Anadolu, J. of AARI
ISSN:1300-0225 (Print)
E-ISSN: 2667-6087 (Online)
2026, 36 (1): 41-52
DOI: 10.18615/anadolu.1852107

Research Article/ Araştırma Makalesi

Aspir (Carthamus tinctorius L.) Bitkisinde Farklı Eksplantlarda Sürgün Rejenerasyonunun İncelenmesi

Ferzat TURAN[1*] ***Lifer DOĞAN[2]***

[1]Sakarya Uygulamamı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Sakarya/TÜRKİYE

[1]https://orcid.org/0000-0001-5960-6478 *[2]https://orcid.org/0009-0005-3079-2920*

**Sorumlu Yazar (Corresponding author): ferzatturan@subu.edu.tr*

Received (Geliş tarihi): 30.12.2025 *Accepted (Kabul tarihi): 30.04.2026* *Online:29.06.2026*

ÖZ: *Bu çalışma, farklı eksplant tipleri ve bitki büyüme düzenleyici kombinasyonlarının değerlendirilmesi yoluyla aspir (Carthamus tinctorius L.) için verimli ve tekrarlanabilir bir in vitro organogenez protokolü geliştirmeyi amaçlamıştır. Genetik materyal olarak Asol aspir çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. Kotiledon boğumu, kotiledon, hipokotil ve kök boğumu eksplantları; MS besi ortamında farklı BAP konsantrasyonları (1,00, 1,50, 2,00 ve 2,50 mg/L) ve sabit NAA (0,20 mg/L) kombinasyonları içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Varyans analizi sonuçları, incelenen özelliklerin %1 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermiştir. Aynı hormon kombinasyonları kullanılmasına rağmen, eksplant tiplerine bağlı olarak gelişim yanıtlarının farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Kotiledon boğumu eksplantlarında erken dönemde adventif sürgün oluşumu gözlenmiş ve eksplant başına sürgün sayısı 0,75 ile 1,70 adet arasında değişiklik göstermiştir. En fazla sürgün sayısı, 1,7 adet olarak BAP 1,50 + NAA 0,20 mg/L konsantrasyonunda elde edilmiştir. Daha sonra köklendirme ortamına aktarılan sürgünlerde başarılı kök gelişimi sağlanmıştır. Bu eksplantlarda sürgün uzunluğu 6.96–8.83 cm arasında değişmiş olup, en uzun sürgünler BAP (1,00 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) içeren ortamda elde edilmiştir. Hipokotil ve kök boğumu eksplantlarında sürgün rejenerasyonu sınırlı kalmış, buna karşın kallus oluşumu gözlenmiştir. Kallus ağırlığı 0,20–0,49 g arasında değişmiş; en yüksek kallus ağırlığı hipokotil eksplantlarında BAP (2,00 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) kombinasyonunda belirlenmiştir. Kotiledon eksplantlarında ise kök ve kallus oluşumu gerçekleşmiş, kallusların yalnızca BAP içeren ortamlara aktarılmasıyla sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. Sonuç olarak, kotiledon boğumu eksplantlarının aspirde mikroçoğaltım ve sürgün rejenerasyonu açısından en uygun eksplant kaynağı olduğu belirlenmiştir.*

Anahtar Kelimeler: *Aspir, in vitro rejenerasyon, kotiledon boğum, kök boğum, mikroçoğaltım.*

Investigation of Shoot Regeneration in Different Explants of Safflower (Carthamus tinctorius L.)

ABSTRACT: *This study aimed to develop an efficient and reproducible in vitro organogenesis protocol for safflower (Carthamus tinctorius L.) by evaluating different explant types and combinations of plant growth regulators. Seeds of the Asol safflower variety were used as genetic material. Cotyledon node, cotyledon, hypocotyl, and root node explants were cultured in MS medium containing different BAP concentrations (1.00, 1.50, 2.00, and 2.50 mg/L) and a fixed NAA (0.20 mg/L) combination. Analysis of variance results showed that the examined traits were statistically significant at the 1% level. Despite using the same hormone combinations, it was determined that growth responses differed depending on the explant type. Early adventitious shoot formation was observed in cotyledon node explants, and the number of shoots per explant varied between 0.75 and 1.70. The highest number of shoots, 1.7, was obtained at a concentration of BAP 1.50 + NAA 0.20 mg/L. Successful root development was then achieved in the shoots transferred to rooting medium. Shoot length in these explants ranged from 6.96–8.83 cm, with the longest shoots obtained in the medium containing BAP (1.00 mg/L) + NAA (0.20 mg/L). Shoot regeneration was limited in hypocotyl and root node explants, but callus formation was observed. Callus weight ranged from 0.20–0.49 g; the highest callus weight was determined in hypocotyl explants with the BAP (2.00 mg/L) + NAA (0.20 mg/L) combination. In cotyledon explants, root and callus formation occurred, and shoot regeneration was achieved by transferring the calluses only to medium containing BAP. In conclusion, cotyledon node explants were determined to be the most suitable explant source for micropropagation and shoot regeneration in safflower.*

Keywords: *Safflower, in vitro regeneration, cotyledonary node, cotyledonary root, micropropagation.*

This work is licensed under CC BY-NC-ND 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

GİRİŞ

Aspir (*Carthamus tinctorius* L.), ayçiçeği gibi Asteraceae familyasına ait, tek yıllık, yağlı tohumlu ve dünyanın en eski kültür bitkilerinden biridir. Literatürde aspir cinsine ait yaklaşık 25 türün bulunduğu bildirilmektedir (Arslan ve ark., 2010). Bu türler ağırlıklı olarak Asya ve Akdeniz havzasında yayılış göstermekte olup, kurak ve yarı kurak ekolojik koşullara uyum sağlayabilen, geniş adaptasyon kapasitesine sahip bitkilerdir. Ayrıca aspir tohumlarının yağ içeriğinin %30–50 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Babaoğlu, 2007; Köse ve ark., 2018). Aspir, yüksek oranda doymamış yağ asitleri ve kan kolesterol düzeylerini düşürücü, antioksidan özellikleriyle bilinen alfa-tokoferol bakımından zengin içeriği sayesinde insan beslenmesi açısından yüksek bir besin değerine sahiptir (Weiss, 2000; Velasco ve Fernández-Martínez, 2002). Yüksek kaliteli yağ içeriği ve geniş adaptasyon kabiliyeti ile aspir, gıda endüstrisi yanında biyodizel ve diğer yenilenebilir enerji uygulamaları için stratejik öneme sahip yağlı tohumlu bitkilerden biri olarak kabul edilmektedir. Bunun yanı sıra, aspir bitkisi geleneksel kullanım alanlarına ek olarak, günümüzde gama-linolenik asit, insan insülini, apolipoproteinler ve büyüme hormonları gibi biyoteknolojik açıdan önemli ikincil metabolitlerin ve transgenik ürünlerin üretiminde potansiyel bir bitkisel hammadde olarak değerlendirilmektedir (Yang ve ark., 2009; Carlsson ve ark., 2011; Culpan, 2015; Huang ve ark., 2017).

Aspir bitkisiyle ilgili ilk doku kültürü çalışmaları, George ve Rao tarafından 1982 yılında, Hint çeşitleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Bunu takiben, Hint, Amerikan, Türk, İran, Çin ve Avusturya kökenli çeşitlerde doku kültürü ve sürgün rejenerasyonuna yönelik çeşitli protokoller farklı araştırıcılar tarafından rapor edilmiştir. Ancak, diğer Asteraceae (Compositae) familyası üyeleriyle karşılaştırıldığında, aspir bitkisinin mikroçoğaltımı oldukça zordur. Aspirin mikroçoğaltımına ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmasına karşın, genel olarak tüm çeşitlere uygulanabilir, etkili ve tekrarlanabilir bir bitki rejenerasyon protokolü henüz geliştirilememiştir (Fan ve Guo, 2013).

Aspirde bitki doku kültürüne dayalı mikroçoğaltım çalışmalarının sınırlı sayıda olması ve pek çok genotip için standart, yüksek verimli bir rejenerasyon protokolünün henüz geliştirilememiş olması, bu türde genetik dönüşüm ve biyoteknolojik ıslah çalışmalarının ilerlemesini önemli ölçüde sınırlandırmaktadır. Ancak son yıllarda yürütülen araştırmalarda; farklı eksplant kaynakları, besin ortamı bileşimleri ve kültür koşullarının optimize edilmesiyle bazı aspir genotiplerinde sürgün rejenerasyon başarısının yaklaşık %30 seviyelerinden %90'ın üzerine çıkarılabildiği rapor edilmiştir (Fan ve Guo, 2013). Buna karşın, Türkiye'de yetiştirilen yerli aspir çeşitlerine yönelik in vitro kültür ve mikroçoğaltım çalışmalarının sayısı oldukça sınırlıdır. Mevcut çalışmaların büyük bir bölümünde rejenerasyon, *in vitro* koşullarda elde edilen sürgünlerin farklı kısımlarından kallus indüksiyonu yoluyla gerçekleştirilen dolaylı organogenez esasına dayanmaktadır (Motamedi ve ark., 2011; Özdemir ve Türker, 2014; Yaman, 2014; Kaya, 2017).

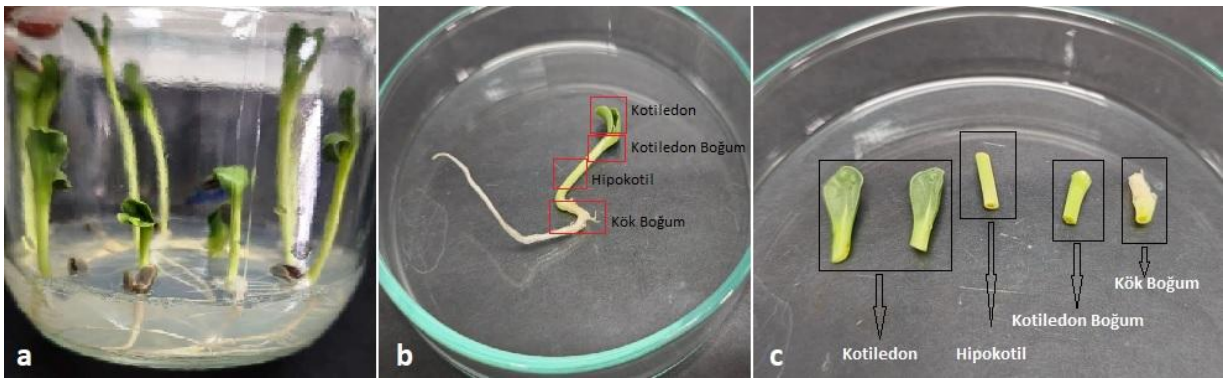
Bu çalışmanın amacı, aspir bitkisinde kullanılan farklı eksplantlar ile doku kültürü yöntemleriyle adventif sürgün rejenerasyonu elde etmek ve bu süreci optimize etmektir. Ülkemizde aspir tarımıyla ilgili çok sayıda çalışma bulunmasına karşın, doku kültürü ve mikroçoğaltıma yönelik araştırmalar sınırlıdır; bu durum, çalışmanın özgünlüğünü ve önemini artırmaktadır. Bu kapsamda, tekrarlanabilir bir rejenerasyon yöntemi geliştirmek amacıyla uygun eksplant seçimi ile farklı bitki büyüme düzenleyici tür ve konsantrasyonlarının rejenerasyon potansiyeli üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından sağlanan Asol aspir çeşidi, genetik materyal olarak kullanılmıştır. Çalışma, 2025 yılında, Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü laboratuvarında yürütülmüştür.

Aspir tohumları 20 dakika süreyle %50'lik sodyum hipoklorit ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş,

ardından her biri 5 dakika süreyle olmak üzere üç kez steril saf su ile yıkanmıştır. Sterilize edilmiş tohumlardan eksplant elde etmek için, tohumlar %3 sakaroz içeren ve pH'ı 5,6-5,8'e ayarlanmış, %0,60 agar ile katılaştırılmış MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamında hazırlanmıştır. Besin ortamı, 121°C'de, 1,1 atm basınç altında 20 dakika süreyle otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Ardından steril cam kavanoz kaplarında, 24±2°C'de ve 16 saatlik fotoperiyot ve yaklaşık 2500 lüks ışık yoğunluğu altında çimlendirilmiştir. İki hafta sonra çimlenen Aspir fidelerinden adventif sürgün rejenerasyonu için kotiledon, kotiledon boğumu, hipokotil ve kök boğumu eksplantları izole edilmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. MS ortamında çimlendirilmiş Aspir tohumlarından eksplant seçimi: (a) iki haftalık çimlendirilmiş tohumlar, (b) kotiledon, kotiledon boğum, hipokotil ve kök boğum eksplantlarının seçimi, (c) ana bitkicikten ayrılmış eksplantlar.
Figure 1. Explant selection from safflower seeds germinated on MS medium: (a) two-week-old germinated seedlings, (b) selection of cotyledon, cotyledonary node, hypocotyl, and root node explants, and (c) explants excised from the mother plant.

Elde edilen eksplantlar, 0,20 mg/L NAA ile birlikte farklı BAP konsantrasyonları (1,00, 1,50, 2,00 ve 2,50 mg/L) içeren MS besin ortamlarında kültüre edilmiştir. Üç hafta sonra rejenerasyon gösteren ve yaklaşık 2–3 cm uzunluğa ulaşan sürgünler, daha sonra köklendirme amacıyla 1,00 mg/L IAA içeren MS ortamına aktarılmıştır (Şekil 2).



Şekil 2. Rejenerasyon gösteren sürgünlerin köklendirme aşaması: (a) pens ve bisturi yardımıyla kallusların uzaklaştırılması, (b) köklendirme ortamına hazır olan fidecikler, (c) fidecikle üzerinde oluşan kökler.
Figure 2. Rooting stage of regenerated shoots: (a) removal of callus tissues using forceps and a scalpel, (b) plantlets prepared for transfer to the rooting medium, and (c) root formation on the plantlets.

Deneme, her birinde 40 eksplant bulunan üç tekerrürlü olarak kurulmuş ve çalışma tesadüfi parseller düzeninde faktöriyel deneme desenine göre yürütülmüştür. Elde edilen veriler MSTAT-C istatistik yazılımı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş, ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Varyans analizi sonuçlarına göre, farklı konsantrasyonlarda BAP (1,00, 1,50, 2,00 ve 2,50 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) içeren MS ortamında kullanılan farklı eksplantlarda rejenerasyon yüzdesi (%), eksplant başına sürgün sayısı (adet), eksplant başına sürgün uzunluğu (cm) ve kallus ağırlığı (g) değerleri %1 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 1).

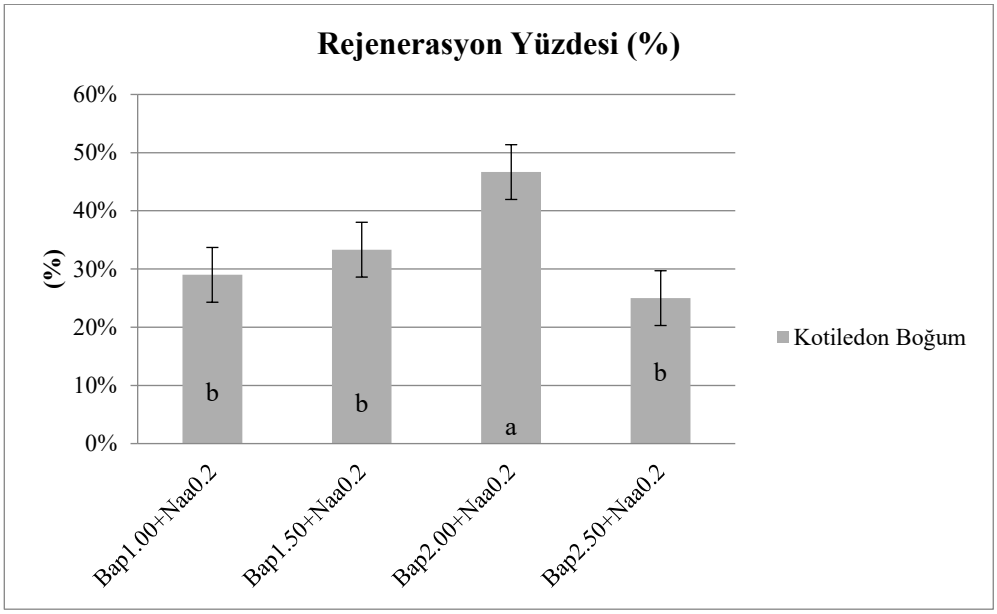
Kotiledon boğumu eksplantından rejenerasyon yüzdesi

Kültüre alındıktan üç hafta sonra eksplantlarda adventif sürgün rejenerasyonu gözlenmiş ve rejenerasyon yüzdesi hesaplanmıştır. Rejenerasyon yüzdesi, incelenen farklı hormon konsantrasyonlarında %25,00 ± 0,12 ile %46,67 ± 0,76 arasında değişim göstermiştir. En yüksek rejenerasyon yüzdesi, %46,66 ± 0,76 ile 2,00 mg/L BAP + 0,2 mg/L NAA konsantrasyonunda gözlemlenirken; en düşük rejenerasyon yüzdesi, %25,00 ± 0,12 ile 2,50 mg/L BAP + 0.2 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir (Şekil 3). Kotiledon boğum, aspir rejenerasyonunda sıklıkla tercih edilen bir eksplanttır. Elde edilen sonuçlar, 2,00 mg/L BAP + 0,2 mg/L NAA kombinasyonunun kritik bir denge noktası olduğunu göstermektedir. Sitokinin dozunun sadece 0,50 mg/L artırılmasının (2,50 mg/L BAP) rejenerasyon başarısını neredeyse yarı yarıya düşürmektedir. Bu durum, aspir kotiledon boğum dokularında yüksek konsantrasyondaki BAP'ın optimum dozu üzerinde bir etki yaratarak hücre farklılaşmasını inhibe ettiğini veya eksplantlarda fenolik birikimine yol açarak canlılığı azalttığına sebep olmaktadır. Aspir doku kültüründe kotiledon boğum eksplantı, yüksek rejenerasyon potansiyeline sahip olsa da, hormon konsantrasyonuna karşı oldukça hassastır. Mandal ve Gupta (2001) ile Basalma ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmalarda da belirtildiği üzere, sitokinin miktarındaki artış her zaman doğrusal bir başarı getirmemektedir.

Çizelge 1. Eksplant tipi ve hormon dozlarinin sürgün gelişimi ve kallus oluşumu üzerine etkilerine ait varyans analizi sonuçları.
Table 1. Analysis of variance results for the effects of explant type and hormone doses on shoot development and callus formation.

V.K / S.O.V	S.D / D.F	Rejenerasyon Yüzdesi (%) Regeneration Percentage (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet) Number of Shoots Per Explant (number)		Eksplant Başına Sürgün Uzunluğu (cm) Shoot Length Per Explant (cm)		Kallus Ağırlığı (g) Callus Weight (g)	
		K.O	F Değeri	K.O	F Değeri	K.O	F Değeri	K.O	F Değeri
Eksplant	3	3273,00	150,48**	4,45	94,92**	171,87	2360,96**	0,521	4045,21**
Doz	3	1361,61	62,60**	2,04	43,66**	1,99	27,36**	0,008	59,31**
Eksplant × Doz	9	1370,87	63,03**	2,13	45,64**	1,22	16,82**	0,003	23,99**
Hata	32		21,75		0,047		0,073		0,000125
Genel	47	----------		----------		----------		----------	
CV%			4,33%		4,70%		4,34%		6,65%

*, **Sırasıyla P < 0,05 ve < 0,01 düzeylerinde anlamlıdır.
*, ** Significant at P < 0.05 and P < 0.01 levels, respectively.

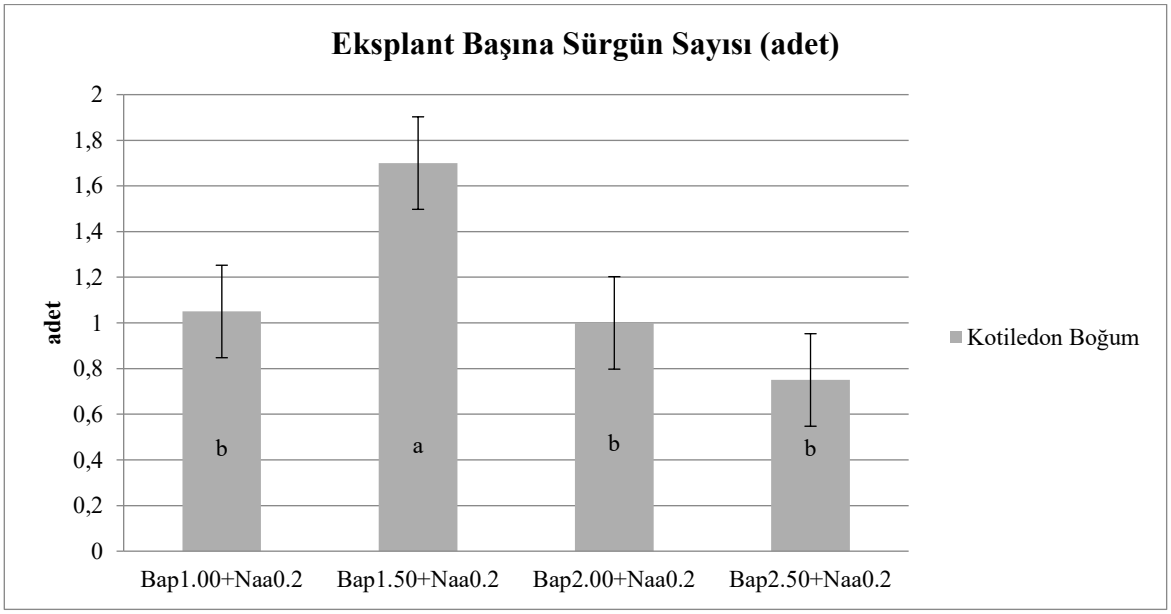


Şekil 3. Farklı BAP ve NAA kombinasyonlarının (mg/L) Asol aspir çeşidinin kotiledon boğum eksplantından elde edilen rejenerasyon yüzdesi üzerine etkisi. LSD %1: 10,43
Figure 3. The effect of different BAP and NAA combinations (mg/L) on the regeneration percentage obtained from cotyledon node explants of Asol safflower variety. LSD %1: 10.43

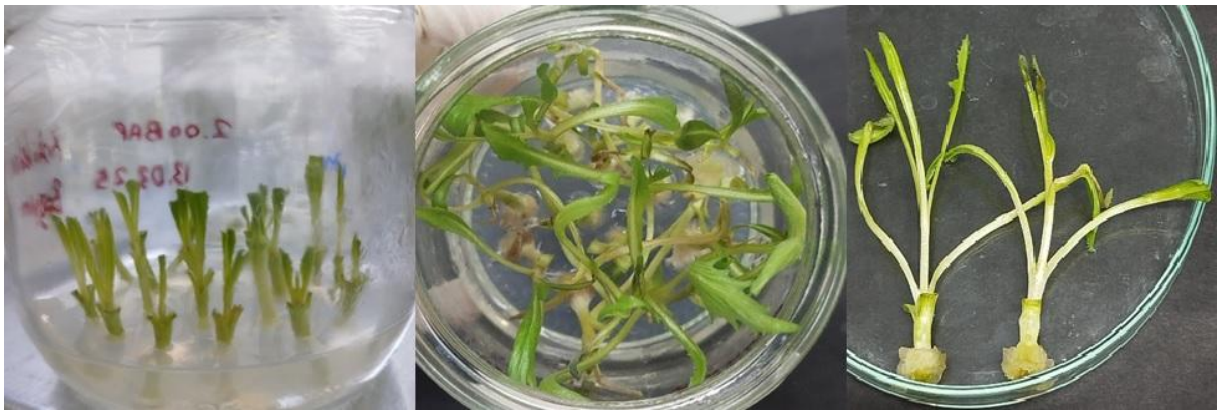
Kotiledon boğumu eksplantından sürgün rejenerasyonu

Üç hafta sonra elde edilen sonuçlara göre eksplantlar üzerinde adventif sürgün rejenerasyonu görülmüştür. Eksplant başına sürgün sayısı incelenen farklı hormon konsantrasyonlarda 0,75±0,11 ile 1,70±0,41 adet arasında değişiklik göstermiştir. En fazla sürgün sayısı, 1,7 adet olarak BAP 1,50 + NAA 0,20 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenirken, en düşük sürgün sayısı ise 0,75 adet BAP 2,50 + NAA 0,20 mg/L konsantrasyonunda elde edilmiştir (Şekil 4 ve 5). Eksplant başına sürgün sayısının farklı hormon konsantrasyonlarına bağlı olarak değişim göstermesi, bitki doku kültüründe büyüme düzenleyicilerinin morfogenetik yanıt üzerindeki belirleyici rolünü ortaya koymaktadır. Bu çalışmada sürgün sayısının 0,75±0,11–1,70±0,41 adet arasında değişmesi ve en yüksek değerin BAP (1,50 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) kombinasyonunda elde edilmesi, sitokinin/oksin dengesinin sürgün rejenerasyonunda kritik olduğunu göstermektedir. Nitekim aspirde yapılan çalışmalarda da uygun düzeyde BAP ve düşük konsantrasyonda NAA kombinasyonlarının sürgün oluşumunu teşvik ettiği bildirilmiştir. Özellikle düşük NAA (0,1 mg/L) ile birlikte kullanılan BAP'ın doğrudan sürgün rejenerasyonu için optimal olduğu ifade edilmektedir (Orlikowska ve Dyer, 1993).

Elde edilen verilere göre, kotiledon boğum eksplantlarındaki sürgün uzunluğu 6,96±0,47 cm ile 8,83±0,42 cm arasında değişmektedir. En uzun sürgün, 8.83 cm uzunluğuyla BAP 1,00 + NAA 0,20 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenirken, en kısa sürgün uzunluğu ise 6,96 cm olarak BAP 2,00 + NAA 0,20 mg/L konsantrasyonunda elde edilmiştir (Şekil 5 ve 6). Birecikli ve Akbaş (2018), yaptıkları çalışmada aspirin balcı çeşidinde en iyi sürgün çoğaltımı 0,50 mg/L BAP ve 0,50 mg/L Kin içeren ortamlarda elde etmişlerdir. Kotiledon boğumu eksplantlarının sürgün rejenerasyonuna olumlu yanıt vermesi, bu dokunun meristematik hücrelerce zengin olması ve sitokininlere yüksek duyarlılık göstermesiyle ilişkilendirilmektedir. Nitekim, Asteraceae familyasına ait bitkilerde yapılan çalışmalarda, kotiledon boğumu eksplantı doğrudan sürgün organogenezi açısından en uygun doku tiplerinden biri olduğu bildirilmiştir (Baskaran ve Jayabalan, 2018; Rahimi ve ark., 2020; Belay ve ark., 2024; Avcı ve Kaya, 2023).



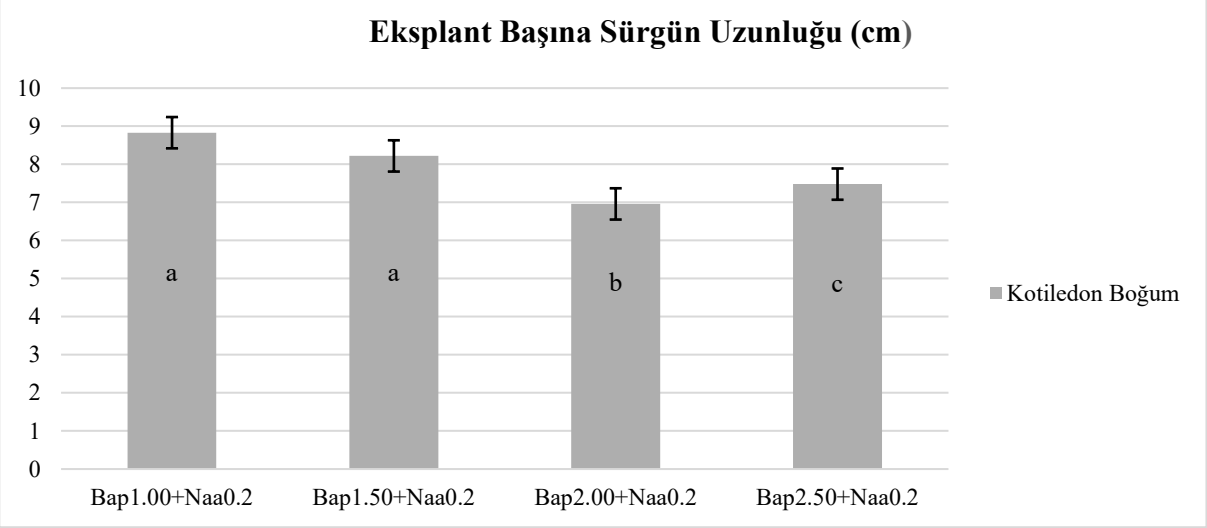
Şekil 4. Farklı BAP ve NAA kombinasyonlarının (mg/L) Asol aspir çeşidinin kotiledon boğum eksplantından elde edilen eksplant başına sürgün sayısı üzerine etkisi. LSD %1: 0.4847
Figure 4. The effect of different BAP and NAA combinations (mg/L) on the number of shoots per explant obtained from cotyledon node explants of Asol safflower variety. LSD %1: 0.4847



Şekil 5. Asol aspir çeşidinin kotiledon boğum eksplantında sürgün rejenerasyonu.
Figure 5. Shoot regeneration from cotyledonary node explants of the Asol safflower cultivar.

Bu çalışmada en uzun sürgünlerin BAP (1,00 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) kombinasyonunda elde edilmesi, düşük doz oksin ile dengelenmiş sitokinin uygulamalarının sürgün uzamasını teşvik ettiğini göstermektedir. Benzer şekilde, Rahimi ve ark. (2020) aspirde ve Singh ve ark. (2019) ayçiçeğinde, düşük NAA içeren BAP kombinasyonlarının sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunu artırdığını rapor etmişlerdir. Buna karşın, sitokinin konsantrasyonunun artırılmasının sürgün uzamasını sınırlayabildiği ve kalluslaşmayı teşvik edebildiği çeşitli çalışmalarda vurgulanmaktadır (Baskaran ve Jayabalan, 2018; Thorpe, 2012).

Elde edilen bulgular, kotiledon boğumu eksplantlarının aspirde etkili bir sürgün rejenerasyonu için uygun bir eksplant kaynağı olduğunu ve bununla birlikte, elde edilen bulgular BAP–NAA dengesinin sürgün oluşumu ve gelişimi üzerinde kritik bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, aspir mikroçoğaltım protokollerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalara önemli katkı sağlamaktadır.

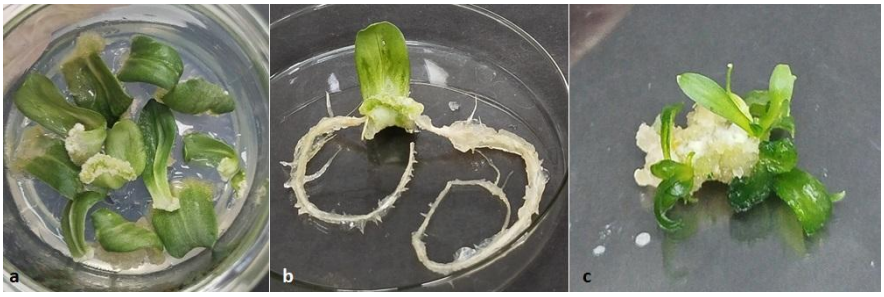


Şekil 6. Farklı BAP ve NAA kombinasyonlarının (mg/L) Asol aspir çeşidinin kotiledon boğum eksplantından elde edilen sürgün uzunluğu üzerine etkisi. LSD %1: 0.6041
Figure 6. Effect of different BAP and NAA combinations (mg/L) on shoot length obtained from cotyledonary node explants of the Asol safflower cultivar. LSD %1: 0.6041

Kotiledon eksplantından sürgün rejenerasyonu

Elde edilen sonuçlara göre, kotiledon eksplantlarında adventif sürgün rejenerasyonu gözlenmemiş, yalnızca kallus ve kök oluşumu meydana gelmiştir. Ancak daha sonraki aşamada, kotiledon eksplantlarından oluşan kalluslar kesilerek 2,50 mg/L BAP içeren ortamdan alınmış ve 1,50 mg/L BAP içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Bu uygulama sonucunda adventif sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır (Şekil 7).

Bu çalışmada kotiledon eksplantlarında doğrudan adventif sürgün rejenerasyonu gözlenmeyip yalnızca kallus ve kök oluşumu meydana gelmiştir. Benzer şekilde, aspirde yapılan önceki araştırmalarda kotiledon eksplantlarının yüksek sitokinin konsantrasyonlarında doğrudan sürgün rejenerasyonuna sınırlı yanıt verdiği, ancak kallus oluşumuna daha yatkın olduğu bildirilmiştir (Zare ve ark., 2010). Bununla birlikte, bu çalışmada kotiledon eksplantlarından elde edilen kallusların daha düşük BAP konsantrasyonu (1.50 mg/L) içeren MS ortamına aktarılmasıyla adventif sürgün rejenerasyonunun sağlanması, sitokinin düzeyindeki azalmanın hücre farklılaşmasını teşvik edebileceğini göstermektedir. Nitekim, bitki doku kültüründe büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının kademeli olarak değiştirilmesinin organogenez üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceği daha önce de rapor edilmiştir (George ve Rao, 1982).



Şekil 7. Asol aspir çeşidinin kotiledon eksplantı üzerinde sürgün rejenerasyonu: (a) kotiledonlar da kallus oluşumunun başlangıcı, (b) kotiledonlar üzerinde köklerin oluşumu, (c) 1.50 mg/L BAP içeren MS ortamında kallus üzerinde oluşan sürgün rejenerasyonu.
Figure 7. Shoot regeneration on cotyledon explants of the Asol safflower cultivar: (a) initiation of callus formation on cotyledons, (b) root formation on cotyledons, and (c) shoot regeneration from callus cultured on MS medium supplemented with 1.50 mg/L BAP.

Dsouza ve ark. (2024), MS ortamında farklı BAP–NAA kombinasyonlarının optimizasyonu ile yüksek oranlı kallus indüksiyonu sağlarken, rejenerasyon başarısının eksplant tipi ve hormon dengesine bağlı olduğunu göstermiştir. Anter kültürü ile yapılan başka bir çalışmada da farklı BAP ve NAA konsantrasyonlarının genotiplere bağlı olarak doku kültürü yanıtını değiştirdiği ve rejenerasyon oranını etkilediği bulunmuştur (Nakas ve ark., 2023). Bu literatür bulguları, elde edilen sonuçların yalnızca kültür ortamı hormonlarına değil, aynı zamanda eksplant tipi ve genotip özelliklerine de bağlı olduğunu desteklemektedir. Bu sonuçlar, aspirde kotiledon kaynaklı sürgün rejenerasyonu için BAP konsantrasyonunun kritik bir faktör olduğunu ve rejenerasyon başarısının kültür ortamının dinamik olarak düzenlenmesiyle artırılabileceğini ortaya koymaktadır.

Kök boğumu eksplantından kallus oluşumu

Kültür ortamına alınan kök boğumu eksplantından izlenilen süreçte sürgün rejenerasyonuna rastlanmamıştır. Ancak eksplant üzerinde kallus ve kök oluşumu gözlenmiştir. Zamanın ilerlemesiyle birlikte kallusların başlangıçta yeşil renkte olduğu, daha sonra yeşil-kahverengi ve nihayetinde kahverengi bir görünüm kazandığı gözlenmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Asol aspir çeşidinin kök boğum eksplantında kallus ve kök oluşumu: (a) eksplant üzerinde oluşan yeşil kalluslar, (b) kahve rengine dönüşen kalluslar, (c) eksplant üzerinde oluşan kökler.
Figure 8. Callus and root formation on root node explants of the Asol safflower cultivar: (a) green callus formation on the explant, (b) callus tissues turning brown, and (c) root formation on the explant.

Benzer şekilde, aspirde ve diğer Asteraceae türlerinde kök kaynaklı eksplantların genellikle sürgün rejenerasyonuna düşük yanıt verdiği, ancak kallus oluşumuna daha yatkın olduğu bildirilmiştir (Avcı ve Kaya, 2023). Kök boğumu eksplantlarında gözlenen bu durumun, dokunun fizyolojik olarak oksin ağırlıklı bir yapıya sahip olması ve sitokininlere sınırlı yanıt vermesiyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Kültür süresi ilerledikçe kallus dokusunda yeşilden kahverengiye doğru meydana gelen renk değişimi, fenolik bileşiklerin oksidasyonu ve buna bağlı olarak gelişen hücresel stres ile açıklanmaktadır. Güncel çalışmalarda, özellikle kök kökenli eksplantlarda fenolik madde salınımının daha yüksek olduğu ve bunun rejenerasyon kapasitesini olumsuz etkilediği vurgulanmaktadır (Nakas ve ark., 2023; Dsouza ve ark., 2024). Bu bağlamda, kök boğumu eksplantlarının aspirde doğrudan adventif sürgün rejenerasyonu için uygun olmadığı, ancak kallus indüksiyonu açısından potansiyel taşıdığı; rejenerasyon başarısının artırılması için bitki büyüme düzenleyici dengesinin yeniden düzenlenmesi veya antioksidan desteklerin kullanılması gerektiği söylenebilir.

Hipokotil eksplantından kallus oluşumu

Adventif sürgün rejenerasyonunu teşvik etmek amacıyla, Asol aspir çeşidinin *in vitro* ortamda yetiştirilen 15 günlük fidelerinden izole edilen hipokotil dokuları eksplant kaynağı olarak değerlendirilmiştir. Eksplantlar farklı BAP (1,00, 1,50, 2,00 ve 2,50 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) içeren MS ortamlarına kültüre alınmıştır, Üç haftalık kültür süresi sonunda, incelenen eksplantlarda adventif sürgün rejenerasyonu gözlenmemiş, yalnızca kallus oluşumu tespit edilmiştir. Kalluslar zamanla yeşilden kahverengiye doğru renk değişimi göstermiştir (Şekil 9).

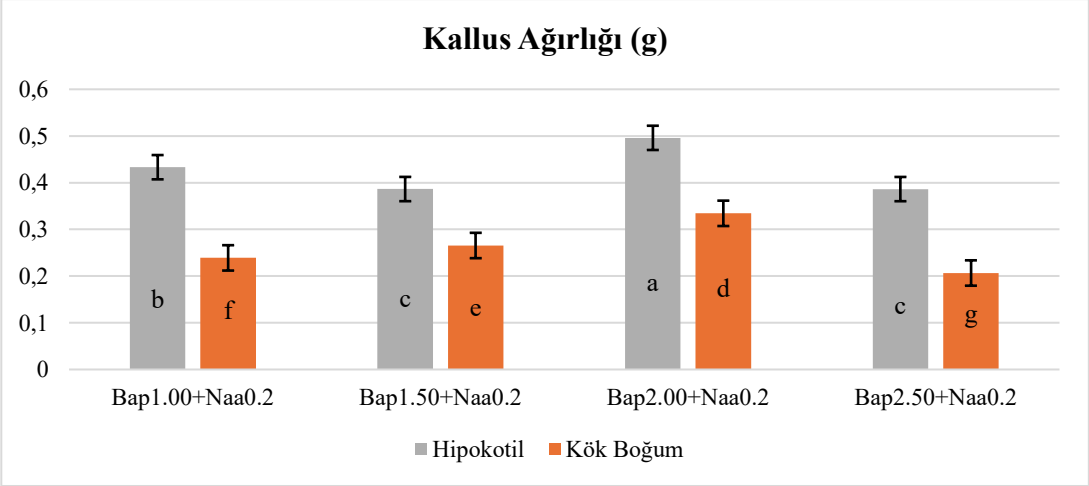
Benzer şekilde, aspirde yapılan önceki çalışmalarda da yüksek sitokinin konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonu yerine kallus oluşumunu teşvik ettiği ve kültür ortamında fenolik bileşiklerin birikimine bağlı olarak kalluslarda kahverengileşmenin ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bu durum, eksplant tipi ve bitki büyüme düzenleyici dengesinin, aspirde başarılı adventif sürgün rejenerasyonu için kritik bir faktör olduğunu göstermektedir.

Aspirde yapılan önceki çalışmalarda da benzer şekilde, özellikle sitokinin ağırlıklı ortamların sürgün rejenerasyonu yerine kallus oluşumunu teşvik ettiği bildirilmiştir (George ve Rao, 1982; Zare ve ark., 2010). Kallus dokusunda zamanla meydana gelen kahverengileşmenin, fenolik bileşiklerin oksidasyonu ve buna bağlı olarak hücre canlılığının azalmasıyla ilişkili olduğu belirtilmektedir (George ve Rao, 1982). Bu bulgular, aspirde başarılı adventif sürgün rejenerasyonu için eksplant tipi ile bitki büyüme düzenleyici dengesinin kritik öneme sahip olduğunu göstermektedir.

İki ay içinde hipokotil ve kök boğum eksplantları üzerinde herhangi bir gelişme gözlenmemiştir. Bununla birlikte, eksplantların bazal bölgelerinde nekrotik doku oluşumu gözlemlenmiştir. Kallus ağırlığı 0,20±0,05 g ile 0,49±0,07 g arasında değişmektedir. En yüksek kallus ağırlığı hipokotilde 0,49 g ve BAP 2,00 + NAA 0,2 mg/L konsantrasyonunda rastlanmıştır. En düşük kallus ağırlığı ise kök boğumda BAP 2,50 + NAA 0,20 mg/L konsantrasyonunda elde edilmiştir (Şekil 10).



Şekil 9. Asol aspir çeşidinin hipokotil eksplantından kallus oluşumu: (a) eksplant üzerinde oluşan yeşil renkte kallus, (b) yeşil-kahve rengine dönen kalluslar, (c) kahve renginde olan kalluslar.
Figure 9. Callus formation from hypocotyl explants of the Asol safflower cultivar: (a) green-colored callus formed on the explant, (b) callus tissues turning green–brown, and (c) brown-colored callus tissues.



Şekil 10. Asol aspir çeşidinin kök boğum ve hipokotil eksplantından kallus ağırlığı. LSD %1: 0,0250
Figure 10. Callus weight obtained from root node and hypocotyl explants of the Asol safflower cultivar. LSD %1: 0.0250

Kallus ağırlığının 0,20±0,05–0,49±0,07 g arasında değişmesi, eksplant tipi ve uygulanan bitki büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının kallus çoğalması üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir. En yüksek kallus ağırlığının hipokotil eksplantlarında BAP (2,00 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) kombinasyonunda elde edilmesi, hipokotil dokusunun yüksek sitokinin–oksin etkileşimine kallus indüksiyonu yönünde güçlü yanıt verdiğini ortaya koymaktadır.

Benzer şekilde, aspir ve diğer yağlı tohumlu bitkilerde yapılan çalışmalarda hipokotil eksplantlarının, özellikle orta–yüksek düzeyde sitokinin içeren ortamlarda kallus oluşumu açısından daha avantajlı olduğu bildirilmiştir (Rahimi ve ark., 2020; Dsouza ve ark., 2024). Buna karşılık, bu çalışmada kök boğumu eksplantlarında daha düşük kallus ağırlıklarının elde edilmesi ve nekroz oluşumunun gözlenmesi, kök dokusunun fenolik bileşik salınımına daha yatkın olması ve uzun kültür süresinde hücre canlılığının azalmasıyla ilişkilendirilebilir. Nitekim, kök kaynaklı eksplantlarda yüksek hormon konsantrasyonlarının kallus çoğalmasını sınırlayabildiği ve nekrotik dokuların oluşumuna neden olabildiği önceki çalışmalarda da vurgulanmıştır (George ve Rao, 1982; Thorpe, 2012).

Ayrıca, BAP konsantrasyonunun 2,50 mg/L düzeyine çıkarılmasıyla kallus ağırlığının azalması, aşırı sitokinin uygulamalarının hücre bölünmesini baskılayarak kallus gelişimini olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir. Bu durum, kallus indüksiyonu için optimum hormon düzeylerinin belirlenmesinin aspir doku kültürü çalışmalarında kritik bir aşama olduğunu göstermektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada, aspir (*Carthamus tinctorius* L.) bitkisinde farklı eksplant tipleri ve BAP–NAA kombinasyonlarının adventif sürgün rejenerasyonu ve kallus oluşumu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, eksplant tipinin ve bitki büyüme düzenleyici dengesinin rejenerasyon başarısında belirleyici olduğunu ortaya koymuştur. Kotiledon boğumu eksplantları, doğrudan adventif sürgün rejenerasyonu açısından en yüksek yanıtı vermiş ve en uzun sürgünler BAP (1,00 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) içeren MS ortamında elde edilmiştir. Buna karşılık, kotiledon eksplantlarında doğrudan sürgün rejenerasyonu gözlenmemiş; ancak kallusların daha düşük BAP konsantrasyonuna aktarılmasıyla dolaylı yoldan sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. Hipokotil ve kök boğumu eksplantlarında sürgün rejenerasyonu gerçekleşmemiş, ancak farklı düzeylerde kallus oluşumu meydana gelmiştir. En yüksek kallus ağırlığı hipokotil eksplantlarında BAP (2,00 mg/L) + NAA (0,20 mg/L) kombinasyonunda elde edilirken, kök boğumu eksplantlarında daha düşük kallus ağırlıkları ve nekroz oluşumu gözlenmiştir. Kalluslarda zamanla meydana gelen kahverengileşme, fenolik bileşiklerin oksidasyonu ile ilişkilendirilmiştir.

Genel olarak, bu çalışma kotiledon boğumu eksplantlarının aspirde etkili bir mikroçoğaltım ve sürgün rejenerasyonu için en uygun eksplant kaynağı olduğunu; kallus ve sürgün oluşumunun ise hormon konsantrasyonlarının dikkatli bir şekilde optimize edilmesine bağlı olduğunu göstermektedir. Elde edilen bulgular, aspir doku kültürü protokollerinin geliştirilmesine katkı sağlamakta ve ilerleyen çalışmalarda farklı oksin türleri, antioksidan uygulamaları ve genotip farklılıklarının değerlendirilmesi için temel oluşturmaktadır.

LİTERATÜR LİSTESİ

Arslan, Y., D. Katar, H. Güneylioğlu, İ. Subaşı, B. Şahin ve A. S. Bülbül. 2010. Türkiye florasındaki yabani *Carthamus* L. türleri ve aspir (*Carthamus tinctorius* L.) ıslahında değerlendirme olanakları. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 19 (1–2): 36–43.

Avcı, S. ve M. D. Kaya. 2023. Kotiledon boğumu eksplantları kullanılarak aspir genotiplerinde kallus aracılı organogenez yoluyla rejenerasyon. International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences 7 (1): 101–106.

Babaoğlu, M. 2007. *Aspir ve tarımı*. Trakya Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü, Edirne.

Basalma, D., S. Uranbey, S. Mirici, O. Kolsarici. 2008. TDZ × IBA induced shoot regeneration from cotyledonary leaves and in vitro multiplication in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). African Journal of Biotechnology 7(8): 960-966.

Baskaran, P. ve N. Jayabalan. 2018. Yağlı tohumlu bitkilerde organogenez üzerine büyüme düzenleyicilerin rolü. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology 19 (5–6): 230–238.

Belay, A. K., M. Firew, A. Kebebew. 2024. Effects of plant hormones and genotypes on anther culture response of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Scientific African 26: e02367. https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02367.

Birecikli, A. H. ve F. Akbaş. 2018. "Balcı" aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşidinde in vitro sürgün uçlarının mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine oksin ve sitokininlerin etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 28 (4): 438–443.

Carlsson, A. S., J. L. Yilmaz, A. G. Green, S. Stymne ve P. Hofvander. 2011. Fosil yağların bitkisel yağlarla ikamesi: Ne ile ve hangi amaçla? European Journal of Lipid Science and Technology 113 (7): 812–831.

Culpan, E. 2015. Gibberellik asit ve salisilik asit uygulamalarının aspir (*Carthamus tinctorius* L.)'in tohum verimi ve kalite özelliklerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.

Dsouza, S. K., S. R. Bhalerao, P. V. Jadhav, S. S. Fulzalke ve D. B. Gurvpujari. 2024. Aspir genotiplerinde (*Carthamus tinctorius* L.) in vitro kallus indüksiyonu. International Journal of Advanced Biochemistry Research 8 (10S): 1056–1060.

Fan, L., ve M. Guo. 2013. Progress of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) regeneration through tissue culture. Journal of Medical Colleges of PLA, 28(5): 289–301. https://doi.org/10.1016/S1000-1948(13)60045-3

George, L., ve P. S. Rao. 1982. In vitro multiplication of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) through tissue culture [J]. Proc Indian Natn Sci Acad, B48:791-794.

Huang, J., J. Yang, L. Guan, S. Yi, L. Du, H. Tian, Y. Guo, F. Zhai, Z. Lu, H. Li, X. Li ve C. Jiang. 2017. *Carthamus tinctorius* L. tohumlarında rekombinant insan FGF10 ekspresyonu. Protein Expression and Purification 138: 7–12.

Kaya, Ş. 2017. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Balcı çeşidinin doku kültürü ile in vitro çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.

Köse, A., F. Koşar ve Ö. Bilir. 2018. Tek bitki seleksiyonu ile geliştirilen bazı aspir hatlarının tarımsal performansları. Journal of Agricultural Sciences 24 (1): 1–11.

Mandal, A. K. A. ve S. D. Gupta. 2001. Direct shoot organogenesis and plant regeneration in safflower. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 37, 50–54. https://doi.org/10.1007/s11627-001-0010-5

Motamedi, J., A. Zebarjadi, D. Kahrizi ve A. H. Salmanian. 2011. Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) in vitro çoğaltım ve Agrobacterium aracılı transformasyon. Australian Journal of Crop Science 5 (4): 479–486.

Murashige, T. ve F. Skoog. 1962. Tütün doku kültürleri için geliştirilmiş besin ortamı. Physiologia Plantarum 15 (3): 473–497.

Nakas, D. B., S. Avcı ve M. D. Kaya. 2023. Farklı aspir genotiplerinin anter kültürüne tepkileri. KSÜ Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 26 (2): 293–298.

Orlikowska, T. K., ve W. E. Dyer. 1993. In vitro regeneration and multiplication of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Plant Science 93*(1–2): 151–157. https://doi.org/10.1016/0168-9452(93)90044-Z

Özdemir, F. A. ve M. Türker. 2014. Yabani aspirin (*Carthamus persicus* Wild) *in vitro* çoğaltımında farklı BAP–NAA kombinasyonlarının etkisi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi 24 (1): 30–35.

Rahimi, A., A. Moieni ve N. Safaie. 2020. Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) kotiledon boğumu eksplantlarından doğrudan sürgün rejenerasyonu. Journal of Plant Biotechnology 47 (2): 123–131.

Singh, R., S. K. Verma ve R. Yadav. 2019. Ayçiçeğinde sitokinin–auksin etkileşiminin sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi. Plant Tissue Culture and Biotechnology 29 (1): 45–54.

Thorpe T. 2012. History of plant tissue culture. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.). 877: 9–27. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-818-4_2

Velasco, L. ve J. M. Fernández-Martínez. 2002. Aspirde yağ kalitesi için ıslah. Plant Breeding 121 (6): 469–475.

Weiss, E. A. 2000. *Oilseed crops*. 2. Baskı. Blackwell Science, Oxford.

Yaman, H. 2014. Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) çeşitlerine uygulanan gama ışınının M1 ve M2 bitkilerinde bazı tarımsal özellikler ve in vitro adventif sürgün rejenerasyonu üzerine etkileri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.

Yang, J., L. D. Xiong, T. H. Li, H. Y. Li, Q. Qu, H. Q. Fu ve X. K. Li. 2009. Fitohormonların aspir rejenerasyonu üzerine etkisi. Journal of Chinese Medicinal Materials 32 (9): 1335–1338.

Zare, N., F. Shekari ve M. Solouki. 2010. Aspirde (*Carthamus tinctorius* L.) farklı eksplantlardan in vitro bitki rejenerasyonu. African Journal of Biotechnology 9 (12): 1724–1727.