

Araştırma Makalesi

Endemik *Teucrium leucophyllum* (Lamiaceae) Tohumlarında in vitro Çimlendirme çalışmaları**Muhip Hilooğlu^a, Ersin Yücel^a, Ali Kandemir^b, Emel Sözen^a**^a Anadolu University, Faculty of Science, Department of Biology, 26470, Eskişehir, Turkey^b Erzincan University, Faculty of Arts and Science, Department of Biology, 24100, Erzincan, Turkey**Öz**

Teucrium leucophyllum Montbret & Aucher ex Bentham (Lamiaceae), Erzincan yöresinde (Türkiye) dar yayılış alanına sahip nadir endemik bitki türlerindedir. Bu çalışmada *Teucrium leucophyllum* türünde farklı NaCl, HCl, KNO₃, GA₃ konsantrasyonları, sıcak-soğuk stratifikasyon ve mekanik zımparalama uygulamalarının çimlenme başarısına etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Tohumlar 100 ve 200 µM konsantrasyonlarda NaCl, HCl, KNO₃, GA₃ solusyonları kullanılarak ya da sıcak-soğuk ön işlem ve mekanik uygulamalarının ardından 23/18°C'de 8 saat aydınlık/16 saat karanlık ortamda çimlendirilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (% 13.5), çimlenmenin 100-200µM GA₃ (% 52.5 ve % 51.5), için 100-200 µM KNO₃ (% 29 ve %28), zımpara ve 4°C'de ön üşütme uygulamalarıyla %25 oranında arttığı (DMRT, P<0.05) gözlenmiştir. Çimlendirme hızı katsayısının ise en yüksek gibereellik asit uygulamalarında (11.4 ve 13.09) olduğu bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda, elde edilen veriler türün *ex-situ* korunması amacıyla kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *Teucrium leucophyllum*, Lamiaceae, endemik, çimlenme, *ex situ***In vitro seed germination study in endemic plant *Teucrium leucophyllum* (Lamiaceae)****Abstract**

Teucrium leucophyllum Montbret & Aucher ex Bentham (Lamiaceae) is an endemic species having considerable narrow distribution in Erzincan (Turkey) region. In this study, we investigated the germination behavior of *Teucrium leucophyllum* with different concentrations of NaCl, HCl, KNO₃, GA₃ (100 and 200 µM), hot-cold stratification and mechanical scarification. Seeds were exposed to a photoperiod of 8 h light/16 h dark with a 23/18 °C thermoperiod. Germination rates increased with GA₃-100 µM (52.5%), GA₃-200 µM (51.5%), KNO₃ (28% and 29%), mechanical scarification (% 25) and cold stratification (% 25) treatments when compared to the control. The highest speed of germination index was obtained at concentrations of 100-200 µM GA₃ (11.4 and 13.09). Overall, our results will provide valuable data for *ex situ* conservation of endemic *Teucrium leucophyllum*.

Key words: *Teucrium leucophyllum*, Lamiaceae, endemic, germination, *ex situ***Giriş**

Lamiaceae Martinov (=Labiatae Adans.) familyası dünyada geniş bir yayılışa sahiptir ve 240 cinse ait 7200 türü içermektedir [1]. Labiatae, Türkiye'de ise 45 cins, 565 tür ve 765

taksonla temsil edilmektedir [2]. Lamiaceae familyası üyelerinin çoğu uçucu yağlar, aromatik yağlar ve benzeri sekonder metabolitler bakımından zengin olması sebebiyle; tıp, eczacılık, kozmetik ve gıda gibi alanlarda büyük önem taşımaktadır [3]. Bu

* Corresponding author
e-mail: mhilooğlu@anadolu.edu.tr

Received: 27.04.2016
Accepted: 13.07.2016

familyada bulunan *Teucrium* L. cinsi, kuzey yarım kürede özellikle Akdeniz bölgesinde sınırlı 300 tür barındırmaktadır [4]. Türkiye’de bu cinse ait 18’i endemik olmak üzere 48 tür bulunmaktadır [5]. Bu endemik türlerden *Teucrium leucophyllum* Montbret & Aucher ex Bentham Erzincan yöresinde dar bir yayılış alanına sahiptir. Fransız doğa bilimciler Montbret ve Aucher tarafından 1834’de Yukarı Fırat Havzasından (Erzincan/İliç) toplanan (Davis, 1988) bu türün yok olduğu düşünülerek “Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı”nda nesli tükenmiş (EX) kategorisinde değerlendirilmiştir [6]. Ancak, *T. leucophyllum* türü orijinal lokalitelerinden yeniden toplanarak, morfolojik özellikleri belirlenmiş ve tehlike kategorisinin CR (kritik olarak tehlike altında) olduğu tespit edilmiştir [7]. Türün yayılış alanlarında kalker kayaçların yapı malzemesi elde etmek üzere işlenmesi, diğer madencilik faaliyetleri, keçi otlatıcılığı ve yol yapım çalışmaları türü tehdit eden dış etmenler olarak göze çarpmaktadır.

Çimlenme, bitkilerin üreme başarısını belirleyen en önemli aşamadır [8]. Özellikle endemik, nadir ve tehdit altındaki türlerin üreme döngüsünün farklı aşamaları üzerinde detaylı bilgiye sahip olmanın nadir olgusunun anlaşılmasına katkıda bulunacağı ve aynı zamanda türler için koruma yönetimi kararlarında yardımcı olacağı vurgulanmaktadır [9, 10]. Son on yılda, küresel bir endişe haline gelen genetik çeşitliliğin devamlılığının sağlanması açısından özellikle tehdit altındaki ve dar yayılış alanına sahip bitki türleri için çimlendirme çalışmaları yapılması önerilmektedir [11]. Çünkü, dar yayılış alanına sahip ve tehdit altındaki türlerde çimlenme ile ilgili detaylı bilgilerin ortaya çıkarılmasının koruma kararlarının uygulanmasına katkıda bulunacağı vurgulanmaktadır [12]. Ülkemizdeki genetik çeşitliliğin kaynağı olarak kabul edilen birçok endemik bitki türü çeşitli nedenlerden ötürü yok olma riski ile karşı karşıyadır.

Çimlendirme çalışmalarında tohum dormansisini kırmak amacıyla tohumların zımpara, kaynar suda ve/veya soğukta bekletme gibi bazı ön işlemler ile potasyum nitrat, asit ve giberellik asit gibi kimyasal uygulamaların kullanıldığı bilinmektedir. Bu çalışmanın

amacı, yok olma riski taşıyan nadir endemik *Teucrium leucophyllum* bitkisinde farklı kimyasal uygulamaların (NaCl, HCl, KNO₃, GA₃) ve ön işlemlerin (sıcak/soğuk ve mekanik) tohum çimlenmesine etkisini belirlemenin yanında bitkinin yayılış gösterdiği topraklarda tuzluluk ve asitlik oranı arttığında bunun çimlenmeyi nasıl etkileyeceği konusunda da bir ön bilgiye sahip olmaktır. Elde edilecek verilerin, ülkemizde sadece Erzincan yöresinde dar bir yayılış gösteren bu türün ex situ koruma çalışmalarına katkıda bulunacağı düşünülmektedir.



Şekil 1. *Teucrium leucophyllum*’un genel görünümü

Materyal ve Yöntem

Tohum toplama çalışmaları Erzincan yöresinde 2014 yılı Temmuz ayında çimlendirme çalışmalarında kullanılacak tohumlar için olgunlaşan meyveler toplanmış (37° 45' D, 43° 67' K, 920-1300m yüksekliklerde) ve paketlenerek laboratuvara getirilmiştir. Toplanan materyaller 7 gün boyunca oda şartlarında havalandırılmıştır. Tohumlar bitki materyallerinden dikkatlice tohuma zarar vermeyecek şekilde ayıklanmıştır. Her bir çiçekteki toplam tohum sayısı sayılarak parlak renkli ve sağlıklı tohumlar verimli tohum olarak kabul edilmiştir. Tohumun 1000 tane ağırlığı Bonner (1974)'e göre belirlenmiştir [13].

Çimlendirme çalışmaları

Tohum çimlendirme çalışmalarında her bir petride 50 adet tohum olacak şekilde 100 µM ve 200 µM'lik konsantrasyonlarda sodyum klorür (NaCl), hidroklorik asit (HCl), potasyum nitrat (KNO₃), gibberellik asit (GA3) solüsyonu içeren petrilere (9mm çaplı, steril plastik petri) steril filtre kağıdı üzerinde çimlendirilmiştir. Tohumlara ön sterilizasyon işlemi uygulanmamıştır. Mekanik zımparalama için tohumlar zımpara kağıdı (No:150) ile 30sn-1dk arasında zımparalanmışlardır. Kaynar su uygulamalarında *T. leucophyllum*'a ait tohumlar; 30sn, 1dk ve 2dk süre ile kaynar suda bekletilmiştir. Soğuk ön işlem olarak da +4°C ve -20°C'de alüminyum folyoya sarılarak 3 gün bekletilmişlerdir. Bu tohumlar petri kabı içerisinde 3 ml distile su ile ıslatılan iki kat filtre kağıdı üzerine yerleştirilmiştir. Her uygulama için deneyler dört tekrarlı yapılmış ve toplam 60 deney serisi oluşturulmuştur. Petri içerisindeki tohumlar iklim kabininde (SANYO-MLR-350H) 23±2 °C'de 8 saat aydınlık ve 18±2 °C'de 16 saat karanlık periyotta bekletilmiştir. Tohumun çimlenmiş olarak kabul edilebilmesi için, radikulanın çimlenme yatağına değmiş olması yeterli olarak kabul edilmiştir. Çimlenen tohumlar periyodik olarak petriden uzaklaştırılmıştır. Çimlenme çalışmaları 30 gün boyunca takip edilmiştir. Tohum çimlenme hızının belirlenmesinde Yücel (2000) esas alınmıştır [14].

Sonuçlar SPSS (Version 15.0, SPSS Inc. Chicago, IL) paket programı kullanılarak ANOVA testi ile değerlendirilmiştir. Çimlenme yüzdeleri ve çimlenme hızları bakımından uygulamalar arasındaki farklılıkların ortaya konması amacıyla Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (P<0.05) yapılmıştır.

Bulgular

Tohum yapısı

Teucrium leucophyllum'da her bir çiçekte 4 fındıkçık bulunmaktadır. Fındıkçıklar, 1-1.8 mm çapında ovalimsi-yuvarlak, siyahımsı-koyu kahve renklidir (Şekil 2).



Şekil 2. *Teucrium leucophyllum* fındıkçıklarının stereo mikroskop görüntüsü

Fındıkçıkların her biri bir adet tohum içermektedir. Ancak, yapılan sayımlarda *Teucrium leucophyllum*'da birey başına düşen fındıkçık sayısının düşük olduğu görülmüştür. Rastgele seçilen 20 çiçek incelendiğinde her bir çiçekte gelişen fındıkçık sayıları çiçeklerin 5 tanesinde 4, 2 tanesinde 3, 5 tanesinde 2, 6 tanesinde 1, 2 tanesinde ise 0 olarak belirlenmiştir. Bir bitkideki toplam çiçek sayısının yaklaşık 3/5'nün gelişmeyip dolayısıyla da hiç fındıkçık oluşturmadığı ve normal gelişen çiçeklerde de bulunan fındıkçıkların %52,5 oranında sağlıklı olduğu tespit edilmiştir. Sağlıklı tohumların 1000 tane ağırlığı 1220 mg olarak belirlenmiştir.

Çimlendirme deneyleri

Kontrol grubu

Her bir deney serisinde dörder tekrarlı olmak üzere kontrol grubu oluşturulmuş ve bu grupta tohumlar herhangi bir kimyasal ile muamele edilmeksizin, distile su verilerek çimlenme oranları belirlenmiştir. Çimlenme kontrol grubunda 2. gün başlamış ve 29. gün sona ermiştir. Deneyler sonunda ortalama çimlenme oranı % 13.5 olarak bulunmuştur. Çimlenme hızı katsayısı 8.09 olarak hesaplanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1. *Teucrium leucophyllum* tohumlarının çimlenme özellikler

Uygulama	Konsantrasyon (µM)	Çimlenme (%)	Çimlenme hızı	İlk çimlenme (gün)	Son çimlenme (gün)
Kontrol	-	13.5 ^c (±1.5)	8.09 ^e (±0.7)	2	29
KNO ₃	100	29 ^b (±2)	6.89 ^g (±1.5)	1	30
KNO ₃	200	28 ^b (±3)	6.98 ^g (±1.7)	2	30
GA-3	100	52.5 ^a (±3.5)	11.4 ^b (±1.9)	1	29
GA-3	200	51.5 ^a (±4.5)	13.09 ^a (±2.1)	2	30
NaCl	100	1 ^d (±0.5)	6.15 ^h (±1.3)	14	21
NaCl	200	2 ^d (±0.5)	5.92 ⁱ (±1.2)	14	24
HCl	100	1 ^d (±0.5)	8.0 ^e (±1)	10	15
HCl	200	-	-	-	-
Zımpara	-	25 ^b (±2.5)	7.73 ^f (±2.1)	4	25
30sn kaynar su	-	20 ^{bc} (±3)	8.24 ^e (±2.4)	6	21
1dk kaynar su	-	13.75 ^c (±2.25)	6.32 ^h (±1.6)	11	20
2dk kaynar su	-	-	-	-	-
+4 °C	-	25 ^b (±3)	9.68 ^d (±2.4)	4	25
-20 °C	-	16 ^c (±1.5)	10.59 ^c (±2.1)	5	26

a,b,c,d,e,f,g,h,i : Sütunlarda Duncan testine göre % 5 önem seviyesinde farklı ortalamalar ayrı harflerle gösterilmiştir.

Teucrium leucophyllum'da çimlenme üzerine kimyasal uygulamaların etkisi

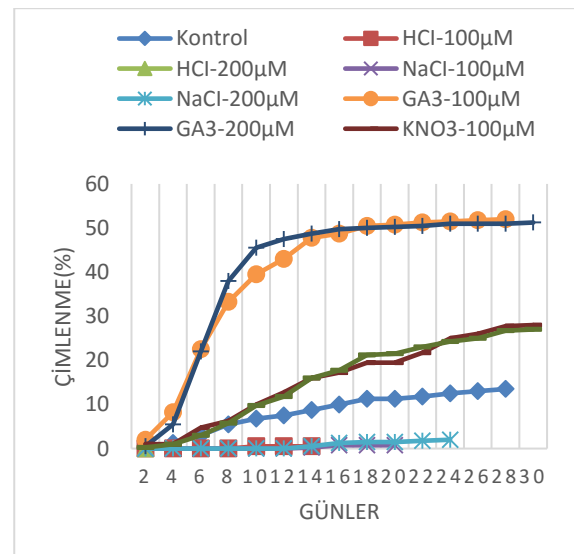
100 µM KNO₃ uygulanan tüm orijinlerde % 29 oranında bir çimlenme yüzdesi bulunmuştur. Çimlenme 1. gün başlamış, 30. gün sona ermiştir (Tablo 1). Çimlenme hızı 6.89'dur. 200 µM KNO₃ uygulanan serilerde % 28 oranında çimlenme olduğu görülmüştür. Çimlenme 2. günde başlarken, 30. günde sona ermiştir. Çimlenme hızı ise 6.98 olarak bulunmuştur.

100 µM GA₃ uygulanan tüm orijinlerde % 52.5 oranında bir çimlenme yüzdesi bulunmuştur. Çimlenme 1. gün başlamış, 29. gün sona ermiştir. Çimlenme hızı ise 11.4 olarak hesaplanmıştır (Tablo 1). 200 µM GA₃ uygulanan serilerde % 51.5 oranında çimlenme olduğu görülmüştür. Çimlenme 2. günlerde başlarken, 30. günde sona ermiştir. Çimlenme hızı ise 13.09 olarak bulunmuştur.

100 µM NaCl uygulanan deney serilerinde %1, 200 µM'da % 2 oranında çimlenme olduğu belirlenmiştir. Çimlenme her ikisinde 14. günde başlamış 21 ve 24. günde sonlanmıştır. Kontrol grubuyla

karşılaştırıldığında en düşük çimlenme hızı katsayısı değerleri NaCl uygulamalarında (sırasıyla 6.15 ve 5.92) görülmüştür.

100 µM HCl uygulanan serilerde çimlenme yüzdesi % 1 olarak bulunmuştur. Çimlenme 10. gün başlamış, 15. gün sona ermiştir. Çimlenme hızı katsayısı (8.0) Duncan testine göre kontrol ile aynı grupta bulunmaktadır (Tablo 1). 200 µM HCl uygulanan deney serilerinde çimlenme görülmemiştir.



Şekil 3. *T. leucophyllum* türünde kimyasal uygulama sonrası tohum çimlenme-zaman ilişkisi

Teucrium leucophyllum'da çimlenme üzerine fiziksel uygulamalarının etkisi

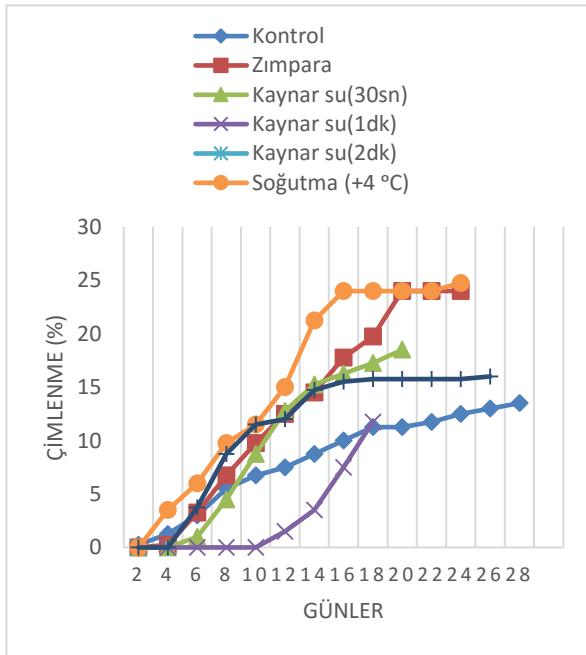
Mekanik zımparalama uygulanan deney serilerinde % 25 oranında çimlenme gözlenmiştir (Tablo 1). Çimlenme 4. gün başlamış, 25. gün sona ermiştir. Çimlenme hızı katsayısı 7.73 olarak bulunmuştur.

30 sn kaynar suda bekletilen deney serilerinde % 20 oranında çimlenme gözlenmiştir. Çimlenme 6. gün başlamış, 21. gün sona ermiştir. Çimlenme hız katsayısı kontrol grubuyla aynı gruptadır (Duncan testi $P<0.05$).

1 dk kaynar suda bekletilen deney serilerinde % 13.75 çimlenme olmuştur. Çimlenme 11. gün başlamış, 20. gün sona ermiştir. Çimlenme hızı 6.32'dir. 2 dk'lık uygulamada çimlenme olmamıştır.

+4°C'de soğuk ön işlem uygulanan deney serilerinde %25 oranında çimlenme gözlenmiştir. Çimlenme 4. gün başlamış, 25. gün sona ermiştir. Çimlenme hızı katsayısı 9.68'dir.

-20 °C'de soğuk ön işlem uygulanan deney serilerinde % 16 oranında çimlenme gözlenmiştir. Çimlenme 5. gün başlamış, 26. gün sona ermiştir. Çimlenme hızının 10.59 olduğu bulunmuştur.



Şekil 4. *T. leucophyllum* türünde fiziksel uygulamalar sonrası tohum çimlenme-zaman ilişkisi

Tartışma

Çimlenme türün yaşamını devam ettirebilmesi bakımından kritik bir aşamadır [15]. Tohumların etkili şekilde dağılımı ya da çimlenme oranlarındaki değişimlerin genellikle belirli ekolojik koşullara adaptasyonu yansıtan durumlar olduğu kabul edilir [16, 17]. Endemik bitkiler karşılaştıkları tohum dormansisini mutlak surette atlatmak zorunda olduklarından doğal ekosisteminde tekdüze çimlenmeye sahip değildirler [18]. Özellikle nadir ve tehlike altındaki türlerle ilgili çimlenme gereksinimleri çoğunlukla bilinmemekte olup, bunu anlamayı sağlayacak materyal elde etmek de oldukça zordur [19]. Bu çalışmada, Erzincan-Kemaliye yöresinde dar bir yayılış alanına sahip endemik *Teucrium leucophyllum*'un laboratuvar ortamında çimlenme başarısı araştırılmıştır.

Bu bitkinin kireçtaşından oluşmuş alanlarda kaya çatlaklarına uyum sağladığı bilinmektedir. Yapılan arazi çalışmalarındaki gözlemlerde *T. leucophyllum*'da çiçek saplarının meyve olgunlaşmasında aşağıya doğru kıvrık bir pozisyon almasının tohumların erken düşmesine neden olduğu anlaşılmaktadır. *T. leucophyllum*'da meyve zamanları takip edilerek olgunlaşmanın en iyi olduğu dönemde (Temmuz ayının ilk yarısı) fındıkcıklar elde edilmiştir. Buna rağmen, bir bitkideki toplam çiçek sayısının yaklaşık 3/5'nin gelişmeyip dolayısıyla da hiç fındıkcık oluşturmadığının görülmesi ve normal gelişen çiçeklerde de bulunan fındıkcıkların %52.5 oranında sağlıklı olduğunun tespit edilmesi bu türde birey başına üretilen aktif tohumların düşük seviyede olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, in vitro çalışmalarda deney setleri oluşturulmadan önce verimli olarak kabul edilen fındıkcıklar dikkatle seçilerek çimlendirme çalışmalarında kullanılmıştır.

Gibberellik asitin (GA3) çimlenmeyi teşvik edici olduğu yapılan çok sayıda yayında bildirilmektedir [20, 21]. Bu çalışmada uygulanan iki farklı GA3 konsantrasyonunun kontrol grubuyla karşılaştırıldığında *T. leucophyllum* tohumlarını yüksek oranlarda çimlenmeye teşvik ettiği (%52.5 ve % 51.5) (Şekil 3) ve çimlenme hızını anlamlı bir şekilde arttırdığı ($P<0.05$) bulunmuştur. Benzer şekilde, *Teucrium polium* türünde Nadjafi ve ark. (2006)

en yüksek çimlenme yüzdesine (%45) GA3 ile ulaşımlardır [21]. Hilhorst ve Karssen (1992), dormansi durumunda olan tohumlarda dormansi halinin devamlılığında etkili olan ABA (absisik asit) oranının yüksek, içsel GA3 oranının ise düşük olduğunu ve içsel GA3 noksanlığının dıştan bu maddenin uygulanmasıyla aşılabileceğini bildirmişlerdir [22]. Bu durumda *T. leucophyllum* tohumlarına dışardan uygulanan GA3'ün, içsel GA3 aktivitesini arttırarak dormansinin kırılmasında etkili olduğu söylenebilir.

Kullandığımız bir diğer kimyasal olan potasyum nitratın (KNO_3) büyüme düzenleyici ve çimlenmeyi teşvik edici maddelerden olduğu bilinmektedir [23, 24]. Çimlenme oranı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında KNO_3 , 100 ve 200 μM 'lık uygulamalarda anlamlı bir artış (%28 ve %29) göstermiştir. Benzer şekilde, GA3 ve KNO_3 'ün Kıbrıs adasına endemik *Teucrium divaricatum* ssp. *canescens* bitkisinde de çimlenme yüzdesini arttırdığı bulunmuştur [25]. Rolü tam bilinmemekle beraber KNO_3 'ün yapılan bir çok çimlendirme çalışmasında tohum dormansisini kırmada etkili olduğu vurgulanmaktadır [26]. Ancak, 2015 yılında Shaykhi ve arkadaşları tarafından *Kelussia odoratissima* tohumlarında yapılan bir çalışmada KNO_3 'ün tohumlarda katalaz ve askorbat peroksidaz enzimlerinin aktivitelerini arttırdığı bulunmuştur [27]. Bu iki enzimin stres koşullarına karşı savunma etkisi olduğu ve hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüştürülmesinde rol aldığı bilinmektedir. Bir çok çalışmada H_2O_2 , O_2 ve OH gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) tohum çimlenmesi sürecinde sinyal iletimi rollerinin yanında erken imbibisyon döneminde de etkili olduğu belirtilmektedir [28, 29]. Ayrıca, dıştan uygulanan nitratın *Arabidopsis*'te çimlenmeyi destekleyen bir sinyal molekülü olarak görev aldığı bildirilmiştir [30].

Bu çalışmada, *T. leucophyllum* tohumlarına uygulanan sodyum klorür ve hidroklorik asit konsantrasyonlarının çimlenmeyi engellediği, durduğu ve çimlenme hızını da düşürdüğü belirlenmiştir. Bu durum topraktaki yüksek tuzluluk ve yüksek asiditeye karşı *T. leucophyllum* tohumlarının tolerans göstermediği anlamına gelmektedir. Endemik

Salvia cyanescens bitkisinde yapılan bir çalışmada da sodyum klorür ve asit uygulamalarında benzer sonuçlar bulunmuştur [31].

Bunun yanında, tohum üzerinde yapılan fiziksel uygulamalardan mekanik zımparalama ve soğuk ön işlemlerden $+4^\circ C$ 'de bekletmenin çimlenme yüzdesi açısından anlamlı ve eşit düzeyde olduğu (%25) görülmüştür. Bu iki uygulamadan $+4^\circ C$ 'de ön üsütme çimlenme hızını az da olsa yükseltmiştir. Duncan testi sonuçlarına göre soğuk ön işlemlerden $-20^\circ C$ 'de bekletme çimlenme yüzdesi için önem seviyesi açısından kontrol grubuyla aynıdır, ancak çimlenme hızını arttırmıştır (Tablo 1). Benzer şekilde, bazı endemik türlerde yapılmış çeşitli çalışmalarda mekanik zımparalamanın çimlenmeyi teşvik ettiği görülmüştür [32, 33, 34].

Tohum çimlendirme çalışmalarında yaygın olarak kullanılan tekniklerden biri de kaynar su uygulamasıdır. Bu uygulama kutikulayı bazen de tohum kabuğunun palizat tabakasının bir kısmını uzaklaştırarak dormansiyi etkili bir şekilde kırmaktadır [35]. Akdeniz bölgesine endemik *Teucrium capitatum*, *Teucrium expansum* ve *Teucrium gnaphalodes* türleri üzerine yapılan bir çalışmada tohumlar $80^\circ C$, $100^\circ C$ ve $200^\circ C$ 'de 10 dk bekletildiklerinde düşük sıcaklığın ilk 2 türde çimlenmeyi teşvik ettiği, diğer sıcaklık şoku uygulamalarının ise çimlenmeyi durdurduğu belirtilmiştir [36]. Çalışmamızda, *T. leucophyllum* tohumlarına kaynar su uygulamasında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında 30 sn bekletilen tohumlarda çimlenme yüzdesinin arttığı (% 20) fakat bekletme süresi arttıkça (1dk ve 2dk), çimlenme yüzdesinin azaldığı hatta durduğu (%13.75 ve %) tespit edilmiştir. Bu durum çimlenme hızı için de geçerlidir. Benzer şekilde, birçok akasya tohumunda kaynamış suda 30 sn'den fazla bekletmenin çimlenme üzerine olumsuz etki gösterdiği bildirilmiştir [35]. Bu sonuçlar ışığında, *T. leucophyllum* türünde 30 sn geçen kaynar su uygulamalarının embriyonun ölümüne sebep olduğu düşünülmektedir.

Tohum çimlenmesinin başarılı olabilmesi, türe bağlı olarak morfolojik, fizyolojik, morfofizyolojik, fiziksel ve kombinasyonel

dormansilerin kırılmasını gerektirebilir [37, 38]. *T. leucophyllum*'da tohumların GA₃, KNO₃ ve soğutma işlemlerine pozitif yanıt vermesi, bu türde angiospermlerde en sık rastlanan dormansi tiplerinden biri olan fizyolojik dormansinin etkili olduğu anlamına gelmektedir. *T. leucophyllum* tohumlarında bazı fiziksel uygulamaların (zımparalama ve 30sn kaynar su) çimlenme yüzdesini artırması, özellikle zımparalama ile tohum testasının kalınlık/sertliğinden kaynaklanabilecek ya da radikula etrafındaki dokuların mekanik bariyerler oluşturmasıyla radikulanın çıkışını engelleyen fiziksel dormansinin aşıldığını göstermektedir.

Sonuç

Sonuç olarak, endemik *Teucrium leucophyllum* (Lamiaceae) türünde in vitro şartlarda yapılan farklı uygulamalardan tohum çimlenme başarısını en fazla arttıran uygulamaların GA₃'ün 100 ve 200 µM'lık konsantrasyonları olduğu görülmektedir. Ayrıca, mekanik zımparalama, ön üşütme (4°C'de), çok kısa süreli (30sn) kaynar su uygulamalarının ve KNO₃'ün de çimlenmeyi teşvik ettiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu türün in vitro tohum çimlenme başarısının artırılması için farklı kimyasal ve fiziksel uygulamalar kullanılarak çalışmalara devam edilmelidir. Dar yayılış alanına sahip ve tehdit altındaki bitkilerle ilgili koruma yönetim kararlarının etkili şekilde verilmesi ex situ korumanın başarısını etkiler. Dolayısıyla, bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, *Teucrium leucophyllum* türünün koruma planlarının oluşturulmasında hangi uygulamaların tohum çimlendirmesinde etkili, hızlı ve düşük maliyetli olduğunun belirlenmesi bakımından önemlidir. Bununla birlikte, tohum oranı düşük bireylerde embriyolojik çalışmaların da sürdürülmesi gerekmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma 110T912 no'lu TÜBİTAK projesi desteğiyle gerçekleştirilmiştir.

Kaynaklar

[1] Brauchler C, Harald M, Günther H, 2010. Molecular Phylogeny of Menthinae (Lamiaceae, Nepetoideae, Mentheae)--Taxonomy, Biogeography

and Conflicts, Molecular phylogenetics and evolution, 55: 501–523.

[2] Davis PH, Mill RR, Tan K (edlr.), 1988. Flora of Turkey and the Aegean Islands 10. Edinburgh Univ. Press: Edinburgh.

[3] Başer KHC. 1993. Essential Oils of Anatolian Labiateae: A Profile. Acta Horticulturae, 333: 217-237.

[4] Ruiters AK, Tilney PM, Van Vuuren SF, Viljoen AM, Kamatou GPP, Van Wyk BE, 2015. The Anatomy, Ethnobotany, Antimicrobial Activity and Essential Oil Composition of Southern African Species of *Teucrium* (Lamiaceae), South African Journal of Botany, 102: 175–185.

[5] Sagirli PA, Ozsoy N, Genc GE, Melikoglu G, 2015. In Vitro Antioxidant Activity, Cyclooxygenase-2, Thioredoxin Reductase Inhibition and DNA Protection Properties of *Teucrium Sandrasicum* L., Industrial Crops and Products, 74: 545-550.

[6] Ekim T, Koyuncu M, Vural M, Duman H, Aytaç Z, Adıgüzel N, 2000. Red Data Book of Turkish Plants (Pteridophyta ve Spermatophyta), Türkiye Tabiatı Koruma Derneği ve Van 100. Yıl Üniv. Ankara.

[7] Kandemir A, 2010. The observations on *Teucrium leucophyllum* Montbret & Aucher ex Benth. (Lamiaceae) endemic to Turkey, Erzincan Üniv. Fen Bil. Enst. Derg., 2: 191-196.

[8] Bu H, Du G, Chen X, Xu X, Liu K, Wen S, 2008. Community wide germination strategies in an alpine meadow on the eastern Qinghai-Tibet plateau: phylogenetic and life-history correlates, Plant Ecology, 195: 87–98.

[9] Menges ES, 1986. Predicting the future of rare plant populations: demographic monitoring and modelling, Natural Areas Journal, 6: 13–25.

[10] Schemske DW, Husband BC, Ruckelshaus CG, Goodwillie C, Parker IM, Bishop JG, 1994. Evaluating approaches to the conservation of rare and endangered plants, Ecology, 75: 584–606.

[11] Cousins SR, Witkowski ETF, Mycock DJ, 2014. South African Journal of Botany Seed storage and germination in *Kumara plicatilis*, a tree aloe endemic to mountain fynbos in the Boland , south-western Cape, South Africa, South African Journal of Botany, 94: 190-194.

[12] Corral-Aguirre J, Sanchez-Velasquez LR, 2006. Seed ecology and germination treatments in *Magnolia dealbata*: An endangered species. Flora

- Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 201(3): 227–232.

[13] Bonner FT, 1974. Seed testing in Seed of woody plants in the United States. Agriculture handbook, No. 450. For Service USDA Washington.

[14] Yücel E, 2000. Effects of different salt (NaCl), potasyum nitrate (KNO₃) and acid (H₂SO₄) concentrations on the germination of some *Salvia* species seeds, *Seed Science & Technology*. 28: 853-860.

[15] Navarro L, Guitian J, 2003. Seed germination and seedling survival of two threatened endemic species of the northwest Iberian Peninsula, *Biological Conservation*, 109: 313-320.

[16] Martin A, Grzeskowiak V, Puech S, 1995. Germination variability in three species in disturbed Mediterranean environments, *Acta Oecologica*, 16: 479–490.

[17] Nishitani S, Masuzawa T, 1996. Germination characteristics of two species of *Polygonum* in relation to their altitudinal distribution on Mt. Fuji, Japan, *Arctic and Alpine Research* 28: 104–110.

[18] Teimouri MS, Mahallati MN, 2013. Seed germination and breaking of seed dormancy techniques for endemic *Hymenocrater platystegius*, *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 6 (12): 885–889.

[19] Cerabolini B, Andreis RD, Ceriani RM, Pierce S, Raimondi B, 2004. Seed germination and conservation of endangered species from the Italian Alps: *Physoplexis comosa* and *Primula glaucescens*, *Biological Conservation*, 117: 351-356.

[20] Iglesias RG, Babiano MJ, 1997. Endogenous abscisic acid during the germination of chickpea seed, *Physiologia Plantarum*, 100: 500-504.

[21] Nadjafi F, Bannayan M, Tabrizi L, Rastgoo M, 2006. Seed germination and dormancy breaking techniques for *Ferula gummosa* and *Teucrium polium*, *Journal of Arid Environments*. 64 (3): 542–547.

[22] Hilhorst HWM, Karssen CM. 1992. Seed dormancy and germination: the role of abscisic acid and gibberellins and the importance of hormone mutants, *Plant Growth Regulation*, 11: 225-238.

[23] Jolliff GD, Seddigh M, Franz RE, 1994. Seed germination and dormancy of new meadowfoam (*Limnanthes* spp.) genotypes, *Industrial Crops and Products*, 2 (3): 179-187.

[24] Puppala N, James L, Fowler LJ, 2002. Lesquerella seed pretreatment to improve germination, *Industrial Crops and Products*, 64-69.

[25] Kadis C, Constantinos K, and Kyriacos G, 2010. Seed Germination and Conservation of Endemic, Rare, and Threatened Aromatic Plants of Cyprus, *Israel Journal of Plant Sciences*, 58 (3/4): 251–261.

[26] Olmez Z, Yahyaoglu Z., Üçler AÖ. 2004. Effects of H₂SO₄, KNO₃ and GA₃ treatments on germination of caper (*Capparis ovate* Desf.) seeds. *Pakistan Biol. Sci.*, 7 (6): 879-882.

[27] Shaykhi AH, Nassiry BM, Kachouei MA. 2015. Effect of Some Treatments on Seed Dormancy, Germination and Antioxidant Enzymes of *Kelussia Odoratissima* Mozzaff. *Seeds, Cercetari Agronomice in Moldova*, XLVIII 2 (162): 79-90.

[28] Puntarulo S, Galleano M, Sanchez RA, Boveris A. 1991. Superoxide anion and hydrogen peroxide metabolism in soybean embryonic axes during germination, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1074: 277–283.

[29] Schopfer P, Plachy C, Frahy G. 2001. Release of reactive oxygen intermediates (superoxide radicals, hydrogen peroxide, and hydroxyl radicals) and peroxidase in germinating radish seeds controlled by light, gibberellin, and abscisic acid, *Plant Physiology*, 125: 1591–1602.

[30] Alboresi A, Gestin C, Leydecker MT, Bedu M, Meyer C, Truong HN. 2005. Nitrate, a signal relieving seed dormancy in *Arabidopsis*, *Plant Cell Environ.*, 28:500–512.

[31] Yücel E, Yılmaz G, 2009. Effects of Different Alkaline Metal Salts (NaCl, KNO₃), Acid Concentrations (H₂SO₄) and Growth Regulator (GA₃) on the Germination of *Salvia Cyanescens* Boiss. & Bal. *Seeds*, 22 (3): 123–127.

[32] Choudhury BI, Khan ML, Das K, 2009. Seed Dormancy and Germination in *Gymnocladus Assamica*: An Endemic Legume Tree from Northeast India, *Seed Science and Technology*, 37: 582–588.

[33] Kildisheva OA, Dumroese RK, Davis AS, 2011. Overcoming Dormancy and Enhancing Germination of *Sphaeralcea Munroana* Seeds, *HortScience*, 46 (12): 1672–1676.

[34] Sfairi Youssef, Lahcen O, Feddy MNA, Abbad A, 2012. Dormancy-Breaking and Salinity/water Stress Effects on Seed Germination of Atlas Cypress, an Endemic and Threatened

Coniferous Species in Morocco, African Journal of Biotechnology, 11(19): 4385–4390.

[35] FAO. 1983. Handbook on seeds of dry-zone acacias (Basen on the work of J.C. Doran et al.), FAO, Rome.

[36] Luna B, Moreno JM., Cruz A. Fernandez-Gonzalez F, 2007. Heat-Shock and Seed Germination of a Group of Mediterranean Plant Species Growing in a Burned Area : An Approach

Based on Plant Functional Types, Environmental and Experimental Botany, 60: 324–333.

[37] Baskin JM, Baskin CC, 2004. A classification system for seed dormancy, Seed Science Research, 14: 1-16.

[38] Fang S, Wang J, Wei Z, Zhu Z, 2006. Methods to Break Seed Dormancy in *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja, Science Horticulturae, 110: 305-309.