak eksplantlarını MS ortamında sırasıyla 2,4-D (0, 0.1, 0.5 and 1 mg/L) ve IBA ile birleştirilmiş TDZ (0, 2, 5 and 10 mg/L) ve BA'nın uygulaması yada yalnız TDZ (0, 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2, 5 and 10 mg/L) ve BAP, BA ile birleştirilmiş WPM ortamında yürütmüşlerdir. Araştırıcılar, en yüksek sürgün sayısının (6.21) 2 mg/L BA ile birleştirilmiş MS ortamından, en yüksek sürgün uzunluğunun ise 5 mg/L BA içeren MS ve 2 mg/L TDZ ile birleştirilmiş MS ortamlarından (sırasıyla 4.82 ve 4.39 cm) elde edildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca, 0.1 mg/L IBA ile birleştirilmiş WPM ortamının rejenere olan sürgünlerin köklenmesi için en uygun ortam olduğunu belirlemişlerdir. Sonuç olarak; BA, BAP ve TDZ'nin tek başına uygulamasının S. *avromanica*' nın doğrudan sürgün rejenerasyonu üzerine daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Papadatou ve ark. (2015), Yunanistan'ın kuzeyinde yetiştirilen farklı *Satureja* türlerinin uçucu yağ miktarını inceledikleri çalışmada karvakrol, timol, p-cymen, ɣ-terpinen, linalol, borneol, cis-sabinen hidrat, spathulenol ve karyofilin oksit gibi bileşenlerin çoğu Satureja türlerinde biyosentetiklerle ilgili olan geraniol/geraniol asetat ve karvakrol/timol/p-cymen yada linalol'ün yüksek miktarları üretilmesini dikkat çekici olarak gözlemlemişlerdir.

Teshome ve Soromesa (2015), *Satureja abyssinica* 'da farklı sürgün uçları kullanılarak mikroçoğaltımı geliştirmek amacıyla yürüttükleri çalışmalarında, BAP (6-

benzil amino purin) ve Kinetin (KİN)'in çeşitli konsantrasyonlarını içeren MS ortamında kültüre almışlar, en iyi kültür başlangıcının (% 100) ortalama sürgün sayısının (16.30) ile 1.5 mg/L BAP içeren ortamdan elde eldildiğini, maksimum sürgün sayısının (20.53) 1.25 mg/L KİN ile takviye edilmiş MS ortamından, en yüksek sürgün uzunluğunun (3.41 cm) ise 0.5 mg/L BAP içeren ortamdan, en yüksek indüksiyon (% 100) ve maksimum ortalama kök sayısının (25.80) 2.0 mg/L IBA ile arttırılmış ½ MS ortamından, en iyi kök uzunluğunun (1.98) 1.0 mg/L IBA ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir. Araştırıcılar, köklenme ortamında en iyi sürgün sayısının (5.46) ve sürgün uzunluğunun (5.80) sırasıyla 0.2 mg/L NAA ve 0.5 mg/L IAA içeren ortamlarda olduğunu saptamışlardır.

Razavi ve ark. (2017), *Lallementia iberica'*da uçucu bileşenlerin tanımlanması ve bitki kallus kültürünün indüksiyonunu araştırmışlardır. Sterilize edilen *Lallementa ibarica'nın* tohumlarından elde edilen fidelerin kotiledon kısımları BAP ve 2,4-D bitki hormonlarının farklı kombinasyonları ile hazırlanmış MS ortamına transfer edilmiş, 25 ^{o}C'de fotoperiyotta büyüme kabininde tutulmuştur. Sonuç olarak, en fazla 3.5 g kallus oluşumu BAP (1.5 mg/L) ve 2,4-D (4 mg/L) ile hazırlanmış MS ortamının en uygun ortam olduğunu belirlemişlerdir. Uçucu yağın ana bileşenlerinin ise Thymol (%53.03), Octane (%19.90), Decane (%5.73), Carvacrol (%5.63) ve Octadecane (%3.73) olduğunu vurgulanmıştır.

Teshome ve ark. (2017), *Satureja abyssinica Briq*.'da organogenesis protokolu kullanılarak nodal segment eksplantlar yoluyla BAP, KİN, NAA, IBA ve IAA'nın farklı konsantrasyonlarını içeren MS ortamlarını kullandıkları çalışmalarında, maximum sürgün ortalaması (3.30+0.47) ve sürgün uzunluğunun (2.35+0.28) 1 mg/L BAP içeren ortamdan elde edildiğini, çoklu sürgünlerde; en yüksek sürgün uzunluğu (1.10+0.16) ve pernodal segment sürgünlerinin (3.90+0.60) 1 mg/L BAP ortamında oluştuğunu saptamışlardır. Araştırıcılar, maximum kök sayısı (8.00+1.12) ve % 90 köklenme sıklığının 0.5 mg/L IBA ile birleştirilmiş ½ MS ortamında tespit edildiğini bildirirken, en uzun köklenme ortalamasının (1.07+0.09) ise 1.4 mg/L IBA dozundan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Yıldırım (2017), *Stevia rebaudiana Bertoni* bitkisinde tohumların çimlenmesi üzerine gibberellik asit uygulamasının etkisini incelediği çalışmasında ayrıca vejetatif

üretimi sağlayacak doku kültürü ile fide üretim yollarını araştırmıştır. Sonuçlar özellikle 50 mg/L gibberellik asit uygulamasının hem çimlenme hemde fide gelişimine olumlu katkı yaptığını, yapraktan kallus indüksiyonu ve gelişiminin en iyi NAA (10.0 mg/L) ve BAP (8.0 mg/L) kombinasyonunda, maksimum sürgün ve kök gelişiminin ise sırasıyla BAP (2.0mg/L) ve IBA (2.0 mg/L) bulunan hormonal ortamlarda meydana geldiğini göstermiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada sater (*Satureja hortensis* L.) bitkisinin tohumları ticari tohumluk satışı yapan firmadan temin edilip materyal olarak kullanılmıştır. *Satureja hortensis Lamiaceae* familyasına dahil tek yıllık ve otsu yapıda bir kekik türü olup, 2000 m'ye kadar olan yükseltilerde, kayalık ve aşınmış yamaçlar, çağıllık, çakıllı yerler, kıyılardaki gevşek kumullar ve nadas alanları gibi yerlerde doğal yayılış gösteren bir bitkidir (Tubives, 2017).



Şekil 3.1. Sater bitkisinin doğal ortamda görünümü

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplantlar

Bu çalışmada, *Satureja hortensis* tohumları çimlendirilmiş, çimlenme başlangıcından itibaren bitkiler 30 günlük iken kotiledon yaprakları ve hipokotil kısımları, yaklaşık olarak 1 cm uzunluğunda kesilerek, eksplant olarak alınmıştır.



Şekil 3.2. Çimlendirilmiş *Satureja hortensis* bitkisinden hipokotil ve kotiledon eksplantları alınması zamanındaki görünüm

3.2. Metot

3.2.1. Laboratuvar Çalışmaları

3.2.1.1 Eksplantların Ön Hazırlığı ve Sterilizasyonu

Satureja hortensis bitkisinin ticari tohumlarının yüzey sterilizasyonu için tohumlar 30 dakika çeşme suyunda yıkandıktan sonra %50 sodyum hipoklorit ve 1-2 damla tween-20 ile 20 dakika steril edildi ve 3×3 dakika steril saf suyla yıkanmıştır. Sterilizasyon çalışmalarından sonraki işlemler steril kabin (Şekil 3.3.) içinde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra tohumlar steril kabin içinde, önceden etüvde steril edilmiş pens ve bistüri ile petri kapları içerisindeki MS besin ortamlarına tohumlar ekilip çimlenmeye bırakılmıştır. Çimlenen tohumların kısımları (kotiledon ve hipokotil) farklı konsantrasyonlardaki BAP ve KİN içeren MS besin ortamlarına konulup bitki büyüme dolabında kültüre alınmıştır.



Şekil 3.3. Laboratuar çalışmalarının yapıldığı steril kabin (a), bitki büyütme dolabı (b) ve çalışma odasının görüntüsü (c)

3.2.1.2. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Besin Ortamları

Bu çalışmada MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog1962), %3 oranında sukroz ile ve katılaştırma amacıyla 6.2 g agar (Duchefa) içeren besin ortamları kullanılmıştır. MS, mineral tuz ve vitaminlerin içeriği çizelge (3.1.)'de verilmiştir. Ortam hazırlandığında çift distile su kullanılmıştır ve besin ortamına farklı konsantrasyonlardaki hormonlar (BAP ve KİN) eklenmiştir.

Çizelge 3.1. MS (Murashige ve Skoog 1962) Ortamında Bulunan Maddeler ve Konsantrasyonları

Ortamda bulunan maddeler		**Konsantrasyonu (mg/L)**
Makro besin elementleri	NH_4NO_3	1650
	KNO_3	1900
	$CaCI_2.2H_2O$	440
	$MgSO_4.7H_2O$	370
	KH_2PO_4	170
Mikro besin elementleri	KI	0.83
	H_3BO_3	6.2
	$MnSO_4.4\ H_2O$	22.3
	$ZnSO_4.7\ H_2O$	8.6
	$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
	CuSO4.5H2O	0.025
	$CoCl_2.\ 6H_2O$	0.025
	$FeSO_4.7\ H_2O$	27.8
	$Na_2EDTA.\ 2H_2O$	37.3
Vitaminler	Miyo Inositol	100
	Nicotinic Acid	0.5
	Pyridoxine-HCI	0.5
	Thiamine-HCI	0.1
	Glycine	2

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, Sigma Aldrich Chemical Co.'dan temin edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyicileri (IBA ve GA_3) uygun çözücülerde Çizelge (3.2.)'de verildiği gibi çözüldükten sonra istenilen miktarda ve oranda stok solüsyonları hazırlanmıştır. Isı muamelesi ile bozulmayan bitki büyüme düzenleyicileri otoklavlanmadan önce besin ortamına ilave edilmiştir. Hazırlanan bitki büyüme düzenleyicileri stok solüsyonları iki ay süreyle +4ºC'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.2. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Stok Çözelti Konsantrasyonları

Bitki Hormonları	**Çözücü**	**Saklama Sıcaklığı**	**Stok Çözelti Konsantrasyonu(mg/L)**
Sitokinin			
BAP	1N NaOH/Etanol	4ºC	1/1
KİN	1N NaOH	4ºC	1/1
Oksin			
IBA	1N NaOH	4ºC	1/1
Giberellin			
GA_3	Etanol	4ºC	1/1

3.2.1.3. Kültür Koşulları

Besin ortamının pH'sı 1N NaOH yada HCI kullanarak 5.6-5.8'e ayarlanmıştır daha sonra otoklavda 1.2 kg/cm^2 basınç altında 121 ºC' de 20 dakika sterilizasyon yapılmıştır. Daha sonra bütün ortamlar bitki büyüme kabininde (Fitotron UK) beyaz floresans ışığı altında 16 saat ışık ve 8 saat karanlık periyodunda 24ºC'de ve %50 nemde tutulmuştur (Babaoğlu ve ark. 2002).

3.2.1.4. *In vitro* Çalışmalar

- Bitki Rejenarasyonu

Çalışmada, bütün eksplantlar Çizelge (3.2.)'de verilen hormonlar ve bitki büyüme düzenleyicileri ile birlikte belirtilen dozlar kullanılmıştır. Bir petri kabına

kotiledon için 4 eksplant ve hipokotil için ise 5 eksplant olacak şekilde ve 3 tekerrür olarak kültüre alınmıştır.

Çizelge 3.3. *Satureja hortensis* Bitkisinin Kotiledon ve Hipokotil Eksplantlarının Besin Ortamında Farklı Konsantrasyonlarda BAP ve IBA (0.2 mg/L) içeren denemeleri

BAP mg/L	IBA mg/L
0.75	0.2
1.50	0.2
2.25	0.2
3.00	0.2
3.75	0.2
4.50	0.2

Çizelge 3.4. *Satureja hortensis* Bitkisinin Kotiledon ve Hipokotil Eksplantlarının MS Besin Ortamında Farklı Konsantrasyonlarda KİN ve IBA (0.2 mg/L) içeren denemeleri

KİN mg/L	IBA mg/L
0.75	0.2
1.50	0.2
2.25	0.2
3.00	0.2
3.75	0.2
4.50	0.2

Farklı konsantrasyondaki BAP, KİN ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamda gelişen sürgünler gelişimi teşvik etmek amacıyla 5 mg/L GA_3 (Giberellik asit) içeren MS ortamına alınmıştır. Karanlık ortamda oda sıcaklığında 24 saat bekletilmiştir. Giberellik asit içeren ortamdan alınan sürgünler daha hızlı gelişimi arttırmak için 20 g/L şeker içeren MS ve 0.5 mg/L GA_3 ortamına aktarılmışlar. Sürgünlerde gelişim gözlenmiş

olup, sarı renkten yeşil renge dönüşüm izlenmiştir. 10 gün sonra karanlık ortamdaki kültürler aydınlık ortama alınmıştır.

- Köklendirme Ortamı

Yeterli sürgün gelişimi sağlanan *Satureja* fidecikleri köklendirmeyi teşvik etmek amacıyla 0.2 mg/L IBA içeren ortama bırakılmışlardır. Laboratuvar koşullarında yeterli kök oluşumu sağlandıktan sonra fidecikler akklimatizasyon işlemine tabi tutulmuşlar ancak başarılı olunamamıştır.

3.2.2. Tarla Denemesi

Tezin tarla denemesi çalışmalarında laboratuar koşullarında olduğu gibi bitkisel materyal olarak ticari firmadan temin edilen sater (*Satureja hortensis* L.) tohumları kullanılmış olup, çalışmalar Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tıbbi ve Aromatik Bitkiler serasında 2016 yılında yürütülmüştür. Tohumlar Ocak ayında serada hazırlanan yastıklara ekilmiştir. Sera içerisindeki yastıklar aynı oranda toprak: çiftlik gübresi: kumdan oluşan bir karışım şeklinde hazırlanmıştır. Yastıklarda ilk çıkışlar Şubat ayı içerisinde gerçekleşmiştir. 10-15 cm uzunluğundaki sağlıklı fideler Mayıs ayının ilk haftası saksılara aktarılmıştır ve can suyu verilmiştir. Saksıların bakımı ve sulanması düzenli aralıklarla yapılarak bitkilerin sağlıklı gelişmesi sağlanmıştır. Araştırmada gözlemler ve hasatlar bitkilerin çiçeklenmeye başladığı 19 Temmuz 2016 tarihinde yapılmıştır.



Şekil 3. 4. *Satureja hortensis* bitkisinin tohumlarının saksılarda çimlendirilmesi (a) ve bitkinin sera ortamında gelişimi (b)

3.2.3. Uçucu Yağ Bileşiminin Tayini

Kekik bitkisinden elde edilen uçucu yağ bileşen analizleri Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Fizyolojisi Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan GC-MS (Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi) ve Alev iyonizasyon dedektörü (FID) kullanılarak yapılmıştır. Uçucu yağda oluşan bileşenlerin analizleri 3 tekrarlı yapılmış olup MS ve FID detektörünün verileri kullanılmıştır. Bileşenlerin tanımlanması Flavour, NIST ve Wiley kütüphanelerine göre yapılmıştır. Çalışmada kullanılan GC-MS/FID cihazının çalışma koşulları Çizelge (3.5.)'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.5. GC/MS çalışma koşulları

Sistem	Agilent GC-689011GC ve Agilent 5975 MS
GC kapillar kolonu	HP-88 (100mx250m x 0.20 µm film kalınlıkta)
Taşıyıcı gaz	He, akış hızı 1 mL / dk
GC fırın başlangıç sıcaklığı	70ºC (1 dk), dk'da 50 ºC artarak 220 ºC 10 dk ve dk'da 10 ºC artarak 230 ºC'de 10 dk
Enjeksiyon bloğu sıcaklığı	250 ºC
Kütle Spektrofotometresi	El Mode 70 eV
Split oranı	2:1
Kütle oranı	35-400 m/z
Tarama hızı	(amu/s):100

3.3. Verilerin Değerlendirilmesi

Doku kültürü denemeleri, tek faktörlü, tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Her tekerrür, içinde kotiledon için 4 ve hipokotil için 5 adet eksplantın bulunduğu Petri kaplarından oluşmuştur. Bu araştırmada elde edilen verilerin analizinde SPSS programı kullanılmıştır. Veriler Univariate analizi ile incelenmiştir. Muamele ortamlarının karşılaştırılmasında Duncan ve LSD testlerinden yararlanılmıştır. Yüzdelik değerler, istatistiksel analiz yapılmadan önce arcsin değerlerine dönüştürülmüştür (Snedecor ve Cochran 1967).

Araştırmada ölçülerek elde edilen rakamların değerlendirilmesinde minimum ve maksimum değerler saptanmış. MSTAT_C isitatistik paket programında ortalama, ortalamanın standart hatası ve varyasyon katsayısı değerleri hesaplanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Agronomik Çalışmalar

4.1.1. Bitki Boyu

İncelenen 30 farklı sater (*Satureja hortensis*) bitkisinde bitki boyu ile ilgili ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Çizelge (4.1.)'de ve kaydedilen ham veriler Çizelge (4.2.)'de gösterilmiştir.

Çizelge 4. 1. Diyarbakır Koşullarında *Satureja hortensis* Bitkisinin Morfolojik ve Agronomik Özelliklerine Ait Varyans Analizi Sonuçları.

İncelenen Özellik	Ort.±Std	Min-Max	V.K.
Bitki Boyu	39.60±4.04	31.00 - 48.00	16.386
Dal Sayısı	13.33±5.06	7.00 - 26.00	25.678
Taze Herba Verimi	42.60±14.48	21.12 - 77.15	209.771
Kuru Herba Verimi	14.34±5.33	6.85 - 25.66	28.443
Kuru Yaprak Verimi	9.32±3.36	4.17 - 16.33	11.338

****

Çizelge (4.1.)'de görüldüğü gibi bitki boyu bakımından popülasyonda önemli farklılıklar bulunmaktadır. Sater otunda bitki boyu 31.00-48.00 cm arasında değişmiştir. Baytop (1984) bitki boyunun 10-30 cm arasında değiştiğini, Davis (1988) 10-35 cm arasında olduğunu, Tansı ve Tonçer'in (1999) araştırmasında ise 23.73-30.02 cm olduğunu, Kızıl ve Tonçer (2001) 40.35-42.69 cm, Héjja ve ark. (2002) ise birinci biçimde 31.6-60.0 cm, ikinci biçimde 25.5-36.5 cm arasında değiştini bildirmişlerdir. Araştırmamızda elde ettiğimiz değerlerin literatürlerde belirtilen değerlerle uyumlu olduğu görülmektedir.

4.1.2. Dal Sayısı (adet/bitki)

İncelenen 30 farklı sater (*Satureja hortensis*) bitkisinde dal sayısı ile ilgili ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Çizelge (4.1.)'de, kaydedilen ham veriler Çizelge (4.2.)'de sunulmuştur.

Çizelge (4.1.)'de görüldüğü gibi dal sayısı bakımından popülasyonda önemli farklılıklar bulunmaktadır. Sater otunda dal sayısının 7-26 adet arasında değiştiği görülmektedir. Tansı ve Tonçer (1999) dal sayısını 5.36-7.98 adet/bitki olduğunu, Dinç (2014) bitkideki dal sayısının 26.6-29.4 adet/bitki arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Dinç ile benzerlik gösterirken, Tansı ve

Tonçer'in sonuçlarından yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın nedeni yürütülen araştırmanın doğal ortamda yayılış gösteren bitkiler üzerinde yürütülmesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.2. Diyarbakır Koşullarında Yetiştirilen *Satureja hortensis* Bitkisinin Agronomik ve Morfolojik Özelliklerine Ait Veriler (adet/bitki)

Bitki No	Bitkiboyu (cm)	Dal Sayısı (adet/bitki)	Taze Herba (g/bitki)	Kuru Herba (g/bitki)	Kuru Yaprak (g/bitki)
1	48	17	77.15	25.33	16.33
2	40	26	61.26	25.66	15.86
3	41	12	53.72	19.23	12.89
4	36	10	42.98	13.44	8.59
5	48	11	55.21	18.38	11.9
6	45	25	50	17.75	11.06
7	33	16	23.38	8.25	5.81
8	37	12	25.68	7.69	4.45
9	41	10	39.66	11.09	6.39
10	41	10	57.58	19.42	12.57
11	37	13	43.46	13.63	8.63
12	36	14	25.67	6.85	4.17
13	43	10	21.12	21.12	13.01
14	38	9	41.42	12.91	9.05
15	39	12	32.74	10.87	8.26
16	44	11	45.37	14.16	9.35
17	42	21	64.61	20.14	14.36
18	43	26	64.79	20.51	12.92
19	40	12	40.88	11.98	8.34
20	37	9	38.66	13.39	8.41
21	39	13	41.03	12.6	7.99
22	41	10	41.19	12.46	8.43
23	41	12	58.11	20.31	12.74
24	31	7	22.39	7.31	5.01
25	36	14	29.01	9.39	5.99
26	40	10	33.7	10.51	7.22
27	32	9	30.74	9.74	6.44
28	38	9	36.32	11.23	7.39
29	42	15	26.76	7.84	5.43
30	39	15	53.39	16.95	10.46

4.1.3. Taze Herba Verimi (g/bitki)

İncelenen 30 farklı sater (*Satureja hortensis*) bitkisinde taze herba verimi ile ilgili ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Çizelge (4.1.)'de, kaydedilen ham veriler Çizelge (4.2.)'de belirtilmiştir. Çizelge (4.1.)'de görüldüğü gibi taze herba verimi yönünden popülasyonda önemli farklılıklar bulunmaktadır. Bitki başına taze herba verimleri 21.12-77.15 g/bitki arasında değişim göstermiştir. Tansı ve Tonçer (1999) taze herba verimini 7.73-22.31 g/bitki, Kızıl ve Tonçer (2001) yeşil herba verimi 389.90-596.45 kg/da arasında olduğunu bildirmişlerdir. Popülasyondaki taze herba verimleri bitki boyu ve dal sayılarındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

4.1.4. Kuru Herba Verimi (g/bitki)

İncelenen 30 farklı sater (*Satureja hortensis*) bitkisinde kuru herba verimi ile ilgili ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Çizelge (4.1.)'de, kaydedilen ham veriler Çizelge (4.2.)'de gösterilmiştir. Bitki başına kuru herba verimleri 6.85-25.66 g/bitki arasında değişim göstermiştir. Sonuçlarımız Tansı ve Tonçer (1999)'in kuru herba ağırlığının 1.85-2.58 g/bitki arasında olduğunu bildirmişlerdir. Kuru herba verimindeki değişimlerin bitkinin genetik yapısından kaynaklanan habitusuna bağlı olarak ortaya çıktığı söylenebilir.

4.1.5. Kuru Yaprak Verimi (g/bitki)

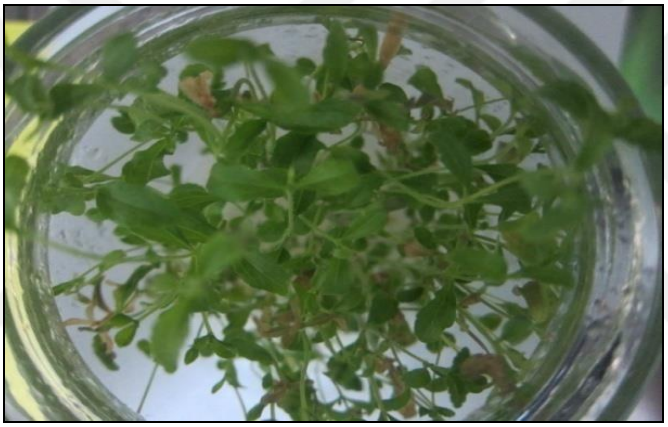
İncelenen 30 farklı sater (*Satureja hortensis*) bitkisinde kuru yaprak verimi ile ilgili ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri Çizelge (4.1.)'de, kaydedilen ham veriler Çizelge (4.2.)'de sunulmuştur. Çizelge (4.1.)'de görüldüğü gibi kuru yaprak verimleri 4.17-16.33 g/bitki arasında değişim göstermiştir. Kızıl ve Tonçer (2001) drog yaprak verimi 67.91-103.77 kg/da olduğunu bildirmişlerdir. Bitkideki yaprak sayılarına göre yaprak verimlerinde de farklılıklar saptanmıştır.

4.2. Laboratuvar Çalışmaları

Satureja hortensis bitkisinin tohumları MS besin ortamında çimlenmeye bırakılmıştır. İlk çimlenme ekimden 10 gün sonra görülmeye başlanmış, çimlenmeye bırakılan tohumlarda çimlenme oranı ile ilgili gözlemler Çizelge (4.3.)'de sunulmuştur.

Çizelge 4.3. *Satureja hortensis* Tohumlarının MS Besin Ortamında Çimlenme Oranları (%)

	Yüzde (%)
1. Petri	40
2. Petri	20
3. Petri	60
4. Petri	40
5. Petri	50
6. Petri	50
7. Petri	40
8. Petri	10
9. Petri	30
10.Petri	40



Şekil 4.1. *Satureja hortensis* bitkisinin tohumlarının laboratuar ortamında petri kapları içerisinde çimlendirilmesi

Çizelge (4.3.)'de görüldüğü gibi çimlenmeye bırakılan tohumlarda çimlenme oranı, %10-60 arasında gerçekleşmiştir. Çimlenen tohumlardan daha sonra kullanılmak üzere hipokotil ve kotiledon kısımlarından eksplantlar alınmıştır.

Satureja hortensis bitkisinin *in vitro* koşullarda çoğaltma olanaklarının incelendiği çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki hormanların farklı eksplant tipinde kallus oluşumu, sürgün oluşumu ve köklendirilmesine yönelik Varyans Analizi sonuçları Çizelge (4.4.) ve (4.5.)'de verilmiştir. Kültüre alınan bitkilerin tamamında kallus oluşum oranı %100 olarak bulunduğu için varyans analizine tabi tutulmamıştır.

Sürgün oluşum oranı (%) bakımından eksplant, hormon oranı, hormon tipi x hormon oranı ve hormon tipi x eksplant x hormon oranı interaksiyonlarının istatistiksel olarak eksplant hariç p≤0.05 düzeyinde önemli olduğu görülmüştür.

Çizelge 4. 4. *Satureja hortensis* Bitkisinde Farklı Eksplant, Farklı Hormon Tipi ve Oranlarından Elde Edilen Sürgün Oluşum Oranının (%) Varyans Analiz Sonuçları

Varyans Kaynakları	**SD**	**Sürgün oluşum oranı (%)**	
		KO	**F**
Hormon tipi	1	50.000	0.159
Eksplant	1	5168.056	16.483**
Hormon oranı	5	586.389	1.870*
Hormon tipi × Eksplant	1	50.000	0.159
Hormon tipi x Hormon oranı	5	293.333	0.936*
Eksplant x Hormon oranı	5	219.722	0.701
Hormon tipi x Eksplant x Hormon oranı	5	293.333	0.936*
Hata	48	313.542	
Genel Toplam	71		

* p<0.05, ** p<0.01

Köklendirme oranı bakımından hormon tipi, eksplant, hormon oranı, hormon tipi x eksplant, hormon tipi x hormon oranı ve hormon tipi x eksplant x hormon oranı istatistiksel olarak olarak p≤0.05 düzeyinde önemli bulunurken, eksplant x hormon oranı önemsiz olmuştur.

Çizelge 4. 5. *Satureja hortensis* Bitkisinde Farklı Eksplant, Farklı Hormon Tipi ve Oranlarından Elde Edilen Köklendirme Oranının (%) Varyans Analiz Sonuçları

Varyans Kaynakları	**SD**	**Köklendirilme Oranı (%)**	
		KO	**F**
Hormon tipi	1	2403.556	3.833*
Eksplant	1	1042.722	1.663*
Hormon oranı	5	1549.389	2.471*
Hormon tipi × Eksplant	1	2990.222	4.768*
Hormon tipi x Hormon oranı	5	2008.889	3.203*
Eksplant x Hormon oranı	5	196.056	0.313
Hormon tipi x Eksplant x Hormon oranı	5	258.222	0.412*
Hata	48	627.097	
Genel Toplam	71		

* p<0.05, ** p<0.01

Araştırmada KİN ve BAP içeren ortamlarda kallus oluşum oranının hem hipokotil hemde kotiledon kısımlarında %100 oluştuğu belirlenmiş, diğer bir deyişle rejenerasyona konulan tüm kotiledon ve hipokotiller kallus oluşturmuştur.

Navroski ve ark. (2012), *Satureja hortensis* türünün internodal dal ve segmentlerinde ve apikal sürgünlerinde farklı büyüme düzenleyicilerin NAA (0 ve 1 µM) ve BAP (0, 5, 10, 15 ve 20 µM) içeren MS ortamındaki kültürlerin kallus oluşumuna etkisini inceledikleri çalışmada, artan BAP konsantrasyonlarında kırılgan kallus oluşturma yüzdesinin azaldığını, kompakt kalluslarda ise artan BAP konsantrasyonlarının yüzdeyi arttırdığını bildirmişlerdir. Sahraroo ve ark. (2012), *Satureja khuzistanica* türü için taze sürgün eksplantlarını IBA'nın farklı konsantrasyonlarını içeren MS ve B5 ortamlarında denemişlerdir. 1.0 mg/L IBA+5.0mg/L BAP içeren B5 ortamının 2.0 mg/L IBA+2.0 mg/L BAP içeren MS

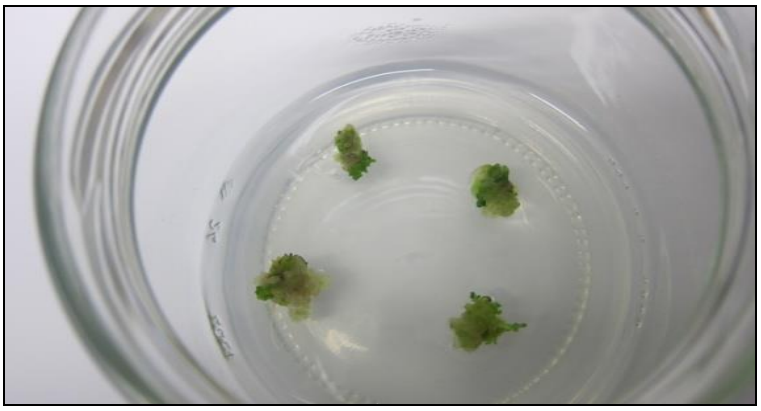
ortamına göre kallus oluşumunda 4 kat daha etkili olduğunu saptamışlardır (% 96 en yüksek indüksiyon oranı). Karimi ve ark. (2014), yaptıkları çalışmada *Satureja hortensis*'de en yüksek kallus oluşum sıklığı yüzdesinin (% 96.67) 1 mg/L 2,4-D ile 2 mg/L KİN destekli MS ortamında hipokotil eksplantlarından elde ettiklerini bildirmişler. Araştırmacılar, *S. Hortensis* türünün hipokotil segmentlerinden elde edilen kallusların, yeni bitkicik oluşturma sıklığının yaprak segmentlerinden türetilenden daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Razavi ve ark. (2017), *Lallementia iberica* bitkisinde uçucu bileşenlerin tanımlanması ve bitki kallus kültürünün indüksiyonu için, *Lallementa ibarica*'nın kotiledon kısımları BAP ve 2,4-D'nin farklı kombinasyonları ile hazırlanmış MS ortamına transfer edildiğinde, maximum kallus üretimi (3,5g) 1.5mg/L BAP ve 2,4-D 4 mg/L ile hazırlanmış MS ortamında elde etmişler.

Çizelge 4.6. Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda KİN ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Sürgün Oluşum Oranı (%)

Ortam	**Sürgün Oluşum Oranı (%)**	
KİN+IBA (mg/L)	**Hipokotil**	**Kotiledon**
0.75+0.2	83.33b	75.00d
1.5+0.2	91.66a	100.00a
2.25+0.2	91.66a	83.33c
3+0.2	91.66a	83.33c
3.75+.02	75.00c	91.66b
4.5+0.2	91.66a	91.66b
Ortalama	87.50	87.50

*Farklı hormon uygulamaları arasında oluşan farklılıklar istatistiksel olarak LSD 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur

Sürgün oluşum oranı (%) hipokotil kısmında en düşük % 75 ile 3.75 mg/L KİN içeren ortamda gözlenirken, en yüksek ise %91.66 ile 1.5 mg/L KİN, 2.25 mg/L KİN, 3 mg/L KİN ve 4.5 mg/L KİN'de sürgün oluşumu görülmüştür. Kotiledon kısmında ise en düşük %75 ile 0.75 mg/L KİN'de gözlenirken, en yüksek ise %100 ile 1.5 mg/L KİN'de sürgün oluşumu gözlenmiştir.



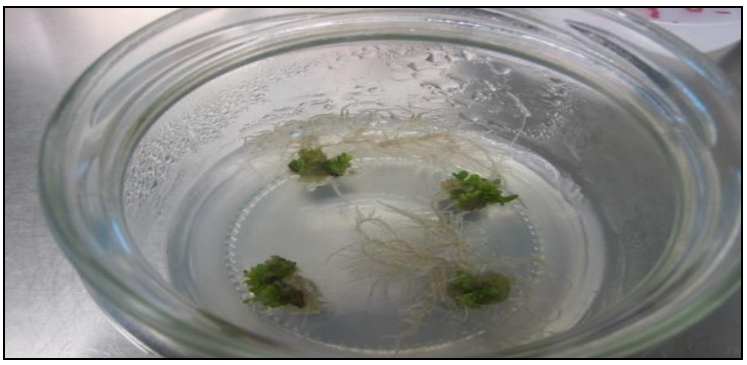
Şekil 4. 2. *İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA + 1.5mg/L KİN içeren MS besin ortamında kotiledon eksplantının sürgün oluşum görüntüsü

Çizelge 4.7. Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda KİN ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Köklendirme Oranı (%)

Ortam	**Köklendirme Oranı (%)**	
KİN+IBA (mg/L)	**Hipokotil**	**Kotiledon**
0.75+0.2	75.33b	100.00a
1.5+0.2	58.33d	83.33b
2.25+0.2	83.33a	58.33d
3+0.2	75.00c	50.00e
3.75+0.2	41.66e	75.00c
4.5+0.2	83.33a	58.33d
Ortalama	69.49	70.83

*Farklı hormon uygulamaları arasında oluşan farklılıklar istatistiksel olarak LSD 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur

Köklendirme oranına (%) bakıldığında hipokotil kısmında en düşük köklenme %41.66 ile 3.75 mg/L KİN ortamında, en yüksek ise %83.33 ile 2.25 mg/L KİN ve 4.5 mg/L KİN'de olduğu görülmüştür. Kotiledon kısmında ise en düşük %50 ile 3 mg/L KİN, en yüksek ise %100 ile 0.75 mg/L KİN'de köklenme olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4. 3. *İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA+0.75 mg/L KİN içeren MS besin ortamında kotiledon eksplantının köklendirme görüntüsü

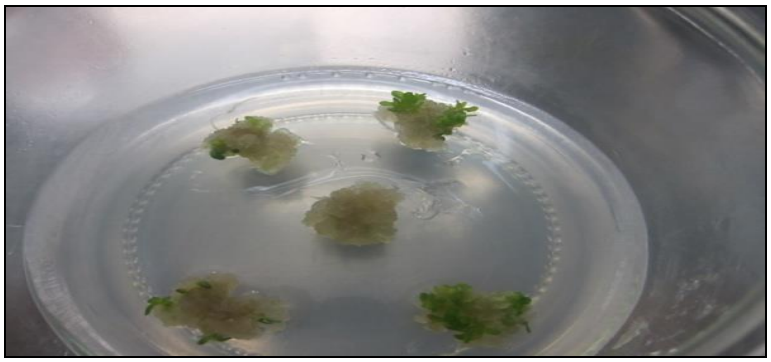
Calvo ve Segura (1988), yaptıkları çalışmada *L. latifolia* ve *L. stoechas* türlerinde IAA, NAA ya da 2,4-D ile BAP ya da KİN içeren ortamlarda en yüksek kallus ve sürgün oluşumu gözlemlemişlerdir. Arrebola ve ark. (1997), *Satureja obovata* türünde en iyi sürgün oranının 2.22 µM N^6-benzyladenine içeren in vivo ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir. Areej (2007), yaptığı çalışmada *L. angustifolia*'nın boğum arası eksplantının 0.05 mg/L NAA ve 1.5 mg/L KİN içeren MS besin ortamında en yüksek sürgün oluştuğunu bildirmiştir. Türközü ve ark. (2014), Tarhun bitkisinde *in vitro* koşullarda doku kültürü yolu ile yapılan çalışmalarında en iyi köklenmenin 0.5 mg/L IBA konulan MS ve yarım MS ortamlarından elde edildiğini bildirmişlerdir. Teshome ve Soromessa (2015), *Satureja abyssinica* 'da farklı sürgün uçları kullanılarak BAP ve KİN'in çeşitli konsantrasyonlarını içeren MS ortamında kültüre aldıklarında maksimum sürgün sayısının (20.53) 1.25 mg/L KİN ile takviye edilmiş MS ortamından elde edildiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.8. Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda BAP ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Sürgün Oluşum Oranı (%)

Ortam	**Sürgün Oluşum Oranı (%)**	
BAP+IBA(mg/L)	**Hipokotil**	**Kotiledon**
0.75+0.2	46.66e	60.00cd
1.5+0.2	53.33d	80.00a
2.25+0.2	66.66c	80.00a
3+0.2	86.66a	73.33b
3.75+0.2	73.33b	66.66c
4.5+0.2	86.66a	73.33b
Ortalama	68.88	72.22

*Farklı hormon uygulamaları arasında oluşan farklılıklar istatistiksel olarak LSD 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur

Sürgün oluşum oranı (%) hipokotil kısmında en düşük %46.66 ile 0.75 mg/L BAP içeren ortamda oluştuğu, en yüksek ise %86.66 ile 3 mg/L BAP ve 4.5 mg/L BAP içeren ortamlardan elde edilmiştir. Sürgün oluşum oranı, kotiledon kısmında ise en düşük %60 ile 0.75 mg/L BAP içeren ortamda, en yüksek ise %80 ile 1.5 mg/l BAP ve 2.25 mg/l BAP'da sürgün oluşumu gözlenmiştir.



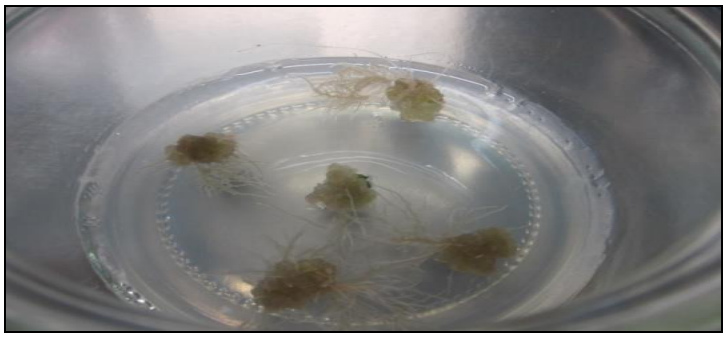
Şekil 4.4. *İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA+4.5 mg/L BAP içeren MS besin ortamında hipokotil eksplantının sürgün oluşum görüntüsü

Çizelge 4.9. Hipokotil ve Kotiledon Eksplantlarında Farklı Konsantrasyonda BAP ve IBA (0.2 mg/L) İçeren MS Besin Ortamlarında Köklendirme Oranı (%)

Ortam	**Köklendirme Oranı (%)**	
BAP+IBA (mg/L)	**Hipokotil**	**Kotiledon**
0.75+0.2	100.00a	100.00a
1.5+0.2	93.33b	66.66c
2.25+0.2	100.00a	53.33d
3+0.2	86.66c	26.66e
3.75+0.2	73.33d	80.00b
4.5+0.2	86.66c	66.66c
Ortalama	90	65.55

*Farklı hormon uygulamaları arasında oluşan farklılıklar istatistiksel olarak LSD 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur

Köklendirme oranına (%) bakıldığında hipokotil kısmında en düşük %73.33 ile 3.75 mg/L BAP ortamında, en yüksek ise %100 ile 0.75 mg/L BAP ve 2.25 mg/L BAP'da köklenme görülmüştür. Kotiledon kısmında ise en düşük %26.66 ile 3 mg/L BAP içeren ortamda, en yüksek ise %100 ile 0.75 mg/L BAP'da köklenme gözlenmiştir.



Şekil 4. 5. *İn vitro* koşullarda *Satureja hortensis* bitkisinin 0.2 mg/L IBA+ 0.75 mg/L BAP içeren MS besin ortamında hipokotil eksplantının köklendirme görüntüsü

Chishti ve ark. (2006), *Lavandula officinalis* bitkisinde en iyi adventif sürgün oluşumu (%80), 2 mg/L BAP içeren MS ortamında olduğunu bildirmişlerdir. Ramak ve ark. (2011), *Satureja khuzistanica*'da sürgün proliferasyonu için nod eksplantlarını BAP (2 ve 5 mu M) ve IBA'nın kombinasyonu ile KİN ve BAP'ın farklı konsantrasyonları ile birleştirilmiş LS ortamında kültüre aldıklarında en yüksek sıklıkta sürgün oluşumunun (%77) IBA ile BAP konsantrasyonundan elde edildiğini bildirmişlerdir. Karimi ve ark. (2014), *S.avromanica*'nın hipokotil segmentlerinin 1 mg/L BA ve 1 mg/L IBA destekli MS ortamında sürgün rejenerasyonunun (% 87.30) gibi bir oranla bitkicik rejenerasyonunda daha etkili bulunduğunu bildirmişlerdir. Teshome ve ark. (2017), *Satureja abyssinica* Briq.'da organogenesis protokolu ile BAP, KİN, NAA, IBA ve IAA'nın farklı konsantrasyonlarını içeren MS ortamlarını kullandıkları çalışmalarında, maximum sürgün ortalaması (3.30+0.47) ve sürgün uzunluğunun (2.35+0.28) 1 mg/L BAP içeren ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir. Yıldırım (2017), *Stevia rebaudiana Bertoni* bitkisinde vejetatif üretimi sağlayacak doku kültürü ile fide üretim yolları araştırmasında yapraktan kallus indüksiyonu ve gelişiminin en iyi NAA (10.0 mg/L) ve BAP (8.0 mg/L) kombinasyonunda, maksimum sürgün ve kök gelişiminin ise sırasıyla BAP (2.0mg/L) ve IBA (2.0 mg/L) bulunan hormonal ortamlarda meydana geldiğini göstermiştir.

Kekik (*Satureja hortensis L.)* bitkisinde çiçeklenme döneminde oluşan uçucu yağ bileşenlerinin yüzdeleri Çizelge (4.9.) 'de gösterilmiştir. Yapılan çalışmada 21 bileşen elde edilmiştir. Bu bileşenler içerisinde ana bileşenler olarak karvakrol, γ-terpinen, Delta-2-carene, p-simen, Acetylthymol ve Myrcene tespit edilmiştir. Diyarbakır koşullarında 2016 yetiştirme sezonunda yürütülen araştırmada Kekik (*Satureja hortensis* L.)'te karvakrol oranı % 47.68, γ–terpinen oranı % 34.43, p-simen oranı % 5.32, Delta-2-carene oranı % 4.05, Acetylthymol oranı % 3.27 ve Myrcene oranı % 1.70 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.10. Çiçeklenme Döneminde *Satureja hortensis* Bitkisinde Bileşenlerde Gözlenen Kimyasal Kompozisyon (%)

No.	Bileşenler	RI*	RT	Çiçeklenme Sırası
1	Myrcene	1217	12.37	1.70±0.07
2	α-phellandrene	1243	12.63	0.24±0.01
3	Delta-2-carene	1262	12.82	4.05±0.23
4	γ-Terpinene	1319	13.43	34.43±0.79
5	*p*- Cymene	1399	14.38	5.32±0.27
6	1-Octene-3-Ol	1561	16.28	0.14±0.02
7	*Cis*-Sabinene Hydrate	1655	17.39	0.11±0.02
8	Linalool	1682	17.72	0.01±0.01
9	Allo-Aromadendrene	1714	18.09	0.06±0.005
10	E- Caryophyllene	1770	18.72	0.44±0.01
11	Terpinen-4-ol	1833	19.42	0.32±0.01
12	Methyl chavicol	1919	20.37	0.14±0.19
13	α-Terpinolene	1942	20.54	0.12±0.03
14	Borneol	1992	20.99	0.13±0.01
15	Citral	2163	22.47	0.02±0.00
16	Carvone	2175	22.57	0.03±0.03
17	Acetylthymol	2297	23.57	3.27±0.05
18	Thymol	2545	25.63	0.22±0.07
19	Spathulenol	2562	25.80	0.36±0.06
20	Carvacrol	2622	26.30	47.68±1.64
21	Carvacrol acetate	3020	30.85	0.06±0.01
Toplam (%)				98.85
Esansiyel Yağ Verimi (%)				1.53

Aromatik ve tıbbi bitkilerde uçucu yağ oranı ve uçucu yağ bileşiminde görülen değişiklikler birçok faktörden etkilenmektedir. Uçucu yağların kemotaksonomik çalışmalarda kullanıldığı düşünüldüğünde verim kadar bileşenlerin kompozisyonuda önemli olmaktadır. İklimsel şartlar, lokasyon, genetik farklılıklar, farklı bitki organları, yetiştirme şartları, farklı gelişme dönemi ve hasat zamanları gibi bir dizi faktör uçucu yağ üzerinde büyük varyasyonlara neden olmaktadır. Nitekim, *Satureja* hortensis'de uçucu yağ bileşenleri ile ilişkili yapılan çalışmalarda; Baytop ve ark. (1984) ana bileşen olarak karvakrolün % 20-30 arasında değiştiğini, Ghannadi (2002), İran'da yetiştirdiği *Satureja hortensis* uçucu yağının bileşiminde yağın ana bileşenlerini karvakrol (59.7%), γ-terpinene (12.8%) ve p-cymene (9.3%) olduğunu bildirmiştir. Adıgüzel ve ark. (2007), tarafından yapılan çalışmada Artvin –Yusufeli'nden elde ettikleri numuneleri incelediğinde uçucu yağdaki temel bileşenlerin timol ve γ-terpinen olduğunu bildirmişlerdir. Yine Novak ve ark. (2006), yaptıkları çalışmada Suriye-Halep'ten hasat ettikleri numuneleri incelediklerinde uçucu yağdaki ana bileşenlerin karvakrol ve γ-terpinen olduğunu bildirmişler. Katar ve ark. (2011), yaptığı çalışmada % 40–60

çiçeklenme döneminde yapılan hasatta en yüksek karvakrol oranının (% 59.94) olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Aşcı'da (2009) en uygun toplanma zamanının çiçeklenme başlangıcı olduğunu ve uçucu yağın ana bileşenlerinin ise karvakrol, γ-terpinen ve p-simen olduğunu bildirmektedir. Özcan ve Chalcat (2004), *S. hortensis*'in uçucu yağında ana bileşikler olarak sırasıyla α-terpinen (%2.34-2.66), p-cymen (%21.82-14.64), ɣ-terpinen (%18,92-23,09) ve β-karyofilin (%3,75-4,56) olarak belirlemişlerdir. Benzer şekilde Hadian ve ark. (2010) ve Mohammad hosseini ve Beiranvand (2013) da bu türde ana bileşenleri, carvacrol, *γ*-terpinene, *p*-cymene ve α-terpinene olarak bildirmişlerdir.

Sonuçlarımız araştırıcıların sonuçları ile birçok noktada benzerlik gösterirken, uçucu yağın içerdiği ana bileşenler ve oranları açısından bir takım farklılıklarda sergilemektedir. Bu farklılıkların büyük oranda çalışılan materyalin genetik farklılığından yetişme/yetiştirme koşullarının değişkenliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı tür örneklerin bileşenleri arasındaki farklılıklar vejetasyon süresine, denizden yüksekliğe, toprak ve iklime ya da bitkinin orjininden kaynaklanan genetik yapısında aranmalıdır.

Çizelge 4.11. Çiçeklenme Döneminde *Satureja hortensis* Bitkisi Uçucu Yağına Ait FID Sonuçları (%).

No,	Bileşenler	RI*	RT	% Bileşen
				Çiçeklenme Sırası
1	Myrcene	1216	12.37	2.12±0.07
2	Delta-2-carene	1316	12.82	4.26±0.20
3	γ-Terpinene	1350	13.43	42.48±1.09
4	*p*- Cymene	1365	14.38	5.02±0.24
5	Acetylthymol	2114	23.57	2.14±0.01
6	Carvacrol	2561	26.30	42.09±1.64
Toplam (%)				99.11
Uçucu Yağ Verimi(%)				1.53

Çizelge (4.10.)'de *Satureja hortensis* uçucu yağının ana bileşenleri GC-FID detektörüne göre hesaplanan şekliyle verilmiştir. Bileşenlerin tanımlanmasında toplam yağın %99.11'ini yansıtan 6 ana bileşen belirlenmiştir. Karvakrol ve γ-Terpinene (%42.09) ve (%42.48) ile ana bileşenler olarak tespit edilirken, yağın içerisinde *p*-Cymene, Delta-2-carene, Acetylthymol ve Myrcene diğer baskın bileşenler olarak sırasıyla (%5.02), (%4.26), (% 2.14) ve (%2.12) oranında saptanmıştır.

Baher ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada içerdiği uçucu yağın ana bileşenlerinden karvakrolün (% 40.3-44.5) oranında, γ-terpinen oranının ise (% 37.8-40.9) olduğunu bildirmiştir. Sefidkon ve ark. (2006), tam çiçeklenme döneminde *Satureja hortensis* bitkisinde uçucu yağdaki temel bileşenlerin (% 46-48.1) karvakrol ve (% 37.7-39.4) γ-terpinen olarak belirlemişlerdir. Benzer şekilde Dinç (2014) sater uçucu yağının ana bileşenin (% 39.90–62.36) oranında değişkenlik gösteren kavrakrol olduğunu, karvakrolü (% 17.14-25.71) oranıyla γ-terpinenin izlediğini bildirmiştir. Sonuçlarımız gerek ana bileşenlerin karvakrol ve γ-terpinen olduğunu gerekse uçucu yağda bulunma yüzdeleri bakımından araştırıcıların sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Sater kekik türünden elde edilen uçucu yağdaki karvakrolun antibakteriyel ve güçlü bir ağrı kesici etkiye sahip olduğu, γ-terpinenin ise antioksidan etkisi olduğu bilimsel olarak ispatlanmıştır (Koparal ve Zeytinoğlu 2003; Giweli ve ark. 2012).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Tek yıllık bir kekik türü olan *Satureja hortensis* bitkisinin *in vitro* mikroçoğaltımı ve tarla koşullarında yetiştirilen bitkilerin kimyasal kompozisyonunun belirlenmesinin amaçlandığı bu tezde elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

- *Satureja hortensis* bitkisinin tohumları uygun BBD ile hazırlanmış MS ortamında çimlenmeye bırakılmış ve çimlenme oranı % 10-60 arasında gerçekleşmiştir.

- Çimlenmiş tohumların hipokotil ve kotiledon kısımları eksplant olarak kullanılmış ve eksplantların tamamında (%100) kallus oluşumu gözlenmiştir.

- Kallus dokusundan çok sayıda sürgün uçları elde edilmiştir.

- Sürgün oluşum oranı; en yüksek kotiledon kısmında %100 ile 1.5 mg/L KİN+0.2 mg/L IBA ortamında oluştuğu, en düşük ise hipokotil kısmında % 46.66 ile 0.75 mg/L BAP+0.2 mg/L IBA içeren ortamda oluştuğu görülmüştür.

- Köklendirme oranı; en yüksek kotiledon kısmında %100 ile 0.75 mg/L KİN+0.2 mg/L IBA ortamında ve hipokotil kısmında ise %100 ile 0.75 mg/L BAP+0.2 mg/L IBA ve 2.25mg/L BAP+0.2 mg/L IBA'da köklenme oluştuğu, en düşük ise kotiledon kısmında %26.66 ile 3 mg/L BAP+0.2 mg/L IBA içeren ortamda oluştuğu tespit edilmiştir.

- Üretilen sürgünler 20 g/L şeker içeren MS ve 0.5 mg/L GA_3 ortamına aktarılarak hızlı gelişim teşvik edilmiştir, sürgünlerde gelişim gözlenmiş olup sarı renkten yeşil renge dönüşüm izlenmiştir.

- *Satureja hortensis* L. bitkisinin tarla koşullarında bitki boyu 31.00-48.00 cm, dal sayısının 7-26 adet, taze herba veriminin 21.12-77.15 g/bitki, kuru herba veriminin 6.85-25.66 g/bitki ve kuru yaprak veriminin 4.17-16.33 g/bitki olduğu gözlenmiştir.

- *Satureja hortensis* L. bitkisinin çiçeklenme döneminde uçucu yağında yapılan araştırmada, 21 bileşen tespit edilmiş ve bunlar içerisinde ana bileşenler karvakrol (%47.68), γ–terpinen (%34.43), p-simen (%5.32), Delta-2-carene (%4.05), Acetylthymol (%3.27) ve Myrcene (%1.70) saptanmıştır.

İn vitro mikroçoğaltım yöntemi ile hastalık ve zararlılardan arındırılmış saf materyal elde edilmesinde, çoklu üretimlerde aynı fenotip ve genotip özellikte bitkiler elde edilmesinde ve bu yöntemle tüketicinin istediği özellikteki türleri karşılayabileceği

gibi daha kısa sürede yapılabilmesine olanak sağlanacağı düşünülmektedir. Ayrıca *in vitro* mikroçoğaltım yöntemi ile köklendirme yapıldıktan sonra akklimatizasyon tekniği kullanılarak bitki gelişimi için yeni protokollerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

6. KAYNAKLAR

Adıgüzel, A., Özer, H., Kılıç, H., Çetin, B. 2007. Screening of antimicrobial activity of essential oil and methanol extract of Satureja hortensis on foodborne bacteria and fungi. ***Czech J.Food Science***, 25: 81-89.

Alizadeh, A., Khoshkhui,M., Javidnia, K., Firuzi, O., Tafazoli E., Khalighi A. 2010. Effects of fertilizer on yield, essential oil composition, total phenolic content and antioxidant activity in *Satureja hortensis* L.(Lamiaceae) cultivated in Iran. ***Journal of Medicinal Plants Research***, Vol.4 (1), pp 33-40

Anonim, 2017. http://www.tubives.com/index.php?sayfa=1&tax_id=7901, Erisim Tarihi: 02.12.2017

Areej A., Al-Bakhit, M., Sawwan, J.S., Al-Mahmoud, M.S., 2007. In vitro propagation of two lavandula species: Lavandula angustifolia and Lavandula latifolia L. Medica. ***Jordan Journal of Agricultural Sciences***, 3 (1): 16-25.

Arrebola, M.L., Socorro, O., Barcelo-Munoz, A., Simon-Perez, E., Pliego-Alfaro, F. 1997. Micropropagation of *Satureje obovata* Lag., ***Hortscience***, 32 (7): 1278-1280.

Aşcı, M. 2009. Çukurova koşullarında *Satureja hortensis* L.'nin çiçeklenme döneminde tarımsal karakterler ve uçucu yağ oranındaki değişimlerin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Adana. 69.

Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A. 2001. Doku kültürü: temel laboratuvar teknikleri (Editörler Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S.). Bitki Biyoteknolojisi Cilt 1 Doku Kültürü Uygulamaları, S.Ü. Vakfı Yayınları, s 1-35, Konya.

Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, E. 2002. Bitki Biyoteknolojisi I: Doku Kültürü ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, s 374, Konya.

Baher, Z.F., Mirza, M., Ghorbanli, M., Rezaıı, M.B. 2002. The influence of water stres on plant height, herbal and essential oil yield and composition in *Satureja hortensis*. ***Flavour and Fragrance Journal***, 17: 275- 277.

Baydar, H. 2005. Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilim ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın No: 51. Isparta.

Baytop, T. 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları No: 3255, s. 221.

Baytop, T. 1999. Türkiye'de Bitkilerle Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri ISBN: 975-420-021-1 S: 332.

Calvo, M.C and Segura, J. 1988. In vitro morphogenesis from explants of *Lavandula latifolia* and *Lavandula stoechas* seedlings. ***Sci Hortic***, 36: 131-137.

Chishti, N., Kaloo, Z.A., Shawl, A.S., Phalisteen, S. 2006. Rapid *in vitro* clonal propagation of *Lavandula officinalis* chaix a multipurpose plant of indutrial importance. ***Pakistan Journal of Biological Science***, 9: 514-518.

Chizzola, R. 2003. Volatile oil composition of four populations of *Satureja montana* L. from Southern France. Proc. IS on Sust. Use of Plant Biodiv. ***Acta Hort***, 598.

Çetin, E.S., Uzunlar, F., Göktürk Baydar, N., 2011. Uv-C uygulamasının Gamay Üzüm çeşidine ait kalluslarda sekonder metabolit üretimi üzerine etkileri, ***Gıda***, 36 (6): 319-326.

Daneshvar-Royandezagh, S., Khawar, K. M., Ozcan, S. 2009. In Vitro micropropagation of garden Thyme (*Thymbra spicata* L. var. *spicata* L.) collected from South Eastern Turkey using cotyledon node. ***Biotechnology & Biotechnological Equipment***, 23:3, 1319-1321.

Dinç, E. 2014. Sater (*Satureja hortensis* L.) bitkisinde inorganik ve organik gübre uygulamalarının verim ve bazı kalite unsurlarına etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Namık kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, s 53, Tekirdağ.

Erkoyuncu, M. T., Yorgancılar, M. 2015. Bitki doku kültürü yöntemleri ile sekonder metabolitlerin üretimi. ***Selçuk Tarım Bilgileri Dergisi***, 2 (1): 66-76.

Ghannadi, A. 2002. Composition of the Essential Oil of *Satureja hortensis* L. Seeds from Iran. ***J. Essent. Oil Res***., 14, 35-36.

Giweli, A., Džamić, A.M., Soković, M., Ristić, M.S., Marin, P.D. 2012. Antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Satureja thymbra* growing wild in Libya, ***Molecules***, 17: 4836-4850.

Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. 2012. Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını. İstanbul.

Güven, A., Gürsul, I. 2014. Bitki doku kültürlerinde sekonder metabolit sentezi, ***Gıda***, 39 (5): 299-306.

Hadian, J., Ebrahimi, S.N., Salehi, P. 2010. Variability of morphological and phytochemical characteristics among *Satureja hortensis* L. accessions of Iran, ***Industrial Crops and Products***, 32: 62-69.

Ionescu, I., Lıvadarıu, O., Babeanu, N., Popa, O. 2011. Preliminary investigation of experimental research on Savory (*Satureja hortensis* L.) *in vitro* modeling possibility using the Calogenesis technique. ***Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies***, 68: 1-2.

Kara, N. 2011. Uçucu Yağ Üretimine Uygun Lavanta (*Lavandula* Sp.) Çeşitlerinin belirlenmesi ve mikroçoğaltım olanaklarının araştırılması. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Isparta, 178.

Karimi, N., Ghasmpour, H.R., Yari, M. 2014. Effect of different growth regulators on callus induction and plant regeneration of *Satureja* species, ***Annual Research & Review in Biology***, 4 (16): 2646-2654.

Katar, D., Arslan, Y., Subaşı, İ., Bülbül, A. 2011. Ankara ekolojik koşullarında Sater *(Satureja hortensis* L*)* bitkisinde uçucu yağ ve bileşenlerinin ontogenetik varyabilitesinin belirlenmesi. ***Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi***, 8 (2): 29-36.

Kızıl, S., Tonçer, Ö. 2001. Farklı bitki sıklıklarının Kekik (*Satureja hortensis* L.)'te bazı tarımsal ve kalite karakterleri üzerine etkisi. Türkiye 4. Tarla Bitkileri Kongresi, 17-21 Eylül 2001, Tekirdağ. Cilt I. S, 239-242.

Kızıl, S., Türk, M., Özgüven, M., Khawar, K.M. 2009. Full blooming stage is suitable for herbage yield and essantial oil content of Summer Savory (*Satureja hortensis* L.). ***Journal of Essential Oil Bearing Plants***, 12 (5): 620-629.

Koparal, A.T., Zeytinoğlu, M. 2003. Effect of Carvakrol on a human Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Cell Line, A549. ***Cytotechnology***, 43: 149-154.

Mohammadhosseini, M., Beiranvand, M. 2013. Chemical composition of the essential oil from the aerial parts of *Satureja hortensis* as a potent medical plant psing traditional hydrodistillation. ***Journal of Chemical Health Risks***, 3 (4): 43-54.

Mozafari, A.A., Vafaee, Y., Karami, E. 2015. In vitro propagation and conservation of *Satureja avromanica* Maroofi—an indigenous threatened medicinal plant of Iran. ***Physiology and Molecular Biology of Plants***, 21 (3): pp 433–439.

Navroski, M.C., Waldow, D.A.G., Pereira, M.O., Pereira, A.O. 2012. Callus formation *in vitro* and internodal stem apices in Savory. ***Revista Agro@mbiente*** (On-line), 6 (3): 228-234.

Novak, J., Bahoo, L., Mitteregger, U., Franz, C., 2006. Composition of individual essential oil glands of savory (*Satureja hortensis* L., Lamiaceae) from Syria. ***Flavour and Fragrance Journal,*** 21: 731–734.

Omidbaigi, R. and Hejazi, M. 2004. Essential oil content and composition of *Satureja hortensis* of two different origins. ***Journal of Essential Oil Bearing Plants***, 7 (2): pp 175-178.

Oskay, D., Oskay, M. 2009. Bitki sekonder metabolitlerinin biyoteknolojik önemi, ***e-Journal of New World Sciences Academy***, 4: 2.

Özcan, M., Chalcat, J.C. 2004. Effect of collection time on essential oil composition of *Satureja hortensis* used as thyme in Turkey. ***Journal of Essential Oil Bearing Plants***, 7 (2): 146-150.

Papadatou, M., Argyopoulou, C., Grigoriadou, C., Skaltsa, H. 2015. Essential oil content of cultivated *Satureja* spp. Northern Greece. ***Nat. Volatiles& Essent. Oils***, 2 (1): 37-48.

Pistelli, L., Noccioli, C., D'Angiolillo, F., Pistelli, L. 2013. Composition of volatile in micropropagated and field grown aromatic plants from Tuscany Islands, ***Acta Biochim Pol.***, 60 (1): 43–50.

Ramak, P., Sharifi, M., Osaloo, S.K., Ebrahimzadeh, H., Behmanesh, M. 2011. Studies on seed germination and *in vitro* shoot multiplication of *Satureja khuzistanica* Jamzad, an important medicinal plant, ***African Journal of Biotechnology***, 10 (83): 19407-19414.

Razavi, S.M., Arshneshin, H. and Ghasemian, A. 2017. *In vitro* callus induction and isollation of volatile compounds in callus culture of *Lallementia iberica* (M. Bieb.) Fisch.& C.A. Mey., ***Journal of Plant Process and Function***, 5: 18.

Rout, G.R., Samantary,S., Das, P. 2000. İnvitro manipulation and propagation of medicinal plants. ***Biotechnology Advances***, 18, 91-120.

Sadıkoğlu, N. 2005. Kekik olarak kullanılan türler üzerinde farmasötik botanik araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul Ü. Eczacılık Fakültesi, İstanbul,113.

Sahraroo, A., Babalar, M., Mirjalili, M.H., Moghaddam, M.R.F., Ebrahimi, S.N. 2014. *In-vitro* callus induction and Rosmarinic Acid quantification in callus culture of *Satureja khuzistanica* Jamzad (Lamiaceae). ***Iranian Journal of Pharmaceutical Research***, 13 (4): 1447-1456.

Sarı, A.O.,Altunkaya M. 2015. Doğadan tarlaya kekik. ***Türkiye Tohumcular Birliği Dergisi***, 15: 22-27.

Satıl, F., Dirmenci, T., Tümen, G. 2002. Türkiye'deki *Satureja* L. türlerinin ticareti ve doğadaki durumu. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002, Eskişehir, s: 94-100.

Sefidkon, F., Abbasi, K., Khaniki, G.B. 2006. Influence of drying and extraction methods on yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. ***Food Chemistry***, 99: 19-23.

Snedecor, G.W., Covhran, W.G. 1967. Statistical methods. The Iowa State Univ. Press, Iowa, USA, 327-329.

Tanker, N., İliulu, F. 1981. Türkiye'de Kekik olarak kullanılan bitkilerden *Thymus capitatus* L.Hoffm. et Link. ***J. Fac. Pharm***., 11: 127.

Tansı, S., Tonçer, Ö. 1999. Diyarbakır bölgesinde doğal olarak yetişen Sater otu (*Satureja hortensis*) 'nun morfolojik, biyolojik ve tarımsal karakterleri. ***Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi***, 14 (3): 71-76.

Teshome, S., Soromessa, T. 2015. *In vitro* propagation of *Satureja Abyssinica Briq*.-A valueble medicinal plant. ***Advances in Life Science and Technology***, 34: 100-109.

Teshome, S., Soromessa, T., Feyissa, T. 2017. İnvitro propagation of a threatened medicinal plant *Satureja abyssinica* through nodal explants – Antimicrobial and antifungal herb. ***International Journal of Biosciences and Technology***, 10 (3): 20-25.

Türközü, D., Yaşar, F., Ellialtıoğlu, Ş.Ş., Yıldırım, B. 2014. Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) bitkisinin doku kültürü yoluyla çoğaltılması üzerinde çalışmalar. ***YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi***, 24 (3): 300-308.

Yıldırım, K. 2017. *Stevia rebaudiana Bertoni* bitkisinin *in vitro* üretim potansiyeli ve Tokat şartlarına adaptasyonu. ***Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi***, 34 (1): 238-251.

Yılmaztekin, M., Cabaroğlu, T., Erten, H. 2008. Biyoteknolojik yollarla aroma maddelerinin üretimi. ***Gıda***, 33 (1): 35-41

ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Diyarbakır'ın Kulp ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Diyarbakır'da tamamladım. 2009 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden mezun oldum. 2012 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım ve halen aynı bölümde eğitimime devam etmekteyim. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastaneleri eczanesinde 2012 yılından beri eczacı olarak çalışmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Muhammed Mansur ÖZGEN
ÖĞRENCİ NO	12811003
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2017-2018
YARIYIL	☒ Güz ☐ Bahar
ANABİLİM DALI	Tarla Bitkileri Bölümü
PROGRAM	Yüksek Lisans
TEZ KONUSU	Sater (*Satureja hortensis* L.) Bitkisinin İnvitro Mikroçoğaltımı Ve Etken Madde Varyabilitesi Üzerine Çalışmalar
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	55
BENZERLİK ORANI	% 18
RAPORLAMA TARİHİ	31/01/ 2018

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 55 sayfalık kısmına ilişkin, 31/01/ 2018 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 18 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

- ☐ Kabul/Onay sayfaları hariç,
- ☑ Kaynakça hariç
- ☐ Alıntılar hariç/dâhil
- ☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

(İmza)
Muhammed Mansur ÖZGEN

(İmza) 06/02/2018 Doç. Dr. Özlem TONÇER **Tez Danışmanı**	(İmza) 06/02/2018 Prof. Dr. Davut KARAASLAN **Anabilim Dalı Başkanı**