

***In-vitro* koşullarda kültüre alınan Türkiye endemiği *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük (Fabaceae) bitkisinin mineral element içeriğinin tespiti**

Dilek TEKDAL^{*1}, Selim ÇETİNER²

¹Sabancı Üniversitesi Biyoloji Bilimleri ve Biyomühendislik Programı, İstanbul, Türkiye

^{*}Sorumlu yazar / Correspondence: dilektekdal@sabanciuniv.edu

Geliş/Received: 10.01.2014 • Kabul/Accepted: 22.02.2014 • Yayın/Published Online: 04.03.2014

Özet: Türkiye endemiği olarak bilinen *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük (Fabaceae) ovaryumunun çok karpelli olması nedeni ile yer aldığı *Fabaceae* familyası içerisinde tek tür olma özelliği taşımaktadır. Bu önemli özelliğinin yanısıra, *T. turcica* Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'na göre Çok Tehlikede kategorisinde yer almakta olup, *in vitro* koşullarda çoğaltılmasına yönelik çalışmalar önemlilik arz etmektedir. Bu nedenle sunulan çalışma kapsamında türün Eber populasyonuna ait bitki materyali Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi'nden temin edilmiştir. Bitkinin *in vitro* çoğaltımı amacıyla yaprak eksplantı ile bitki büyüme düzenleyicilerinden: Naftalen asetik asit (2,0 mg L⁻¹) ve Zeatin (0,5 mg L⁻¹) içeren Murashige ve Skoog bazal besi ortamı kullanılmıştır. Köklendirme besi ortamı olarak 2,0 mg L⁻¹ Indol-3-bütirik asit içeren Murashige ve Skoog bazal besi ortamı kullanılmıştır. Rejenere olan bitkilerin gövde ve yaprak kesitlerinin mineral analiz içeriği ölçülmüştür. Analiz sonucuna göre, makroelementlerden bakır ve magnezyum içeriğinin bitki yaprak kesitinde referans türlere (*Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* ve *Pisum sativum*) göre düşük olduğu fakat potasyum, fosfor, demir ve boron içeriğinin yeterli düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Sunulan çalışma sonucunun *in vitro* koşullarda büyütülen piyan bitkisinin dış ortama aktarılmasında ihtiyaç duyulan toprak besin içeriğinin doğru saptanması açısından faydalı olacağı ön görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Eber, *in-vitro* çoğaltım, mineral analiz, *Piyan*, *Thermopsis turcica*

Determination of mineral element content of *in-vitro* propagated Turkish endemic plant, *Thermopsis turcica*

Abstract: *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük (Fabaceae) due to its polycarpellary feature, is known to be single endemic plant species belonging to *Fabaceae* family existing in Turkey. Besides of enjoying this important feature, *T. turcica* has been classified as critically endangered plant species in 'Red Data Books of Turkish plant' and is taken under conservation. The samples from Eber populations of *Thermopsis turcica* were provided from Istanbul Nezahat Gokyigit Botanical Garden. For *in vitro* propagation, leaf explants were cultured on Murashige and Skoog's medium supplemented with Naphthaleneacetic acid (2.0 mg L⁻¹) and Zeatin (0.5 mg L⁻¹) from plant growth regulators. Murashige and Skoog's basal medium supplemented with 2.0 mg L⁻¹ indole-3-butyric acid was used as a rooting medium. Mineral analysis of stem and leaf explants from regenerated plants was conducted. According to analysis results, leaf part of *T. turcica* have low copper and magnesium content, whereas potassium, phosphorus, iron and boron content was found to be sufficient to compare with reference species as *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* and *Pisum sativum*. The findings presented here have implications for learning required soil nutrient content for transferring of *in vitro* propagated plants.

Key words: Eber, *in-vitro* propagation, mineral analysis, *Thermopsis turcica*

GİRİŞ

Thermopsis turcica Kit Tan, Vural & Küçüköyük (*Piyan*) ismini Türkiye'den alan ve Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı'na göre çok tehlikede (Critically Endangered, CR) kategorisinde yer alan bitki türüdür (Davis & Mill, 1965;

Davis vd., 1988; Vural 1983; Vural 2009; Güner & Aslan vd., 2012). Bitki ovaryumu 3-4 karpelli olup her karpelde 2-3 tohumludur ve stamen sayısı 10 adettir. Çiçekler hermafrodittir. Üremesi vejetatif olarak kök gövdelerinin yayılması ile gerçekleşmektedir. Tohumdan bitkinin çiçeklenmesi 4 yıl sürmektedir. Meyve legümandır. Çiçeklenme Mayıs-Haziran aylarında ve meyve oluşumu Temmuz-Ağustos aylarında olmaktadır. Sarı renkli petalleri nedeni ile yöre halkı tarafından *Acı piyan*, *Altın otu*, *Sarı meyan* ve *Eber sarısı* isimleri ile de anılmaktadır. Bitki yüksek oranda alkaloid içermektedir (Davis & Mill vd., 1988; Ekim & Koyuncu vd., 2000; Cenkci vd., 2007; Özdemir & vd., 2008; Vural, 2009; Anonim, 2011; Çapacı, 2011).

Türün bir çiçekte 3 ovaryumlu olması bulunduğu familya içerisinde tek olma özelliği kazanmakta olup, ayrıca bu özelliği nedeniyle, tür bitki ıslahı ve ürün geliştirme çalışmaları için kaynak teşkil etmektedir (Ekim vd., 2000; Vural, 2009).

Piyan, yayılış gösterdiği Konya ve Afyonkarahisar illeri ile Eber ve Akşehir gölleri ve çevresinde iklimsel ve tarımsal faktörlerin (yayılış gösterdiği göl sularının çekilmesi, yıllık yağış miktarının değişimi, rizom kökleri ile çoğalmasına bağlı olarak tarla arsız otu olarak görülüp yöre halkının bitkiyi koparması vs.) yanısıra çiçeklerini tüketen *Bakla zınnı* (*Epicometis hirta*) ve tohumlarını tüketen kınkanthı böcek varlığı nedeni ile yok olma tehlikesi altındadır (Vural, 2009; Anonim, 2011).

Türün yok olma tehlikesi altında bulunması nedeniyle, 2009 yılında türün Akşehir ve Eber populasyonlarından örnekler İstanbul Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi'nde (NGBB) korumaya alınmıştır (Anonim 2011). Şekil 1.'de sunulan çalışmanın yapıldığı 2011 yılında NGBB'den temin edilen *Piyan* örneklerinin meyvası ile beslenen ve türü bilinmeyen böcek varlığını göstermektedir.



Şekil 1. *Piyan* (*T. turcica*) meyvasındaki predator'un görüntüsü.

Piyan bitkisinin yok olma tehlikesi altında olması ve sınırlı yayılış gösterdikleri doğal ortamlarında çeşitli tarımsal ve çevresel faktörlerin etkisi ile üretilmelerinin zor olması onların çoğaltılmaları için doku kültürü tekniklerinden faydalanılmasını şart koşmaktadır. Bitkilerin hızlı üretilmelerinde, patojenlerin elimine edilmesinde, ıslah programlarında, somaklonal varyasyon ve somatik melezleme çalışmalarında, embriyo kurtarma, hücre kültürü, klonal çoğalma, protoplast kültürü, somatik hibridizasyon ve genetik materyalin *in vitro* muhafazası gibi doku kültürü tekniklerinden faydalanılmaktadır (Tür, 1993). Minerallerin eksiklik veya fazlalıklarının bitkilerde değişik gelişim bozukluklarına neden olduğu bilinmektedir (Öncel vd., 2004). Bu nedenle doku kültüründe en iyi gelişim gösteren bitkilerin mineral analiz içeriğinin tespiti dış ortam bitki gereksiniminin bilinmesi açısından önemli olacağı düşünülmektedir.

Sunulan çalışma ile çok tehlike altında bulunan ve ovaryumun çoklu karpelle sahip olması nedeni ile içerisinde yer aldığı *Fabaceae* familyasında dünya'da tek tür olma özelliğine sahip *Piyan* bitkisinin çoğaltılmasına yönelik olarak bitki yaprak kesitleri kullanılmıştır. Ayrıca, *in vitro* koşullarda elde edilen bitkilerin gövde ve yaprak kesitlerinde mineral element analizi yapılarak elde edilen bitkiciklerin aktarılacağı dış ortam mineral isteği belirlenmeye çalışılmıştır. Doğal ortamında yetişen bitkilerde mineral besin elementi isteği olası çevresel kaynaklı stres durumuna bağlı olarak değişiklik gösterebileceği ihtimali göz önüne alındığından, sunulan çalışmada doku kültürü gibi kontrollü koşullar altında (sabit besi ortamı, sabit sıcaklık ve periyodik ışıklandırma vs.) yetiştirilen bitkilerin mineral besin içeriğinin tespitinin bu bitkilerin dış ortam isteğinin belirlenmesinde daha güvenilir olacağı düşünülmüştür.

MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma materyali olarak Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi'nde (NGBB) koruma altına alınan *Piyan* (*T. turcica*) bitkisinin Eber popülasyonundan örnekleme çalışması yapılmış olup doğadan toplama yapılmamıştır (Şekil 2).



Şekil 2. *Piyan* (*T. turcica*-Eber popülasyonu) bitkisinin NGBB'deki görünümü.

2011 Haziran ayında NGBB'den bitki dalı şeklinde temin edilen örnekler hızlı bir şekilde Sabancı Üniversitesi Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı'na getirilerek çalışılmıştır.

Yüzey sterilizasyonu

NGBB'den temin edilen bitki örnekleri çeşme suyu altında 30 dk. boyunca yıkamaya alınmıştır. Yıkama sonrası istenilmeyen doku parçaları (tomurcuk, çiçek vs.) uzaklaştırılmıştır. Steril kabin içerisine alınan eksplantlar öncelikle % 70'lik EtOH (etil alkol) 1 dk. tutulmuş ve ardından % 15'lik NaOCl (sodyum hipoklorid) çözeltisi

içerisinde 10 dk. bekletilmiştir. Süre sonunda örnekler steril saf su ile 3-4 kez yıkanmıştır. Yıkama sonrası bitki yaprağı her örnek ana damarı içerecek şekilde daha küçük kare şeklinde parçalara ayrılmıştır.

Doku kültürü çalışması

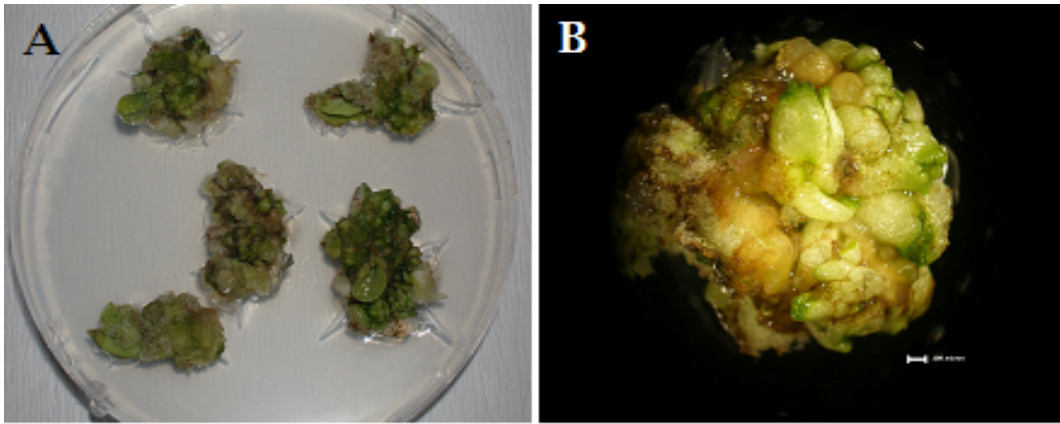
Örnekler, önceki çalışma bulguları ışığında yaprak eksplantından en iyi rejenerasyonun elde edildiği (yayınlanmamış veri) 2,0 mg L⁻¹ Naftelen asetik asit (NAA) ve 0,5 mg L⁻¹ Zeatin (ZEA) içeren katı Murashige and Skoog (MS) bazal besi ortamında kültüre alınmıştır. Besi yerlerine % 3 sükröz ve % 0,7 agar ilave edilmiştir. Örnekler 24-28 °C'de ve 16 saat fotoperiyodisite gösteren büyütme odası koşullarında kültüre alınmıştır. Rejenerasyonu gerçekleşen örnekler aynı besi ortamında alt kültüre alınarak gelişimleri devam ettirilmiştir. Gelişimi sağlanan örnekler için köklendirme ortamı olarak 2,0 mg L⁻¹ İndol-3-bütirik asit (IBA) içeren besi ortamı kullanılmıştır. Köklendirilen bitkilerin gövde ve yaprak parçaları mineral analiz çalışmasında kullanılmıştır.

Mineral analiz

Gövde ve yaprak eksplantları agar vs. gibi istenmeyen maddeleri ortamdaki uzaklaştırmak için en az 3 kez deiyonize su ile yıkanmıştır. Yıkama sonrası bütün bitki örnekleri 60 °C etüvde sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulup tartılmış ve ardından porselen havan kullanılarak öğütülmüştür. Öğütülen örneklerden 0,2 g tartılarak kapalı mikrodalga sisteminde (MarsExpress; CEM Corp. Matthews, NC, USA) yaş yakma metoduna göre 2 ml % 30 H₂O₂ ve 5 ml % 65 HNO₃ karışımında 1 saat süreyle yakıldıktan sonra saf su ile son hacmi 20 ml'ye tamamlanmış ve mavi bant filtre kapısından süzümüştür. Daha sonra bu örneklerin Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) (Vista-Pro Axial, Varian Pty Ltd, Mulgrave, Australia) cihazında mineral element analizi yapılmıştır. ICP ölçümleri sertifikalı standart referans materyaller kullanılarak (National Institute of Standards and Technology -NIST; Gaithersburg, MD, USA) kontrol edilmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

2011 Haziran ayı içerisinde NGBB'den temin edilen Eber populasyonuna ait bitki materyali vakit kaybedilmeden bitkinin *in vitro* koşullarda çoğaltılmasına yönelik olarak rejenerasyon deneme çalışmasında kullanılmıştır. Elde edilen bulgular neticesinde en iyi rejenerasyonun 2,0 mg L⁻¹ NAA ve 0,5 mg L⁻¹ ZEA içeren katı MS bazal besi ortamına alınan bitki yaprak dokusundan elde edildiği belirlenmiştir (yayınlanmamış veri) (Şekil 3). Ayrıca, kontrol grubu olarak kullanılan hormon içermeyen MS bazal besi ortamına alınan yaprak dokularında kültüre alındıkları 3. haftada nekrozis oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4).

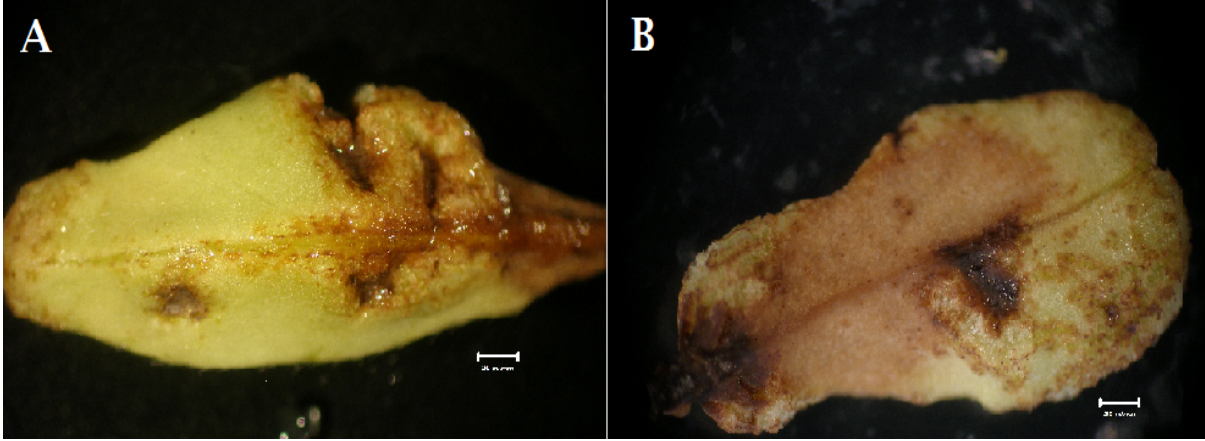


Şekil 3. Piyan (*T. turcica*-Eber populasyonu) yaprak eksplantının 2,0 mg L⁻¹ NAA ve 0,5 mg L⁻¹ ZEA içeren katı MS bazal besi ortamında 3 hafta sonraki görünümü (A: Petri kabındaki örneklerin genel görünümü; B: Yaprak örneğinin stereo mikroskop altındaki görüntüsü (X20, bar 100 µ).

Petri kabında gelişen örnekler aynı besi ortamı içeriğine sahip tüpler içerisine alınarak gelişimleri devam ettirilmiştir (Şekil 5).

2,0 mg L⁻¹ NAA ve 0,5 mg L⁻¹ ZEA içeren katı MS bazal besi ortamında gelişimleri devam ettirilen örnekleri köklendirmek amacıyla 2,0 mg L⁻¹ IBA içeren MS katı besi ortamı kullanılmıştır. Cencki & Kargioğlu vd. (2008) ile Cencki & Temel vd. (2009), Piyan bitkisinin Eber populasyonuna ait tohumları ve Akşehir populasyonuna ait rizomları kullanarak *in vitro* çoğaltım çalışması yapmışlardır. Sunulan çalışmada, Eber populasyonuna ait bitkilerin yaprak eksplantı kullanılarak yeni bitkiler elde edilmiştir. Cencki & Kargioğlu vd. (2008) ile Cencki & Temel vd. (2009) çalışmalarını ile sunulan çalışma arasındaki farklar kullanılan hormon kombinasyonları ve

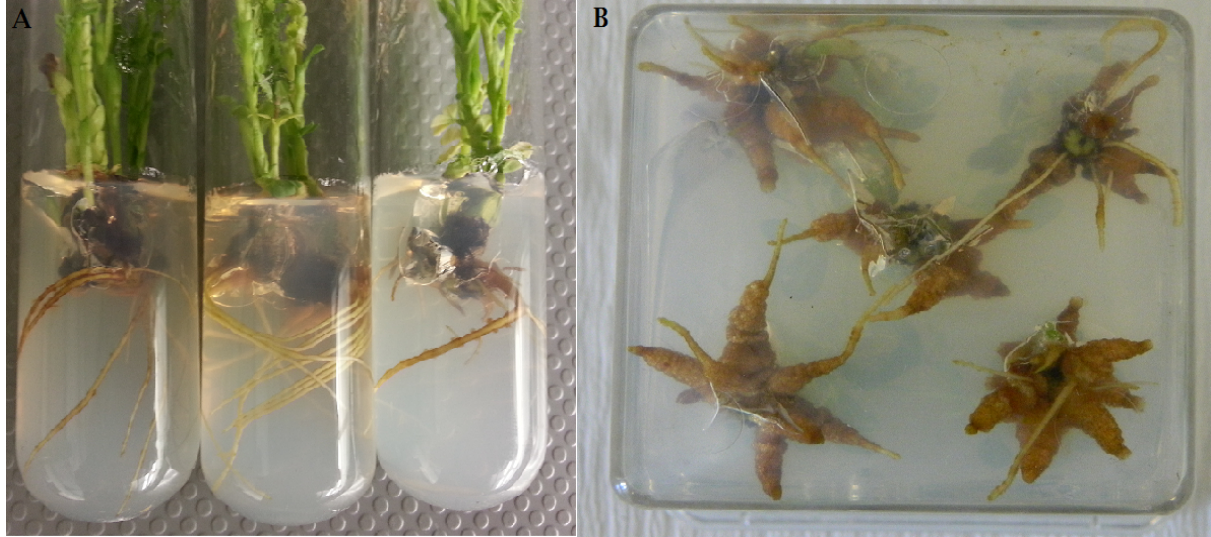
konsatrasyonları ile çalışmada kullanılan bitki eksplantının seçimidir. *T. turcica* yaprak eksplantı üzerine ZEA etkisi ilk kez bu çalışmada araştırılmış olup Piyan bitkisi yaprak dokusundan tomurcuk oluşumu üzerinde ZEA'nin etkisinin olduğu gözlemlenmiştir. Cenkci vd., (2008) 0,5 μ M IBA'nın kısa ve uzun süreli uygulamaları sonucunda Piyan bitkisinde kök oluşumunda farklılıklar olduğunu, uzun süreli uygulamalarda kök oluşumunun kalın, kısa ve koyu renkli olduğunu, kısa süreli uygulamalarda ise uzun, açık renk ve ince olduğunu gözlemlenmişlerdir. Sunulan çalışmada, 2,0 mg L⁻¹ IBA içeren besi ortamında uzun süreli kültüre alınan bitkilerde kök oluşumunun sorunsuz devam ettiği ve tüpler içerisinde kültüre alınan bitkilerde köklerin uzun ve ince olduğu aksine magenta kutularında gelişimleri devam ettirilen bitkilerin köklerinin kalın ve kısa olduğu gözlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 4. A ve B, kontrol grubu olarak kullanılan hormon içermeyen MS bazal besi ortamında kültüre alınan yaprak örneklerinin 3. haftadaki görünümünü göstermektedir (X20, bar 20 μ).



Şekil 5. Tüpler içerisinde gelişimleri devam ettirilen örneklerin görüntüsü.



Şekil 6. 2,0 mg L⁻¹ IBA içeren MS katı besi ortamında köklendirilen örneklerin görüntüsü (A-tüpler içerisinde büyütülen örneklerin görüntüsü; B-magenta kutusunda büyütülen örneklerin görüntüsü).

Son zamanlarda insan beslenmesinin ana kaynağını oluşturan bitkilerin üretimi ile ilgili çalışmalar ağırlık kazanmış olup, bitkisel üretimi kısıtlayan besin eksikliği ve mineral toksisitesinin Dünya'da tarım yapılan alanların % 60'ında görüldüğü bilinmektedir (Çakmak, 2002). Yok olma tehlikesi altında bulunan Piyan bitkisinin varlığının devam ettirilmesinde bulunduğu alan koşullarının optimum düzeyde tutulması önemlilik arz etmektedir. Bunun yanısıra, doku kültüründe çoğaltılan bitkilerin dış ortama adaptasyonlarının en hızlı şekilde sağlanması için aktarılabilecekleri toprak besin içeriğinin bitki gereksinimleri açısından doğru saptanması avantaj sağlayacaktır.

Mineral analiz için *in vitro* ortamda çoğaltılan Eber populasyonuna ait bitki materyallerinin gövde ve yaprak kesitleri kullanılmış olup her eksplant örneği ayrı ayrı analiz edilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Piyan (*T. turcica*-Eber populasyonu) ait farklı bitki parçalarının mineral içeriği

	K	P	Ca	Mg	S	Fe	Zn	Mn	Na	Cu	B	Al
	%					ppm						
Yaprak	2,89 ± 0,19	0,51 ± 0,13	0,37 ± 0,07	0,14 ± 0,02	0,26 ± 0,03	99 ± 4	57 ± 9	201 ± 6	199 ± 10	1 ± 0	22 ± 0	4 ± 2
Gövde	2,71 ± 0,32	0,38 ± 0,10	0,25 ± 0,04	0,08 ± 0,00	0,17 ± 0,03	46 ± 12	49 ± 0	77 ± 1	486 ± 28	2 ± 1	46 ± 13	1 ± 0

Literatür bilgilerine göre, *T. turcica* bitkisinde mineral analiz ile ilgili günümüze kadar yapılmış yalnızca yüksek lisans tezi niteliğinde bir çalışma mevcuttur. Bu çalışmada, bitki besin elementi kompozisyonuna da bakılmış ve bitki bünyesinde mikroelementlerden Mn, Fe, Zn, Cu, Pb ve makroelementlerden P, Na, N, K bulunduğunu tespit etmiştir. Çalışması sonucunda Fe elementinin bitkinin toprak altı organında diğer kısımlarına göre daha yüksek oranda olduğunu ve ayrıca Mg ve Ca elementlerinin bitkide az düzeyde bulunduğunu belirtmiştir. Bulunan bu sonuçlar bizim çalışmamız ile benzerlik göstermekte olup makroelementlerden kükürt, fosfor ve potasyum içeriğinin bitkinin gövde ve yaprak dokusundaki içeriği yeterli bulunurken, Ca ve Mg içeriğinin ise düşük olduğu görülmüştür. Mikroelementlerden Cu içeriğinin gövde ve yaprak eksplantında düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca, Mn içeriğinin yaprak dokusunda gövde dokusuna göre fazla olduğu görülürken, Na içeriğinin ise aksine gövde dokusunda çok daha fazla olduğu görülmüştür. Bitki yaprak dokusu element içeriğini referans türler ile kıyasladığımızda (Tablo 2) makroelementlerden Mg ve mikroelementlerden Cu içeriğinin referans türlere göre düşük olduğu tespit edilmiştir.

Mineral analiz sonucuna göre (Tablo 1) Ca miktarının bitkinin gövde ve yaprak dokusunda düşük olduğu görülmekle beraber yaprak kısmında gövde dokusuna göre daha yüksek oranda bulunmasının nedeni olarak bitki yaprağının gelişiminde Ca elementine ihtiyaç duyması düşünülmektedir (Smith, 1962; Marschner, 1995; Çakmak, 2002). Peuke & Jeschke vd. (2002), besin çözeltisinde eksik olan iyonun iyon dengesini karşılama eğiliminden dolayı diğer iyonların alınmasında artış olduğunu belirlemişlerdir.

In vitro kültüre alınan *T. turcica* bitkisinin besin element içeriğinin belirlenmesinin bitkinin fenotipik özelliği ve fizyolojik mekanizması arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi açısından önemli olacağına düşünülmesinin yanısıra bitkinin dış ortamda yetiştirilmesinde gübreleme uygulamaları için kaynak teşkil etmesi beklenmektedir.

Sunulan bu çalışma sonucunda, sahip olduğu önemli genetik özelliği yanısıra çok tehlike altında bulunan türler kategorisinde yer alan bu bitki türümüzün birçok araştırmacı tarafından dikkat çekeceği düşünüldüğünden çalışmanın türün korunmasına yönelik alternatif projelerin hayata geçirilmesine katkı sağlayacağı ön görülmektedir. Ayrıca, sarı renkli dikkat çekici çiçekleri olan bu türün *in vitro* kültüre alınması süs bitkileri ıslahı açısından da önemli olacağı düşünülmektedir. *In vitro* koşullarda yetiştirilen Piyan bitkisinin mineral analiz içeriğinin bilinmesinin türün yetiştirilme denemelerinde ihtiyaç duyulan toprak besin içeriğinin önceden bilinmesi açısından faydalı olacağı ve bu nedenle tür ile ilgili mineral toksisite görülmesi riskinin bir nebze azaltılacağı düşünülmektedir.

Tablo 2. Referans örnekler ile (Jones & Wolf vd. (1991) ve Alpaslan & Güneş vd. (1998)) *in vitro* koşullarda yetiştirilen Piyan bitkisinin mikroelement analiz içeriklerinin karşılaştırılması.

Örnekler	Makroelementler (%)					Mikroelementler (ppm)				
	Ca	Mg	K	P	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
<i>Glycine max</i> (Soya) (Genç yaprak)	0,36-2,00	0,26-1,00	1,71-2,50	0,26-0,50	0,21-0,40	21-55	10-30	51-350	21-100	21-50
<i>Phaseolus vulgaris</i> (Fasulye) (Genç yaprak)	1,50-2,50	0,30-1,00	2,25-4,00	0,35-0,75	-	20-75	7-30	50-300	50-300	20-200
<i>Pisum sativum</i> (Bezelye) (Genç yaprak)	1,20-2,00	0,30-0,70	2,00-3,50	0,30-0,80	-	25-60	7-25	50-300	30-400	25-100
<i>Thermopsis turcica</i> (Piyan) (Yaprak)	0,37±0,07	0,14±0,02	2,89±0,19	0,51±0,13	0,26±0,03	22±0	1±0	99±4	201±6	57±9

TEŞEKKÜR

Sunulan çalışmada kullanılan bitki materyalinin temin edilmesini sağlayan Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi yetkililerine ve ayrıca mineral analiz çalışmasındaki yardımlarından ötürü Dr.Elif Haklı Heybetli, Dr.Mustafa Atilla Yazıcı ve Veli Bayır'a teşekkürlerimizi sunarız.

KAYNAK LİSTESİ

- Alpaslan, M., Güneş, A. & İnal A. (edlr.). (1998). *Deneme Tekniği*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Anonim, (2011). *Piyan Projesi, Thermopsis turcica*, Kit Tan, Vural & Küçüköyük: <http://www.ngbb.org.tr/tr/bilim/koruma-projeleri/piyan-projesi.html>, (erişim tarihi: 04.04.2012).
- Cenkci, S., Kargioğlu, M., Dayan, S. & Konuk, M. (2007). Endangered status and propagation of an endemic plant species, *Thermopsis turcica* (Fabaceae). *Asian J. Plant Sci.* 6: 288-293.
- Cenkci, S., Kargioğlu, M., Dayan, S. & Konuk, M. (2008). *In vitro* propagation of an endangered plant species, *Thermopsis turcica* (Fabaceae). *Biologia* 63: 652-657.
- Cenkci, S., Temel, M., Kargioğlu, M. & Dayan, S. (2009). Propagation of endangered *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük using conventional and *in vitro* techniques. *Turk. J Biol.* 33: 327-333.
- Çakmak, İ. (2002). Plant nutrition research: Priorities to meet human needs for food in sustainable ways. *Plant and Soil* 247: 3-24.
- Çapacı, K. (2011). Türkiye'nin endemik çiçekleri: http://www.kazimcapaci.com/FR_endemikcicekler.htm, (erişim tarihi: 04.04.2012).
- Davis, P.H. & Mill, R.R. (edlr.). (1965). *Flora of Turkey*. Edinburg University Press, Edinburg.
- Davis, P.H., Mill R.R. & Kit T (edlr.). (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M.T. (edlr.). (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z. & Adıgüzel, N. (edlr.). (2000). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı (Red Data Book of Turkish Plants)*. Barışcan Ofset, Ankara.
- Jones, B.J., Wolf, B. & Mills, A.H. (edlr.). (1991). *Plant Analysis Handbook: a practical sampling, preparation, analysis, and interpretation guide*. Micro-Macro Publishing, USA.
- Marschner, H. (ed.). 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 2nd Edition. Academic Press, New York.

- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant* 15: 473-497.
- Öncel, I., Üstün, S. & Keleş, Y. 2004. Bitki Fizyolojisi Laboratuvar Kılavuzu. A.Ü.F.F. Döner Sermaye İşletmesi Yayınları, Ankara.
- Özdemir, C., Dural, H., Ertuğrul, K., Küçüköyük, M., Baran, P. & Şanda, M.A. (2008). Morphology and anatomy of endemic *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük, *Bangladesh J. Bot.* 37(2): 105-114.
- Peuke, A.D., Jeschke, W.D. & Hartung, W. (2002). Flows of elements, ions and abscisic acid in *Ricinus communis* and site of nitrate reduction under potassium limitation. *J. Exp. Bot.* 53: 241-250.
- Smith, P.F. (1962). Mineral analysis of plant tissues. *Annual Review of Plant Physiology* 13: 81-108.
- Tür, M. (1993). Bitki Islahında Biyoteknolojik Yaklaşım. *Bil. Tek. Der.* 26(306): 300-304.
- Vural, M. (1983). *Thermopsis turcica* Kit Tan, Vural & Küçüköyük, *Fabaceae. Karaca Arbor. Mag.* 2 (2): 89-90.
- Vural, M. (2009). *Piyan (Thermopsis turcica)*. *Bağbahçe* 25: 14-16.

SUMMARY

Thermopsis turcica due to its polycarpellary feature, is known to be single endemic plant species belonging to *Fabaceae* family existing in Turkey. In addition 25 species belonging to genus *Thermopsis* are mainly naturally found in mountainous areas of Asia and North America, and only endemic sepecies from this genus in Turkey is *Thermopsis turcica*. Besides of enjoying these important features, *Thermopsis turcica* is found in few in number and is naturally distributed in very narrow area located around Konya, Afyonkarahisar, Eber and Akşehir lake and its surrounding, has been classified as critically endangered plant in 'Red Data Books of Turkish Plant' and is taken under conservation. In 2009 the samples from Akşehir ve Eber populations were collected and were preserved at Istanbul Nezahat Gokyigit Botanical Garden. According to literature, presence of Coleoptera feeding on the plant seed in *Thermopsis turcica* populations is one of the main cause of serious seed loss. Due to the fact that *T. turcica* is critically endangered plant species and efficient conduct of the research, the study will be carried out on Eber population which are still in Nezahat Gokyigit Botanical Garden. Hence, there seems to be a need for *in vitro* preservation methods of threatened *T. turcica*. With this research the possibility of micropropagation for the endangered *Thermopsis turcica* investigated through organogenesis. In June 2011, the samples from Eber populations of *Thermopsis turcica* were provided from Istanbul Nezahat Gokyigit Botanical Garden. For *in vitro* propagation, leaf explants were cultured on Murashige and Skoog's medium supplemented with Naphthaleneacetic acid (2.0 mg L^{-1}) and Zeatin (0.5 mg L^{-1}) from plant growth regulators. Murashige and Skoog's medium supplemented with 2.0 mg L^{-1} indole-3-butyric acid was used as a rooting medium. Mineral analysis of stem and leaf explants from regenerated plants was conducted. According to analysis results, leaf part of *T. turcica* have low copper and magnesium content, whereas potassium, phosphorus, iron and boron content was found to be sufficient to compare with reference species as *Glycine max*, *Phaseolus vulgaris* and *Pisum sativum*. The findings presented here have implications for learning required soil nutrient content for transferring of *in vitro* propagated plants. Further studies are needed to understand the mineral nutritional status of *Thermopsis turcica* populations widespread in Konya and its surroundings by collecting numerous leaf and sub-soil samples. In addition, study results will open new windows for the researchers find alternative way for multiplication by *in vitro* techniques.