

**BAZI BİTKİ VE MEMELİ CİNSİYET
HORMONLARININ KORUNGADA (*Onobrychis sativa* L.)
IN VITRO ÖZELLİKLER ÜZERİNE
ETKİSİ**

Esin DADAŞOĞLU

**Doktora Tezi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı
Prof. Dr. Metin TOSUN
2015
Her Hakkı Saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

BAZI BİTKİ VE MEMELİ CİNSİYET HORMONLARININ
KORUNGADA (*Onobrychis sativa* L.) *IN VITRO* ÖZELLİKLER
ÜZERİNE ETKİSİ

Esin DADAŞOĞLU

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı

ERZURUM
2015

Her Hakkı Saklıdır



**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



TEZ ONAY FORMU

**BAZI BİTKİ VE MEMELİ CİNSİYET HORMONLARININ KORUNGADA
(*Onobrychis sativa* L.) *IN VITRO* ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ**

Prof. Dr. Metin TOSUN danışmanlığında, Esin DADAŞOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 05/03/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı – Tahıllar ve Yemelik Baklagiller Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Metin TUNA

İmza :

Üye : Prof. Dr. Metin TOSUN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

İmza :

Üye : Prof. Dr. Yavuz DEMİR

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 19.03.2015 tarih ve 11.492 nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirilerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

BAZI BİTKİ VE MEMELİ CİNSİYET HORMONLARININ KORUNGADA (*Onobrychis sativa* L.) IN VITRO ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

Esin DADAŞOĞLU

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı
Tahıllar ve Yemeklik Baklagiller Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Metin TOSUN

İki farklı bölüm halinde hazırlanmış olan bu çalışma, memeli cinsiyet hormonlarından (MCH) progesteron, β -östradiol, östron ve testosteron ile bitki hormonlarından (BH) NAA, BAP, KIN ve TDZ'nin korunga (*Onobrychis sativa* L.) bitkisinin *in vitro* şartlarda doku kültürüne tepkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. İki farklı deneme şeklinde yürütülen ve toplam 55 farklı yöntemin denendiği bu çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada tohumlar hormonsuz ortamda çimlendirilmiş, ikinci aşamada ise oluşan bitkiciklerden eksplantlar (kotiledon, kök ve hipokotil) alınarak farklı hormon, doz ve hormon-doz kombinasyonlarını içeren ortamlara aktarılmıştır. MCH etkilerine bakıldığında, en fazla sayıda sürgün (16 adet) hipokotil eksplantından, progesteronun 10^{-6} mM, östronun ise 10^{-4} ve 10^{-6} mM'lık dozlarında oluşmuştur. En yüksek kallus oluşum oranı ise östronun 10^{-4} mM dozundan (%84,4) elde edilmiştir. Diğer taraftan, en yüksek canlılık oranı %73,4 ile progesteronun 10^{-4} ve 10^{-5} mM'lık dozlarından kök eksplantından elde edilmiştir. Kök oluşumu bakımından ise en uygun hormonun testosteron olduğu ve en uygun eksplantın hipokotil olduğu, muamele gün sayısına bağlı olarak elde edilen kök sayısının arttığı görülmüştür. Bitki hormonlarının etkisine bakıldığında ise en fazla sayıda sürgün oluşumu 29,0 adet ile 1,5 mg/l BAP'dan doksanıncı gün sonunda elde edilmiştir. Kotiledonlarda muamele gün sayısının artışına bağlı olarak sürgün sayısı artmış ve en fazla sürgün 7,8 adet ile TDZ'nin 1,0 mg/l'lik dozundan doksanıncı günün sonunda elde edilmiştir. En yüksek kallus oluşum oranı %98,4 ile kök eksplantından 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l TDZ ve 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ kombinasyonlarından elde edilmiştir. Kök oluşumu bakımından en iyi sonuç ise 14,8 adet ile 0,4 mg/l NAA'dan hipokotilden elde edilmiştir. En yüksek canlılık oranı (doksanıncı gün sonunda) %96,9 ile 1,5 mg/l'lik TDZ dozunda olmuştur. Eksplant sayısına göre en fazla embriyogenik kallus oluşumu 9,5 adet ile BAP'ın 1,0 ve 1,5 mg/lik dozlarından ve eksplant başına düşen somatik embriyo sayısı ise en fazla 3,4 adet ile 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/ BAP'dan elde edilmiştir. Bu çalışma, korunga bitkisinde MCH'nin doku kültürüne etkisini belirlemek amacı ile yapılan ilk çalışmadır.

2015, 117 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Onobrychis sativa* L., memeli cinsiyet hormonları, doku kültürü, korunga, bitki hormonları

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

THE EFFECT OF SOME PLANT AND MAMMALIAN SEX HORMONES ON *IN VITRO* PROPERTIES OF SAINFOIN (*Onobrychis sativa* L.)

Esin DADASOGLU

Ataturk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Field Crops
Department of Cereal and Food Legumes

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Metin TOSUN

This study prepared in two sections was carried out determining their reactions of mammalian sexual hormones (MSH) (progesterone, β -östradiol, estrogen and testosterone) and also plant growth hormones (PGH) (NAA, BAP, KIN and TDZ) on formation of tissue culture on the sainfoin plants (*Onobrychis sativa* L.) grown in *in vitro* conditions. This study which is applied 55 different methods was performed in two sections. In the first stage, the seeds were sprouted in hormone-free environment. In the second stage, the explants (cotyledon, root and hypocotyl) obtained from the plantlets were transferred to the environments including different hormone, dose and hormone dose combinations. For the effects of MSH, the highest number of shoots (16 nr) from hypocotyl explants with the doses 10^{-6} mM of progesterone and, 10^{-4} and 10^{-6} mM of estrogen; the highest rate of callus formation (84,4 %) with the dose 10^{-4} mM of estrogen; the highest vigor rate (73,4%) with the doses 10^{-4} and 10^{-5} mM of progesterone from root explants were obtained. For rooting, the most suitable hormone was testosterone, the most suitable explant was hypocotyl and it is observed that number of root increased depending on treatment/day number. For the effect of plant growth hormones, the highest number of shoots (29,0 nr) was obtained from the dose 1,5 mg/l of BAP in the end of 90th day. Shoot number on cotyledones increased depending on increasing number of treatment/day and the highest number of shoot (7,8 nr) was obtained from the dose 1,0 mg/l of TDZ in the end of 90th day. The highest rate of callus formation (98,4%) with the dose combination 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l TDZ and 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ from the root explant was obtained. The best result in terms of rooting (14,8 nr) was obtained from the dose 0,4 mg/l of NAA from hypocootyl. The highest vigor rate (96,9 %) was obtained from the dose 1,5 mg/l of TDZ in the end of 90th day. The highest number of embryogenic callus formation (9,5 nr) from the dose 1,0 and 1,5 mg/l of BAP and the highest number of somatic embryo per explant number (3,4 nr) from the dose 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/ BAP were obtained. This study is the first in terms of determination of the effect of MSH on tissue culture.

2015, 117 pages

Keywords: *Onobrychis sativa* L., mammalian sex hormones, tissue culture, sainfoin, plant hormones

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen fikir ve tecrübeleri ile daima bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Metin TOSUN'a, tez izleme komitesinde yer alan ve fikirleri ile bana yol gösteren değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU ve Sayın Prof. Dr. Yavuz DEMİR'e teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında bana destek olan ve bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan, çok yakın zamanda kaybettiğim rahmetli ANNEM ve BABAM'a, yaşadığım zor günlerden sonra yeniden hayata tutunmamı sağlayan sevgili eşim ve canım kızım Büşra'ya en içten teşekkürlerimi sunarım.

Esin DADAŞOĞLU

Mart 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal.....	32
3.1.1. Bitki materyali	32
3.1.2. Bitkilerden eksplantların alımı	32
3.1.3. Kallus kültür ortamında kullanılan kimyasallar	32
3.1.3.a. Temel besi ortamı	32
3.1.3.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların stok solüsyonlarının hazırlanışı	33
3.1.4 Bitki rejenerasyon ortamında kullanılan kimyasallar	35
3.2. Yöntem	35
3.2.1. Sterilizasyon teknikleri	39
3.2.1.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu	39
3.2.1.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu	39
3.2.1.c. Besi ortamının ve bitki büyüme düzenleyicilerinin sterilizasyonu	39
3.2.1.d. Sterilizasyonda kullanılan kimyasalların hazırlanışı	40
3.2.2. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanışı.....	40
3.2.3. Araştırmada incelenen konular.....	41
3.2.3.a. Korunga bitkisine ait kök, kotiledon ve hipokotil eksplantları üzerine memeli cinsiyet hormonlarının (MCH) etkileri	41
3.2.3.b. Korunga bitkisine ait kök, kotiledon ve hipokotil eksplantları üzerine bitki hormonlarının (BH) etkileri	42
3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi.....	43
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	44

4.1. Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) Uygulamasından (I. Deneme) Elde Edilen Bulgular	44
4.1.1. Kotiledonlardan sürgün oluşumu kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri.....	44
4.1.2. Kotiledonların canlı kalma oranı üzerine MCH'nin etkileri	47
4.1.3. Hipokotilin sürgün oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri	49
4.1.4. Hipokotilin kallus oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri.....	51
4.1.5. Hipokotilin kök oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri	52
4.1.6. Kök eksplantının köklenme kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri	56
4.1.7. Kökün kallus oluşturma oranı üzerine MCH'nin etkileri.....	59
4.1.8. Kökün canlı kalma oranı üzerine MCH'nin etkileri.....	60
4.1.9. Köklenen sürgün sayısı üzerine MCH'nin etkileri.....	63
4.1.10. Kökün sürgün oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri.....	65
4.2. Bitki Hormonları (BH) Uygulamasından (II. Deneme) Elde Edilen Bulgular....	68
4.2.1. Kotiledonların sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri.....	68
4.2.2. Kotiledonların canlı kalma oranı üzerine BH'nin etkileri.....	74
4.2.3. Kotiledonların kallus oluşturma oranı üzerine BH'nin etkileri.....	75
4.2.4. Hipokotilin sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri.....	77
4.2.5. Hipokotilin kök oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri.....	81
4.2.6. Hipokotilin kallus oluşturma oranı üzerine BH'nin etkileri.....	84
4.2.7. Kökün sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri	87
4.2.8. Kök eksplantının köklenme kapasitesi üzerine BH'nin etkileri.....	91
4.2.9. Köklerden elde edilen eksplantların köklenmesi üzerine BH'nin etkileri	93
4.2.10. Kökün kallus oluşturma oranı üzerine BH'nin etkileri	94
4.2.11. Köklerin canlı kalma oranı üzerine BH'nin etkileri.....	96
4.2.12. Eksplant sayısına göre embriyogenik kallus oluşumu	97
4.2.13. Muamelelere göre oluşan somatik embriyo sayısı	99
4.2.14. Eksplant başına düşen somatik embriyo sayısı	100
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	103
5.1. Tartışma.....	103
5.2. Sonuç ve Öneriler.....	109
KAYNAKLAR	111
ÖZGEÇMİŞ	118

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
cm	Santimetre
g	Gram
kg	Kilogram
l	Litre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mol	Mol
mM	Milimolar
N	Normal
2,4-D	2,4-Diklorofenoksi asetik asit
IAA	İndol-3-asetik asit
NAA	Naftalen asetik asit
Dikamba	3,6-Diklorobenzoik asit
Pikloram	4-amino-3,5,6-trikloro pikolinik asit
2,4,5-T	2,4,5-Triklorofenoksi asetik asit
IBA	İndol-3-butirik asit
TDZ	1-Fenil-3-(1,2,3-thidiazol-5yl) üre (Thidiazuron)
BAP	6- Benzil amino pürin
KIN	Kinetin
ABA	Absisik asit
MS	Temel besi ortamı, Murashige and Skoog (1962)
N6	Temel besi ortamı, Chu <i>et al.</i> (1975)
B5	Temel besi ortamı, Gamborg <i>et al.</i> (1968)
MES	2-(N-morpholino) ethansülfonik asit
BBD	Bitki Büyüme Düzenleyicileri
MCH	Memeli Cinsiyet Hormonları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Oksin tipleri (Naftalen asetik asit, 2,4-Diklorofenoksi asetik asit ve İndol-3-asetik asit) ve yapısal formülleri	7
Şekil 1.2. Bitki reaksiyonu ve BBD konsantrasyonu arasındaki ilişki	8
Şekil 1.3. Sitokinin tipleri (6- Benzin amino pürin, Thidiazuron, Kinetin) ve yapısal formülleri	9
Şekil 1.4. Memeli cinsiyet hormonları ve kimyasal yapıları	10
Şekil 4.1. Kotiledonlardan sürgün oluşumu A, B) Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü, C) Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü, D) β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü.....	45
Şekil 4.2. Kotiledonlardan sürgün oluşumu, A) Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü, B) β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü.	46
Şekil 4.3. Kotiledonlardan canlı kalanların görünümü. A) β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan canlı kalanların görünümü, B) Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan canlı kalanların görünümü	48
Şekil 4.4. Hipokotilden sürgün oluşumu. A) Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, B) β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, C) Testosteronun 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, D) Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, E) Testosteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, F) Testosteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü.	50

- Şekil 4.5.** Hipokotilden kallus oluşumu. **A)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda oluşan kallusların görünümü, **B)** Testosteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü.....52
- Şekil 4.6.** Hipokotilden kök oluşumu. **A)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **B)** Testosteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **C)** Testosteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **D)** Testosteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü.....55
- Şekil 4.7.** Hipokotilden köklü sürgün oluşumu. **A)** Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **B)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü. 56
- Şekil 4.8.** Köklerde meydana gelen değişimler. **A)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **B)** Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **C)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **D)** β -östradiolün 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü.....57
- Şekil 4.9.** Köklerde meydana gelen değişimler. **A)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **B)** β -östradiolün 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **C)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **D)** Testosteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü..58
- Şekil 4.10.** Kökten oluşan kallusların görünümü. **A, B)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **C)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten

- oluşan kallusların görünümü, **D)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü..... 60
- Şekil 4.11.** Köklerden canlı kalanların görünümü. **A)** Progesteronun 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü, **B)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü, **C)** β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü, **D)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü. 62
- Şekil 4.12.** Kökten oluşan sürgünlerin köklenmesi. **A)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **B)** β -östradiolün 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü. 63
- Şekil 4.13.** Kökten oluşan sürgünlerin köklenmesi. **A)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **B)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **C)** β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **D)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü. 64
- Şekil 4.14.** Kökten sürgün oluşumu. **A, B)** Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü. 67
- Şekil 4.15.** Kotiledonlardan sürgün oluşumu. **A)** 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü. 69
- Şekil 4.16.** Kotiledonlardan sürgün oluşumu. **A)** 1 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** 0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün

sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** 1 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü. **E)** 0,4 mg/l NAA +1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü. **F)**) 0,4 mg/l NAA +1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü. 72

Şekil 4.17. Kotiledonlardan sürgün oluşumu. **A)** 1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 0,4 mg/l NAA+1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü. 74

Şekil 4.18. Kotiledonlardan kallus oluşumu. **A)** 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü, **B)** 0,4 mg/l NAA içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü, **C)** 0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü, **D)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü. 77

Şekil 4.19. Hipokotilden sürgün oluşumu. **A, B)** 1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** 0,2 mg/l NAA+2,0 mg/l KIN içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **E)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l KIN içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **F)** 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/l KIN içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü. 80

Şekil 4.20. Hipokotilden köklü sürgün oluşumu. **A)** 0,4 mg/l NAA içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **B,C)** 0,4 mg/l NAA içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **D)** 0,2 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü. 84

Şekil 4.21. Hipokotilden kallus oluşumu. **A)** 1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü,

- B)** 1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **D)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **E)** 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **F)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü. 86
- Şekil 4.22.** Kökten sürgün oluşumu. **A)** 2,0 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 1,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+2,0 mg/l BAP içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** 1 mg/l BAP içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü. 90
- Şekil 4.23.** Kökten kallus oluşumu. **A)** 0,2 mg/l NAA+1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **B)** 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **D)** 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü. 95
- Şekil 4.24.** Kökten kallus oluşumu. **A)** 1 mg/l BAP içeren ortamda oluşan kallusların görünümü **B)** 2 mg/l BAP içeren ortamda oluşan kallusların görünümü **C)** 0,2 mg/l NAA+2 mg/l TDZ içeren ortamda oluşan kallusların görünümü **D)** 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/l BAP içeren ortamda oluşan kallusların görünümü. 99
- Şekil 4.25.** Magenta kutularına aktarılan eksplantların görünümü 102

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	33
Çizelge 3.2. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar	34
Çizelge 3.3. Kullanılan hormonlar ve dozları	34
Çizelge 3.4. Oksin stok solüsyonunun hazırlanışı.	34
Çizelge 3.5. Sitokinin stok solüsyonlarının hazırlanışı.....	34
Çizelge 3.6. Memeli cinsiyet hormonlarının stok solüsyonlarının hazırlanışı.....	35
Çizelge 3.7. Birinci denemede kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	37
Çizelge 3.8. İkinci denemede kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	38
Çizelge 4.1. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90 gün içerisinde sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları	45
Çizelge 4.2. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90 gün içerisinde sürgün oluşturan eksplant sayıları	46
Çizelge 4.3. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90 gün canlı kalan eksplant oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	47
Çizelge 4.4. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda canlı kalan eksplantların oranı	48
Çizelge 4.5. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	49
Çizelge 4.6. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayıları	49
Çizelge 4.7. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	51
Çizelge 4.8. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranı (%).....	52
Çizelge 4.9. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	53
Çizelge 4.10. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 60. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	53

Çizelge 4.11. Farklı hormon tiplerine göre 30. ve 60. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı.....	54
Çizelge 4.12. Farklı hormon dozlarına göre 30. ve 60. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı.....	54
Çizelge 4.13. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre kök oluşturan eksplant sayısı.....	55
Çizelge 4.14. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	56
Çizelge 4.15. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre kök oluşturan eksplant sayısı.....	58
Çizelge 4.16. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	59
Çizelge 4.17. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranı.....	59
Çizelge 4.18. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda canlılık oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	61
Çizelge 4.19. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda canlılık oranı.....	61
Çizelge 4.20. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda köklenen sürgün sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları.....	63
Çizelge 4.21. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda köklenen sürgün sayısı	64
Çizelge 4.22. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	65
Çizelge 4.23. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	65
Çizelge 4.24. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	66
Çizelge 4.25. Farklı hormon tiplerine göre 30. 60. ve 90. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı.....	66
Çizelge 4.26. Farklı hormon dozlarına göre 30. 60. ve 90. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı.....	67
Çizelge 4.27. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı.....	68

Çizelge 4.28. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	69
Çizelge 4.29. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı	70
Çizelge 4.30. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	70
Çizelge 4.31. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı.....	71
Çizelge 4.32. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	71
Çizelge 4.33. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı.....	73
Çizelge 4.34. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda canlılık oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	74
Çizelge 4.35. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda canlılık oranı.....	75
Çizelge 4.36. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	76
Çizelge 4.37. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kotiledonlardan kallus oluşum oranı.....	76
Çizelge 4.38. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	78
Çizelge 4.39. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı	79

Çizelge 4.40. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	81
Çizelge 4.41. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı.....	82
Çizelge 4.42. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	82
Çizelge 4.43. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı.....	83
Çizelge 4.44. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	84
Çizelge 4.45. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranı	85
Çizelge 4.46. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	87
Çizelge 4.47. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı	88
Çizelge 4.48. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	88
Çizelge 4.49. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı	89
Çizelge 4.50. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	90

Çizelge 4.51. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı	91
Çizelge 4.52. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	92
Çizelge 4.53. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı.....	92
Çizelge 4.54. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda köklenen eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	93
Çizelge 4.55. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda köklenen eksplant sayısı.....	93
Çizelge 4.56. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	94
Çizelge 4.57. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranı	96
Çizelge 4.58. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda eksplantların canlılık oranına ilişkin varyans analiz sonuçları	96
Çizelge 4.59. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda eksplantların canlılık oranı	97
Çizelge 4.60. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre embriyogenik kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	98
Çizelge 4.61. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre embriyogenik kallus oluşturan eksplant sayısı	98
Çizelge 4.62. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre somatik embriyo sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	99

Çizelge 4.63. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre somatik embriyo sayısı	100
Çizelge 4.64. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre eksplant başına düşen somatik embriyo sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları	100
Çizelge 4.65. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre eksplant başına düşen somatik embriyo sayısı	101

1. GİRİŞ

Doğaya dönüşümün bir slogan haline geldiği günümüz dünyasında bitkiler, oldukça önem arz etmektedir. İçerdikleri 350.000'den fazla tür ve diğer canlı gruplarından farklı olarak üstlendikleri hayati roller nedeniyle bitkiler yeryüzündeki yaşamın anahtarı sayılırlar. Bitkiler, hem kendileri hem de doğada bulunan diğer canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için gerekli olan besin maddelerini sentezleyerek, havanın karbondioksit ve oksijen dengesinin korunmasını sağlarlar. Ayrıca besin, kozmetik ve ilaç sanayinde, kullanılmakta birçok canlıya barınma ve beslenme ortamı sağlamakta, toprağa organik madde kazandırmakta, çevre düzenlemesinde kullanılmakta, doğal afetlerin önlenmesinde rol almakta ve sanayi hammaddesi olarak yararlanılmaktadırlar (Özcan vd 2001; Yağmur 2008).

İnsanların beslenmesinde en çok kullanılan yaklaşık 30 bitki grubu içinde en önemlileri tahıllar, endüstri bitkileri, sebzeler, meyve ağaçları ve baklagillerdir. Bununla beraber dünya florasında yaklaşık 250.000 bitki türünün bulunduğu ancak bunlardan 3000 türün besin değerine sahip olduğu bildirilmektedir (Babaoğlu 2001).

Bugün dünyanın diğer ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de hızlı nüfus artışının beraberinde getirdiği en önemli sorunlardan birisi yetersiz ve dengesiz beslenmedir. Dengeli beslenme karbonhidrat, protein, yağ, vitamin ve mineral maddeleri düzenli ve yeterli miktarda tüketmekle mümkündür. Ancak ülkemiz insanının en önemli kaynağını karbonhidratlar oluşturmakta ve özellikle hayvansal proteinlerin tüketimi gelişmiş ülkelerin çok gerisinde kalmaktadır. Bunun nedeni ülkemizde hayvansal besin üretiminin yetersiz olmasıdır. Hayvancılıkta istenen hedeflere ulaşmak için hayvanlara yeterli miktarda ve kalitede yem sağlanması gerekmektedir. Bu da hayvan beslenmesinde çok önemli bir yere sahip olan meralarımızın uygun yöntemlerle ıslahı ve tarla tarımı içerisinde yem bitkilerine ayrılan alanın artırılması ile mümkün olacaktır.

Baklagiller olarak adlandırılan *Leguminosae* familyası dünya üzerindeki en geniş familyalardan birisidir. 250 000 çiçekli bitki türünün 12 000'i baklagiller olup, yaklaşık 600 cins içerisine dağılmışlardır. Baklagil yem bitkileri; bitkiler alemi (*Plantae*), çiçekli bitkiler (*Embriyophyta*) bölümüne, kapalı tohumlular (*Angiospermae*) alt bölümüne, çift çenekliler (*Dicotyledonae*) sınıfına, gülgiller (*Rosales*) takımına, baklagiller (*Leguminosae*) familyasına dahildirler (Elçi 2005; Tan ve Serin 2008). *Leguminosae* familyasının üç alt familyaya ayrıldığı bildirilmekte olup; yurdumuzda yem bitkileri olarak kullanılan baklagillerin tümü *Papilionoideae* alt familyası içerisinde yer almaktadır (Elçi 2005). Tarımsal açıdan birçok önemli özelliğe sahip olan baklagil yem bitkileri uzun yıllardan beri yeryüzünde yetiştirilmekte olup; insanlar bu bitkilerden çeşitli şekillerde yararlanmıştır. Gıda ve Tarım Teşkilatı (Food and Agriculture Organization (FAO)) tarafından yayımlanan kaynaklar incelendiğinde; bir çok ülkede toplam tarla arazisi içerisindeki yem bitkilerinin payının büyük boyutlara ulaştığı, örneğin Avustralya'da bu oran %50'ye yaklaşırken, birçok Kuzey Avrupa ülkesinde %25'ler düzeyindedir. İncelenen Avrupa ülkelerinde en düşük pay Türkiye'ye aittir (Anonymous 2002). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) tarafından yayımlanan istatistiklere göre; ülkemizde 5 210 000 ton yonca, 2 896 000 ton fiğ ve 716 000 ton korunga üretilmektedir (Anonim 2007). Son yıllarda ülkemizde başta yonca olmak üzere yem bitkileri ekim alanları genişlemekte, ancak gelişme hızı oldukça yavaş seyretmektedir. Sonuç olarak, ülkemiz birçok ülkeye göre yem bitkileri yetiştiriciliği açısından çok az bir üretime sahiptir.

Baklagil yem bitkilerinin ülkemizin tarımında bu günkü üretim alanından çok daha geniş alanlarda üretilmesi tarımımızın gelişmesi ve teknolojinin gösterdiği yolda başarıya ulaşması için zorunludur (Elçi 2005). Bu nedenle ülkemiz hem tarımsal hem de ekonomik açıdan büyük faydalar sağlayacak yem bitkileri yetiştiriciliğine gereken önem verilmeli ve bu amaçla yapılacak olan çalışmalar her yönden desteklenmelidir.

Baklagil ve buğdaygil yem bitkileri olmak üzere başlıca iki grupta ele alınan yem bitkileri; hayvan yemi olarak yetiştirilen, toprak ve su muhafazasında etkin olan, ekim

nöbetinde kendinden sonra gelen ürünlerin verimini artırmada, doğrudan doğruya veya sonradan yedirilmek üzere hasat edilerek kurutulan veya silajı yapılan bitkilerdir.

Kaba yem olarak tanınan yem bitkilerinin hayvanların mide mikroflorası için lüzumlu besin maddelerini içerdiği, bununla birlikte mineral ve vitamin kaynağı olması nedeni ile hayvanların verim ve üreme performansları üzerine etki ettiği bilinmektedir.

Yurdumuzda yonca, korunga, adi fiğ ve burçak gibi geleneksel birkaç yem bitkisinin tarımı yapılmaktadır. Baklagil yem bitkileri, organik tarım sisteminde yeşil gübreleme yolu ile ana bitkinin ihtiyacı olan azot ihtiyacının tamamını veya önemli bir bölümünü karşılayabilmektedir (Açıkgöz vd 2005).

Korunga geniş bir uyum kabiliyetine sahip, yüksek kalitede ot hasıl eden, kışa ve kurağa çok dayanıklı olduğundan geniş bir adaptasyon kabiliyetine sahip, kullanım alanı çok fazla olan çok yıllık bir yem bitkisidir. Taşlı çakıllı arazilerde rahatça gelişebilen, 1,5-2 m derinliğe inen kuvvetli köklere sahip bir bitkidir. Besleme değeri oldukça yüksek olan bu bitkinin fakir ve kıraç topraklarda ot veriminin yonca ve üçgüllere göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Korunganın derine giden kök sistemine sahip olması, köklerinin kation değiştirme kapasitesinin yüksek olması, yem bitkilerinde görülen birçok zararlıya dayanıklı olması ve çok iyi bir balözü bitkisi olması önemini artırmaktadır. Ayrıca çiftlik hayvanlarında şişme yapmayan ender bitkilerden birisidir. Yalnız veya buğdaygillerle karışım halinde kuru ot üretiminde, mer'a ıslahında, toprak ıslahında, bal üretiminde ve ekim nöbetinde kullanılması önemini artırmaktadır (Tan ve Serin 2013).

Klasik bitki ıslahı ile istenen tüm özelliklerin bir bitkide toplanması güç ve zaman alıcı bir işlemdir. Uyuşmazlık, genetik bağlılık ve istenen özelliklerin seçiminin ve stabilizasyonunun uzun zaman alması sorunlarıyla karşılaşmaktadır. Oysaki kullanım alanı giderek yaygınlaşan bitki genetik mühendisliği teknikleriyle, bu olumsuzluklar kolayca aşılabilmekte, orijinal bitkinin arzu edilen karakterlerini değiştirmeksizin bir ya da birkaç gen, yeni özellikler kazandırmak amacıyla değişik organizmalardan izole edilerek bitkilere aktarılabilmektedir (Özcan ve Özgen 1996).

Yeni bir çeşit geliştirmenin çok uzun zaman alması ve daha fazla maddi kaynağa ihtiyaç duyulması ve daha fazla işgücü gerektirmesi geleneksel ıslah yöntemlerinin en önemli dezavantajlarından sayılabilir. Bitkilerin tarımsal özelliklerinin iyileştirilmesinde birçok sorunla karşılaşmaktadır. Örneğin, melezleme yapılabilen tür sayısının az olması, yapılan melezleme sonucunda istenilen özelliklerle birlikte istenmeyen özelliklerin geçişinin önlenememesi, istenmeyen karakterlerin elemine edilmesinin çok uzun zaman alması diğer bir takım dezavantajları oluşturmaktadır (Özcan ve Özgen 1996). Günümüzde modern ıslah yöntemleri olarak da adlandırılan biyoteknolojik yöntemler sayesinde, bir takım olumsuzluklar ortadan kaldırılabilmekte, ıslah süresi kısaltılarak maddi açıdan ve zamandan tasarruf sağlanmakta ve ayrıca melezlemede karşılaşılan sorunların üstesinden gelinebilmektedir.

Bitki gelişmesi için güneş ışığına, havanın CO₂'ine, toprağın su, mineral ve diğer besin maddelerine ihtiyaç duymaktadır. Vejetasyon ilerledikçe bitki büyümekte, gelişmekte ve bir kısım hücre, doku ve organlar oluşarak, kendine has şekil almaktadır. Bu oluşumların meydana gelmesi konusundaki çoğu detaylar bilinmemekle birlikte normal büyüme ve gelişmenin meydana gelebilmesi için bir takım iç ve dış faktörlerin birlikte rol oynadığı aşıkardır.

Bitki büyüme düzenleyicilerinin (BBD) önemi ilk kez 1930'lu yıllarda anlaşılmış, bu tarihten itibaren bunların tarımsal ürünlerdeki fonksiyonu araştırılmaya çalışılmıştır. Bitki fizyolojisi konularında yapılan çalışmalar, BBD'nin bitki büyüme ve gelişmesindeki rollerini ortaya koymuş ve zamanla bitki bünyesinde sadece büyümeyi teşvik eden maddelerin değil, aynı zamanda büyümeyi engelleyen maddelerin de sentezlendiği ortaya konulmuştur (Güleryüz 1982; Raven *et al.* 1992). Günümüzde çimlenmeden hasada ve hasat sonrası muhafazaya kadar bitkinin büyüme oranını ve gelişmesini etkilemek amacıyla yaygın olarak kullanılan BBD'lerinin verim üzerine olan etkileri genelde dolaylı yoldan olmaktadır (Budak vd 1994). Bitkilere bu maddelerin dıştan uygulanmasında amaca uygun kimyasalın seçimi, uygun konsantrasyonun ve uygulama zamanının tayini, arzu edilen etkinin oluşması için oldukça önemlidir (Palavan-Ünsal 1993; Buban 2000).

Bitkideki büyüme ve gelişmeyi düzenleyen temel iç faktörler kimyasal özelliktedir. Bitki büyümesini düzenleyen maddeler bitkiler tarafından oluşturulan ya da bitkiye dışarıdan verilen, çok düşük miktarlarda bitkideki büyüme, gelişme ve diğer fizyolojik olayları tek başına ya da birlikte olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilen, oluşturuldukları dokularda etkin olabildikleri gibi diğer bitki kısımlarına da taşınabilen ve bu etkinliği diğer organlarda da gösterebilen organik maddelerdir. Bitkiler büyüme, gelişme ve değişime uğramaları için kendi ihtiyaçları olan bu temel maddeleri kendileri üretirler. Bitki bünyesinde oluşup, fizyolojik olayları düzenleyen bu maddelere hormonlar ya da fitohormonlar adı verilmektedir (Kumlay ve Eryiğit 2011).

Bitki hormonlarının hücre içerisindeki temel işlevleri, hücre bölünmesi, hücre farklılaşması, organ oluşumu, tohum dormansisi, tohum çimlenmesi, yaprak ve organ yaşlanması ile absisyonu gibi temel gelişme basamaklarını düzenlemeleridir (Davies 1995).

Bitki hormonları oksin, sitokinin, giberellin, etilen ve absisik asit olmak üzere 5 gruba ayrılmıştır. Bunlardan oksin, giberellin ve sitokininler bitki büyümesini teşvik ederken, etilen ve absisik asit büyümeyi engelleyici etki göstermektedir (Kadioğlu 1999). Oksinler, sitokininler ve gibberellinler bitki büyümesini teşvik edici hormonlar olarak tarımda sıklıkla kullanılmaktadırlar.

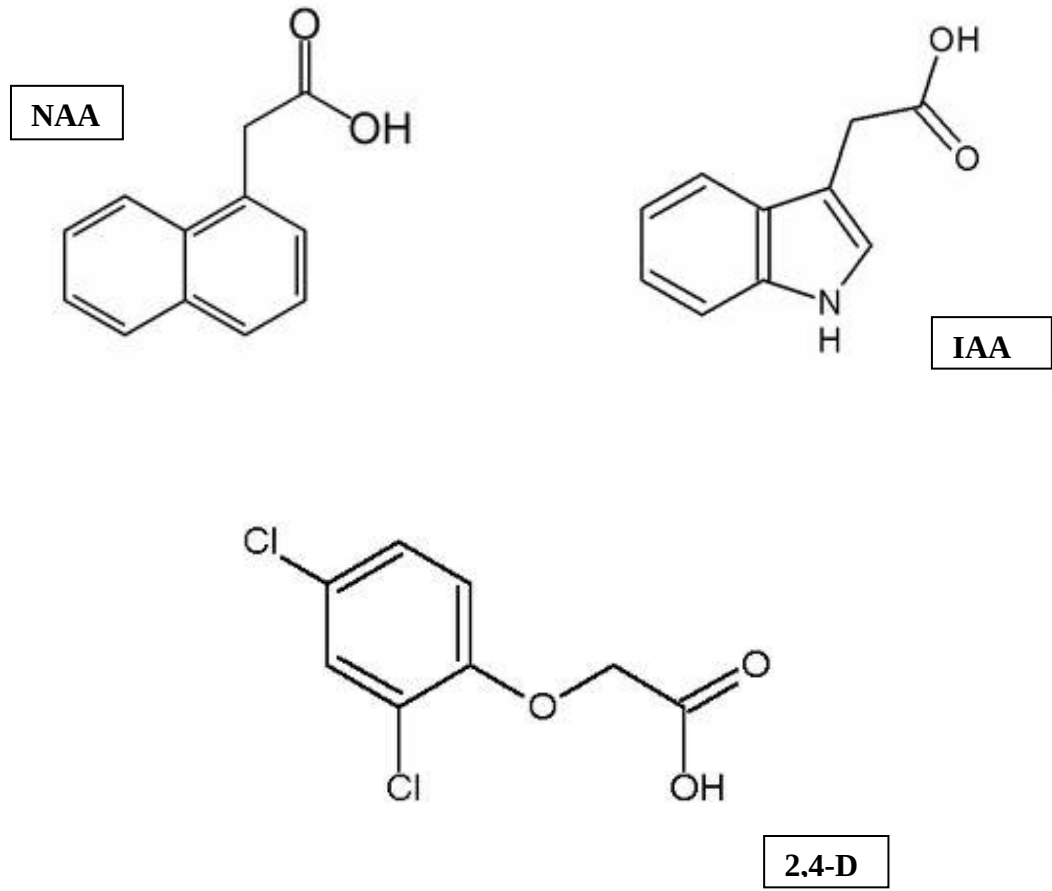
Hormonların etkileri daima bir denge içerisinde birbirlerini tamamlayıcı veya biri diğerinin etkisini azaltıcı olarak ortaya çıkar. Günümüzde hormonlardan bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi yönlendirici özellikleri dikkate alınarak çok yönlü yararlanılmaktadır. Çok sayıda kimyasal madde hormon olmadığı halde hormon olarak adlandırılmakta bu ise kavram kargaşasına neden olmaktadır. Bir bileşiğin hormon olarak nitelendirilebilmesi için; bitki bünyesinde oluşması, oluştuğu yerden başka bir yere taşınabilir olması, taşındığı yerde değişik yaşam olaylarını yönetmesi ve düzenlenmesi, çok düşük konsantrasyonlarda bu etkisini göstermesi gerekir (Kaynak ve Ersoy 1997).

Bitki gelişimini düzenleyicilerin (BBD) kullanılmasında istenilen neticenin alınması için uygulama zamanının ve konsantrasyonlarının iyi ayarlanması gerekmektedir (Westwood 1993). Diğer yönden düşük konsantrasyonlarda büyümeyi artırabilen bir BBD, konsantrasyonu artırıldıkça büyümeyi engelleyebilmektedir.

Bitki bünyesinde meydana gelen fizyolojik faaliyetlerin çoğunluğu bu hormonların kontrolü altındadır. Bitki hormonlarının keşfinden sonra, bu hormonlara yapısal olarak benzeyen kimyasal maddeler sentetik olarak üretilmeye başlanmış olup, bu sentetik maddeler bitkilere dıştan uygulandıklarında bitki hormonu gibi etki gösterdikleri belirlenmiş, büyüme ve gelişme olaylarındaki etkilerinden ve düzenleyici rollerinden dolayı bitki hormonları ile birlikte bu maddelerin hepsine birden ‘Bitki Büyüme Düzenleyicileri’ adı verilmiştir (Bayraş 2005).

Bitki büyüme maddeleri modern tarımda büyüme ve çiçeklenmeyi teşvik edici maddeler olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Bu maddelerin belirli yoğunluklarda kullanılmaları gerekmektedir. Aksi takdirde, kök uçlarında tümöre benzer şişkinliklerin oluşumu, iletim dokusunun tahrip edilmesi ve büyümenin engellenmesi gibi olumsuzluklara neden olmaktadır (Bayraş 2005).

Oksinler hücre genişlemesine ve büyümeye neden olan maddeler olup, hücre uzamasını, doku gelişimini ve kök oluşumunu teşvik etmektedirler. Bitki hormonu olan oksin, bütün yüksek bitkiler tarafından sentezlenir ve en çok bulunan oksin formu indol-3-asetik asittir (IAA) (Grunewald ve ark. 2009). IAA dışında en yaygın bulunan oksinler; indol bütirik asit (IBA), naftalin asetik asit (NAA), naftoksi asetik asit (NOAA), fenoksi asetik asit (FOAA), diklorofenoksi asetik asit (2,4-D), fenil asetik asit (FAA), paraklorofenoksi asetik asit (4-CPA) ve 2,4,5-triklorofenoksi asetik asitlerdir (2,4,5-T) (Seçer 1989) (Şekil 1.1).

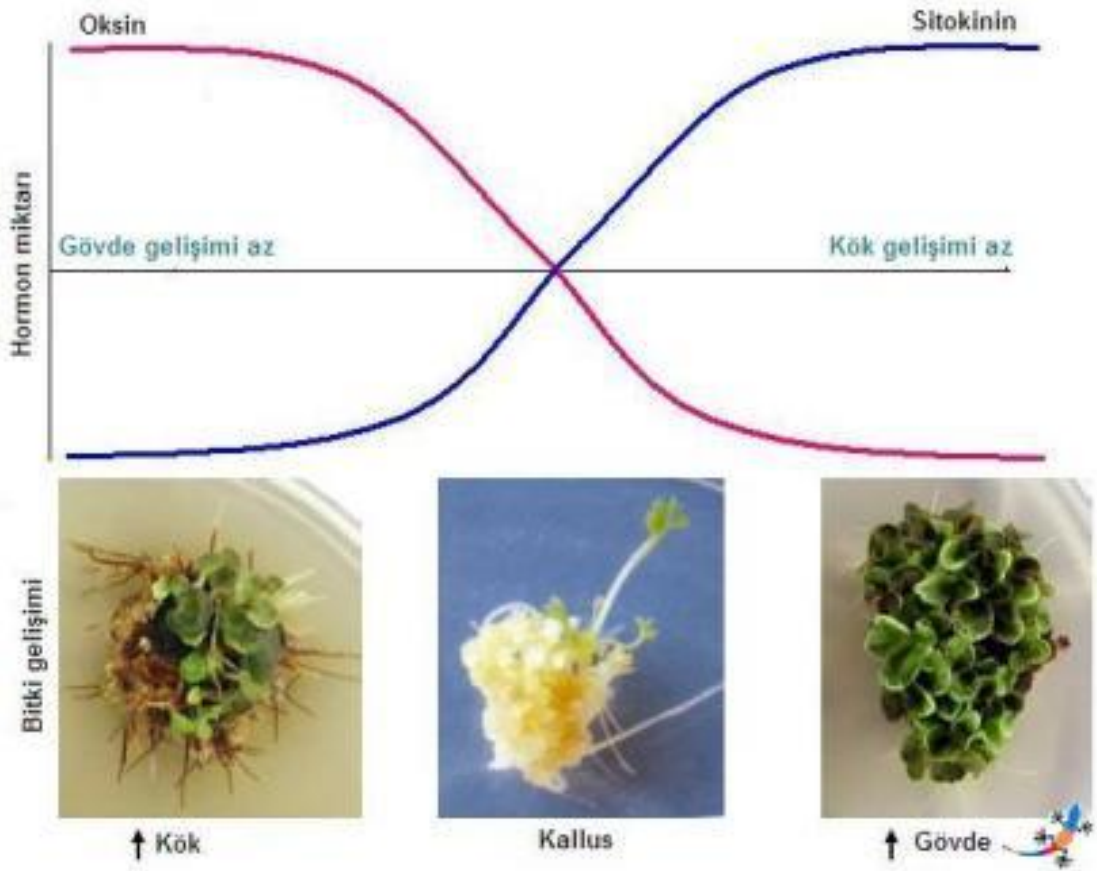


Şekil 1.1. Oksin tipleri (Naftalen asetik asit, 2,4-Diklorofenoksi asetik asit ve İndol-3-asetik asit) ve yapısal formülleri

Sitokininlerin bitkilerde bölünmeyi teşvik edici özellikte olduğu ve diğer birçok fizyolojik ve gelişim olaylarını da etkiledikleri bilinmektedir (Şekil 1.2). Bu olaylar senesensin geciktirilmesi (Thimann 1980), senesens sırasında klorofil, protein ve RNA seviyelerinin korunması (Richmond and Long 1957), kloroplast olgunlaşması, gövde büyümesi, apikal dominansi, kotiledonların genişlemesi ve morfogenezin kontrolüdür (Taiz 1991).

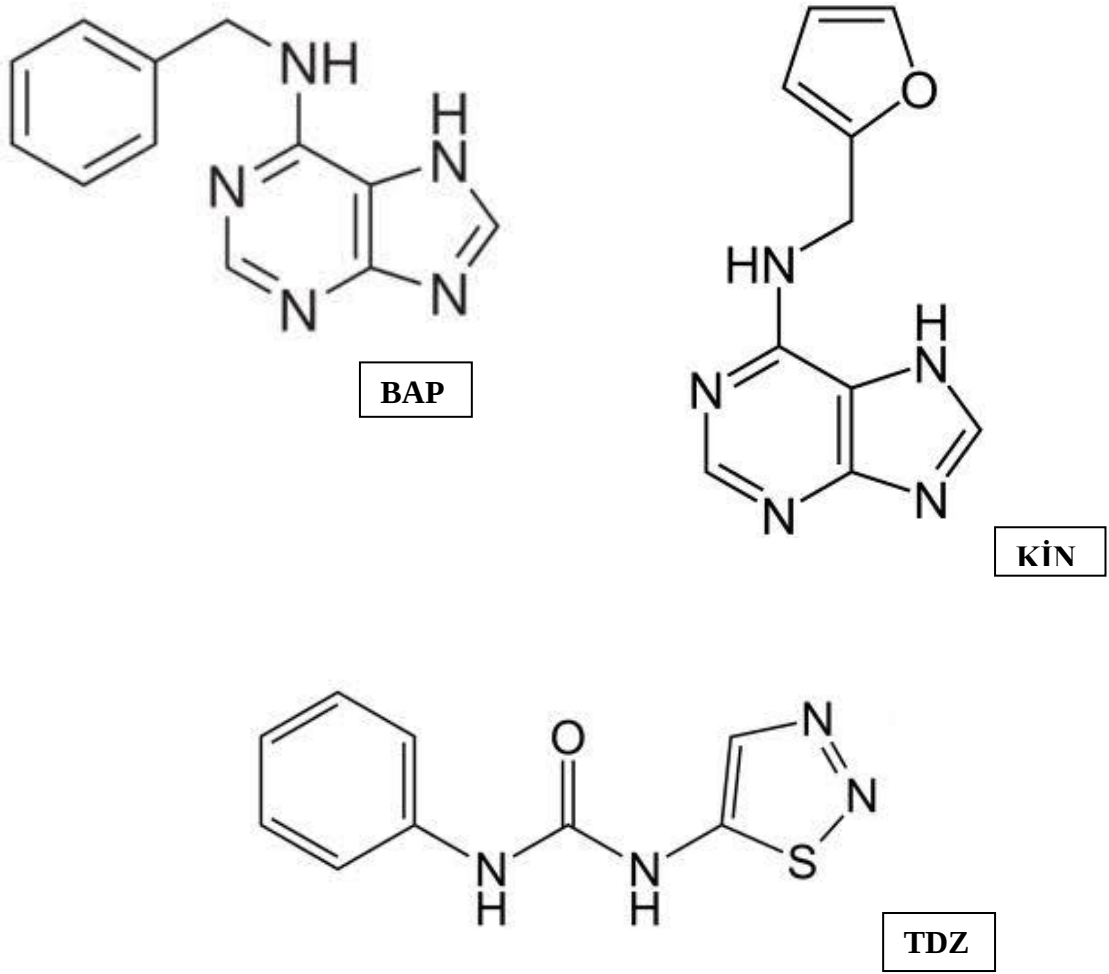
Kimyasal ve biyolojik olarak aktif 200'den fazla doğal ve sentetik sitokinin vardır. Kinetin, benziladenin ve zeatin sitokininlerin en yaygın olanlarıdır (Şekil 1.3). Genelde genç dokularda bulunurlar. Kinetin benzeri birçok madde çimlenen tohumlardan, akan özlerden ve genç meyvelerden izole edilmiştir. Kinetin sentetik sitokininidir ve bitkide

doğal olarak meydana gelmez. Benziladenin (BA) ve tetrahidropirani benziladenin (PBA)'de sentetik sitokininlerdir. Doğal sitokininlerin tamamı aminopurin türevleridir. Doğal olarak bulunan ve fizyolojik yönden aktif olan üç sitokinin zeatin, dihidrozeatin ve izopentenil adenindir. BA tarımda kullanılan sentetik bir 6 numaralı karbona amin grubu bağlı olan pürin sitokininidir (Matsubara 1990).



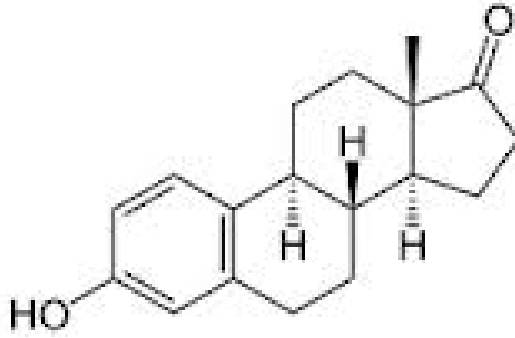
Şekil 1.2. Bitki reaksiyonu ve BBD konsantrasyonu arasındaki ilişki

Sitokininlerin pratik uygulaması, oksinlerin ki kadar yaygın olmamasına karşın, sitokininler bitki ıslahı çalışmalarında ve doku kültürü uygulamalarında kullanılmaktadırlar. Doku kültürü çalışmalarında besi ortamlarına ilave edilen en önemli organik bileşikler oksinler ve sitokininlerdir. Bu iki bileşiğin dengesine bağlı olarak kök ve sürgün oluşumu kontrol edilebilmektedir (Şekil 1.2).

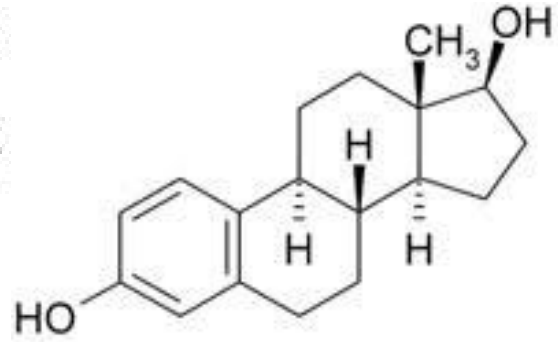


Şekil 1.3. Sitokinin tipleri (6- Benzin amino pürin, Thidiazuron, Kinetin) ve yapısal formülleri

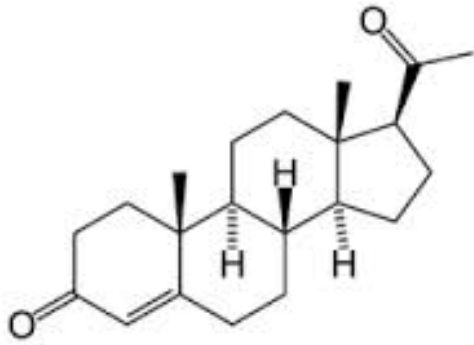
Memelilerde çok önemli fonksiyonlara sahip olan cinsiyet hormonlarının bitkilerde varlığı ilk olarak 20. yüzyılın başlarında belirlenmiştir. Bitkilerde memeli cinsiyet hormonlarının belirlenmesine yönelik yapılan ilk çalışmalar fazla hassas olmamasına rağmen, sonraki yıllarda yeni metodlar kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda östron, progesteron, testosteron (Şekil 1.4) ve bu steroidlerin çeşitli türevlerinin bitkilerde bulunduğu tespit edilmiştir (Simersky 2009).



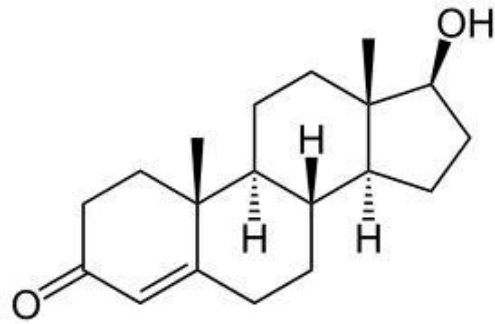
ÖSTRON



ÖSTRADIOL



PROGESTERON



TESTOSTERON

Şekil 1.4. Memeli cinsiyet hormonları ve kimyasal yapıları

Janeczko and Skoczowski (2005) memeli cinsiyet hormonlarından östrojenlerin ilk kez Dohrn ve çalışma arkadaşları tarafından 1926 yılında ve Butenandt, Jacobi ve Skarzowski tarafından 1930'lu yıllarda bitkilerde belirlendiğini kaydetmişlerdir.

Çimlenme, büyüme, gelişme ve çiçek tomurcuğu oluşumu gibi çok önemli fizyolojik olayları bitki bünyesinde çok az miktarlarda bulunan fitohormonlar yönlendirmektedirler.

Bazı memeli cinsiyet hormonlarının bitki hücre seviyesinde, uzama ve bölünmeyi uyardığı, hormonal denge, enzim aktivitesi, protein ve nükleik asit sentezinin

aktivasyonuna, proteinlerin amino asit kompozisyonuna ve protein spektrumuna, hücre zarı ve yağ asidi kompozisyonları üzerine etkili olduğu ve fotosentetik aktivitenin artmasına neden olduğu kaydedilmiştir. Ayrıca tüm bitki seviyesinde bitki verimi, büyüme, vejetatif gelişim periyodu, meyve büyüklüğü, kalitesi ve besin değeri üzerine, aynı zamanda stres, hastalık ve olumsuz çevre şartlarına karşı direnç özellikleri üzerine etkili olduğu belirlenmiştir.

Korungada, eksplant olarak kotiledon, hipokotil ve kök (Hiroshi and Zhumeng 1993), kotiledon ve hipokotil (Özcan vd 1996a), olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo ekseni (Özcan vd 1996b), yaprak, yaprak sapı ve sap örnekleri (Özgen vd 1998), embriyo (Sancak 1999), boğum arası, yaprakçık, apikal meristem, yaprak sapı, olgunlaşmamış çiçek durumu (Çeliktaş vd 2006), hipokotil (Karamian and Ranjbar 2008), kök ve gövde (Gu 1987), hipokotil, epikotil, kotiledon, yaprak ve kök (Akçura vd 1999), gibi yapılar kullanılmıştır. Yoncada eksplant olarak, sapçık (Özgen vd 1997), hipokotil, kotiledon, yaprak ve gövde (Chen and Marowitch 1987; Sugimoto *et al.* 1991; Moursy *et al.* 1995), kök, hipokotil (Nagarajan *et al.* 1986), kotiledon, kökçük ve embriyonik eksen (Sancak, 1999), kökçük, kotiledon ve petiol (Shah *et al.* 2003), fiğde, olgunlaşmamış kotiledon, ve embriyo ekseni (Çöçü vd 2003) *in vitro* çalışmalarda kullanılmıştır.

Biyoteknolojik yöntemlerin ilk uygulama alanı olan doku kültürü, transgenik bitkilerin elde edilmesinde önemli aşamalardan biridir. Kültüre alınan bitki hücrelerine ya da dokularına gen aktarımı yapıldıktan sonra, gen aktarılmış bitki parçaları uygun besi ortamında olgun bir bitki haline getirilerek, aktarılan geni taşıyan transgenik bitkileri elde edilebilmektedir. Ayrıca, *in vitro* ortamda kimyasal ve fiziksel mutagen uygulamaları ile hastalıklara, antibiyotiklere, herbisitlere, tuzluluğa, düşük sıcaklığa ve kuraklığa toleranslı bitkiler elde edilebilmektedir (Karaca ve Bürün 1999).

Olgunlaşmamış embriyoların eksplant kaynağı olarak kullanılabilmeleri için donör bitkiden belli dönemlerde eksplant kaynağı temin edilmesi gerekmektedir. Bu durumda daha uzun bir süre ve daha fazla finansman gerekmektedir. Buna karşın, olgun

embriyoların kaynağı olan tohumlar kolaylıkla temin edilebildikleri ve depolanabildikleri için yılın her döneminde çalışma olanağı sağlamaktadırlar.

Korunga ile ilgili günümüze kadar bir takım araştırmalar yapılmış çeşitli faktörler ele alınmıştır. Ancak bu çalışmalar içerisinde memeli cinsiyet hormonları ile ilgili olanların sayısı yok denecek kadar azdır. Korungada yapılacak olan bu çalışmada çeşitli bitkisel hormonların ve memeli cinsiyet hormonlarının kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine olan etkileri incelenmiştir.

Korungaya (Lütfibey) ait tohumlar kullanılarak yapılan bu çalışmada iki farklı yöntem kullanılmıştır. I. denemede memeli cinsiyet hormonlarından progesteron, testosteron, 17β -östradiol ve östronun dört farklı konsantrasyonu (0, 10^{-4} mM, 10^{-5} mM ve 10^{-6} mM); II. denemede ise NAA (0, 0,2 ve 0,4 mg/l)'nın BAP, TDZ ve KİN (0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/l) ile ikili kombinasyonlarının kallus ve somatik embriyo oluşumu üzerine olan etkileri incelenmiştir. Ayrıca, köklendirme için 0,5 mg/l NAA kullanılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Baklagil yem bitkilerinde genetik mühendisliği ile ilgili ilk çalışmalar *Lotus corniculatus* (Stougaard *et al.* 1986), *Medicago sativa* (Spano *et al.* 1987) ve *Stylosanthes humilis* (Manners and Way 1989)'te yapılmıştır. Golds *et al.* (1991) korungada *Agrobacterium rhizogenesis* aracılığıyla gen aktarımı amacıyla yaptıkları çalışmada transgenik bitki elde etmede başarı sağlayamamışlardır. Ancak, Birsin *et al.* (2005) korungaya (*Onobrychis viciifolia* Scop.) partikül bombardımanı ile gen aktarımında fiziksel ve kimyasal parametrelerin etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, plazmit DNA'nın korunga kotiledonlarına geçebildiğini ve kotiledonların korungaya gen aktarımında eksplant olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Doku kültürü teknikleri gerek pratiğe yönelik uygulamalarda, gerekse bitkilere ait fizyolojik ve biyokimyasal olayların ortaya çıkarılmasını amaçlayan temel araştırmalarda kullanılmaktadır. Bitki rejenerasyonu, transformasyonu ve *in vitro* çoğaltımı için etkin yöntemler hem temel hem de uygulamalı araştırmalar için oldukça önemlidir (Ahmadabadi *et al.* 2007).

In vitro koşullarda bitkilerden izole edilen kök, sürgün, yaprak, çiçekler ve organize olmamış hücre yığını (kallus) gibi dokulardan kimyasal (besin maddeleri, hormonlar ve vitaminler) ve fiziksel (ısı, ışık ve nem) gereksinimleri karşılandığı takdirde yeni bitkicikler elde edilebilmektedir. Ancak hücre ve dokulardan sürgün rejenerasyonunu başarabilmek için uygun eksplantın seçilmesi, büyümede aktif maddeleri içeren uygun besi ortamının belirlenmesi ve fiziksel çevre koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir (Erişen 2003).

Kallustan organ rejenerasyonunda, kök ve sürgün tamamıyla birbirinden bağımsız meydana gelir. Kallustan kök gelişimi yüksek oksin ve düşük sitokinin içeren besi ortamında gerçekleşirken, sürgün oluşumu düşük oksin ve yüksek sitokinin içeren besi ortamında gerçekleşmektedir (Hatipoğlu 1999).

Somatik hücre veya dokulardan embriyo oluşumu somatik embriyogenesis olarak adlandırılır. Somatik embriyolar; embriyo benzeri yapılar, adventif veya vejetatif embriyo ya da embriyoit olarak da adlandırılırlar. Somatik embriyogenesis doğrudan (embriyonun kallus oluşumu olmadan doğrudan somatik bir hücreden meydana gelmesi) ve dolaylı (önce kallus oluşumu daha sonra bu kallustan somatik embriyoların meydana gelmesi) olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşir (Hatipoğlu 1999).

Organogenesis ve somatik embriyogenesis yoluyla baklagil yem bitkilerinin rejenerasyonunda stolon, olgunlaşmamış embriyo, kotiledon, kallus, hücre süspansiyon kültürü ve protoplast eksplant olarak kullanılabilirler (McKersie and Brown 1997).

Bitki doku kültürü çalışmalarında, bitki büyüme düzenleyicileri oldukça önemli bir yere sahiptir. Kültür ortamına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicilerinden oksinler, hücre bölünmesini ve gelişimini uyarak, somatik embriyo oluşumunu en fazla etkileyen bileşiklerdir. Embriyogenesisi teşvik etmek için en fazla kullanılan oksin 2,4-D olmakla birlikte; NAA, pikloram ve dikamba gibi oksinler de kullanılmaktadır. Oksinler embriyogenesisi teşvik etmekle birlikte, ortamda sürekli bulunmaları somatik embriyoların gelişimini engellemektedir. Bununla birlikte, sitokininlerin besi ortamına ilave edilmesi ise somatik embriyo oluşumunu engellemektedir. Ancak, tam bir embriyo olgunlaşması ve bitki gelişimi için içsel hormon seviyesine bağlı olarak çok düşük oranlarda sitokinin ve özellikle de BAP gerekli olmaktadır (Anonymous 2003).

Kallus oluşumu için kullanılan 2,4-D, NAA ve IAA gibi oksinler ile zeatin, KİN ve BAP gibi sitokininler kalluslardan bitki rejenere edilmesinde kullanılan hormonlardır (Bhaskaran and Smith, 1990). Embriyogenik kallus oluşumu için genellikle yüksek oksin/sitokinin oranı kullanılırken, bitki rejenerasyonu için düşük oksin/sitokinin oranı kullanılmaktadır (Ge *et al.* 2006).

Çok sayıda doku kültürü çalışmalarında başarı yada başarısızlığın kaynağı olarak eksplant özellikle de somatik embriyo oluşumunda kritik bir faktör olarak düşünülmüştür (Kantharajah and Golegaonkar 2004; Varisai Mohamed *et al.* 2004)

Peng and Hodges (1989), genotiplerin doku kültürüne tepkilerinin çekirdekdeki veya sitoplazmadaki genler tarafından kontrol edildiğini bildirmişlerdir.

Tarla koşullarında yetişen genç korunga bitkisine ait yaprak, petiol ve kök eksplantları kullanılarak yapılan çalışmada bütün eksplantların BA ve NAA içeren ortamda sürgün oluşturduğu görülmüştür. Genel olarak kök eksplantlarının yaprak(cık) ve yaprak sapına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. En yüksek oranda sürgün rejenerasyonu kök eksplantından, 20 μ M BA ve 0.5 μ M NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Özgen *et al.* 1998).

Yapılan çalışmalar sonucunda buğdaygiller ve baklagiller grubuna ait birçok yem bitkisinin östrojenik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Buğdaygillerden çayırotu ve mısır silajı; baklagillerden ise yonca ve çeşitli üçgül türleri en fazla östrojenik aktiviteyi gösteren bitkilerdir. Korungada ise östrojenli bileşiklerin bulunmadığı saptanmıştır (Akyıldız 1986; Schultz 1971).

In vitro koşullarda korunga bitkisinin hızlı çoğaltımı için farklı konsantrasyonlardaki BAP, IBA ve NAA ilave edilen Murashige ve Skoog (MS) ortamında, tek bir embriyodan, 8 hafta içerisinde yüksek oranda sürgün elde edilmiştir. En yüksek sürgün çoğaltımı, 2 mg/l BAP ile IBA'nın 0.05 ve 0.1 mg/l'lik ortamlarında ve 2 mg/l BAP ile NAA'nın 0.05, 0.1 ve 0.5 mg/l'lik ortamlarında veya 8 mg/l BAP ile 0.05 mg/l NAA ortamında başarılmıştır (Sancak 1999).

Onobrychis subnitens bornm.'da hipokotil eksplantları kullanılarak Karamian and Ranjbar (2008), tarafından yapılan bir çalışmada, kallus oluşumu için 2,4-D+BAP'ın 11 farklı kombinasyonunu kullanılmıştır. Denemede en yüksek somatik embriyo oluşturan eksplant oranı (%64,5) 1 mg/l 2,4-D+1 mg/l BAP dozundan elde edilmiştir. Araştırmacılar ayrıca, NAA+BAP'ın on farklı kombinasyonunu kullanarak bunların somatik embriyogenesis ve organogenesis üzerine olan etkisini incelemişler ve en iyi sonucu [somatik embriyo oluşum oranı %87,9 ve bunlardan oluşan bitki oranını %79,6] 0,5 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP dozundan elde etmişlerdir.

Yang and Nakashima (1992), korungada (*Onobrychis viciaefolia*) kök, hipokotil ve kotiledon eksplantlarını kullanarak 2,4-D ve BAP'ın kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine olan etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; 2,4-D'nin etkisinin daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Denemede kallus oluşumu üzerine 2,4-D konsantrasyonlarının etkisinin önemli derecede farklılık göstermediği sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar, düşük konsantrasyonlarda (1µM) 2,4-D ve BAP içeren ortamların kallus oluşumu üzerine etkisinin daha yüksek olduğunu ve bu kallusların yüksek oranda rejenere olduklarını bildirmişlerdir.

Korungada yapılan bir çalışmada eksplant olarak hipokotil, epikotil, kotiledon, yaprak ve kök parçaları kullanılmıştır. Denemede en fazla sürgün rejenerasyonu BAP ve NAA içeren ortamdan, hipokotil eksplantından elde edilmiştir (Akçura vd 1999).

Gu (1987), korungada (*Onobrychis vicifolia* Scop.) kök ve gövde eksplantlarını kullanarak yaptığı bir araştırmada 1 mg/l 2,4-D + 1 mg/l BA ve yalnız 1 mg/l BA içeren LS ortamını ve hormonsuz Vacin ve Went ortamlarını kullanmıştır. Araştırmacı, somatik embriyo oluşumunu 1 mg/l BA içeren LS ortamında gözlemlemiştir.

Kullanılan eksplantların ve ortamların kallus oluşumu ve rejenerasyon üzerine etkisini belirlemek amacıyla Çeliktaş *et al.* (2006) tarafından korungada bir çalışma yapılmıştır. Araştırmacılar eksplant olarak internot segmentlerini, yaprakları, apikal-aksillari meristemleri, yaprak saplarını ve olgunlaşmamış kümelerini, ortam olarak ise B5 ortamı ile 5,4 µM veya 10,7 µM M NAA ve 0, 0,9, 1,4, ve 2,3 µM KİN ve 0, 0,9, 1,3 ve 2,2 µM BAP'ı kullanmışlardır. Denemede en fazla sürgün rejenerasyonu 10,7 µM NAA ve 2,3 µM KİN içeren B5 ortamından ve apikal-aksillari meristemlerden elde edilmiştir.

Korunga (*Onobrychis vicifolia* Scop.) gen aktarımına uygun adventif sürgünleri temin etmek amacıyla Özcan *et al.* (1996a) tarafından yapılan bir denemede, *in vitro* şartlarda gelişen fidelerden elde edilen kotiledon ve hipokotil örnekleri değişik besi ortamlarında kültüre alınmıştır. Araştırmacılar, eksplantların kallus oluşumu üzerine önemli bir etkisinin olmadığını, ancak hipokotil eksplantının kotiledondan daha yüksek

rejenerasyon kapasitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. En yüksek sürgün oluşumu 0,5 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA içeren MS ortamındaki hipokotil eksplantından elde edilmiştir. Rejenere olan sürgünler 1 mg/l IBA veya 1 mg/l NAA içeren ortama aktarılarak köklendirilmiştir. Yine Özcan *et al.* (1996b) tarafından korungada (*Onobrychis viciifolia*) yapılan başka bir çalışmada, olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenli eksplantları değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Araştırmacılar, genel olarak, olgunlaşmamış embriyo eksenlerinin sürgün oluşturma kapasitesinin olgunlaşmamış kotiledonlardan daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. En yüksek oranda sürgün oluşumu, 0,5 mg/l BAP ve 2 mg/l NAA içeren MSO ortamında kültüre alınan örneklerden elde edilmiştir ve gelişen sürgünler 1 mg/l IBA ve 1 mg/l NAA içeren MS ortamlarında köklendirilmiştir.

Korunga kotiledon nod eksplantları kullanılarak yapılan bir çalışmada, bitki büyüme hormonlarının (NAA ve BAP) farklı konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonu üzerine olan etkileri araştırılmıştır. NAA ve BAP'a ait 6 farklı kombinasyondan (0,5 BAP + 0.00 NAA, 0,5 BAP + 0.01 NAA, 0,5 BAP + 0.02 NAA, 1,0 BAP + 0.00 NAA, 1,0 BAP + 0.01 NAA ve 1,0 BAP + 0.02 NAA) oluşan ortamların tamamından sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. Eksplant başına sürgün sayısı en fazla (16,55 adet) 0,5 BAP + 0.00 NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Sağlam 2010).

Korungada köklendirme amacıyla farklı besi ortamlarında değişik oksin konsantrasyonlarının denendiği bir çalışmada en fazla köklenme 1,5 mg/l IBA ve %3 sukroz içeren MS ortamından elde edilmiştir. Sağlıklı köklenen sürgünler 2 farklı torf ve Hindistan cevizi lifinden oluşan 3 değişik saksı ortamında denemeye alınmış ve en fazla canlı bitki oranı (%78,33) kuru madde oranı 120 g/l olan torftan elde edilmiştir (Değirmenci 2004).

Bitki hormonlarından TDZ, BAP ve NAA'nın korunganın hipokotil ve kotiledon eksplantlarında adventif sürgün rejenerasyonuna etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, en fazla sürgün oluşumu 0,5, 1,0 mg/l TDZ veya 0,5, 1,0 mg/l TDZ + 0,5 mg/l NAA içeren ortamlarından elde edilmiştir (Uzun 2012).

Korungada, *in vitro* şartlarda elde edilen fidelerden alınan kotiledon, hipokotil ve kök eksplantları farklı dozlarda BAP ve NAA içeren MS ortamında kültüre alınmışlardır. Denemede, sürgün oluşumu bakımından en iyi ortamın 1µM NAA ve 10 µM BAP kombinasyonu olduğu, kallus oluşumu bakımından eksplantlar arasında herhangi bir farklılık olmadığı, sürgün oluşumu yönünden ise kök ve hipokotil eksplantlarının kotiledonlara göre daha iyi sonuç verdiği ve ayrıca BAP ve NAA'nın bitki rejenerasyonunda etkili olduğu belirlenmiştir (Hiroshi and Zhumeng 1993).

Korungada NAA ve BA'nın kallus oluşumu ve somatik embriyogenesis üzerine etkisini belirlemek amacıyla Ablikim and ZhuoMeng (2000), tarafından yapılan bir denemede farklı kombinasyonlardan oluşan 16 farklı ortam denenmiştir. En yüksek kallus oluşum oranı hipokotil eksplantından ve LS + 0,2 mg/l NAA + 2 mg/l BA içeren ortamdan elde edilmiştir. Somatik embriyogenesis için NAA + BA içeren en uygun ortamın, 0,2-2 mg/l'lik dozda BA içeren ortam olduğu ve NAA'nın somatik embriyo oluşumu üzerine çok az etki ettiği sonucuna varılmıştır.

Barna and Wakhlu (1994), olgunlaşmamış nohut (*Cicer arietinum*) yapraklarını kullanarak yaptıkları çalışmada, yapraklardan oluşan kalluslardan organogenesis yoluyla adventif sürgünleri rejenere etmişlerdir. En iyi kallus oluşumunun, 10 µM NAA ve 5 µM BAP içeren besi ortamından elde edildiği kaydedilmiştir. Araştırmacılar gövde dokularının en alt kısımlarından alınan eksplantlar için en iyi sürgün rejenerasyonu ortamının ise 10 µM BAP ve 0,1 µM IBA içeren MSO besi ortamı olduğunu ve en iyi kök oluşumunun ise 1µM IBA içeren ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Khawar and Özcan (2002), MS besi ortamında yetiştirilen Alidayı mercimek çeşidine ait 10 günlük sürgünleri keserek, köklendirme için 0,25, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/l IBA içeren MSO besin ortamına aktarmışlardır. Dört hafta sonra en yüksek köklenme oranı (%25), sürgün başına ortalama kök sayısı (7,87 adet) ve ortalama kök uzunluğu (7,18 cm) 0,25 mg/l IBA içeren MSO besi ortamından elde edilmiştir. Buna karşın, diğer IBA uygulamalarında kök oluşumu uyarılamamıştır.

Anwar *et al.* (2011), 3 farklı bakla (*Vicia faba* L.) genotipine ait tek kotiledon eksplantlarını kullanarak yaptıkları çalışmada rejenerasyon için en uygun ortamın 6 μ M TDZ, 10 μ M 2-İP ve 4 μ M KİN içeren MS ortamı olduğunu ve bu ortamın tomurcuk/sürgün oranını artırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar 5 μ M IBA'nın köklendirme için uygun olduğunu belirlemişlerdir.

Kiran *et al.* (2005), 2 farklı nohut (*Cicer arietinum* L.) genotipine ait kotiledon eksplantlarını kullanarak yaptıkları çalışmada 2,4-D, 2,4,5-T, NAA, pikloram ve dikamba'nın farklı dozlarının (1,0, 2,0, 3,0, 4,0 ve 5,0 mg/l) somatik embriyo oluşumu üzerine olan etkisini incelemişler ve bu ortamların hepsinde embriyo oluştuğunu gözlemlemişlerdir. En fazla somatik embriyo oluşumu (eksplant başına 30 adet) pikloramın 3 mg/l dozundan elde edilmiştir. Oksin tipinin, oksin konsantrasyonunun ve genotipin somatik embriyo oluşumunu etkilediği görülmüştür. Ayrıca araştırmacılar bu hormonlardan ve farklı dozlardan en uygun olanlarını tespit ettikten sonra farklı bir çalışma olarak bu dozları BAP (0,5 ve 1,0 mg/l), KİN (1 mg/l KİN) ve her ikisinin kombinasyonu (0,5 mg/l BAP ve 0,5 mg/l KİN) ile birlikte kültüre alarak 12 farklı (4 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP, 4 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l BAP, 4 mg/l 2,4-D + 0,5 mg/l BAP + 0,5 KİN, 4 mg/l 2,4-D + 1,0 mg/l KİN, 3 mg/l 2,4,5-T + 0,5 mg/l BAP, 3 mg/l 2,4,5-T + 1,0 mg/l BAP, 3 mg/l 2,4,5-T + 0,5 mg/l BAP + 0,5 KİN, 3 mg/l 2,4,5-T + 1,0 mg/l KİN, 4,5 NAA + 0,5 mg/l BAP, 4,5 NAA + 1,0 mg/l BAP, 4,5 NAA + 0,5 mg/l BAP + 0,5 KİN, 4,5 NAA + 1,0 mg/l KİN, 3,0 pik + 0,5 mg/l BAP, 3,0 pik + 1,0 mg/l BAP, 3,0 pik + 0,5 mg/l BAP + 0,5 KİN, 3,0 pik + 1,0 mg/l KİN) oksin – sitokinin kombinasyonunun somatik embriyo oluşumu üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Denemede eksplant başına en yüksek somatik embriyo oluşum oranları BAP'ın 0,5 mg/l dozu ile 2,4-D, 2,4,5-T, NAA ve Pik kombinasyonlarından (sırasıyla, 29,4, 24, 25,3 ve 48,3 adet) elde edilmiştir.

In vitro ortamda rejenerasyon kabiliyetinin türden türe, çeşitten çeşide ve bitkiden bitkiye göre değişiklik gösterdiği bilinmektedir (Shah *et al.* 2003). Örneğin, yonca, baklagiller içerisinde *in vitro* rejenerasyon kabiliyeti nedeni ile doku kültürü ve genetik mühendisliği çalışmalarında model bitki olarak kullanılan bir bitki olmasına karşın,

rejenerasyon kabiliyetinin genotiplere bağılı olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir (Erişen 2005).

Yoncanın Verco çeşidine ait 5 farklı eksplant (hipokotil, kotiledon, gövde, yaprak ve yaprak sapı) kullanarak Erişen (2005), tarafından yapılan bir çalışmada, iki farklı protokol uygulanmıştır. Araştırmacı kullanılan eksplant kaynağı ile uygulanan protokoller arasında önemli farklılığın olduğunu ortaya koymuştur. I. protokolde eksplantlar ilk olarak 1 mg/l adenin, 1 mg/l 2,4-D, 0,2 mg/l KİN içeren B5h ortamına alınmış ve bu aşamada gelişen kalluslar 3 hafta sonra 11 mg/l 2,4-D ve 2 mg/l KİN içeren SH ortamına, daha sonra ise Boi2y (Blaydes + 100 mg/l myoinositol + 2 gr/l maya ekstraktı) besi ortamına alınmıştır. Bu denemede, eksplant başına en fazla somatik embriyo 78 adet ile hipokotil eksplantından elde edilmiştir. II. protokolde ise ilk olarak 4 mg/l 2,4-D içeren B5h besi ortamında kültüre alınan eksplantlar 8 hafta sonra hormonsuz B5h besi ortamına aktarılmıştır. Bu uygulamada ise eksplant başına en fazla somatik embriyo sayısı 94 adet yaprak eksplantından elde edilmiştir.

Shah *et al.* (2003), *Medicago sativa*'ya ait dört farklı (Dupuits, Spreado-2, Roamer ve Rangeland) yonca çeşidini ve *Medicago media*'ya ait Rambler çeşidini kullanarak bu çeşitlerin rejenerasyon etkinliğini belirlemek amacı ile yaptıkları çalışmada, Rambler çeşidinin, çalışmada kullanılan çeşitler içerisinde en yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir.

Bulgaristan kökenli 5 farklı yonca genotipine ait tohumlar kullanılarak yapılan bir çalışmada eksplant olarak yaprak ve yaprak sapları kullanılmıştır. Farklı ortam ve bitki büyüme düzenleyicilerinin denendiği bu çalışmada çeşitlerin rejenerasyon kabiliyetlerinin birbirinden farklı olduğu sonucuna varılmıştır. Farklı besi ortamı ve bitki büyüme düzenleyicilerinin denendiği bu çalışmada Amonyum ve sülfür iyonu, 3 g/l prolin, 1 g/l kazein hidrolizat, 0,5 mg/l BAP+250 mg/l kazein hidrolizat içeren MS ortamının gelişim için uygun ortam olduğu sonucuna varılmıştır (Barbulova *et al.* 2002).

Gallego *et al.* (2001) yoncada (*Medicago arborea* L.) kotiledon, hipokotil, petiol ve yaprak eksplantlarını kullanarak bir araştırma yapmışlardır. Çalışmanın ilk aşamasında eksplantları 9 μ M 2,4-D ve 9 μ M KİN içeren ortama, ikinci aşamasında ise 2,25 μ M 2,4-D içeren MS ortamına aktarmışlardır. Araştırmacılar ikinci aşamada oksin dozunun azaltılmasının ve sitokinin kullanılmamasının somatik embriyo oluşumunu artırdığı sonucuna varmışlar ve ayrıca en iyi eksplantların kotiledon ve petiol olduğunu belirlemişlerdir.

Medicago media ve *Medicago sativa*'ya ait on farklı çeşit ve hatlardan alınan kök ve hipokotil eksplantlarının kullanıldığı bir denemede, farklı protokollerin eksplantların embriyo üretme ve bitki oluşturma kabiliyetleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmadan en yüksek oranda embriyogenik kallus oluşumu, yüksek 2,4-D ve düşük sitokinin içeren protokolden elde edilmiştir (Nagarajan *et al.* 1986).

Çöçü vd (2003), adventif sürgünleri rejenere edebilmek için 8 ayrı fiğ çeşidinde olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenlerini, değişik oranlarda büyüme düzenleyiciler içeren MS besi ortamında kültüre almışlardır. Olgunlaşmamış embriyo eksenlerinden en yüksek sürgün rejenerasyonu (%95) Kubilay çeşidinden 4 mg/l BAP ve 0,25 mg/l NAA içeren besi ortamından; eksplant başına en fazla sürgün sayısı (9,47 adet) ise Sarıelçi çeşidinden 2 mg/l BAP ve 0,25 mg/l NAA içeren besi ortamından elde edilmiştir. Olgunlaşmamış kotiledonlardan ise herhangi bir sürgün rejenerasyonu gerçekleşmemiştir. Gelişen sürgünler daha sonra 2,5 mg/l IBA içeren MS besi ortamında köklendirilmeye alınmıştır.

Gazal boynuzunda (*Lotus corniculatus* L.) kök eksplantlarının kullanıldığı bir çalışmada, BAP içeren rejenerasyon ortamında (MS) kültüre alınan eksplantların hem kesim bölgelerinden hem de dokuların yaralanma bölgelerinden kallusların oluştuğu ve bu kalluslardan embriyoların geliştiği gözlenmiştir. Ayrıca, ortamda kullanılan 0,01 ve 0,05 mg/l'lik BAP konsantrasyonlarının embriyogenik kallus oluşumunda etkili olmadığı, 0,5 mg/lik BAP konsantrasyonunun embriyogenik kallus oluşumunu artırdığı sonucuna varılmıştır (Akashi *et al.* 1998).

Fiğde (*Vicia pannonica* Crantz.) olgunlaşmamış kotiledon ve embriyonik eksenlerin kullanıldığı bir denemede, test edilen ortamların çoğunda, embriyonik eksenlerin kotiledonlardan daha yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşmamış kotiledonlardan, 20 µM BA ve 2.5 µM NAA içeren ortamda yüksek sıklıkta sürgün rejenerasyonu elde edilirken, embriyogenik eksenlerden ise en iyi sonuç 5 µM BA + 5 µM NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Sancak *et al.* 2000).

Fiğde (*Vicia sativa* L.) olgunlaşmamış tohumlardan alınan kotiledonlar 0,05, 0,10, 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/l TDZ + 0,10 mg/l IBA içeren ortamda kültüre alınmıştır. Denemede çalışılan kombinasyonlardan sadece 0,80 mg/l TDZ + 0,10 mg/l IBA içeren ortamdan kallus oluşumu (%33,33) gerçekleşmiştir. Rejenerasyon (%58,33) ve eksplant başına ortalama sürgün sayısı ise en fazla 19,33 adet ile 0,20 mg/l TDZ + 0,10 mg/l IBA içeren ortamdan elde edilmiştir. Ayrıca, TDZ ve IBA'nın eşit oranlarda (0,10 mg/l TDZ + 0,10 mg/l IBA) kullanımının sürgün uzunluğu üzerine olumlu etki ettiği sonucuna varılmıştır (Aasim 2012).

Mürdümükte (*Lathyrus sativus* L.) TDZ'nin değişik konsantrasyonlarının (0,05, 0,10 ve 0,20 mg/l) kotiledon nodu eksplantında adventif sürgün rejenerasyonuna etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise TDZ'nin yüksek konsantrasyonları (0,10 ve 0,20 mg/l) kullanıldığında daha fazla sürgün rejenere edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı en yüksek (%98,33) 0,2 mg/l TDZ uygulamasından elde edilmiştir (Demirbağ vd 2008).

Burçak bitkisinde yapılan bir çalışmada, tohumlar MS ortamında çimlendirildikten sonra gelişen bitkilerden kotiledon boğum eksplantları izole edilerek değişik oranlarda TDZ veya BAP ve NAA içeren MS besi ortamında kültüre alınmışlardır. Eksplant başına en fazla sürgün sayısı 15,7 adet ile 7 numaralı hattan 4 mg/l BAP ve 0,25 mg/l NAA içeren besi ortamından elde edilmiştir. Gelişen sürgünler daha sonra değişik oranlarda IBA içeren MS ortamında köklendirilmeye alınmışlar ve 7 hafta sonra en yüksek köklenme oranı (%100) ve sürgün başına ortalama kök sayısı (6 adet) 2 mg/l IBA içeren ortamda gerçekleşmiştir. Bununla birlikte, adventif sürgün rejenerasyonunu en fazla etkileyen faktörlerin başında, ortamda bulunan bitki büyüme düzenleyicilerinin

olduğu ve besi ortamındaki oksin-sitokinin dengesinin iyi ayarlanması sonucunda yüksek oranda adventif sürgün rejenerasyonunun elde edilebileceği bildirilmiştir (Erdoğan vd 2004).

Bazı burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) hatlarında olgunlaşmamış kotiledon ve olgunlaşmamış embriyo eksenlerinin kullanıldığı çalışmada, TDZ'nin değişik kombinasyonlarının kullanılan hatlarda (6 hat) adventif sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda farklı TDZ konsantrasyonlarının ve eksplantların hatlara göre sürgün gelişimine etkisinde farklılıklar gözlenmiştir. Eksplant olarak embriyoların kotiledonlara göre daha yüksek oranda (%90) sürgün oluşturduğu görülmüştür (Erdoğan vd 2005).

Collado *et al.* (2008), fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L. cv. CIAP 7247) farklı eksplantları (kotiledon, bir embriyonik eksen segmentli kotiledon ve kotiledonal nodlu embriyogenik eksen segmenti) ve BAP'ın üç farklı dozunu (0,5, 1,0 ve 2,0 mg/l) kullanmışlardır. Araştırmacılar, en fazla kallus oluşum oranının (%86) kotiledon eksplantından elde edildiğini bildirmişlerdir. Kotiledonal nodlu embriyonik eksen segmentinden %57 ve embriyonik eksen segmentli kotiledondan ise %38 oranında kallus elde edilmiştir. Ayrıca, sürgün oluşumu ortamına 2,0 mg/l BAP ilavesinin kallustan sürgün oluşumunu artırdığı ve eksplant tipinin kallustan rejenerasyon üzerine önemli derecede etki ettiği sonucuna varılmıştır.

Beş farklı fasulye (*Phaseolus vulgaris*) genotipi kullanılarak BAP ve adenin sülfatın (AS) bitki rejenerasyonu üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada embriyonik eksenler *in vitro* şartlarda izole edilerek BAP ve AS içeren 9 farklı kombinasyondan (0 mg/l BAP +0 mg/l AS, 0 mg/l BAP + 20 mg/l AS, 0 mg/l BAP + 40 mg/l AS, 5 mg/l BAP + 0 mg/l AS, 5 mg/l BAP + 20 mg/l AS, 5 mg/l BAP + 40 mg/l AS, 10 mg/l BAP + 0 mg/l AS, 10 mg/l BAP + 20 mg/l AS, 10 mg/l BAP + 40 mg/l AS) oluşan ortamlara aktarılmıştır. Meydana gelen sürgün sayısının çeşitlere göre değişiklik gösterdiği ve en yüksek ortalama sürgün oluşumunun 5 mg/l BAP + 20 mg/l

AS ve 5 mg/l BAP + 40 mg/l AS içeren ortamlarda gerçekleştiği kaydedilmiştir (Gatica Arias *et al.* 2010).

Nohutta (*Cicer arietinum* L. cv Gökçe), olgun embriyo ve embriyonik eksenleri eksplant olarak kullanan Aasim *et al.* (2011), olgun embriyoları 10 mg/l BA ile ön muameleye tabi tuttuktan sonra *in vitro* şartlarda kültüre almışlardır. Araştırmacılar, 7 gün sonra embriyoları ve embriyonik eksenleri alarak 0,25, 0,50, 1,00 ve 2,00 mg/l BA+0 mg/l NAA ve 0,25, 0,50, 1,00 ve 2,00 mg/l BA + 0,25 mg/l NAA içeren ortama aktarmışlardır. Bu ortamların tamamında sürgün rejenerasyonunun gerçekleştiği bildirilmiştir. Eksplant başına en fazla sürgün sayısı olgun embriyolar eksplant olarak kullanıldığında 2,0 mg/l BA + 0,25 mg/l NAA içeren ortamda (14,75 adet); embriyonik eksen eksplant olarak kullanıldığında ise 2,0 mg/l BA içeren ortamdan (16,83) elde edilmiştir. Denemede, kültür ortamında NAA ilavesinin her iki eksplant için de ortalama sürgün uzunluğunun azalmasına neden olduğu sonucuna varılmıştır.

Yoncada, Elçi ve Mesa-Sirsa çeşitlerinin kullanıldığı bir çalışmada, çimlendirme ile elde edilen fidelerden alınan sapçık eksplantlarından, *in vitro* koşullarda sürgün oluşumu sağlanmıştır. Sapçıklar farklı konsantrasyonlarda BAP ve NAA içeren MSO ortamında kültüre alınmıştır. En fazla sürgün sayısı Elçi çeşidinde 2 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA; Mesa-Sirsa çeşidinde ise 1 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA içeren kültür ortamlarından elde edilmiştir. Kültür ortamına ilave edilen IBA oranının artırılması ile köklenme oranının %80-90'lara ulaştığı görülmüştür (Özgen *et al.* 1997).

İki farklı börülce (*Vigna aconitifolia* (Jacq.) Marechal) genotipinin kullanıldığı bir çalışmada; farklı ortam (MS, MMS ve White's), farklı oksin (2,4-D ve NAA) ve sitokinin (BA ve KİN) tipleri ve kombinasyonlarının kallus oluşumu ve çoğaltım üzerine etkisi araştırılmıştır. *In vitro* koşullarda yetiştirilen fidelerden elde edilen epikotil, kotiledonal nod, kotiledon, hipokotil ve yaprakçıklar eksplant olarak kullanılmıştır. Denemede kullanılan tüm eksplantlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Araştırmada 2,4-D'ye ait 4 farklı doz (0,5, 1,0, 2,0 ve 5,0 mg/l), NAA'ya ait 2 farklı doz (1,0 ve 2,0), IAA'e ait 2 farklı doz (0,5 ve 1,0) ve 2,4 ve BA'ya ait 5 farklı

kombinasyon (0,5 mg/l 2,4-D + 0,5 BA, 0,75 mg/l 2,4-D + 1,0 BA, 0,75 mg/l 2,4-D + 1,5 BA, 1,0 mg/l 2,4-D + 1,75 BA ve 2,0 mg/l 2,4-D + 2,0 BA) kullanılmıştır. En yüksek kallus oluşumu oranı (%95) 0,75 mg/l 2,4-D + 1,5 BA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Ayrıca, somatik embriyo oluşumunu teşvik etmek amacı ile kültüre alınan eksplantlar, 2,4-D ve 2,4-D + KİN içeren ortamlara aktarılmışlardır. Eksplant başına en yüksek oran 17,1 ile 0,25 mg/l 2,4-D + 0,50 KİN içeren ortamdan elde edilmiştir (Choudbary *et al.* 2009).

Canlılarda bulunan steroidler; anabolik steroidler, kortikosteroidler, fitosteroller ve cinsiyet steroidleri olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır. Cinsiyet steroidleri, cinsiyet farklılıklarına neden olan ve üremeyi gerçekleştiren cinsiyet hormonlarının bulunduğu steroidlerdir. Bunlar androjenler, östrojenler ve progestagenlerin bulunduğu memeli cinsiyet hormonlarını içermektedirler. Bu hormonlar gelişim sürecinden üreme sürecine kadar olan tüm aşamalarda ayrıca mineral ve protein metabolizmasının kontrolünde rol almaktadırlar (Berg *et al.* 2002; Janeczko and Skoczowski 2005).

Memeli steroid cinsiyet hormonları (MSSH) (progesteron, 17 β -östradiol, ve testosteron) bitkilerde doğal olarak bulunurlar. Ancak içerikleri türlere, çeşitlere, bitki organlarına ve gelişim aşamasına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Iino *et al.* 2007).

Memelilerde üreme ve gelişimin kontrol süreçleri üzerine steroid cinsiyet hormonlarının önemli rolleri bulunmaktadır. Aynı zamanda protein metabolizması ve minerallerin kontrolünden de sorumludurlar (Janeczko and Skoczowski 2005).

İlk olarak belirlendikleri 1926 yılından bugüne kadar bitkilerde memeli cinsiyet hormonlarının oluşumu ve fizyolojik aktiviteleri üzerine çok sayıda araştırma yapılmış, ancak bu hormonların metabolizmaları ve etki mekanizmaları halen tam olarak aydınlığa kavuşturulamamıştır. Generatif organlarda tespit edilmelerinden dolayı çiçeklenme ve üreme üzerine etkili oldukları düşünülmekte ve bitki büyüme düzenleyicileri olarak kabul görmemektedirler (Janeczko and Skoczowski 2005; Novak *et al.* 2008; Simersky *et al.* 2009; Erdal 2010).

20. yy başlarında yapılan *in vitro* çalışmalarda östron hormonunun, bezelye (*Pisum sativum* L.) bitkisinden izole edilen embriyonun büyümesini teşvik ettiği sonucuna varılmıştır (Kögl and Haagen-Smit 1936; Bonner and Axtman 1937). Yine bezelyede yapılan başka bir çalışmada, östronun 0,1 µg'lık dozunun (bitki başına) fidelerin gelişimini yaklaşık olarak %40 oranında artırdığı tespit edilmiştir (Kopcewicz 1969).

Memeli cinsiyet hormonlarının bitkilerde varlığı, miktarı ve fonksiyonları hakkında yapılan çalışmaların yanı sıra, bu hormonların dışarıdan uygulandıklarında bitki büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır.

Yoncada (*Medicago sativa* L.) 0,005-0,5 µg/l konsantrasyonlarında östron ve 17β-östradiol kullanılarak yapılan bir çalışmada bu hormon ve dozlarının bitki büyümesini artırdığı ve bitkilerin kök ve sürgün kuru ağırlığında artışa neden olduğu, ancak bu hormonların daha yüksek konsantrasyonlarının (50-500 µg/l) bitki gelişimini önlediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca çalışmada kullanılan hormonlardan östronun bitki gelişimi üzerine 17β-östradiolden daha güçlü bir şekilde etki ettiği ve kanalizasyon atıklarında bulunan 0,3 µg/l östrojenlerin yonca bitkisinin vejetatif büyümesini etkilediğini bildirmişlerdir (Shore *et al.* 1992).

Havuçta (*Daucus carota* L.) yapılan bir çalışmada 17β-östradiolün 3-12 mg/dm³ dozlarının doku kültüründe kallus oluşumunu ve klorofil sentezini teşvik ettiği sonucuna varılmıştır. Yüksek konsantrasyonlarda kullanıldıklarında ise (25 mg /100 ml) doku kültüründe büyümeyi engelledikleri ve toksik etki meydana getirdikleri bildirilmiştir (Gioelli 1942). Yine aynı hormon, *Polygonatum verticillatum* L.'da kallus oluşumunu teşvik etmiştir (Janeczko and Szybka 2001; Szybka-Hryniewicz and Janeczko 2004).

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fidelerinde 17β-östradiol ve progesteronun 0,25 µg'lık dozunun (bitki başına) sürgün gelişimini artırdığı, kök gelişimini ise engellediği sonucuna varılmıştır. Progesteronun 0,1 µg'lık dozunun (bitki başına) kök uzaması üzerine olumlu etki ettiği ve testosteronun 0,1 ve 0,25 µg'lık dozunun (bitki başına)

kotiledonal aksillari tomurcuk oluşumunu artırdığı gözlenmiştir (Bhattacharya and Gupta 1981).

Androstenedionların *Arabidopsis thaliana*'da kallus oluşumunu teşvik ettiği bildirilmiştir. Ayrıca, buğdayda androsteron ve androstenedionların (1 μ M) skutellumda kallus dokusunun çoğalmasını uyardığı ve olgunlaşmamış embriyoların gelişimini ve çimlenmesini artırdığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, östrojenlerin özellikle de östronun olgunlaşmamış embriyoların çimlenmesini engellediği, ancak kallus oluşumunu engellemediği görülmüştür. (Janeczko 2000; Janeczko *et al.* 2002; Janeczko *et al.* 2003; Janeczko and Skoczowski 2005). Ayrıca *Polygonatum verticillatum*'da yapılan diğer çalışmalarda ise 17 β -östradiolün kallus oluşumunu ve çoğalmasını artırdığı bildirilmiştir (Janeczko and Szybka 2001; Szybka-Hryniewicz and Janeczko 2004).

Janeczko *et al.* (2002) *in vitro* koşullarda kışlık buğdayda (*Triticum aestivum* L.) olgunlaşmamış embriyolar kullanılarak memeli cinsiyet hormonlarının (17 β - östradiol, östron, östriol (östrojenler), progesteron, androsteron, androstenedion) 0,1 ve 1 mumol x dm³ dozlarının kallus oluşumu üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, erkek cinsiyet hormonlarının (androsteron ve testosteron) çimlenme ve 1. yaprak oluşumunu güçlü bir şekilde teşvik ettiği ve kallus oluşumunun gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Kadın cinsiyet hormonlarının (östron ve progesteron) ise 1. yaprak ve kallus oluşumunu engellediği görülmüştür. Östriol ve 17 β -östradiolün ise olgunlaşmamış embriyoların çimlenmesi üzerine etki etmediği belirtilmiştir.

In vitro koşullarda kışlık buğdaya ait olgun embriyoların kullanıldığı çalışmada, progesteron ve 17 β -östradiolün bitkide başaklanma oranını artırdığı ve başaklanmayı hızlandırarak generatif gelişimi teşvik ettiği sonucuna varılmıştır (Janeczko and Filek 2002).

Yukarıda verilen literatürlerden görüldüğü gibi cinsiyet hormonlarının doku kültüründe kullanımı ile ilgili yapılan araştırma sayısı çok az olduğundan büyüme ve gelişme üzerine olan etkisine ait literatürler aşağıda verilmiştir:

Janeczko and Skoczowski (2005) memeli cinsiyet hormonlarının oluşumu ve onların bitkilerdeki fizyolojik rollerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, bu hormonlardan 17 β -östradiol, androsterone, testosteron ve progesteronun araştırılan bitkilerin %60-80'inde var olduklarını, ayrıca bu hormonların biyosentezi ve çevriminden sorumlu enzimlerin bitkilerde mevcut olduğunu belirlemişlerdir. Cinsiyet hormonları ile bitkilerin muamelesinin hücre bölünmesi kök ve sürgün gelişimi, embriyo gelişimi, çiçeklenme, polen tüpü gelişimi ve kallusların üremesini etkilediğini vurgulamışlardır.

Yapılan çalışmalar sonucunda çoğu bitkide doğal olarak memeli cinsiyet hormonlarının bulunduğu ve bu hormonların biyosentezi ve çevriminden sorumlu enzimlerin bitkilerde mevcut olduğu belirlenmiştir. Bazı memeli cinsiyet hormonlarının bitkilerde hücre seviyesinde, uzama ve bölünmeyi uyardığı bildirilmiştir (Janeczko and Skoczowski 2005).

Simons and Grinwich (1989), çalışılan bitkilerin yaklaşık %80'inde androsteron ve progesteron, %70'inde testosteron ve dihidrotestosteron ve %50'sinde ise östrojenlerin bulunduğunu bildirmişlerdir.

Memeli cinsiyet hormonlarının, çeşitli bitkilerde bitki gelişimi ve kallus oluşumu, bazı morfolojik özellikleri etkiledikleri, klorofil, karotenoid, şeker ve protein içeriğinde artışa sebep oldukları, çiçeklenmeyi teşvik ettikleri, bitkilerde cinsiyetin ortaya çıkmasında etkili oldukları; tozlaşma, dölleme, polen çimlenmesi ve polen tüpü gelişimi üzerine etki ettikleri kaydedilmiştir (Janeczko and Skoczowski 2005).

Bhardwaj and Thukral (2000), mısırdaki 10^{-6} M ve 10^{-8} M konsantrasyonlarında kullanılan steroidlerin (östron, testosteron ve pregnenolon asetat) bitki büyümesini artırdığı ve çiçeklenmeyi hızlandırdığı sonucuna varılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda buğdaygiller ve baklagiller grubuna ait birçok yem bitkisinin östrojenik aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Buğdaygiller içerisinde çayırotu ve mısır silajı, baklagillerden ise yonca ve çeşitli üçgül türleri (basta yeraltı, ak ve çayır üçgülü) en fazla östrojenik aktivite gösteren bitkilerdir. Korungada ise östrojenli bileşiklerin bulunmadığı saptanmıştır (Schultz 1971; Akyıldız 1986).

Şahin vd (2011), bazı memeli cinsiyet hormonlarının (17β -östradiol ve östron) yoncaya (*Medicago sativa* L.) ait iki farklı genotip kullanarak, bazı morfolojik karakterler üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada memeli cinsiyet hormonlarının dört farklı konsantrasyonu (0, 10^{-4} mM, 10^{-5} mM ve 10^{-6} mM) kullanılmıştır. Denemede ele alınan hormon tipi ve dozlarının incelenen parametreler (bitki boyu, sap kalınlığı, boğum sayısı, sap sayısı) üzerine etkisinin genotiplere göre değişiklik gösterdiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, memeli hormonları ve farklı dozlarının incelenen morfolojik karakterlerde önemli derecede değişiklikler meydana getirdiği bildirilmiştir.

Janeczko (2000) tarafından buğdayda yapılan bir çalışmada östrojenlerin ve progesteronun ($1 \mu\text{M}$), *in vitro* koşullarda yetiştirilen fidelerin kök ve yaprak gelişimini artırdığı belirlenmiştir.

Janeczko *et al.* (2003) *in vitro* koşullarda çiçeklenme için ışığa ihtiyaç duyan *Arabidopsis thaliana* bitkisinde ve Janeczko and Filek (2002) çiçeklenme için soğuğa ihtiyaç duyan *Triticum aestivum* bitkisinde östrojenlerin çiçeklenmeyi uyardığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda progesteron, androsteron ve androsteneidonun da bu iki bitkinin çiçeklenmesinde aktif rol oynadıklarını belirtmişlerdir. Ayrıca Czygan (1962), *Callistephus sinensis* L.'te 17β -östradiolün generatif gelişimi teşvik ettiğini ve *Lemna minor* L.'de de çiçeklenmeyi teşvik ettiğini, benzer şekilde Kopcewicz (1970),

Cichorium intybus L.'da östron ve 17 β -östradiolün çiçeklenmeyi teşvik ettiğini, Kopcewicz and Porazinski (1974), uzun gün bitkisi olan *Salvia splendens*'in çiçeklenmesinin kısa gün şartlarında 15 gün süre ile 5-15 μ g (bitki başına) 17 β -östradiol muamelesi ile uyarıldığını ancak testosteronun bitkinin çiçeklenmesi üzerine uyarıcı etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Buna ilaveten Biswas *et al.* (1967) *Chrysanthemum*'un çiçeklenmesinin androsterone ve androstane uygulamasıyla uyarılmadığını belirtmişlerdir. *In vitro* kültüründe *Arabidopsis thaliana*'nın kullanıldığı diğer bir çalışmada ise androsterone ve androstenedionların 0,1 μ M konsantrasyonunun %90'nın üzerinde generatif olgunluğa geçişi teşvik ettiği sonucuna varılmıştır (Janeczko *et al.* 2003).

Erdal *et al.* (2010), memeli cinsiyet hormonlarından progesteron ve 17 β -östradiolün farklı konsantrasyonlarının (10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-9} , 10^{-12} ve 10^{-15} M) mısırdaki (*Zea mays* L.) çimlenme oranı, kök, sürgün uzunluğu ve enzim aktivitesi üzerine olan etkisini belirlemek amacı ile yaptıkları çalışmada, test edilen tüm konsantrasyonların kök uzunluğunu, koleoptil uzunluğunu ve çimlenme oranını artırdığı sonucuna varılmıştır.

Dogra and Thukral (1991), buğday tohumlarını, farklı cinsiyet hormonlarını ve bitki hormonlarını kullanarak 10^{-4} ve 10^{-8} konsantrasyonlarında hazırlamış oldukları (östron, 17 β -östradiol, androstenedion, testosteron, 17 hidroksi progesteron, pregnenolon asetat, hidrokortizon, hidrokortizon asetat, IAA, GA₃ ve KİN) solüsyonlarda çimlendirmeye almışlar ve bu steroidlerin 10^{-6} ve 10^{-8} M konsantrasyonlarında tohum çimlenmesini, önemli derecede artırdığı, kök ve gövde uzunluklarının tüm solüsyonların 10^{-6} M konsantrasyonlarında maksimuma ulaştığı ve çimlenme oranının IAA uygulanan tohumlarda en düşük seviyede olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, steroidlerin bitki hormonlarından daha etkili olduklarını bildirmişlerdir. Yine, Dogra and Kaur (1994), tarafından buğdayda yapılan başka bir çalışmada cinsiyet hormonlarından östron, progesteron ve 17- α -hidroksi progesteronun kök ve gövde uzunluğu, kök ve gövde kuru ağırlıkları, kök sayısı ve çimlenme oranı gibi morfolojik parametreleri uyardıkları, ayrıca enzim aktivitesini de artırdıkları tespit edilmiştir. Araştırmacılar, çalışmada

kullanılan memeli cinsiyet hormonlarının düşük konsantrasyonlarının (10^{-6} ve 10^{-8} M) yüksek konsantrasyonlara oranla daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Soğanın (*Allium cepa*) kök hücrelerinde mitoz bölünme üzerine östradiol ve 17- α -hidroksi progesteronun etkilerinin araştırıldığı çalışmada, bu hormonların 10^{-4} M'lık konsantrasyonunun mitotik aktiviteyi artırarak hücre sayısında önemli artışlara neden oldukları belirlenmiştir (Bedi *et al.* 1992).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Araştırmamızda, Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen Lütfibey isimli korunga (*Onobrychis sativa* L.) çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır.

3.1.2. Bitkilerden eksplantların alımı

Eksplant olarak yaprak, kök ve hipokotil kullanılmıştır. Yaprak, sap kısmından ayrılarak yara yüzeyini artırmak maksadıyla uç kısımlarından çentik açılmıştır. Köklerden eksplant alımında kökün en uç noktası kesilip atıldıktan sonra kök kısımları 0,5-1 cm uzunluğunda kesilerek kullanılmıştır. Yaklaşık 0,5-1 cm uzunluğundaki hipokotil kısmı kesilerek kullanılmıştır.

3.1.3. Kallus kültür ortamında kullanılan kimyasallar

3.1.3.a. Temel besi ortamı

Kallus oluşumu ve somatik embriyogenesis çalışmalarında Murashige ve Skoog (1962) tuzları [Sigma M5524] ve vitaminleri [Sigma M3900] kullanılmıştır. MS ortamının içerdiği kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları

KİMYASAL BİLEŞİMİ	Miktarı (mg/l)
İnorganikler	
Makro elementler	
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ .2H ₂ O	332,2
MgSO ₄ .7 H ₂ O	180,7
KH ₂ PO ₄	170
Mikro elementler	
Na ₂ EDTA	37,26
Fe ₂ (SO ₄).7H ₂ O	27,8
MnSO ₄ .H ₂ O	16,9
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Organikler	
Glisin	2
Myo-inositol	100
Nikotonik asit	0,5
Pridoksin-HCl	0,5
Tiamin-HCl	0,1

3.1.3.b. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların stok solüsyonlarının hazırlanışı

MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak çalışmada kullanılan kimyasallar ve miktarları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan hormonlar ve dozları Çizelge 3.3’de, oksin stok solüsyonlarının hazırlanışı çizelge 3.4’de, sitokinin stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.5’de ve memeli cinsiyet hormonlarının stok solüsyonlarının hazırlanışı Çizelge 3.6’da verilmiştir.

Çizelge 3.2. MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

Kullanılan kimyasallar	Miktarı
Sukroz	20 g/l
MES	1,95 g/l
Askorbik asit	50 mg/l
Agar	7 g/l

Çizelge 3.3. Kullanılan hormonlar ve dozları

Kullanılan Hormonlar	Dozları
17 β -östradiol	10 ⁻⁴ mM, 10 ⁻⁵ mM ve 10 ⁻⁶ mM
Progesteron,	10 ⁻⁴ mM, 10 ⁻⁵ mM ve 10 ⁻⁶ mM
Testosteron	10 ⁻⁴ mM, 10 ⁻⁵ mM ve 10 ⁻⁶ mM
Östron	10 ⁻⁴ mM, 10 ⁻⁵ mM ve 10 ⁻⁶ mM
NAA	0, 0,2 ve 0,4 mg/l
BAP	0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/l
TDZ	0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/l
KİN	0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/l

Çizelge 3.4. Oksin stok solüsyonunun hazırlanışı

OksinTipi	Çözücü	Seyreltici	Saklama koşulu	Çalışma konsantrasyonu
NAA	1N NaOH	Su	+4°C	1 mg/ml

Çizelge 3.5. Sitokinin stok solüsyonlarının hazırlanışı

Sitokinin Tipi	Çözücü	Seyreltici	Saklama koşulu	Çalışma konsantrasyonu
BAP	1N NaOH	Su	+4°C	1 mg/ml
KİN	1N NaOH	Su	0°C	1 mg/ml
TDZ	Dimetil Sülfoksit	Su	+4°C	1 mg/ml

Çizelge 3.6. Memeli cinsiyet hormonlarının stok solüsyonlarının hazırlanışı

Hormonlar	Çözücü	Seyreltici	Saklama koşulu	Çalışma konsantrasyonu
17 β -östradiol	Etil alkol	-	+25°C / Karanlık	0,05, 0,5 ve 5mM
Progesteron	Kloroform	-	+4°C / Karanlık	0,05, 0,5 ve 5mM
Testosteron	Etil alkol	Su	+4°C / Karanlık	0,05, 0,5 ve 5mM
Östron	Dioxan	-	+25°C / Karanlık	0,05, 0,5 ve 5mM

3.1.4 Bitki rejenerasyon ortamında kullanılan kimyasallar

Bitki rejenerasyon çalışmalarında Murashige ve Skoog (1962) tuzları [Sigma M5524] ve modifiye MS vitaminleri kullanılmıştır. Ayrıca memeli cinsiyet hormonlarının kullanıldığı birinci yöntemde hormonsuz ortam kullanılmış, bitki hormonlarının kullanıldığı ikinci yöntemde ise ortama 0,5 mg/l NAA ilave edilmiştir.

3.2. Yöntem

Bu çalışmada iki farklı deneme yapılmış ve her iki deneme iki aşamada yürütülmüştür.

I. denemenin ilk aşamasında tohumlar standart MS ortamında çimlendirilip eksplantlar temin edilmiş ve ikinci aşamada memeli cinsiyet hormonlarından 17 β -östradiol, progesteron, testosteron ve östronun 0 mM, 10⁻⁴ mM, 10⁻⁵ mM ve 10⁻⁶ mM olmak üzere dört farklı konsantrasyonu içeren besi ortamlarında kültüre alınmıştır (Çizelge 3.7). 30 gün sonra ise eksplantlar hormonsuz ortama aktarılmışlardır. Eksplantların canlı kalma durumlarına göre 30 ve 60. günlerin sonunda eksplantlar yeni ortamlara aktarılmış ve gözlemler 30, 60 ve 90. gün sonunda alınmıştır.

II. denemede ise I. denemenin ilk aşamasında olduğu gibi tohumlar standart MS ortamında çimlendirilip eksplantlar temin edilmiştir. Daha sonra elde edilen eksplantlar bir oksin (NAA) tipinin 3 farklı dozu (0, 0,2 ve 0,4 mg/l) ile üç sitokinin (BAP, TDZ ve KİN) tipinin 5 farklı dozunun (0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/l) ikili kombinasyonları şeklinde hazırlanmış olan MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Böylece oluşturulan

toplam 42 kombinasyonun herbiri ayrı bir yöntem olarak ele alınmıştır (Çizelge 3.8). Köklendirme için ise bitkiler 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamına aktarılmıştır. Eksplantların canlı kalma durumlarına göre 30 ve 60. günlerin sonunda eksplantlar yeni ortamlara (0,5 mg/l NAA) aktarılmış ve gözlemler 30, 60 ve 90. gün sonunda alınmıştır.

Besi ortamı olarak, MS tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog., 1962), karbonhidrat kaynağı olarak 20 gr/l sakkaroz, 100 mg/l askorbik asit, 7 g/l agar, 1,95 gr/l MES kullanılmıştır. Standart rejenerasyon ortamı olarak, MS tuz ve vitaminleri, karbonhidrat kaynağı olarak 20 gr/l sakkaroz, 100 mg/l askorbik asit, 7 g/l agar kullanılmıştır.

Eksplantlar $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 16 saat gün/8 saat karanlık şartlarda kültüre alınmıştır. Aydınlatma kaynağı olarak floresan lambası kullanılmış ve yoğunluğu 1500 lüks olarak ayarlanmıştır. Her petri bir tekerrür olarak kabul edilip, her petri kutusuna 16 adet eksplant bırakılmış ve çalışma tam şansa bağlı deneme planına göre 4 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Çizelge 3.7. Birinci denemede kullanılan kimyasallar ve miktarları

KİMYASALLAR	UYGULAMALAR												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
MS Tuzları¹	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l
MS Vitamin (1000x)²	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l
Sakkaroz¹	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l
17β -estradiol	0 mM	10 ⁻⁴ mM	10 ⁻⁵ mM	10 ⁻⁶ mM									
Testesteron	-				10 ⁻⁴ mM	10 ⁻⁵ mM	10 ⁻⁶ mM						
Progesteron	-							10 ⁻⁴ mM	10 ⁻⁵ mM	10 ⁻⁶ mM			
Estrogen	-										10 ⁻⁴ mM	10 ⁻⁵ mM	10 ⁻⁶ mM
MES	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l
Askorbik Asit (50 mg/l)²	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agar	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l

¹: Isı ile bozulmayan maddeler, ²: Isı ile bozulan maddeler

Çizelge 3.8. İkinci denemede kullanılan kimyasallar ve miktarları

KİMYASALLAR	YÖNTEMLER													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
MS Tuzları ¹	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l
MS Vitamin (1000x) ²	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l
Sakkaroz ¹	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l
NAA	0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l
BAP	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l	0,0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l	0,0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l
MES ¹	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l
Askorbik Asit (50 mg/l) ²	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agar ¹	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
MS Tuzları ¹	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l
MS Vitamin (1000x) ²	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l
Sakkaroz ¹	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l
NAA	0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l
TDZ	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l	0,0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l	0,0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l
MES ¹	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l
Askorbik Asit (50 mg/l) ²	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agar ¹	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l
	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
MS Tuzları ¹	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l	4,43 g/l
MS Vitamin (1000x) ²	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l	1 ml/l
Sakkaroz ¹	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l	20 g/l
NAA	0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,2 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l	0,4 mg/l
KİN	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l	0,0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l	0,0 mg/l	0,5 mg/l	1,0 mg/l	1,5 mg/l	2,0 mg/l
MES ¹	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l	1,95 g/l
Askorbik Asit (50 mg/l) ²	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agar ¹	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l	7 g/l

¹: Isı ile bozulmayan maddeler, ²: Isı ile bozulan maddeler

3.2.1. Sterilizasyon teknikleri

3.2.1.a. Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu

Çalışma kabini (steril kabin) kullanımdan önce %70'lik etil alkol ile silinmiştir. Kabin içerisine alınacak malzemeler (paketlenmiş besi ortamı, folyolanmış steril kurutma kağıtları vb.) etil alkol ile spreylendikten sonra alınmıştır. Kullanılan aletler (bistüri, pens, makas) önce etil alkol içine batırılmış, sonra alev lambasında alevle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Eksplantların kesimi, alüminyum folyo içine sarılarak otoklavlanmış kurutma kağıtları üzerinde yapılmıştır.

3.2.1.b. Tohumların yüzey sterilizasyonu

Tohum kabukları ayrıldıktan sonra tohumlar önce saf su ile yıkanmış, daha sonra %70'lik etil alkolde 15 dakika ve %1'lik sodyum hipokloritte (%20'lik ticari çamaşır suyu) 30 dakika süre ile karıştırıcı da karıştırılarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Bu işlemin ardından tohumlar, steril kabin içinde üç kez otoklavlanmış saf sudan geçirildikten sonra içerisinde MS temel besi ortamı ve vitaminleri bulunan petriler içerisinde aseptik şartlar altında 25°C'de, 16 saat gün/8 saat karanlık gün periyodunda çimlendirmeye alınmıştır.

3.2.1.c. Besi ortamının ve bitki büyüme düzenleyicilerinin sterilizasyonu

Hazırlanan besi ortamları otoklavda 121°C'de, 105 kPa basınçta, 20 dakika süre ile bekletilmek üzere sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Sıcakta bozulan vitaminler ve bitki büyüme düzenleyicileri 0,22 µm poroziteli selüloz nitrat filtrelerden (milipor) geçirilerek kullanılmıştır.

3.2.1.d. Sterilizasyonda kullanılan kimyasalların hazırlanışı

Sterilizasyon işlemi için %70'lik etil alkol ve %1'lik sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) kullanılmıştır.

%70'lik etil alkol: %96'lık etil alkolden 730 ml alınarak hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

%1'lik sodyum hipoklorit: %5 NaOCl (sodyum hipoklorit) içeren ticari Ace® marka çamaşır suyundan 200 ml alınarak hacim 1000 ml'ye tamamlanmıştır.

3.2.2. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanışı

Aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulanmıştır.

1. 2 litrelik bir beher içerisine 500 ml bidistile su konulmuştur.
2. Uygulanan yönteme göre çizelgelerdeki (3.1 ve 3.2) ısıda bozulmayan kimyasallardan belirtilen miktarlarda tartılıp eriyinceye kadar karıştırılmıştır.
3. Hazırlanan karışım dereceli silindire aktarılmış ve hacmi 985 ml'ye tamamlanmıştır.
4. Beherdeki kimyasallar tamamen çözündükten sonra manyetik karıştırıcı üzerinde 1N NaOH solüsyonu kullanılarak pH: 5,8'e ayarlanmıştır.
5. İçerisinde jel yapıcı madde (agar) bulunan karışım erlen içerisine aktarılmış ve ağzı alüminyum folyo ile kaplandıktan sonra sterilizasyon işlemi için otoklava bırakılmıştır.
6. Isı ile bozulabilen maddeler (bitki büyüme düzenleyicileri, memeli cinsiyet hormonları) otoklav işleminden sonra soğutulan ortama eklenmiştir. (50 ml'lik beher içerisine konulan madde belirtilen miktarlarda tartılıp, hacmi bidistile su ile 15 ml'ye tamamlanarak karıştırıcıda karıştırılmış ve bu çözeltiler filtrelerden geçirilerek ortama eklenmiştir).

3.2.3. Araştırmada incelenen konular

Eksplantlar ortama konulduktan itibaren otuzuncu, altmışıncı ve doksanıncı günlerin sonunda aşağıda belirlenen gözlemler alınmış ve daha sonra eksplantlar rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Bu süre sonunda elde edilen sürgünler magenta kaplarına aktarılmıştır (Şekil 4.25).

3.2.3.a. Korunga bitkisine ait kök, kotiledon ve hipokotil eksplantları üzerine memeli cinsiyet hormonlarının (MCH) etkileri

- 1. Kotiledonlardan oluşan sürgün sayısı (adet):** 90. gün sonunda oluşan sürgünler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.
- 2. Kotiledonlardan canlı kalan eksplant oranı (%):** 90. gün sonunda canlı kalan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki canlı eksplantlar (%) hesaplanmıştır.
- 3. Hipokotilden oluşan sürgün sayısı (adet):** 30. gün sonunda dört tekerrürde oluşan sürgünler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.
- 4. Hipokotilden oluşan kallus oranı (%):** 30. gün sonunda kallus oluşturan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki kallus oranı (%) hesaplanmıştır.
- 5. Hipokotilden oluşan kök sayısı (adet):** 30. gün sonunda dört tekerrürde oluşan kökler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen kök sayısı (adet) hesaplanmıştır.
- 6. Kökten oluşan kök sayısı (adet):** 30. gün sonunda dört tekerrürde oluşan kökler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen kök sayısı (adet) hesaplanmıştır.
- 7. Kökten oluşan kallus oranı (%):** 30. gün sonunda kallus oluşturan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki kallus oranı (%) hesaplanmıştır.
- 8. Köklerden canlı kalan eksplant oranı (%):** 90. gün sonunda canlı kalan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki canlı eksplantlar (%) hesaplanmıştır.

9. Kök eksplantından elde edilen sürgünlerden kök oluşturanların sayısı (adet): 90. gün sonunda dört tekerrürden elde edilen sürgünlerden köklenenler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen köklü sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.

10. Kökten oluşan sürgün sayısı (adet): 30., 60. ve 90. gün sonunda dört tekerrürde oluşan sürgünler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.

3.2.3.b. Korunga bitkisine ait kök, kotiledon ve hipokotil eksplantları üzerine bitki hormonlarının (BH) etkileri

1. Kotiledonlardan oluşan sürgün sayısı (adet): 30., 60. ve 90. gün sonunda dört tekerrürde oluşan sürgünler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.

2. Kotiledonlardan canlı kalan eksplant oranı (%): 90. gün sonunda canlı kalan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki canlı eksplantlar (%) hesaplanmıştır.

3. Kotiledonlardan oluşan kallus oranı (%): 30. gün sonunda kallus oluşturan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki kallus oranı (%) hesaplanmıştır).

4. Hipokotilden oluşan sürgün sayısı (adet): 30. gün sonunda dört tekerrürde oluşan sürgünler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.

5. Hipokotilden oluşan kök sayısı (adet): 30. ve 60. gün sonunda dört tekerrürde oluşan kökler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen kök sayısı (adet) hesaplanmıştır.

6. Hipokotilden oluşan kallus oranı (%): 30. gün sonunda kallus oluşturan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki kallus oranı (%) hesaplanmıştır.

7. Kökten oluşan sürgün sayısı (adet): 30., 60. ve 90. gün sonunda dört tekerrürde oluşan sürgünler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.

8. Kökten oluşan kök sayısı (adet): 30. gün sonunda dört tekerrürde oluşan kökler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen kök sayısı (adet) hesaplanmıştır.

9. Kök eksplantından elde edilen sürgünlerden kök oluşturanların sayısı (adet): 90. gün sonunda dört tekerrürden elde edilen sürgünlerden köklenenler toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petriye düşen köklü sürgün sayısı (adet) hesaplanmıştır.

10. Kökten oluşan kallus oranı (%): 30. gün sonunda kallus oluşturan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki kallus oranı (%) hesaplanmıştır.

11. Köklerden canlı kalan eksplant oranı (%): 90. gün sonunda canlı kalan eksplantlar toplanarak ortalaması alınmış ve her bir petrideki canlı eksplantlar (%) hesaplanmıştır.

12. Eksplant sayısına göre embriyogenik kallus oluşumu (adet): Kültüre alınan eksplantlardan kallus oluşturanların ortalaması alınmıştır.

13. Muamelelere göre oluşan somatik embriyo sayısı (adet): Somatik embriyo oluşturan eksplant sayısı / Kültüre alınan eksplant sayısı

14. Eksplant başına düşen somatik embriyo sayısı (adet): Oluşan embriyolar toplanarak ortalaması alınmış ve kültüre alınan eksplant sayısına oranlanarak hesaplanmıştır.

3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

Araştırmadan elde edilen veriler tam şansa bağlı faktöriyel deneme desenine göre analiz edilmiştir. Her bir petri tek bir tekerrür olarak değerlendirilmiştir. Her bir petriye 16 adet eksplant konulmuştur. I. deneme 4 farklı hormon tipi ve bunlara ait 4 farklı hormon dozundan oluşan 4x4 faktöriyel deneme desenine göre kurulmuş ve analiz edilmiştir. II. deneme 4 farklı hormon tipi (1 oksin ve 3 sitokinin) ve her bir hormon tipine ait 5 farklı doz kullanılarak toplam 42 farklı kombinasyon elde edilmiştir. Bu kombinasyonların herbiri bir yöntem olarak ele alınmış ve istatistiksel analizler buna göre yapılmıştır. Elde edilen bulgular SAS GLM (SAS Inst., Cary, NC) bilgisayar programı kullanılarak varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve DUNCAN çoklu karşılaştırma testine göre 0.05 ihtimal seviyesinde değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışma iki farklı deneme halinde yürütülmüş ve her iki deneme iki aşamadan oluşmuştur. Birinci denemede önce, tohumlar standart MS ortamında çimlendirilip eksplantlar temin edilmiş ve daha sonra memeli cinsiyet hormonlarından β -östradiol, progesteron, testosteron ve östron 0 mM, 10^{-4} mM, 10^{-5} mM ve 10^{-6} mM olmak üzere dört farklı dozunu içeren besi ortamlarında (toplam 13 farklı uygulama) kültüre alınmışlardır. İkinci denemede ise I. denemenin ilk aşamasında olduğu gibi tohumlar standart MS ortamında çimlendirilip eksplantlar temin edilmiştir. Daha sonra elde edilen eksplantlar bir oksin (NAA) tipinin 3 farklı dozu (0, 0,2 ve 0,4 mg/l) ile üç sitokinin (BAP, TDZ ve KİN) tipinin 5 farklı dozunun (0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/l) ikili kombinasyonları şeklinde hazırlanmış olan MS besi ortamında (toplam 42 farklı yöntem) kültüre alınmışlardır. Köklendirme için ise eksplantlar 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamına aktarılmışlardır. Bu denemelerde incelenen karakterlere ait araştırma bulguları aşağıda verilmiştir.

4.1. Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) Uygulamasından (I. Deneme) Elde Edilen Bulgular

4.1.1. Kotiledonlardan sürgün oluşumu kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri

Kotiledonların sürgün oluşturma kapasiteleri hormonlara ve uygulanan dozlara göre çok küçük farklılıklar göstermiş, bu nedenle hormonlar, dozlar ve hormon x doz interaksiyonuna ait farklılıklar istatistiksel anlamda önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.1).

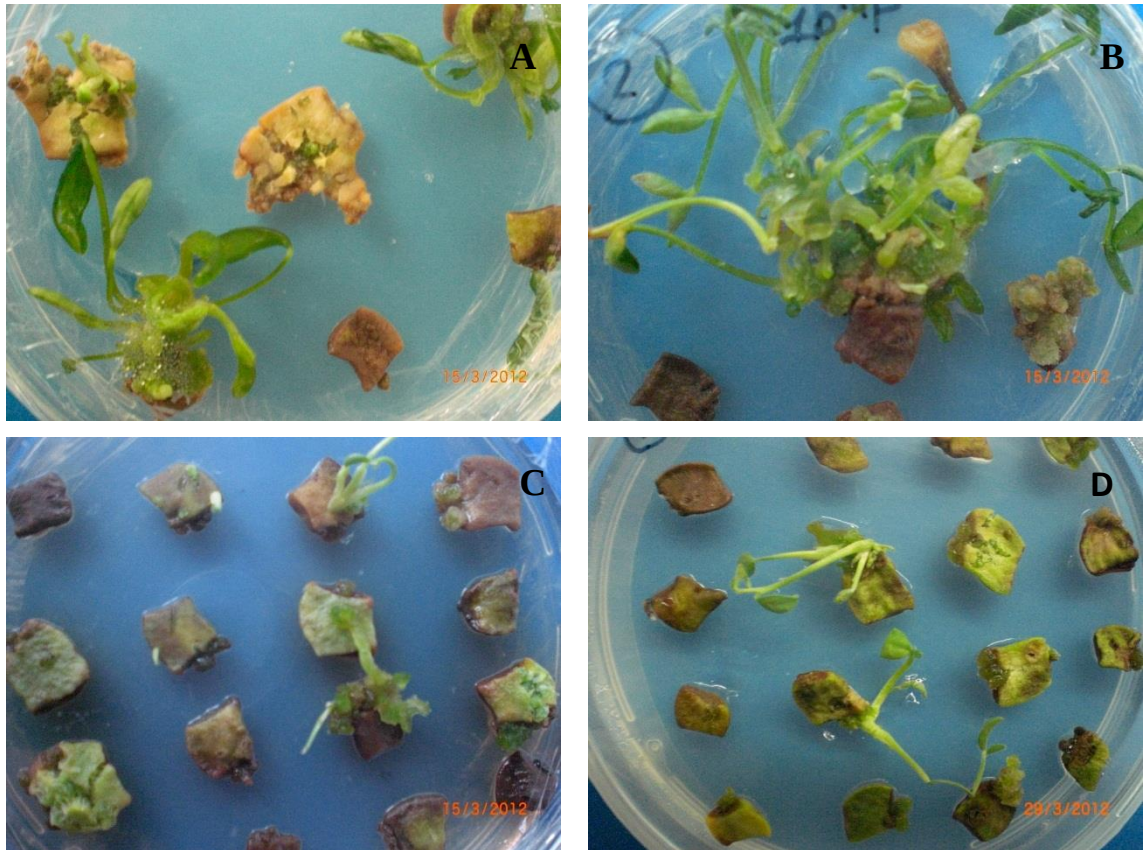
Uygulanan dozların ortalamasına göre hormon tiplerinin sürgün oluşturma kapasitesi üzerine etkileri dikkate alındığında, ilk sırayı ortalama 0,8 adet sürgün ile β -östradiol almış, bunu azalan sıra ile progesteron (0,7 adet), östron (0,3 adet) ve testosteron (0,2

adet) hormonları izlemiştir. Sürgün sayısı kontrolde ise 0,3 adet olmuştur (Çizelge 4.2; Şekil 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90 gün içerisinde sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

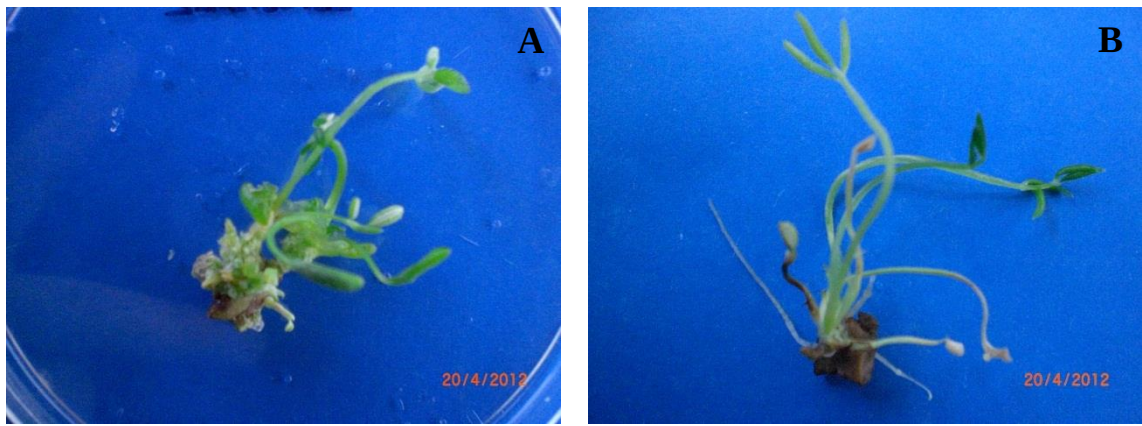
Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	1,016	1,35	0,271 ^{ns}
Doz	3	0,391	0,52	0,672 ^{ns}
Hormon x Doz	9	0,599	0,79	0,624 ^{ns}
Hata	48	0,755		
Genel Toplam	64			

^{ns}:önemsiz ($p>0,05$).



Şekil 4.1. Kotiledonlardan sürgün oluşumu A, B) Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü, C) Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü, D) β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü.

Ancak, ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur. Diğer taraftan, hormon dozlarının ortalamaları yönünden değerlendirme yapıldığında, en fazla sürgün oluşumu 0,6 adet ile 10^{-5} mM 'lık dozdan elde edilmiş, bunu 0,5 sürgün ile 10^{-4} mM ve 0,4 sürgün ile 10^{-6} mM dozu izlemiştir. Tüm dozlar kontrole göre daha iyi sonuç vermiş ancak ortalamalar arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur (Çizelge 4.2; Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kotiledonlardan sürgün oluşumu, **A)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan oluşan sürgünlerin görünümü.

Hormonlar kendi içerisinde dozlarına göre ayrı ayrı incelendiklerinde, en fazla sürgün oluşumunun 1,3 adet ile progesteronun 10^{-4} mM ve β -östradiol'ün 10^{-6} mM dozlarında gerçekleştiği görülmüştür. Diğer taraftan, sürgün oluşturan eksplant sayısı kontrolde 0,3 adet olduğu halde, östronun 10^{-4} mM ve testosteronun 10^{-6} mM dozlarında sürgün oluşumu gözlenmemiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90 gün içerisinde sürgün oluşturan eksplant sayıları (adet)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	0,3	1,3	0,5	0,3	0,6
Östron	0,3	0,0	0,8	0,3	0,3
β -östradiol	0,3	0,5	1,0	1,3	0,8
Testosteron	0,3	0,3	0,3	0,0	0,2
Ort	0,3	0,5	0,6	0,4	-

4.1.2. Kotiledonların canlı kalma oranı üzerine MCH'nin etkileri

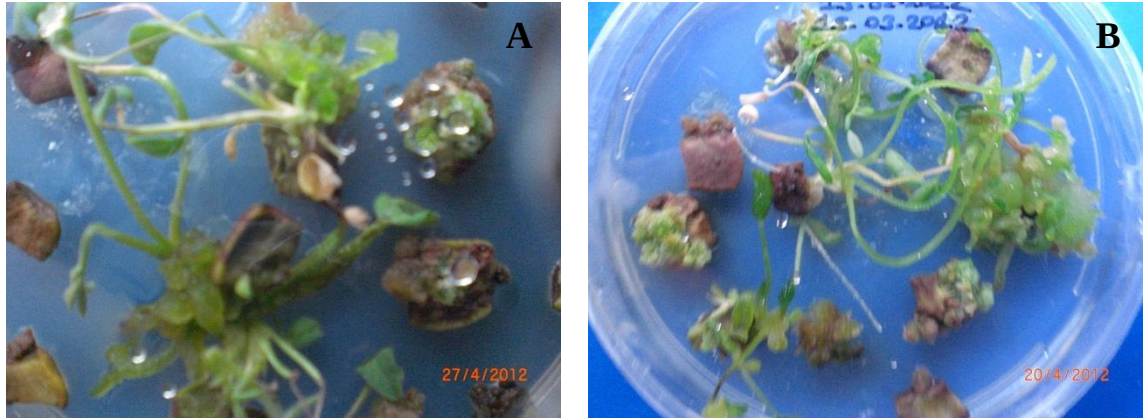
Kotiledonların canlılık oranı üzerine hormon tipleri ve dozlarına ait farklılıklar istatistiksel anlamda önemsiz ($p>0,05$) iken, ortalama canlılık oranı bakımından hormon x doz interaksiyonunun etkisi çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90 gün canlı kalan eksplant oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	319,621	2,20	0,101 ^{ns}
Doz	3	148,722	1,02	0,391 ^{ns}
Hormon x Doz	9	473,701	3,26	0,004 ^{**}
Hata	48	145,467		
Genel Toplam	64			

^{**} : $p<0,01$ düzeyinde çok önemli, ^{ns} : önemsiz

Hormon tiplerine ait ortalama değerler dikkate alındığında, en yüksek canlılık oranı %19,1 ile östrondan elde edilmiş, bunu %18,8 ile testosteron, %13,7 ile progesteron ve %9,8 ile β -östradiol uygulamaları izlemiştir (Şekil 4.3). Canlılık oranı kontrolde %12,5 olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, hormon dozlarının ortalamalarına göre incelendiğinde, en yüksek canlılık oranının (%19,1) 10^{-4} mM dozundan elde edildiği, bunu azalan sıra ile 10^{-6} mM (%16,4) ve 10^{-5} mM (%13,3) dozlarının izlediği, kontrolde ise canlılık oranının %12,5 olduğu görülmüştür. Bu verilerden de anlaşılabacağı gibi, tüm hormon dozu ortalamalarında canlılık oranı kontrolden daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.4).



Şekil 4.3. Kotiledonlardan canlı kalanların görünümü. **A)** β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan canlı kalanların görünümü, **B)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledonlardan canlı kalanların görünümü

Uygulanan doz bakımından hormon tipleri kendi içerisinde ayrı ayrı değerlendirildiklerinde, en yüksek canlılık oranı %34,4 ile testosteronun 10^{-6} mM dozundan elde edilmiştir. Diğer taraftan, progesteronun 10^{-6} mM'lık dozunda canlılık oranı %0,0 olmuştur. Oysa canlılık oranı bu hormonun 10^{-4} mM'lık dozunda %28,1 ile tüm hormon tipleri ve dozları arasında (kontrolde dahil 13 kombinasyon) ikinci sırada yer almıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda canlı kalan eksplantların oranı (%)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	12,5 ^b	28,1 ^a	14,1 ^b	0,0 ^c	13,7
Östron	12,5 ^a	18,8 ^a	25,0 ^a	20,3 ^a	19,1
β-östradiol	12,5 ^a	3,1 ^a	12,5 ^a	10,9 ^a	9,8
Testosteron	12,5 ^{bc}	26,6 ^{ab}	1,6 ^c	34,4 ^a	18,8
Ort	12,5	19,1	13,3	16,4	-

1) Aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.1.3. Hipokotilin sürgün oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri

Sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçlarına göre hormon tiplerinin ve dozlarının etkisi çok önemli olmuştur. Aynı şekilde hormon x doz interaksiyonunun etkisinde çok önemli olmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	199,891	106,313	0,000**
Doz	3	66,516	35,377	0,000**
Hormon x Doz	9	25,641	13,637	0,000**
Hata	48	1,880		
Genel Toplam	64			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Hormon tiplerine ve dozlarına göre oluşturulan 12 kombinasyon ayrı ayrı incelendiğinde, sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 16,0 adet ile progesteronun 10^{-6} mM, östronun 10^{-4} mM ve 10^{-6} mM'lık dozları almıştır (Çizelge 4.6).

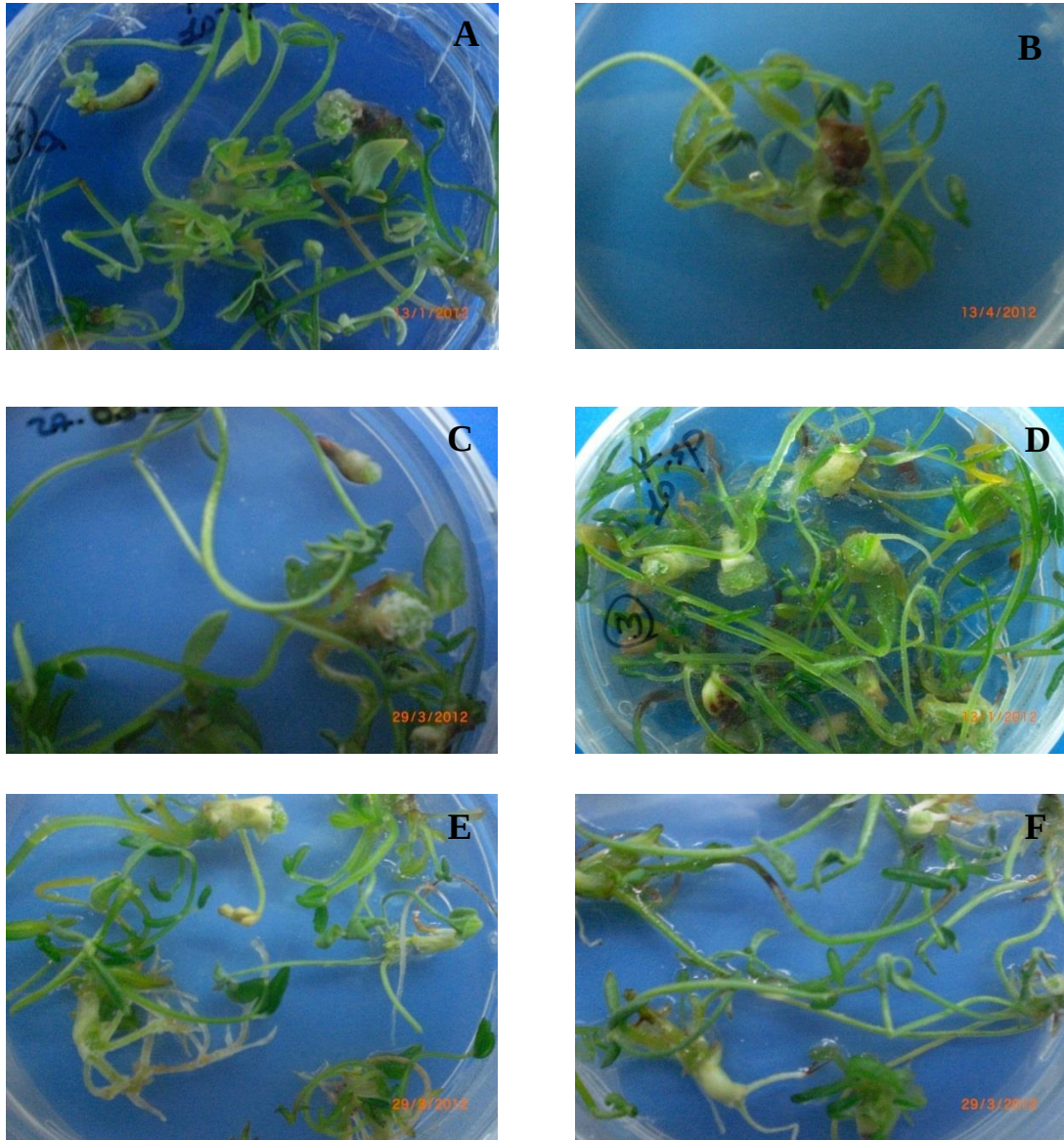
Çizelge 4.6. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayıları (adet)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	16,0 ^a	15,3 ^a	13,5 ^b	16,0 ^a	15,2 ^A
Östron	16,0 ^a	16,0 ^a	15,5 ^b	16,0 ^a	15,9 ^A
β -östradiol	16,0 ^a	12,8 ^b	12,0 ^b	12,5 ^b	13,3 ^B
Testosteron	16,0 ^a	3,5 ^c	5,0 ^{bc}	7,8 ^b	8,1 ^C
Ort	16,0 ^a	11,9 ^{bc}	11,5 ^c	13,1 ^b	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Çizelge 4.6'da verilen hormon tiplerine ait ortalama değerlere bakıldığında, hipokotilin eksplant olarak kullanılması durumunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 15,9 adet ile östron almış, bunu küçük bir farkla progesteron (15,2 adet) hormonu

izlemiştir. Ayrıca, sürgün oluşturan eksplant (Şekil 4.4) sayısı (ortalama); β -östradiol hormonu uygulandığında 13,3 adet, testosteron hormonu uygulandığında ise 8,1 adet olmuştur (Çizelge 4.6).



Şekil 4.4. Hipokotilden sürgün oluşumu. **A)** Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** Testosteronun 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **E)** Testosteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **F)** Testosteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü.

Diğer taraftan hormon dozlarının ortalamalarına göre, sürgün oluşturan eksplant sayısı kontrolde (16,0 adet) tüm hormon dozlarının ortalamalarından daha yüksek olmuştur. Hormon dozlarının ortalamalarına göre sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından 10^{-6} mM'lık doz 13,1 adet sürgün ile ilk sırada yer almış, bunu 11,9 adet sürgün oluşumu ile 10^{-4} mM ve 11,5 adet sürgün ile 10^{-5} mM'lık dozlar izlemiştir (Çizelge 4.6).

4.1.4. Hipokotilin kallus oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri

Hipokotilin kallus oluşum oranı üzerine hormon tipleri ve dozlarına ait farklılıklar istatistiksel anlamda önemsiz ($p>0,05$) iken, hormon x doz interaksiyonunun etkisi çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	43,945	2,51	0,070 ^{ns}
Doz	3	43,945	2,51	0,070 ^{ns}
Hormon x Doz	9	58,594	3,35	0,003 ^{**}
Hata	48	17,497		
Genel Toplam	64			

** : $p<0,01$ düzeyinde çok önemli, ^{ns} : önemsiz

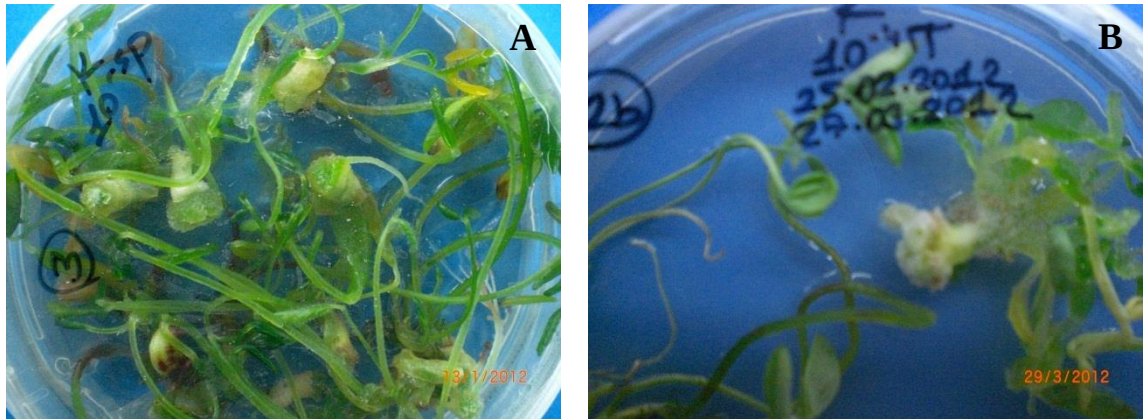
Hormon tiplerine ait ortalama değerler dikkate alındığında, en yüksek oranda kallus oluşumu %3,5 ile progesterondan elde edilmiş, bunu %1,2 ile testosteron izlemiştir (Şekil 4.5). Östron, β -östradiol ve kontrol uygulamalarında ise hiç kallus oluşmamıştır. Diğer taraftan, hormon dozlarının ortalamalarına göre incelendiğinde, en yüksek kallus oluşum oranının (%3,5) 10^{-5} mM dozundan elde edildiği, bunu 10^{-4} mM dozunun izlediği (%1,2), 10^{-6} mM dozunda ve kontrolde ise herhangi bir kallus oluşmadığı görülmüştür (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranı (%)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	Ort
Progesteron	0,0 ^b	0,0 ^b	14,1 ^a	0,0 ^b	3,5
Östron	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
β-östradiol	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Testosteron	0,0 ^a	4,7 ^a	0,0 ^a	0,0 ^a	1,2
Ort	0,0	1,2	3,5	0,0	-

1) Aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Uygulanan doz bakımından hormon tipleri kendi içerisinde ayrı ayrı değerlendirildiklerinde, en yüksek kallus oluşum oranı %14,1 ile progesteronun 10⁻⁵ mM dozundan elde edilmiş ve bunu %4,7 ile testosteronun 10⁻⁴ mM'lık dozu izlemiştir.. Diğer taraftan, progesteronun 10⁻⁴ mM ve 10⁻⁶ mM'lık dozunda, testosteronun 10⁻⁵ mM ve 10⁻⁶ mM dozlarında herhangi bir kallus oluşumu gerçekleşmemiştir (Çizelge 4.8).



Şekil 4.5. Hipokotilden kallus oluşumu. **A)** Progesteronun 10⁻⁵ mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda oluşan kallusların görünümü, **B)** Testosteronun 10⁻⁴ mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü.

4.1.5. Hipokotilin kök oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri

Hipokotilin kök oluşturma kapasitesi üzerine (30. ve 60. gün sonunda) hormon tipleri, dozları ve yine hormon x doz, interaksiyonları çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.9; Çizelge 4.10).

Çizelge 4.9. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	139,557	84,527	<,0001**
Doz	3	47,391	28,703	<,0001**
Hormon x Doz	9	18,641	11,290	<,0001**
Hata	48	1,651		
Genel Toplam	63			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Çizelge 4.10. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 60. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	80,417	17,466	<,0001**
Doz	3	33,750	7,330	<,0001**
Hormon x Doz	9	29,583	6,425	<,0001**
Hata	48	4,604		
Genel Toplam	63			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Çizelge 4.11’de verilen hormon tiplerine ait ortalama değerlere bakıldığında, hipokotilin eksplant olarak kullanılması durumunda kök oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 8,5 adet sürgün ile testosteron almış, bunu 6,0 adet ile β -östradiol, 4,0 adet ile östron ve 2,8 adet ile progesteron hormonları izlemiş ve tüm hormon tipleri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Kök oluşumu kontrolde ise 4,8 adet olmuştur. Kök oluşumu üzerine en az etki eden hormonun progesteron olduğu görülmektedir (Şekil 4.6). Günlere göre değerlendirildiğinde kök oluşumu bakımından ilk sırada 10,3 adet ile testosteron yer almış, bunu 9,9 adet ile β -östradiol, 9,5 adet ile kontrol uygulamaları izlemiştir ve bunlar 60 günlük uygulamadan elde edilmiştir. Aynı şekilde günlere ait ortalama değerlere bakıldığında, 60. günde kök oluşumu 8,2 adet, 30. günde ise 2,5 adet olmuş ve ikisi arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur.

Çizelge 4.11. Farklı hormon tiplerine göre 30. ve 60. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	30	60	Ort
Progesteron	0,0 ^d	5,6 ^b	2,8 ^D
Östron	1,0 ^c	7,0 ^b	4,0 ^C
β-östradiol	2,1 ^b	9,9 ^a	6,0 ^B
Testosteron	6,7 ^a	10,3 ^a	8,5 ^A
Ort	2,5	8,2	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

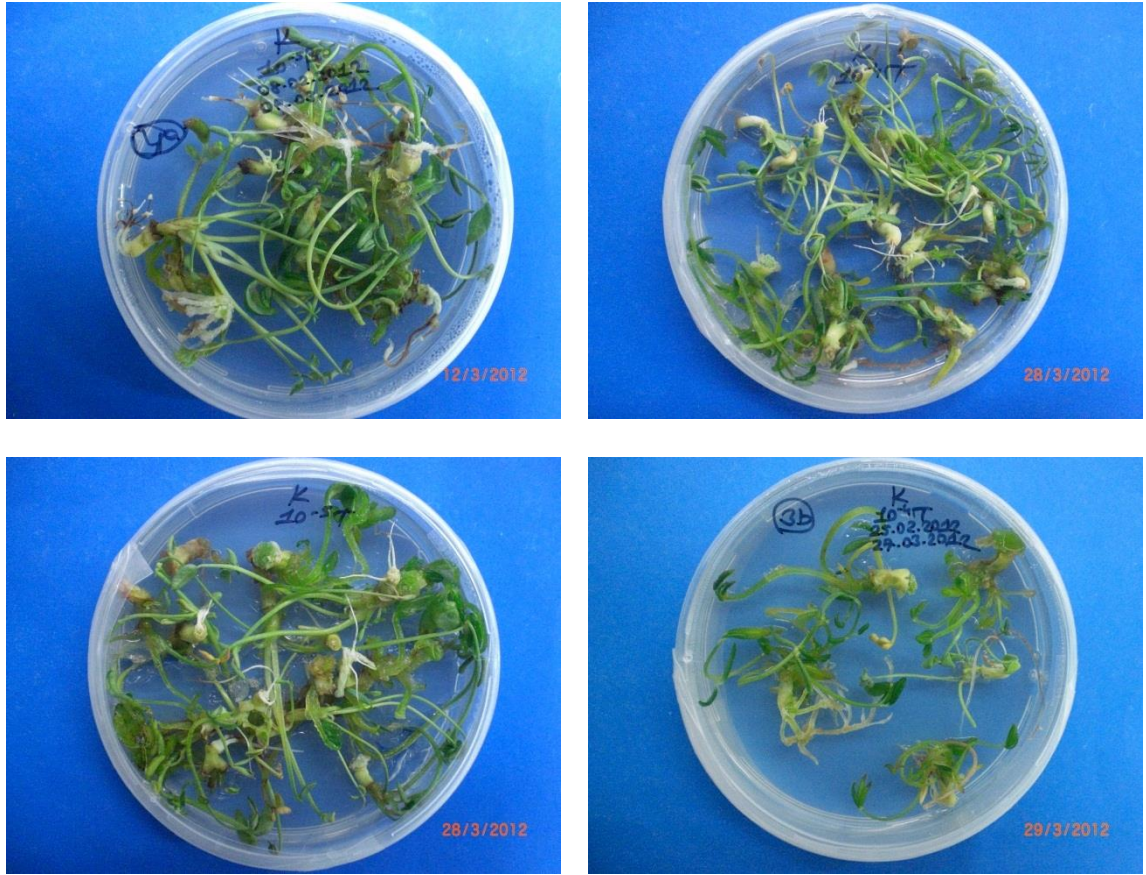
Diğer taraftan hormon dozlarının ortalamalarına göre, kök oluşturan eksplant sayısı kontrolde (4,8 adet) tüm hormon dozlarının ortalamalarından daha düşük olmuştur. Hormon dozlarının ortalamalarına göre kök oluşturan eksplant sayısı bakımından 10^{-6} mM'lık doz 6,7 adet kök ile ilk sırada yer almış, bunu 5,1 adet ile 10^{-5} mM ve 4,9 adet ile 10^{-4} mM'lık dozlar izlemiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Farklı hormon dozlarına göre 30. ve 60. gün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Dozlar (mM)	30	60	Ort
0	0,0 ^c	9,5 ^a	4,8 ^B
10^{-4}	2,6 ^b	7,1 ^b	4,9 ^B
10^{-5}	3,3 ^{ab}	6,8 ^b	5,1 ^B
10^{-6}	3,9 ^a	9,4 ^a	6,7 ^A
Ort	2,5	8,2	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Dozlara ve günlere ait değerler dikkate alındığında, doz ortalaması bakımından en fazla sayıda kök oluşumunun 6,7 adet ile 10^{-6} mM'lık dozdan elde edilmiş, bunu azalan sıra ile 10^{-5} mM (5,1 adet), 10^{-4} mM'lık (4,9 adet) dozları izlemiş, son sırada ise 4,8 adet ile kontrol grup yer almıştır. Günlere ve dozlara göre tek tek değerlendirildiğinde en fazla kök oluşumu 9,5 adet ile kontrol gruptan, elde edilmiş ve bunu çok küçük bir farkla 10^{-6} mM (9,4 adet) dozu izlemiştir (Çizelge 4.12; Şekil 4.7). Günlere ait ortalama değerlere bakıldığı zaman ise en fazla kök oluşumunun 8,2 adet ile 60 günlük uygulamadan elde edildiği görülmektedir (Çizelge 4.12). Buna karşın, 30 günlük uygulamada kontrolde herhangi bir kök oluşumu gözlenmemiştir.

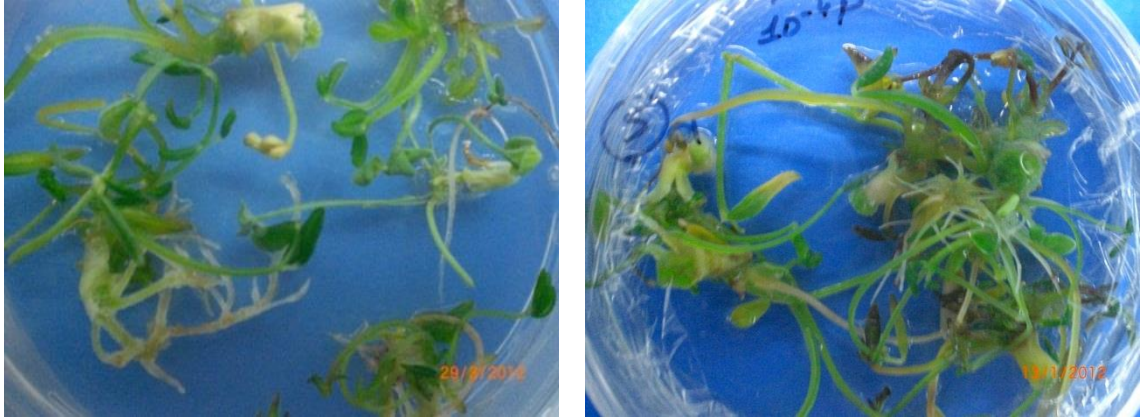


Şekil 4.6. Hipokotilden kök oluşumu. **A)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **B)** Testosteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **C)** Testosteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **D)** Testosteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü.

Çizelge 4.13. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre kök oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	4,8 ^a	3,5 ^a	1,0 ^c	2,0 ^b	2,8 ^D
Östron	4,8 ^a	1,5 ^c	2,4 ^b	7,4 ^a	4,0 ^C
β-östradiol	4,8 ^b	6,3 ^a	6,8 ^a	6,3 ^a	6,0 ^B
Testosteron	4,8 ^c	8,3 ^b	9,9 ^{ab}	11,0 ^a	8,5 ^A
Ort	4,8 ^b	4,9 ^b	5,0 ^b	6,7 ^a	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.7. Hipokotilden köklü sürgün oluşumu. **A)** Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **B)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü.

4.1.6. Kök eksplantının köklenme kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri

Kök eksplantının kök oluşturma kapasitesi üzerine hormon tipleri ve dozlarına ait farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli ($p < 0,01$) iken, hormon x doz interaksyonu etkisi önemsiz ($p > 0,05$) olmuştur (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	37,521	6,994	<,0001**
Doz	3	41,896	7,810	0,0000**
Hormon x Doz	9	5,854	1,091	0,387 ^{ns}
Hata	48	5,365		
Genel Toplam	63			

** : $p < 0,01$ düzeyinde çok önemli, ^{ns} : önemsiz

Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda kök oluşturan eksplant sayısı bakımından ortalamalara göre ilk sırayı 7,0 adet kök ile progesteron almış, bunu 5,8 adet ile kontrol uygulaması izlemiş ve ikisi arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur. Diğer üç hormon tipinin (östron, β -östradiol ve testosteron) kök oluşumu üzerine etkileri kontrolden daha az olmuş ve bunlar istatistiksel olarak aynı

grupta yer almışlardır. Diğer taraftan, hormon dozlarının ortalamalarına göre, kök oluşturan eksplant sayısı kontrolde 5,8 adet ile tüm hormon dozlarının ortalamalarından daha yüksek olmuş ve bunu 5,4 adet 10^{-6} mM'lık doz, 5,3 adet 10^{-5} mM'lık doz, ve 2,3 adet ile 10^{-4} mM'lık dozlar izlemiştir (Çizelge 4.15; Şekil 4.8).



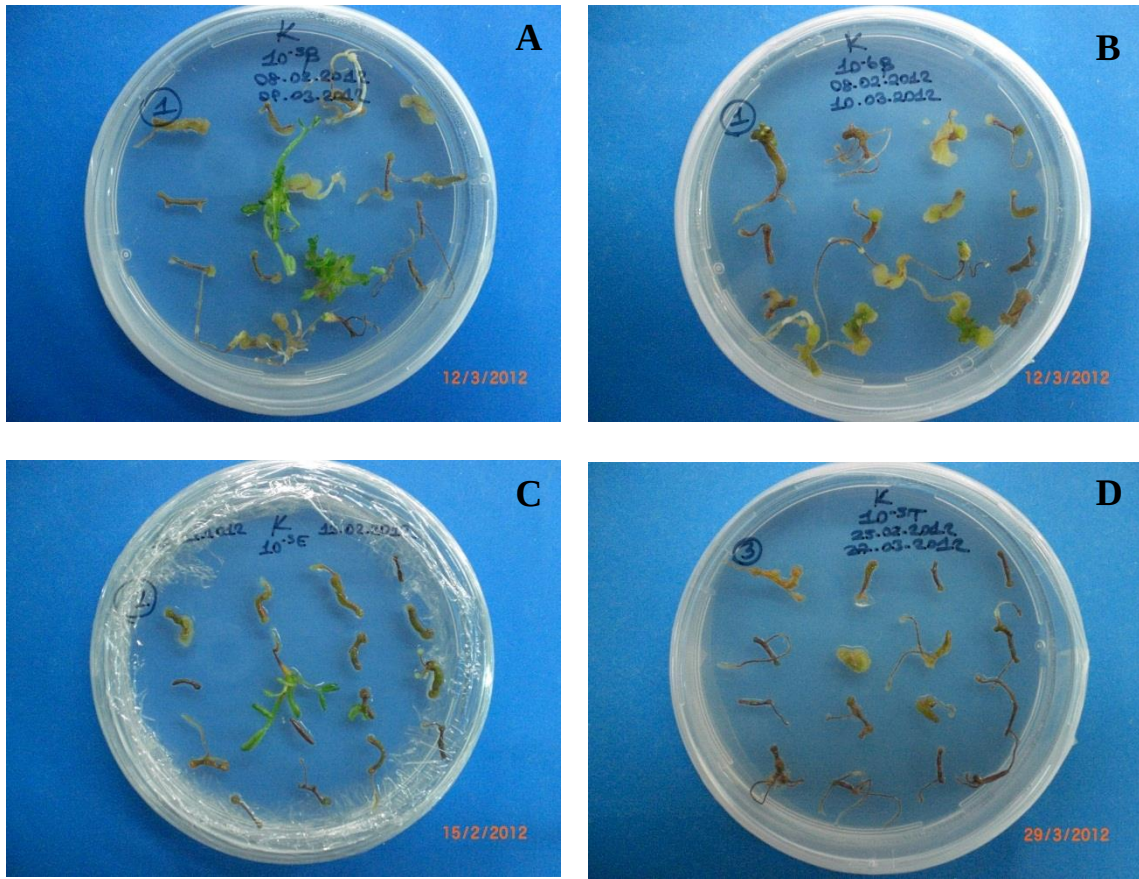
Şekil 4.8. Köklerde meydana gelen değişimler. **A)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **B)** Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **C)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **D)** β -östradiolün 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü.

Hormon tipi ve dozuna göre oluşturulan 12 kombinasyon ayrı ayrı incelendiğinde en fazla kök sayısı 9,3 adet ile progesteronun 10^{-6} mM dozundan, elde edilmiş ve bunu yine progesteronun 10^{-5} mM (7,3 adet) ve 10^{-4} mM'lık (5,5 adet) dozları izlemiştir (Çizelge 4.15; Şekil 4.9).

Çizelge 4.15. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre kök oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	Ort
Progesteron	5,8	5,5	7,3	9,3	7,0 ^A
Östron	5,8	0,8	4,3	4,8	3,9 ^B
β-östradiol	5,8	1,0	4,3	3,8	3,7 ^B
Testosteron	5,8	1,8	5,3	3,8	4,2 ^B
Ort	5,8 ^a	2,3 ^b	5,3 ^a	5,4 ^a	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.9. Köklerde meydana gelen değişimler. **A)** β-östradiolün 10⁻⁵ mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **B)** β-östradiolün 10⁻⁶ mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **C)** Östronun 10⁻⁵ mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü, **D)** Testosteronun 10⁻⁵ mM dozunu içeren ortamda 30. günün sonunda kökte meydana gelen değişimlerin görünümü.

4.1.7. Kökün kallus oluşturma oranı üzerine MCH'nin etkileri

Kökün kallus oluşturma oranı üzerine hormon tipleri ve dozlarına ait farklılıklar ve yine hormon x doz interaksyonu çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	1300,456	8,258	<,0001**
Doz	3	2789,714	17,716	0,000**
Hormon x Doz	9	677,626	4,303	0,000**
Hata	48	157,471		
Genel Toplam	63			

** : $p<0,01$ düzeyinde çok önemli

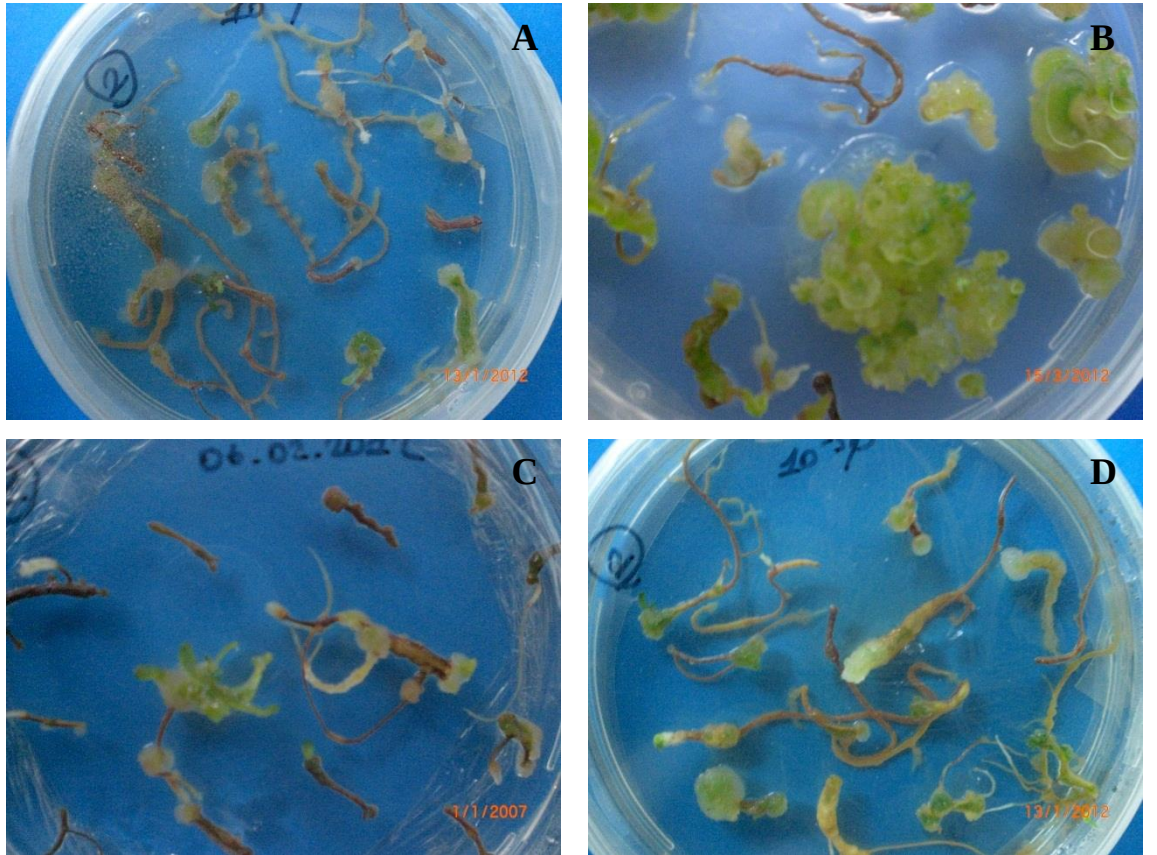
Hormon tiplerine ait ortalama değerler dikkate alındığında, en yüksek oranda kallus oluşumu %54,3 ile östrondan elde edilmiş, bunu %45,7 ile β -östradiol, %40,6 ile progesteron ve %32,8 ile testosteron izlemiştir. Kontrolde ise kallus oluşumu oranı %26,6 olmuştur. Diğer taraftan hormon dozlarının ortalamalarına göre incelendiğinde, kallus oluşum oranı bakımından %58,6 ile 10^{-4} mM'lık doz ilk sırada yer almış, bunu %46,1 ile 10^{-6} mM'lık doz, %42,2 ile 10^{-5} mM'lık doz izlemiştir (Çizelge 4.17; Şekil 4.10).

Çizelge 4.17. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. gün sonunda kallus oluşum oranı (%)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	26,6 ^c	56,3 ^a	45,3 ^{ab}	34,4 ^b	40,6 ^{BC}
Östron	26,6 ^d	84,4 ^a	45,3 ^c	60,9 ^b	54,3 ^A
β -östradiol	26,6 ^c	40,6 ^{bc}	51,6 ^{ab}	64,1 ^a	45,7 ^{AB}
Testosteron	26,6 ^b	53,1 ^a	26,6 ^b	25,0 ^b	32,8 ^C
Ort	26,6 ^c	58,6 ^a	42,2 ^b	46,1 ^b	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Uygulanan doz bakımından hormon tipleri kendi içerisinde ayrı ayrı değerlendirildiklerinde, en yüksek kallus oluşum oranı %84,4 ile östronun 10^{-4} mM dozundan elde edilmiş ve bunu %64,1 ile β -östradiolün 10^{-6} mM'lık dozu ve %60,9 ile östronun 10^{-6} mM'lık dozu izlemiştir (Çizelge 4.17).



Şekil 4.10. Kökten oluşan kallusların görünümü. **A, B)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **C)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **D)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü.

4.1.8. Kökün canlı kalma oranı üzerine MCH'nin etkileri

Kök eksplantının canlılık oranı üzerine hormon tipleri ve dozlarına ait farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Aynı şekilde hormon x doz interaksiyonunun etkisi de çok önemli olmuştur (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda canlılık oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	1711,222	13,204	0,000 ^{**}
Doz	3	1174,113	9,060	0,000 ^{**}
Hormon x Doz	9	755,276	5,828	0,000 ^{**}
Hata	48	129,598		
Genel Toplam	63			

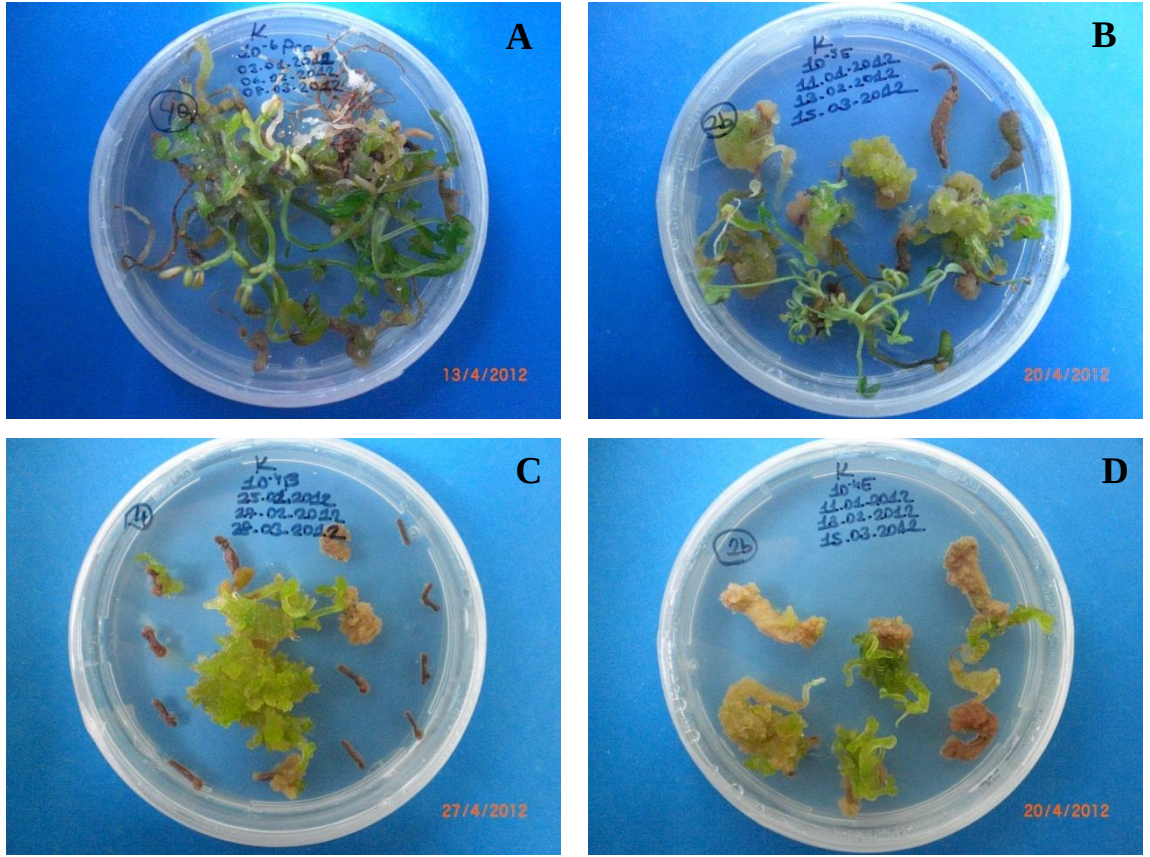
^{**} : p<0,01 düzeyinde çok önemli,

Hormon tiplerine ait ortalama değerlere bakıldığında, en yüksek canlılık oranı %57,0 ile progesterondan elde edilmiş, bunu %43,8 ile β -östradiol, %41,0 ile östron ve %32,0 ile testosteron uygulamaları izlemiş, kontrolde ise %34,4 olarak belirlenmiştir. Diğer tarafta hormon dozlarının ortalamalarına göre incelendiğinde, en yüksek canlılık oranının (%54,7) 10^{-5} mM dozundan elde edildiği, bunu azalan sıra ile 10^{-6} mM (%44,5) ve 10^{-4} mM (%40,2) dozlarının izlediği, kontrolde ise canlılık oranının %34,4 olduğu görülmüştür. Bu verilerden de anlaşılabileceği gibi, tüm hormon dozu ortalamalarında canlılık oranının kontrolden daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.19; Şekil 4.11).

Çizelge 4.19. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda canlılık oranı (%)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	34,4 ^b	73,4 ^a	73,4 ^a	46,9 ^b	57,0 ^A
Östron	34,4 ^a	46,9 ^a	42,2 ^a	40,6 ^a	41,0 ^B
β-östradiol	34,4 ^b	21,9 ^b	60,9 ^a	57,8 ^a	43,8 ^B
Testosteron	34,4 ^{ab}	18,8 ^b	42,2 ^a	32,8 ^{ab}	32,0 ^C
Ort	34,4 ^b	40,2 ^b	54,7 ^a	44,5 ^{ab}	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.11. Köklerden canlı kalanların görünümü. **A)** Progesteronun 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü, **B)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü, **C)** β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü, **D)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 90. günün sonunda kök eksplantlarından canlı kalanların görünümü.

Uygulanan doz bakımından hormon tipleri kendi içerisinde ayrı ayrı değerlendirildiklerinde, en yüksek canlılık oranı %73,4 ile progesteronun 10^{-4} ve 10^{-5} mM dozundan elde edilmiştir (Çizelge 4.16). Ayrıca β -östradiolün 10^{-5} ve 10^{-6} mM'lık dozlarının da canlılık üzerine etkisinin yüksek olduğu görülmektedir. Diğer taraftan β -östradiolün 10^{-4} mM, testosteronun 10^{-4} mM ve 10^{-6} mM'lık dozlarının canlılık oranı üzerine etkileri kontrole oranla daha düşük olmuştur (Çizelge 4.19).

4.1.9. Köklenen sürgün sayısı üzerine MCH'nin etkileri

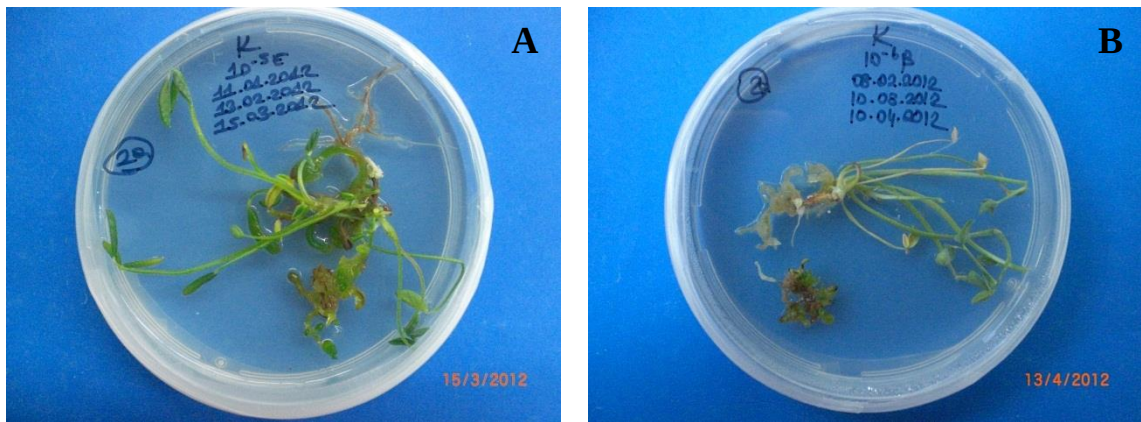
Kök eksplantından elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine dozlara ait farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Ancak hormon tipleri ve hormon x doz interaksiyonunun etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda köklenen sürgün sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	0,562	0,397	0,756 ^{ns}
Doz	3	14,521	10,250	0,000 ^{**}
Hormon x Doz	9	1,465	1,034	0,427 ^{ns}
Hata	48	1,417		
Genel Toplam	63			

^{**} : p<0,01 düzeyinde çok önemli, ^{ns} : önemsiz

Hormon tiplerine ait ortalama değerler yönünden değerlendirildiğinde, kök eksplantından elde edilen sürgünlerin (Şekil 4.12; Şekil 4.13) köklenmesi bakımından ilk sırada β -östradiolün (1,9 adet), ikinci sırada ise progesteronun (1,8 adet) yer aldığı görülmektedir. Östron, testosteron ve kontrol uygulamalarında kök sayıları aynı olmuştur (1,5 adet). Uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık olmadığından hepsi aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.21).

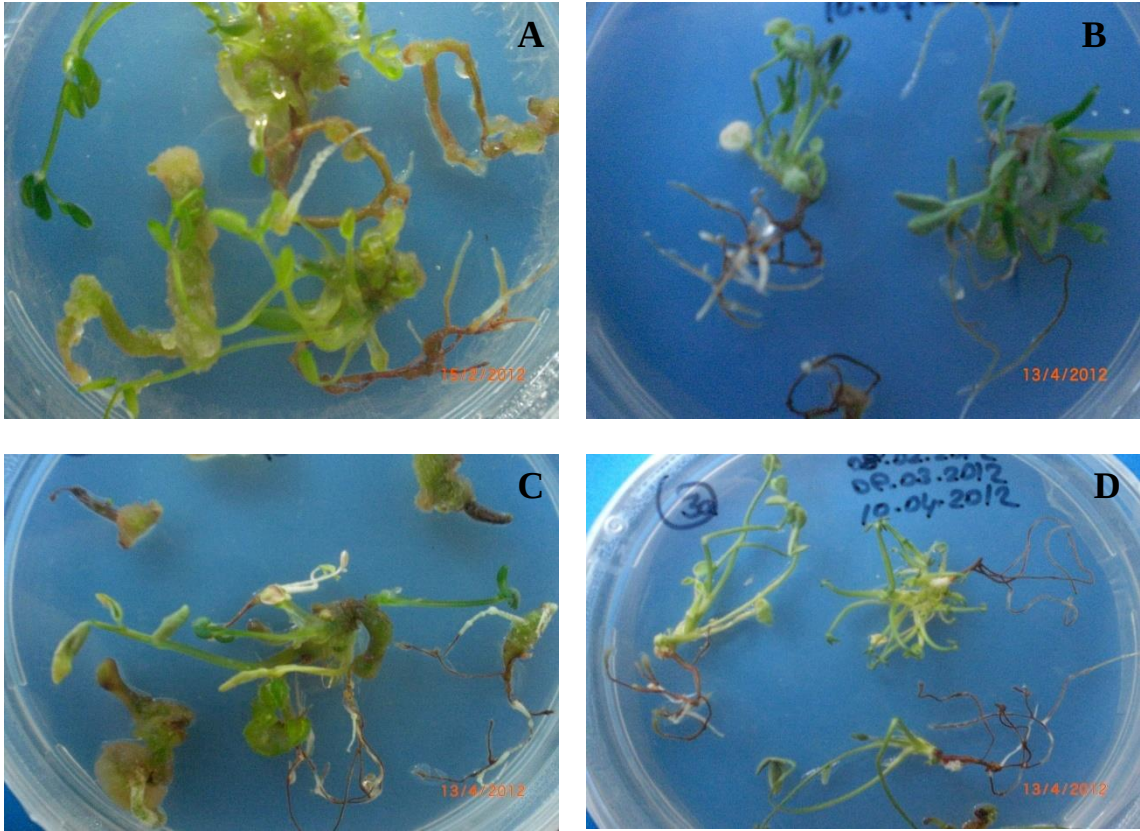


Şekil 4.12. Kökten oluşan sürgünlerin köklenmesi. **A)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **B)** β -östradiolün 10^{-6} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü.

Çizelge 4.21. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda köklenen sürgün sayısı (adet)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	1,5	0,5	3,0	2,0	1,8
Östron	1,5	1,3	2,5	0,8	1,5
β-östradiol	1,5	0,0	3,0	3,0	1,9
Testosteron	1,5	0,3	2,8	1,5	1,5
Ort	1,5 ^{bc}	0,5 ^c	2,8 ^a	1,8 ^{ab}	-

1) Aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.13. Kökten oluşan sürgünlerin köklenmesi. **A)** Östronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **B)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **C)** β -östradiolün 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü, **D)** β -östradiolün 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten elde edilen köklü sürgünlerin görünümü.

Uygulanan doz bakımından hormon tipleri ayrı ayrı değerlendirildiklerinde 3,0 adet kök ile progesteronun 10^{-5} mM'lık dozu, β -östradiolün 10^{-5} mM'lık ve 10^{-6} mM'lık dozları

ilk sırada yer almıştır. Hormon dozlarına ait ortalama değerlere bakıldığında ise 2,8 adet kök ile 10^{-5} mM'lık dozu ilk sırada yer almış, bunu 1,8 adet kök sayısı ile 10^{-6} mM'lık, 1,5 adet kök sayısı ile kontrol ve 0,5 adet kök sayısı ile 10^{-4} mM'lık uygulamalar izlemiştir (Çizelge 4.21).

4.1.10. Kökün sürgün oluşturma kapasitesi üzerine MCH'nin etkileri

30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde dozların etkisinin çok önemli ($p<0,01$) olduğu görülmektedir. Ancak hormonların ve hormon x doz interaksiyonunun etkisi önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	1,375	1,913	0,140 ^{ns}
Doz	3	3,208	4,464	0,008 ^{**}
Hormon x Doz	9	0,972	1,353	0,236 ^{ns}
Hata	48	0,719		
Genel Toplam	63			

** : $p<0,01$ düzeyinde çok önemli, ^{ns} : önemsiz

60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde hormonların ve hormon dozlarının etkisi çok önemli ($p<0,01$), hormon x doz interaksiyonunun etkisi ise önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	5,938	3,132	0,034 [*]
Doz	3	6,104	3,220	0,031 [*]
Hormon x Doz	9	3,201	1,689	0,118 ^{ns}
Hata	48	1,896		
Genel Toplam	63			

* : $p<0,05$ düzeyinde önemli, ^{ns} : önemsiz

90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde hormonların ve hormon dozlarının etkisinin çok önemli ($p<0,01$), olduğu görülmüştür. Aynı şekilde hormon x doz interaksiyonunun etkisinin de çok önemli ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.24).

Çizelge 4.24. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Hormon	3	30,432	8,288	0,000**
Doz	3	15,057	4,101	0,011*
Hormon x Doz	9	9,752	2,656	0,014*
Hata	48	3,672		
Genel Toplam	63			

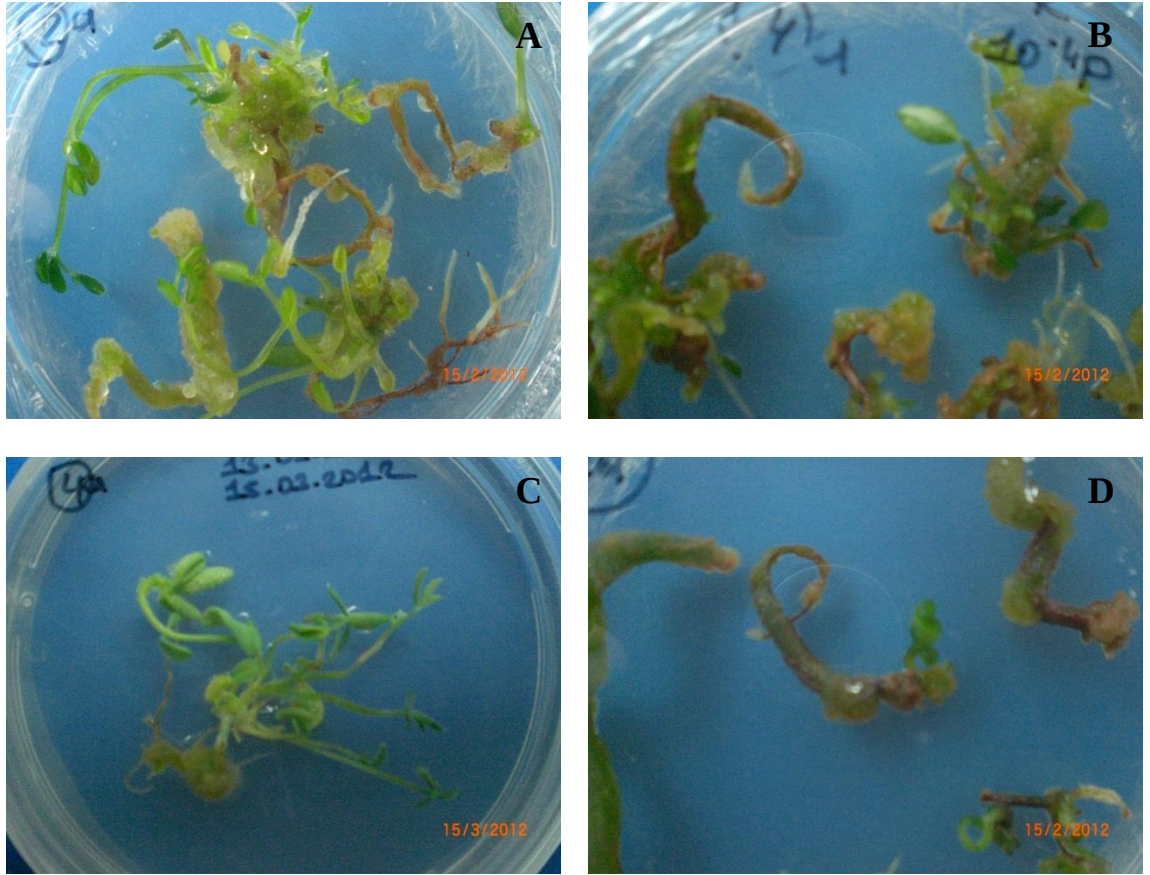
** : $p<0,01$ düzeyinde çok önemli, * : $p<0,05$ düzeyinde önemli

Çizelge 4.25. Farklı hormon tiplerine göre 30. 60. ve 90. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	30	60	90	Ort
Progesteron	1,0 ^a	2,9 ^a	6,0 ^a	3,3 ^A
Östron	1,1 ^a	2,7 ^a	4,3 ^b	2,7 ^{AB}
β -östradiol	1,0 ^a	2,8 ^a	4,2 ^b	2,7 ^{AB}
Testosteron	0,4 ^b	1,6 ^b	2,6 ^c	1,5 ^B
Ort	0,9	2,5	4,3	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Çizelge 4.25’de verilen hormon tiplerine ait ortalama değerlere bakıldığında, sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 3,3 adet sürgün ile progesteron almış, bunu östron ve β -östradiol (2,7 adet) hormonları izlemiş ve son sırada 1,5 adet sürgün ile testosteron hormonu yer almıştır (Şekil 4.14). Diğer taraftan kontrol grupta sürgün oluşturan eksplant sayısı 1,8 olmuştur. Uygulanan gün bakımından hormon tipleri ayrı ayrı değerlendirildiklerinde gün sayısı arttıkça oluşan sürgün sayısının da arttığı ve bu özellik yönünden ilk sırada 6,0 adet ile progesteron, ikinci sırada 4,3 adet ile östron ve 4,2 adet ile β -östradiol içeren ortamlardan 90 gün süre ile bekletilen korungaya ait kök eksplantlarından elde edildiği görülmektedir (Çizelge 4.25).



Şekil 4.14. Kökten sürgün oluşumu. **A, B)** Progesteronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** Östronun 10^{-4} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** Progesteronun 10^{-5} mM dozunu içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü.

Çizelge 4.26. Farklı hormon dozlarına göre 30. 60. ve 90. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Doz	30	60	90	Ort
0	0,3 ^b	2,0 ^b	3,3 ^b	1,8 ^B
10^{-4}	1,0 ^a	2,2 ^b	4,3 ^{ab}	2,5 ^B
10^{-5}	1,3 ^a	3,4 ^a	5,6 ^a	3,4 ^A
10^{-6}	0,9 ^a	2,3 ^b	3,9 ^b	2,4 ^B
Ort	1,0	2,6	4,5	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Uygulanan dozların ortalamalarına göre bir değerlendirme yapıldığında 10^{-5} mM'lık doz 3,4 adet sürgün ile ilk sırada yer almış, bunu 2,5 adet sürgün ile 10^{-4} mM ve 2,4 adet sürgün ile 10^{-6} mM'lık dozlar izlemiştir. Doz ve günlere ait değerler kendi içerisinde

değerlendirildiğinde ise en iyi sonucun 5,6 adet ile 10^{-5} 'lik dozundan elde edildiği görülmektedir. Bu özellik bakımından ikinci sırada 4,3 adet ile 10^{-4} 'lük ve üçüncü sırada ise 3,9 ile 10^{-6} 'lık dozlar yer almaktadır. Muamele süresi arttıkça oluşan sürgün sayısının da arttığı görülmektedir. Kontrol uygulamasından uygulanan tüm dozlara göre daha düşük sayıda sürgün elde edildiği görülmektedir (Çizelge 4.26).

Çizelge 4.27. Farklı hormon tipleri ve dozlarına göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Dozlar (mM)				
	0	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	Ort
Progesteron	1,8 ^b	4,4 ^a	4,1 ^a	2,8 ^a	3,3 ^A
Östron	1,8 ^c	3,3 ^a	2,6 ^b	2,9 ^b	2,7 ^B
β-östradiol	1,8 ^c	1,6 ^c	4,7 ^a	2,5 ^b	2,7 ^B
Testosteron	1,8 ^b	0,7 ^b	2,3 ^a	1,3 ^b	1,5 ^C
Ort	1,8 ^b	2,5 ^b	3,4 ^a	2,4 ^b	-

1) Aynı sütunda aynı büyük harfle ve aynı satırda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Hormon tipleri ve dozları ile oluşturulan kombinasyonlar ayrı ayrı incelendiklerinde, en fazla sürgün oluşumu 4,7 adet ile β -östradiolün 10^{-5} mM'lık dozundan, 4,4 adet ile progesteronun 10^{-4} mM'lık ve 4,1 adet ile 10^{-5} mM'lık dozlarından elde edilmiştir. Sürgün oluşumu üzerine en az etki eden hormonun testosteron olduğu görülmektedir. (Çizelge 4.27).

4.2. Bitki Hormonları (BH) Uygulamasından (II. Deneme) Elde Edilen Bulgular

4.2.1. Kotiledonların sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

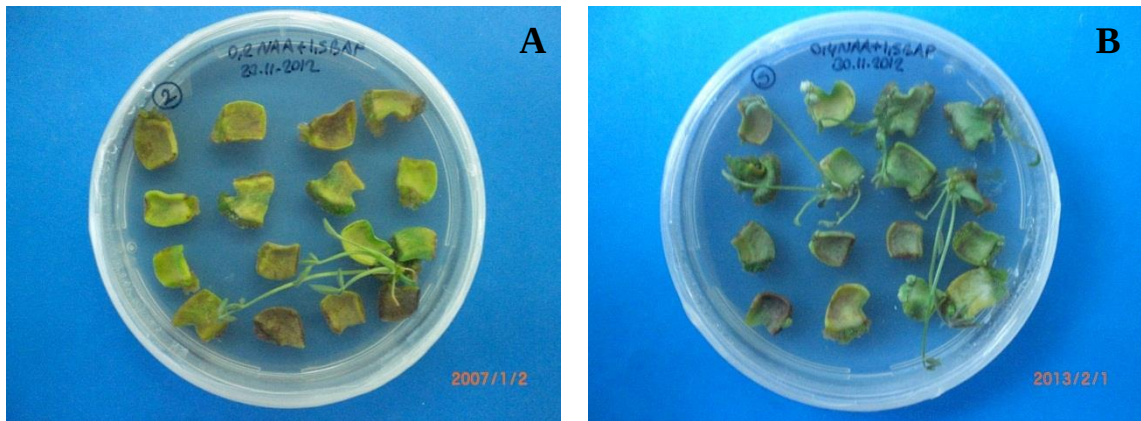
Otuzuncu günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçlarına göre, uygulamaların (muamele) etkisi çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.28. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	1,228	2,19	0,0005**
Hata	126	0,560		
Genel Toplam	167			

** : $p < 0,01$ düzeyinde çok önemli

Hormon kombinasyonlarına ait veriler incelendiğinde, kotiledonların eksplant olarak kullanılması durumunda sürgün oluşturan eksplant (Şekil 4.15) sayısı bakımından ilk sırayı 2,0 adet sürgün/petri ile 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP almış, bunu 1,3 adet ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP, 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ ve 1,0 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ kombinasyonları izlemiş ve tüm hormon kombinasyonları arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Diğer tarafta hiç hormon uygulanmadığı kontrol grupta ve 18 kombinasyonda sürgün elde edilememiştir. Ayrıca, sürgün oluşumu üzerine en az etkili hormonun kinetin olduğu görülmektedir. Kombinasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli olmuştur (Çizelge 4.29).



Şekil 4.15. Kotiledonlardan sürgün oluşumu. **A)** 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü.

Çizelge 4.29. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	0,5	0,0 ^c	2,0 ^a	0,8 ^{bc}
	1,0	0,0 ^c	0,8 ^{bc}	0,8 ^{bc}
	1,5	0,3 ^{bc}	2,0 ^a	1,3 ^{ab}
	2,0	0,5 ^{bc}	1,3 ^{ab}	1,3 ^{ab}
KIN	0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	0,5	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	1,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	1,5	0,0 ^c	0,0 ^c	0,5 ^{bc}
	2,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
TDZ	0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	0,5	0,8 ^{bc}	0,0 ^c	0,5 ^{bc}
	1,0	0,8 ^{bc}	0,0 ^c	0,5 ^{bc}
	1,5	1,3 ^{ab}	0,5 ^{bc}	1,0 ^{abc}
	2,0	0,0 ^c	0,5 ^{bc}	0,5 ^{bc}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Altmışıncı günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçlarına göre, uygulamaların etkisi çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.30).

Çizelge 4.30. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	6,442	7,04	<,0001 ^{**}
Hata	126	0,915		
Genel Toplam	167			

^{**} : $p<0,01$ düzeyinde çok önemli

Uygulanan hormon kombinasyonlarının kotiledonların sürgün oluşturma kapasiteleri üzerine etkileri dikkate alındığında, ilk sırayı ortalama 3,5 adet sürgün ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ almış, bunu 3,3 adet sürgün ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ, 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; 3,0 adet sürgün ile 0 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ, 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ, 0 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ; 2,8 adet sürgün ile 0 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, 0 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ; 2,5 adet sürgün ile 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; 2,3 adet sürgün ile 0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l

BAP, 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP; 2,0 adet sürgün ile 0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP; 1,8 adet sürgün ile 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ; ve 1,5 adet sürgün ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ ve 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ kombinasyonları izlemiştir (Şekil 4.16). Diğer taraftan, kontrolde (hiç hormon uygulanmamış) ve 9 kombinasyonda sürgün elde edilememiştir. Kombinasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli bulunmuştur (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ	0,5 ^{gh1}
	0,5	2,8 ^{a-d}	3,3 ^{ab}	2,0 ^{b-f}
	1,0	1,3 ^{e-i}	3,3 ^{ab}	2,5 ^{a-e}
	1,5	2,3 ^{a-e}	2,3 ^{a-e}	2,8 ^{a-d}
	2,0	2,0 ^{b-f}	2,3 ^{a-e}	2,0 ^{b-f}
KIN	0	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ	0,5 ^{gh1}
	0,5	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ	0,8 ^{f-i}
	1,0	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ
	1,5	0,5 ^{gh1}	0,3 ^{hi}	0,5 ^{gh1}
	2,0	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ
TDZ	0	0,0 ⁱ	0,0 ⁱ	0,5 ^{gh1}
	0,5	2,8 ^{a-d}	0,3 ^{hi}	1,5 ^{d-h}
	1,0	3,0 ^{abc}	0,5 ^{gh1}	1,8 ^{c-g}
	1,5	3,0 ^{abc}	3,5 ^a	3,3 ^{ab}
	2,0	3,0 ^{abc}	2,8 ^{a-d}	1,5 ^{d-h}

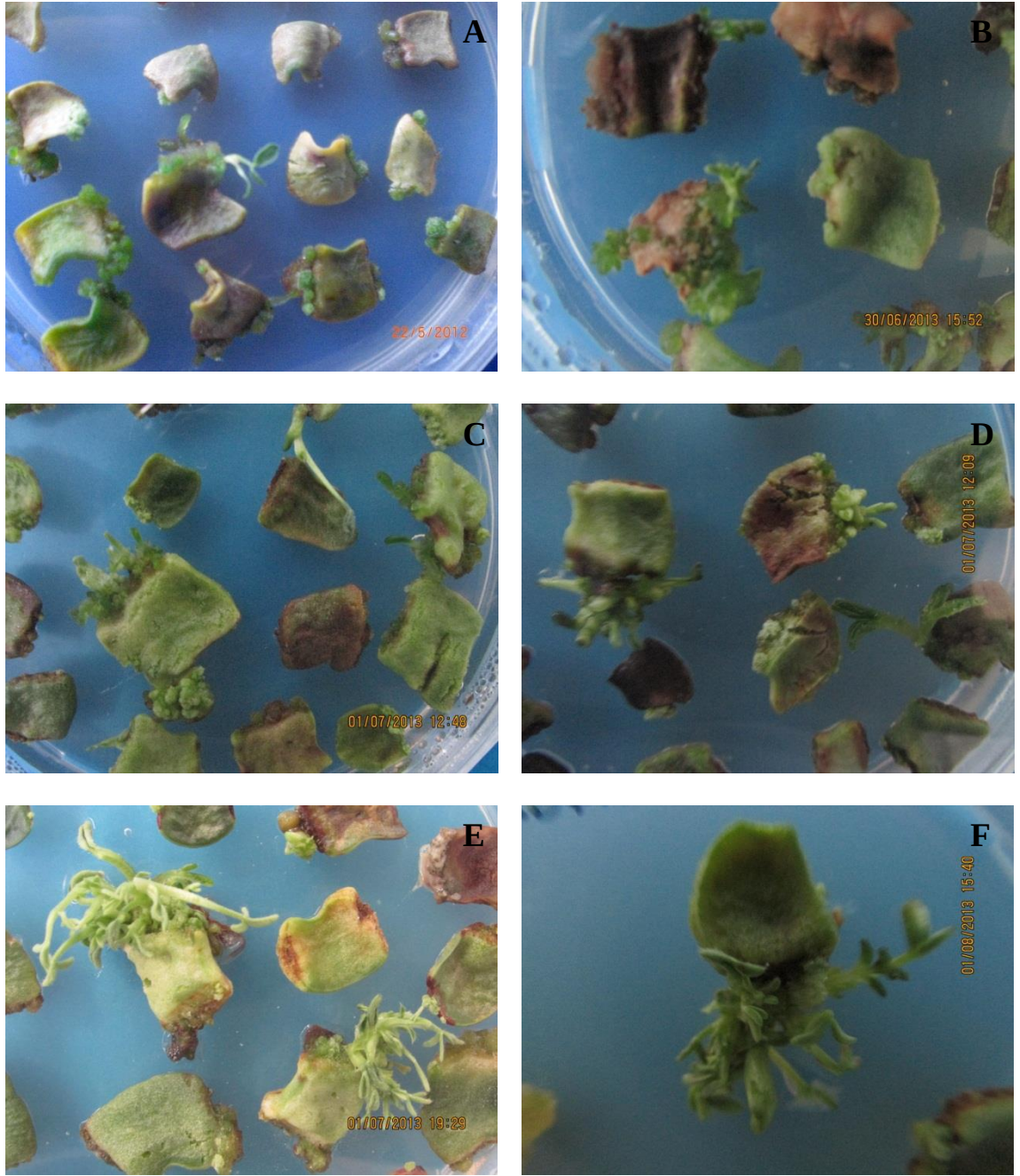
1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Sürgün oluşturan eksplant sayısına (doksanıncı günün sonunda) ait varyans analizi sonuçlarına göre hormon-doz kombinasyonuna ait uygulamaların etkisi çok önemli (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.32. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	15,311	12,31	<,0001 ^{**}
Hata	126	1,244		
Genel Toplam	167			

^{**} : p<0,01 düzeyinde çok önemli



Şekil 4.16. Kotiledonlardan sürgün oluşumu. **A)** 1 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** 0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** 1 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü. **E)** 0,4 mg/l NAA +1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü. **F)**) 0,4 mg/l NAA +1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü.

Çizelge 4.29’da verilen hormon kombinasyonlarına ait ortalama değerlere bakıldığında, kotiledonların eksplant olarak kullanılması durumunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 7,8 adet sürgün ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ almış, bunu 6,0 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ, 5,8 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP, 4,8 adet ile 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ, 4,5 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, 4,3 adet ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ, 3,8 adet ile 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ, 3,5 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ, 3,3 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ, 3,0 adet ile 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP ve 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP hormon kombinasyonları izlemiş ve tüm uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Kök oluşumu kontrolde ise 0,3 adet olmuştur (Şekil 4.17). Çalışmada kullanılan dört kombinasyonda kontrolle aynı sonuç elde edilmiş, altı kombinasyonda ise hiç sürgün oluşmamıştır. Hormon tipi yönünden değerlendirildiğinde diğerlerinde (30. ve 60. gün) olduğu gibi, doksanıncı günün sonunda da sürgün oluşumuna en az etki eden hormonun kinetin olduğu görülmüştür (Çizelge 4.33) .

Çizelge 4.33. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,3 ^{no}	0,3 ^{no}	1,8 ⁱ⁻ⁿ
	0,5	3,0 ^{e-j}	3,3 ^{d-i}	3,0 ^{e-j}
	1,0	1,5 ^{j-o}	5,8 ^{bc}	3,3 ^{d-i}
	1,5	3,3 ^{d-i}	2,5 ^{g-k}	4,5 ^{b-e}
	2,0	2,3 ^{g-l}	4,3 ^{c-f}	2,8 ^{f-j}
KIN	0	0,3 ^{no}	0,3 ^{no}	1,8 ⁱ⁻ⁿ
	0,5	0,3 ^{no}	0,3 ^{no}	0,5 ^{mno}
	1,0	0,0 ^o	0,0 ^o	0,0 ^o
	1,5	0,5 ^{mno}	0,8 ^{l-o}	0,0 ^o
	2,0	0,5 ^{mno}	0,0 ^o	0,0 ^o
TDZ	0	0,3 ^{no}	0,3 ^{no}	1,8 ⁱ⁻ⁿ
	0,5	4,8 ^{bcd}	1,5 ^{j-o}	2,0 ^{h-m}
	1,0	7,8 ^a	1,0 ^{k-o}	2,0 ^{h-m}
	1,5	6,0 ^b	3,3 ^{d-i}	3,5 ^{d-h}
	2,0	3,8 ^{d-g}	4,3 ^{c-f}	1,5 ^{j-o}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.17. Kotiledonlardan sürgün oluşumu. **A)** 1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 0,4 mg/l NAA+1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 90. günün sonunda kotiledondan oluşan sürgünlerin görünümü.

4.2.2. Kotiledonların canlı kalma oranı üzerine BH'nin etkileri

Kotiledonların canlılık oranı (doksanıncı gün sonunda) üzerine hormon-doza kombinasyonuna ait uygulamalar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.34. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda canlılık oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	2551,545	26,32	<,0001**
Hata	126	96,959		
Genel Toplam	167			

** : $p < 0,01$ düzeyinde çok önemli

Kombinasyonlara ait değerlere bakıldığında, en yüksek canlılık oranı %96,9 ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ'den elde edilmiştir. En yüksek canlılık oranını %92,2 ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ; %85,9 ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ, 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ; %82,8 ile 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ; %78,1 ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ; %76,6 ile 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ; %73,4 ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ ve %62,5 ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP takip etmiş, kontrolde ise canlılık oranı %12,5 olmuştur. TDZ'nin yalnız (diğer hormonlarla kombinasyonsuz)

kullanımının canlılık üzerine etkisinin diğer tüm hormon dozu ve kombinasyonlarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca TDZ ile NAA kombinasyonlarının genel olarak canlılık üzerine olumsuz etki ettiği, ancak BAP ile NAA ve KIN ile NAA kombinasyonlarının NAA ve BAP'ın tek başına etkisine göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.35. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda canlılık oranı (%)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	12,5 ^{n-p}	6,3 ^p	32,8 ^{i-k}
	0,5	18,8 ^{l-p}	21,9 ^{j-o}	53,1 ^{efg}
	1,0	9,4 ^{op}	53,1 ^{efg}	32,8 ^{i-k}
	1,5	20,3 ^{k-o}	29,7 ^{i-l}	62,5 ^{de}
	2,0	15,6 ^{m-p}	28,1 ^{i-m}	29,7 ^{i-l}
KIN	0	12,5 ^{n-p}	6,3 ^p	32,8 ^{i-k}
	0,5	31,3 ^{i-l}	34,4 ^{ij}	59,4 ^{ef}
	1,0	12,5 ^{n-p}	40,6 ^{ghi}	39,1 ^{hi}
	1,5	34,4 ^{ij}	39,1 ^{hi}	39,1 ^{hi}
	2,0	23,4 ^{j-n}	34,4 ^{ij}	29,7 ^{i-l}
TDZ	0	12,5 ^{n-p}	6,3 ^p	32,8 ^{i-k}
	0,5	76,6 ^c	56,3 ^{ef}	73,4 ^{cd}
	1,0	92,2 ^{ab}	34,4 ^{ij}	85,9 ^{abc}
	1,5	96,9 ^a	85,9 ^{abc}	50,0 ^{e-h}
	2,0	82,8 ^c	78,1 ^c	48,4 ^{fgh}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.2.3. Kotiledonların kallus oluşturma oranı üzerine BH'nin etkileri

Kotiledonların kallus oluşturma oranı üzerine, uygulamalar arasındaki farklılıklar çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.36).

Farklı hormon tipleri ve dozlarından oluşan uygulamaların kallus oluşum oranı üzerine etkileri incelendiğinde, ilk sırayı %65,6 ile 0,4 mg/l NAA + 0,0 mg/l BAP ve 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ kombinasyonlarının aldığı belirlenmiş ve bunu azalan sıra ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ, 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ (%60,9); 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP (%57,8); 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP

(%53,1); 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l KIN (%51,6); 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ ve 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ (%50) kombinasyonları izlemiştir. Kontrol dışında diğer tüm uygulamalardan kallus elde edilmiştir (Çizelge 4.37; Şekil 4.18).

Çizelge 4.36. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

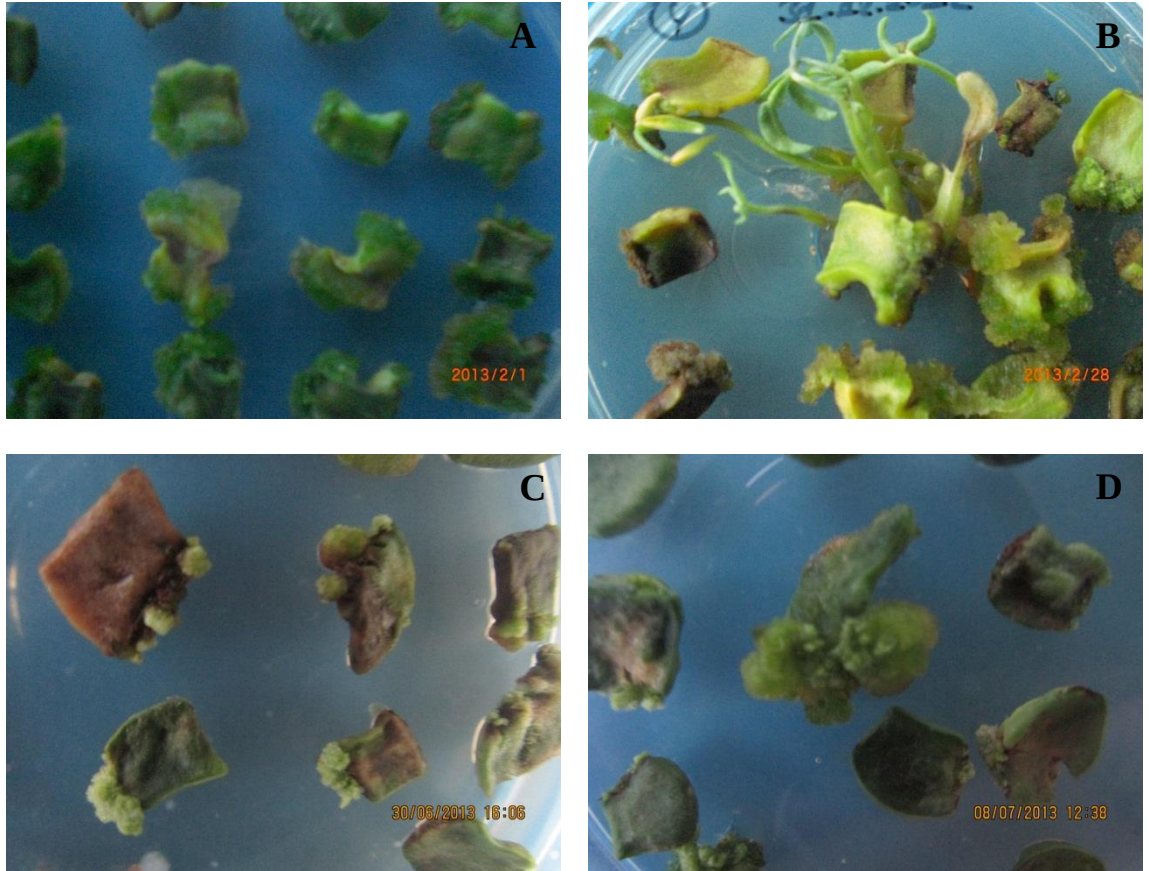
Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	1259,919	15,04	<,0001**
Hata	126	83,783		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Çizelge 4.37. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kotiledonlardan kallus oluşum oranı (%)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ^l	39,1 ^{e-h}	65,6 ^a
	0,5	25,0 ^{ij}	18,8 ^{jk}	60,9 ^{ab}
	1,0	34,4 ^{f-i}	29,7 ^{h-j}	46,9 ^{c-f}
	1,5	42,2 ^{d-h}	34,4 ^{f-i}	57,8 ^{abc}
	2,0	53,1 ^{a-d}	51,6 ^{b-e}	39,1 ^{e-h}
KIN	0	0,0 ^l	39,1 ^{e-h}	65,6 ^a
	0,5	32,8 ^{ghl}	40,6 ^{d-h}	46,9 ^{c-f}
	1,0	9,4 ^{kl}	39,1 ^{e-h}	40,6 ^{d-h}
	1,5	17,2 ^{jk}	51,6 ^{b-e}	34,4 ^{f-i}
	2,0	21,9 ^{i-k}	43,8 ^{d-g}	43,8 ^{d-g}
TDZ	0	0,0 ^l	39,1 ^{e-h}	65,6 ^a
	0,5	43,8 ^{d-g}	60,9 ^{ab}	46,9 ^{c-f}
	1,0	39,1 ^{e-h}	43,8 ^{d-g}	60,9 ^{ab}
	1,5	43,8 ^{d-g}	50,0 ^{b-e}	48,4 ^{b-e}
	2,0	43,8 ^{d-g}	50,0 ^{b-e}	65,6 ^a

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.18. Kotiledonlardan kallus oluşumu. **A)** 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü, **B)** 0,4 mg/l NAA içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü, **C)** 0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü, **D)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kotiledonlardan oluşan kallusların görünümü.

4.2.4. Hipokotilin sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Sürgün oluşturan eksplant sayısına (otuzuncu günün sonunda) ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.38'te verilmiştir. İlgili çizelgede görüldüğü gibi sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar çok önemli olmuştur.

Çizelge 4.38. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	65,430	28,04	<,0001**
Hata	126	2,333		
Genel Toplam	167			

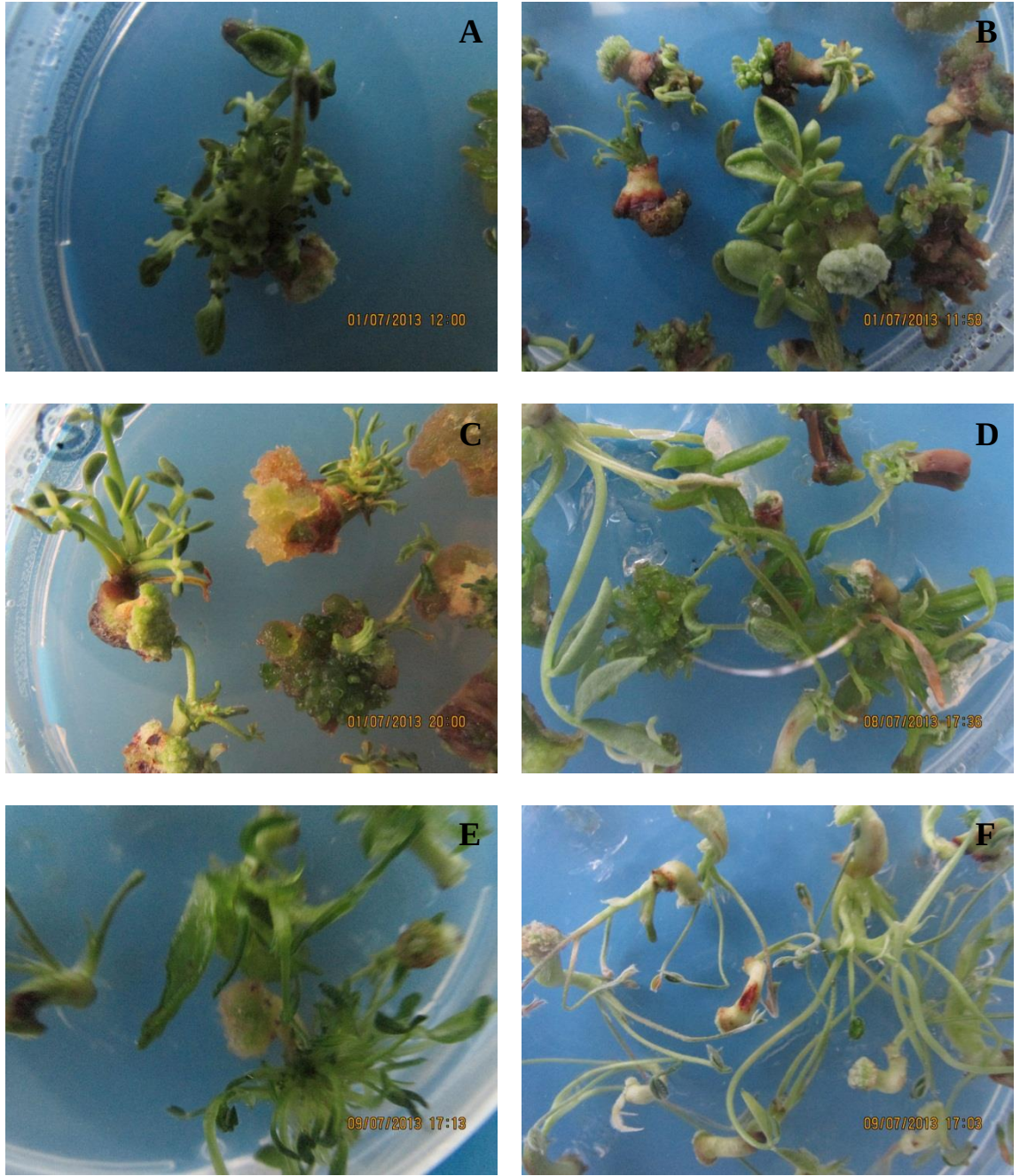
** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Çizelge 4.39’da verilen hormon tiplerinin kombinasyonlarına ait verilere bakıldığında, sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 13,0 adet sürgün ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l kinetin almış; bunu 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ (12,8 adet); 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin (12,3 adet); 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l kinetin, 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l kinetin, 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l kinetin (10,8 adet sürgün); 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l kinetin, 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ (10,3 adet sürgün); 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin, 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l kinetin (10,0 adet sürgün); 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l kinetin (9,3 adet sürgün), 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l kinetin (9,0 adet sürgün) ve 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l kinetin (8,8 adet sürgün) kombinasyonları izlemiştir. Diğer taraftan, herhangi bir hormon uygulamasının yapılmadığı kontrol gruptan elde edilen sürgün sayısı 16,0 adet olup, tüm uygulamalardan daha fazladır. Sürgün oluşumu bakımından en etkili hormonun kinetin olduğu görülmüştür (Çizelge 4.39; Şekil 4.19).

Çizelge 4.39. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	16,0 ^a	3,5 ^{n-p}	0,3 ^q
	0,5	6,3 ^{i-l}	5,5 ^{k-n}	2,5 ^p
	1,0	5,3 ^{k-n}	7,0 ^{h-k}	4,8 ^{l-o}
	1,5	5,5 ^{k-n}	5,0 ^{k-n}	5,5 ^{k-n}
	2,0	4,0 ^{m-p}	4,0 ^{m-p}	5,8 ^{j-m}
KIN	0	16,0 ^a	3,5 ^{n-p}	0,3 ^q
	0,5	10,0 ^{ef}	12,3 ^{bcd}	8,8 ^{e-h}
	1,0	9,0 ^{e-h}	10,8 ^{cde}	10,0 ^{ef}
	1,5	13,0 ^b	10,3 ^{def}	10,8 ^{cde}
	2,0	10,8 ^{cde}	8,3 ^{f-i}	9,3 ^{efg}
TDZ	0	16,0 ^a	3,5 ^{n-p}	0,3 ^q
	0,5	7,0 ^{h-k}	7,0 ^{h-k}	2,5 ^p
	1,0	10,3 ^{def}	12,8 ^{bc}	4,3 ^{l-p}
	1,5	7,8 ^{g-j}	4,8 ^{l-o}	3,5 ^{n-p}
	2,0	8,3 ^{f-i}	2,8 ^{op}	6,0 ^{j-m}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.19. Hipokotilden sürgün oluşumu. **A, B)** 1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** 0,2 mg/l NAA+2,0 mg/l KIN içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **E)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l KIN içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü, **F)** 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/l KIN içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan sürgünlerin görünümü.

4.2.5. Hipokotilin kök oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Hipokotilin kök oluşturma kapasitesi üzerine bitkisel hormonların etkilerini belirlemek amacıyla eksplantlar kültür ortamında 30 ve 60 gün olmak üzere iki farklı sürede tutulmuşlardır.

Hipokotilin eksplant olarak kullanılması durumunda otuzuncu günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı üzerine uygulamaların etkisi çok önemli olmuştur (Çizelge 4.40).

Çizelge 4.40. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	28,146	28,15	<,0001**
Hata	126	1,000		
Genel Toplam	167			

** : $p < 0,01$ düzeyinde çok önemli

Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan uygulamalara ait veriler incelendiğinde, hipokotilin eksplant olarak kullanılması durumunda 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 14,5 adet kök ile 0,4 mg/l NAA almış, bunu 8,0 adet ile 0,2 mg/l NAA izlemiş ve tüm hormon kombinasyonları arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Diğer taraftan, hiç hormon uygulanmadığı kontrol grupta ve 18 kombinasyonda kök elde edilememiştir. Ayrıca, kök oluşumu üzerine en az etkili hormonun TDZ olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.41. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ^h	8,0 ^b	14,5 ^a
	0,5	2,5 ^{de}	0,8 ^{igh}	0,5 ^{gh}
	1,0	2,3 ^{de}	0,5 ^{gh}	0,0 ^h
	1,5	0,0 ^h	1,5 ^{etg}	0,3 ^{gh}
	2,0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
KIN	0	0,0 ^h	8,0 ^b	14,5 ^a
	0,5	3,3 ^d	0,3 ^{gh}	0,5 ^{gh}
	1,0	2,5 ^{de}	0,3 ^{gh}	0,0 ^h
	1,5	2,0 ^{def}	0,3 ^{gh}	0,0 ^h
	2,0	0,5 ^{gh}	0,3 ^{gh}	0,0 ^h
TDZ	0	0,0 ^h	8,0 ^b	14,5 ^a
	0,5	0,0 ^h	5,0 ^c	0,0 ^h
	1,0	0,0 ^h	3,0 ^d	0,0 ^h
	1,5	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	2,0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Altmışıncı günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı üzerine, hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan uygulamaların etkisi çok önemli olmuştur (Çizelge 4.42).

Çizelge 4.42. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	50,976	22,78	<,0001 ^{**}
Hata	126	1,835		
Genel Toplam	167			

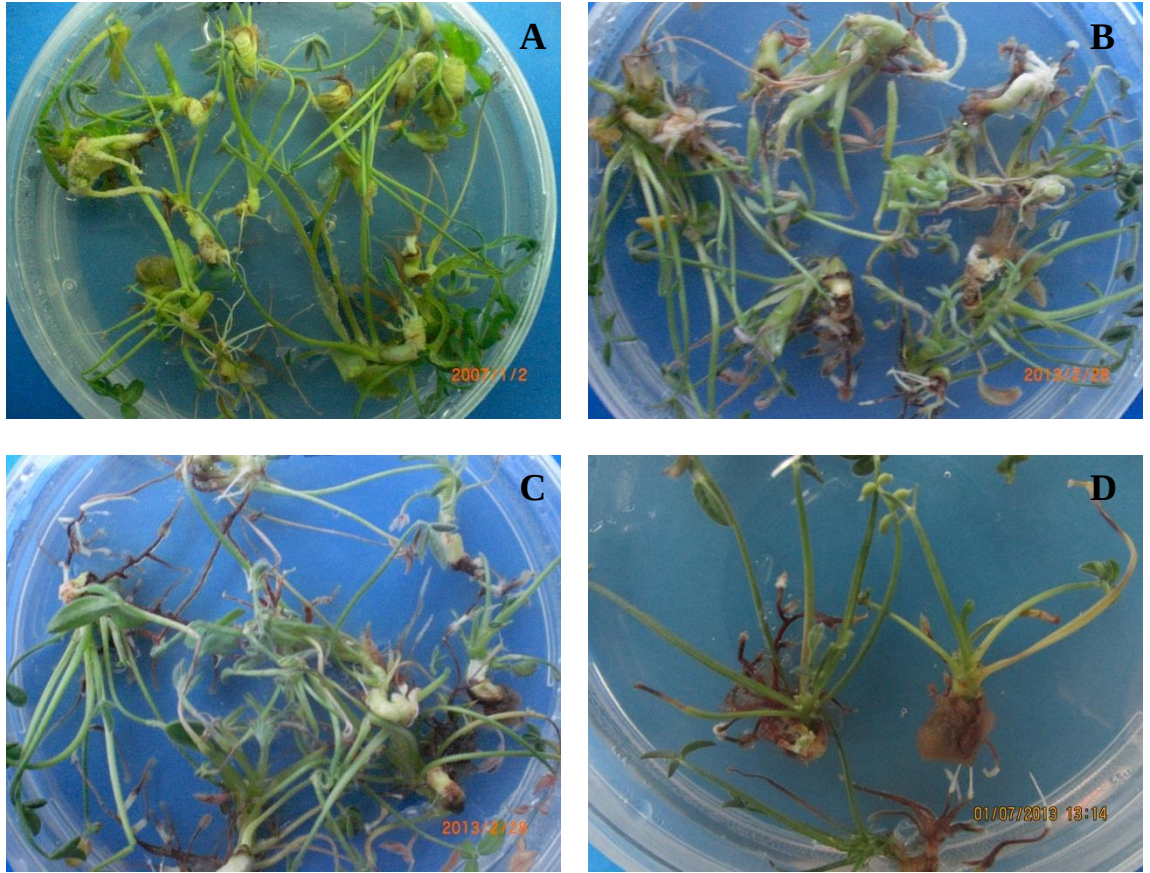
^{**} : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Kök oluşturma kapasitesi bakımından, otuzuncu günde olduğu gibi, altmışıncı günün sonunda da ilk sırayı 14,8 adet kök ile 0,4 mg/l NAA almış, bunu 9,5 adet ile kontrol grup, 8,5 adet ile 0,2 mg/l NAA izlemiş ve tüm hormon kombinasyonları arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur (Şekil 4.20). Diğer taraftan 13 kombinasyondan kök elde edilememiştir (Çizelge 4.43).

Çizelge 4.43. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	9,5 ^b	8,5 ^b	14,8 ^a
	0,5	5,0 ^c	0,8 ^{fg}	1,3 ^{e-h}
	1,0	2,8 ^{de}	2,0 ^{d-g}	0,0 ^h
	1,5	1,5 ^{d-h}	1,5 ^{d-h}	1,8 ^{d-h}
	2,0	1,5 ^{d-h}	0,8 ^{fg}	1,0 ^{e-h}
KIN	0	9,5 ^b	8,5 ^b	14,8 ^a
	0,5	3,3 ^{cd}	0,3 ^{gh}	0,5 ^{gh}
	1,0	2,5 ^{def}	0,5 ^{gh}	0,0 ^h
	1,5	2,0 ^{d-g}	0,8 ^{fg}	0,8 ^{fg}
	2,0	0,5 ^{gh}	0,5 ^{gh}	0,0 ^h
TDZ	0	9,5 ^b	8,5 ^b	14,8 ^a
	0,5	0,0 ^h	5,0 ^c	0,0 ^h
	1,0	0,0 ^h	4,8 ^c	0,0 ^h
	1,5	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	2,0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.20. Hipokotilden köklü sürgün oluşumu. **A)** 0,4 mg/l NAA içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **B,C)** 0,4 mg/l NAA içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü, **D)** 0,2 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 60. günün sonunda hipokotilden oluşan köklü sürgünlerin görünümü.

4.2.6. Hipokotilin kallus oluşturma oranı üzerine BH'nin etkileri

Hipokotilin kallus oluşturma oranı üzerine uygulamaların etkileri arasındaki farklılıklar çok önemli ($p < 0,01$) olmuştur (Çizelge 4.44).

Çizelge 4.44. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	2656,091	30,93	<,0001**
Hata	126	85,876		
Genel Toplam	167			

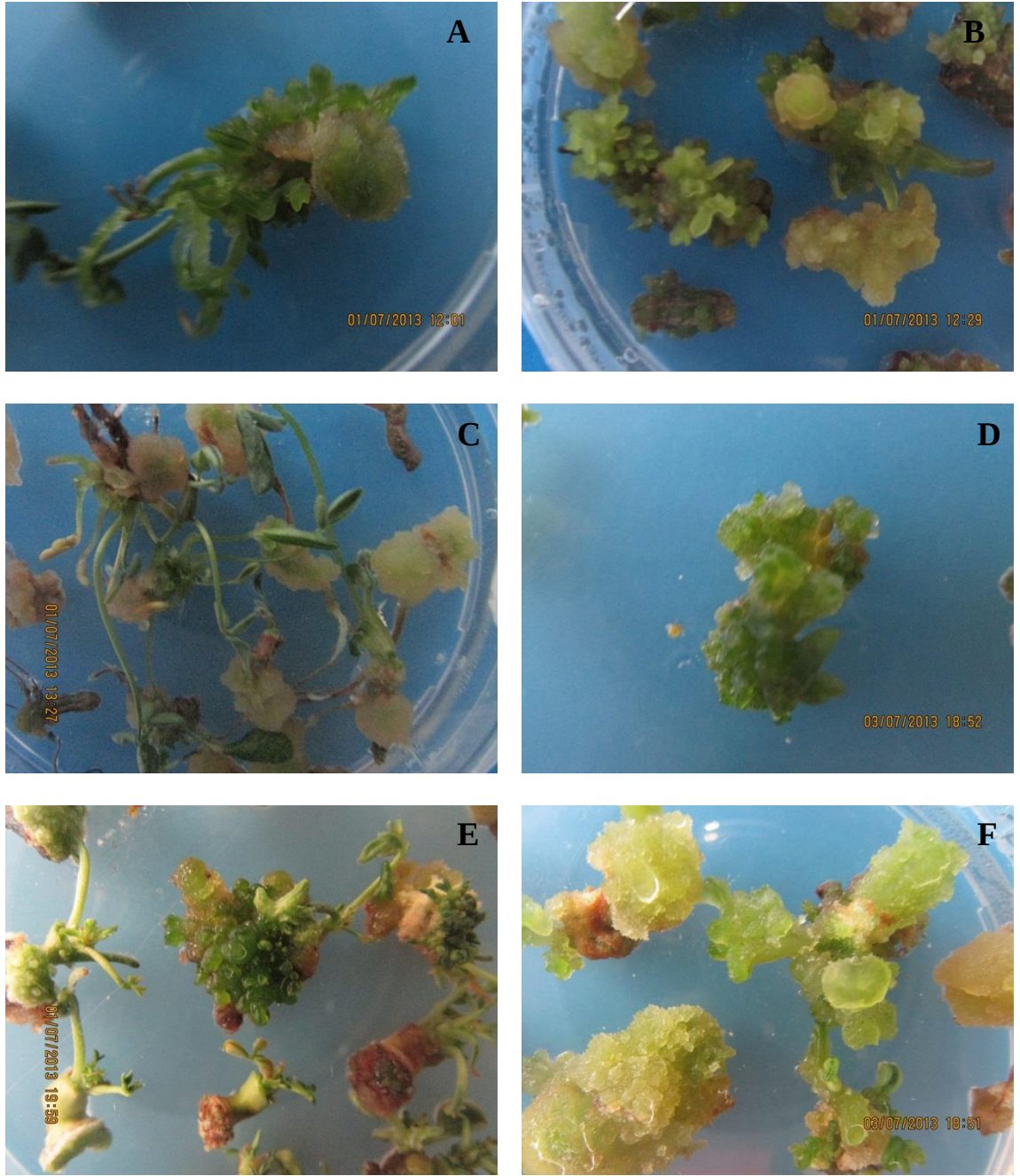
** : $p < 0,01$ düzeyinde çok önemli

Uygulamaların kallus oluşum oranları üzerine etkileri dikkate alındığında, kallus oluşum oranı bakımından ilk sırayı %84,4 ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ almış ve bunu azalan sıra ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ (%82,8); 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP (%81,3); 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ (%78,1); 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ ve 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP (%73,4); 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP (%71,9); 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ (%70,3); 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP (%64,1); 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP (%62,5); 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP (%60,9) ve 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP (%59,4) kombinasyonları izlemiştir. Kontrol dışında diğer tüm uygulamalardan kallus elde edilmiştir (Çizelge 4.45; Şekil 4.21).

Çizelge 4.45. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranı (%)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ^u	20,3 ^{qrs}	7,8 ^{s-u}
	0,5	45,3 ^{t-m}	60,9 ^{c-g}	81,3 ^{ab}
	1,0	53,1 ^{f-j}	53,1 ^{f-j}	70,3 ^{b-e}
	1,5	60,9 ^{c-g}	59,4 ^{d-h}	64,1 ^{c-f}
	2,0	71,9 ^{a-d}	73,4 ^{abc}	62,5 ^{c-f}
KIN	0	0,0 ^u	20,3 ^{qrs}	7,8 ^{s-u}
	0,5	17,2 ^{r-t}	21,9 ^{pqr}	42,2 ^{j-n}
	1,0	28,1 ^{o-r}	31,2 ^{n-q}	37,5 ^{k-o}
	1,5	6,3 ^{tu}	34,4 ^{l-p}	32,8 ^{m-q}
	2,0	29,7 ^{n-r}	46,9 ^{h-l}	42,2 ^{j-n}
TDZ	0	0,0 ^u	20,3 ^{qrs}	7,8 ^{s-u}
	0,5	56,3 ^{f-i}	21,9 ^{pqr}	84,4 ^a
	1,0	34,4 ^{l-p}	1,6 ^u	73,4 ^{abc}
	1,5	51,6 ^{f-j}	70,3 ^{b-e}	78,1 ^{ab}
	2,0	48,4 ^{g-k}	82,8 ^{ab}	57,8 ^{e-i}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.21. Hipokotilden kallus oluşumu. **A)** 1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **B)** 1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **D)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **E)** 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü, **F)** 0,4 mg/l NAA+2,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda hipokotilden oluşan kallusların görünümü.

4.2.7. Kökün sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Kökün sürgün oluşturma kapasitesi üzerine bitkisel hormonların etkilerini belirlemek amacıyla eksplantlar kültür ortamında 30, 60 ve 90 gün olmak üzere üç farklı sürede tutulmuşlardır. Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda otuzuncu günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı üzerine uygulamaların etkisi çok önemli olmuştur (Çizelge 4.46).

Çizelge 4.46. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	4,146	5,65	<,0001**
Hata	126	0,734		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda, otuzuncu günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 4,5 adet sürgün ile 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP almış; bunu 2,8 adet sürgün ile 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l KIN, 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ; 2,3 adet ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l KIN, 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l KIN ve 2,0 adet ile 0,2 mg/l NAA izlemiş ve tüm hormon tipleri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Kontrolde ise sürgün oluşumu 0,3 adet olmuştur. Çalışmada kullanılan iki kombinasyonda kontrolle aynı sonuç elde edilmiş, oniki kombinasyonda ise hiç sürgün oluşmamıştır (Çizelge 4.47; Şekil 4.22).

Çizelge 4.47. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,3 ^{gh}	2,0 ^{bcd}	1,3 ^{c-g}
	0,5	4,5 ^a	2,8 ^b	1,0 ^{d-h}
	1,0	1,3 ^{c-g}	1,5 ^{c-f}	0,0 ^h
	1,5	1,5 ^{c-f}	1,3 ^{c-g}	1,0 ^{d-h}
	2,0	0,8 ^{e-h}	1,8 ^{b-e}	0,0 ^h
KIN	0	0,3 ^{gh}	2,0 ^{bcd}	1,3 ^{c-g}
	0,5	0,0 ^h	0,8 ^{e-h}	2,3 ^{bc}
	1,0	2,3 ^{bc}	0,8 ^{e-h}	2,8 ^b
	1,5	0,8 ^{e-h}	0,0 ^h	0,0 ^h
	2,0	1,0 ^{d-h}	0,0 ^h	0,0 ^h
TDZ	0	0,3 ^{gh}	2,0 ^{bcd}	1,3 ^{c-g}
	0,5	0,8 ^{e-h}	2,8 ^b	0,3 ^{gh}
	1,0	0,8 ^{e-h}	0,3 ^{gh}	0,0 ^h
	1,5	0,0 ^h	0,0 ^h	0,5 ^{fgh}
	2,0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,8 ^{e-h}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Altmışıncı günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.48’te gösterilmiştir. İlgili çizelgeden görüleceği gibi uygulamalar arasındaki farklılıklar çok önemli olmuştur.

Çizelge 4.48. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	53,290	15,97	<,0001**
Hata	126	3,337		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda altmışıncı günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 14,8 adet sürgün ile 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP almış; bunu 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP (13,3 adet); 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP (12,5 adet); 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP (11,0 adet sürgün); 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP (10,5 adet); 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l KIN (9,3 adet sürgün); 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP ile 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP (7,8 adet sürgün); 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l KIN (6,5 adet sürgün) ve 0,4 mg/l NAA (5,0 adet sürgün)

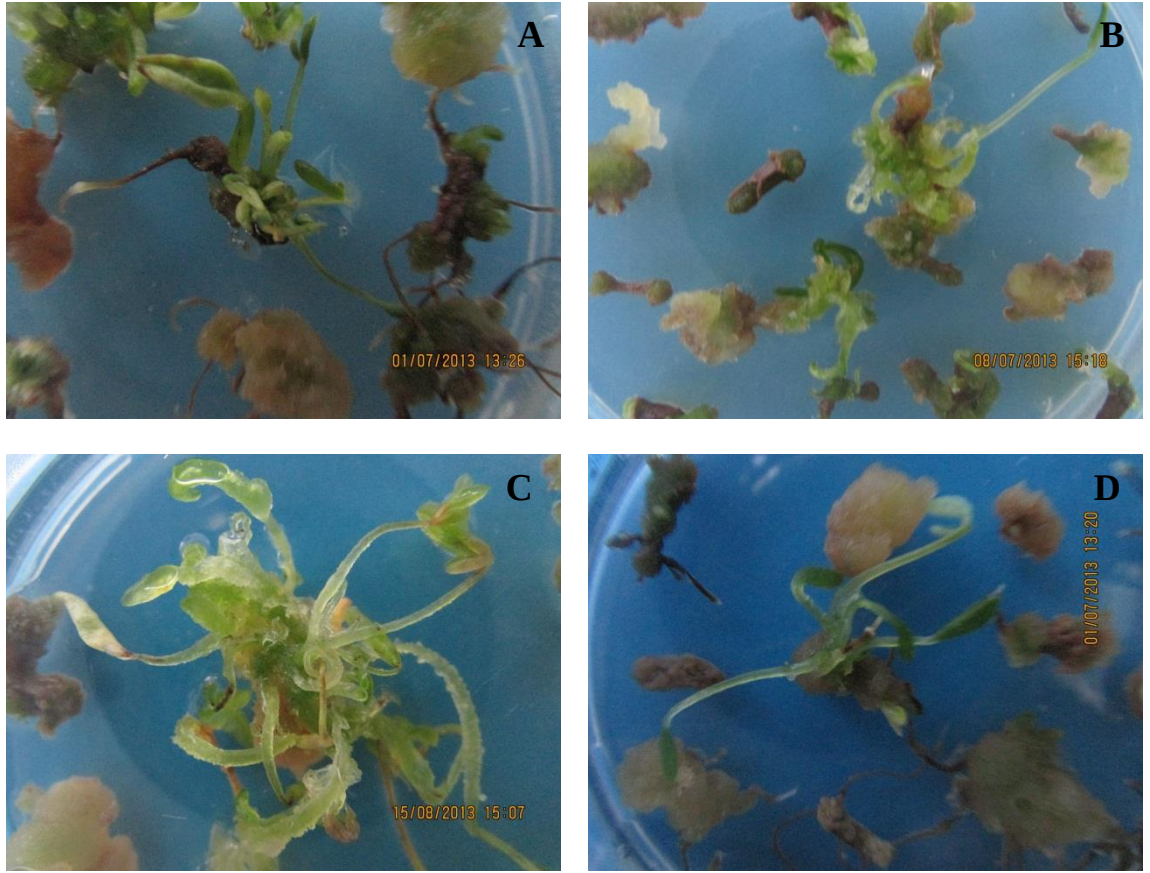
kombinasyonları izlemiştir (Şekil 4.22). Diğer taraftan, herhangi bir hormonun uygulanmadığı kontrol grupta oluşan sürgün sayısı 2,0 adet olup, uygulamaların çoğundan elde edilene göre daha azdır (Çizelge 4.49).

Çizelge 4.49. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	2,0 ^{k-p}	3,3 ^{i-o}	5,0 ^{gh}
	0,5	7,8 ^{ef}	7,8 ^{efg}	4,0 ^{h-l}
	1,0	11,0 ^{bcd}	4,5 ^{h-k}	1,0 ^{n-p}
	1,5	13,3 ^{ab}	10,5 ^{cd}	3,8 ^{i-m}
	2,0	14,8 ^a	12,5 ^{abc}	4,0 ^{h-l}
KIN	0	2,0 ^{k-p}	3,3 ^{i-o}	5,0 ^{gh}
	0,5	3,5 ⁱ⁻ⁿ	2,0 ^{k-p}	3,8 ^{i-m}
	1,0	9,3 ^{de}	2,3 ^{j-p}	3,8 ^{i-m}
	1,5	3,3 ^{i-o}	3,5 ⁱ⁻ⁿ	6,5 ^{fgh}
	2,0	3,8 ^{i-m}	3,5 ⁱ⁻ⁿ	2,8 ^{i-o}
TDZ	0	2,0 ^{k-p}	3,3 ^{i-o}	5,0 ^{gh}
	0,5	4,8 ^{h-j}	2,8 ^{i-o}	1,5 ^{l-p}
	1,0	0,8 ^{op}	2,3 ^{j-p}	1,3 ^{m-p}
	1,5	4,5 ^{h-k}	0,0 ^p	0,0 ^p
	2,0	1,0 ^{n-p}	0,8 ^{op}	1,5 ^{l-p}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda doksanıncı günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı üzerine uygulamaların etkisi çok önemli olmuştur (Çizelge 4.50).



Şekil 4.22. Kökten sürgün oluşumu. **A)** 2,0 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **B)** 1,5 mg/l BAP içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+2,0 mg/l BAP içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü, **D)** 1 mg/l BAP içeren ortamda 60. günün sonunda kökten oluşan sürgünlerin görünümü.

Çizelge 4.50. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	202,356	23,56	<,0001**
Hata	126	8,589		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Doksanıncı günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 29,0 adet sürgün ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP almış; bunu 27,0 adet ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP; 24,5 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; 20,3 adet ile 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP; 18,0 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; 12,5 adet ile 0,0

mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP; 12,0 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP ve 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; 11,0 adet ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP; 9,3 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l KIN ve 8,3 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP kombinasyonları izlemiş ve tüm hormon tipleri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Sürgün oluşumu kontrolde ise 3,3 adet olmuştur. Çalışmada kullanılan onbir kombinasyonda kontrole göre daha düşük sayıda sürgün elde edilmiştir. Sürgün oluşumunda en etkili hormonun BAP olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.51) .

Çizelge 4.51. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	3,3 ^{i-m}	3,5 ^{i-m}	5,8 ^{g-l}
	0,5	12,5 ^d	12,5 ^d	11,0 ^{df}
	1,0	24,5 ^b	12,0 ^{de}	12,0 ^{de}
	1,5	29,0 ^a	18,0 ^c	8,3 ^{e-h}
	2,0	20,3 ^c	27,0 ^{ab}	6,0 ^{g-k}
KIN	0	3,3 ^{i-m}	3,5 ^{i-m}	5,8 ^{gl}
	0,5	7,0 ^{f-i}	2,5 ^{j-m}	3,8 ^{i-m}
	1,0	9,3 ^{d-g}	2,3 ^{klm}	3,8 ^{i-m}
	1,5	3,3 ^{i-m}	3,8 ^{i-m}	6,5 ^{g-j}
	2,0	3,8 ^{i-m}	3,5 ^{i-m}	2,8 ^{j-m}
TDZ	0	3,3 ^{i-m}	3,5 ^{i-m}	5,8 ^{g-l}
	0,5	5,0 ^{h-m}	4,3 ^{h-m}	1,8 ^{lm}
	1,0	3,0 ^{i-m}	2,8 ^{j-m}	1,5 ^m
	1,5	4,5 ^{h-m}	1,0 ^m	1,0 ^m
	2,0	4,0 ^{i-m}	1,3 ^m	1,5 ^m

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.2.8. Kök eksplantının köklenme kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Otuzuncu günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.52'de verilmiştir. İlgili çizelgeden görüleceği gibi köklenme kapasitesi üzerine uygulamaların etkisi çok önemli olmuştur.

Çizelge 4.52. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	14,037	13,03	<,0001**
Hata	126	1,077		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 5,8 adet kök ile herhangi bir hormon uygulamasının yapılmadığı kontrol grup almış; bunu 4,8 adet ile 0,2 mg/l NAA; 3,8 adet ile 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l KIN; 1,8 adet ile 0,4 mg/l NAA; 1,3 adet ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l KIN; 0,8 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l KIN ve 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l KIN izlemiş ve tüm uygulamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Diğer taraftan uygulamalardan 32 tanesinde kök elde edilememiştir. Ayrıca, hormon tipi yönünden değerlendirildiğinde BAP ve TDZ'nin katıldığı tüm kombinasyonlarda kök oluşmamıştır (Çizelge 4.53).

Çizelge 4.53. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet)

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	5,8 ^a	4,8 ^{ab}	1,8 ^c
	0,5	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,0	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,5	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
	2,0	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
KIN	0	5,8 ^a	4,8 ^{ab}	1,8 ^c
	0,5	0,0 ^d	3,8 ^b	0,0 ^d
	1,0	0,0 ^d	0,8 ^{cd}	0,0 ^d
	1,5	0,0 ^d	0,5 ^{cd}	0,0 ^d
	2,0	0,0 ^d	1,3 ^{cd}	0,0 ^d
TDZ	0	5,8 ^a	4,8 ^{ab}	1,8 ^c
	0,5	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,0	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,5	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d
	2,0	0,0 ^d	0,0 ^d	0,0 ^d

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.2.9. Köklerden elde edilen eksplantların köklenmesi üzerine BH'nin etkileri

Çizelge 4.54'de verilen varyans analizi sonuçlarına göre kök eksplantından elde edilen sürgünlerin doksanıncı günün sonunda köklenmesi üzerine uygulamaların etkisi çok önemli olmuştur.

Çizelge 4.54. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda köklenen eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	1,591	9,22	<,0001**
Hata	126	0,173		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda oluşan sürgünlerin doksanıncı günün sonunda köklenmeleri bakımından ilk sırayı 2,8 adet sürgün ile 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ almış, bunu 1,5 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ ve kontrol grup izlemiştir.. Çalışmada kullanılan diğer uygulamalarda köklenme olmamıştır (Çizelge 4.55).

Çizelge 4.55. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda köklenen eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	1,5 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c
	0,5	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	1,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	1,5	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	2,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
KIN	0	1,5 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c
	0,5	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	1,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	1,5	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	2,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
TDZ	0	1,5 ^b	0,0 ^c	0,0 ^c
	0,5	0,0 ^c	2,8 ^a	0,0 ^c
	1,0	0,0 ^c	1,5 ^b	0,0 ^c
	1,5	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c
	2,0	0,0 ^c	0,0 ^c	0,0 ^c

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.2.10. Kökün kallus oluşturma oranı üzerine BH'nin etkileri

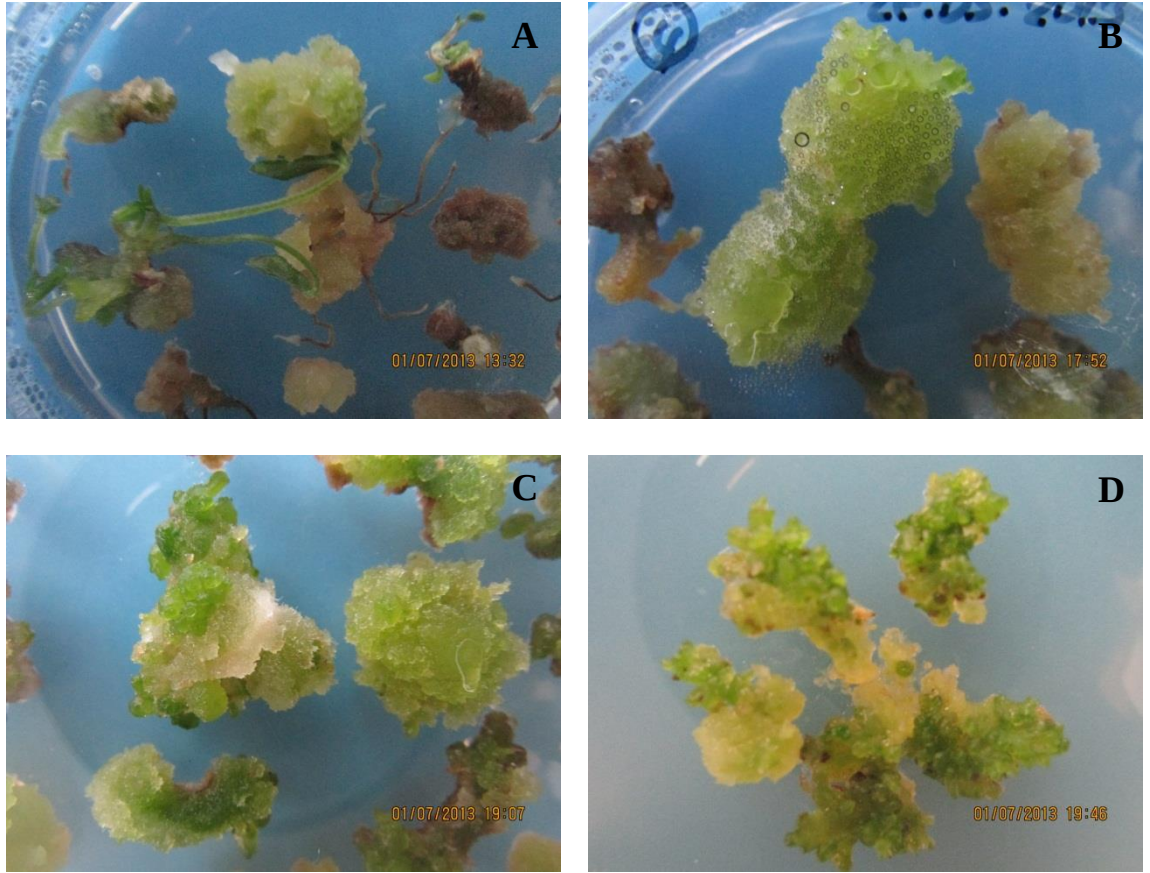
Kökün kallus oluşturma oranı üzerine, uygulamalar arasındaki farklılıklar çok önemli ($p<0,01$) olmuştur (Çizelge 4.56).

Çizelge 4.56. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	2480,089	21,12	<,0001**
Hata	126	117,420		
Genel Toplam	167			

** : $p<0,01$ düzeyinde çok önemli

En yüksek kallus oluşum oranı %98,4 ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ ve 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ uygulamalarından elde edilmiş, bunu %95,3 ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ ve 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ; %93,8 ile 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP, 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP ve 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ; %90,6 ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP, %89,1 ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP ve 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l KIN; %87,5 ile ve 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; %85,9 ile 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP ve 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l KIN; %84,4 ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; %82,8 ile 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; %81,3 ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l KIN; 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP ve 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP kombinasyonları izlemiştir (Şekil 4.23). En düşük kallus oluşum oranı ise %26,6 ile kontrol gruptan elde edilmiştir (Çizelge 4.57).



Şekil 4.23. Kökten kallus oluşumu. **A)** 0,2 mg/l NAA+1,0 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **B)** 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **C)** 0,2 mg/l NAA+1,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü, **D)** 0,4 mg/l NAA+0,5 mg/l TDZ içeren ortamda 30. günün sonunda kökten oluşan kallusların görünümü.

Çizelge 4.57. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 30. günün sonunda kallus oluşum oranı (%)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	26,6 ^{lm}	53,1 ^k	34,4 ^l
	0,5	93,8 ^{abc}	67,2 ^{g-k}	81,3 ^{b-g}
	1,0	89,1 ^{a-d}	87,5 ^{a-d}	82,8 ^{b-f}
	1,5	95,3 ^{ab}	84,4 ^{a-e}	93,8 ^{abc}
	2,0	85,9 ^{a-d}	90,6 ^{abc}	81,3 ^{b-g}
KIN	0	26,6 ^{lm}	53,1 ^k	34,4 ^l
	0,5	89,1 ^{a-d}	68,8 ^{f-j}	56,3 ^{jk}
	1,0	68,8 ^{f-j}	70,3 ^{e-j}	68,8 ^{f-j}
	1,5	67,2 ^{g-k}	81,3 ^{b-g}	68,8 ^{f-j}
	2,0	65,6 ^{h-k}	68,8 ^{f-j}	85,9 ^{a-d}
TDZ	0	26,6 ^{lm}	53,1 ^k	34,4 ^l
	0,5	62,5 ^{i-k}	34,4 ^l	98,4 ^a
	1,0	79,7 ^{c-h}	32,8 ^{lm}	93,8 ^{abc}
	1,5	70,3 ^{e-j}	98,4 ^a	95,3 ^{ab}
	2,0	79,7 ^{c-h}	95,3 ^{ab}	75,0 ^{d-i}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.2.11. Köklerin canlı kalma oranı üzerine BH'nin etkileri

Doksanıncı gün sonunda kök eksplantının canlılık oranı üzerine uygulamaların etkisi istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur (Çizelge 4.58).

Çizelge 4.58. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda eksplantların canlılık oranına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	578,548	5,57	<,0001**
Hata	126	103,779		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

Köklerin canlı kalma oranı bakımından ilk sırayı %67,2 ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ uygulaması almış, bunu %59,4 ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP; %56,3 ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ; %54,7 ile 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l KIN; %48,4 ile 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ; %45,3 ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP, 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ; %43,8 ile 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP, 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l

TDZ; %42,2 ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l KIN, 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l KIN, 0,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ, 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l KIN ve %37,5 ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ ve 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP uygulamaları takip etmiştir. Diğer taraftan canlılık oranı kontrol grupta %34,4 olarak tespit edilmiş, denemede kullanılan diğer 21 kombinasyonda ise canlılık oranı kontrole göre daha düşük olmuştur (Çizelge 4.59).

Çizelge 4.59. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre 90. günün sonunda eksplantların canlılık oranı (%)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	34,4 ^{d-i}	15,6 ^j	15,6 ^j
	0,5	31,3 ^{e-i}	28,1 ^{g-j}	23,4 ^{h-j}
	1,0	37,5 ^{d-h}	25,0 ^{h-j}	25,0 ^{h-j}
	1,5	32,8 ^{e-i}	45,3 ^{b-e}	37,5 ^{d-h}
	2,0	43,8 ^{c-f}	59,4 ^{ab}	25,0 ^{h-j}
KIN	0	34,4 ^{d-i}	15,6 ^j	15,6 ^j
	0,5	54,7 ^{abc}	32,8 ^{e-i}	29,7 ^{f-j}
	1,0	28,1 ^{g-j}	32,8 ^{e-i}	21,9 ^{ij}
	1,5	42,2 ^{c-g}	42,2 ^{c-g}	21,9 ^{ij}
	2,0	42,2 ^{c-g}	21,9 ^{ij}	23,4 ^{h-j}
TDZ	0	34,4 ^{d-i}	15,6 ^j	15,6 ^j
	0,5	42,2 ^{c-g}	48,4 ^{bcd}	56,3 ^{abc}
	1,0	43,8 ^{c-f}	29,7 ^{f-j}	25,0 ^{h-j}
	1,5	34,4 ^{d-i}	37,5 ^{d-h}	15,6 ^j
	2,0	45,3 ^{b-e}	67,2 ^a	20,3 ^{ij}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.2.12. Eksplant sayısına göre embriyogenik kallus oluşumu

Sıkı yapılı, sert dokulu, dağılabilir özellikli ve krem renkli kalluslar embriyogenik kallus; sulu yapılı, beyaz kalluslar ise embriyogenik olmayan kallus olarak değerlendirilmiştir. Kök eksplantının embriyogenik kallus oluşumu üzerine uygulamaların etkileri arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur (Çizelge 4.60).

Çizelge 4.60. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre embriyogenik kallus oluşturan eksplant sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	45,391	38,06	<,0001**
Hata	126	1,192		
Genel Toplam	167			

** : p<0,01 düzeyinde çok önemli

En fazla sayıda embriyogenik kallus oluşumu 9,5 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP ve 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP'dan elde edilmiş; bunu 9,3 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; 8,8 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; 8,5 adet ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP ve 8,0 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP izlemiştir. Kontrolde ise embriyogenik kallus oluşmamıştır. Denemede kullanılan hormonlardan embriyogenik kallus oluşumu üzerine etkisi bakımından ilk sırada BAP, ikinci sırada ise TDZ'nin yer aldığı, ancak kinetinin etki etmediği görülmektedir (Çizelge 4.61).

Çizelge 4.61. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre embriyogenik kallus oluşturan eksplant sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ^k	0,0 ^k	0,0 ^k
	0,5	7,5 ^{bc}	6,8 ^{cd}	2,3 ^{ij}
	1,0	9,5 ^a	8,8 ^{ab}	2,5 ^{h-j}
	1,5	9,5 ^a	9,3 ^a	8,0 ^{abc}
	2,0	7,3 ^{bcd}	8,5 ^{ab}	5,0 ^{ef}
KIN	0	0,0 ^k	0,0 ^k	0,0 ^k
	0,5	0,0 ^k	0,0 ^k	0,0 ^k
	1,0	0,0 ^k	0,0 ^k	0,0 ^k
	1,5	0,0 ^k	0,0 ^k	0,0 ^k
	2,0	0,0 ^k	0,0 ^k	0,0 ^k
TDZ	0	0,0 ^k	0,0 ^k	0,0 ^k
	0,5	2,3 ^{ij}	0,0 ^k	3,5 ^{f-j}
	1,0	4,0 ^{fgh}	0,0 ^k	4,3 ^{etg}
	1,5	5,8 ^{de}	2,8 ^{g-j}	3,8 ^{t-i}
	2,0	4,8 ^{ef}	4,0 ^{fgh}	2,0 ^j

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

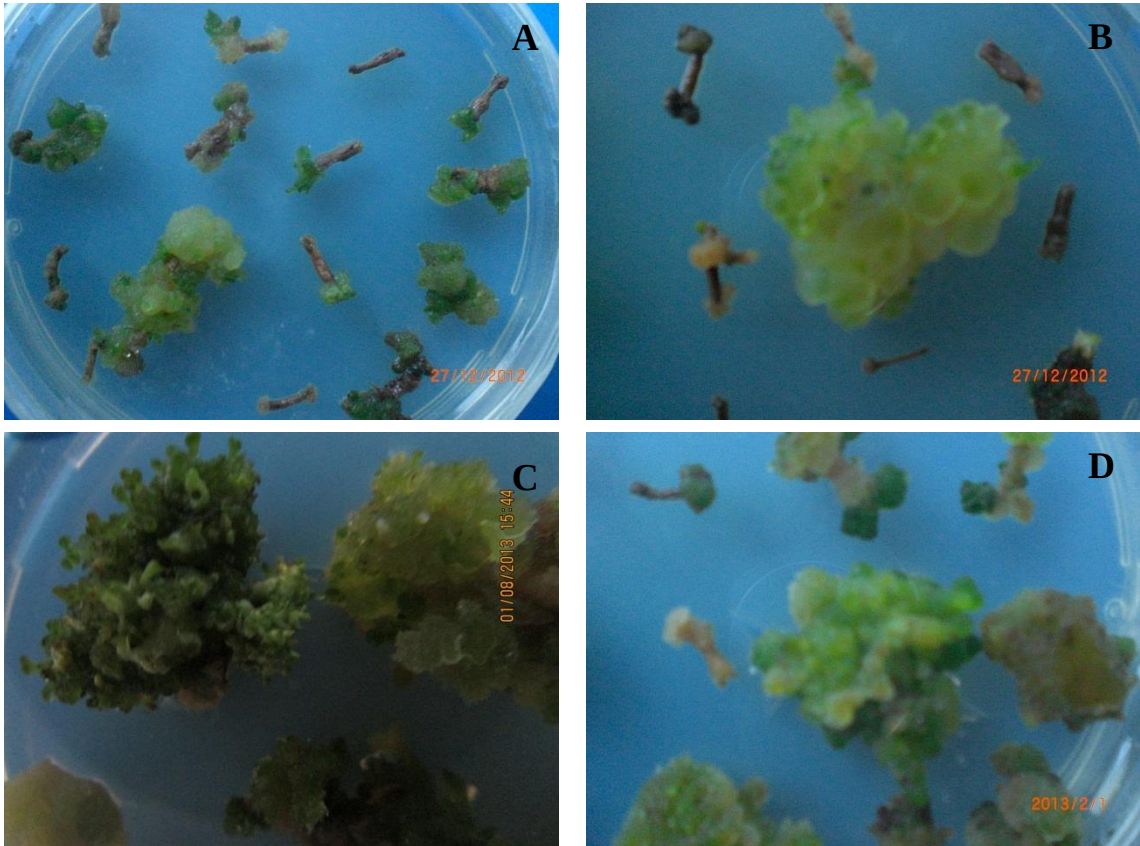
4.2.13. Muamelelere göre oluşan somatik embriyo sayısı

Kök eksplantının somatik embriyo oluşumu (Şekil 4.24) üzerine uygulamaların etkisine ait varyans analizi sonuçları Çizelge 4.62’de gösterilmiştir. İlgili çizelgeden görüleceği gibi, uygulamaların etkisi istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur.

Çizelge 4.62. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre somatik embriyo sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	1324,671	10,58	<,0001**
Hata	126	125,188		
Genel Toplam	167			

** : $p < 0,01$ düzeyinde çok önemli



Şekil 4.24. Kökten kallus oluşumu. **A)** 1 mg/l BAP içeren ortamda oluşan kallusların görünümü **B)** 2 mg/l BAP içeren ortamda oluşan kallusların görünümü **C)** 0,2 mg/l NAA+2 mg/l TDZ içeren ortamda oluşan kallusların görünümü **D)** 0,4 mg/l NAA+1,5 mg/l BAP içeren ortamda oluşan kallusların görünümü

Muameleler karşılaştırıldığında en yüksek sayıda somatik embriyo oluşumu 55,0 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP'dan elde edilmiş; bunu 50,5 adet ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ; 44,3 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; 43,3 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; 41,5 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; 40,3 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ; 38 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ; 37,5 adet ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ ve 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ izlemiştir (Çizelge 4.63).

Çizelge 4.63. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre somatik embriyo sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	0,5	19,8 ^{fg}	28,8 ^{c-f}	20,3 ^{fg}
	1,0	43,3 ^{a-d}	32,8 ^{c-f}	31,8 ^{c-f}
	1,5	44,3 ^{abc}	41,5 ^{a-e}	55,0 ^a
	2,0	31,3 ^{c-f}	30,3 ^{c-f}	28,3 ^{def}
KIN	0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	0,5	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	1,0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	1,5	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	2,0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
TDZ	0	0,0 ^h	0,0 ^h	0,0 ^h
	0,5	21,3 ^{fg}	0,0 ^h	37,5 ^{b-e}
	1,0	26,3 ^{efg}	0,0 ^h	37,5 ^{b-e}
	1,5	38,0 ^{b-e}	20,5 ^{fg}	40,3 ^{a-e}
	2,0	27,5 ^{efg}	50,5 ^{ab}	12,0 ^{gh}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

4.2.14. Eksplant başına düşen somatik embriyo sayısı

Eksplant başına düşen somatik embriyo sayısına ait uygulamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur (Çizelge 4.64).

Çizelge 4.64. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre eksplant başına düşen somatik embriyo sayısına ilişkin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F	P
Muamele	41	5,174	10,58	<,0001 ^{**}
Hata	126	0,489		
Genel Toplam	167			

^{**} : p<0,01 düzeyinde çok önemli

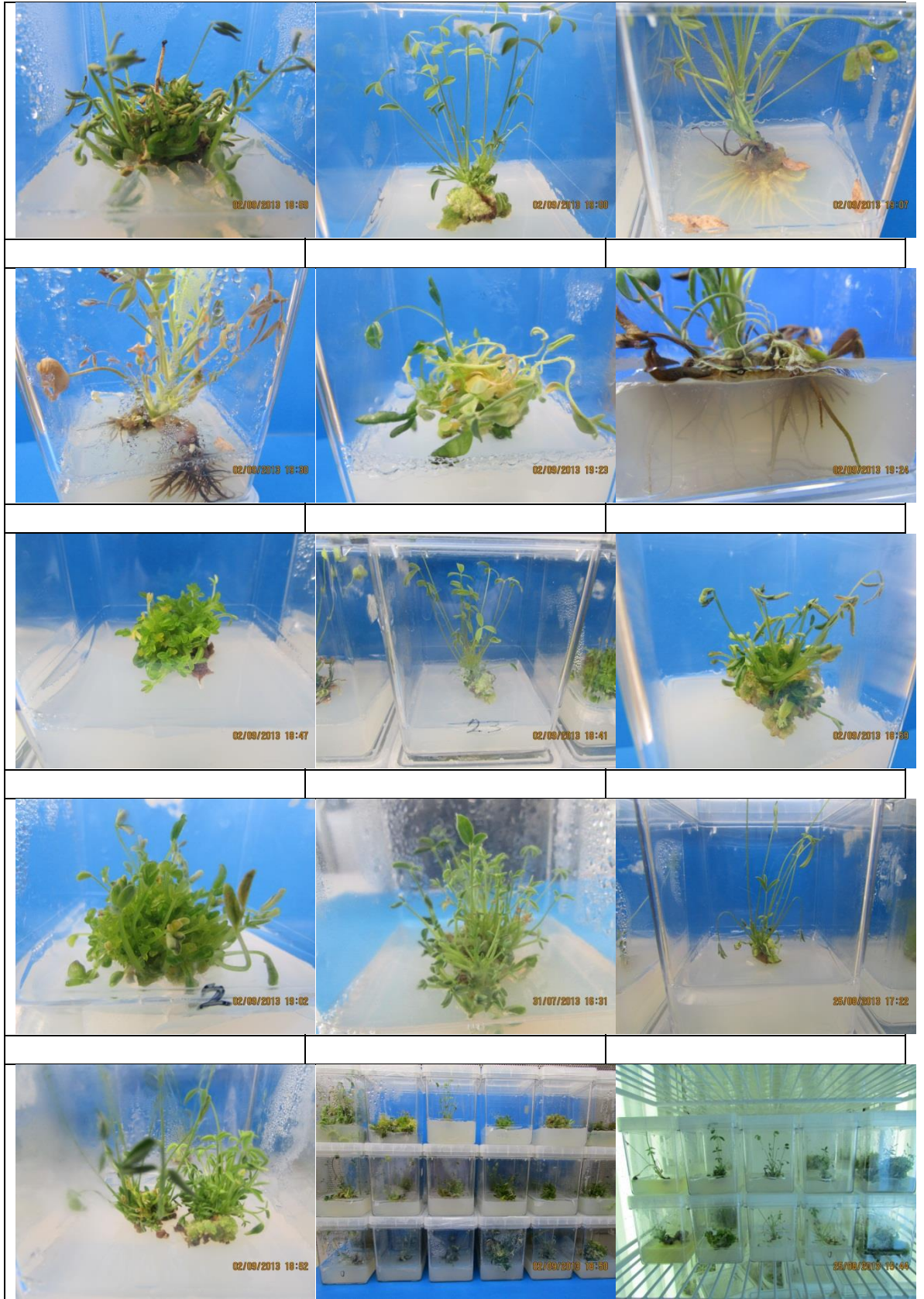
Eksplant başına düşen somatik embriyo sayısına göre uygulamalar karşılaştırıldığında en yüksek somatik embriyo sayısının 3,4 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP uygulamasından elde edildiği görülmüştür. Bunu 3,2 adet ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ; 2,8 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; 2,7 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP; 2,6 adet ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP; 2,5 adet ile 0,4 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ; 2,4 adet ile 0,0 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ; 2,3 adet ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ, 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l TDZ; 2,0 adet ile 0,0 mg/l NAA + 2,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP ve 0,4 mg/l NAA + 1,0 mg/l BAP izlemiştir (Çizelge 4.65).

Diğer taraftan, kontrolde ve hormon kombinasyonlarını içeren uygulamalardan 20 tanesinde herhangi bir somatik embriyo oluşumu gözlenmemiştir. Ayrıca, hormon tipleri arasında genel bir değerlendirme yapıldığında BAP ve TDZ'nin daha iyi sonuç verdiği, kinetinin ise herhangi bir etkisinin olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.65. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre eksplant başına düşen somatik embriyo sayısı (adet)¹

Hormon	Doz (mg/l)	NAA		
		0	0,2	0,4
BAP	0	0,0 ^f	0,0 ^f	0,0 ^f
	0,5	1,2 ^{de}	1,8 ^{cde}	1,3 ^{de}
	1,0	2,7 ^{abc}	2,0 ^{bcd}	2,0 ^{cd}
	1,5	2,8 ^{abc}	2,6 ^{abc}	3,4 ^a
	2,0	2,0 ^{cd}	1,9 ^{cde}	1,8 ^{cde}
KIN	0	0,0 ^f	0,0 ^f	0,0 ^f
	0,5	0,0 ^f	0,0 ^f	0,0 ^f
	1,0	0,0 ^f	0,0 ^f	0,0 ^f
	1,5	0,0 ^f	0,0 ^f	0,0 ^f
	2,0	0,0 ^f	0,0 ^f	0,0 ^f
TDZ	0	0,0 ^f	0,0 ^f	0,0 ^f
	0,5	1,3 ^{de}	0,0 ^f	2,3 ^{a-d}
	1,0	1,6 ^{cde}	0,0 ^f	2,3 ^{a-d}
	1,5	2,4 ^{a-d}	1,3 ^{de}	2,5 ^{abc}
	2,0	1,7 ^{cde}	3,2 ^{ab}	0,8 ^{ef}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.



Şekil 4.25. Magenta kutularına aktarılan eksplantların görünümü

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Tartışma

Yapılan bu çalışmada memeli cinsiyet hormonları ve bitkisel hormonların doku kültürü şartlarında korungada kallus oluşumu ve rejenerasyon üzerine olan etkileri araştırılmıştır. İnsanların beslenmesinde en çok kullanılan yaklaşık 30 bitki grubu içinde en önemlilerini tahıllar, endüstri bitkileri, sebzeler, meyve ağaçları ve baklagiller oluşturmaktadır (Babaoğlu 2001). Yurdumuzda yonca, korunga, adi fiğ ve burçak gibi geleneksel birkaç yem bitkisinin tarımı yapılmaktadır. Baklagil yem bitkileri, organik tarım sisteminde yeşil gübreleme yolu ile ana bitkinin ihtiyacı olan azotun tamamını veya önemli bir bölümünü karşılamaktadır (Açıkgöz vd 2005). Korunga geniş bir uyum kabiliyetine sahip, yüksek kalitede ot hasıl eden bir bitkidir. Ayrıca kışa ve kurağa çok dayanıklı olduğundan geniş bir adaptasyon kabiliyetine sahip, kullanım alanı çok fazla olan çok yıllık bir yem bitkisidir (Tan ve Serin 2013).

Biyoteknolojik yöntemlerin ilk uygulama alanı olan doku kültürü, transgenik bitkilerin elde edilmesinde önemli aşamalardan birisidir. Kültüre alınan bitki hücrelerine ya da dokularına gen aktarımı yapıldıktan sonra, gen aktarılmış bitki parçaları uygun besi ortamında olgun bir bitki haline getirilerek, aktarılan geni taşıyan transgenik bitkiler elde edilebilmektedir. Ayrıca, *in vitro* ortamda kimyasal veya fiziksel mutagen uygulamaları ile hastalıklara, antibiyotiklere, herbisitlere, tuzluluğa, düşük sıcaklığa ve kuraklığa toleranslı bitkiler elde edilebilmektedir (Karaca ve Bürün 1999). Olgunlaşmamış embriyoların eksplant kaynağı olarak kullanılabilmeleri için donör bitkiden belli dönemlerde eksplant kaynağı temin edilmesi gerekmektedir. Bu durumda daha uzun bir süreye ve daha fazla finansmana ihtiyaç duyulmaktadır. Buna karşın, olgun embriyoların kaynağı olan tohumlar kolaylıkla temin edilebildikleri ve depolanabildikleri için yılın her döneminde çalışma olanağı sağlamaktadırlar.

Doku kültürü çalışmalarında öncelikli olarak dikkate alınması gereken husus, uygun bitki büyüme düzenleyicilerinin tipi ve konsantrasyonlarının seçimidir. Ayrıca, uygun eksplant seçimi de böyle çalışmalarda oldukça önem arz etmektedir. Çünkü ortama ilave edilen büyümeyi düzenleyiciler türe, çeşide ve hatta eksplant tipine uygun olmayan tipte ve konsantrasyonlarda ise kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Korunganın da içinde yer aldığı birçok bitkide yapılan çalışmalar sonucunda, oksin-sitokinin dengesinin iyi ayarlanması durumunda yüksek oranda adventif sürgün rejenerasyonu elde edilebileceği bildirilmiştir (Özgen *et al.* 1997; Sancak 1999; Çöçü vd 2003; Erdoğan vd 2004; Erdoğan vd 2005; Çelikleş *et al.* 2006; Çöçü 2008).

Korunga üzerinde günümüze kadar çok sayıda araştırma yapılmış ve çeşitli konular ele alınmıştır. Ancak bu çalışmalar içerisinde memeli cinsiyet hormonları ile ilgili olanların sayısı yok denecek kadar azdır. Bu araştırma, korungada çeşitli bitkisel hormonların (ve kombinasyonlarının) ve memeli cinsiyet hormonlarının kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Korunga tohumlarına uygulanan memeli cinsiyet hormonlarının doku kültürü şartlarındaki etkisine bakıldığında hormon tiplerinin etkisinin, kullanılan eksplantın tipine göre değiştiği görülmektedir. Kotiledonların sürgün oluşturma kapasitesi üzerine en etkili hormonun β -östradiol, hipokotilden sürgün oluşumu üzerine en etkili hormonun östron ve kökten sürgün elde edilmesi üzerine en etkili hormonun progesteron olduğu görülmüştür. Diğer taraftan, her üç eksplant tipinde sürgün oluşumu hormon dozlarına göre değişmiştir. Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) fidelerinde β -östradiol ve progesteronun 0,25 μ g'lık dozunun (bitki başına) sürgün gelişimini artırdığı sonucuna varılmıştır (Bhattacharya and Gupta 1981). Ayrıca, köklerden elde edilen sürgün sayısının muamele gün sayısına göre de değiştiği ve gün sayısı arttıkça elde edilen sürgün sayısının da arttığı belirlenmiştir. Erdal (2010), nohut ve arpada memeli cinsiyet hormonlarının bitkilerin morfolojik özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmasında bu hormonların kök ve gövde büyümesinde önemli değişikliklere neden olduğunu belirlemiştir.

Memeli cinsiyet hormonlarının kotiledonların ve kökün canlılık oranı üzerine etkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bakımdan yapılan bu çalışmanın, MCH'nin kotiledonların ve kökün canlılık oranı üzerine etkilerinin araştırıldığı ilk çalışma olduğu düşünülmektedir. En yüksek canlılık oranı kotiledonlarda östron, kök eksplantında ise progesteron hormonlarının kullanıldığı ortamlarda tespit edilmiştir.

Kotiledonlar eksplant olarak kullanıldıklarında kallus oluşumu gerçekleşmemiştir. Diğer taraftan, eksplant olarak hipokotil kullanıldığında kallus oluşmuş ve en yüksek kallus oluşum oranı progesteron hormonunun kullanıldığı ortamdan elde edilmiş, bunu testosteron, β -östradiol ve östron hormonları izlemiştir. Ayrıca, herhangi bir hormonun kullanılmadığı kontrol grupta kallus oluşmamıştır. Buna göre hipokotilin eksplant olarak kullanılması durumunda memeli cinsiyet hormonlarının kallus oluşumunu uyardığı sonucuna varılmıştır. Köklerden ise en fazla kallus oluşumu östron ve β -östradiol hormonlarının kullanıldığı ortamlardan elde edilmiştir. Gioelli (1942) tarafından havuçta (*Daucus carota* L.) yapılan bir çalışmada β -östradiolün 3-12 mg/dm³ dozlarının doku kültüründe kallus oluşumunu teşvik ettiği sonucuna varılmıştır. Buna karşın, yüksek konsantrasyonlarda (25/100 mg/ml) kullanıldıklarında doku kültüründe büyümeyi engelledikleri ve toksik etki meydana getirdikleri bildirilmiştir. Yine, *Polygonatum verticillatum*'da yapılan çalışmalarda β -östradiol hormonunun kallus oluşumunu artırdığı belirlenmiştir (Janeczko and Szybka 2001; Szybka-Hryniewicz and Janeczko 2004).

Arabidopsis thaliana'da yapılan bir çalışmada androstenedionların kallus oluşumunu teşvik ettiği, ayrıca buğdayda androsteron ve androstenedionların (1 μ M) skutellumda kallus dokusunun çoğalmasını uyardığı ve olgunlaşmamış embriyoların gelişimini ve çimlenmesini artırdığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan, östrojenlerin özellikle de östronun olgunlaşmamış embriyoların çimlenmesini engellediği, ancak kallus oluşumunu engellemediği görülmüştür. (Janeczko 2000; Janeczko *et al.* 2002; Janeczko *et al.* 2003; Janeczko and Skoczowski 2005). Janeczko *et al.* (2002) tarafından kışlık buğdayda (*Triticum aestivum* L.) olgunlaşmamış embriyolar kullanılarak *in vitro* koşullarda yapılan bir çalışmada, androsteron ve testosteronun kallus oluşumunu teşvik

ettiği, buna karşın östron ve progesteronun ise kallus oluşumunu engellediği görülmüştür.

Bu araştırmada hipokotilin kök oluşturma üzerine hormon tiplerinin etkisi bakımından ilk sırada testosteronun, ikinci sırada ise β -östradiolün yer aldığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, kökün eksplant olarak kullanılması durumunda ilk sırayı progesteron, ikinci sırayı ise kontrol grup almıştır. Kökten elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine etki bakımından ilk sırada β -östradiol, ikinci sırada ise progesteron yer almıştır. *In vitro* koşullarda olmamakla birlikte, Bhattacharya and Gupta (1981), tarafından ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) yapılan bir araştırmada, β -östradiol ve progesteronun 0,25 μg 'lık dozunun (bitki başına) fidelerin kök gelişimini engellediği sonucuna varılmıştır. Progesteronun 0,1 μg 'lık dozunun (bitki başına) kök uzaması üzerine olumlu etki ettiği ve testosteronun 0,1 ve 0,25 μg 'lık dozunun (bitki başına) tomurcuk oluşumunu artırdığı gözlenmiştir.

Gerek bu çalışmada, gerekse daha önce yapılan diğer çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre, farklı hormonların etkileri kullanılan eksplantlara göre değişmiştir. Yukarıda da görüldüğü gibi memeli cinsiyet hormonlarının doku kültürü şartlarında kullanımına ait çalışma sayısı çok sınırlı olduğundan etki mekanizması hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bununla birlikte, yapılan araştırmalardan elde edilen sonuçlarla, çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçların birbirleri ile örtüştüğü söylenebilir.

Bitki büyüme düzenleyicilerinin doku kültürü şartlarında korunga bitkisi üzerindeki etkilerine bakıldığında kotiledonların sürgün oluşturma kapasitesi üzerine araştırmada kullanılan hormonların (NAA, BAP, TDZ, KIN) tek olarak ortama ilavesinin, sürgün oluşumuna etki etmediği, kombinasyon halinde kullanıldıklarında ise en etkili kombinasyonun NAA+BAP olduğu, ayrıca ve NAA+TDZ'nin ise sadece bir kaç kombinasyonunun etkili olduğu görülmüştür. Uzun (2012), korungada yaptığı çalışmada en fazla sürgün sayısını 1 mg/l TDZ içeren besi ortamından, hipokotil eksplantından elde etmiştir. Barbulova *et al.* (2002) tarafından farklı yonca çeşitlerinde yapılan bir çalışmada eksplant olarak yaprak ve yaprak sapları kullanılmıştır.

Araştırmacılar, çeşitlerin rejenerasyon kabiliyetinin birbirinden farklı olduğunu ve en iyi sonucun 0,5 mg/l BAP içeren ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir. Yoncaya ait farklı eksplantların kullanıldığı diğer bir çalışmada ise en iyi sonuç kotiledon ve petiol eksplantlarından ve oksinin (2,4-D) düşük dozda kullanıldığı ortamdan elde edilmiştir (Gallego *et al.* 2001).

Bu araştırmada eksplant olarak hipokotil kullanıldığında en fazla sürgün KIN ve KIN+NAA içeren ortamlardan elde edilmiş ve hipokotil eksplantı sürgün oluşturma kabiliyeti bakımından eksplantlar içerisinde ilk sırada yer almıştır. Akçura vd (1999) tarafından korungaya ait farklı eksplantlar kullanılarak yapılan çalışmada da burada kaydedilen sonuçlara benzer olarak en fazla sürgün rejenerasyonu hipokotilin eksplant olarak kullanıldığı BAP ve NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Aynı şekilde, Karamian and Ranjbar (2008), korungaya ait hipokotil eksplantlarını kullanarak yaptıkları çalışmada en iyi sonucu 0,5 mg/l NAA ve 1 mg/l BAP içeren ortamdan elde etmişlerdir. Aynı şekilde, Özcan *et al.* (1996) tarafından korungada yapılan bir denemede en fazla sürgün oluşumu 0,5 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA içeren ortamdan hipokotil eksplantından elde edilmiştir. Yine korungada yapılan başka bir çalışmada (Hiroshi and Zhumeng, 1993) sürgün oluşumu bakımından en iyi ortamın 1µM NAA + 10 µM BAP kombinasyonu olduğunu, kök ve hipokotil eksplantlarının kotiledonlara göre daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda BAP'ın bizim çalışmamızda ise KIN'in daha iyi sonuç vermesi, diğer çalışmalarda kinetinin denenmemiş olmasından ve kullanılan genotiplerin farklı olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca hipokotil eksplantının hormonsuz ortamda bile iyi sonuç verdiği yapılan çalışma neticesinde görülmüştür.

Bu araştırmada kök eksplantında en fazla sürgün BAP ve BAP+NAA kombinasyonlarından elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan kombinasyonların çoğundan az sayıda da olsa sürgün elde edilmiş, ancak genel olarak bazılarında gerek hormonların yüksek dozda tek kullanımının gerekse kombinasyon halinde kullanımının sürgün oluşumunu olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, sürgün oluşumu üzerine muamele gün sayısının etkisinin de oldukça önemli olduğu tespit edilmiştir.

Özgen *et al.* (1998) tarafından korungada yaprak petiol ve kök eksplantları kullanılarak yapılan bir çalışmada en yüksek oranda sürgün rejenerasyonu kök eksplantından, 20 μ M BA ve 0,5 μ M NAA içeren ortamdan petiol eksplantından elde edilmiştir. Korungada mikroçoğaltım amacıyla yapılan başka bir çalışmada ise en yüksek oranda sürgün oluşumu 2 mg/l BAP+ 0,05 mg/l IBA, 2 mg/l BAP+ 0,1 mg/l IBA, 2 mg/l BAP+ 0,05 mg/l IBA, 2 mg/l BAP+ 0,1 mg/l NAA, 2 mg/l BAP+ 0,5 mg/l NAA ve 8 mg/l BAP+ 0,05 mg/l NAA içeren ortamlarda gerçekleşmiştir (Sancak 1999). Yang and Nakashima (1992), tarafından kök, hipokotil ve kotiledon eksplantları kullanılarak korungada yapılan bir denemede 2,4-D ve BAP'ın rejenerasyon üzerine etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine, korungada yapılan başka bir çalışmada en fazla sürgün rejenerasyonu 10,7 μ M M NAA ve 2,3 μ M M KİN içeren B5 ortamında kültüre alınan, apikal-aksillar meristemlerden elde edilmiştir (Çeliktaş *et al.* 2006).

Çalışmamızda en yüksek kallus oluşum oranı NAA ve TDZ kombinasyonundan, kök eksplantından elde edilmiştir. hipokotil eksplantından da kök eksplantına yakın oranda kallus elde edilmiş, ancak kotiledonlarda kallus oluşum oranı daha düşük olmuştur. Ablikim and ZhuoMeng (2000), tarafından korungada yapılan bir çalışmada, en yüksek kallus oluşum oranı hipokotil eksplantından 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l BA içeren ortamdan elde edilmiştir. Korungada kök, kotiledon ve hipokotil eksplantları kullanılarak yapılan bir denemede, kallus oluşumu bakımından eksplantlar arasında fark olmadığı belirlenmiştir (Hiroshi and Zhumeng 1993). Akashi *et al.* (1998) tarafından gazal boynuzunda yapılan çalışmada BAP hormonunun embriyogenik kallus oluşumunu artırdığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda da buna benzer olarak embriyogenik kallus oluşumu, sadece BAP içeren besi ortamından kök eksplantından elde edilmiştir. Fasulyede yapılan diğer bir çalışmada ise BAP'ın farklı konsantrasyonları kullanılmış ve en fazla kallus oluşumu kotiledon eksplantından elde edilmiştir (Collado *et al.* 2008). Choudbary *et al.* (2009), börülceye ait farklı eksplantları kullanarak yaptıkları çalışmada en yüksek oranda kallus oluşumunu 0,75 mg/l 2,4-D + 1,5 mg/l BA içeren ortamdan elde etmişlerdir.

5.2. Sonuç ve Öneriler

İki farklı deneme halinde yürütülmüş olan bu çalışma, önemli bir baklagil yem bitkisi olan korungada adventif sürgün rejenerasyonu üzerine memeli cinsiyet hormonları ve bitki hormonlarının etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. *In vitro* fidelerden elde edilen kotiledon, kök ve hipokotil eksplantları farklı dozlarda hormon içeren ortamlarda kültüre alınmışlardır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar ve öneriler aşağıda verilmiştir.

Kotiledonlardan sürgün oluşumu üzerine MCH' nin etkisi önemsiz iken BH'nin etkisi çok önemli olmuştur. Sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 2,0 adet sürgün ile 0,2 mg/l NAA + 0,5 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l BAP almıştır.

Canlılık oranı üzerine MCH hormon x doz interaksiyonunun etkisi çok önemli olmuş ve en yüksek canlılık oranı %19,1 ile östrondan elde edilmiştir. BH'de ise yine muamelelerin etkisi çok önemli olmuş ve en yüksek canlılık oranı %96,9 ile 1,5 mg/l TDZ'den elde edilmiştir.

Kallus oluşumu üzerine BH'nin etkisi çok önemli olmuş ve bu bakımdan ilk sırayı %65,6 ile 0,4 mg/l NAA ve 0,4 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ kombinasyonu almıştır.

Hipokotil eksplantından sürgün elde edilmesi üzerine MCH ve BH' nin etkileri çok önemli olmuş ve sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından MCH'de ilk sırayı 15,9 adet ile östron almış, BH'de ise en fazla sürgün 13,0 adet ile 1,5 mg/l kinetin içeren ortamdan elde edilmiştir.

Aynı şekilde, kallus oluşumu üzerine MCH'de hormon x doz interaksiyonunun etkisi çok önemli olmuş ve en yüksek oranda kallus oluşumu %3,5 ile progesterondan elde edilmiştir. Aynı şekilde BH'ninde etkisi çok önemli olmuş ve kallus oluşum oranı bakımından ilk sırayı %84,4 ile 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ almıştır.

MCH ve BH'nin kök oluşumu üzerine etkisi çok önemli olmuş, ilk sırayı 8,5 adet sürgün ile testosteron ve 14,5 adet ile 0,4 mg/l NAA almıştır.

Kökün sürgün oluşturma kapasitesi (90. gün sonunda) üzerine MCH' nin etkisi çok önemli olmuş ve ilk sırayı 3,3 adet sürgün ile progesteron almıştır. BH'de ise sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 29,0 adet sürgün ile 1,5 mg/l BAP almış ve muamelelerin etkisi çok önemli olmuştur.

MCH ve BH'nin kallus oluşumu üzerine etkisi çok önemli olmuş ve en yüksek oranda kallus oluşumu %54,3 ile östron ve %98,4 ile 0,2 mg/l NAA + 1,5 mg/l TDZ; 0,4 mg/l NAA + 0,5 mg/l TDZ uygulamalarından elde edilmiştir.

MCH'nin canlılık oranı üzerine etkisi çok önemli olmuş ve en yüksek canlılık oranı %57,0 ile progesterondan elde edilmiştir, aynı şekilde BH'nde canlılık oranı üzerine etkisi çok önemli olmuş ve ilk sırayı %67,2 ile 0,2 mg/l NAA + 2,0 mg/l TDZ almıştır.

Sonuç olarak, korungada yapılan bu çalışma doku kültürü şartlarında memeli cinsiyet hormonlarının kullanıldığı ilk çalışma olup, kallus oluşumu ve rejenerasyon üzerine etkisi bakımından olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Her ne kadar bitki hormonlarından elde edilen sonuçlar, memeli cinsiyet hormonlarına göre daha iyi olsada, çalışmadan elde edilen bulgulara göre cinsiyet hormon dozlarının değiştirilerek daha iyi sonuçların elde edilebileceği düşünülmektedir. Memeli cinsiyet hormonlarının bitki doku kültüründe kullanılması oldukça yeni bir uygulama olup, bunların kallus oluşumu ve rejenerasyon üzerine etkilerinin tam olarak değerlendirilebilmesi için farklı bitkilerde, aynı veya farklı hormon tipleri ve dozları kullanılmak suretiyle daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir. Ayrıca MCH'nin doku kültüründe etki mekanizmasının anlaşılması konusunda da araştırmaların yapılması yararlı olacaktır.

KAYNAKLAR

- Aasim, M. 2012. *In vitro* shoot regeneration of common vetch (*Vicia sativa* L.) using immature cotyledons. Journal of Applied Biological Sciences. 6 (2) :43-45.
- Aasim, M., Day, S., Rezaei, F., Hajyzadeh, M., Mahmud, S.T., Özcan, S. 2011. *In vitro* shoot regeneration from preconditioned explants of chickpea (*Cicer arietinum* L.) cv. Gokce. African Journal of Biotechnology. Vol. 10 (11), pp:2020-2023.
- Ablikim, M. and ZhuoMeng, Y. 2000. Effect of NAA and BAP on induction of callus and somatic embryogenesis of *Onobrychis vicifolia* Scop. Cv. Gansu. Grassland of China. No.4, pp. 27-29.
- Açıkgöz, E., Hatipoğlu, R., Altınok, S., Sancak, C., Tan, A. ve Uraz, D. 2005. Yem Bitkileri Üretimi ve Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi. Bildiriler: 503-518. 3-7 Ocak (2005) Ankara.
- Ahmadabadi, M. and Ruf, S., Bock, R. 2007. A leaf-based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.). Transgenic Research. 16 (4):437-448.
- Akashi, R., Hoffmann-Tsay, S.S., and Hoffmann, F. 1998. Selection of a super-growing legume root culture that permits controlled switching between root cloning and direct embryogenesis. Theor. Appl. Genet. 96:758-764.
- Akçura, M., Eskalen, A. ve Elçi, Ş. 1999. Korungada (*Onobrychis viciifolia* Scop.) kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu. Türkiye III. Tarla Bitkileri Kongresi, Cilt. I, Genel ve Tahıllar, s: 47-51, Adana.
- Akyıldız, R. 1986. Yemler Bilgisi ve Teknolojisi. Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Yayınları. Ankara.
- Anonim, 2007. TÜİK Tarım Bitkisel Üretim İstatistikleri. www. tuik. gov. tr (19.06.2009).
- Anonymous, 2002. FAO Agricultural Production, www.fao.org (19.06.2009).
- Anonymous, 2003. Plant tissue culture.
- Anwar, F., Alghamdi, S.S., Ammar, M.H. and Siddique, K.H.M. 2011. An efficient *in vitro* regeneration protocol for faba bean (*Vicia faba* L.) Journal of Medicinal Plants Research. Vol. 5(28), pp. 6460-6467.
- Babaoğlu, M., 2001. Temel Laboratuvar Teknikleri. Selçuk Üniversitesi Basımevi. Konya. 18-21.
- Bajguz, A. and Czerpak, R. 1996a. Metabolic activity of estradiol in *Chlorella vulgaris* Beijerinck (*Chlorophytaceae*) Part I. Content of photosynthetic pigments. Pol Arch Hydrobiol, 43:421-426.
- Bajguz, A. and Czerpak, R. 1996b. Metabolic activity of estradiol in *Chlorella vulgaris* Beijerinck (*Chlorophytaceae*) Part II. Content of the cellular sugar and protein accumulation. Pol Arch Hydrobiol, 43:427-430.
- Barbulova, A., Iantcheva, A., Zhiponova, M., Viahova, M. and Atanassov, A. 2002. Establishment of Embryogenic Potential of Economically Important Bulgarian Alfalfa Cultivars (*Medicago sativa* L.). Biotechnology & Biotechnological Equipment. Vol:16 Issue:1 Pages: 55-63.
- Barna, K.S. and Wakhlu, A.K., 1994. Whole plant regeneration of *Cicer arietinum* from callus cultures via organogenesis. Plant Cell Report, 13:510-513.

- Bayraş, F.N., 2005. Bitki büyüme regülatörlerinin *Lens esculanta* (mercimek)'da tohum çimlenmesi, kök uzaması ve mitoz bölünmeye etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Beach, K.H. and Smith, R.R. 1979. Plant regeneration from callus of red and crimson clover. *Plant Sci. Lett.* 15:231-237.
- Bedi, N.K., Virk, G.S., Thukral, A.K., 1992. Effect of steroid hormones on mitosis in the root tip cells of *Allium cepa*. *J. Pl. Sci. Res.*, (8), 43-45.
- Berg, M.N., Dharmarajan, A.M., Waddell, B.J., 2002. Glucocorticoids and progesterone prevent apoptosis in the lactating rat mammary gland. *Endocrinology*, (143), 222-227.
- Bhardwaj, R., Thukral, A.K., 2000. Effects of steroids on growth and biochemical parameters of maize plants. Conference materials of the 12th Congress of the Federation of European Societies of Plant Physiology. 21-24 August 2000. Budapest, Hungary, p.82.
- Bhaskaran, S. and Smith, R.H., 1990. Regeneration in cereal tissue culture: a review. *Crop Science*, 20, 1328-1336.
- Bhattacharya, B. and Gupta, K., 1981. Steroid hormone effects on growth and apical dominance of sunflower. *Phytochemistry*, (20), 989-991.
- Birsin, M.A., Önde, S. ve Özgen, M. 2005. Korungaya (*Onobrychis viciifolia* Scop.) partikül bombardimani ile gen aktarımında fiziksel ve kimyasal parametrelerin etkisi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18(2), 241-244.
- Biswas, P.K., Paul, K.B., Henderson, J.H.M., 1967. Effects of steroids on *Chrysanthemum* in relation to growth and flowering. *Nature*, (213), 917-918.
- Bolton J.L, Goplen B.P. and Baenziger H., 1972. World Distribution and Historical Developments. *Agronomy*, 15, 1-34.
- Bonner, J. and Axtman, G., 1937. The growth of plant embryo in vitro. Preliminary experiments on the role of accessory substances. *Proc Natl Acad Sci.*, (23), 453-457.
- Buban, T., 2000. The use of benzyladenine in orchard fruit growing: a mini review. *Plant Growth Regulation*, 32, 381-390.
- Budak, N., Çalışkan, C.F., Çaylak, Ö., 1994. Bitki büyüme regülatörleri ve tarımsal üretimde kullanımı, *Ege Üniv. Zir. Fak. Dergisi*, 31, 289-296.
- Chen, T. H. H. and Marowitch, J. 1987. Screening of *Medicago falcata* germplasm for *in vitro* regeneration. *J. Plant Physiology*. 128:271-277.
- Cloudbary, K., Singh, M., Rathore, M.S., Shekhawat, N.S. 2009. Somatic embryogenesis and in vitro plant regeneration in moth bean (*Vigna aconitifolia* (Jacq.) Marechal) a recalcitrant grain legume. *Plant Biotechnol Report*. 3:205-211.
- Collado, R., Garcia, L.R., Angenon, G., Torres, D., Romeo, C., Bermudez- Caraballoso, I., Veitia, N., Ramirez, M. 2008. Organogenesis indirecta en *Phaseolus vulgaris* L. cv. CIAP 7247. *Biotechnologia Vegetal*. Vol. 8, No. 2:81-86.
- Czygan, J.C., 1962. Blütenbildung bei Lemma minör nach Zusatz von Oestrogen *Naturwissenschaften*, (49), 285-286.
- Çeliktaş, N., Can, E., Hatipoğlu, R., and Avcı, S. 2006. Somatic Embryogenesis, Callus Production and Plantlet Growth in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). *New Zealand Journal of Agricultural Research*. Vol: 49 Issue: 4 Pages: 383-388.

- Çöçü, S., Uranbey, S. ve Sancak, C. 2003. Bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 9(4):445-449.
- Çöçü, S. 2008. Böceklerle dayanıklı transgenik korunga (*Onobrychis sativa* Lam.) bitkilerinin elde edilmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Davies, P. J., 1995. In: Davies, Editor, Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology (Second ed.) Kluwer, Dodrecht, Netherlands, 1-12.
- Değirmenci, D. 2004. Korunga (*Onobrychis sativa* L.)’da in vitro köklendirme ve bitkilerin dış ortama alıştırılması. Yüksek Lisans Tezi (basılmamış), Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Demirbağ, N.Ş., Kendir, H. ve Assim, M. 2008. Yaygın mürdümük (*Lathyrus sativus* L.)’te adventif sürgün rejenerasyonu. Tarım Bilimleri Dergisi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. 14(3):297-302.
- Dogra, R. and Kaur, A., 1994. Effect of steroids on some growth and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. during germination. Crop Research, (8), 611-620.
- Dogra, R. and Thukral, A., 1991. Effect of steroid and plant hormones on some germination aspects of *Triticum aestivum* L. In: New trends in plant physiology. Physiology (Eds. K. K. Dhir, I. S. Dua and K. S. Chark), Today and Tomorrow’s Printers and Publishers, New Delhi, 65-70.
- Elçi, Ş., 2005. Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Ankara, s 54-56.
- Erdal, S. 2010. Memeli cinsiyet hormonlarının arpa ve nohut bitkilerinin büyüme ve gelişmeleri üzerine etkileri. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Erdal, S., Dumlupinar, R., Cakmak, T. and Genisel, M. 2010. Mammalian sex hormones influence germination velocity and enzyme activities in germinating maize seeds. Fresenius Environmental Bulletin. 19(8): 1458-1465.
- Erdoğan, Y., Çöçü, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Arslan, O. 2004. Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) bitkisinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu ve hızlı çoğaltım. Tarım Bilimleri Dergisi, 11(1) 60-64.
- Erdoğan, Y., Çöçü, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Arslan, O. 2005. Bazı burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) kotiledon boğum eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 10 (2):206-210.
- Erişen, S. (2005) Yonca (*Medicago sativa* L.)’da Somatik Embriyogenesis Aracılığıyla Bitki Rejenerasyonu. Tarım Bilimleri Dergisi, 11(3) 311-315.
- Erişen, S. 2003. Yonca (*Medicago sativa* L.)’da doku kültürü çalışmaları ve *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımı. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Gallego, P., Hita, O., Villalobos, N., Dorado, A., Martin, L. and Guerra, H. 2001. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Medicago arborea* L. In Vitro Cell Dev. Biol.- Plant 37:199-203.
- Gatica Arias, M.A., Valverde, J.M., Fonseca, P.R., Melara, M.V. 2010. In vitro plant regeneration system for common bean (*Phaseolus vulgaris*) effect of N⁶-benzylaminopurine and adenine sulphate. Electronic Journal of Biotechnology. Vol.13, no.1 Issue. 15.

- Ge, X., Chu, Z. and Lin, Y., 2006. A tissue culture system for different germplasm of India rice. *Plant Cell Report*, 25, 392-402.
- Gioelli, F., 1942. Die wirkung des Follikelhormons (Ostradiol, Dihydrofollikulin) auf Kulturen pflanzlicher Gewebe in vitro. *Arch Sci Biol.*, (28), 311.
- Golds, T. J., Lee, J. Y., Husnain, T., Ghose, T. K. and Daver, M. R. 1991. *Agrobacterium rhizogenesis* mediated transformation of the forage legumes *Medicago sativa* and *Onobrychis viciifolia*. *J. Exp. Bot.*, 42: 1147-1157.
- Grunewald, W., Noorden, G.V., Isterdael, G.V., Beeckman, T., Gheysen, G., Mathesius, U., 2009. Manipulation of auxin transport in plant roots during *Rhizobium* symbiosis and nematode parasitism. *The Plant Cell*, Vol. 21: 2553–2562.
- Gu, Z. 1987. Callus culture of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and Plant Regeneration Through Somatic Embryogenesis. *Annals of Botany*. Volume: 107.
- Güteryüz, M., 1982. Bahçe ziraatında büyütücü ve engelleyici maddelerin kullanılması ve önemi. Atatürk Üniversitesi Yayınları. No:279. Erzurum
- Hatipoğlu, R. 1999. Bitki biyoteknolojisi. Ç. Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Genel Yayın No:190, Ders Kitabı. A-58. Adana.
- Hiroshi, N. and Zhumeng, Y. 1993. Tissue culture of sainfoin. *Proceeding of the XVII international grassland congress*. 1044-1045.
- Iino, M., Nomura, T., Tamaki, Y., Yamada, Y., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., Mori, M., Asami, T., Nakano, T., Yokota, T., 2007. Progesterone: its occurrence in plants and involvement in plant growth. *Phytochemistry*, (68), 1664-1673.
- Janeczko A. and Filek, W. 2002. Stimulation of generative development in partly vernalized winter wheat by animal sex hormones. *Acta Physiol Plant*. 24:291-295.
- Janeczko A. and Skoczowski A. 2005. Mammalian Sex Hormones In Plants. *Folia Histochemica Et Cytoiologica*, Vol. 43, No. 2, pp. 71-79.
- Janeczko A. and Szybka, P., 2001. Induction and proliferation of callus of *Polygonatum verticillatum* L. (in Polish). Conference materials of the 18th Meeting of the Polish Pharmaceutical Society “ Pharmacy in the 21st century”, 19-22 September 2001, Poznan, Poland, 536.
- Janeczko A., 2000. Influence of selected steroids on plant physiological processes-especially flowering induction (in Polish). PhD Dissertation, Agricultural University, Krakow, Poland.
- Janeczko A., Filek, W., Biesaga-Koscielniak J., Marcinska, I., Janeczko, Z. 2003. The influence of animal sex hormones on the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: comparison with the effect of 24-epibrassinolide. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 72:147-151.
- Janeczko A., Filek, W., Janeczko, Z. 2003. Proliferation of *Arabidopsis thaliana* callus on medium containing 4-androstene-3, 17-dione, 2,4-dichlorophenoxy acetic acid and benzylaminopurine (in Polish). Materials of conference “Biotechnology in biology, pharmacy and agriculture” 15-17 September 2003, Bydgoszcz, Poland, 121.
- Janeczko, A., Filek, W. and Skoczowski, A., 2002. Influence of human sex hormones on the growth response of winter wheat immature embryos and callus (in Polish). *Zesz Probl Post Nauk Roln.*, (488), 667-673.
- Kadioğlu, A., 1999. Bitki Fizyolojisi. Trabzon.

- Kantharajah, A.S. and Golegaonkar, P.G. 2004. Somatic embryogenesis in egg plant. Review. J. Scientiae Horticulturae. 99:107-117.
- Karaca, Ö. and Bürün, B., 1999. Buğdayda embriyo kültüründen kallus oluşumu. Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23 (2), 269-274.
- Karamian, R. and Ranjbar, M. 2008. Plant Regeneration from *Onobrychis subnitens* Bornm. Hypocotyl Explants Via Somatic Embryogenesis and Organogenesis. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica. 50/2: 13-18.
- Kaynak, L., Ersoy, N., 1997. Bitki büyüme düzenleyicilerinin genel özellikleri ve kullanım alanları, Akd.Üniv. Zir. Fak. Dergisi, 10, 223-236.
- Khawar, M.B. and Özcan, S. 2002. Effect of Indole-3- Butyric Acid on in vitro root development in lentil (*Lens culinaris* Medik.) Turkish Journal of Botany. 26:109-111.
- Kiran, G., Kaviraj, C.P., Jogeswar, G., Kavi Kishor, P.B. and Rao, S. 2005. Direct and high frequency somatic embryogenesis and plant regeneration from hypocotyls of chickpea (*Cicer arietinum* L.), a grain legume. Current Science, vol: 89, no:6, pp. 1012-1018.
- Kopcewicz, J. and Porazinski, Z., 1974. Effect of growth regulators, steroids and estrogen fraction from sage plants on flowering of a long-day plant, *Salvia splendens*, grown under non-inductive light conditions. Biol Plant (Praha) (16), 132-135.
- Kopcewicz, J., 1969. Influence of estrogens on growth and endogenous gibberellins content in dwarf pea. Bull Sci. Cl. II, (17), 11-12.
- Kopcewicz, J., 1970. Influence of estrogens on the flower formation in *Cichorium intybus* L. Naturwissenschaften, (57), 136.
- Kögl, F., Haagen-Smith, A.J., 1936. Biotin und Aneurin als Phytohormone. Z Physiol Chem., (243), 209-227.
- Kumlay, A.M. ve Eryiğit, T., 2011. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler: Bitki Hormonları. Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. 1(2): 47-56.
- Löve, A. and Löve, D., 1945. Experiments on the effects of animal sex hormones on dioecious plants. Ark Botanik, (32A), 15:1-60.
- Manners, J. M. and Way, H. 1989. Efficient transformation with regeneration of the tropical pasture legume *Stylosanthes humilis* using *Agrobacterium rhizogenesis* and a *Ti* plasmid binary vector system. P. Cell Rep., 8:39-51.
- Martinez-Honduvilla, C.J., Gimenez-Solves, A. and Santos-Ruiz, A., 1976. Biochemical changes in *Pinus pinea* seeds. III. The effect of growth substances and steroidal hormones on nucleic acids. Rev Esp Fisiol., (32), 169-174.
- Matsubara, S., 1990. Structure activity relationship of cytokinins. Plant Sciences. 9:17-57.
- McKersie, B.D. and Brown, D.C.W. (Eds.) 1997. Biotechnology and the improvement of forage legumes, CAB International, Wallingford, Oxon, UK, p.444.
- Moursy, H.A., Haggag, M. E. A, Ghanem, S. A. and Rady, M. R. 1995. Callus induction and plant regeneration of alfalfa. Egyptian Journal of Agronomy. 20(1-2): 179-189.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Phsiol Plant, 15, 473-497.
- Nagarajan, P., Mckenzie, J. S. and Walton, P. D. 1986. E mbryogenesis and Plant Regeneration of *Medicago spp.* in Tissue Culture. Plant Cell Reports. 5:77-80.

- Novak, O., Hauserova, E., Amakorova, P., Dolezal, K., Strnad, M., 2008. Cytokinin profiling in plant tissues using ultra-performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Phytochemistry*, (69), 2214-2224.
- Özcan, S. ve Özgen, M., 1996. Bitki Genetik Mühendisliği. *Kükem Dergisi*. 1:69-95.
- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., 2001. Bitki Biyoteknolojisi. S.Ü. Vakfı Yayınları.
- Özcan, S., Sevimay, C.S., Yıldız, M., Sancak, C. and Özgen, M. 1996b. Prolific shoot regeneration from immature embryo explants of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) *Plant Cell Report.*, 16:200-203.
- Özcan, S., Yıldız, M., Sancak, C. and Özgen, M. 1996a. Adventitious Shoot Regeneration in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) *Turkish Journal Botany*. Vol:20 Issue:6. Pages: 497-503.
- Özgen, M., Altınok, S., Özcan, S. and Sevimay, C.S. 1997. *In vitro* micropropagation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars. *Tr. J. of Botany*, 21:275-278
- Özgen, M., Özcan, S., Sevimay, C.S., Sancak, C., Yıldız, M. 1998. High frequency adventitious shoot regeneration in sainfoin. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 52:205-208.
- Palavan-Ünsal, N., 1993. Hormonlar ve meyvelenme. Bitki büyüme maddeleri. İstanbul Üni. Basım Evi ve Film Merkezi., Üniversite Yayın No:3677, 197-211.
- Peng, J. and Hodges, T.K., 1989. Genetic analysis of plant regeneration in rice. *In vitro Cell Dev. Biol.*, 25, 91-94.
- Raven, P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E., 1992. Regulating growth and development: The plant hormones (in: *Biology of Plants*) pp 545-571, Worth Publishers, New York, USA.
- Richmond, A.E., Long, A., 1957. Effect of kinetin on protein content and survival of detached *Xanthium* leaves. *Science*, 125:650-651.
- Sağlam, S. 2010. Growth regulators effects on *in vitro* shoot regeneration of sainfoin (*Onobrychis sativa* Lam.). *Biotechnol. & Biotechnol.* 24/4: 2077-2079.
- Sancak, C. 1999. *In vitro* micropropagation of sainfoin ((*Onobrychis viciifolia* Scop.)), *Tr. J. of Botany*, 23, 133-136.
- Sancak, C., Mirici, S., Özcan, S. 2000. High frequency shoot regeneration from immature embryo explants of Hungarian vetch (*Vicia pannonica* Crantz). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 61:231-235.
- Schultz, G. 1971. The isoflavone content of red clover (*Trifolium pratense* L.) as influenced by environment especially after cutting.
- Seçer, M., 1989. Doğal büyüme düzenleyicilerinin bitkilerdeki fizyolojik etkileri ve bu alanda yapılan araştırmalar. *Derim*, 6 (3):109-124, Antalya.
- Shah, S. H., Wainwright, S. J. and Merrett, M. J. 2003. Regeneration and Somaclonal Variaton in *Medicago sativa* and *Medicago media*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 6(9):816-820.
- Shore, L.S., Kapulnik, Y., Ben-Dor, B., Fridman, Y., Wininger, S., Shemesh, M., 1992. Effects of östrone and 17β-östradiol on vegetative growth of *Medicago sativa*. *Physiol Plant*, (84), 217-222.
- Simersky, R., Novak, O., Morris, D.A., Pouzar, V., Strnad, M., 2009. Identification and quantification of several mammalian steroid hormones in plants by UPLC-MS/MS. *Journal Plant Growth Regul.*, (28), 125-136.
- Simons, R.G., Grinwich, D.L., 1989. Immunoreactive detection of four mammalian steroids in plants. *Can J. Bot.*, (67), 288-296.

- Spano, L., Mariotte, D., Pezzotti, M., Damiana, F. and Arcioni, S. 1987. Hairy root transformation in alfalfa (*Medicago sativa* L.) Theor. App.Genet., 73: 523–530.
- Stougaard, J., Marcker, K. A., Otten, L. and Schell, J. 1986. Nodule specific expression of a chimaeric soybean leghaemoglobin gene intransgenic *Lotus corniculatus* plant. Nature, 321: 669–674.
- Suginobu, K. I., Takamizo, T., Hayashi, H. and Abe, S. 1991. Effects of Genotype, Medium and Nature of the Explant on the Formation of Callus and Somatic Embryos in Alfalfa. Journal of Japanese Society of Grassland Science 36 (4): 390-403.
- Szybká-Hryniewicz, P., Janeczko, Z., 2004. Densitometric analysis of diosgenin in extracts from callus tissue of *Polygonatum verticillatum* (L.) All (in Polish). Biotechnologia, (2), 93-99.
- Şahin, E., Haliloğlu, K., Tosun, M. 2011. Bazı memeli cinsiyet hormonlarının yoncada (*Medicago sativa* L.) bazı morfolojik karakterler üzerine etkileri. Türkiye IX. Tarla Bitkileri Kongresi. Cilt. 1. 12-15 Eylül 2011. Bursa
- Taiz, L., Zeiger, E., 1991. Plant Physiol. The Benjamin / Cummings Publishing Company. Inc. Redwood City, California.
- Tan, M. ve Serin, Y., 2008. Baklagil Yem Bitkileri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. No: 190, Erzurum, s, 1-3.
- Tan, M. ve Serin, Y., 2013. Baklagil Yem Bitkileri. (Genişletilmiş 4. Baskı) Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları. No: 190, Erzurum, s: 77-80.
- Thimann, K.V., 1980. The senescence of leaves. In: Senescence in plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, 85 -15.
- Uzun, S. 2012. Korunganın (*Onobrychis viciifolia* Scop.) hipokotil ve kotiledon eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Tr. J. Nature Sci. 1 (2):126-130.
- Varisai Mohamed, S., Wang, C.S., Thiruvengadam, M., Jayabalan, N. 2004. *In vitro* plant regeneration via somatic embryogenesis through cell suspension cultures of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 40:284-289.
- Westwood, M.N., 1993. Hormones and Growth Regulators, Temperate Zone Pomology: Physiology and Culture, Timber Press Inc, Portland, Oregon, USA.
- Yağmur, Y., 2008. Farklı asma (*Vitis vinifera* L.) çeşitlerinin kuraklık stresine karşı bazı fizyolojik ve biyokimyasal tolerans parametrelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İzmir.
- Yang, Z. and Nakashima, H. 1992. Effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid and 6-benzyl aminopurine on callus culture and plant regeneration in sainfoin (*Onobrychis viciaefolia* Scop.). Journal of Japanese Society of Grassland Science. 38:90-91.
- Ylstra, B., Touraev, A., Brinkmann, A.O., Heberle-Bors, E., Tunen, A., 1995. Steroid hormones stimulate germination and tube growth of in vitro matured tobacco pollen. Plant Physiol., (107), 639-643.
- Zhang, J.S., Yang, Z.H., Tsao, T.H., 1991. The occurrence of estrogens in relation to reproductive processes in flowering plants. Sex Plant Reprod., 193-196.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Erzurum'un Pasinler ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Pasinler'de tamamladı. 2000 yılında Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi'nde üniversite eğitime başladı. 2004 yılında aynı fakülteden mezun oldu ve aynı tarihte Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitime başladı. 2006 yılında Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Arş. Gör. olarak işe başladı. 2008 yılında yüksek lisans eğitimini tamamlayarak aynı bölümde doktora başladı. Halen aynı birimdeki görevine devam etmektedir.