

Naftalin Asetik Asit, 6-Benzilaminopürin ve İndol-3-Bütirik Asit Kombinasyonlarının *Actinidia deliciosa* Kallus Gelişimi Üzerine Biyokimyasal Bir Araştırma

Aykut TOPDEMİR¹, Tuba OKUTAN^{2,4}, Görkem KIRMIZIKAYA³, Ökkeş YILMAZ⁴

¹Fırat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Elazığ ^{2,3,4}Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ

¹<https://orcid.org/0000-0002-9112-4767>, ²<https://orcid.org/0000-0001-8745-0343>, ³<https://orcid.org/0000-0001-8516-4933>

⁴<https://orcid.org/0000-0002-8276-4498>

✉: tokutan@firat.edu.tr

ÖZET

Bu çalışmada oksin türevi olan naftalin asetik asit (NAA), sitokinin türevi 6-Benzilaminopürin (BAP) ile indol-3-butirik asit (IBA)'in farklı konsantrasyonları ve kombinasyonları kivi bitkisinin (*Actinidia deliciosa*) kotiledon eksplantlarına uygulandı. Kallus hücrelerinin fenolik bileşik, antioksidan aktivite, yağ asidi bileşimi ve lipofilik molekül içerikleri incelendi. Kültür ortamında yetiştirilen *Actinidia deliciosa* sürgünleri 5 santimetreye ulaşınca kotiledonları eksplant kaynağı olarak kullanıldı. Farklı doz ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) içeren kültür ortamlarında kallus indüksiyonu sağlandı. Kalluslar ile yapılan analiz sonuçlarına göre total fenolik içeriği 0.5 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA kombinasyonu içeren F grubunda kontrol grubuna göre azaldığı halde (p<0.05), diğer gruplarda belirgin düzeyde yüksek bulundu (p<0.001). DPPH ve ABTS antioksidan kapasite değerleri NAA ve BAP kombinasyonu verilen gruplarda yüksek olduğu halde, NAA+BAP+IBA kombinasyonun bulunduğu gruplarda düşük olduğu belirlendi. Antioksidan etkili lipofilik moleküllerden α-tokoferol düzeyi farklı konsantrasyon uygulanan NAA ve BAP gruplarında yüksek (p<0.001), farklı konsantrasyon kullanılan NAA ile BAP ve NAA+BAP+IBA kombinasyon gruplarında ise azaldığı saptandı (p<0.001). Ergosterol, stigmasterol ve betasitosterol gibi fitosterol düzeylerinin bitki büyüme düzenleyicilerinin (BBD) uygulandığı kombinasyon gruplarında farklı oranlarda azaldığı gözlemlendi. Yağ asidi kombinasyonu içinde kontrol grubuna göre BBD gruplarının çoğunda palmitik asit oranı arttığı halde (p<0.01), bazı BBD gruplarında istatistik farklılık bulunmadı. BBD'nin farklı kombinasyonlarının verildiği grupların yağ asidi bileşimi içinde palmitoleik, stearik ve linoleik asit oranlarında azalma gözlenirken, linolenik asit oranlarında yükselme belirlendi (p<0.05, p<0.01, p<0.001). Sonuç olarak kivi bitkisinin kallus oluşumu üzerinde farklı oranlarda kullanılan oksin ve sitokinin türevlerinin kallus dokusunun biyokimyasal metabolitleri üzerinde farklı etkilere sahip olduğu belirlendi.

A Biochemical Study on the Development of *Actinidia deliciosa* Callus by Combinations of Naphthalene Acetic Acid, 6-Benzylaminopurine and Indole-3-Butyric Acid

ABSTRACT

In this study, different concentrations and combinations of auxin derivative naphthalene acetic acid (NAA), cytokinin derivative 6-Benzylaminopurine (BAP) and indole-3-butyric acid (IBA) were applied to cotyledon explants of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Phenolic compound, antioxidant activity, fatty acid composition and lipophilic molecule contents of callus cells were investigated. When the shoots of *Actinidia deliciosa* grown in a culture medium reached 5 cm, their cotyledons were used as explant source. Callus induction was achieved in culture media containing plant growth regulators (BBD) in different doses and combinations. According to the results of the analysis made with calli, the total phenolic content of the F group containing 0.5 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA combination was decreased

Biyokimya

Araştırma Makalesi

Makale Tarihçesi

Geliş Tarihi : 05.05.2023

Kabul Tarihi : 28.09.2023

Anahtar Kelimeler

Actinidia deliciosa

Mikroçoğaltım

Total fenolikler

DPPH

Yağ asidi bileşimi

Biochemistry

Research Article

Article History

Received : 05.05.2023

Accepted : 28.09.2023

Keywords

Actinidia deliciosa

Micropropagation

Total phenolics

DPPH

Fatty acid composition

compared to the control group ($p<0.05$), but it was significantly higher in the other groups. ($p<0.001$). Although DPPH and ABTS antioxidant capacity values were higher in the groups given NAA and BAP combination, it was determined that they were lower in the groups with NAA+BAP+IBA combination. The level of α -tocopherol, an antioxidant-effective lipophilic molecule, was higher in NAA and BAP groups applied at different concentrations ($p<0.001$), but decreased in NAA and BAP and NAA+BAP+IBA combination groups used in different concentrations ($p<0.001$). It was observed that phytosterol levels such as ergosterol, stigmasterol and betasitosterol decreased at different rates in the combination groups in which plant growth regulators (BBD) were applied. Although the palmitic acid ratio increased in most of the BBD groups compared to the control group in the fatty acid combination ($p<0.01$), no statistical difference was found in some BBD groups. While a decrease was observed in palmitoleic, stearic and linoleic acid ratios in the fatty acid composition of the groups in which different combinations of BBD were given, an increase was observed in linolenic acid ratios ($p<0.05$, $p<0.01$, $p<0.001$). As a result, it was determined that the auxin and cytokinin derivatives used at different rates on the callus formation of the kiwi plant had different effects on the biochemical metabolites of the callus tissue.

- Atıf Şekli:** Topdemir, A., Okutan, T., Kırmızııkaya, G & Yılmaz, Ö (2024) Naftalin Asetik Asit, 6-Benzilaminopürin ve İndol-3-Bütirik Asit Kombinasyonlarının *Actinidia deliciosa* Kallus Gelişimi Üzerine Biyokimyasal Bir Araştırma. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg* 27(2), 249-260. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1281016>
- To Cite :** Topdemir, A., Okutan, T., Kırmızııkaya, G & Yılmaz, Ö (2024). A Biochemical Study on the Development of *Actinidia deliciosa* Callus by Combinations of Naphthalene Acetic Acid, 6-Benzylaminopurine and Indole-3-Butyric Acid. *KSU J. Agric Nat* 27(2), 249-260. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdog.vi.1281016>

GİRİŞ

Actinidia deliciosa anavatanı Orta ve Güney Çin olan, küresel öneme sahip ticari bir bitkidir (Wang ve ark., 2021; Guo ve ark., 2017). *A. deliciosa* içeriğindeki biyoaktif bileşen çeşitliliği sebebiyle insanlar için oldukça yararlı olduğu tespit edilmiştir (Giangrieco ve ark., 2016). *A. deliciosa* içeriğinde, flavonol ve flavanon bileşenlerinin mevcut olduğu belirtilmiştir (Pinelli ve ark., 2013). Bu flavonoid bileşiklerin antioksidan özellikte olup patojenik organizmalara karşı etkili mantar önleyici maddeler olduğu bildirilmiştir (Mohamed & Suresh, 2020). Adaptasyon yeteneği yüksek olan *A. deliciosa* bitkisi farklı ekolojik şartlarda yetiştirilebilmektedir (Ekşi & Özen, 2012). Ancak büyük ölçekli, hızlı, ekonomik ve kolay fidan üretimi için doku kültürü teknikleri ile mikro çoğaltım önerilmektedir (Kumar & Sharma, 2002). Verimi yüksek bitki üretiminin yanı sıra, sekonder metabolitlerin üretiminde de bitki hücre ve doku kültürü yöntemleri kullanılmaktadır (Rout ve ark., 2000; Verpoorte ve ark., 2007; Shinde ve ark., 2010). Doku kültürü uygulamalarında, besi yeri içerisindeki bitki büyüme düzenleyicilerinin oranları, büyüme ve morfogenezin kontrolü için kritik öneme sahiptir. Genellikle yüksek oksin düşük sitokinin oranı, hızlı hücre çoğalması ve kallus oluşumunu teşvik etmektedir (Chawala & Wenzel, 1987). Oksin veya sitokininin çeşidi, konsantrasyonu veya oksin/sitokinin oranı, kültüre alınmış bitki hücrelerinde gelişme ve ürün biçiminde önemli

derecede değişikliklere neden olur (Mantell & Smith, 1983). NAA ve IBA konsantrasyonlarının değiştirilmesiyle bazı bitki kültürlerinde sekonder metabolit üretiminin arttığı gözlenmiştir (Vasil & Schell, 1984). Sitokininlerin etkisi metabolitin tipine ve incelenen türlere göre çeşitlilik gösterir. Bazı bitki türlerinde sekonder metabolit üretimini artırırken bazı bitki kültürlerinde sekonder metabolit üretimini inhibe etmektedir (Mok ve ark., 1976). Alkaloidler, saponinler, karotenoidler, antosiyaninler, polifenoller gibi bir dizi kimyasal bileşik, bitki hücre ve doku kültürlerinde sentezlenip, biriktirilirler (Mulabagal & Tsay, 2004; Yeşil-Çelikaş ve ark., 2007; Shinde ve ark., 2010). Bunlar arasında polifenoller dejeneratif ve yaşlanmayla ilgili birçok hastalıktaki rolleri nedeniyle son yıllarda dikkat çekmiş ve birçok çalışmaya konu olmuştur. (Brewer, 2011; Prochazkova ve ark., 2011). Polifenoller farklı *in vitro* ortamlarda güçlü antioksidan aktivite sergileyerek çeşitli reaktif oksijenleri (ROS) süpürme yoluyla koruyucu olmuşlardır (Halliwell, 2008).

A. deliciosa bitkisinin sekonder metabolit içerikleri ve antioksidan kapasite tayinlerine dair çalışmalar yapılmış olsa da *in vitro* şartlarda yetiştirilmiş *A. deliciosa* bitkisinde bu çalışmalar yapılmamıştır. Bu çalışmada *A. deliciosa* bitkisinin *in vitro* şartlarda kallus kültürü oluşturmak üzere farklı bitki büyüme düzenleyicilerini farklı kombinasyonlarla optimize edip, kallus ekstraktlarının antioksidan kapasite tayinleri, total fenolik ve flavanoid değişimlerle

birlikte birtakım biyokimyasal parametrelerin araştırılması hedeflenmiştir.

MATERYAL ve METOD

Bu araştırma Fırat Üniversitesi Bitki Doku Kültürü Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışma materyali olarak olgun *A. deliciosa* meyvelerinden alınan tohumlar kullanılmıştır. 24 saat karanlık ortamda su içerisinde bekletilen tohumlar sonrasında saf suyla yıkayıp % 70' lik etil alkolde 60 saniye bekletilip % 2' lik sodyum hipoklorid çözeltisinde 15 dakika boyunca karıştırılmıştır. Yüzey sterilizasyonunun son işlemi olarak 5'er dakika arayla 3 kez steril saf sudan geçirilerek bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen ve bitki doku kültüründe sıklıkla kullanılan Murashige Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bitkiler eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır.

Kallus Oluşumu

Kültüre alınan tohumlardan oluşan sürgünler 4.

Çizelge 1. MS besiyeri içerikleri ve konsantrasyonları
Table 1. MS medium contents and concentrations

BBD/ BESİN ORTAMLARI	Kontrol Grubu	A Grubu	B Grubu	C Grubu	D Grubu	E Grubu	F Grubu	G Grubu	H Grubu
NAA (mg L ⁻¹)	-	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5
BAP (mg L ⁻¹)	-	1	1	1.5	1.5	1	1	1.5	1.5
IBA (mg L ⁻¹)	-	-	-	-	-	0.5	0.5	1	1

Kallus Ekstraksiyonu

Besiyerinde yetiştirilen *A. deliciosa* kallusları pens yardımıyla dikkatli bir şekilde magentadan alınmış, kalluslar saf sudan geçirilerek besiyeri kalıntılarını uzaklaştırılmıştır. Her bir kallus örneğinden 1'er g tartılarak, 10 ml metanol ile homojenizatörde parçalanıp, santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant kısmından DPPH, ABTS, total fenolik ve total flavonoid tayinleri yapıldı. Yağ asidi, ADEK ve sterollerin analizleri için 1 g kallus örnekleri üzerlerine 10 ml % 0.03 BHT içeren n-hekzan izopropanol karışımı eklenerek homojenize edilip, santrifüj sonrası süpernatant kısmı kullanıldı.

Serbest Radikal (DPPH) Giderme Aktivitesi

Serbest radikal olarak 25 mg L⁻¹ 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) metanolde çözdürülerek kullanıldı. Deney tüplerine sırasıyla DPPH çözeltisinden 4 ml ilave edilmiş, daha sonra 100 µL bitki ekstraktları ilave edilip vortekslenildi ve 30 dakika oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonunda absorpsanları 517 nm'de blanka karşı spektrofotometrede okundu (Brand-Williams ve ark., 1995).

Azalan şekilde değişen absorpsan değerleri, geriye kalan DPPH miktarı serbest radikal giderme aktivitesi olarak belirlenmiş ve sonuçlar aşağıdaki

haftanın sonunda 5 cm'ye ulaştığında eksplant kaynağı olarak kullanıldı. Yaprak eksplantlarının kallus indüksiyonunu sağlaması için kültüre alındığı MS besiyeri ortamlarına 6-benzilaminopürin (BAP), indol-3-bütirik asit (IBA) ve naftalin asetik asit (NAA) bitki büyüme düzenleyicileri eklenmiştir (Kumlay & Ercişli, 2015). Çalışma bitki doku kültüründe yaygın kullanılan MS ortamı yapıldı (Murashige & Skoog, 1962). Besiyerleri hazırlamasında 4.4 g L⁻¹ MS, 30 g L⁻¹ sükröz olacak şekilde tartılıp, manyetik karıştırıcı yardımıyla çözünmesi sağlandı. Çözünen besiyerleri pH değeri 5.8 şekilde ayarlanmış ve katılaşması için 6.8 g L⁻¹ plant agar eklendi. Daha sonra kültür ortamına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) konsantrasyonlarına göre 9 farklı grup oluşturuldu. Kombinasyon şeklinde besi yerlerine ilave edilen BBD grupları Çizelge 1'de gösterilmiştir. BBD içeren besiyerlerinde 5 hafta boyunca kallus indüksiyonuna bırakılan *A. deliciosa* eksplantlarının her bir kombinasyonu 3 tekrerrür olacak şekilde hazırlandı.

formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% = [(Kontrol\ Absorbans - Örnek\ Absorbans) / Kontrol\ Absorbans \times 100]$$

ABTS Aktivitesinin Belirlenmesi

Kallus örneklerinin ABTS• radikal süpürücü aktivite tayini için 7 mM ABTS ile 2.45 mM potasyum persülfat karıştırılarak çözelti hazırlandı. Bu çözelti 16 saat karanlık ortamda oda sıcaklığında bekletildi. ABTS ile potasyum persülfatın oksidasyonu sonucu oluşan ABTS• radikal katyonu çözeltisi 734 nm dalga boyunda absorpsansı 0.70 olacak şekilde etanol ile seyreltildi. Yoğunluğu ayarlanmış ABTS• radikal katyonundan 2 ml alıp üzerine 100 µL ekstrakt solüsyonu ekleyerek 15 dk karanlıkta bekletildi. Hazırlanan örneklerin absorpsanları 734 nm dalga boyunda ölçüldü. Ekstraktların ortamdaki ABTS radikallerinin ne kadarını yok ettiği aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\% \text{ ABTS Yok Etme Aktivitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀ kontrolün absorpsansı

A₁ örneklerin absorpsansı olacak şekilde denklem kurulmuştur (Pellegrini ve ark., 2003).

Toplam Fenolik Bileşik Miktarı Tayini

Toplam fenolik bileşik miktarları Singleton ve ark. (1999) metoduna göre yapıldı. Bunun için, 50 µL bitki ekstresi deney tüpüne alınarak üzerine 500 µL Folin - Ciocalteu reaktifi eklendi. 3 dk sonra 3 mL % 2' lik Na₂CO₃ çözeltisi eklenen örnekler 2 saat karanlıkta bekletildi. Bu sürenin sonunda 760 nm dalga boyunda örneklerin absorban değerleri spektrofotometrede okundu. Sonuçlar gallik asit çözeltisi ile hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre hesaplandı.

Toplam Flavonoid Madde Analizi

Toplam flavonoid madde miktarı analizi Kim ve ark. (2003) tarafından uygulanan metoda göre yapıldı. 200 µL ekstrakta 0.3 mL %5'lik NaNO₂ eklenip, 5 dakika bekletildi. 0.3 mL % 10'luk AlCl₃ ilave edildi daha sonra, 2 mL 1 M NaOH eklenip ve 2.4 mL saf su ilave edilerek karışım vorteks ile karıştırıldı ve UV-Vis spektrofotometre yardımıyla 510 nm'de ölçüldü. Bitki örneklerinin toplam flavonoid madde miktarları (+)-katesin ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplandı.

ADEK Vitaminleri ve Sterollerin HPLC Yöntemi ile Analizi

5 mL süpernatant 25 mL 'lik ağız kapaklı tüpler içine alınarak üzerine % 5'lik KOH çözeltisi ilave edildi ve 57 °C'de 2 saat bekletildi. Tüpler çıkartılarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve üzerine 5 mL distile su ilave edilerek karıştırıldı. Sabunlaşmayan lipofilik moleküller 2x5 mL hekzan ile ekstrakte edilerek nitrojen gazı altında çözücü uçuruldu. Daha sonra 1 mL (% 50 + % 50, v/v) asetonitril/metil alkol karışımında çözülerek otosampler viallerine alındı ve analizleri yapıldı. Analiz için PDA-UV dedektör kullanıldı, kolon olarak da Nucleodur C18 (15x4,6 cm, 5 µm; Sigma, USA) kolonu kullanıldı. 202 nm boyunda lipofilik vitaminler ile fitosterollerin analizleri gerçekleştirildi (Katsanidis & Addis 1999, López-Cervantes ve ark., 2005, Karpińska ve ark., 2006).

Yağ Asidi Düzeylerinin Gaz Kromatografisi İle Analizi

Ekstrakte edilmiş örneklerden 5'er ml deney tüplerine alınarak üzerine % 2'lik sülfürik asit ve metanol ilave edildi. 57 °C'lik etüvde 24 saat süre ile metilasyona bırakıldı. Oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 5 mL % 5' lik NaCl ilave edildi. Tüpler içinde oluşan yağ asidi metil esterleri 5 mL hekzan ile ekstre edilip, hekzan fazı üstten pipetle alınarak 5 mL % 2'lik KHCO₃ ile muamele edilip 24 saat bekletildi. Ayrılan fazlardan üstte kalan kısım, küçük cam tüplere alındı ve çözücüsü 37 °C'de etüvde uçurularak kalan kısım 1 ml kloroformda çözünerek gaz kromatografisi ile analizi yapıldı (Christie, 1990).

İstatistiksel Analiz

Bu çalışmadaki bütün parametreler 3 tekrarlı analiz edilmiştir. Verilerin doğruluk değerleri SPSS 15 paket programı kullanılarak, One-way ANOVA ile test edilmiştir. Sonuçlar, üç tekrarın ortalama ± standart sapması şeklinde ifade edilip, gruplar arasındaki farklılıklar da p ≤ 0.05 önemlilik seviyesinde ayırt edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

DPPH ve ABTS Aktiviteleri

DPPH aktivite tayini hızlı, kolay ve güvenilir olduğu için sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Antioksidan kapasite tayini olarak DPPH ve ABTS analizleri yapıldı. Bulgulara göre DPPH düzeyi kontrol grubuna göre A, B, C, D ve E etiketli gruplarda belirgin şekilde azaldığı tespit edilmesine rağmen F, G ve H etiketli gruplarda belirgin şekilde yüksek olduğu belirlendi. (p<0.001) (Çizelge 2). ABTS düzeyi kontrol grubuna göre D, E, F, G ve H gruplarında farklı oranlarda azaldığı gözlemlendi (p<0.05, p<0.001). Kontrol grubuna göre A grubunda kısmen artış (p<0.05) saptanmasına rağmen C grubunda istatistiksel farklılık bulunmadı (p>0.05) (Çizelge 2).

Toplam Fenolik

A. deliciosa bitkisinden elde edilen kallus ekstratlarının toplam fenolik madde içeriği analiz edildi. Sonuçlar gallik asit kalibrasyon eğrisine göre mg gallik asit eşdeğer g⁻¹ ekstre şeklinde ifade edilmiştir (Çizelge 2). Çizelge 2' deki toplam fenolik madde içeriklerinin düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre F grubunda kısmen bir azalma tespit edildi (p<0.05). Kontrol grubuna göre E grubundaki kısmen artış istatistiksel anlamda farklılık göstermemesine rağmen, diğer gruplarda toplam fenolik miktarının belirgin düzeyde yüksek olduğu belirlendi (p<0.001) (Çizelge 2).

Toplam Flavonoid

A. deliciosa kallus ekstratlarında bulunan toplam flavonoid bileşiklerin konsantrasyonları analiz edildi. Çizelge 2' teki toplam flavonoid madde içeriklerinin düzeyleri karşılaştırıldığında kontrol grubuna göre E grubunda kısmen artış, F grubunda kısmen azalma tespit edilse de istatistiksel farklılık bulunmadı (p>0.05). BBD'nin farklı konsantrasyonlarının uygulandığı diğer tüm gruplarda total flavonoid içeriğinin farklı oranlarda yüksek olduğu saptandı (p<0.01, p<0.001) (Çizelge 2).

ADEK Vitaminleri ve Fitosteroller

ADEK vitaminleri ile lipofilik fitosterollerin analizleri, HPLC cihazı ile yapıldı. Bu moleküllerden vitamin K2 düzeyi kontrol grubuna göre E, F, G ve H gruplarında belirgin düzeyde azaldığı halde B grubunda belirgin

düzye de yüksek olduğu gözlendi ($p < 0.001$). Kontrol grubuna göre D grubundaki artışın önemli düzeyde olduğu belirlendi ($p < 0.01$). Diğer gruplarda ise kontrol gruba göre istatistiksel farklılığın olmadığı tespit edildi ($p > 0.05$) (Çizelge 3).

δ -Tokoferol, Vitamin D2 ve Vitamin D3 düzeylerinin kontrol grubuna göre E, F ve H gruplarında belirgin düzeyde azaldığı saptandı ($p < 0.001$). δ -Tokoferol düzeyinin kontrol grubuna göre B ve D gruplarında farklı düzeylerde artışının olduğu belirlendi ($p < 0.05$)

($p < 0.001$) (Çizelge 3).

D2 vitamin düzeyleri kontrol grubuna göre farklı konsantrasyonun uygulandığı gruplarda birbirinden farklı oranlarda azaldığı tespit edildi ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$). A ve D gruplarında kontrol grubuna istatistiksel farklılık bulunmadı ($p > 0.05$) (Çizelge 3). D3 vitamin düzeyinin kontrol grubuna göre A, B, C, D ve G gruplarında farklı oranlarda artış gösterdiği belirlendi ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$) (Çizelge 3).

Çizelge 2. Farklı bitki büyüme düzenleyicileri ile stimule edilen *A. deliciosa* kallus kültürlerindeki antioksidan aktivitelerinin kontrol grubuna göre değişimi (Ortalama \pm Standart sapma)

Table 2. Variation of antioxidant activities of *A. deliciosa* callus cultures stimulated with different plant growth regulators compared to the control group (Mean \pm Standard deviation)

Gruplar	Total Fenolik	Total Flavonoid	DPPH	ABTS
K	3.29 \pm 0.36	0.57 \pm 0.02	67.19 \pm 0.97	76.57 \pm 0.63
A	24.49 \pm 2.47 ^d	2.64 \pm 0.24 ^d	85.46 \pm 0.26 ^d	80.45 \pm 0.23 ^b
B	15.61 \pm 0.82 ^d	1.17 \pm 0.04 ^c	84.64 \pm 0.25 ^d	74.32 \pm 0.46 ^a
C	22.48 \pm 0.22 ^d	2.15 \pm 0.04 ^d	83.01 \pm 0.66 ^d	77.83 \pm 0.32 ^a
D	14.30 \pm 0.29 ^d	1.38 \pm 0.02 ^c	83.42 \pm 0.84 ^d	72.61 \pm 0.21 ^b
E	5.22 \pm 0.21 ^b	0.62 \pm 0.04 ^a	76.82 \pm 1.31 ^d	63.15 \pm 1.19 ^d
F	1.37 \pm 0.02 ^b	0.24 \pm 0.02 ^a	53.00 \pm 2.48 ^d	34.41 \pm 2.07 ^d
G	27.96 \pm 0.42 ^d	3.29 \pm 0.34 ^d	35.08 \pm 3.04 ^d	48.37 \pm 2.60 ^d
H	34.62 \pm 0.41 ^d	2.92 \pm 0.20 ^d	33.45 \pm 1.46 ^d	22.88 \pm 0.96 ^d

K= Kontrol, A= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; B= 0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; C= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; D=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; E=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; F=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; G=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA; H=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA

a: $p > 0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemli değil

b: $p < 0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan kısmen önemli

c: $p < 0.01$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önem derecesi yüksek

d: $p < 0.001$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan belirgin düzeyde önemli

Çizelge 3. Farklı bitki büyüme düzenleyicileri ile stimule edilen *A. deliciosa* kallus kültürlerindeki lipofilik moleküllerin kontrol grubuna göre değişimi (Ortalama \pm Standart sapma)

Table 3. Change of lipophilic molecules in *A. deliciosa* callus cultures stimulated with different plant growth regulators compared to the control group (Mean \pm Standard deviation)

Gruplar	Vitamin K2	δ -Tokoferol	Vitamin D2	Vitamin D3	α -Tokoferol
Kontrol	0.73 \pm 0.03	1.20 \pm 0.04	32.17 \pm 12.35	9.40 \pm 0.83	12.28 \pm 1.02
A	0.73 \pm 0.07 ^a	7.46 \pm 0.06 ^d	22.62 \pm 0.91 ^a	22.13 \pm 0.87 ^d	18.91 \pm 1.41 ^d
B	2.07 \pm 0.00 ^d	0.55 \pm 0.17 ^d	18.88 \pm 0.29 ^b	22.60 \pm 0.54 ^d	6.11 \pm 0.40 ^d
C	0.75 \pm 0.05 ^a	1.11 \pm 0.00 ^a	17.97 \pm 0.75 ^b	10.93 \pm 0.36 ^b	10.93 \pm 0.44 ^a
D	0.55 \pm 0.05 ^c	1.40 \pm 0.03 ^b	28.09 \pm 0.59 ^b	11.35 \pm 0.21 ^c	18.06 \pm 0.38 ^d
E	0.31 \pm 0.01 ^d	0.20 \pm 0.00 ^d	3.71 \pm 0.39 ^d	4.22 \pm 0.07 ^d	5.82 \pm 0.45 ^d
F	0.40 \pm 0.07 ^d	0.14 \pm 0.01 ^d	2.93 \pm 0.46 ^d	3.55 \pm 0.13 ^d	7.91 \pm 0.48 ^d
G	0.37 \pm 0.02 ^d	0.95 \pm 0.06 ^b	18.09 \pm 0.25 ^b	11.73 \pm 0.52 ^c	5.53 \pm 0.19 ^d
H	0.22 \pm 0.02 ^d	0.37 \pm 0.02 ^d	5.47 \pm 0.11 ^d	5.33 \pm 0.17 ^d	5.80 \pm 0.39 ^d

K= Kontrol, A= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; B= 0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; C= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; D=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; E=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; F=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; G=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA; H=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA

a: $p > 0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemli değil

b: $p < 0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan kısmen önemli

c: $p < 0.01$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önem derecesi yüksek

d: $p < 0.001$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan belirgin düzeyde önemli

α -Tokoferol düzeyinin kontrol grubuna göre A ve D gruplarında belirgin düzeyde artış gösterdiği, diğer gruplarda azaldığı tespit edildi ($p<0.001$) (Çizelge 4). Ergosterol düzeyinin kontrol grubuna göre E, F ve H gruplarında belirgin şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.001$). C grubunda ise kontrol grubuna göre önemli düzeyde artış olduğu tespit edildi ($p<0.01$). Diğer gruplarda istatistiksel anlamda farklılık bulunmadı (Çizelge 4).

Stigmasterol düzeyinin kontrol grubuna göre D grubunda belirgin düzeyde arttığı, diğer gruplarda ise azaldığı belirlendi ($p<0.001$). B grubunda kontrol grubuna göre yükselme tespit edilse de istatistiksel

farklılık gözlenmedi ($p>0.05$) (Çizelge 4). β -Sitosterol düzeyi kontrol grubuna göre A grubunda belirgin düzeyde yüksek bulundu ($p<0.001$). D ve G gruplarında istatistiksel anlamda farklılık bulunmadı ($p>0.05$). B, E, F ve H gruplarında ise kontrol grubuna göre önemli düzeyde azaldığı ($p<0.01$) saptandı (Çizelge 4).

Retinol düzeyi kontrol grubuna göre bütün gruplarda belirgin düzeyde azaldığı saptandı ($p<0.001$). Retinol asetat miktarı ise kontrol grubuna göre G ve grubunda yüksek bulunmasına rağmen ($p<0.001$), diğer gruplar arasında farklılık gözlenmedi (Çizelge 4).

Çizelge 4. Farklı bitki büyüme düzenleyicileri ile stimule edilen *A. deliciosa* kallus kültürlerindeki lipofilik moleküllerin kontrol grubuna göre değişimi (Ortalama \pm SD)

Table 4. Change of lipophilic molecules in *A. deliciosa* callus cultures stimulated with different plant growth regulators compared to the control group (Mean \pm Standard deviation)

Gruplar	Ergosterol	Stigmasterol	β -Sitosterol	Retinol	Retinol asetat
Kontrol	2.35 \pm 0.14	389.31 \pm 12.10	122.91 \pm 5.29	2.35 \pm 0.14	0.11 \pm 0.00
A	2.51 \pm 0.05 ^a	250.40 \pm 3.57 ^d	203.82 \pm 1.93 ^d	0.44 \pm 0.04 ^d	0.07 \pm 0.00 ^a
B	1.46 \pm 0.10 ^d	408.80 \pm 9.00 ^a	87.15 \pm 3.05 ^d	0.31 \pm 0.00 ^d	0.09 \pm 0.00 ^a
C	3.13 \pm 0.21 ^c	142.93 \pm 6.96 ^d	100.73 \pm 1.61 ^c	0.95 \pm 0.07 ^d	0.07 \pm 0.00 ^a
D	2.29 \pm 0.05 ^a	729.08 \pm 20.22 ^d	113.42 \pm 0.39 ^a	0.67 \pm 0.00 ^d	0.07 \pm 0.00 ^a
E	0.48 \pm 0.04 ^d	41.33 \pm 1.41 ^d	66.84 \pm 2.47 ^d	0.24 \pm 0.04 ^d	0.11 \pm 0.02 ^a
F	0.51 \pm 0.06 ^d	38.51 \pm 1.67 ^d	87.42 \pm 6.62 ^d	0.33 \pm 0.00 ^d	0.09 \pm 0.02 ^a
G	2.64 \pm 0.26 ^a	99.17 \pm 3.63 ^d	114.20 \pm 3.50 ^a	0.11 \pm 0.00 ^d	0.35 \pm 0.28 ^d
H	0.55 \pm 0.02 ^d	55.11 \pm 2.90 ^d	71.84 \pm 9.17 ^d	0.41 \pm 0.06 ^d	0.11 \pm 0.02 ^a

K= Kontrol, A= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; B= 0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; C= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; D=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; E=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; F=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; G=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA; H=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA

a: $p>0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemli değil

b: $p<0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan kısmen önemli

c: $p<0.01$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önem derecesi yüksek

d: $p<0.001$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan belirgin düzeyde önemli

Yağ Asitleri

A. deliciosa bitki kalluslarında miristik (C14:0), pentadekenoik C15:1), palmitik (C16:0), palmitoleik (C16:1, n-7), stearik C18:0), oleik (C18:1, n-9), linoleik (C18:2, n-6) ve linolenik (C18:3, n-3) asitler gibi yağ asitlerinin bulunduğu belirlendi. Bu yağ asitlerinin farklı BBD uygulanan gruplar arasındaki değişimi incelendiğinde, miristik asit düzeyinin kontrol grubuna göre E, F ve G gruplarında belirgin düzeyde azaldığı halde, B ve D gruplarında belirgin düzeyde yükseldiği tespit edildi ($p<0.001$). Kontrol grubuna göre A grubunda miristik asit düzeyinde kısmen artış olduğu saptandı ($p<0.05$). G grubunda ise farklılık bulunmadı (Çizelge 5). Pentadekenoik asit düzeyi kontrol grubuna göre C ve G gruplarında belirgin düzeyde azaldığı halde, diğer bütün gruplarda yüksek olduğu ($p<0.001$) belirlendi (Çizelge 5). Palmitik asit düzeyinin kontrol grubuna göre A, B, E ve H gruplarında istatistiksel farklılık gözlenmedi

($p>0.05$) (Çizelge 5).

Palmitoleik asit düzeyinin kontrol grubuna göre G grubunda önemli düzeyde bir azaldığı belirlendi ($p<0.01$). Kontrol grubuna göre B ve E gruplarında istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Bunların dışındaki diğer gruplarda belirgin düzeyde azalma eğilimi ($p<0.001$) tespit edildi (Çizelge 5).

Stearik asit düzeyi kontrol grubuna göre A, C ve D gruplarında belirgin düzeyde azaldığı halde E, G ve H gruplarında artış gözlemlendi ($p<0.001$) (Çizelge 5). F grubunun kontrol grubuna göre artışı önemli düzeydeydi ($p<0.01$), B grubunda ise stearik asit düzeyinde istatistiksel farklılık bulunmadı ($p>0.05$) (Çizelge 5).

Oleik asit düzeyinin kontrol grubuna göre C ve F gruplarında istatistiksel farklılık göstermediği saptandı ($p>0.05$). G grubunda belirgin düzeyde artış tespit edildiği halde diğer bütün gruplarda belirli oranlarda azalmanın olduğu ($p<0.001$) belirlendi

(Çizelge 5). Linoleik asit düzeyinin kontrol grubuna göre C ve F gruplarında istatistiksel anlamda farklılık gözlenmedi ($p>0.05$). Diğer gruplarda ise belirgin düzeyde azalmanın ($p<0.001$) olduğu saptandı (Çizelge

5). Esansiyel yağ asitlerinden olan linolenik asit düzeyinin kontrol grubuna göre F ve G grupları haricinde diğer bütün gruplarda belirgin düzeyde artış gösterdiği ($p<0.001$) tespit edildi (Çizelge 5).

Çizelge 5. Farklı bitki büyüme düzenleyicileri ile stimule edilen *A. deliciosa* kallus kültürlerindeki yağ asidi değerlerinin kontrol grubuna göre değişimi (Ortalama \pm SD)

Table 5. Variation of fatty acid values in *A. deliciosa* callus cultures stimulated with different plant growth regulators compared to the control group (Mean \pm Standard deviation)

Gruplar	C14:0	C15:1	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
Kontrol	1.13 \pm 0.04	1.57 \pm 0.06	22.00 \pm 0.36	2.45 \pm 0.21	9.91 \pm 0.19	11.36 \pm 0.49	22.25 \pm 0.75	29.29 \pm 0.21
A	1.26 \pm 0.02 ^b	2.17 \pm 0.08 ^d	24.82 \pm 0.25 ^c	0.86 \pm 0.03 ^d	6.95 \pm 0.49 ^d	4.29 \pm 0.12 ^d	15.00 \pm 0.10 ^d	44.55 \pm 0.25 ^d
B	1.72 \pm 0.02 ^d	3.03 \pm 0.01 ^d	24.51 \pm 0.45 ^c	2.35 \pm 0.12 ^a	9.15 \pm 0.48 ^a	5.11 \pm 0.51 ^d	10.24 \pm 0.04 ^d	44.00 \pm 0.05 ^d
C	1.30 \pm 0.02 ^c	1.00 \pm 0.04 ^d	22.48 \pm 0.61 ^a	1.23 \pm 0.06 ^d	7.18 \pm 0.07 ^d	9.92 \pm 0.41 ^a	21.30 \pm 0.27 ^a	35.64 \pm 0.25 ^d
D	2.02 \pm 0.01 ^d	2.21 \pm 0.02 ^d	23.19 \pm 0.87 ^a	1.85 \pm 0.03 ^d	6.80 \pm 0.21 ^d	7.84 \pm 0.06 ^d	13.92 \pm 0.35 ^d	42.12 \pm 0.14 ^d
E	0.75 \pm 0.04 ^d	5.16 \pm 0.04 ^d	24.44 \pm 0.57 ^c	2.20 \pm 0.02 ^a	11.82 \pm 0.19 ^b	8.27 \pm 0.43 ^d	15.89 \pm 0.37 ^d	31.51 \pm 0.24 ^b
F	0.70 \pm 0.09 ^d	2.47 \pm 0.08 ^d	23.59 \pm 0.40 ^a	1.03 \pm 0.03 ^d	11.38 \pm 0.17 ^b	11.18 \pm 0.41 ^a	22.10 \pm 0.45 ^a	27.58 \pm 0.22 ^b
G	1.07 \pm 0.01 ^a	0.83 \pm 0.04 ^d	23.12 \pm 0.75 ^a	2.12 \pm 0.05 ^c	14.52 \pm 0.43 ^d	22.18 \pm 1.27 ^d	10.32 \pm 0.23 ^d	25.82 \pm 0.10 ^c
H	0.67 \pm 0.01 ^d	3.71 \pm 0.06 ^d	24.91 \pm 0.52 ^c	1.07 \pm 0.00 ^d	13.07 \pm 0.02 ^d	6.21 \pm 0.14 ^d	15.75 \pm 0.28 ^d	34.68 \pm 0.43 ^d

K= Kontrol, A= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; B= 0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP; C= 0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; D=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP; E=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; F=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹ IBA; G=0.25 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA; H=0.50 mg L⁻¹ NAA + 1.5 mg L⁻¹ BAP + 1 mg L⁻¹ IBA

a: $p>0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önemli değil

b: $p<0.05$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan kısmen önemli

c: $p<0.01$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan önem derecesi yüksek

d: $p<0.001$ Gruplar arasındaki farklılıklar istatistiki açıdan belirgin düzeyde önemli

SONUÇ ve ÖNERİLER

Bitki yaprak eksplantlarında kallus oluşumunu uyarmak için eksojen bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanılması gerekmektedir. Bitki büyüme düzenleyicilerinden oksin ve sitokin türevleri, hücre bölünmesinin düzenlenmesinde önemli rol oynar (Grossmann, 2009; Schaller ve ark., 2014). Oksin türevi olan NAA ve sitokin türevi olan BAP kullanılmasıyla mitotik hücre döngüsünün gelişim yollarını aktive eden hormon sinyal yollarının aktivitesi artırılmış olur ve kallus oluşumu desteklenir (Ikeuchi ve ark., 2013). Kallus kültürleri sınırlı sayıda bitki materyalinin sayısını çoğaltma avantajına sahiptir. Aynı zamanda mevsimlik kısıtlamalara rağmen üretimde istenilen ürünleri bütün yıl boyunca üretme imkan sağlar. Bazı sekonder metabolitlerin ekstraksiyonu organize olmuş bitki organ dokulardan daha zor elde edilirken kallus kültürlerinden kolay elde edilir (Keskin ve Kunter, 2007; Maharik ve ark., 2009; Çetin ve ark., 2011). Sekonder metabolit üretiminde kallus kültürleri diğer *in vitro* yapılan diğer biyoteknolojik yöntemlere göre daha fazla kullanılmaktadır. Kallus kültürlerinin kullanılması ile elde edilmesi hedeflenmiş bileşiğin miktarı, ortamda kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri, uyarıcı veya öncü maddeler katkısı ile düzenlenerek artırılabilir (Demir, 2018). Bu çalışmada önemli derecede yüksek fenolik içeriği sergilemiş olan A grubundaki kallus hücrelerinin aynı derecede önemli DPPH aktivitesi gösterdiği

görülmektedir. Buda kallus hücrelerinin antioksidan aktivitesinin fenolik içeriklerinin yüksek olmasından kaynaklandığını göstermektedir. Polifenoller, sahip oldukları hidroksil gruplarından dolayı radikalleri yok etme kabiliyetine sahip bileşiklerdir (Das & Pereira, 1990). Bu nedenle bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitesini belirlemek için fenolik bileşik miktarının belirlenmesi oldukça önemlidir (Hatano ve ark., 1989). Bu çalışma sonuçlarında, toplam fenol içeriği ve toplam flavonoid içeriği ile antioksidan aktiviteler arasında pozitif bir korelasyonun bulunması daha önceki çalışmalarla desteklenebilmektedir (Sengül ve ark., 2009; Jayasinghe ve ark., 2003). Flavonoidler, hidroksil gruplarının radikalleri süpürebilme özelliklerinden dolayı antioksidan etkileriyle bilinirler (Nacz & Shahidi, 2004). Ekstraktların serbest radikal temizleme aktiviteleri, antioksidan bileşiklerin hidrojen kaybetme yeteneklerine ve bu bileşenlerin yapısal konformasyonlarına bağlıdır (Fukumoto ve ark., 2000; Baskar ve ark., 2008). Kausalya ve Bai'nin yaptığı çalışmada NAA ve BAP uygulaması yapılmış bitki eksplantlarının oluşturduğu kalluslarda DPPH aktivite değerleri arasındaki korelasyon bu çalışmadaki DPPH aktivite sonuçlarını desteklemektedir (Kausalya & Bai, 2016). ABTS radikal katyonu analizi antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için kullanılan bir diğer yöntemdir. Sodyum persülfat ile inkübasyonda ABTS serbest radikali, koyu mavi renk oluşturur.

Antioksidanlara karşı oldukça reaktif olan ABTS kationunu oluşturur. Bir antioksidan ile karıştırıldığında, radikal olmayan bir forma dönüştürülen ABTS radikallerine bir elektron verir. Mavi renk yoğunluğundaki azalma, ABTS radikalının azaldığını gösterir. Kausalya ve Bai, (2016), tarafından yapılan bir çalışmada IBA ile desteklenmiş MS ortamlarındaki kallusun düşük ABTS aktivitesi ile oksin yoğunluğunun arttırıldığı MS ortamlarındaki düşük ABTS aktivitesi bu çalışmanın bulgularını desteklemektedir. Bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulandığı bütün gruplarda DPPH aktivitesinin bulgularında istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiş olsa da *A. deliciosa* kallus ekstraktlarının DPPH radikalini temizleme konusunda ABTS kation radikalinden daha güçlü olduğu da tespit edilmiştir (Giri ve ark., 2012). Khoo ve ark. (2015)'nin yaptığı çalışmadaki DPPH aktivitesine bağlı ve fenolik madde miktarı arasındaki ilişkiye benzerlik göstermektedir. Toplam fenolik ve toplam flavonoid miktarlarının bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulaması ile artması, fenoller ve flavonoidleri sentezlemek için fenilpropanoid yolunda stratejik bir enzim olan fenilalanin amonyak-liyaz'ın (PAL) daha yüksek aktivitesi ile de bağlantılı olabilir (Ali ve ark., 2018). Fenilpropanoid ve flavonoid biyosentetik yolu, bitki doku kültüründe eksojen hormon uygulamaları ile metabolik aktivite sergileyen mekanizmalarından biridir (Barber ve ark., 2000). F grubundaki kallus hücrelerinde fenolik madde miktarının azalması, doku kültürlerinde salgı yapılarının yokluğu ile ilişkilendirilebilir. Salgı maddelerinin yokluğu öncü enzim aktivitelerinin olmamasına sebep olur bu da ikincil metabolitlerin birikimini sınırlayabilmektedir (Smetanska, 2018). Kalluslardaki toplam flavonoid değerleri bitki için oldukça önemli olan sekonder metabolitlerin üretiminin bitki büyüme düzenleyicileri tarafından desteklendiği bilinmektedir (Kumar ve ark., 2020).

Kültür ortamında geliştirilen *A. deliciosa* bitkisinin kalluslarının yağ asidi kompozisyonu içinde palmitik, stearik, oleik, linoleik ve linoleik asitlerin yüksek oranda olduğu belirlenmiştir. Miristik asit, pentadekenoik ve palmitoleik asitlerin toplam oranının ise ancak % 5'i oluşturduğu gözlenmiştir. Bilindiği gibi palmitik asit bitkisel organizmalarda yağ asidi sentetaz enziminin son ürünüdür. Palmitik asit miktarının kontrol grubuna göre A, B, E ve H gruplarında yükseldiği belirlenmiştir. Bu gruplara bitki büyüme maddesi, NAA, BAP ve IBA karışımları değişik konsantrasyonlarda verilmiştir. Palmitik asit miktarındaki artışın meydana gelmesi lipid biyosentezi olayının yürüdüğünü ve yağ asidi sentetaz enzim ekspresyonunun bir artışın olduğunu gösterir. Özellikle A ve B gruplarına uygulanan oksin türevi NAA ve sitokinin türevi BAP kombinasyonunun

bu olayda önemli bir rol oynadığı görülmüştür. E ve H grubunda bu karışıma IBA eklenmesinin sonuca etki etmediği görülmektedir. Diğer uygulama gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel farklılığın gözlenmemesi uygulama yapılan konsantrasyonlarda yağ asidi sentetaz üzerinde etkili olmadığı sonucuna varılabilir. Del poza ve ark. (2005), oksinlerin biyosentetik metabolizma üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ve George ve ark. (2008) oksinlerin bitki büyümesini kolaylaştırma için hücre bölünmesi ve gelişimi üzerinde etkilerinin olduğunu vurgulamışlardır. Aly ve ark. (2008), 2,4-D ve benziladenin (BA) 'in *in vitro* olarak yağ asitleri sentezinin uyarılması üzerindeki etkisini incelemişler ve besi ortamındaki büyüme düzenleyicilerinin değişmesiyle yağ asidi içeriklerinde farklılıklar olduğunu tespit etmişlerdir. Kontrol grubuna göre bitki büyüme düzenleyicisi eklenen kombinasyon gruplarında uzun zincirli doymuş yağ asitlerinden palmitik (C16:0) ve stearik asit (C18:0) düzeylerinde azalma olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık farklı büyüme düzenleyicisi kombinasyonları ile farklı besiyerlerinde yetiştirilen bitkilerde oleik asit (C18:1) ve linolenik asit (C18:3) değerlerinin arttığı saptanmıştır. Doymuş yağ asitlerinden stearik asit oranı kontrol grubuna göre A, C ve D gruplarında azaldığı halde, E, F, G ve H gruplarında yükselmiştir. Bitkilerde stearik asidin tek kaynağı palmitik asitten elongaz enzimi vasıtasıyla 2 C'lu asetil biriminin eklenmesi ile stearik asidin oluşmasıdır. A ve C gruplarına farklı konsantrasyonlarda aynı bitki büyüme maddeleri uygulanmasına rağmen D grubuna IBA ilavesi de sonucu değiştirmemiştir. Ancak diğer gruplardaki farklı kombinasyon ve konsantrasyonların elongaz enzimi üzerinde arttırıcı bir etkiye sahip olduğu düşünülebilir. Stearik asit grup sonuçlarının Aly ve ark. (2008)'nin yapmış oldukları çalışma sonuçlarının aksine bitki büyüme düzenleyicilerinin içeriğinin artmasıyla stearik asit miktarının da arttığı görülmektedir. Bu çalışmadaki sonucun farklı bitki türünün materyal olarak kullanılması ve uygulanan BBD maddelerinin farklılığından kaynaklı olduğu düşünülebilir. Palmitoleik asit oranı kontrol grubuna göre A, C, D, F ve H gruplarında ve oleik asit oranı da F grubu dışında diğer gruplarda azaldığı saptanmıştır. Palmitoleik ve oleik asitler delta 9 desaturaz veya sterol CoA desaturaz (SCD) olarak bilinen enzim molekülünün son ürünüdürler. Palmitoleik asit palmitik asitten ve oleik asit de stearik asitten SCD enzim aktivitesiyle sentezlenir. Kontrol grubuna göre G grubu kalluslarında oleik asit miktarı iki kat artmıştır. G grubunun bitki büyüme madde konsantrasyonu uygun düzeyde olduğu için SCD enzim üzerinde pozitif etki yaparak oleik asit miktarında yükselme olduğu düşünülebilir.

18 C'lu yağ asitlerinden linoleik asit de oleik asit miktarında olduğu gibi A, B, D, E, G ve H gruplarında kontrol grubuna göre azalmıştır. C ve F gruplarında ise kontrol grubuna göre farklılık bulunmamıştır. Bitkilerde linoleik asit sentezi Δ^{12} desaturaz enzimi tarafından katalize edilmektedir. Δ^{12} desaturaz enzimi substrat olarak oleik asidi kullanılır. Bu enzim karbon zincirinde 11. ile 12. C atomları arasına bir çift bağ girişi sağlar ve linoleik asit (18:2, $\Delta^{9,12}$) sentezini sağlar (He & Ding 2020; He ve ark., 2020). Besiyerine uygulanan bitki büyüme düzenleyicilerinin SCD enzim üzerinde inhibitör etkiye sahip olduğu gibi, Δ^{12} desaturaz enzimi üzerinde de inhibitör etkiye sahip olduğu düşünülebilir veya Δ^{12} desaturaz enzimin substratı olan oleik asit miktarının azalmasından dolayı bu gruplarda da linoleik asit miktarının azaldığı sonucuna varılabilir. Linoleik asit miktarı azalmasına rağmen, A, B, C, D ve H gruplarında linolenik asit miktarlarında değişik oranlarda artış gözlenmiştir. Linolenik asit (18:3, $\Delta^{9,12,15}$) Δ^{15} desaturaz enzimi tarafından sentezlenen bir yağ asididir. Linolenik asit, bitkilerde 18 C'lu olan ve çift bağ taşıyan yağ asidi metabolizmasının son basamağında yer alır (He ve ark., 2020). Kontrol grubuna göre F ve G grubu dışında diğer gruplarda linolenik asit miktarının artması 18 C'lu ve çift bağlı yağ asidi metabolizmasının son basamağında yer almasından kaynaklanabilir. Çünkü ara metabolitler olarak kabul edilen 18:1 ve 18:2'in miktarı kontrol grubuna göre oksin ve sitokin türevi ilave edilen gruplarda azaldığı belirlenmiştir. Özellikle A, B ve D gruplarında uygulanan oksin ve sitokin türevi BBD konsantrasyonlarının Δ^{15} desaturaz enzim aktivitesini arttırmada oldukça olumlu etkiye sahip olduğu söylenebilir. Yağ asitleri dışında diğer lipofilik moleküller, ADEK vitaminleri ile fitosterollerdir. Bitki hücrelerindeki fitosteroller içinde ergosterol, stigmasterol ve β -Sitosterol molekülleri bulunmaktadır. Bitkilerde A vitamini olarak bilinen retinol yüksek oranda bulunmaz, bunun yerine beta karoten bulunur. Bitkilerde karotenoidler, terpenler, skualen, giberellinler, steroller ve fitol gibi diğer önemli bileşiklerin sentezi izoprenoid yolu vasıtasıyla plastidlerde içinde sentezlenir. Tüm izoprenoidler, izopentenil difosfattan (IDP) sentezlenir. Plastidlerdeki başlıca IDP kaynağı, 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA ve mevalonik asit yoluyla piruvat ve gliseraldehit-3-fosfattan kaynaklanır (Lichtenthaler ve ark., 1997). Bu çalışmada lipofilik moleküller içinde D vitaminleri, vitamin E, stigmasterol ve β -Sitosterol değerleri yüksek bulunmuştur. Diğer lipofilik moleküller bileşenlerin değerleri ise daha düşük miktarlarda bulunmuştur. Bitkilerde D2 vitamini ergosterol molekülünün öncülüdür. D2 vitamini miktarı kontrol grubuna göre azalmış, ergosterol miktarı da A, D ve G grupları haricinde diğer gruplarda azaldığı saptanmıştır. Diğer fitosterollerden stigmasterol kontrol grubuna göre B grubunda yüksek miktarda olduğu halde, diğer

gruplarda bu miktar azalmıştır. Ayrıca, β -Sitosterol miktarının kontrol grubuna göre D ve G gruplarında değişim göstermediği halde diğer gruplarda azaldığı belirlenmiştir. Steroller, bütün ökaryotik hücrelerde bulunan temel işlevleri olan izoprenoid sınıfına ait doğal organik bileşiklerdir. Fosfolipidler ile birlikte steroller, hücre zarının yapısal bileşenleridir ve hücre zarının geçirgenliği ile akışkanlığının korunmasına katkıda bulunurlar (Hartmann, 1998; Clouse, 2002). Steroller, membran yapısındaki açıl zincir yapısının düzenlenmesine yardımcı olarak, hücre zarlarının alan yapısını sürdürmesini ve güçlendirilmesini sağlar (Schaller, 2004; Dufourc, 2008). Bazı steroller ayrıca sfingolipidlerle mikro alanlar olarak adlandırılan özel yapılar oluşturarak membranlarla ilişkili metabolik süreçleri kontrol etmede rol oynarlar. Bu çalışmada oksin ve sitokin türevi BBD ilave edilmiş gruplarda vitamin ve sterol moleküllerinin miktarlarının azaldığı belirlenmiştir. Genellikle oksin ve sitokin türevleri metabolik olayları artırıcı yönde etkili olmasına rağmen *A. deliciosa* kalluslarında bu maddelerin miktarlarında azalma olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak bitkilerde bitkisel hormonlar dahil bu moleküllerin izoprenoid adı verilen metabolik yoldaki sentezde moleküller arasındaki çakışmalardan kaynaklanacağı düşünülebilir. *A. deliciosa* bitkisinin kalluslarının oluşumunda uygulanmış BBD'ler, bitki tarafından sentezlenen BBD molekülleri ile antagonistik ilişkiye girerek bu moleküllerin miktarında azalmaya neden olduğu düşünülebilir (Yavaş & Yelda, 2021).

Vitamin E molekülünün aktif formu olan α -tokoferol miktarının A ve D grupları haricinde diğer gruplarda azaldığı belirlenmiştir. α -tokoferol, yağ asidi metabolizması ve hücre zarı koruması için gereklidir. Antioksidan potansiyeli çok yüksek bir molekül olduğu için serbest radikal zincir reaksiyonlarını kırma ve çoklu doymamış yağ asitlerini ve hücre zarlarını koruma eğilimindedir (Hata ve ark., 2010; Tufaralli, 2014).

Sonuç olarak oksin ve sitokin türevleri olan NAA, BAP ve IBA gibi bitki büyüme düzenleyicileri *A. deliciosa* bitkisi kalluslarının polifenolik bileşikler içeriğinde, yağ asidi ve lipofilik moleküller içeriğinde konsantrasyon ve kombinasyon şekline bağlı olarak pozitif veya negatif yönde etkilere sahip olduğu gözlenmiştir. *A. deliciosa* kallus dokularında gözlenen pozitif etkilerle hedef sekonder metabolit üretimi ve izolasyonu için sonraki çalışmalara öncü bir çalışma niteliğindedir. Ayrıca bu çalışma sonuçları *in vitro* ortamda yetiştirilen bitkilerdeki yağ asidi bileşenlerinin tespiti için de literatüre katkı sağlamaktadır.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

- Açıkgöz, M.A., Kara, Ş.M., Aygün, A., Özcan M.M, & Ay, E.B. (2019). Effects of methyl jasmonate and salicylic acid on the production of camphor and phenolic compounds in cell suspension culture of endemic Turkish yarrow (*Achillea gypsicola*) species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43(3), 351-359.
- Ali, H., Khan, M.A., Ullah, N., & Khan, R.S. (2018). Impacts of hormonal elicitors and photoperiod regimes on elicitation of bioactive secondary volatiles in cell cultures of *Ajuga bracteosa*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 183, 242-250.
- Aly, M. A., Amer, E. A., Al-Zayadneh, W. A., & Eldin, A. E. N. (2008). Growth regulators influence the fatty acid profiles of in vitro induced jojoba somatic embryos. *Plant cell, tissue and organ culture*, 93, 107-114.
- Barber, M. S., McConnell, V. S., & DeCaux, B. S. (2000). Antimicrobial intermediates of the general phenylpropanoid and lignin specific pathways. *Phytochemistry*, 54(1), 53-56.
- Baskar, R., Lavanya, R., Mayilvizhi, S., & Rajasekaran, P. (2008). Free radical scavenging activity of antitumour polysaccharide fractions isolated from *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. karst.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 10(4), 221-247.
- Chawla, H.S. & Wenzel G. (1987). Regeneration potential of callus from wheat and barley. *Archiv für Züchtungsforschung*. 17(6), 337-343.
- Christie, W.W. (1990). Gas chromatography and lipids, *The Oily Press*, 1-184.
- Clouse, S. D. (2002). Arabidopsis mutants reveal multiple roles for sterols in plant development. *The Plant Cell*, 14(9), 1995-2000.
- Çetin, E. S., Uzunlar, F., & Baydar, N. G. (2011). UV-C uygulamasının Gamay üzüm çeşidine ait kalluslarda sekonder metabolit üretimi üzerine etkileri. *Gıda*, 36(6), 335-342.
- Das, N. P., & Pereira, T. A. (1990). Effects of flavonoids on thermal autoxidation of palm oil: Structure-activity relationships. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 67(4), 255-258.
- Del Pozo, J. C., Lopez-Matas, M. A., Ramirez-Parra, E., & Gutierrez, C. (2005). Hormonal control of the plant cell cycle. *Physiologia Plantarum*, 123(2), 173-183.
- Demir, E. (2018). Akselik juvenil sakız ağacı (*Pistacia lentiscus* L.) eksplantlarından kallus kültürlerinin başlatılması ve optimizasyonu (Master's thesis, Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Dufourc, E. J. (2008). The role of phytosterols in plant adaptation to temperature. *Plant signaling & behavior*, 3(2), 133-134.
- Ekşi, A. & Özen, İ. T. (2012). Kivi meyvesinin kimyasal bileşenleri ve fonksiyonel özellikleri. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(2), 54-67.
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(8), 3597-3604.
- George, E. F., Hall, M. A., & Klerk, G. J. D. (2008). Plant growth regulators I: introduction; auxins, their analogues and inhibitors. *Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background*, 175-204. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Giangrieco, I., Proietti, S., Moscatello, S., Tuppo, L., Battistelli, A., La Cara, F., ... & Ciardiello, M. A. (2016). Influence of geographical location of orchards on green kiwifruit bioactive components. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 64(48), 9172-9179.
- Giri, L., Dhyani, P., Rawat, S., Bhatt, I. D., Nandi, S. K., Rawal, R. S., & Pande, V. (2012). In vitro production of phenolic compounds and antioxidant activity in callus suspension cultures of *Habenaria edgeworthii*: A rare Himalayan medicinal orchid. *Industrial Crops and Products*, 39, 1-6.
- Grossmann, K. (2010). Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 66(2), 113-120.
- Guo, J., Yuan, Y., Dou, P., & Yue, T. (2017). Multivariate statistical analysis of the polyphenolic constituents in kiwifruit juices to trace fruit varieties and geographical origins. *Food chemistry*, 232, 552-559.
- Halliwell, B. (2008). Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and in vivo studies?. *Archives of biochemistry and biophysics*, 476(2), 107-112.
- Hartmann, M. A. (1998). Plant sterols and the membrane environment. *Trends in plant science*, 3(5), 170-175.
- Hata, M., Ishii, Y., Watanabe, E., Uoto, K., Kobayashi, S., Yoshida, K. I., ... & Ando, A. (2010). Inhibition of ergosterol synthesis by novel antifungal compounds targeting C-14 reductase. *Medical mycology*, 48(4), 613-621.
- Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., MORI, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., & OKUDA, T. (1989). Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI.: effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,

- 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 37(8), 2016-2021.
- He, M., & Ding, N. Z. (2020). Plant unsaturated fatty acids: multiple roles in stress response. *Frontiers in plant science*, 11, 562785.
- He, M., Qin, C. X., Wang, X., & Ding, N. Z. (2020). Plant unsaturated fatty acids: biosynthesis and regulation. *Frontiers in Plant Science*, 11, 390.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The plant cell*, 25(9), 3159-3173.
- Jayasinghe, C., Gotoh, N., Aoki, T., & Wada, S. (2003). Phenolics composition and antioxidant activity of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 51(15), 4442-4449.
- Karpińska, J., Mikołuc, B., Motkowski, R., & Piotrowska-Jastrzębska, J. (2006). HPLC method for simultaneous determination of retinol, α -tocopherol and coenzyme Q10 in human plasma. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 42(2), 232-236.
- Katsanidis, E. & Addis, P.B. (1999). Novel HPLC analysis of tocopherols and cholesterol in tissue. *Free Radical Biology and Medicine*, 27, 1137-1140.
- Keskin, N., & Kunter, B. (2007). Ercis üzüm çeşidinin kallus kültürlerinde UV ışını etkisiyle resveratrol üretiminin uyarılması. *Journal of Agricultural Sciences*, 13(04), 379-384.
- Khoo, L. W., Mediani, A., Zolkeflee, N. K. Z., Leong, S. W., Ismail, I. S., Khatib, A., ... & Abas, F. (2015). Phytochemical diversity of *Clinacanthus nutans* extracts and their bioactivity correlations elucidated by NMR based metabolomics. *Phytochemistry Letters*, 14, 123-133.
- Kim, D. O., Jeong, S. W., & Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326.
- Kousalya, L., & Bai, V. N. (2016). Effect of growth regulators on rapid micropropagation and antioxidant activity of *Canscora decussata* (Roxb.) Roem. & Schult.—A threatened medicinal plant. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(2), 161-170.
- Kumar, S. S., Arya, M., Mahadevappa, P., & Giridhar, P. (2020). Influence of photoperiod on growth, bioactive compounds and antioxidant activity in callus cultures of *Basella rubra* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 209, 111937.
- Kumar, S., & Sharma, D. R. (2002). Review Article In vitro propagation of kiwifruit. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77(5), 503-508.
- Kumlay, A. M., & Ercisli, S. (2015). Callus induction, shoot proliferation and root regeneration of potato (*Solanum tuberosum* L.) stem node and leaf explants under long-day conditions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(6), 1075-1084.
- Lichtenthaler, H. K., Schwender, J., Disch, A., & Rohmer, M. (1997). Biosynthesis of isoprenoids in higher plant chloroplasts proceeds via a mevalonate-independent pathway. *FEBS letters*, 400(3), 271-274.
- López-Cervantes J, Sánchez-Machado DI, Ríos-Vázquez NJ. (2005). High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol, alpha-tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate. *Chromatography*, 10;1105(1-2), 135-9.
- Maharik, N., Elgengaihi, S., & Taha, H. (2009). Anthocyanin production in callus cultures of *Crataegus sinaica* boiss. *Int J Acad Res*, 1(1), 30-34.
- Mantell, S. H., & Smith, H. (1983). Cultural factors that influence secondary metabolite accumulations in plant cell and tissue cultures. In *Seminar series-society for experimental biology*.
- Mohammed S., Suresh M. (2020). Antifungal efficacy and mechanism of flavonoids Antibiotics, Basel, Switzerland, 9 pp. 1-58.
- Mok, M. C., Gabelman, W. H., & Skoog, F. (1976). Carotenoid Synthesis in Tissue Cultures of *Daucus carota* L. 1. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 101(4), 442-449.
- Mulabagal, V., & Tsay, H. S. (2004). Plant cell cultures—an alternative and efficient source for the production of biologically important secondary metabolites. *International journal of applied science and engineering*, 2(1), 29-48.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Pinelli, P., Romani, A., Fierini, E., Remorini, D., & Agati, G. (2013). Characterisation of the Polyphenol Content in the Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) Exocarp for the Calibration of a Fruit-sorting Optical Sensor. *Phytochemical Analysis*, 24(5), 460-466.
- Procházková, D., Boušová, I., & Wilhelmová, N. (2011). Antioxidant and prooxidant properties of flavonoids. *Fitoterapia*, 82(4), 513-523.
- Ramirez-Estrada, K., Vidal-Limon, H., Hidalgo, D., Moyano, E., Golenioswki, M., Cusidó, R. M., & Palazon, J. (2016). Elicitation, an effective strategy for the biotechnological production of bioactive high-added value compounds in plant cell factories. *Molecules*, 21(2), 182.
- Rout, G. R., Samantaray, S., & Das, P. (2000). In vitro manipulation and propagation of medicinal

- plants. *Biotechnology advances*, 18(2), 91-120.
- Schaller, G. E., Street, I. H., & Kieber, J. J. (2014). Cytokinin and the cell cycle. *Current opinion in plant biology*, 21, 7-15.
- Schaller, H. (2004). New aspects of sterol biosynthesis in growth and development of higher plants. *Plant physiology and biochemistry*, 42(6), 465-476.
- Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., & Ercisli, S. (2009). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22(1), 102-106.
- Shinde, A. N., Malpathak, N., & Fulzele, D. P. (2010). Determination of isoflavone content and antioxidant activity in *Psoralea corylifolia* L. callus cultures. *Food Chemistry*, 118(1), 128-132.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Methods in enzymology*. 299, 152-178.
- Smetanska, I. (2018). Sustainable production of polyphenols and antioxidants by plant in vitro cultures. In *Bioprocessing of plant in vitro systems* (pp. 225-269). Springer, Cham.
- Tufarelli, V. (2014). Enhancing egg quality by dietary vitamin E and selenium supplementation. *Vitamins and Minerals*, 3, e131.
- Vasil, I. K., Constabel, F., & Schell, J. (Eds.). (1984). Cell culture and somatic cell genetics of plants (Vol. 1, pp. 645-p). New York: Academic Press.
- Verpoorte, R., Contin, A., & Memelink, J. (2002). Biotechnology for the production of plant secondary metabolites. *Phytochemistry reviews*, 1, 13-25.
- Wang, K., Li, M., Han, Q., Fu, R., & Ni, Y. (2021). Inhibition of α -amylase activity by insoluble and soluble dietary fibers from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Bioscience*, 42, 101057.
- Yavaş, İ., & Yelda, E. M. E. K. (2021). Bitkilerin Abiyotik Stres Koşullarıyla Başa Çıkmasına Yardımcı Strigolaktonlar. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (31), 686-690.
- Yesil-Celiktas, O., Nartop, P., Gurel, A., Bedir, E., & Vardar-Sukan, F. (2007). Determination of phenolic content and antioxidant activity of extracts obtained from *Rosmarinus officinalis* 'calli'. *Journal of plant physiology*, 164(11), 1536-1542.