

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ENGİNARIN (*Cynara scolymus* L.) *İN VİTRO* STERİLİZASYON VE MİKRO
ÇOĞALTIMINDA NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIM OLANAKLARI**

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2025

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**ENGİNARIN (*Cynara scolymus* L.) *İN VİTRO* STERİLİZASYON VE MİKRO
ÇOĞALTIMINDA NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIM OLANAKLARI**

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2025

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENGİNARIN (*Cynara scolymus* L.) *İN VİTRO* STERİLİZASYON VE MİKRO
ÇOĞALTIMINDA NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIM OLANAKLARI**

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2025

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENGİNARIN (*Cynara scolymus* L.) *İN VİTRO* STERİLİZASYON VE MİKRO
ÇOĞALTIMINDA NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIM OLANAKLARI**

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez .../.../2025 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Halime ÜNLÜ

Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ

ÖZET

ENGİNARIN (*Cynara scolymus* L.) *İN VİTRO* STERİLİZASYON VE MİKRO ÇOĞALTIMINDA NANOPARTİKÜLLERİN KULLANIM OLANAKLARI

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN

Yüksek Lisans, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Temmuz 2025; 40 sayfa

Enginarın (*Cynara scolymus* L.) çoğaltılmasında mikroçoğaltım, geleneksel yöntemlere kıyasla değerli bir alternatif sunmaktadır. Ancak, sürekli karşılaşılan mikrobiyal kontaminasyon sorunu, genellikle fitotoksik olabilecek sterilizasyon ajanlarının kullanımını gerektirmekte ve bu durum önemli bir zorluk oluşturmaktadır. Bu yüksek lisans tezinde, Bayrampaşa enginarı eksplantlarının *in vitro* sterilizasyon ve mikroçoğaltım protokolünün optimize edilmesi amaçlanmıştır; bu kapsamda gümüş nanopartiküllerin (AgNP) ve çinko nanopartiküllerin (ZnNP) hem antimikrobiyal hem de büyümeyi teşvik edici ajanlar olarak etkinliği araştırılmıştır. Ön denemeler, geleneksel sterilizasyon yöntemleri ile yüksek oranda kontaminasyon görüldüğünü ortaya koymuş ve bu durum, protokolün birkaç ardışık adımda iyileştirilmesini gerekli kılmıştır.

Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar laboratuvarında çalışma gerçekleştirilmiş olup, farklı konsantrasyonlarda (1, 2 ve 3 mg/L) gümüş nanopartiküller (AgNPs) veya çinko nanopartiküller (ZnNPs) içeren, modifiye edilmiş Murashige ve Skoog (MS) temel besin ortamında kültüre alınan enginar sürgün eksplantlarının büyüme ve gelişimi değerlendirilmiştir. Nanopartiküller içermeyen bir kontrol grubu da çalışmaya dahil edilmiştir. Sekiz haftalık inkübasyon süresinin ardından yapılan nicel değerlendirme, farklı uygulamalar arasında eksplant büyüme uzunluğu bakımından anlamlı varyasyonlar olduğunu ortaya koymuştur.

Gümüş nanopartiküller (AgNP) içeren 2 mg/L konsantrasyonlu ortam, en fazla gelişim gösteren ortam olmuş ve bu ortamda bir eksplant 6 cm uzunluğa ulaşmıştır. Diğer uygulamalar ise farklı büyüme tepkileri ortaya koymuştur. 2 mg/L ZnNPs ilave edilmiş ortamda hiçbir büyüme gözlemlenmemiştir. Buna karşılık, kontrol ortamı orta düzeyde sürgün uzamasını (2,8 cm) desteklemiş, 3 mg/L AgNPs içeren ortam ise eksplant başına en yüksek yaprak sayısını teşvik etmiştir. İlk gözlemler, 3 mg/L ZnNP ve 1 mg/L AgNP uygulamalarının da olumlu etkiler gösterdiğine işaret etmektedir. Elde edilen bulgular, kültür ortamına gümüş ve çinko nanopartiküllerinin ilave edilmesinin Bayrampaşa enginarı eksplantlarının *in vitro* büyüme ve gelişimini olumlu yönde etkileyebileceğini ortaya koymakta; özellikle 3 mg/L AgNP uygulamasının mikroçoğaltım protokollerinde faydalı bir katkı olabileceğini göstermektedir.

ANAHTAR KELİMELE: *Cynara scolymus*, Çinko Nanopartiküller (ZnNP), Eksplant Gelişimi, Enginar, Gümüş Nanopartiküller (AgNP), *in vitro* kültür, Kontaminasyon Kontrolü, Mikroçoğaltım, Sterilizasyon

JÜRİ: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Halime ÜNLÜ

Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ



ABSTRACT

POSSIBILITIES OF USING NANOPARTICLES *IN VITRO* STERILIZATION AND MICROPROPAGATION OF ARTICHOKE (*Cynara scolymus* L.)

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN

MSc Thesis in Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. A. Naci ONUS

July 2025; 40 Pages

Micropropagation offers a valuable alternative to traditional methods for artichoke (*Cynara scolymus* L.) propagation, but persistent microbial contamination remains a significant challenge, often requiring the use of potentially phytotoxic sterilization agents. This master's thesis research aimed to optimize the *in vitro* sterilization and micropropagation protocol for Bayrampaşa artichoke explants, specifically exploring the efficacy of silver nanoparticles (AgNPs) and zinc nanoparticles (ZnNPs) as both antimicrobial and growth-promoting agents. Preliminary experiments revealed high contamination rates with conventional sterilization methods, necessitating protocol refinements through several iterative steps.

The experiment, conducted at the Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar laboratory, evaluated the growth and development of artichoke offshoot explants cultured on a modified Murashige and Skoog (MS) basal medium supplemented with varying concentrations (1, 2, and 3 mg/L) of silver nanoparticles (AgNPs) or zinc nanoparticles (ZnNPs), alongside a nanoparticle-free control. After eight week, a quantitative assessment revealed significant variation in explant growth length among the different treatments.

Medium supplemented with 2 mg/L Silver Nanoparticles (AgNPs) yielded the most substantial explant elongation, with one explant reaching 6 cm. Other treatments produced varied growth responses. No growth was observed in the medium supplemented with 2 mg/L ZnNPs. In contrast, the control medium supported moderate shoot elongation (2.8 cm), while the medium containing 3 mg/L AgNPs promoted the highest number of leaves per explant. Initial observations also suggested positive growth effects from 3 mg/L ZnNPs and 1 mg/L AgNPs. The findings indicate that incorporating silver and zinc nanoparticles into the culture medium can positively influence the *in vitro* growth and development of Bayrampaşa artichoke explants, highlighting the potential of specific nanoparticle concentrations, particularly 3 mg/L AgNPs, as beneficial supplements for micropropagation protocols.

KEYWORDS: Artichoke, Contamination Control, *Cynara scolymus*, Explant Growth, *In vitro* culture, Micropropagation, Sterilization, Silver Nanoparticles (AgNPs), Zinc Nanoparticles (ZnNPs)

COMMITTEE: Prof. Dr. A. Naci ONUS

Prof. Dr. Halime ÜNLÜ

Assoc. Prof. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ



ÖNSÖZ

Enginar (*Cynara scolymus* L.), Akdeniz diyetinin besleyici ve tedavi edici özellikleriyle bilinen değerli bir parçası olup, küresel tarımda önemli bir ekonomik değere sahiptir. Ancak, geleneksel tarım yöntemleriyle çoğaltılması, hastalıkların yayılması ve düşük çoğalma oranları gibi zorluklar içermektedir. Bu nedenle, enginarın verimliliğini ve kalitesini artıracak modern ve sürdürülebilir tarımsal tekniklerin geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır.

Bu zorlukların üstesinden gelmek için bitki doku kültürü ve mikroçoğaltım gibi biyoteknolojik yöntemler umut verici bir alternatif sunmaktadır. Ancak, bu yöntemlerde karşılaşılan en büyük engellerden biri, explantların mikrobiyal kontaminasyona maruz kalmasıdır. Bu noktada, gümüş (AgNP) ve çinko (ZnNP) gibi nanopartiküllerin antimikrobiyal ve biyostimülan etkileri, araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Bu çalışmanın temel amacı, nanopartiküllerin enginarın *in vitro* sterilizasyonu ve mikroçoğaltımına olan etkilerini araştırarak tarım sektörü için verimli ve güvenilir bir protokol geliştirmektir.

Araştırmamda başta, bilgi ve destek tecrübeleriyle hem arazide hem de laboratuvarında yardımcı olan, verdiği bilgilerle tezimin kurgu ve yürütülmesi aşamasında her bakımından yol gösteren, tezimin yazım sürecinde her aşamada desteklerini benden esirgemeyen kıymetli danışmanım sayın Prof. Dr. A. Naci ONUS'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Değerli katkılarından dolayı jüri üyeleri Prof. Dr. Halime ÜNLÜ ve Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın yürütülmesinde ve neticelenmesinde katkıları olan Doç. Dr. Tuğçe ÖZSAN KILIÇ'a ve Cafer GÖNEZER'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimin süresince ve yaşamım boyunca desteklerini esirgemeyen başta babam Prof. Dr. Ashraf Shawky OSMAN'a ve sevgili aileme, kıymetli kardeşlerime ve sevdiklerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	6
2.1. Enginar İle İlgili Yapılmış Çalışmalar	6
2.1.1. Enginarın generatif (tohumla) üretimi	6
2.1.2. Enginarın vejetatif (eşeysiz) üretimi.....	8
2.2. Gümüş ve Çinko Nanopartiküllerinin <i>in vitro</i> Çoğaltımdaki Kullanımı.....	9
2.2.1. Sterilizasyonda nanopartiküllerin rolü.....	9
3. MATERYAL VE METOT	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Metot	14
3.3. Sterilizasyon İşlemleri Deneyleri	15
3.3.1. Nanopartiküllerin sterilizasyonda kullanılması	15
3.3.2. Enginar eksplantlarının kültüre alınması	17
3.3.3. Eksplantların sterilizasyonu.....	17
3.3.4. Çalışmada kullanılan besi ortamları	19
3.3.5. Sürgünlerin çıkarılması aşaması	19
4. BULGULAR.....	23
4.1. İlk Deney: Nanopartiküllerin Sterilizasyonda Kullanılması	23
4.2. İkinci Deney: Nanopartiküllerin Sterilizasyonda Kullanılması	23
4.3. Üçüncü Deney: Enginar Eksplantlarının Kültüre Alınması	23
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	35
7. KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Enginarın (*Cynara scolymus* L.) *in vitro* Sterilizasyon ve Mikro Çoğaltımında Nanopartiküllerin Kullanım Olanakları” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

16/07/2025

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

% : Yüzde

cm : Santimetre

µg/mL : Mililitre başına mikrogram birimini Mililitre başına gram

mg/L : Litre başına miligram

nm : Nanometre

ppm : Milyonda parça

ton/ha : Hektar Başına Ton

g : Gram

Kısaltmalar

A.Ü. : Akdeniz Üniversitesi

AgNPs : Gümüş nanopartikülleri

BAP : 6-Benzylaminopurin

CNT'ler : Karbon nanotüpler

FAO : Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization)

IBA : Indol-3-bütirik asit

K : Kontrol

MIC : Minimum inhibitör konsantrasyon

MS : Murashige and Skoog ortamı

mV : Mili volt

Ort : Ortalama

ROS : Reaktif oksijen türleri

ZnNPs : Çinko nanopartikülleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Akdeniz Üniversitesi'nin tarlasında yetişen Bayrampaşa enginarı.....	14
Şekil 3.2. Gümüş nanopartiküller	14
Şekil 3.3. Çinko nanopartiküller	14
Şekil 3.4. Enginar eksplantları sırayla beş farklı sterilizasyon solüsyonuna daldırılmıştır.....	15
Şekil 3.5. Enginar eksplantlarının kesilerek sürgünler elde edilmesi	16
Şekil 3.6. Sterilizasyon öncesinde kontaminasyon riskini en aza indirmek için daha küçük parçalara kesilmiş eksplantlar	17
Şekil 3.7. Toprak kalıntılarını gidermek ve mikrobiyal yükü azaltmak için eksplantların su ve bulaşık deterjanı ile iyice yıkanması	18
Şekil 3.8. Dezenfektanın tüm izlerini gidermek için eksplantların damıtılmış su ile son durulanması	19
Şekil 3.9. Eksplantlardan sürgünlerin çıkarılması	20
Şekil 3.10. Çeşitli sterilizasyon ortamlarına aktarılan sürgünler	20
Şekil 3.11. Gelişimi artırmak ve kontaminasyonu azaltmak için ortamın değiştirilmesi ve eksplantların daha küçük segmentlere alt kültürlenmesi; bu işlem sırasında enfekte örnekler uzaklaştırılmıştır	21
Şekil 3.12. İki hafta sonrası ikinci değerlendirme: Eksplantların enfekte olmuş kısımları uzaklaştırılmış, sağlıklı dokular büyümeyi teşvik etmek ve kontaminasyonu azaltmak amacıyla aynı besin ortamına yeniden transfer edilmiştir	22
Şekil 4.1. İlk deneyde sterilizasyon sürecinden sağ kurtulan eksplantın büyüme ve gelişmesi.....	23
Şekil 4.2. Seçilen dört ortamda eksplant büyümesinin karşılaştırılması: (a) Ortam 7, (b) Ortam 5, (c) Ortam 2 ve (d) Kontrol ortamı	24
Şekil 4.3. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra kontrol ortamında eksplant gelişimi	27
Şekil 4.4. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 2 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	27
Şekil 4.5. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 3 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	28
Şekil 4.6. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 4 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	28
Şekil 4.7. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 5 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	29
Şekil 4.8. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 7 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	29
Şekil 4.9. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden üç hafta sonra kontrol ortamında eksplant gelişimi, diğer ortamlara kıyasla daha fazla yaprak sayısı göstermektedir	31

Şekil 4.10. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden üç hafta sonra 3 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	31
Şekil 4.11. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden üç hafta sonra 4 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	32
Şekil 4.12. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden sekiz hafta sonra 4 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi	32



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı ülkelerin enginar üretim miktarları.....	1
Çizelge 4.1. Enginar eksplantlarının kültüre alınmasını takiben gelişen sürgün sayıları	25
Çizelge 4.2. Farklı nanopartikül ortamlarında aşılamaadan iki hafta sonra kaydedilen eksplant büyüme uzunluğu (cm)	26
Çizelge 4.3. Kültür başlangıcından üç hafta sonra, farklı besin ortamlarındaki eksplantlarda oluşan yaprak sayısı	30



1. GİRİŞ

Enginar veya küre enginar (*Cynara cardunculus* ssp. *scolymus* (L.), Hegi; *Asteraceae* familyası), Akdeniz havzasına özgü çok yıllık bir bitki olup, antik çağlardan beri besleyici değeri ve terapötik özellikleri ile bilinmektedir. Akdeniz diyetinin önemli bir bileşeni olan küre enginar, biyolojik olarak aktif fenolik bileşikler, inülin, lif ve mineraller açısından zengin bir kaynaktır (Lattanzio vd. 2009; Petropoulos vd. 2018).

Enginar (Globe artichoke), sağlık üzerinde olumlu etkiler gösterdiği bilinen polifenolik bileşikler bakımından zengin bir bitki türüdür. Özellikle yaprak ekstraktı, sınırlı sayıdaki bitkisel tedavi yaklaşımları arasında farmakolojik potansiyele sahip önemli bir doğal ürün olarak değerlendirilmektedir. Deneysel ve klinik çalışmalar, enginar yaprak ekstresinin biyomedikal bitkisel tedavi araştırmaları kapsamında kapsamlı bir şekilde incelendiğini ve etkinliğinin doğrulandığını göstermektedir. Bunun yanı sıra, enginar yaprak ekstreleri, özellikle karaciğer rahatsızlıklarının tedavisinde geleneksel tıpta uzun süredir kullanılmaktadır. Araştırmalar, enginarın antioksidan, koleretik (safra akışını artırıcı), hepatoprotektif (karaciğer koruyucu), safra üretimini teşvik edici ve lipid düşürücü etkilerini ortaya koymuştur. Hayvan deneylerinde, enginarın kök ve yapraklarından elde edilen sıvı ekstrelerin karaciğeri koruma yeteneğine sahip olduğu ve hatta karaciğerin kendini yenilemesine yardımcı olabileceği belirlenmiştir (Lanteri ve Portis 2007; Lombardo vd. 2012; Salem vd. 2015).

Enginar yetiştiriciliği, küresel ölçekte önemli ekonomik, tarımsal ve çevresel roller üstlenmektedir. Yüksek değerli bir tarım ürünü olarak enginar, Akdeniz ve Latin Amerika ülkelerinin ekonomisine önemli katkılar sağlamaktadır. Farklı çevresel koşullara uyum sağlama yeteneği ve kuraklığa karşı dayanıklılığı, enginarı sürdürülebilir bir tarımsal ürün haline getirmektedir. Küresel Üretim ve Ekonomik Değer Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'ne (FAO 2021) göre, dünya çapında en büyük enginar üreticileri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. Bazı ülkelerin enginar üretim miktarları

Ülke	Üretim Miktarı (ton)
İtalya	~365 000
İspanya	~230 000
Mısır	~190 000
Peru	~150 000
Arjantin	~90 000
Türkiye	~39 477

Bu ülkeler, küresel enginar üretiminin %80'inden fazlasını karşılamakta olup, enginarı Akdeniz iklimine sahip bölgelerde temel bir tarımsal ürün haline getirmektedir (FAO 2021). Enginarın fonksiyonel gıda, nutrasötik ve farmasötik sektörlerindeki artan talebi, dünya genelindeki pazarının büyümesini sürekli olarak desteklemektedir.

Türkiye, özellikle Akdeniz ve Ege bölgelerinde önemli enginar üreticilerinden biridir. Kadakoğlu ve Gül (2023) yılı itibarıyla ülkenin toplam enginar üretimi yaklaşık 39.477 ton olup, 3.065 hektarlık bir alanda yetiştirilmektedir. Başlıca üretim bölgeleri İzmir: Türkiye'nin en büyük enginar üreticisi olup, toplam üretimin yaklaşık %50'sini karşılamaktadır. Aydın ve Bursa: Yüksek kaliteli enginar üretimiyle öne çıkan illerdir. Antalya ve Mersin: Üretim alanlarının giderek genişlediği yükselen bölgeler arasındadır. Türkiye'de ortalama enginar verimi hektar başına 12-15 ton arasında değişirken, optimize edilmiş sulama ve gübreleme tekniklerinin kullanıldığı bölgelerde bu verim 18-20 ton/ha seviyelerine kadar çıkabilmektedir (Kadakoğlu ve Gül 2023; Demir 2024).

Bitki doku kültürü, bitki hücrelerinin, dokularının, organlarının veya protoplastlarının aseptik koşullar altında *in vitro* olarak kontrollü fiziksel ve kimyasal ortamda yetiştirilmesini ifade eder. Hücre kültürü, aksenik kültür veya steril kültür olarak da bilinen bu teknik, hem temel hem de uygulamalı araştırmalarda yaygın olarak kullanılmakta olup ticari biyoteknoloji alanında da önemli bir yer tutmaktadır. Bitki büyümesini, genetik manipülasyonu ve hücresel tepkileri incelemek için kritik bir araç olarak hizmet ederken, aynı zamanda geniş ölçekli çoğaltma ve bitki türlerinin korunmasını da sağlamaktadır (Thorpe 2007).

Bitki doku kültürünün en önemli avantajlarından biri, hücresel totipotensiyalitesini göstermesidir—yani, tek bir hücrenin tüm bitkiye dönüşme potansiyeline sahip olması. Bu özellik, genetik modifikasyonlar, bitki ıslahı ve biyoteknolojik uygulamalar için vazgeçilmez bir teknik haline getirmektedir. Ayrıca, kontrollü genotipik ve fenotipik değişikliklere olanak tanıyarak bitki ıslahı, farmasötik araştırmalar ve sürdürülebilir tarım alanlarında önemli ilerlemeleri desteklemektedir. Çeşitli uygulama alanları sayesinde bitki doku kültürü, modern bitki biyoteknolojisinin temel taşlarından biri olmaya devam etmektedir (Bhatia vd. 2015).

Doku kültürünün kökenleri, 20. yüzyılın başlarına dayanmaktadır. Gottlieb Haberlandt (1902), tek bir hücrenin tüm organizmayı yeniden oluşturma yeteneği olarak tanımlanan bitki hücrelerinin totipotensiyalitesi kavramını ilk kez ortaya koymuştur. Öncü niteliğindeki deneylerinde, mezofil hücrelerini kültürde canlı tutmayı amaçlamış ve modern bitki doku kültürü tekniklerinin temelini atmıştır. Bu erken dönem çalışmalar, bitki hücrelerinin davranışı ve gelişim potansiyeli hakkında önemli bilgiler sağlayarak, gelecekteki bitki biyoteknolojisi alanındaki ilerlemelere zemin hazırlamıştır (Thorpe 2007; García-González vd. 2010; Loyola-Vargas ve Ochoa-Alejo 2018).

20. yüzyılın ortaları, bitki doku kültürü alanında yeni tekniklerin geliştirilmesi ve mevcut yöntemlerin önemli ölçüde iyileştirilmesiyle karakterize edilen dönüştürücü bir

dönem olmuştur. 1940'lı, 1950'li ve 1960'lı yıllarda gerçekleştirilen önemli keşifler, kültüre alınabilen bitki türlerinin yelpazesini genişletmiş ve *in vitro* koşullara verilen hücresel tepkilerin daha derinlemesine anlaşılmasını sağlamıştır (Jedrzejczak-Silicka 2017).

Önemli atılımlardan biri, Hindistan cevizi suyunun kültür ortamda katkı maddesi olarak kullanılmasıydı; bu, özellikle monokotillerde genç embriyoların ve dirençli dokuların büyümesini kolaylaştırmıştır. Bu dönemde, odunsu ve otsu dikotiller, gymnospermiler ve taç tümör dokuları da dahil olmak üzere çok çeşitli bitki türlerinde kallus kültürlerinin oluşturulması sağlanmıştır. Araştırmacılar, kültürdeki hücrelerin oksin alışkanlığı ve meristematisellik gibi çeşitli fizyolojik değişimler geçirdiğini gözlemlemişlerdir. Bu zorluklara rağmen, günümüzde hala yaygın olarak kullanılan birçok temel *in vitro* tekniği bu dönemde büyük ölçüde geliştirilmiştir (Trigiano ve Gray 2000; Jedrzejczak-Silicka 2017).

Önemli bir katkı, kültür ortamına adenin ve yüksek seviyelerde fosfat eklemenin, meristematik olmayan öz dokularının büyümesini sağladığını ve vasküler doku varlığında sürgün ile kök oluşumuna yol açtığını gösteren Skoog ve Miller 1957 yılında gelmiştir. Nükleik asitler üzerine yapılan daha ileri araştırmalar, ringa balığı sperm DNA'sının parçalanmasından elde edilen ve ilk tanımlanan sitokin olan kinetin keşfiyle sonuçlanmıştır. Bu keşif, sadece sürekli olarak kültürlenebilen türlerin sayısını artırmakla kalmamış, aynı zamanda kültürlenmiş dokuların morfogenetik kaderinin, ortamdaki oksin ve sitokin dengesi tarafından belirlendiği temel konseptini de ortaya koymuştur. Yüksek bir oksin-sitokin oranı kök oluşumunu teşvik ederken, bunun tersi bir oran sürgün oluşumunu desteklemiş ve ara seviyeler ise kallus çoğalmasına yol açmıştır. Bu düzenleyici model, o zamandan beri çok sayıda bitki türünde doğrulanmış olup bitki morfogenezinde temel bir ilke olarak kalmıştır (Krikorian 1982; Dodds ve Roberts 1987).

Steward vd. (1958) yılında gibi araştırmacılar, havuç kültürlerinde bipolar somatik embriyoların, unipolar sürgün tomurcuklarının ve köklerin oluşumunu rapor etmişlerdir. Hücre kültürü teknikleri, tek hücrelerin filtre kağıdı üzerinde büyütülmesini sağlayacak şekilde geliştirilmiş ve bu ilerleme protoplast kültürü ve hücre klonlaması alanlarında önemli bir temel oluşturmuştur. Macleaya cordata, 1959 yılında mekanik olarak izole edilen olgun mezofil hücrelerinin başarıyla kültüre alındığı ilk bitki türü olmuştur. Ayrıca, süspansiyon halinde büyük ölçekli bitki hücre kültürleri başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş ve Vasil ile Hildebrandt 1980 yılında, bitki hücrelerinin totipotensiyel özelliklerini kanıtlamıştır (Mather ve Roberts 1998; Neumann vd. 2020).

Besin ortamı formülasyonlarındaki yenilikler, doku kültürü tekniklerinin geliştirilmesinde kritik bir rol oynamıştır. İlk besin ortamları, tüm bitkiye yönelik besin çözeltilerine dayanmakta olup, Knop çözeltisi ve Uspenski & Uspenskia ortamı en yaygın kullanılan formülasyonlardı. Daha sonraki modifikasyonlar ile tuz konsantrasyonları artırılmış olsa da, bu değişiklikler optimal büyüme için yetersiz kalmıştır. Murashige ve

Skoog (MS) 1962 besin ortamı, tütün kallus kül kompozisyonuna dayanarak geliştirilmiş ve tanımlı bir ortam kullanılarak kültüre alınabilen bitki türlerinin çeşitliliğini önemli ölçüde artırmıştır. Günümüzde MS ortamı, bitki doku kültüründe en yaygın kullanılan besin ortamı olmaya devam etmektedir. Bu dönem, modern bitki doku kültürü tekniklerinin temelini atmış ve biyoteknoloji, genetik mühendisliği ve sürdürülebilir tarım alanlarında önemli ilerlemelere öncülük etmiştir (Maher ve Roberts 1998; Thorpe 2007; García-González vd. 2010; Loyola-Vargas ve Ochoa-Alejo. 2018).

Nanoteknolojinin bitki biyoteknolojisine entegrasyonu, özellikle sterilizasyon ve mikroçoğaltım gibi *in vitro* tekniklerin geliştirilmesi açısından yenilikçi yaklaşımlar sunmaktadır. Geleneksel yöntemler her ne kadar etkili olsa da, fitotoksiste, yoğun emek gerektiren protokoller ve dirençli mikrobiyal kontaminantlara karşı yetersizlik gibi çeşitli sınırlamalarla karşılaşmaktadır. Benzersiz fizikokimyasal özellikleri sayesinde nanopartiküller (NP'ler), bu sorunlara yönelik umut vadeden bir alternatif olarak öne çıkmaktadır (Rastogi vd. 2019; Singh vd. 2023).

In vitro sterilizasyon, bitki doku kültürlerinin mikrobiyal kontaminasyondan korunması açısından kritik bir öneme sahiptir. Sodyum hipoklorit ve etanol gibi geleneksel sterilizasyon ajanları, etkili konsantrasyonlarda bitki dokularına zarar verebilir. Nanopartiküller, özellikle gümüş (AgNP'ler) ve çinko oksit (ZnONP'ler), güçlü antimikrobiyal özellikler sergilemektedir. Jo vd. (2009), AgNP'lerin mikrobiyal hücre zarlarını bozarak ve reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek bakteri ve mantar gelişimini etkili bir şekilde inhibe ettiğini göstermiştir. Benzer şekilde, ZnO NP'lerin iyon salınımı ve oksidatif stres indüksiyonu yoluyla geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmalar, NP'lerin eksplant sterilizasyonunda daha düşük konsantrasyonlarda etkili olabileceğini ve geleneksel yöntemlere kıyasla fitotoksiste risklerini azaltabileceğini vurgulamaktadır (Kim vd. 2017).

Mikroçoğaltım, organogenez ve somatik embriyogenezi indüklemek için büyüme ortamlarının optimize edilmesine dayanır. Nanopartiküller, nano-gübreler veya uyarıcılar olarak işlev görerek bitki büyümesini teşvik edebilir. Örneğin, demir oksit nanopartikülleri (Fe_3O_4 NP'ler), biyoyararlanabilir demir sağlayarak *Oryza sativa*'da kallus indüksiyonunu artırmıştır. Karbon nanotüpler (CNT'ler), su alımını ve gen ekspresyonunu artırarak domates tohumlarının çimlenmesini ve biyokütle birikimini hızlandırmıştır. Ayrıca, düşük konsantrasyonlarda AgNP'ler, *Dianthus caryophyllus* kültürlerinde etilen seviyelerini düzenleyerek hiperhidriteyi azaltmıştır. Bu bulgular, NP'lerin hem besin taşınımı hem de fizyolojik düzenleme açısından çift yönlü bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Taghizadeh ve Solgi 2014; Kim vd. 2017; Nhut 2024).

Enginar çoğaltımı geleneksel yöntemlerle gerçekleştirilen bir uygulama olmakla birlikte; hastalıkların taşınması, düşük çoğalma katsayıları ve sürgünler arasında fizyolojik farklılıkların görülmesi gibi bazı sınırlılıkları da beraberinde getirmektedir. Bu sınırlamaların üstesinden gelinmesi adına *in vitro* yöntemler umut vadeden bir alternatif

olarak öne çıkmaktadır. Ancak, *in vitro* çoğaltım sürecinde karşılaşılan en büyük sorunlardan biri kontaminasyondur. Eksplant yüzeylerinde bulunan mikroorganizmalar kaynaklı kontaminasyon, doku canlılığını ve gelişimini önemli ölçüde sınırlamaktadır. Bu alanda kaydedilen ilerlemelere rağmen; eksplant sterilizasyonu, besi ortamı formülasyonu, *in vitro* köklendirme ve köklenen bitkiciklerin dış ortama alıştırılması gibi aşamalarda hâlen optimizasyon ve standart protokollere ihtiyaç duyulmaktadır. Enginar bitkisi, *in vitro* kök oluşumu bakımından inatçı türler arasında yer almaktadır. Son yıllarda, nanopartiküllerin bitki doku kültürü uygulamalarında giderek artan kullanımı dikkat çekmektedir. Özellikle gümüş ve çinko nanopartiküller; güçlü antimikrobiyal özellikleri ve bitki gelişimini teşvik edici etkileri sayesinde çeşitli bitki türlerinde olumlu sonuçlar vermektedir. Bu tez çalışmasında, Türkiye'nin ticari açıdan önemli enginar çeşidi olan Bayrampaşa kullanılarak, gümüş ve çinko nanopartikülleri aracılığıyla etkili bir sterilizasyon ve mikroçoğaltım protokolü geliştirilmesi amaçlanmaktadır.



2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Enginar İle İlgili Yapılmış Çalışmalar

Calabrese vd. (2019)'ya göre, enginarın (*Cynara scolymus* L.) çoğaltımı iki temel yöntemle gerçekleştirilebilmektedir: tohum aracılığıyla gerçekleştirilen generatif (eşeyli) çoğaltım ve sürgünler, dip sürgünleri (ovoli), kök boğumları ile mikroçoğaltım tekniklerini kapsayan vejetatif (eşseysiz) çoğaltım.

2.1.1. Enginarın generatif (tohumla) üretimi

Tohumla yapılan enginar çoğaltımı, kontrollü tozlaşma gerektirmekte olup, bu işlem genellikle bir fırça yardımıyla elle gerçekleştirilmektedir. Toplanan polenler, dışı organların döllenmeye uygun hâle gelmesini beklemek üzere genellikle 2–3 °C sıcaklıkta muhafaza edilmektedir. Bazı araştırmacılar, çapraz tozlaşma öncesinde dışı organların (stigmanın) yıkanmasını önermiş olsalar da, bu adım genellikle gerekli görülmemektedir. Kapitulumun hazırlanması, tozlaşmanın gerçekleştirilmesi ve tohumların elle çıkarılması gibi tüm sürecin tamamlanması, her bir çiçek başı için yaklaşık 80 dakika sürmektedir. Tohum çıkarımı, reseptakulum yüzeyine sıkıca yapışmış yoğun dikenciklerin varlığı nedeniyle oldukça zordur. Ayrıca, kapitulum başına elde edilen tohum verimi; bitki genotipi ve mevcut iklim koşullarına bağlı olarak büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir. Tohumdan tohuma tam bir üretim döngüsü yaklaşık 12 ay sürse de, bir ıslah neslinin tamamlanması için genellikle en az iki yıl gerekmektedir (Pécaut 1993).

Foury'nin (1967) yılında enginar çiçek biyolojisi üzerine yaptığı çalışmada, reseptakulum üzerinde 600 ila 1500 arasında hermafrodit çiçekçik üretildiği ve çiçeklenmenin dış çiçekçiklerden başlayıp merkeze doğru ilerlediği ortaya konmuştur. Mavi renkteki dişicik borusu, anterlerin açılmasıyla birlikte uzayarak poleni yukarıya doğru süpürür. Polen canlılığı, çiçeklenmeden sonraki iki gün içerisinde hızla azalmakta ve 4–5 gün sonra tamamen sona ermektedir; bu da kendine tozlaşmayı imkânsız kılmaktadır. Bu nedenle, yapışkan polenin stigmalara taşınabilmesi için dış bir tozlayıcıya ihtiyaç duyulmaktadır. Enginar çiçeklerini birçok farklı böcek familyasına ait türlerin yoğun şekilde ziyaret ettiği bildirilmiştir. Kendine uyumsuzluk (self-incompatibility) olgusu ise gözlemlenmemiştir. Polen miktarı ve kalitesi, çeşide bağlı olarak büyük ölçüde değişkenlik göstermektedir (Pécaut 1993). Bu nedenle, enginarın geleneksel çoğaltımı büyük oranda sürgün ve kök boğumu gibi vejetatif yöntemlere dayanmaktadır. Ancak bu yöntemler, çoğaltma katsayısını sınırlandırmakta ve hastalıklara karşı duyarlılığı artırmaktadır (El Boullani vd. 2012).

Basnitzki ve Zohary (1987)'ye göre, yaygın olarak yetiştirilen enginar çeşidi 'Talpiot', genellikle tohumla çoğaltılmaktadır. Ekim işlemi, soğuk kış mevsimi başlamadan önce bitkilerin iyi bir şekilde gelişmesini sağlamak amacıyla erken sonbaharda (Eylül ayında) gerçekleştirilmektedir. Bu amaçla pnömatis mibzerler gibi çeşitli tohum ekim makineleri kullanılabilmektedir. Tavsiye edilen ekim aralığı, sıralar

arasında 1 metre ve sıralar içinde 0,5 metre olacak şekilde düzenlenmiştir. Orta ve ağır bünyeli topraklarda özellikle düzgün ve hızlı çimlenme sağlanabilmesi için tohumlar 1–2 cm gibi sığ bir derinliğe ekilmelidir. Seyreltme işlemi sonrası ideal fide yoğunluğu hektar başına yaklaşık 18.000–20.000 bitki olarak belirlenmiştir. Vejetatif olarak çoğaltılan ‘Violet de Provence’ ve ‘Blanc de Hyères’ çeşitlerinin verim performansının, tohumla çoğaltılan ‘Talpiot’ çeşidi ile karşılaştırılabilir olduğu tespit edilmiştir. Ancak iş gücü gereksinimi açısından önemli farklılıklar mevcuttur. Yıllık ve tohumla çoğaltılan ‘Talpiot’ çeşidinden bir ton taze baş elde etmek yaklaşık 4–5 iş günü gerektirirken, çok yıllık ve vejetatif olarak çoğaltılan klonlardan aynı miktarda verim elde etmek için gereken iş gücü süresi belirgin şekilde daha fazladır.

Bonasia vd. (2010)’ya göre, enginar ve kenger bitkilerinin tohumla çoğaltımı, tek karpalı, açılmayan ve içinde yalnızca bir tohum bulunduran kuru meyveler olan akenler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Enginar ve kengerin akenleri, morfolojik olarak tohuma benzedikleri için yaygın olarak “tohum” olarak adlandırılmakta, pazarlanmakta ve bu şekilde kullanılmaktadır.

Şekara vd. (2015)’ye göre, Kaliforniya’da tohumla çoğaltılan enginar çeşitlerinin başarılı bir şekilde tanıtılması, yetiştiricilik uygulamalarında önemli bir ilerlemeye işaret etmektedir. Bu yenilikler arasında, gametik veya mikroçoğaltım yoluyla elde edilen çeşitlerin geliştirilmesi ve modern tarımsal tekniklerin benimsenmesi yer almaktadır. Tohumla çoğaltılan hibrit çeşitler; nispeten geç olgunlaşmalarına rağmen yüksek verimleri, hasat zamanındaki homojenlikleri ve endüstriyel işleme için uygun, kaliteli başlar üretmeleriyle öne çıkmaktadır. Enginar, yıllık bir bitki olarak yetiştirilmekte ve genellikle sera koşullarında fide olarak yetiştirildikten sonra tarlaya şaşırtılmaktadır. Şaşırtma ile hasat arasındaki süre, çevresel ve yönetsel faktörlere bağlı olarak genellikle 4 ila 6 ay arasında değişmektedir. Bazı bölgelerde doğrudan tohum ekimi yapılmasına rağmen, şaşırtma yöntemi daha yaygın olarak tercih edilmekte; bu sayede yabancı ot ve hastalık baskısı üzerinde daha iyi kontrol sağlanarak bitki kurulumu ve verimlilik artırılmaktadır.

Mech vd. (2023)’a göre, tohumla çoğaltılabilen enginar (globe artichoke) çeşitlerinin geliştirilmesi, vejetatif üretim yöntemlerinin sınırlılıklarını aşmak ve yıllık yetiştiricilik sistemlerini desteklemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. İtalya’daki ıslah programları; akraba dölleme depresyonu (inbreeding depression) ve hibrit çeşitlerde homojenlik eksikliği gibi zorluklarla karşılaşmış olsa da, ‘Romolo’, ‘Opal’, ‘Madrigo’ ve ‘Tempo’ gibi çeşitler işlenmeye uygunluk ve antioksidan içeriği açısından ümit verici özellikler sergilemiştir. Yabancı ot ve hastalık sorunlarını azaltmak amacıyla doğrudan ekim yerine fideyle şaşırtma yöntemi hâlen tercih edilen uygulamadır. Bununla birlikte, ekim zamanı bölgeye ve rakıma göre değişiklik göstermektedir.

2.1.2. Enginarın vejetatif (eşeysiz) üretimi

Ancora vd. (1980) ile Pécaut (1993) çalışmalarına göre, bu zorlukların üstesinden gelebilmek amacıyla *in vitro* çoğaltım umut vadeden bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Enginar doku kültürüne yönelik ilk önemli gelişmeler De Leo ve Greco (1976) tarafından bildirilmiş; bunu takiben mikroçoğaltım ve meristem kültürü aracılığıyla virüs eliminasyonu gibi ilerlemeler kaydedilmiştir.

Riahi vd. (2017) tarafından yürütülen çalışmada, enginar bitkileri üç farklı mevsimde yan sürgünler (offshoots) kullanılarak çoğaltılmıştır. Araştırma bulguları, ilkbahar döneminde çoğaltılan ve sulama yapılmayarak vejetatif dinlenme periyoduna tabi tutulan fidanlık sürgünlerinin, Tunus koşullarında enginar çoğaltımı için en etkili yöntem olduğunu ortaya koymuştur. Bu yöntemin, üretim maliyetlerini önemli ölçüde artırmadan hem verimi hem de ürün kalitesini artırdığı belirlenmiştir.

Calabrese vd. (2019)'a göre, Vejetatif çoğaltma, gametlerin birleşimini içermeksizin, ana bitkinin bir parçasından yeni bireylerin oluştuğu eşeysiz bir üreme biçimidir ve totipotent hücrelere dayanarak genetik olarak özdeş klonlar üretir. Mikroçoğaltım tekniği ise erken olgunlaşan, daha güçlü gelişen ve yüksek verimli bitkiler elde edilmesine olanak sağlarken; yüksek maliyetli olması ve sınırlı sayıda çeşit için etkili protokollerin geliştirilmiş olması nedeniyle bazı kısıtlamalara sahiptir. Bunun yanı sıra, özellikle 'Violetto di Provenza' gibi erken olgunlaşan çeşitlerde somaklonal varyasyon riski taşımaktadır. Bu varyantlar arasında "Pastel", "Bull" ve "Pastel–Bull" gibi formlar tanımlanmış olup, farklı yaprak morfolojileri, üretim zamanları ve ploidy düzeyleri göstermektedir. Benzer varyasyonlar Catanese, Niscemese, Liscio Sardo Prococissimo ve Tudela çeşitlerinde de gözlemlenmiştir. Bu durum, somaklonal varyasyonun genotip ve alt kültür koşullarına bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, çeşit tescil süreçlerini desteklemek ve *in vitro* koşullarda yürütülen genetik materyal koruma çalışmalarının etkinliğini artırmak amacıyla hedefe yönelik mikroçoğaltım stratejilerinin uygulanması önerilmektedir.

Ceccarelli vd. (2010) ve Mech vd. (2023)'e göre, İtalya'da enginarın (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) çoğaltımında anaç kullanılarak yapılan aşı uygulamaları yerleşik ve yaygın bir tarımsal uygulamadır. Bu yöntem, genellikle "carducci" olarak bilinen ve yeni bitkiler oluşturma potansiyeline sahip lateral tomurcuklar içeren vejetatif sürgünlerin kullanımını içerir. Klonal çoğaltım amacıyla carducci'nin geleneksel ve yaygın kullanımı, yüksek kaliteli yerel genetik kaynakların korunmasında önemli bir rol oynamıştır. Bu yaklaşım, enginar çeşitleri içerisindeki genetik çeşitliliğin korunmasına büyük katkı sağlamış olup, hem tarımsal hem de farmakolojik açıdan önemli bir tür olan enginar için büyük bir değer taşımaktadır. Enginar, sadece Akdeniz tarımının temel unsurlarından biri olmakla kalmayıp, aynı zamanda fonksiyonel gıda özellikleri ve biyoaktif bileşikler açısından potansiyel bir kaynak olarak da değerlendirilmektedir.

2.2. Gümüş ve Çinko Nanopartiküllerinin *in vitro* Çoğaltımdaki Kullanımı

2.2.1. Sterilizasyonda nanopartiküllerin rolü

Kim vd. (2012), gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs) bitki patojeni mantarlar üzerinde güçlü antifungal etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Bu etki, hücre zarının bütünlüğünü bozarak hücre ölümüne yol açmasıyla ilişkilendirilmektedir.

Sharma vd. (2012)'ye göre, gümüş nanopartikülleri (AgNPs), *in vitro* kültür sistemlerinde ortamda meydana gelen mikrobiyal kontaminasyonu azaltmada etkili bir şekilde kullanılmaktadır.

Dong vd. (2017)'ye göre, biyolojik olarak sentezlenen gümüş nanopartikülleri (AgNPs), *Staphylococcus warneri*'nin büyümesini öncelikli olarak DNA parçalanması yoluyla engellemiştir. Antibakteriyel etkinliğe ilişkin önerilen diğer mekanizmalar arasında; dış zarın destabilizasyonu yoluyla hücre içi ATP'nin tükenmesi, plazma zarının yırtılması, hücresel solunumun inhibisyonu ve bunun sonucunda meydana gelen DNA hasarı yer almaktadır.

Buna ek olarak, İbrahim vd. (2019), biyosentezlenmiş AgNPs'nin özellikle kahverengi çizgi hastalığı ve bakteriyel yaprak yanıklığı gibi bakteriyel hastalıklara karşı çeltik bitkilerini korumada önemli bir potansiyele sahip olduğunu ortaya koyarak, bu nanopartiküllerin bitki sağlığını artırma ve hastalıklara karşı direnç kazandırmadaki rolünü vurgulamışlardır.

Erdogan vd. (2019) ve Kostić vd. (2021)'e göre, mikrodalga destekli sentez yöntemi, enginar (*Cynara scolymus* L.) yaprak ekstraktları kullanılarak yaklaşık 98,5 nm çapında küresel gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) ve 276–309 nm aralığında çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnONPs) çevre dostu şekilde üretilmesini mümkün kılmıştır. Bu yeşil sentez yaklaşımı, nanomalzeme üretimi için sürdürülebilir ve bitki bazlı bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Biyolojik olarak sentezlenen AgNPs ve ZnONPs, *in vitro* sistemlerde anlamlı antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Özellikle enginar kökenli AgNPs, temel mikrobiyal patojenlere karşı güçlü inhibe edici aktivite sergilemiş; *Staphylococcus aureus* için 0,03 µg/mL ve *Candida albicans* için 0,012 µg/mL gibi son derece düşük minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri bildirilmiştir. Bu değerler, bazı konvansiyonel antibiyotiklerin etkinliğini dahi aşarak bu nanopartiküllerin yüksek biyolojik potansiyelini ortaya koymaktadır.

Kalia vd. (2020)'ya göre, çinko nanopartikülleri (ZnNPs), bitki hastalıklarına neden olan çok çeşitli fitopatogenlere karşı etkili antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antitoksijenik aktivite sağlamak amacıyla doğrudan ya da dolaylı olarak uygulanmaya uygun, hedefe yönelik umut verici antimikrobiyal özellikler sergilemektedir. Ayrıca bu nanopartiküllerin fitotoksik etkilerinin düşük ya da ihmal edilebilir düzeyde olması, tarımsal biyoteknoloji uygulamalarında güvenli kullanım potansiyelini artırmaktadır.

Sadak (2020)'a göre, bitki doku kültürü uygulamalarında yaygın olarak kullanılan geleneksel sterilizasyon ajanları, çoğunlukla fitotoksisite ve doku hasarı gibi riskler taşımaktadır. Bu olumsuzluklara alternatif olarak, özellikle gümüş nanopartikülleri (AgNPs) ve çinko oksit nanopartikülleri (ZnO NPs), güçlü antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde umut verici sterilizasyon ajanları olarak öne çıkmaktadır. AgNPs, bakteri ve fungus gelişimini öncelikli olarak hücre zarı bütünlüğünü bozarak ve reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturarak engellerken; ZnO NPs, iyon salınımı ve oksidatif stres indüksiyonu yoluyla geniş spektrumlu antimikrobiyal etki göstermektedir. Bu nanopartiküller, düşük konsantrasyonlarda etkili sterilizasyon sağlayabildiklerinden, fitotoksik etkilerin en aza indirgenmesine olanak tanımaktadır. Antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra, farklı bitki türlerinde büyüme teşvik edici etkiler de rapor edilmiştir. Kalıcı kontaminasyon sorunları nedeniyle mikroçoğaltımı zor olan enginar (*Cynara scolymus* L.) gibi dirençli türler göz önünde bulundurulduğunda, bu çalışmada AgNPs ve ZnO NPs'nin, özellikle Türkiye'ye özgü enginar çeşitleri için etkili bir mikroçoğaltım protokolü geliştirilmesinde potansiyel taşıdığı vurgulanmaktadır.

Alfarraj vd. (2023)'e göre, gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs), geniş spektrumlu antimikrobiyal özellikleri ve bitki gelişimini teşvik edici etkileri nedeniyle en kapsamlı şekilde araştırılan metalik nanopartiküllerden biri olduğunu bildirmiştir. AgNPs'nin, geleneksel gümüş formlarına (örneğin AgNO₃) kıyasla mikrobiyal suşlara karşı daha yüksek etki gösterdiği ve hem antibakteriyel hem de antifungal aktiviteler sergilediği belirtilmiştir. Aynı çalışmada, *Hibiscus tiliaceus* bitki özütü ile yeşil sentez yoluyla elde edilen AgNPs'nin, *Rumex nervosus* türünün *in vitro* kültüründe mikrobiyal kontaminasyonu etkili biçimde azalttığı ve 40 mg/L konsantrasyonda kallus taze ağırlığını anlamlı şekilde artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu uygulamanın kültüre alınan hücrelerin genetik stabilitesini koruduğu vurgulanmış, böylece AgNPs'nin bitki doku kültürü protokollerinde etkili ve güvenli bir katkı maddesi olarak kullanılabileceği önerilmiştir.

Alfarraj vd. (2023) ile Erdoğan vd. (2019)'a göre, gümüş nanopartikülleri (AgNPs), reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi yoluyla mikrobiyal zarları bozarak, proteinlerin denatürasyonuna ve DNA hasarına neden olarak güçlü antimikrobiyal aktivite sergilemektedir. Yaklaşık 137,8 nm boyutundaki nano ölçekteki yapıları ve -6,34 mV'lik negatif yüzey yükleri sayesinde biyofilm yapılarına daha derinlemesine nüfuz edebilmekte ve bu sayede geleneksel sterilizasyon yöntemlerine karşı dirençli patojenlere karşı daha etkili olmaktadır.

Alfarraj vd. (2023) ile Baran vd. (2021)'e göre, nanopartiküllerin uygulanması hem kontaminasyon kontrolünde hem de bitki doku kültürü performansının potansiyel artırılmasında önemli bir umut vadetmektedir. Özellikle, enginar (*Cynara scolymus* L.) kallus kültür ortamına 40 mg/L konsantrasyonunda gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs) eklenmesi, fungal kontaminasyonda %87 oranında azalma sağlarken, kallus canlılığını korumuş ve genetik stabilitenin devamını desteklemiştir. Nanopartiküller aracılığıyla

doğrudan büyüme uyarımı mekanizmaları hâlen araştırılmakla birlikte, enginar kallus kültürlerinde kullanılan 10 mg/L gümüş nitratin fenolik bileşik birikimini artırdığına dair önceki çalışmalar, AgNPs'nin ikincil metabolit biyosentezini modüle etme potansiyeline işaret etmektedir. Bu bulgular, mikroçoğaltım protokollerinde nanopartiküller entegrasyonunun mevcut sorunları, özellikle mikrobiyal kontaminasyonu aşmada uygulanabilirliğini desteklemektedir. Ancak, nanopartiküllerin fitotoksik etkileri dikkatle değerlendirilmelidir. Örneğin, çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnONPs) 50 mg/L üzeri konsantrasyonlarda uygulanması, bazı bitki doku kültürlerinde sürgün rejenerasyonunu %39'a kadar engelleyebilmekte; bu etkinin oksin taşınımının bozulmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Bu gözlemler, nanopartiküller tipinin, dozunun ve uygulama yönteminin optimize edilmesinin, faydalı etkilerinden yararlanırken bitki gelişimine olan olumsuz etkilerin en aza indirilmesi açısından önemini vurgulamaktadır.

Gunasena vd. (2024), gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs) kültür ortamına eklenmesinin, enginar eksplantlarında endojen kontaminasyonu azalttığını ve kök gelişimini teşvik ettiğini belirtmiştir. Ayrıca, AgNPs veya ZnNPs'nin geleneksel sterilizasyon ajanlarıyla (ör. HgCl₂) birlikte kullanımı, kontaminasyon kontrolünü anlamlı ölçüde artırmış; özellikle AgNPs ve HgCl₂ kombinasyonu fungal kontaminasyonu %70 oranında azaltmıştır. Bu bulgular, nanopartiküllerin mikroyayılımda hem verimliliği hem de fitotoksisiteyi azaltarak süreci optimize etme potansiyelini ortaya koymaktadır.

2.2.2. Nanopartiküllerin eksplant gelişimi üzerindeki rolü

Aghdaei vd. (2012)'e göre, gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs) Murashige ve Skoog (MS) besin ortamına dâhil edilmesi, *in vitro* kültür performansını artırmıştır. Bu iyileşme; eksplant başına ortalama taze sürgün sayısında, sürgün oluşturan eksplant yüzdesinde ve genel bitki yaşama oranında artış şeklinde gözlemlenmiştir. Söz konusu olumlu etkiler, AgNPs'nin etilen inhibitör etkilerine bağlanmaktadır.

Bagherzadeh Homaei ve Ehsanpour (2015) ile Božena vd. (2015)'e göre, nanoteknoloji hızlı ve sürekli bir büyüme göstermekte olup, teknolojik yenilikler, patentler, uygulamalar ve gelişmekte olan pazarlar açısından önemli katkılar sağlamaktadır. Bitki biyoteknolojisi bağlamında ise nanomalzemelerin *in vitro* çoğaltım süreçlerinde bitki büyümesini ve gelişimini artırmak ve düzenlemek amacıyla kullanımı giderek artmaktadır. Örneğin, domateste gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs) uygulanmasıyla kök uzunluğunda ve oksidatif stres düzeylerinde artış bildirilirken; aynı zamanda sürgün kuru biyokütlesi, kök uzaması, klorofil içeriği ve meyve veriminde azalma gözlemlenmiştir. Gümüş nanopartiküllerinin (AgNPs), bitkilerde kök uzunluğu, yaprak alanı, klorofil içeriği, tohum çimlenmesi ve hasat sonrası meyve dayanıklılığı gibi çeşitli fizyolojik ve gelişimsel parametreleri olumlu yönde etkilediği de rapor edilmiştir.

Milewska-Hendel vd. (2016)'ya göre, gümüş nanopartiküllerin (AgNPs) boyutu ve konsantrasyonu, tohum ve eksplant gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda, özellikle daha küçük çaplı AgNP'lerin (yaklaşık 20 nm) bitki dokularında daha hızlı ve yoğun şekilde biriktiği, bu partiküllerin özellikle kök dokularında akümülyasyon gösterdiği ve yapraklara sistemik taşınımının sınırlı olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, nanoparçacıkların bitki içi hareketliliğinin boyuta bağlı olarak değiştiğini ve kök gelişimi üzerinde doğrudan etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca çalışmada, çinko nanopartiküllerinin (ZnNPs) turp, kolza, çim ve marulda kök gelişimi üzerindeki etkileri incelenmiş; kök gelişimindeki azalmanın bitki türüne, nanopartiküller türüne ve uygulanan konsantrasyona göre değiştiği belirlenmiştir. Kuşkonmaz bitkisinde AgNP'lerin uygulanması, askorbat ve klorofil içeriğinde artışa yol açarak, nanopartiküller uygulamasına karşı türlere özgü fizyolojik tepkiler olduğunu ortaya koymuştur.

Panakkal vd. (2021)'a göre ise, çinko oksit nanopartiküllerinin (ZnONPs) bitki gelişimini ve biyokütle üretimini artırdığı literatürde iyi bir şekilde belgelenmiştir. Yaptıkları çalışmada, ZnONPs'nin hem yapraktan hem de topraktan uygulanmasının mısır bitkilerinin büyüme ve gelişimi üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve büyümede iyileşme, verimde artış ve tanelerde çinko içeriğinin yükseldiği rapor edilmiştir. Özellikle yapraktan uygulanan ZnONPs ile kontrol bitkilerine kıyasla sürgün yaş ağırlığında %31 oranında artış gözlemlenmiştir. Ayrıca, hidroponik ortamda yetiştirilen *Vigna radiata* fidelerinde ZnONPs'nin yapraktan uygulanması, kök ve sürgün biyokütlesinin daha fazla birikmesine neden olmuştur. Benzer şekilde, *Solanum lycopersicum*'da ZnONPs uygulaması, sürgün ve kök uzunluğunun artmasına, kuru madde miktarının yükselmesine, yaprak alanının genişlemesine ve fotosentetik performansın iyileşmesine katkı sağlamıştır.

Guzmán-Báez vd. (2021)'e göre, düşük konsantrasyonlardaki gümüş nanopartikülleri (AgNPs) (5 mg/L), kök gelişimini ve besin alımını teşvik ederek biyostimülant etki göstermiştir; bu etkilerin şiddeti kullanılan kültüvara bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Ancak, daha yüksek konsantrasyonlar (20 mg/L) özellikle sürgün gelişimi üzerinde baskılayıcı (inhibitör) etkiler ortaya koymuştur.

Raza ve Faizan (2023)'a göre, yeşil kimya yöntemleriyle sentezlenen çinko oksit nanopartikülleri (ZnONPs), türlere özgü biyolojik aktivite sergilemektedir. Bu nanopartiküller, enginar (*Cynara scolymus*) kültürlerinde kök mimarisini iyileştirirken, ≥ 10 µg/mL konsantrasyonlarda *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerini baskılayıcı etki göstermektedir.

Khajavi ve Rahaie (2019)'ye göre, düşük konsantrasyonlarda uygulanan titanyum dioksit (TiO₂) ve silisyum dioksit (SiO₂) nanopartikülleri, tuzluluk stresi altında *Tanacetum parthenium* (hayıtotu) bitkisinde partenolit biyosentez yoluna dâhil olan iki temel genin, özellikle karyofillen sentaz olan TpCarS geninin, ekspresyonunu anlamlı

düzeyde etkilemiştir. Özellikle SiO₂ nanopartiküllerinin etkisi TiO₂'ye kıyasla daha belirgin olup, partenolit ve β-karyofillen üretimiyle ilişkili tüm temel genlerin ekspresyonunu artırmıştır. Bu bulgular, SiO₂ ve TiO₂ nanopartiküllerinin tıbbi bitkilerde değerli sekonder metabolitlerin birikimini teşvik etmek amacıyla etkili uyarıcılar (elisitörler) ve faydalı toprak katkı maddeleri olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Moshirian Farahi vd. (2023)'e göre, titanyum dioksit nanopartikülleri (TiO₂NPs), kloroplast zarının stabilitesini ve Calvin döngüsü enzimlerinin aktivitesini düzenleyerek *Vitex* türlerinde fotosentetik pigmentlerin sentezini artıran kendine özgü foto-uyarıcı özellikler sergilemektedir. Beş farklı konsantrasyonun (0, 200, 400, 600 ve 800 ppm) değerlendirildiği çalışmada, 600 ppm düzeyinde yapılan TiO₂NPs yapraktan uygulamanın, *Vitex agnus-castus* bitkisinde en yüksek kuru madde birikimi, gelişmiş fotosentetik verimlilik ve artan antioksidan tepkiler sağladığı belirlenmiştir. Bu bulgular, TiO₂NPs'nin tarımsal verimliliği artırma potansiyelini ortaya koymakla birlikte, bu nanopartiküllerin uzun vadeli ekolojik etkilerinin değerlendirilmesi ve güvenli, etkili uygulama protokollerinin belirlenmesi amacıyla daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada Bayrampaşa enginar çeşitlerine ait eksplantlar kullanılmıştır. Bitki örnekleri, Akdeniz Üniversitesi'ndeki (Şekil 3.1) araziden toplanarak Ziraat Fakültesi bünyesindeki laboratuvara taşınmıştır.



Şekil 3.1. Akdeniz Üniversitesi'nin tarlasında yetişen Bayrampaşa enginarı

3.2. Metot

Bu yüksek lisans tezinde, gümüş nanopartiküller (AgNPs) ve çinko nanopartiküller (ZnNPs) kullanılmıştır. Bu nanopartiküller, Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'te gösterildiği üzere, Nanografi Nano Teknoloji AŞ'den temin edilmiştir.



Şekil 3.2. Gümüş nanopartiküller



Şekil 3.3. Çinko nanopartiküller

3.3. Sterilizasyon İşlemleri Deneyleri

3.3.1. Nanopartiküllerin sterilizasyonda kullanılması

Bu çalışmada, Bayrampaşa enginar çeşidine ait eksplantların öncelikle yapraklar ve diğer gereksiz doku parçaları gibi hayati olmayan kısımları dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Seçilen eksplantlar, yüzey kirleticilerini gidermek amacıyla önce musluk suyu ve hafif bir deterjan ile yıkanmış, ardından sterilizasyon işlemlerinden önce mikrobiyal yükü azaltmak için antibakteriyel bir solüsyona daldırılmıştır.

Bayrampaşa enginar çeşidine ait eksplantlar, alınmalarının ardından ilk olarak 30 dakika süreyle saf (distile) suda bekletilmiştir. Bunu takiben, 30 dakika boyunca antibakteriyel bir solüsyonla muamele edilmiştir. Bu sterilizasyon adımının ardından, eksplantlar deney protokolünde belirtilen uygulama çözeltilerine aktarılmıştır (Şekil 3.4).

Bu çalışmada, enginarın (*Cynara scolymus* L.) *in vitro* sterilizasyonu ve mikroçoğaltımı açısından beş farklı sterilizasyon çözeltisinin etkinliği değerlendirilmiştir. Uygulamalar; %30 sodyum hipoklorit, 1 mg/L ve 2 mg/L konsantrasyonlarında gümüş nanopartiküller (AgNPs) ile 1 mg/L ve 2 mg/L konsantrasyonlarında çinko nanopartikülleri (ZnNPs) içermektedir. Enginar eksplantları, her bir çözeltide sırasıyla ve belirlenen sıraya uygun olarak 30 dakika süreyle bekletilmiştir.

Sterilizasyonun ardından eksplantlar, sürgün elde edilecek şekilde budanmış ve kontaminasyon kontrolü ile *in vitro* çoğaltıma uygunluğun değerlendirilmesi amacıyla MS besiyerine (Murashige ve Skoog 1962) yerleştirilmiştir.



Şekil 3.4. Enginar eksplantları sırayla beş farklı sterilizasyon solüsyonuna daldırılmıştır

Bu çalışmada, eksplantların çoğunda bir hafta içinde mikrobiyal kontaminasyon gözlemlenmiş, yalnızca üç örnek kontaminasyonsuz kalmıştır.

İlk çalışma sonuçlarına göre, Bayrampaşa örneklerinde %30 sodyum hipoklorit kullanımından umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle, kontaminasyona karşı direnci artırmak ve daha güvenilir sonuçlar elde etmek amacıyla protokolün gözden geçirilmesi ve iyileştirilmesi gerekli hale gelmiştir.

İlk çalışma uygulanan sterilizasyon işleminden istenen sağlıklı sonuçlar alınamadığı için, aynı protokol yeni eksplantlarla tekrarlanmıştır.

Bu çalışmada (ikinci deney) sterilizasyon işlemleri Bayrampaşa eksplantlarına uygulanmıştır. İlk çalışmada kullanılan sterilizasyon ajanları ve uygulama sırası aynen takip edilmiştir; her bir solüsyondaki bekletme süresi 30 dakika sürmüştür. Sterilizasyonun ardından eksplantlar sürgün elde etmek amacıyla budanmış ve kontaminasyon kontrol etkinliği ile *in vitro* çoğaltmaya uygunluğun değerlendirilmesi amacıyla Murashige ve Skoog (MS) besin ortamına transfer edilmiştir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Enginar eksplantlarının kesilerek sürgünler elde edilmesi

3.3.2. Enginar eksplantlarının kültüre alınması

Bu çalışmada, geliştirilmiş laboratuvar olanaklarından faydalanmak ve yeni teknik deneyimler kazanmak amacıyla Güney Agripark Tarımsal Araştırmalar laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Önceki tüm deneylerden elde edilen sonuçlara dayanarak, ilk laboratuvar ortamındaki kısıtlılıkların deney sonuçlarını olumsuz etkilediği anlaşılmıştır. Bu nedenle hem laboratuvar ortamı hem de deney protokolü daha başarılı sonuçlar elde etmek amacıyla değiştirilmiştir. Öncelikle ön deneyler ele alınmış, ardından ana deney detaylandırmıştır.

3.3.3. Eksplantların sterilizasyonu

Bu deneyde, Bayrampaşa enginarına ait bitkiler tarladan toplanarak laboratuvara getirilmiştir. İki aşamalı sterilizasyon protokolü uygulanmıştır. İlk protokolde Uygun eksplantların elde edilebilmesi amacıyla, bitkilerin hayati olmayan kısımları uzaklaştırılmıştır. Seçilen dokular öncelikle su ile durulanmış, ardından kontaminasyon riskini azaltmak amacıyla daha küçük segmentlere ayrılmıştır (Şekil 3.6). Bu segmentler, toprak kalıntılarını uzaklaştırmak ve mikrobiyal yükü en aza indirmek amacıyla su ve bulaşık deterjanı ile iyice yıkanmıştır. Daha sonra, eksplantlar 15 dakika boyunca bulaşık deterjanı çözeltisinde bekletilmiştir. Son olarak, kalan deterjan ve kontaminantları uzaklaştırmak için bol su ile dikkatlice durulanmıştır.



Şekil 3.6. Sterilizasyon öncesinde kontaminasyon riskini en aza indirmek için daha küçük parçalara kesilmiş eksplantlar

Bu ön temizlik ve hazırlık süreci, çalışmamızda kritik bir adım olup, (Şekil 3.7), sonraki sterilizasyon ve *in vitro* kültür uygulamalarının başarısını önemli ölçüde etkilemiştir. Ardından, eksplantlar %10'luk çamaşır suyu (sodyum hipoklorit) çözeltisi

ile iyice durulanmış, kalan çamaşır suyu kalıntılarını uzaklaştırmak amacıyla birkaç kez distile su ile yıkanmıştır.



Şekil 3.7. Toprak kalıntılarını gidermek ve mikrobiyal yükü azaltmak için eksplantların su ve bulaşık deterjanı ile iyice yıkanması

İkinci sterilizasyon protokolünde daha derin yüzey sterilizasyonunu sağlamak amacıyla, eksplantlar 20 dakika boyunca %50'lik çamaşır suyu çözeltisine daldırılmıştır. Son olarak, dezenfektan kalıntılarının tamamen uzaklaştırılması için distile su ile tekrar dikkatlice durulanmıştır (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Dezenfektanın tüm izlerini gidermek için eksplantların damıtılmış su ile son durulanması

3.3.4. Çalışmada kullanılan besi ortamları

Kullanılan ortamlar aşağıda belirtilmiştir:

1. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA (Kontrol)
2. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L AgNP
3. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L AgNP
4. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L AgNP
5. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L ZnNP
6. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L ZnNP
7. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L ZnNP

Tüm besin ortamı formülasyonlarına sabit olarak 30 g/L sakkaroz ve 7 g/L agar ilave edilmiştir.

3.3.5. Sürgünlerin çıkarılması aşaması

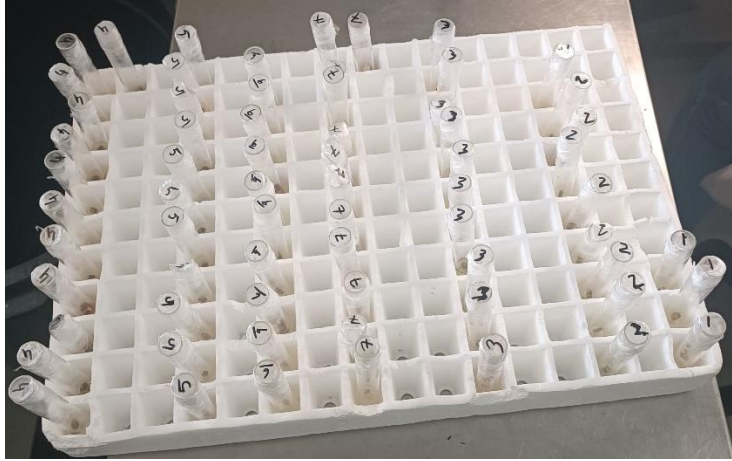
Hazırlık aşamasının tamamlanmasının ardından, eksplantlar sürgünlerin çıkarılması amacıyla kesilmiş ve ardından, her biri farklı konsantrasyonlarda nanopartikül içeren yedi farklı sterilizasyon ortamına transfer edilmiştir.

Eksplantlardan sürgünlerin çıkarılabilmesi için öncelikle yapraklar uzaklaştırılmış, ardından eksplantlar dikkatli bir şekilde çıkartılarak sürgünlerin zarar görmeden ayrılması sağlanmıştır (Şekil 3.9).



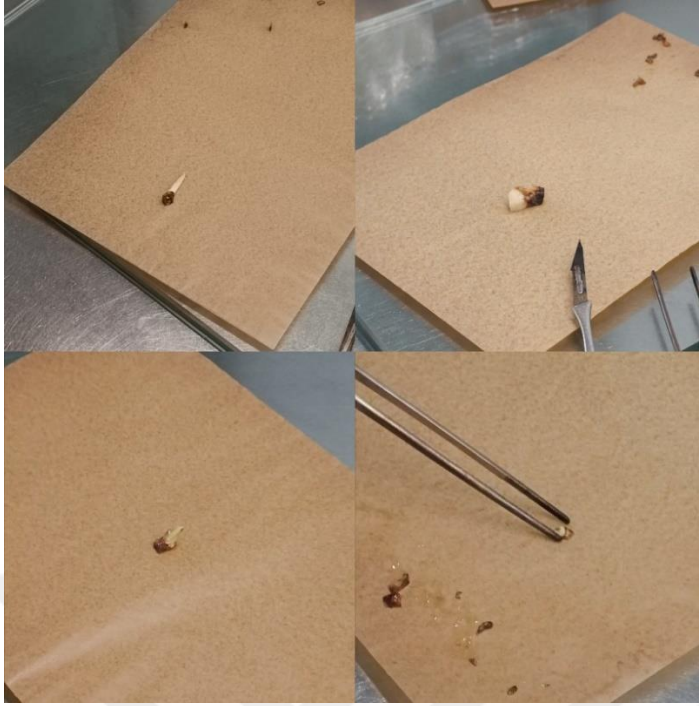
Şekil 3.9. Eksplantlardan sürgünlerin çıkarılması

Eksplantlardan sürgünlerin ayrılmasının ardından, bu sürgünler daha önce tanımlanan çeşitli ortamlara transfer edilmiş ve tepkileri değerlendirilmek üzere gözlemler yapılmıştır (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Çeşitli sterilizasyon ortamlarına aktarılan sürgünler

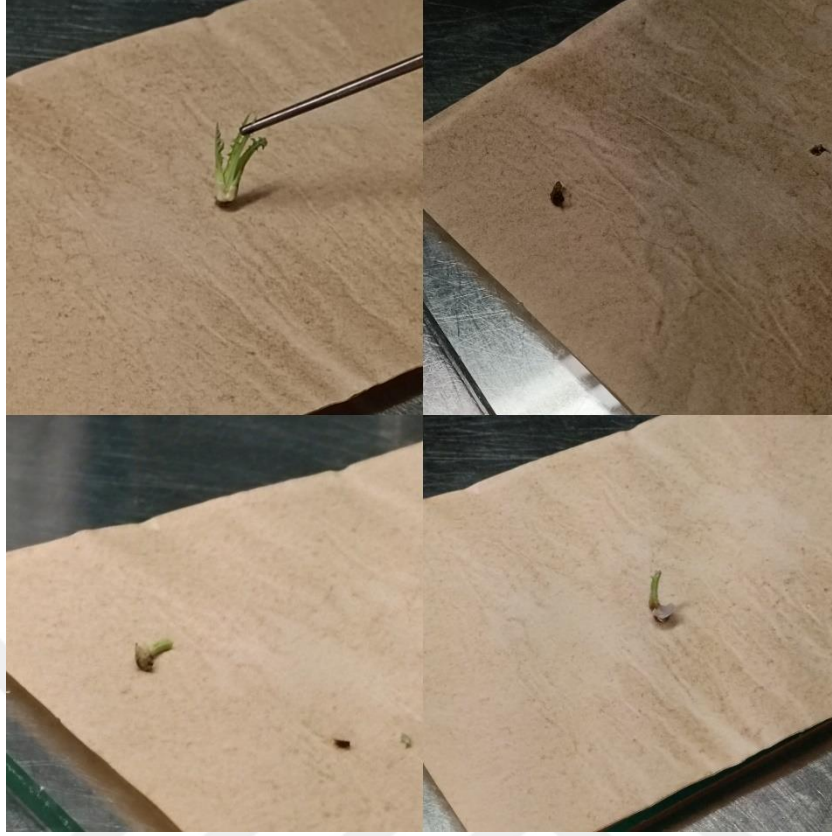
İlk haftanın ardından gerçekleştirilen kontrol sürecinde, eksplantların bulunduğu ortamlar yenilenmiş ve enfeksiyon riskini azaltmak ve gelişimi teşvik etmek amacıyla eksplantlar daha küçük segmentlere ayrılmıştır. Kontaminasyon gösteren örnekler ortamdan uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.11).



Şekil 3.11. Gelişimi artırmak ve kontaminasyonu azaltmak için ortamın değiştirilmesi ve eksplantların daha küçük segmentlere alt kültürlenmesi; bu işlem sırasında enfekte örnekler uzaklaştırılmıştır

Deneyin başlangıcından bir hafta sonra ilk değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada, eksplant büyümesini artırmak ve kontaminasyonu en aza indirmek amacıyla kültür ortamları yenilenmiştir. Enfekte olmuş örnekler ise ortamdan uzaklaştırılmıştır.

İki haftanın ardından ikinci bir değerlendirme yapılmıştır. Büyümeyi teşvik etmek amacıyla eksplantların enfekte olmuş kısımları dikkatlice uzaklaştırılmış ve geriye kalan sağlıklı dokular, kontaminasyonu en aza indirmek için aynı besin ortamına tekrar transfer edilmiştir (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. İki hafta sonrası ikinci değerlendirme: Eksplantların enfekte olmuş kısımları uzaklaştırılmış, sağlıklı dokular büyümeyi teşvik etmek ve kontaminasyonu azaltmak amacıyla aynı besin ortamına yeniden transfer edilmiştir

4. BULGULAR

4.1. İlk Deney: Nanopartiküllerin Sterilizasyonda Kullanılması

Bu deneyde, bir hafta içinde elde edilen sonuçlar ilk deneyin sonuçlarından önemli ölçüde farklılık göstermemiştir; sadece üç eksplant hayatta kalırken, diğer tüm örneklerde gözle görülür bir büyüme olmadan kontaminasyon gözlemlenmiştir.

Bu deneyde, sterilizasyon sürecinden sağ kurtulan bazı eksplantlar, (Şekil 4.1) büyüme ve gelişme sergilemiştir, en belirgin büyüme 3 numaralı ortamda kültürlen numunelerde görülmüştür.



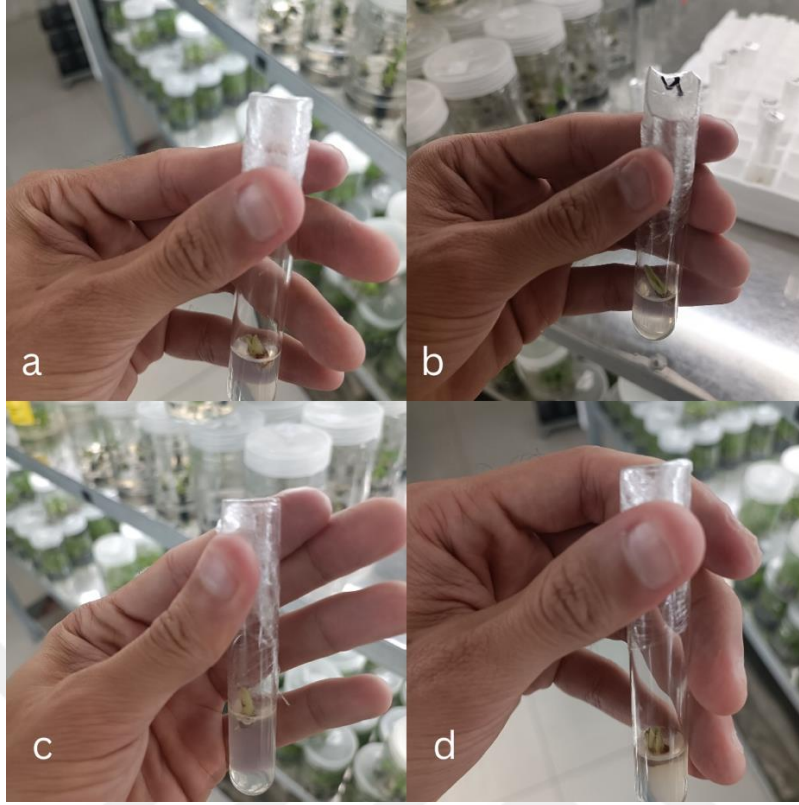
Şekil 4.1. İlk deneyde sterilizasyon sürecinden sağ kurtulan eksplantın büyüme ve gelişmesi

4.2. İkinci Deney: Nanopartiküllerin Sterilizasyonda Kullanılması

İkinci deneyin sonuçlarına göre, yüksek oranda kontaminasyon gözlemlenmiş ve kontaminasyonsuz hiçbir örnek kalmamıştır.

4.3. Üçüncü Deney: Enginar Eksplantlarının Kültüre Alınması

İlk haftanın sonunda, 7 ve 2 numaralı ortamların eksplant gelişimini teşvik etmede en etkili ortamlar olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol ortamında herhangi bir kontaminasyon tespit edilmemiş olsa da belirgin bir eksplant gelişimi gözlenmemiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Seçilen dört ortamda eksplant büyümesinin karşılaştırılması: (a) Ortam 7, (b) Ortam 5, (c) Ortam 2 ve (d) Kontrol ortamı

Eksplantlardan elde edilen sürgünlerin çeşitli sterilizasyon işlemlerinden üç gün sonra, kontaminasyon düzeylerini ve eksplant gelişimini değerlendirmek amacıyla ikinci bir gözlem gerçekleştirilmiştir. Yalnızca iki kontaminasyon vakası tespit edilmiş olup, her ikisi de 7 numaralı ortamda (Kontrol ortamı + 3 mg/L ZnNP) gözlenmiştir. Gelişim ve büyüme açısından en etkili ortamlar 1, 3, 5, 7 ve 4 numaralı ortamlar olurken; 2 ve 6 numaralı ortamlar en düşük performansı göstermiştir. Ancak, daha kesin sonuçlara ulaşmak için nihai değerlendirmeler bir hafta sonunda yapılmıştır.

Çizelge 4.1’de sunulan sonuçlar, eksplantların ilgili ortamlara yerleştirilmesinden bir hafta sonra, farklı ortamların enginar eksplantlarının *in vitro* sterilizasyonu üzerindeki etkisini ve deneysel uygulamaların etkinliğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.1. Enginar eksplantlarının kültüre alınmasını takiben gelişen sürgün sayıları

Ortamlar	Kültüre Alınan Sürgün sayısı	Gelişen sürgün sayısı
1. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA (Kontrol)	3	2
2. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L AgNP	9	5
3. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L AgNP	10	3
4. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L AgNP	12	3
5. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L ZnNP	11	4
6. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L ZnNP	10	3
7. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L ZnNP	12	6

Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden bir hafta sonra ilk değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Eksplantların gelişim uzunluklarını da içeren bulgular Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Farklı nanopartikül ortamlarında aşılama iki hafta sonra kaydedilen eksplant büyüme uzunluğu (cm)

Ortamlar	Gelişen sürgünlerin sayısı	Eksplant uzunluğu (cm)
1. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA (Kontrol)	1	2.8
2. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L AgNP	2	2.5
		1.5
3. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L AgNP	3	6
		3
		3
4. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L AgNP	2	3.5
		1.6
5. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L ZnNP	1	2.1
6. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L ZnNP	0	0
7. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L ZnNP	1	2.3

Çizelge 4.2’de sunulan veriler, en zayıf sonucun, 6 numaralı besin ortamında gözlemlendiğini göstermektedir. İlgili görseller ise her bir besin ortamının eksplant gelişimi üzerindeki etkilerini daha ayrıntılı bir şekilde ortaya koyarak, enginar eksplantlarının *in vitro* gelişimi için en etkili ortamın belirlenmesine yardımcı olmaktadır.

Deneyin başlangıcından bir hafta sonra, bazı eksplantlarda belirgin bir gelişme gözlemlenmiştir (Şekil 4.3 – Şekil 4.8).



Şekil 4.3. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra kontrol ortamında eksplant gelişimi



Şekil 4.4. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 2 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi



Şekil 4.5. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 3 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi



Şekil 4.6. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 4 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi



Şekil 4.7. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 5 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi



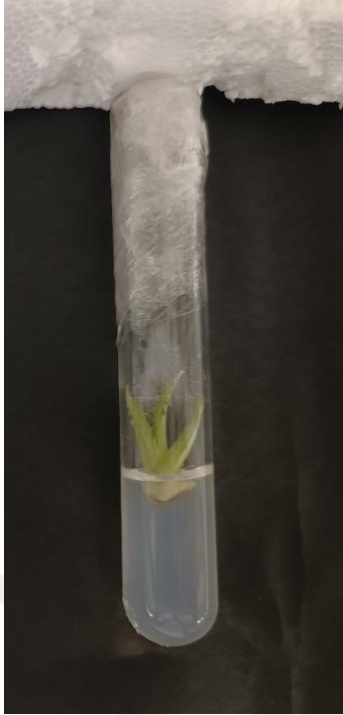
Şekil 4.8. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden iki hafta sonra 7 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi

Deneyin başlamasından iki hafta sonra, birçok eksplant belirgin bir büyüme göstermiş ve bu durum, her eksplant üzerinde gelişen yaprak sayısı ile net bir şekilde ortaya konmuştur. Her uygulamaya ait yaprak sayıları Çizelge 4.3'te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Kültür başlangıcından üç hafta sonra, farklı besin ortamlarındaki eksplantlarda oluşan yaprak sayısı

Ortamlar	Gelişen sürgünlerin sayısı	Gelişen Yaprak sayısı
1. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA (Kontrol)	1	5
2. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L AgNP	1	1
3. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L AgNP	2	1
		4
4. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L AgNP	2	4
		3
5. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 1 mg/L ZnNP	0	0
6. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 2 mg/L ZnNP	0	0
7. $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L ZnNP	1	2

Deneyin başlamasından iki hafta sonra, 4 numaralı besin ortamlarında kültüre alınan eksplantlarda belirgin bir büyüme gözlemlenmiştir (Şekil 4.9 – Şekil 4.11).



Şekil 4.9. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden üç hafta sonra kontrol ortamında eksplant gelişimi, diğer ortamlara kıyasla daha fazla yaprak sayısı göstermektedir



Şekil 4.10. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden üç hafta sonra 3 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi



Şekil 4.11. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden üç hafta sonra 4 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi

Sürgünlerin besi ortamında sekiz hafta süreyle kültüre alınmasının ardından son değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Sadece Ortam 4'ün (30 g/L sakkaroz + 7 g/L agar $\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA + 3 mg/L AgNP) anlamlı bir gelişimi desteklediği gözlemlenmiştir; bu ortamda eksplant başına ortalama beş yaprak gelişimi kaydedilirken, diğer tüm ortamlarda eksplantlar tamamen ölmüştür (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Sürgünlerin ortama yerleştirilmesinden sekiz hafta sonra 4 numaralı besiyerinde eksplant gelişimi

5. TARTIŞMA

Bu araştırmanın temel amacı, ticari açıdan önemli ancak çoğaltımı zor olan Bayrampaşa enginar çeşidi için etkili bir *in vitro* sterilizasyon ve mikroçoğaltım protokolü geliştirmektir. Bu hedef doğrultusunda, kültür ortamına gümüş (AgNPs) ve çinko (ZnNPs) nanopartiküllerinin katkı maddesi olarak eklenmesinin etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, uygulanabilir bir protokol başarıyla oluşturulmuş ve bu nanopartiküllerin eksplant büyüme ve gelişimi üzerinde anlamlı, doza bağlı etkiler gösterdiği ortaya konmuştur.

Çalışmanın ilk aşamaları, literatürde ortaya konmuş olan enginarla çalışma zorluklarını bir kez daha gözler önüne sermiştir. Enginar genellikle dirençli (recalcitrant) ve sürekli kontaminasyona eğilimli bir tür olarak tanımlanmaktadır (Sadak 2020). Birinci ve ikinci deneylerde karşılaşılan yüksek mikrobiyal kontaminasyon oranları, güçlü ve çok aşamalı bir sterilizasyon prosedürünün gerekliliğini açıkça ortaya koymuştur. Ana deneyde kontaminasyonun başarıyla kontrol altına alınması; detaylı yıkama, birden fazla sodyum hipoklorit (NaOCl) uygulaması ve Güney Agripark laboratuvarında sağlanan steril çalışma koşullarını içeren, tekrarlı ve geliştirilmiş protokol sayesinde mümkün olmuştur. Ayrıca, kültür ortamına eklenen nanopartiküllerin de aseptik koşulların korunmasında ek bir antimikrobiyal koruma sağladığı düşünülmektedir. Bu işlev, literatürde de güçlü bir şekilde desteklenmektedir (Alfarraj vd. 2023; Sharma vd. 2012).

Bu çalışmanın en çarpıcı bulgusu, gümüş nanopartiküllerin sürgün uzaması üzerindeki belirgin biyo-uyarıcı etkisi olmuştur 3 mg/L AgNP içeren ortamda (Ortam 4) beş yaprak gelişimi kaydedilmiştir, kontrol dahil tüm diğer uygulamalardan önemli ölçüde daha yüksektir. Bu bulgu, AgNP'lerin *in vitro* morfogenez üzerinde olumlu etkiler gösterebildiğini ortaya koyan önceki çalışmalarla da uyumludur. Örneğin Aghdaei vd. (2012), AgNP içeren ortamlarda eksplantların daha iyi gelişmesini, gümüş iyonlarının etilen inhibisyonu yoluyla sürgün çoğalmasını ve hayatta kalmayı teşvik etmesine bağlamıştır. Ayrıca, bu çalışmada düşük konsantrasyonlarda (1, 2 ve 3 mg/L) gözlemlenen uyarıcı etkiler, Guzmán-Báez vd. (2021) tarafından bildirilen, düşük AgNP konsantrasyonlarının biyo-uyarıcı, yüksek konsantrasyonlarının ise inhibitör etki gösterdiği hormetik doz-yanıt modeli ile örtüşmektedir.

Buna karşılık, çinko nanopartiküllerin etkileri daha karmaşık ve öngörülemez olmuştur. Literatürde ZnNP'lerin bitki büyümesini ve biyokütle üretimini genel olarak artırdığına dair bulgular mevcut olsa da (Panakkal vd. 2021), bu çalışmada 2 mg/L ZnNP içeren ortamda (Ortam 6) gelişme gözlemlenmemiş ve belirgin bir inhibitör etki ortaya çıkmıştır. Ancak hem daha düşük (1 mg/L) hem de daha yüksek (3 mg/L) konsantrasyonlarda orta düzeyde gelişme kaydedilmiştir. Bu doğrusal olmayan yanıt, Bayrampaşa enginar çeşidinin ZnNP'ler için çok dar bir optimum konsantrasyon aralığına sahip olduğunu ve bu aralığın dışındaki uygulamaların fitotoksik etki yaratabileceğini göstermektedir. Milewska-Hendel vd. (2016) da daha önce bazı bitki çeşitlerinin nanopartiküllere özel fizyolojik tepkiler verebileceğini bildirmişlerdir. 2 mg/L'deki

büyümenin baskılanması, Baran vd. (2021) tarafından yüksek ZnONP konsantrasyonlarının oksin taşınımını bozabileceği yönünde öne sürülen mekanizmalarla ilişkili olabilir. Bu durum, her bir nanopartikül tipi ve bitki türü/çeşidi için ampirik olarak optimizasyon yapılmasının kritik önemini vurgulamaktadır.

Kontrol ortamının performansı da aynı derecede önemli bir gözlemdir. Bu ortam, en etkili nanopartikül uygulamalarına kıyasla daha az sürgün uzaması sağlamış olsa da, en fazla yaprak oluşumunu vermesiyle dikkat çekmiştir. Bu durum, kullanılan bazal ortamın ($\frac{3}{4}$ MS + 0,05 mg/L BAP + 0,005 mg/L IBA) organogenez (yaprak farklılaşması) için dengeli bir formülasyon sunduğunu göstermektedir. Öte yandan, AgNP ilavesinin hücresel uzamayı teşvik ederken farklılaşmayı baskılamış olabileceği anlaşılmaktadır. Bu bulgu, ticari çoğaltım amacıyla çok aşamalı bir kültür stratejisinin daha uygun olabileceğini düşündürmektedir: ilk aşamada, sürgünlerin hızlı çoğaltımı ve uzaması için 3 mg/L AgNP içeren Ortam 4 gibi bir ortam kullanılabilir; ardından, yaprak gelişimi, köklenme ve aklimatizasyon öncesi olgunlaşmayı teşvik etmek amacıyla nanopartikül içermeyen bir ortama geçiş yapılabilir.

Bu çalışma önemli bulgular sunmakla birlikte bazı sınırlılıklar da içermektedir. Denemeler yalnızca tek bir enginar çeşidi olan Bayrampaşa üzerinde gerçekleştirilmiş olup, elde edilen sonuçlar Sakız gibi diğer çeşitlere doğrudan uygulanamayabilir. Ayrıca, kullanılan nanopartikül konsantrasyonları sınırlı bir aralıkla test edilmiştir. Gelecekte yapılacak araştırmalarda, AgNP ve ZnNP'lerin optimal ve toksik eşiklerinin daha hassas bir şekilde belirlenebilmesi için daha geniş ve daha kademeli konsantrasyon aralıklarının incelenmesi gerekmektedir. Bu nanopartiküllerin etkilerini nasıl gösterdiğini anlamak amacıyla, hormon analizi ve antioksidan enzim aktivitesi gibi biyokimyasal testlerle fizyolojik mekanizmaların araştırılması yararlı olacaktır. Son olarak, çoğaltılan bitkiciklerin genetik stabilitesinin moleküler belirteçler kullanılarak değerlendirilmesi, nanopartikül kaynaklı çoğalmanın somaklonal varyasyon oluşturmadığını ve orijinal bitkiye genetik olarak sadık bitkiler üretildiğini doğrulamak açısından önem taşımaktadır.

6. SONUÇLAR

Bayrampaşa enginarının *in vitro* sterilizasyonu ve mikroçoğaltımı üzerine yapılan bu çalışma, gümüş ve çinko nanopartiküllerinin kullanımıyla ilgili çeşitli önemli sonuçlar ortaya koymuştur:

- 1. Etkili Bir Sterilizasyon ve Kültür Protokolü Geliştirilmiştir:** Deneysel süreçte çeşitli denemeler yoluyla geliştirilen çok aşamalı bir protokol; kapsamlı yüzey temizliği ve çiftli çamaşır suyu (NaOCl) uygulamalarını içermektedir. Bu rafine edilmiş yöntem, ilk çalışmalarda karşılaşılan yüksek mikrobiyal kontaminasyon oranlarını büyük ölçüde azaltarak, enginar eksplantlarının *in vitro* ortamda başarılı bir şekilde kültüre alınmasını mümkün kılmıştır.
- 2. Gümüş nanopartiküller (AgNPs) Eksplant Uzamasını Önemli Ölçüde Teşvik Etmiştir:** Kültür ortamına gümüş nanopartiküllerin (AgNP) dahil edilmesi, belirgin bir biyostimülant etki ortaya koymuştur. Özellikle 3 mg/L AgNP içeren ortam, tüm uygulamalar arasında en yüksek eksplant uzaması ve yaprak sayısının gözlemlendiği, büyümeyi en fazla teşvik eden formülasyon olarak belirlenmiştir.
- 3. Çinko nanopartiküller (ZnNPs) Belirli Bir Dozda İnhibitif ve Doğrusal Olmayan Etki Göstermiştir:** ZnNP'lerin eksplant gelişimi üzerindeki etkisinin doğrusal olmadığı belirlenmiştir. 3 mg/L konsantrasyonları orta düzeyde büyümeyi desteklerken, 1 mg/L ve 2 mg/L ZnNP içeren ortamda gelişim tamamen durmuştur. Bu durum, Bayrampaşa çeşidinin ZnNP'lere karşı oldukça dar bir tolerans aralığına sahip olduğunu ve belirli konsantrasyonların fitotoksik etki yaratabileceğini ortaya koymaktadır.
- 4. Nanopartiküller Enginar Mikroçoğaltımında Çift Yönlü ve Spesifik Roller Üstlenmektedir:** Araştırma sonuçları, nanopartiküllerin hem aseptik koşulların sağlanmasında antimikrobiyal ajanlar olarak hem de morfogenez süreçlerinde güçlü, doz bağımlı düzenleyiciler olarak işlev gördüğünü kanıtlamaktadır. Uygun kültür ortamı formülasyonu, çoğaltımın hedeflenen amacına bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Örneğin, hızlı eksplant uzamasının hedeflendiği durumlarda 3 mg/L AgNP içeren formülasyon ideal olup, aynı zamanda yaprak gelişiminin maksimize edilmesi amacıyla da tercih edilmelidir.

7. KAYNAKLAR

- Aghdaei, M., Salehi, H., and Sarmast, M. K. 2012. Effects of silver nanoparticles on *Tecomella undulata* (Roxb.) Seem. micropropagation, 26(1), 21–24.
- Alfarraj, N.S., Tarroum, M., Al-Qurainy, F., Nadeem, M., Khan, S., Salih, A.M., Shaikhaldein, H.O., Al-Hashimi, A., Alansi, S. ve Perveen, K. 2023. Biosynthesis of silver nanoparticles and exploring their potential of reducing the contamination of the in vitro culture media and inducing the callus growth of *Rumex nervosus* explants. *Molecules*, 28: 3666.
- Ancora G, m.l. Belli-donini, & l. Cuozzo. 1980. Globe artichoke plants obtained from shoot apices through rapid invitro micropropagation. *Elsevier scientific publishing company*.
- Bagherzadeh Homaei, M., and Ehsanpour, A. A. 2015. Physiological and biochemical responses of potato (*Solanum tuberosum*) to silver nanoparticles and silver nitrate treatments under *in vitro* conditions. *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(4), 353–359.
- Baran, A., Baran, M.F., Keskin, C., Kandemir, S.I., Valiyeva, M., Mehraliyeva, S., Khalilov, R. ve Eftekhari, A. 2021. Ecofriendly/rapid synthesis of silver nanoparticles using extract of waste parts of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and evaluation of their cytotoxic and antibacterial activities. *Journal of Nanomaterials*, 2021: 2270472.
- Basnitzki, Y. ve Zohary, D. 1987. A seed-planted cultivar of globe artichoke. *HortScience*, 22(4): 678-679.
- Bhatia, S., Sharma, K., Dahiya, R., & Bera, T. 2015. *Plant Tissue Culture: Principles and Practices*. Springer, New Delhi, 733 p.
- Bonasia, A., Conversa, G., Lazzizzera, C., Gambacorta, G., and Elia, A. 2010. Morphological and qualitative characterisation of globe artichoke head from new seed-propagated cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2689–2693.
- Bożena, W. R., Adam, E., Mieczysław, O., Elżbieta, B., and Ewa, G. 2015. Application of silver nanoparticles to fruits and vegetables to improve their post-harvest shelf life. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM*, 1(6), 283–290.
- Calabrese, N., Cravero, V. ve Pagnotta, M.A. 2019. *Cynara cardunculus* Propagation. In: Portis, E., Mauromicale, G. ve Lanteri, S. (Eds.), *The Globe Artichoke Genome*. Springer, Cham, pp. 21-40.
- Ceccarelli, N., Curadi, M., Picciarelli, P., Martelloni, L., Sbrana, C., and Giovannetti, M. 2010. Globe artichoke as a functional food. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3, 197-201.
- Demir, C. 2024. Agriculture , Environment and FoodSciences Determination of energy

- usage and greenhouse gas (GHG) emissions in artichoke production, 2018, 642–649.
- De Leo P, Greco B 1976 New technique of artichoke propagation: in vitro culture of apical meristems [Nuova tecnica di propagazione del carciofo: coltura in vitro di meristemi apicali], In: Atti 2nd Congr. Int. Sul Carciofo, Bari. Ed. Minerva Medica Torino, 657- 667.
- Dodds, J.H. ve Roberts, L.W. 1985. *Experiments in Plant Tissue Culture, Second Edition*. Cambridge University Press, Cambridge, 232 s.
- Dong, Z. Y., Rao, M. P. N., Xiao, M., Wang, H. F., Hozzein, W. N., Chen, W., and Li, W. J. 2017. Antibacterial activity of silver nanoparticles against *Staphylococcus warneri* synthesized using endophytic bacteria by photo-irradiation. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUN), 1–8.
- Erdogan, O., Abbak, M., Demirbolat, G. M., Birtekocak, F., Aksel, M., Pasa, S., and Cevik, O. 2019. Green synthesis of silver nanoparticles via *Cynara scolymus* leaf extracts: The characterization, anticancer potential with photodynamic therapy in MCF7 cells. *PLoS ONE*, 14(6), 1–15.
- El Boullani, R., Elmoslih, A., El Finti, A., El Mousadik, A. ve Serghini, M.A. 2012. Improved in Vitro Micropropagation of Artichoke (*Cynara Cardunculus* var. *scolymus* L.). *European Journal of Scientific Research*, 80(4): 430-436.
- FAO. 2021. Food and Agriculture Organization Statistics Database. <http://www.fao.org/faostat/en/#data>
- Foury, C., 1967, Etude de la biologie floral de V artichaut (*Cynara scolymus* L.). Application a la sélection, Ann. Amélior. Plantes, 17, 357-373.
- García-González, R., Quiroz, K., Carrasco, B. ve Caligari, P. 2010. Plant tissue culture: Current status, opportunities and challenges. *Cien. Inv. Agr*, 37. <http://www.rcia.uc.cl/literaturereview>
- Gunasena, M. D. K. M., Alahakoon, A. M. P. D., Polwaththa, K. P. G. D. M., Galpaya, G. D. C. P., Priyanjani, H. A. S. A., Koswattage, K. R., and Senarath, W. T. P. S. K. 2024. Transforming plant tissue culture with nanoparticles: A review of current applications. *Plant Nano Biology*, 10(October), 100102.
- Guzmán-Báez, G.A., Trejo-Téllez, L.I., Ramírez-Olvera, S.M., Salinas-Ruiz, J., Bello-Bello, J.J., Alcántar-González, G. ve Gómez-Merino, F.C. 2021. Silver nanoparticles increase nitrogen, phosphorus, and potassium concentrations in leaves and stimulate root length and number of roots in tomato seedlings in a hormetic manner. *Dose-Response*, 19(4): 1-15.
- Haberlandt G 1902 Kulturversuche mit isolierten Pflanzenzellen. Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien. Math.-Naturwiss. Kl. Abt. J. 111: 69-92.
- Ibrahim, E., Fouad, H., Zhang, M., Zhang, Y., Qiu, W., Yan, C., Li, B., Mo, J. ve Chen, J. 2019. Biosynthesis of silver nanoparticles using endophytic bacteria and their role

- in inhibition of rice pathogenic bacteria and plant growth promotion. *RSC Advances*, 9: 29293-29299.
- Jedrzejczak-Silicka, M. 2017. History of cell culture. In: Jogaiah, S. (Ed.), *New Insights into Cell Culture Technology*. InTech, London, pp. 1-42.
- Jo, Y. K., Kim, B. H., and Jung, G. 2009. Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Disease*, 93(10), 1037–1043.
- Kadakoğlu, B., and Gül, M. 2023. Recent developments in vegetable production in the world and Türkiye, 23(3), 409–418.
- Kalia, A., Abd-Elsalam, K. A., and Kuca, K. 2020. Zinc-based nanomaterials for diagnosis and management of plant diseases: Ecological safety and future prospects. *Journal of Fungi*, 6(4), 1–29.
- Kim, D. H., Gopal, J., and Sivanesan, I. 2017. Nanomaterials in plant tissue culture: The disclosed and undisclosed. *RSC Advances*, 7(58), 36492–36505.
- Kim, S. W., Jung, J. H., Lamsal, K., Kim, Y. S., Min, J. S., and Lee, Y. S. 2012. Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40(1), 53–58.
- Khajavi, M., Rahaie, M., & Ebrahimi, A. 2019. The effect of TiO₂ and SiO₂ nanoparticles and salinity stress on expression of genes involved in parthenolide biosynthesis in Feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 72(1), 3-14.
- Kostić, A.Ž., Milinčić, D.D., Nedić, N., Gašić, U.M., Špirović Trifunović, B., Vojt, D., Tešić, Ž.L. and Pešić, M.B. 2021. Phytochemical profile and antioxidant properties of bee-collected artichoke (*Cynara scolymus*) pollen. *Antioxidants*, 10(7), 1–15.
- Krikorian, A. D. 1982. Cloning Higher Plants From Aseptically Cultured Tissues and Cells. *Biological Reviews*, 57(2), 151–218.
- Lanteri, S. ve Portis, E. 2007. Globe Artichoke and Cardoon. In: Pua, E.C. ve Davey, M.R. (Eds.), *Transgenic Crops V*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 49-74.
- Lattanzio, V., Kroon, P. A., Linsalata, V., and Cardinali, A. 2009. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*, 1(2), 131–144.
- Lombardo, S., Pandino, G., Ierna, A., and Mauromicale, G. 2012. Variation of polyphenols in a germplasm collection of globe artichoke. *Food Research International*, 46(2), 544–551.
- Loyola-Vargas, V. M., and Ochoa-Alejo, N. 2018. An Introduction to Plant Tissue Culture: Advances and Perspectives. In *Methods in Molecular Biology*, Plant Cell Culture Protocols. Springer, pp. 3-13.
- Mather, J.P. ve Roberts, P.E. 1998. *Introduction to Cell and Tissue Culture: Theory and Technique*. Plenum Press, New York, 241 s.

- Mech, B., Bihari, C., Marak, E.R., Ahamad, S. ve Rahman, A.M. 2023. Advances Production Technology of Globe Artichoke. *A Textbook on Advances Production Technology of Temperate Vegetable Crops*, ss. 266-284.
- Milewska-Hendel, A., Gawecki, R., Zubko, M., Stróz, D., and Kurczynska, E. 2016. Diverse influence of nanoparticles on plant growth with a particular emphasis on crop plants. *Acta Agrobotanica*, 69(4), 1–9.
- Moshirian Farahi, S.M., Taghavizadeh Yazdi, M.E., Einafshar, E., Akhondi, M., Ebadi, M., Azimipour, S., Mahmoodzadeh, H. ve Iranbakhsh, A. 2023. The effects of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles on physiological, biochemical, and antioxidant properties of Vitex plant (Vitex agnus - Castus L). *Heliyon*, 9: e22144.
- Muhammad Ali Raza, and Muhammad Faizan. 2023. Potential role of silver nanoparticles (AgNPS) and Zinc nanoparticles (ZnNPS) for plant disease management. *Agrobiological Records*, 14, 59–69.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tohaoco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 474–497.
- Neumann, K.H., Kumar, A. ve Imani, J. 2020. *Plant Cell and Tissue Culture – A Tool in Biotechnology: Basics and Application (Second Edition)*. Springer, Cham, 459 s.
- Nhut, D.T. 2024. Undeniable Positive Impacts of Metal Nanoparticles in Plant Tissue Culture. In: Nhut, D.T. ve Tung, H.T. (Eds.), *Metal Nanoparticles in Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Springer, Singapore, pp. 1-45.
- Panakkal, H., Gupta, I., Bhagat, R. ve Ingle, A.P. 2021. Effects of different metal oxide nanoparticles on plant growth. In: Ingle, A.P. (Ed.), *Nanotechnology in Plant Growth Promotion and Protection: Recent Advances and Impacts*. John Wiley & Sons Ltd., Hoboken, pp. 259-282.
- Pecaut, P. 1993. Globe artichoke. In: Kalloo, G. ve Bergh, B.O. (Eds.), *Genetic Improvement of Vegetable Crops*. Pergamon Press, Oxford, pp. 737-746.
- Petropoulos, S. A., Pereira, C., Ntatsi, G., Danalatos, N., Barros, L. ve Ferreira, I. C. F. R. 2018. Nutritional value and chemical composition of Greek artichoke genotypes. *Food Chemistry*, 267: 296-302.
- Rastogi, A., Tripathi, D. K., Yadav, S., Chauhan, D. K., Živčák, M., Ghorbanpour and Brestic. 2019. Application of Silicon nanoparticles in agriculture. *3 Biotech*, 9(3), 1–11.
- Riahi, J., Nicoletto, C., Bouzaein, G., Sambo, P. ve Khalfallah, K.K. 2017. Effect of vegetative propagation materials on globe artichoke production in semi-arid developing countries: Agronomic, marketable and qualitative traits. *Agronomy*, 7(4): 65.
- Sadak, Y.S. 2020. Aktinobakteri suşları kullanılarak gümüş nanopartikül sentezi, karakterizasyonu ve biyolojik özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Mersin.

- Salem, M. Ben, Affes, H., Ksouda, K., Dhouibi, R., Sahnoun, Z., Hammami, S., and Zeghal, K. M. 2015. Pharmacological Studies of Artichoke Leaf Extract and Their Health Benefits. *Plant Foods for Human Nutrition*, 70(4), 441–453.
- Sekara, A., Kalisz, A., Gruszecki, R., Grabowska, A., and Kunicki, E. 2015. Globe artichoke – A vegetable herb and ornamental of value in central europe: A review. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 90(4), 365–374.
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P. P., Khanna, P. K., and Arora, S. 2012. Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and Antioxidant Status of Brassica juncea. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 167(8), 2225–2233.
- Singh, Y., Kumar, U., Panigrahi, S., Balyan, P., Mehla, S., Sihag, P., Sagwal, V., Singh, K.P., White, J.C. ve Dhankher, O.P. 2023. Nanoparticles as novel elicitors in plant tissue culture applications: Current status and future outlook. *Plant Physiology and Biochemistry*, 203: 108004.
- Skoog, F. and C.O. Miller 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures in vitro. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 11: 118–131.
- Steward FC, Mapes MO, Mears K 1958 Growth and organized development of cultured plant cells. *Am J Bot* 45:705–708
- Taghizadeh, M. ve Solgi, M. 2014. The Application of Essential Oils and Silver Nanoparticles for Sterilization of Bermudagrass Explants in vitro Culture. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 1(2): 131-140.
- Thorpe, T.A. 2007. History of plant tissue culture. *Molecular Biotechnology*, 37: 169-180.
- Trigiano, R.N. ve Gray, D.J. (Eds.). 2000. *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises, Second Edition*. CRC Press, Boca Raton, 444 s.

ÖZGEÇMİŞ

Mohamed Ashraf Shawky OSMAN

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2023-2025	Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Lisans	Fayoum Üniversitesi
2016-2020	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Fayoum

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi	Fayoum Üniversitesi
2021- Devam Ediyor	Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Fayoum