

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Onobrychis viciifolia* ve *Onobrychis oxydonta* var. *armena* TÜRLERİNİN NaCl'ye
TOLERANSININ DOKU KÜLTÜRÜ TEKNİKLERİYLE BELİRLENMESİ**

Ramazan BEYAZ

**Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. Cengiz SANCAK**

**ANKARA
2010**

Prof. Dr. Cengiz SANCAK danışmanlığında, Ramazan BEYAZ tarafından hazırlanan bu çalışma 07/01/2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Cengiz SANCAK İmza :

Üye : Prof. Dr. Orhan ARSLAN İmza :

Üye : Prof. Dr. Suzan ALTINOK İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Orhan ATAKOL

Enstitü Müdür V.

***Onobrychis viciifolia* ve *Onobrychis oxydonta* var. *armena* Türlerinin NaCl'ye Toleransının Doku Kültürü Teknikleriyle Belirlenmesi**

ÖZET

Bu araştırma, *Onobrychis viciifolia* ve *Onobrychis oxydonta* var. *armena* türlerinin *in vivo* tohum çimlenme ve fide gelişimi ile *in vitro* tohum çimlenmesi, fide gelişimi, rejenerasyon ve polen çimlenmesi üzerine NaCl tuzluluğuna tepkileri belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada NaCl konsantrasyonları 0, 5, 10, 20 ve 30 dS/m elektriksel iletkenliğe (EC) sahip olacak şekilde ayarlanmıştır. *In vivo* denemede tohum çimlenme ve fide gelişimi belirlenen NaCl oranlarında incelenmiştir. Ayrıca, *In vitro* denemede farklı MS konsantrasyonları (MS0, 1/2 MS, 1/4MS) belirlenen NaCl oranlarında incelenmiştir. Araştırma sonucunda; *In vivo* ve *in vitro* denemelerde artan NaCl konsantrasyonlarıyla, tohumların çimlenme yüzdesi, hipokotil ve kök uzunluğu, fide yaş ağırlığının azaldığı, fide kuru ağırlığı, ortalama çimlenme süresi ve kuru madde oranının arttığı belirlenmiştir. Ayrıca, *in vitro* koşullarda 1/2 MS ortamının MS0 ortamı ile istatistiksel olarak benzer sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Bitki rejenerasyonu bakımından, sap eksplantlarının tüm NaCl seviyelerinde daha yüksek kallus oluşturma oranına sahip olduğu tespit edilmiştir. Her iki türde polen çimlenme oranı kıyaslandığında artan NaCl seviyesiyle azaldığı; *O. oxydonta*'nın NaCl muameleleriyle az etkilendiği görülmüştür.

Sonuç olarak, *O. viciifolia*'nın tüm NaCl seviyelerinde çimlenme, fide gelişimi ve rejenerasyonun daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu türün 10 dS/m NaCl'ye kadar tolerans gösterdiği belirlenmiştir. Deneme sonuçlarına göre *O. viciifolia*'nın *O. oxydonta*'dan NaCl tuzluluğuna daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir. Bu tez kapsamındaki çalışmalarla *in vitro* ve *in vivo* denemeler sonucunda korunganın iki türünde NaCl seviyelerinin tepkileri başarı ile belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *In vitro*, Korunga, NaCl , Sürgün Rejenerasyonu, Polen Çimlenmesi

Determination of NaCl Tolerance of *Onobrychis viciifolia* and *Onobrychis oxydonta* var. *armena* By Tissue Culture Techniques.

ABSTRACT

This research was carried out to evaluate the response of *Onobrychis viciifolia* and *oxydonta* var. *armena* to various levels of NaCl on *in vivo* seed germination, seedling growth and *in vitro* seed germination, seedling growth, regeneration and pollen germination. NaCl concentrations was adjusted to 0, 5, 10, 20 and 30 dS/m electrical conductivity (EC). In *in vivo* experiment seed germination and seedling growth were investigated on various NaCl levels. Also, effects of different MS concentrations (MS0, 1/2 MS and 1/4 MS) were investigated on various NaCl levels. The results of the research showed that increased NaCl levels resulted in decrease in seeds of germination rate, hypocotyl and root length, seedling fresh weight and increase in seedling dry weight, mean germination time and dry matter ratio in *in vivo* and *in vitro* experiments. Furthermore, 1/2 MS showed statistically similar results with MS0 media under *in vitro* conditions. In term of plant regeneration, high callusing creating rate was induced on stem explants at all NaCl levels. Comparing pollen germination of two species, each increase in NaCl level resulted in corresponding decrease in pollen germination; however, *O. oxydonta* was less affected by NaCl treatments.

It was concluded that higher germination, seedling growth and regeneration was observed in *O. viciifolia* under all NaCl levels. Also, it was noted down that this species could tolerate NaCl up to 10 dS/m. Experimental results showed that *O. viciifolia* was more tolerant compared to *O. oxydonta* to various levels of NaCl. The studies carried out in this thesis showed that tolerance levels of both sainfoin species could be successfully determined under in *in vitro* and *in vivo* conditions.

Key Words: *In vitro*, *Onobrychis*, NaCl , Shoot Regeneration, Pollen Germination.

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçiminden, araştırmanın yürütülmesine ve değerlendirilmesine kadar geçen sürede hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cengiz SANCAK'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmalarım esnasında büyük emekleri geçen hocam Yard.Doç. Dr. Satı ÇÖÇÜ'ye ve Dr. M. Demir KAYA'ya, istatistik hesaplamalarda yardımcı olan hocam Araş. Gör. Süleyman AVCI'ya teşekkür ederim. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü laboratuvar olanaklarını kullanmama imkan sağlayan Tarla Bitkileri Bölüm Başkanı Prof. Dr. Sebahattin Özcan'a teşekkür ederim. Son olarak, yüksek lisans çalışmam için her türlü desteği esirgemeyen kıymetli aileme de teşekkürü bir borç bilirim.

Ramazan BEYAZ

Ankara, Ocak 2010

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
SİMGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1 In vivo Çalışmalar.....	5
2.2 In vitro Çalışmalar.....	10
2.3 Polen Çimlenmesi.....	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM	18
3.1 Materyal	18
3.2 Yöntem	18
3.2.1 Çimlendirme denemeleri	18
3.2.2 Doku kültürü denemeleri	19
3.2.3 Büyüme ve rejenerasyon ortamı	20
3.2.4 Polen çimlenmesi	21
3.3 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	23
4.1 In vivo çimlendirme	23
4.2 In vitro çimlendirme	31
4.3 Bitki büyüme ve rejenerasyonu	41
4.4 Polen Çimlenmesi	49
5. SONUÇ	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	60

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Polen çimlendirme denemesi için hazırlanan preparatın genel görünüşü.....	22
Şekil 4.1. Farklı NaCl dozları uygulanarak çimlendirilen <i>Onobrychis viciifolia</i> Scop. türünün 14. günde ölçümü yapılan fideleri.....	29
Şekil 4.2. Farklı NaCl dozları uygulanarak çimlendirilen <i>Onobrychis oxydonta</i> var. <i>armena</i> türünün 14. günde ölçümü yapılan fideleri.....	30
Şekil 4.3. In vitro'da MS0 ortamında 8 hafta boyunca farklı NaCl dozları uygulanarak çimlendirilen <i>O. viciifolia</i> türü.....	40
Şekil 4.4. In vitro'da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) <i>O. viciifolia</i> türünün yaprak eksplantları.....	45
Şekil 4.5. In vitro'da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) <i>O. viciifolia</i> türünün sap eksplantları.....	46
Şekil 4.6. In vitro'da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) <i>O. oxydonta</i> türünün yaprak eksplantları.....	47
Şekil 4.7. In vitro'da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) <i>O. oxydonta</i> türünün sap eksplantları.....	48
Şekil 4.8. In vitro'da farklı NaCl dozları içeren ortamlarda inkubasyona alındıktan sonra <i>O. viciifolia</i> türünün çimlenen polen taneleri.....	51
Şekil 4.9. In vitro'da farklı NaCl dozları içeren ortamlarda inkubasyona alındıktan sonra <i>O. oxydonta</i> türünün çimlenen polen taneleri.....	52

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Çizelge 3.1 MS ortamında bulunan besin maddeleri ve konsantrasyonları	21
Çizelge 4.1. In vivo çimlendirmede incelenen karakterlerin varyans analiz tablosu	24
Çizelge 4.2. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki çimlenme yüzdesi (%) ve ortalama çimlenme süresi (gün) ortalamaları	25
Çizelge 4.3. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki kök uzunluğu (cm) ve hipokotil uzunluğu (cm) ortalamaları	26
Çizelge 4.4. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki yaş ağırlık (mg/bitki) ve kuru ağırlık (mg/bitki) ortalamaları	27
Çizelge 4.5. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki kuru madde oranı (%) ortalamaları	28
Çizelge 4.6. In vitro çimlendirmede incelenen karakterlerin varyans analiz tablosu	32
Çizelge 4.7. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki çimlenme yüzdesi (%) ortalamaları	33
Çizelge 4.8. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki ortalama çimlenme süresi (gün) ortalamaları	34
Çizelge 4.9. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki kök uzunluğu (cm) ortalamaları	35
Çizelge 4.10. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki hipokotil uzunluğu (cm) ortalamaları	36
Çizelge 4.11. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki kuru ağırlık (mg/bitki) ortalamaları	37
Çizelge 4.12. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki yaş ağırlık (mg/bitki) ortalamaları	38
Çizelge 4.13. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki kuru madde oranı (%) ortalamaları	39
Çizelge 4.14. Kültür başlangıcından 8 hafta sonra <i>in vitro</i> kallus oluşumunda incelenen karakterlerin varyans analiz tablosu	42
Çizelge 4.15. Farklı NaCl değerlerinde <i>O. viciifolia</i> ve <i>O. oxydonta</i> türlerinin yaprak ve sap eksplantlarından kallus oluşturma yüzdesi (%) ortalamaları	43
Çizelge 4.16. Korunga türlerinin farklı NaCl konsantrasyonlarındaki sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet) ve eksplant başına sürgün sayısı (%) ortalamaları	44
Çizelge 4.17. Farklı NaCl konsantrasyonlarının kallus yaş (g) ve kuru (g) ağırlığı üzerine etkisi	44
Çizelge 4.18. Farklı NaCl dozlarının korunga türlerinin polen çimlenme oranına ilişkin varyans analiz tablosu	49
Çizelge 4.19. Farklı NaCl dozlarında korunga türlerinin polen çimlenme oranına (%) etkisi	49

SİMGELER DİZİNİ

A.Ü.Z.F.	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi
BAP	6 Benzylaminopurine
Ca(NO ₃) ₂	Kalsiyum nitrat
dS/m	desiSiemens birim metre
EC	Elektiriksel iletkenlik
F	F değeri
H ₃ B0 ₃	Borik asit
K.O.	Kareler ortalaması
KNO ₃	Potasyum nitrat
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
MS	Murashige ve Skoog bazal besi ortamı
MS0	Hormonsuz Murashige ve Skoog temel besi ortamı
NAA	Naftalin asetik asit
NaCl	Sodyumklorür
PEG	Poli etilen glikol
S.D.	Serbestlik derecesi
V.K.	Varyasyon kaynağı

1. GİRİŞ

Tuzluluk dünya topraklarının önemli sorunlarından birisidir. Dünyada her yıl 10 milyon ha arazi tuzluluk nedeniyle kullanılmaz duruma gelmektedir (Baltacı vd. 2004). Tuzluluk problemi kurak ve yarı kurak bölgelerde, yağışın yetersiz olduğu alanlarda doğal olarak bulunmaktadır. Sulamaya açılan alanlarda ise aşırı sulama ile taban suyundaki tuzların üst katmanlara çıkışı ile oluşmaktadır (Katerji *et al.* 1994; Wang and Shannon 1999; Almansouri *et al.* 2001). Kurak ve yarı kurak bölgeler dünyadaki toplam alanın yaklaşık %46'sını kaplar. Bu iklim bölgelerinde sulanan alanların yaklaşık %50'sinde ise değişik düzeylerde tuzluluk sorunu bulunmaktadır. FAO/UNESCO tarafından hazırlanan raporlarda, dünya toprak haritası verilerine dayanarak, dünya genelinde 954 milyon hektar alanın tuzdan etkilenmiş ve üretkenliği kısıtlanmış olduğunu bildirilmektedir. Bu tip sorunlu topraklar, Afrika'da 80.5 milyon, Avrupa'da 50.8 milyon, Avustralya'da 357.3 milyon, Amerika'da 146.9 milyon ve Asya kıtasında 319.3 milyon hektar alan kaplamaktadır (Sönmez 2008) . Yapılan bir tahmine göre gelecek 75 yıl içinde tarım arazilerinin yaklaşık, sadece %10 artabileceği, buna karşın dünya nüfusunun iki katına çıkacağı ve bu artışın büyük bir kısmının, tuzluluğun çok yaygın olduğu dünyanın yarı kurak ve kurak bölgelerinde olması konunun ciddiyetini göstermektedir (Sönmez 2008).

Türkiye ikliminin genellikle kurak ve yarı kurak olması nedeniyle Türkiye'nin hemen her yöresinde tuzlu ve sodyumlu topraklara rastlamak mümkündür (Ayyıldız 1990). Türkiye geliştirilmiş toprak haritası etütlerinde kullanılan tuzluluk ve alkalilik kriterlerine göre Türkiye'de 1.518.722 ha alanda tuzluluk ve alkalilik (çoraklık) sorunu tespit edilmiştir. Bu alanın %41'i 614.617 ha alanı hafif tuzlu, %33'ü 504.603 ha alanı tuzlu, %0.5'i 8.641 ha alanı alkali, %8'i 125.863 ha alanı hafif tuzlu-alkali , %17.5'i 264.958 ha alanı ise tuzlu-alkali dir. Bu verilere göre çorak araziler Türkiye yüzölçümünün %2'sine, toplam işlenen arazilerinin (27.699.003 ha) %5.48'ine, 8.5 milyon hektarlık ekonomik sulanabilir arazinin %17'sine eşdeğer büyüklüktedir. Toplam çorak alanların %74'ü tuzlu, %25.5'i tuzlu-alkali ve %0.5'i alkali (sodyumlu) topraklardan oluşmaktadır. Çorak toprakların büyük bir kısmını tuzlu topraklar oluşturmuştur (Sönmez 2008).

Günümüzde bitki büyümesi ve gelişimi çevresel streslere bağlı olarak giderek artan bir oranda sınırlandırılmaktadır. Bitkide büyüme ve gelişimini etkileyen bu önemli stres koşullarından biri de tuzluluktur. Tuzluluk, değişik tuzların toprak ya da suda bitkinin büyümesini engelleyebilecek konsantrasyonlarda bulunmasını tanımlamaktadır. Bu tuzlar ise genellikle klorürler (NaCl, CaCl₂, MgCl), sülfatlar (Na₂SO₄, MgSO₄), nitratlar (Na₂NO₃, KNO₃), karbonatlar ve bikarbonatlar (Na₂CO₃, NaHCO₃) ile boratlardır. Ancak doğada en çok rastlanan tuz formu NaCl'dür (Küçükahmetler, 2003; Sönmez, 2008; Munsuz vd. 2001). NaCl yüksek çözünürlüğünden dolayı oldukça toksiktir. NaCl'ün %0.1 düzeyinde bulunmasıyla bitkiler olumsuz etkilenmeye başlamaktadır (Sönmez 2008).

Topraktaki tuzlar, suyun osmotik basıncını yükselterek tohumlar tarafından alınmasını engellemekte veya Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarının toksik etkisinden dolayı çimlenmeyi olumsuz etkilemektedir (Kaya *et al.* 2005, Okçu *et al.* 2005; Sadeghian and Yavari 2004). Özellikle Na⁺ iyonları bitkiye fazla alındığında halofit olmayan bitkilerde toksik etki göstermektedir. Bitkide mitoz bölünmenin engellenmesi bazı enzimlerin inaktivasyonu gibi toksik etkiler görülür. Bu tip etkiye iyon stresi de denilmektedir. Topraktaki tuz miktarının artışı osmotik basıncı artırdığı ve su potansiyelini düşürdüğü için köklerin su alımını engelleyerek bir çeşit kuraklık stresine sebep olmaktadır. Dolayısıyla bu çeşit tuz stresi gerek belirtileri gerekse sonuçları itibariyle bir kuraklık stresidir (Kocaçalışkan 2005). Tuzluluğun önemli etkilerinden birisi de toprak mikroorganizmaları üzerinedir. Yüksek düzeydeki tuzluluk, toprak mikroorganizmalarının faaliyetlerini ve çoğalmasını olumsuz yönde etkiler. Bunun sonucunda da, dolaylı olarak temel bitki besin maddelerinin dönüşümleri ve bitkiye olan yararlılıkları etkilenir (Sönmez 2008).

Tuzların yapısında en çok bulunan iyonlar Na⁺ ve Cl⁻ olmakla beraber başka iyonlar da bulunur. Kökler tarafından iyonların alınma hızı, zar geçirgenliğindeki farklılığa bağlı olarak değişme gösterir. Cl⁻ iyonları osmotik basıncı ayarlama SO₄⁻ iyonlarına göre daha etkilidir. Çünkü Cl⁻ iyonları daha kolay absorbe edilir. Bir değerlikli katyonlar ve iki değerli anyonların varlığında katyon alınımı anyon alımından fazla olur. Bu durumda bitkideki elektriksel yük dengesi hücrelerde organik anyonların senteziyle sağlanır. Tuzlu bir toprakta Na⁺ iyonları K⁺ iyonlarına göre genelde iki mislinden fazla olarak bulunur. Fakat bitkilerde Na⁺ / K⁺ oranı hemen hemen eşittir. Kök hücreleri özel bir mekanizma ile

K^+ almak için dışarıya Na^+ verirler. Bazı odunsu bitkiler Cl^- iyonlarına karşı hassastır. Dolayısıyla bu bitkilerin tuza toleransı onların klor toleransına bağlıdır (Kocaçalışkan 2005).

Korunga, Orta ve Doğu Anadolu'da kuru koşullara iyi adapte olmuş, doğal olarak yetişen çok yıllık bir baklagil yem bitkisidir. Korunga, çok lezzetli bir yem bitkisi olması ve hayvan yemi olarak şişme yapmaması nedeniyle yeşilken soldurulmadan otlatılabilir. Bu durum yoncadan olan üstünlüğü olarak söylenebilir. Korunga, köklerinde bulunan *Rhizobium* bakterileri sayesinde havanın serbest azotunu toprağa fikse ederek toprağı azotça zenginleştirir ve toprağın organik madde miktarını iyileştirir. Kökleri, bir çok tek yıllık baklagil yem bitkisinden daha derinlere gittiğinden toprağın farklı katmanlarındaki su ve besin maddelerinden yararlanmakta ve bitki sürüldüğü zaman toprağa büyük miktarlarda organik madde sağlamaktadır. Ayrıca erozyon kontrolünde ve karışımlarda diğer yem bitkileri ile iyi geliştiği için değerli bir yem bitkisidir. Korunga çiçekleri bal arıları tarafından polen taneleri ve nektarı için sıkça ziyaret edilirler. Toplanan bu nektar kendine özgü bir aroma ve tadı olan korunga balının üretiminde kullanılır (Elçi 2005). Ülkemizde yem bitkileri arasında korunga 1.298.958 dekar ekim alanı ve 525.563 ton kuru ot, 191.991 ton yeşil ot ve 846 ton'luk tohum üretimi ile yonca ve fiğ'den sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Anonim 2007).

Bitkilerin tuz yoğunluklarına karşı tepkileri farklıdır. Bazı bitkilerin tuza toleransı daha fazla olabilir. Ayrıca bitkilerin tuza karşı gösterdikleri tepki, gelişme durumlarına göre farklılık gösterdiği gibi, bitki familyalarının ve hatta tür içindeki çeşitlerin de tuzluluğa farklı reaksiyon gösterdiği bilinmektedir. Tuzlu koşullarda çimlenme ve fide gelişimi dönemi, bitkinin toplam yaşam döngüsü içerisinde en kritik dönemdir (Katerji *et al.* 1994; Wang and Shannon 1999; Almansouri *et al.* 2001).

Bitkilerin tuza toleransını belirlemek için yapılan çalışmaların bir kısmı tarla denemeleri bir kısmı da laboratuvar denemeleri şeklinde yürütülmektedir. Tuza toleransın belirlenmesinde kullanılan bir diğer uygulama ise tohum çimlendirme testleridir. Ayrıca değişik bitki türlerinde, doku kültürü yöntemleri kullanılarak çeşit düzeyinde farklılıkların ortaya konması yönünde çalışmalar da devam etmektedir. Böylece her türlü çevresel

faktörler ve beslenmeden doğabilecek farklılıklar ortadan kaldırılarak tam kontrollü koşullarda çalışmak mümkün olmaktadır (Yaşar 2003). Tütün, biber ve yoncanın doku kültüründe, tuz stresi sonucu bazı hücrelerin dirençli olmaları, bu hücrelerin seleksiyonu ve bu hücrelerden yine doku kültüründe olgun bitkilerin eldesi başarılmıştır. Ayrıca kültür bitkilerinin tuza dayanıklı yabani tiplerinin mukavemeti konusunda çalışmalar yapılmaktadır (Kocaçalışkan 2005).

Bu araştırmayla, Türkiyede yetiştirilen *Onobrychis viciifolia* ile yaygın olarak doğada bulunan *Onobrychis oxydonta* var. *armena* türlerinin *in vivo* ve *in vitro* şartlar altında NaCl tuzluluğuna gösterdiği tepkilerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 In vivo çalışmalar

Özdemir (1993), tuzluluk stresinin nohutun çimlenmesine, bitki gelişimine ve simbiyotik sisteme olan etkisini ve nohutta etkili spesifik Rhizobium hatları kullanılarak tuzluluğa gösterilen toleransı mineral azot verilmiş bitkiler ile kıyaslayarak incelemiştir. Artan tuzluluk konsantrasyonları çimlenme yüzdesini 75 mM'dan sonra düşürdüğünü ayrıca, fidelerin kuru ve yaş ağırlığı, radikula ve plumula boyları, vigor indeksi, kuru ağırlık stres indeksi, fide boyu stres indeksi 50 mM NaCl dozundan sonra düştüğünü tespit etmiştir. Tuzluluğun bitkinin kök ve sürgün gelişimini, nodulasyonunu olumsuz olarak etkilediğini ve bitkinin azot içeriğini istatistiki olarak düşürdüğünü belirtmiştir.

Akıncı ve Akıncı (2000), bazı patlıcan çeşitlerinin (*Solanum melongena* L.) Kemer, Pala ve Aydın Siyahı farklı tuz (0, 50, 100 ve 150 mM NaCl) dozlarına çimlenme dönemindeki tepkileri belirlemişlerdir. Denemelerinde tuz dozu artışı ile çimlenme oranı ve süresi, bitki yaş ağırlığı için oransal büyüme hızı, sürgün ve kök boyu azaldığını tespit etmişlerdir. İncelenen özelliklere çeşitlerin tepkilerinin farklı olduğunu bildirmişlerdir.

Türkmen vd. (2002), tuzlu fide yetiştirme koşullarının domateste fide çıkışı ve gelişimi üzerine kalsiyum uygulamalarının etkilerini ortaya koyabilmek için iklim odası koşullarında saksı denemesi yürütmüşlerdir. Fide yetiştirme ortamına 0, 25, 50, ve 100 mmol NaCl ve 0, 100, 200 ve 400 mg/kg Ca⁺⁺ dozlarının kombinasyonlarını uygulanmışlardır. Denemede çıkış oranı ve süresi, gerçek yaprak görünme süresi, hipokotil boyu, kotiledon boyu ve genişliği, sürgün ve kök uzunluğu, sürgün ve kök yaş ağırlığı ile sürgün ve kök kuru madde oranlarına tuz ve kalsiyum dozlarının etkilerini araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına, göre artan dozlarda tuz uygulamaları yaptıkları ölçüm ve gözlemlerde genel olarak önemli ve çok önemli düzeylerde olumsuz etki yaparken, artan kalsiyum dozlarının etkileri olumlu fakat genel olarak önemsiz düzeyde olduğunu saptamışlardır.

Karagüzel (2003), farklı tuz kaynakları (NaCl, CaCl₂ ve KCl) ve konsantrasyonlarının (kontrol, 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 ve 16000 mg/L) Güney Anadolu doğal acı baklalarının (*Lupinus varius*) bazı çimlenme özellikleri ile erken fide evresinde bitki gelişimi üzerine etkileri araştırmıştır. 12 günlük sürede nihai çimlenme oranları, çimlenme enerjileri, ortalama çimlenme süreleri, çimlenme indeksleri ile sürgün ve kök uzunluk ve kuru ağırlık değerleri ölçülmüş ve hesaplanmıştır. Sonuçlar *L. varius*'un nihai çimlenme oranı, çimlenme enerjisi, ortalama çimlenme süresi ve çimlenme indeksi gibi çimlenme özelliklerinin 250, 500 ve 1000 mg/L NaCl, CaCl₂ ve KCl konsantrasyonlarında olumsuz yönde etkilenmediğini, bu özelliklerde kontrol uygulamasına göre istatistiksel anlamda ilk önemli farkların 2000 mg/ L konsantrasyonlarında ortaya çıktığını ve daha yüksek konsantrasyonlarda çimlenme özelliklerinin önemli düzeylerde sınırlandırıldığını tespit etmiştir. Bununla birlikte özellikle yüksek konsantrasyonlarda KCl uygulanan tohumlardan elde edilen çimlenme ve erken fide büyüme özellik değerlerinin NaCl ve CaCl₂ uygulananlara göre daha yüksek olduğu saptanmış ve bu sonuçlar *L. varius*'un NaCl ve CaCl₂'e KCl'den daha duyarlı olduğu şeklinde yorumlanmıştır.

Kaya ve İpek (2003), biri dikenli (5-154) ikisi dikensiz (Yenice 5-38 ve Dinçer 5-118) olan üç yerli aspir çeşidinin çimlenme ve fide gelişimi üzerine farklı toprak tuzluluk seviyelerinin (0.8, 2.5, 5.1, 8.7, 13.0, 15.2 ve 23.0 dS/m) etkilerini belirlemek amaçlamışlardır. Çalışmada, kök ve toprak üstü uzunlukları, kök ve toprak üstü kuru ağırlıklar, kök/toprak üstü kuru ağırlık oranı ile kök ve toprak üstü kuru ağırlık stres indeksleri incelemiştir. Sonuçlar, incelenen özellikler bakımından en yüksek değerlerin (5-154) dikenli çeşidinden elde edildiğini ancak, bu özelliklerin artan tuz seviyelerinde azaldığını bildirmişlerdir.

Dumlupınar (2005), farklı seviyelerde uygulanan yüksek gerilimli elektrik akımı ve NaCl tuz konsantrasyonları uygulamalarının makarnalık buğday (*Triticum durum* Desf.) tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisini belirlemeyi çalışmıştır. Araştırmada; çimlenme hızı, çimlenme gücü, vigor indeks, radikula, koleoptil ve plumula uzunluğu, radikula, koleoptil ve plumula kuru ağırlığı, fide uzunluğu için tuzluluk stresi indeksi (Futsi), fide

kuru ağırlığı için tuzluluk stres indeksi (Fkatsi) ve fide yaş ağırlığı için tuzluluk stres indeksi (Fyatsi) incelemiştir. Genotipler arasında çimlenme gücü, Futsi, Fkatsi ve Fyatsi bakımından önemli farklılıklar bulmuştur. Tuz seviyelerinin incelenen bütün özellikler üzerindeki etkisi önemli olduğunu ve tuzluluk arttıkça incelenen bütün özelliklerde önemli azalmalar tespit etmiştir. Farklı elektrik akımları ve tuz seviyeleri arasındaki etkileşimler çimlenme gücü, vigor indeksi, radikula uzunluğu, koleoptil uzunluğu, radikula kuru ağırlığı ve koleoptil kuru ağırlığı bakımından önemli bulmuştur.

Kaya vd. (2005), kolza (*Brassica napus* ssp. *oleifera* L.), yağ şalgamı (*Brassica campestris* L.) ve lahana (*Brassica oleracea* L.)'nın çimlenme ve çıkışı üzerine NaCl konsantrasyonlarının (0, 5, 10 ve 20 dS/m) etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Ekimden itibaren 8. günde çimlenme yüzdesi (%), ortalama çimlenme zamanı (gün), kök uzunluğu (cm), fide uzunluğu (cm), fide yaş ağırlığı (mg/bitki), kuru madde oranı (%) ile 10. günde çıkış yüzdesi (%) ilişkin ölçümler yapmışlardır. Araştırma sonucunda, tür ve çeşitlerin NaCl konsantrasyonlarına farklı tepkiler gösterdiğini belirlemişlerdir. NaCl seviyeleri çimlenmeden çok fide gelişimini olumsuz yönde etkilediğini belirtmişlerdir.

Yıldırım ve Güvenç (2006), biber çeşitlerinin çimlenme ve çıkışı üzerine tuzluluğun etkisini belirlemek ve biber çeşitlerinin tuza tolerans bakımından genetik potansiyellerini ortaya koymak amacıyla yürüttükleri çalışmada 11 biber çeşidini 14 gün süreyle 0, 85, 170 ve 215 mM NaCl içeren çözeltilerde çimlendirmişlerdir. Denemede, çimlenme yüzdesinin artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığı tespit etmişlerdir. Tuzluluğun incelenen çeşitlerde çimlenme hızını da olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Sera koşullarında yürütülen çalışmalarında, 170 ve 215 mM tuzlulukta çeşitlerin tümünde çıkışın olmadığı saptanmıştır. Denemeden elde edilen sonuçlara göre, Demre, Ilıca 250, 11-B-14, Bağcı Çarliston, Mini Acı Sivri, Yalova Çarliston ve Yağlık 28 çeşitlerinin tuz stresine diğer çeşitlerden daha fazla toleranslı oldukları ve bu çeşitlerin tuza dayanıklı yeni çeşitler geliştirmede genetik kaynak olarak kullanılacakları belirtmişlerdir.

Tatar (2006), yedi çeltik genotipinin çimlenme ve fide dönemlerinde tuzluluğa dayanıklılıklarının ve bazı fizyolojik reaksiyonlarının tespiti amacıyla 3 farklı tuz (NaCl)

konsantrasyonunda (0, 30 ve 60 mmol/L) besin çözeltisi kullanmıştır. Elde ettiği sonuçlara göre, toplam kuru madde ağırlığındaki azalma IR31785 (Hassas), Kral ve Demir çeşitlerinde en çok görülürken, IR4630 (dayanıklı) ve Yavuz çeşitlerinde en az olduğunu gözlemlemiş ve tuzluluğun bitkilerin klorofil, Na⁺ ve K⁺ içeriklerini de etkilediğini tespit etmiştir.

Eroğlu (2007), üç farklı fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) kültür çeşidinde (cv. Simav, cv. Erzincan Çalı, cv. Manyas Horoz), tohum çimlenme aşamasında ve gelişme dönemindeki bitkilere uygulanan değişik konsantrasyonlardaki tuzun (0, 50, 100 ve 150 mM NaCl), tohum çimlenmesi, fide gelişimi, yaprak bağıl su içeriği, fotosentetik pigment miktarları, prolin ve protein içerikleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlamıştır. Elde ettiği sonuçlara göre, uygulanan tuz konsantrasyonu artışına paralel olarak, incelenen tüm fasulye kültür çeşitlerinde tohum çimlenme oranı, oluşan fidelerde yaprak bağıl su içeriği ile yaprak yaş ağırlıkları ve klorofil pigment içeriklerinde ile protein içeriğinin azaldığını, kuru ağırlıkları ve prolin miktarının arttığını tespit etmiştir. Deneysel bulguların, Simav fasulyesinde tuzluluk toleransının, Manyas Horoz ve Erzincan Çalı çeşitlerine göre, daha belirgin olduğunu bildirmiştir.

Day vd. (2008), bazı çerezlik ayçiçeği çeşit ve genotiplerinin çimlenmesi üzerine NaCl konsantrasyonlarının etkilerini belirlemeyi çalışmışlardır. Araştırmalarında ekimden itibaren 10. günde çimlenme yüzdesi (%), ortalama çimlenme zamanı (gün), kök uzunluğu (cm), fide uzunluğu (cm), fide yaş ağırlığı (mg) ve fide kuru ağırlığı (mg) ölçümleri yapmışlardır. Araştırma sonucunda, genotiplerin NaCl konsantrasyonlarına farklı tepkiler gösterdiği belirlenmişler ve artan NaCl seviyeleri çimlenme yüzdesinin azalmasına, ortalama çimlenme zamanının uzamasına ve fide gelişiminin engellenmesine neden olduğunu tespit etmişlerdir. NaCl'nin fide gelişimini çimlenmeden daha fazla olumsuz şekilde etkilediğini gözlemlemişlerdir. Ayrıca tohumların kabuk oranının, tuz konsantrasyonlarına bakılmaksızın, su alımı ve çimlenmede önemli bir etken olduğu sonucunu varmışlardır.

Doğan vd. (2008), 22 yerli (*Lycopersicum esculentum*), 3 adet yabancı (*Lycopersicum peruvianum*, *L. pennellii*, *L. hirsutum*) olmak üzere toplam 25 çeşit domates tohumu deney materyali olarak kullanmışlardır. Tohumlar +25 °C'ta 0, 50, 75, 100, 125 ve 150 mM tuz (NaCl) stresi altında 15 gün çimlenmeye bırakılarak fizyolojik özellikler bakımından bir sınıflandırmaya tabi tutmuşlardır. Tohumlar tuz toleransına en duyarlı olabilecekleri çimlenme devresinde, çimlenme yüzdesi esas alarak incelemiştirler. Tolerans sınırları içerisinde tuzluluğun çimlenme yüzdesine ne şekilde etki ettiği araştırarak elde edilen sonuçları değerlendirmişlerdir. Domates çeşitlerinde maksimum tuz konsantrasyonu toleranslı genotiplerde 125-150 mM NaCl ortamında, hassas genotiplerde ise 50-75 mM NaCl ortamda olduğunu tespit etmişlerdir.

Karakullukçu ve Adak (2008), bazı nohut (*Cicer arietinum* L.) çeşitlerinin tuza toleranslarının incelenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada beş nohut çeşidi kullanılmışlardır. Tuzlu koşullar oluşturmak amacıyla, 2 kg toprak alan saksılara 0 (kontrol) ve 60 mM NaCl uygulanmışlardır. Elde edilen araştırma sonuçlarına göre bitki boyu, kök uzunluğu, toprak üstü yaş ve kuru ağırlık, kök yaş ve kuru ağırlığı bakımından kontrol grubu bitkilerinde daha yüksek değerler tespit etmişlerdir. Araştırmada kullanılan nohut çeşitlerinden Canitez 87, İzmir 92 ve Sarı 98 çeşitleri sırasıyla tuza daha toleranslı olurken, Menemen 97 çeşidi en duyarlı çeşit olduğunu bulmuşlardır.

Parlak ve Parlak (2008), sulama suyu tuzluluklarının korunganın verimi ve kalitesi ile toprak tuzlulaşması üzerine olan etkilerini belirlemek için 5 sulama suyu tuzluluğu (0.27, 3.5, 7, 10 ve 13 dS/m) ve iki alkalilik düzeyinde (SAR= 0.35 ve 10) 3 tekrarlamalı olarak, tesadüf parsellerinde faktöriyel düzende ele almışlardır. Artan tuz miktarı ve alkalilikle bitki boyu kısalmış, kuru ot verimi ve ham protein oranının azaldığını tespit etmişlerdir. Ayrıca en yüksek tuz konsantrasyonu ve alkalilikte ikinci biçimde canlı bitki kalmadığını ve sulama suyu tuzluluğunun artışına bağlı olarak toprak tuzluluğu artış gösterdiğini saptamışlardır.

2.2 In vitro çalışmalar

Cano et al. (1998), *in vitro* sürgün ucu kültür yöntemi ile kültür (*Lycopersicon esculentum*) ve yabancı (*Lycopersicon pennellii*) domates çeşitlerinin tuza karşı toleranslarını ölçmüşler ve kallus gelişimini değerlendirmişlerdir. Sürgün uçları ve kalluslar için kullandıkları MS besi ortamına 0, 35, 70, 105, 140, 175 ve 210 mM NaCl ekleyerek gelişim ve fizyolojik özellikleri tanımlamaya çalışmışlardır. Yabancı türün eksplantlarından düşük NaCl miktarlarında bile kök oluşumunu gözlemleyemezken, kültür türünün eksplantlarından ise farklı NaCl miktarlarında kök oluşumunu tespit etmişlerdir. Farklı NaCl miktarlarında kallus taze ağırlığı ve sürgün taze ağırlığı kıyaslandıklarında yabancı türün tuza daha dayanıklı olduğunu tespit etmişlerdir. Buldukları sonuçlara göre K⁺ iyon miktarının kültür türünde daha fazla birikim yaptığını, prolin miktarının ise yabancı türde daha fazla birikim yaptığını belirtmişlerdir.

Khrais et al. (1998), *in vitro* koşullarda 130 Avrupa ve Kuzey Amerika patates çeşidinin tuza toleranslarını araştırmışlardır. Denemelerde, mikroçağaltım yoluyla 1 ay boyunca MS+(0, 40, 80 ve 120mM) NaCl içeren ortamlarda kültüre alınan tek boğum eksplantlarından oluşan bitkicikleri kullanmışlardır. Araştırmalarında 4 hafta sonra oluşan bitkiciklerin sürgün ve kök uzunluğu, taze ve kuru ağırlık gibi parametreleri değerlendirmişlerdir. Çoklu varyasyon analize tabi tuttıkları parametrelerin verdiği sonuçlara göre tuza dayanıklılık açısından 130 türü 8 grupta sınıflandırmışlardır. Buna göre Amiks, Belrus, Bintje, Onaway, Sierra ve Tobique türleri 1. grupta yer almış ve tuza karşı en fazla tolerans gösteren türler olarak bildirilmişlerdir.

Arzani and Mirodjagh (1999), 28 durum buğday (*Triticum turgidum* var. Durum) çeşidinin *in vitro*'da olgunlaşmamış embriyo kültür yöntemi ile tuz stresine karşı cevabını araştırmışlardır. Çeşitlerin tuza toleransını değerlendirmek için, büyüyen kalluslar her 4 haftada bir NaCl'nin farklı konsantrasyonlarının bulunduğu (% 0, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8 ve 2.1 w/v) kültür ortamlarına almışlardır. Çeşitlerin olgunlaşmamış embriyolardan kallus

oluşum oranlarını karşılaştırmak için, kallus oluşum oranı ile kallusun taze ağırlığı temel almışlardır. Tuz toleransı için, nispi taze ağırlık miktarı ve kallusun nekrozis yüzdesi kullanılmıştır. Çeşitler arasında, rejenerasyon potansiyeli oranında önemli farklar bulunmuşlardır. Nispi taze ağırlık miktarı, değerlendirme yapmak için çeşitlerde kallus oluşum sıklığından daha önemli olduğunu saptamışlardır.

Baohong and Yun (1999), pamuğun (*Gossypium hirsutum*) *in vitro*'da tuza dayanımlarını tespit etmeye çalışmışlardır. Bu amaçla MS+NaCl (0, 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30 ve 40 g/L) içeren besi ortamında kallus oluşumu teşvik edilmiştir. Çalışmalarında kallus oluşumu, büyüme ve çoğaltım oranlarının, embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu gibi özelliklerde *in vitro*'da artan tuz konsantrasyonlarında ne gibi bir değişme olduğunu ölçmüşlerdir. Buna göre tüm özelliklerin artan tuz konsantrasyonlarında azaldığını tespit etmişlerdir.

Lutts et al. (1999), absisik asit (37.8 µM), polietilen glikol (%5), prolin (10 mM), triptofan (490 µM), (5.7 µM) inodol asetik asitin farklı tuz konsantrasyonlarında (0, 50 ve 100 mM NaCl) kallus rejenerasyonu üzerine olan etkilerini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla çeltik Japon (1 Kong Pao ve Aiwu) ve Hint (IR 2153 ve Nona Bokra) çeşitlerinden alınan eksplantları *in vitro*'da kültüre almışlardır. Yüksek NaCl (0, 50 ve 100 mM) oranlarında tüm türlerde kallus rejenerasyon oranının azaldığını bulmuşlardır. Triptofanın tüm tuz oranlarında ve tüm türler üzerinde rejenerasyon oranını artırdığını, polietilen glikol ve absisik asit'in kallus rejenerasyonunu geçiktirdiğini ve azalttığını tespit etmişlerdir. İndol asetik asit'in sürgün rejenerasyonunu azalttığını, prolin'in ise rejenerasyon üzerine belirgin bir etkisinin olmadığını saptamışlardır.

Turan (2000), 15 patates çeşidi ve 6 yabancı patates genotipinin tuza dayanıklılıkları *in vitro* şartlarda test etmiştir. Test edilen çeşit ve genotipler öncelikle 5.12 g/l NaCl içeren MS besin ortamında büyütmüş, test edilen çeşit ve genotiplerin tuzlu ortamda kallus oluşumu için MS+ 2.25 mg/l BAP, 0.2 mg/l NAA ve 5 mg/l GA₃ içeren ortamlarda kültüre almıştır. Bu ortamda bitki boyu, bitki yaş ağırlığı, boğum ve yaprak sayısı, yaprak eni ve boyu, kök

sayısı ve uzunluğu ölçümleri sonrasında Obelix, Concorde, Ausonia ve Tomensa çeşitlerinin test edilen diğer çeşitlere göre tuza daha dayanıklı oldukları gözlemlenmiştir.

Shankhdhar et al. (2000), 6 çeltik (*Oryza sativa L.*) çeşidinin (Pusa Basmati 1, Basmati 370, Type III, Pant Dhan 4, CSR 10 ve Pokkali) *in vitro*'da artan tuz stresi koşulları altında kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu ve prolin miktarını belirlemeye çalışmışlardır. Bu amaçla türlerin olgunlaşmış embriyolarını MS+2,4D içeren besi ortamında 3 hafta boyunca kallus oluşumu için kültüre almışlardır. Oluşan kallusları tekrar MS+2,4D ve farklı NaCl konsantrasyonları içeren (% 0, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 NaCl) besi ortamlarına 4 hafta boyunca kültüre almışlardır. Artan tuz konsantrasyonlarında kallusların ağırlıklarının ve bitki rejenerasyonunun azaldığını, total protein içerisinde ise prolin miktarının arttığını saptamışlardır.

Akkeçeci (2001), 4 ekmeçlik buğday (*Triticum aestivum L.*) çeşidinin (Panda, Seyhan-95, Bal Atilla, Marmara-86) olgunlaşmamış embriyolarını *in vitro* kültürde, steril ortamda (MS + 2mg 2,4-D/l) kültüre alarak, kallus oluşum oranları ve kallus ağırlık artışları belirlemiştir. Elde edilen kalluslar, stres faktörü olarak, farklı oranlarda (0, 1.5, 3, 4.5, 5.5 ve 7 gr/l) NaCl içeren, sıvı MS (MS + 2 mg 2,4-D/l) ortamında, daha sonra da stres faktörü içermeyen sıvı MS ortamında kültüre almıştır. Buradan elde ettiği kallusları, aynı oranlarda NaCl içeren katı MS ortamında, bir kez daha stres faktörüne maruz bırakmış ve bütün ortamlarda kalluslardaki ağırlık artışı ile stres faktörüne bağlı olarak kallus ağırlığında meydana gelen azalma miktarları tespit etmiştir. Kallus oluşum oranı bakımından çeşitler arasında önemli farklılıklar olduğunu belirlemiştir. Stres faktörünün artışına bağlı olarak çeşitlere ve dozlara göre kallus ağırlık artışı da önemli ölçüde azaldığını tespit etmiştir. Buna göre çeşitlerin NaCl stres faktörüne tepkilerini kallus kültürleri aracılığıyla değerlendirmenin mümkün olabileceğini belirtmiştir.

Dölek (2001), *Phaseolus vulgaris L.*'ye ait 5 kültür çeşidinin (Akman 98, Göynük 98, Karacaşehir 90, Şehirli 90 ve Yunus 90) *in vitro* koşullar altında tuz stresine karşı

verdikleri yanıtlar tespit etmek amacıyla, olgun tohum embriyolarını farklı NaCl konsantrasyonları (% 0.0, 0.6 ve 1.0 w/v NaCl) içeren MS besi yerinde kültüre almıştır. Aşılardan sonraki 3, 4, 7, 9, 10 ve 16. günlerde çimlenen embriyoların sayısı kaydetmiş ve olgun embriyolara ait çimlenme yüzdeleri hesaplamıştır. Tuz koşulları altında olgun embriyoların çimlenme yüzdeleri kültürler arasında önemli farklılıklar gösterdiğini ve bitki gelişiminin tuz stresi tarafından kuvvetli bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Elde ettiği sonuçlara göre, kullanılan çeşitler arasında, Göynük 98 tuza en hassas çeşit olarak seçerken Akman 98 tuza dirençte üstünlük tespit etmiştir.

Rashid and Raziuddin (2002), ticari öneme sahip olan patates (*Solanum tuberosum* L.) bitkisinin (Cardinal) türünün *in vitro*'da tuza dayanımını tespit etmeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla *in vitro*'da aksiller tomurcuk kısmı yarı katı MS ortamında 45 gün süreyle kültüre almışlardır. Oluşan eksplantları daha sonra farklı konsantrasyonlarda tuz (%0, 1, 2, 3 ve 4 NaCl)+MS içeren besi ortamlarına geçirmişlerdir. Oluşan bitkilerin taze ağırlıkları, boyları ile kök uzunluğu ve sayısı gibi parametreleri her bir tuz konsantrasyonu için değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak türün %4 NaCl oranına karşı dayanıksız olduğunu bildirmişlerdir.

Küçükahmetler (2003), *Pure white* ve *Pink Picotee Lisianthus* çeşitlerinin *in vitro* ve *in vivo* koşullarda tuz stresine tepkileri fizyolojik açıdan incelemiştir. *In vitro* tuz uygulamalarında kullanılan materyal yan tomurcuk kültürü yöntemiyle çoğaltmıştır. Elde edilen *in vitro* bitkiler; 4 ve 8 hafta olmak üzere 2 farklı zaman periyodunda, birinci denemede 0, 1.0, 1.5 ve 2.0 dS/m, ikinci ve üçüncü denemelerde 0, 2.0, 4.0 ve 8.0 dS/m NaCl konsantrasyonlarında tuz stresine maruz bırakmıştır. Artan NaCl konsantrasyonları ve uygulama sürelerine bağlı olarak *in vitro* bitkilerde büyüme, kuru ağırlık ve köklenme miktarının azaldığı tespit etmiştir. *In vivo* denemelerde de doku kültürü koşullarında kullanılan NaCl konsantrasyonları vegetatif ve generatif aşamalarda olmak üzere iki farklı dönemde uygulamıştır. *Pure White Lisianthus* çeşidinin yüksek NaCl konsantrasyonlarında ve uzun vadeli tuz stresinde *Pink Picotee* çeşidine göre tuza daha toleranslı olduğu saptamıştır.

Doğan (2004), domateste tuz stresine dayanıklı genotiplerin seçiminde kullanılabilecek etkin parametrelerin belirlenmesini ve *in vitro* testlerin *in vivo* tuz tolerans testleri yerine kullanılabilirliğinin ortaya konmasını amaçlamıştır. Materyal olarak toplam 19 farklı domates genotipi, yabancı domates türü *Lycoperscum peruvianum*'a ait bir genotip ile, diğerleri *L. esculentum* türüne ait yerel genotipleri kullanmıştır. Tuza tolerans bakımından genotipler arasındaki farkların *in vitro* koşullarda da ortaya çıktığını, sonuçların *in vivo*'da elde edilen sonuçlarla paralel olduğu belirlemiş ve doku kültürünün domateste tuza tolerans durumlarını belirlemede *in vivo* testler yerine kullanılabileceği belirtmiştir.

Şen (2005), Tekirdağ, Pehlivan ve Flamura-85 buğday çeşitlerinin *in vitro*'da farklı tuz konsantrasyonlarının etkisini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada, çeşitlere ait olgun embriyolardan (tohum) kallus oluşturmak için MS+2,4-D ve (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 ve 0.25 M) NaCl içeren ortamda 28 gün boyunca kültüre almıştır. 28.gün sonunda kültüre alınan eksplantlardan oluşan kallus sayısı ve yüzdesi ile ortalama kallus taze ağırlıkları hesaplamıştır. *In vitro*'da yapılan çalışmada tuza en dayanıklı Flamura-85 çeşidinin olduğunu bildirmiştir.

Dokuyucu vd (2005), *in vitro*'da 4 ekmeçlik buğday (Bal-Atilla, Marmara-86, Seyhan-95 ve Panda) çeşidinin farklı tuz konsantrasyonlarında (25.6, 51.3, 77.0, 99.4 ve 119.7 mM) sıvı ve katı MS besi ortamındaki tepkilerini ölçmek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, genotipler arasında kallus oluşum oranı ve kallus ağırlıkları bakımından önemli farklılıkların olduğunu belirtmişlerdir. Sıvı MS ortamında oluşan kallusların katı ortamda oluşanlara göre ağırlıkça fazla olduğunu, Panda türünün sıvı MS ortamında daha ağır kallus oluşturduğunu, artan tuz oranlarında kallus oluşum oranının azaldığını tespit etmişlerdir. Yüksek tuz konsantrasyonlarında hiçbir türün dayanım gösteremediğini, türler arasında Panda'nın en dayanıklı olduğunu belirtmiştir.

Amini and Ehsanpour (2006), farklı domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) çeşidinin (Cv. Isfahani, Shirazy, Kliozeştam ve Khorasani) değişik NaCl konsantrasyonlarında (0, 40, 80, 120 ve 160 mM), sükröz içeren ve içermeyen MS ile sıvı agar besi yerinde tohum çimlenme ve büyüme oranı, krolofil içeriği, asit fosfat aktivitesi ile çözünür proteinler

üzerine bir çalışma amaçlamışlardır. Araştırmada tohum çimlenme oranı ile fide oluşum ve kuru ağırlığının artan tuz konsantrasyonunda azaldığını, krolofil içeriğinin azaldığını, asit fosfat aktivitesinin yapraklarda azalırken fide kök bölgesinde arttığını, çözümlü proteinlerin ise türlerde kök bölgesinde çeşitlilik gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmalarında sonuç olarak farklı NaCl (0, 40, 80, 120 ve 160 mM) konsantrasyonlarındaki sıvı agar ortamı ile MS ortamında tohum çimlenme oranlarını karşılaştırmışlardır.

Akhtar (2006), dört farklı buğday çeşidinin (Arz, Pak-81, LU-26 ve Pavon) kallogenesis ve organogenesis doku kültür yöntemleri kullanarak tuza olan dayanımlarını tespit etmeye çalışmıştır. Doku kültürü çalışması için kullandığı 3 farklı MS besi ortamının ilk ikisine 1-2 mg/l 2,4-D hormonu, üçüncüsüne ise 2 mg/l NAA hormonu ilave etmiştir. 2. ve 3. ortamlara 50, 100, 150 ve 200 mM dört farklı tuz miktarı eklemiştir. 1. ortamda oluşturduğu kallusları 4 hafta sonra alt-kültüre alarak 2. ve 3. ortamlara aktarmıştır. Bu ortamlardan tuza toleranslı kallus hatlarını seçerek 4 hafta sonra tekrar normal rejenerasyon ortamına almıştır. Elde edilen sonuçlara göre her bir türün farklı tuz miktarlarında kallus oluşum ve rejenerasyon oranının farklı oranlarda olduğunu tespit etmiştir. Buna göre çeşitler arasında tuza en dayanıklı olan türün LU-26 ve bu çeşidi takiben sırasıyla Pavon ,Pak-81, Arz türlerinin olduğunu bildirmiştir. Bulunan bu sonuçların tuza dayanıklı buğday yetiştirmede yardımcı olabileceği belirtmiştir.

Babu et al. (2007), *in vivo* ve *in vitro* şartlarda çeltik (*Oryza sativa*) genotiplerinin tuza dayanımlarını tespit etmeyi amaçlamışlardır. Bu amaçla *in vivo* şartlarda farklı EC ve pH değerlerindeki topraklarda oluşan bitkilerin yapraklarındaki prolin miktarını, Na⁺:K⁺ oranını, krolofil indekslerini hesaplamışlardır. *In vitro* şartlarda ise farklı tuz konsantrasyonları MS+NaCl (%0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1) içeren besi ortamlarında kallus oluşumu teşvik etmişlerdir. Oluşan kallusların taze ağırlıkları, prolin miktarı, kallus morfolojisi gibi özellikleri ölçmüşlerdir. Buna göre artan tuz oranlarında kallus gelişiminin azaldığını tespit etmişlerdir.

Khaleda et al. (2007), *in vitro*'da çeltik (HA-1, HA-2, HA-8, Murabajal, Gheoch, BR-224-2B-2-5) türlerinin tuza olan dayanımlarını, kallus oluşumlarını ve bitki

rejenerasyonlarını tanımlamak amaçlı bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu çalışmalarında 2 mg/l 2,4-D hormonu ve (%0.1, 0.2, 0.3) NaCl içeren MS ve LS ortamları kullanmışlardır. 2 mg/l 2,4-D + %0.1 (w/v) içeren ortamda tüm genotiplerin kallus oluşturdıklarını tespit etmişlerdir. Bu türler arasında MS + %0.1 NaCl ortamında en yüksek kallus oluşum oranı Murabajal (%38) ve en düşük oranı ise Gheoch (%23), BR-224-2B-2-5 (%8) gösterdiğini bulmuşlardır. Artan NaCl oranlarının tüm türler için kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu açısından sınırlayıcı bir etkisinin olduğunu bildirmişlerdir.

Yokaş *et al.* (2008), serada yetiştirilen Target F1 domates çeşidinin verimi, kalitesi, mineral beslenmesi ve bazı fizyolojik özellikleri üzerine NaCl, Na₂SO₄ ve CaCl₂'nin etkisi ve *in vitro* deneme ile de tohum ve polen çimlenmesi üzerine NaCl ve Na₂SO₄'ün etkisini araştırmışlardır. Tohum çimlenmesi hem yüksek tuz dozlarından hem de MS ortamının tam veya yarı güçlü (1/2 MS) olmasından etkilendiğini tespit etmişlerdir. Polen çimlenmesi ve pollen tüp uzunluğu da tuz formu ve dozlarından etkilendiğini ve 50 mM NaCl, 30 mM Na₂SO₄ dozundan yüksek dozlarda polen çimlenmesi saptamamışlardır. Sera denemesinde, tuz formlarının dozlarındaki artış ile klorofil kapsamı, stoma yoğunluğu, bitki gelişimi ve verim azalttığını ve stoma yoğunluğu ile verimdeki azalma NaCl uygulamasında daha belirgin olduğunu tespit etmişlerdir.

Dasgupta *et al* (2008), *in vitro*'da 15 tatlı patates genotipinin tuza olan toleranslarının belirlenmesine ve buna bağlı olarak antioksidan enzimlerinin (süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1), glutatyon peroksidaz (GPX, EC 1.11.1.7) ve katalaz (CAT, EC 1.11.1.6) aktivitelerini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Çalışmalarında 8 hafta boyunca farklı tuz (NaCl) oranları (%0, 0.5 ve 1) ve NAA (2.7 µM), BA (4.4 µM), GA₃ (1.45 µM), 30 g/l sukroz içeren 3 farklı MS besi ortamında kültüre alınan sürgün uçlarını kullanmışlardır. Araştırmalarında büyüme parametrelerini (yaprak sayısı, sürgün sayısı, kök sayısı, sürgün ve kök uzunluğu) değerlendirmişlerdir. Artan tuz konsantrasyonlarında bu parametre değerlerinde belirgin bir azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir. Artan tuz konsantrasyonlarında antioksidan enzim aktivitelerinin de belirgin oranda arttığını saptamışlardır.

2.3 Polen Çimlenmesi

Dhingra and Varghese (1985), farklı NaCl (0, 80, 120 ve 160 mM/L) dozlarında yetiştirilen mısır bitkisinin polen tanelerinin çimlenmesi ve polen tübü oluşumu üzerine farklı büyüme düzenleyicilerini (IAA (indol-3-asetik asit), GA₃ (gibberellik asit), BAP (benzaminopürin), ABA (absisik asit)) etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. IAA (indol-3-asetik asit)'in çimlenme üzerine etkisinin olmadığını, ancak az bir konsantrasyonda tuzlu koşullarda yetiştirilen bitkilerden alınan polen tanelerinde tüp oluşumunu artırıcı etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Giberellik asitinin 1 mg/l konsantrasyonunda tuzlu ortamda (120 mM/l) yetişen bitkilerden alınan polen tanelerinin çimlenmesi üzerine durdurucu etkisinin olduğunu tespit etmişlerdir. Benzaminopürinin (BAP)'de NaCl'nin polen çimlenmesi ve tüp oluşumundaki olumsuz etkisini önlediğini, absisik asitinin (ABA) ise çimlenmeyi engellediğini ve tüp oluşumunun uyardığını saptamışlardır. Tuzlu koşullarda yetişen mısır bitkisinin polen taneleri tuzsuz ortamda yetişenlere göre büyüme düzenleyicilerine daha çok yanıt verdiğini belirlemişlerdir.

Azorov et al. (1989), *Arabidopsis Thaliana* (L.) Heynh'nin polen tanelerini 7.81 mg CaCl₂, 12.72mg MgSO₄, 47.77mg Ca(NO₃)₂ x 4H₂O, 5.83mg K₂HP0₄ x 3H₂O ve 17.8mg K₂SO₄ (pH=7.42) içeren ortama aldıktan sonra, ortama 0.3 ve 0.5% NaCl eklemişlerdir. Polen çimlenme oranını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak artan NaCl dozlarında polen çimlenme oranının belirgin bir şekilde azaldığını saptamışlardır.

Sancak et al. (2003), *in vitro* şartlarda korunga (*Onobrychis viciifolia*) polen tanelerinin çimlenmesi için güvenilir bir metot geliştirmişlerdir. Çalışmalarında en yüksek polen çimlenme yüzdesini %96 ve en yüksek polen tüpü uzunluğunu ise 223.5 µm ile (100 g/l şeker, 175 g/l PEG-4000, 200 mg/l KNO₃, 150'şer mg/l Ca (NO₃), MgSO₄, H₃BO₃, 175 g/l PEG 4000 ve stigma ekstratı pH 6.5) kimyasalları içeren ortam olarak tespit etmişlerdir. Artan tuz dozlarında polen çimlenme oranının önemli bir ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu araştırmada materyal olarak Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı'ndan temin edilen korunga *Onobrychis viciifolia* Scop. ve *Onobrychis oxydonta* var. *armena* (Boiss & Huet) Aktoklu, comb. Et stat. Nov. türlerine ait tohumlar ve NaCl kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

Araştırmamızda kullanılan yöntemler;

İki farklı korunga türlerine ait tohumlara *in vivo* koşullarda 0,5, 10, 20 ve 30 dS/m elektriksel iletkenliğe sahip NaCl konsantrasyonu uygulamaları ile çimlendirme denemeleri, *in vitro* koşullarda aynı NaCl dozlarının farklı besin ortamı ve doku kültürü koşullarında uygulaması denemeleri ve aynı polen çimlendirme denemelerine ait uygulamalardır.

3.2.1 Çimlendirme denemeleri

NaCl konsantrasyonları 0,5, 10, 20 ve 30 dS/m elektriksel iletkenliğe sahip olacak şekilde WTW 3.15i marka EC metre yardımıyla ayarlanmıştır. Distile su, kontrol (0 dS/m) olarak kullanılmıştır. 50 adet tohum 4 tekerrürlü olarak 3 adet kurutma kağıdı arasında 20 °C'de tamamen karanlık ortamda çimlenmeye bırakılmıştır. Her kurutma kağıdına üstteki tuz konsantrasyonlarının herbiri 7 ml solüsyon şeklinde ıslatacak şekilde uygulanmıştır. Buharlaşmayı engellemek için ağız kilitli plastik torbalar kullanılmıştır. Her iki günde bir, kâğıtlar değiştirilerek tekrar 7 ml solüsyon eklenmiştir. Tohumlar her gün sayılarak 2 mm kökçük uzunluğuna sahip tohumlar çimlenmiş kabul edilmiştir. 14. günde toplam çimlenen tohumlar sayılarak çimlenme yüzdesi (%) belirlenmiştir. Çimlenme hızını belirlemek amacıyla ortalama çimlenme süresi (OÇS) aşağıdaki formülle göre hesaplanmıştır (Ellis ve Roberts, 1980).

$$O\text{ÇS} = \Sigma(D_n) / \Sigma D$$

Formülde, D sayım günündeki çimlenen tohum sayısını, n sayım yapılan gün sayısını göstermektedir. Kök ve sürgün uzunluğu ile bitki yaş ağırlığına ilişkin ölçümler 14. günde yapılmıştır. Bu amaçla seçilen 10 adet fidenin yaş ağırlıkları tartılmış ve kök uzunluğu, hipokotil uzunluğu cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Kuru madde oranı (%) her tekerrürden tesadüfen seçilen 10 fidenin yaş ağırlığı belirlendikten sonra 70 °C' de 48 saat süreyle kurutulmuş ve bu değerler oranlanarak % olarak hesaplanmıştır.

3.2.2 Doku kültürü denemeleri

Besin ortamı ve doku kültürü koşulları: Denemelerde MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog 1962; Çizelge 3.1.) ile %3 sukroz içeren ve %8'lik agar (Type A, Sigma) ile katılaştırılan temel besin ortamı (MSO) kullanılmıştır. Ortamların hazırlığında bidistile su kullanılmıştır, besin ortamlarına benzil amino pürin (BAP) ve naftalen asetik asit (NAA) bitki büyüme düzenleyicileri ilave edilmiştir. Besin ortamlarının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.8'e ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir.

Büyüme düzenleyiciler (BAP ve NAA) uygun çözücülerde (1N NaOH) çözüldükten sonra saf su ile istenen miktarlarda ve oranlarda stok solüsyonları hazırlanmıştır. Büyüme düzenleyiciler, ortamlar steril edilmeden önce ortama katılmıştır. Tüm kültürler beyaz florasan ışığında 16 saat ışık ve 8 saatlik karanlık fotoperiyotta 20-22 °C'de tutulmuştur.

Sterilizasyon ve tüm doku kültürü işlemleri steril kabin içinde yürütülmüştür. Kapların, saf su ve ortamın sterilizasyonunda 1.2 atmosfer, 121°C ve 20 dakikaya ayarlı otoklav kullanılmıştır. Petri kutuları yanmaz kağıtlara sarılarak 160 °C'de 2 saat etüvde sterilize edilmiştir.

Tohumlar, yüzey sterilizasyonu için %50 çamaşır suyunda (ACE) 15 dakika tutularak, daha sonra steril saf su ile 3 kez durulanmıştır. Steril edilen tohumlar yine steril Magenta kapları içerisinde, %3 sukroz içeren, farklı oranlarda tuz içeren ve %8'lik agar ile katılaştırılan MSO, 1/2 MSO ve 1/4 MSO besin ortamlarında 24°C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta çimlendirilmiştir. Çimlendirme denemelerinde 5, 10, 20 ve 30 dS/m EC değerlerini elde etmek için kullanılan NaCl miktarları, MS ortamlarına eklenerek farklı konsantrasyonlar elde edilmiştir. Burada yine daha önce çimlendirme denemelerinde alınan ölçüm ve gözlemler yapılmıştır.

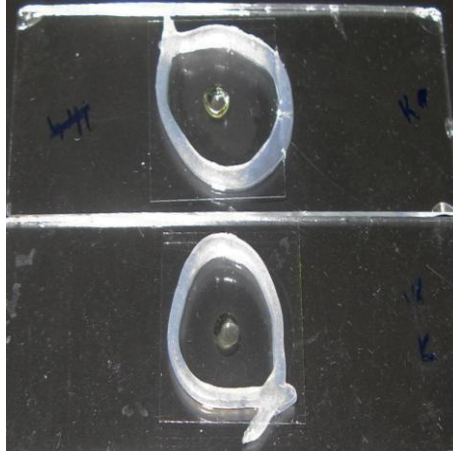
3.2.3 Büyüme ve rejenerasyon ortamı: Eksplanta göre en yüksek rejenerasyonu veren hormonlar Özcan vd., (1996) ve Özgen vd., (1998)'den bakılarak düzenlenmiştir. Burada çimlendirme denemelerinde 5, 10, 20 ve 30 dS/m EC değerlerini elde etmek için kullanılan NaCl miktarları içeren MS besi ortamlarına en yüksek sonuç alınan hormon konsantrasyonları eklenmiştir. Eksplant olarak yaprak sapı veya yaprakçık kullanılmıştır. Yaprakçık ve yaprak sapı eksplantları *in vitro* gelişen fidelerden izole edilmiştir. Kallus oluşturan eksplant sayısı, yaş kallus ağırlığı, kuru kallus ağırlığı, sürgün oluşturan eksplant sayısı, eksplant başına sürgün sayısı parametreleri belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. MS ortamında bulunan besin maddeleri ve konsantrasyonları (Murashige ve Skoog, 1962)

Besin Maddeleri		Konsantrasyonu (mg/l)
Makro Elementler	NH ₄ NO ₃	1650.000
	KNO ₃	1900.000
	CaCl ₂ .2H ₂ O	440.000
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370.000
	KH ₂ PO ₄	170.000
Mikro Elementler	KI	0.830
	H ₃ BO ₃	6.200
	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.300
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.600
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.250
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.850
Na ₂ EDTA.	37.250	
Vitaminler	Myo-Inositol	100.000
	Nikotinik Asid	0.500
	Pyrotinik Asid	0.500
	Thiamin-HCl	0.100
	Glysin	2.000

3.2.4 Polen çimlenmesi: Polen çimlendirme denemeleri Sancak *et al.* (2003)'e göre yapılmıştır. Sabahın erken saatlerinde A.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlalarında bulunan *Onobrychis viciifolia* ve *Onobrychis oxydonta* var. *armena* korunga türlerine ait çiçekler toplanmıştır. Toplanan çiçeklerden bir lam üzerine fırça yardımıyla polenler alınmıştır. Alınan polenler lamel üzerini damlatılan farklı tuz konsantrasyonları (0,5, 10, 20 ve 30 dS/m) içeren besi ortamı (100 g/l şeker, 175 g/l PEG 4000, 200 mg/l KNO₃, 150'şer mg/l Ca (NO₃), MgSO₄, H₃BO₃) içerisine konularak etrafı vazelin ile çevrili olan lamın oyuk kısmı üzerine gelecek şekilde ters bir durumda kapatılarak preparatlar

hazırlanmıştır. Hazırlanan bu preparatlar daha sonra içerisinde ıslak bir havlu bulunduran petri kaplarına konarak 24 ± 1 °C’ de floresan ışık ($35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) altında bir saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Bir saat sonunda inkübasyona bırakılan polenler mikroskop altında çimlenme durumları incelenmiş ve 4 tekrür olacak şekilde 25 adet polen sayılmıştır.



Şekil 3.1. Polen çimlendirme denemesi için hazırlanan preparatın genel görünüşü

3.3 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi

Araştırma sonunda elde edilen veriler, bilgisayarda SPSS paket programı ile tesadüf parselleri deneme desenine göre analiz edilmiştir. Muamele ortalamaları arasındaki farklılıklar MSTAT-C bilgisayar programı kullanılarak Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile belirlenmiştir. Yüzde değerleri istatistik analizi yapılmadan önce arcsin transformasyonuna tabi tutulmuştur (Düzgüneş ve ark. 1987).

4. ARAŞTIRMA BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 In vivo çimlendirme

In vivo koşullarda korunga türlerinin farklı NaCl konsantrasyonlarındaki incelenen özelliklerine ilişkin elde edilen verilerle yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. incelendiğinde, çimlenme yüzdesi, ortalama çimlenme süresi, hipokotil uzunluğu, fide kuru ağırlık ve kuru madde oranı bakımından Tür x NaCl interaksyonu istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Fide yaş ağırlık bakımından Tür x NaCl interaksyonunun %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Kök uzunluğu bakımından ise Türler ve NaCl dozları arasında belirlenen farklılıklar istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Belirlenen farklılıkların önem düzeyini saptamak amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları ve ortalama değerler Çizelge 4.2., 4.3., 4.4., 4.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi, çimlenme yüzdesinde en yüksek değer %100 ile *O. oxydonta* türünde, en düşük ise %40.5 ile yine *O. oxydonta* türünde elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. vicifolia* türü için en yüksek değer %98.5 ile 5 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer %84.5 ile 30 dS/m NaCl dozunda elde edilmiştir. Kontrol ve 10 dS/m NaCl dozu arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. *O. oxydonta* türünde ise en yüksek çimlenme yüzdesi %100 ile kontrolde, en düşük çimlenme yüzdesi ise %40.5 ile 30 dS/m NaCl dozunda elde edilmiştir. Artan NaCl dozları çimlenme yüzdesini belirgin bir şekilde azalttığı ve bu azalışın 10 dS/m NaCl dozundan sonra daha da belirgin olduğu görülmektedir. Genel olarak, NaCl dozlarındaki artış her iki türde de çimlenme yüzdesinde azalmaya neden olurken, *O. vicifolia* türü artan NaCl seviyelerinde daha yüksek çimlenme yüzdesi vermiştir. Benzer sonuçları Özdemir (1993), Akıncı ve Akıncı (2000), Kaya ve İpek (2003), Kaya vd. (2005), Day vd. (2008), Karakullukçu ve Adak (2008) tarafından bulunmuştur.

Çizelge 4.1. In vivo çimlendirmede incelenen karakterlerin varyans analiz tablosu

V.K.	S.D.	Çimlenme yüzdesi (%)		Ortalama çimlenme süresi (gün)		Hipokotil uzunluğu (cm)		Kök uzunluğu (cm)		Fide yaş ağırlık (mg/bitki)		Fide kuru ağırlık (mg/bitki)		Kuru madde oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Genel	39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tür(T)	1	768.8	41.17**	1.43	15.6**	13.41	85.8**	2.49	6.89**	8439.0	92.2**	99.225	107.3**	354.9	177.7**
Doz(D)	4	1524.5	81.63**	5.72	62.2**	28.86	184.7**	23.76	65.71**	15310.7	167.4**	13.150	14.2**	78.5	39.3**
T×D	4	457.6	24.50**	16.95	184.2**	0.73	4.6**	0.86	2.38	312.0	3.4*	41.100	44.4**	435.8	218.2**
Hata	30	18.7	-	0.09	-	0.16	-	0.36	-	91.5	-	0.925	-	1.9	-

*: 0.05 düzeyinde önemli, **: 0.01 düzeyinde önemli

Ortalama çimlenme süresi bakımından Tür x NaCl dozları interaksyonu incelendiğinde; en uzun ortalama çimlenme süresi 5.79 gün ile *O. oxydonta* türünde, en kısa süre ise 1.94 gün ile *O.viciifolia* türünde ölçülmüştür (Çizelge 4.2). Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türünde en uzun süre 4.46 gün ile 30 dS/m NaCl dozunda elde edilmiştir. Kontrol, 5 ve 10 dS/m NaCl dozları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmazken, en düşük değer 1.94 gün ile kontrolde belirlenmiştir. *O. oxydonta* türünde ise en uzun ortalama çimlenme süresi 5.79 gün ile 20 dS/m NaCl dozunda , en düşük değer 2.33 gün ile kontrolde elde edilmiştir. *O. viciifolia* türünün daha kısa sürede çimlendiği belirlenmiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak, ortalama çimlenme süresi belirgin bir şekilde uzadığı tespit edilmiştir. Benzer sonuçları Kaya vd. (2005) ve Day vd. (2008) tarafından bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki çimlenme yüzdesi (%) ve ortalama çimlenme süresi (gün) ortalamaları

NaCl Dozları (dS/m)	Çimlenme yüzdesi (%)			Ortalama çimlenme zamanı (gün)		
	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama
Kontrol	97.5 bcd	100.0 a	98.8	1.94 f	2.33 ef*	2.13
5	98.5 abc	99.0 ab	98.8	1.95 f	2.85 d	2.40
10	98.0 bcd	94.5 d	96.3	2.07 f	3.91 c	2.99
20	97.0 cd	73.5 f	85.3	2.57 de	5.79 a	4.18
30	84.5 e	40.5 g	62.5	4.46 b	-	2.23
Ortalama	<i>95.1</i>	<i>81.5</i>	<i>88.3</i>	<i>6.10</i>	<i>2.97</i>	<i>4.53</i>

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur (p<0.05).

-: Yeterli çimlenme sağlanamadığından ortalama çimlenme süresi hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.3’de görüldüğü gibi, en yüksek değer 5.69 cm ile *O. viciifolia* türünün kontrolünde, en düşük değer ise *O. oxydonta* türünde 0.66 cm ile 20 dS/m NaCl dozunda elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en uzun hipokotil uzunluğu 5.69 cm ile kontrolde, en kısa 0.56 cm ile 30 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O. oxydonta* türünde ise en uzun hipokotil uzunluğu 3.90 cm ile 5 dS/m NaCl dozunda, en kısa hipokotil uzunluğu 0.66 cm ile 20 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. Türlerde en yüksek değer *O. viciifolia*’dan elde edilmiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak hipokotil uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuç Özdemir (1993),

Türkmen (2002), Karagüzel (2003), Akıncı ve Akıncı (2000), Kaya ve İpek (2003), Dumlupınar (2005), Kaya vd. (2005), Day vd. (2008), Karakullukçu ve Adak (2008), Parlak ve Parlak (2008) tarafından bildirilen sonuçlarla uyum içerisindedir.

Kök uzunluğunda, en yüksek değer 5.13 cm ile 5 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer ise 1.20 cm ile 30 dS/m NaCl dozunda *O. vicifolia* türünden elde edilmiştir (Çizelge 4.3.). Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en uzun kök uzunluğu 5.13 cm ile 5 dS/m NaCl dozunda, en kısa kök uzunluğu 1.20 cm ile 30 dS/m NaCl dozunda belirlenmiştir. *O. oxydonta* türünde ise en uzun kök uzunluğu 4.52 cm ile kontrolde, en kısa kök uzunluğu 1.49 cm ile 20 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. Türlerde en yüksek değeri *O. vicifolia* vermiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak kök uzunluğunun belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Özdemir (1993), Türkmen (2002), Karagüzel (2003), Akıncı ve Akıncı (2000), Kaya ve İpek (2003), Dumlupınar (2005), Kaya vd. (2005), Day vd. (2008), Karakullukçu ve Adak (2008) ve Parlak ve Parlak (2008) tarafından bildirilen sonuçlarla uyum içerisindedir.

Çizelge 4.3. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki hipokotil uzunluğu (cm) ve kök uzunluğu (cm) ortalamaları

NaCl Dozları (dS/m)	Hipokotil uzunluğu (cm)			Kök uzunluğu (cm)		
	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama
Kontrol	5.69 a	3.57 cd*	4.63	4.18	4.52	4.35 a
5	4.91 b	3.90 c	4.40	5.13	4.21	4.67 a
10	3.25 d	2.46 e	2.85	3.13	3.21	3.18 b
20	1.97 e	0.66 f	1.31	2.47	1.49	1.98 c
30	0.56 f	-	0.28	1.20	-	0.51 d
Ortalama	3.27	2.11	2.69	3.19 a	2.69 b	2.93

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur (p<0.05).

-: Yeterli çimlenme sağlanamadığından kök ve hipokotil uzunluğu hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.4'de görüldüğü gibi, en fazla fide yaş ağırlık değeri 152 mg/bitki ile *O. viciifolia* türünün kontrolünde, en az fide yaş ağırlık değeri ise 42 mg/bitki ile *O. viciifolia* türünde 30 dS/m NaCl dozunda elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türünde en yüksek değer 152 mg/bitki ile kontrolde, en düşük değer 42 mg/bitki ile 30 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O. oxydonta* türünde ise en yüksek değer 109

mg/bitki ile kontrolde, en düşük değer 53 mg/bitki ile 20 dS/m NaCl dozunda bulunmuştur. *O. viciifolia* ve *O. oxydonta* türlerinde NaCl dozlarındaki artışla birlikte fide yaş ağırlık azalmıştır.

Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki fide kuru ağırlık değerleri incelendiğinde, en fazla kuru ağırlık *O. viciifolia*'dan 12.25 mg/bitki ile 30 dS/m NaCl dozunda, en az kuru ağırlık ise *O. oxydonta*'dan 8.25 mg/bitki ile 10 dS/m NaCl dozunda elde edilmiştir (Çizelge 4.4.). Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en yüksek değer 12.25 mg/bitki ile 30 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer 9.25 mg/bitki ile kontrolde ölçülmüştür. *O. oxydonta* türünde ise en yüksek değer 9.50 mg/bitki ile 20 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer 8.25 mg/bitki ile 20 dS/m NaCl dozunda hesaplanmıştır. *O. viciifolia*'nın tüm NaCl dozlarında daha yüksek değerler verdiği görülmektedir. *O. oxydonta* türünün 30 dS/m NaCl dozunda yeterli fide gelişimi gözlenmediğinden fide kuru ağırlığı belirlenmemiştir. Artan NaCl dozlarında her iki korunga türünde de fide kuru ağırlığı artmıştır. Benzer sonuçlar Özdemir (1993), Türkmen (2002), Karagüzel (2003), Akıncı ve Akıncı (2000), Dumlupınar (2005), Kaya vd. (2005), Day vd. (2008), Karakullukçu ve Adak (2008) tarafından bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki fide yaş ağırlık (mg/bitki) ve kuru ağırlık (mg/bitki) ortalamaları

NaCl Dozları (dS/m)	Fide yaş ağırlık (mg/bitki)			Fide kuru ağırlık (mg/bitki)		
	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama
Kontrol	152 a*	109 abc	131	9.25 bc	8.50 c	8.88
5	128 ab	106 abc	117	9.75 bc	8.50 c	9.13
10	94 bcd	76 cde	85	9.50 bc	8.25 c	8.88
20	72 cde	53 de	63	10.75 b	9.50 bc	10.13
30	42 ef	-	21	12.25 a	-	6.63
Ortalama	98	74	86	10.30	7.15	8.73

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur (p<0.05).

-: Yeterli çimlenme sağlanmadığından fide yaş ve kuru ağırlık hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.5'de görüldüğü gibi, kuru madde oranı bakımından en yüksek değer %28.75 ile 30 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer %6 ile kontrolde *O. viciifolia* türünden elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türünde en fazla kuru madde oranı %28.75 ile 30 dS/m NaCl dozunda, en az kuru madde oranı %6 ile

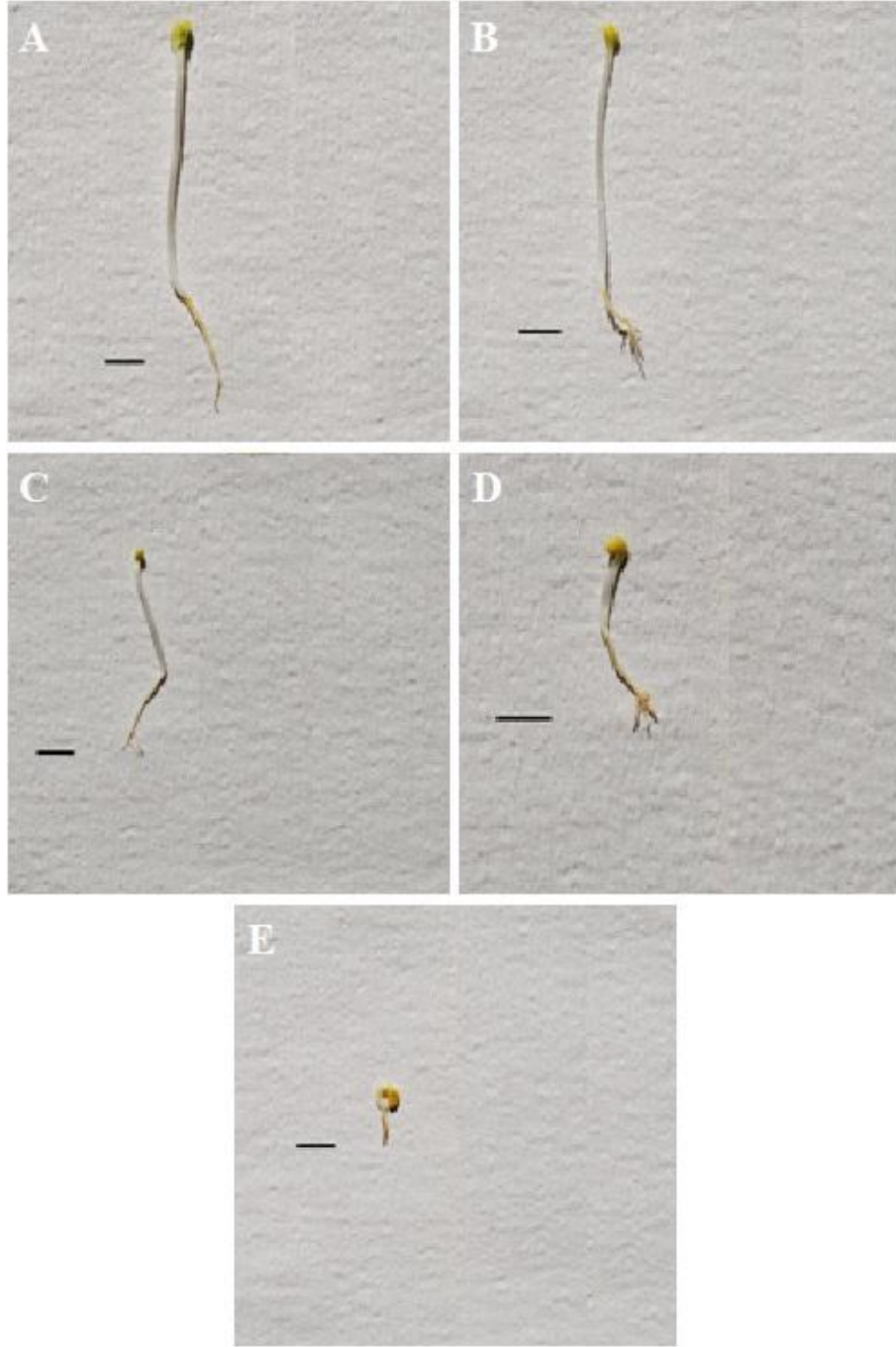
kontrolde ölçülmüştür. *O. oxydonta* türünde ise en yüksek değer %15.75 ile 20 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer %8.00 ile kontrolde hesaplanmıştır. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak kuru madde oranının arttığı belirlenmiştir. Bu sonuç Özdemir (1993), Türkmen (2002), Karagüzel (2003), Kaya ve İpek (2003) , Dumlupınar (2005), Kaya vd. (2005), Eroğlu (2007), Day vd. (2008) tarafından bildirilen sonuçlar ile uyum içerisindedir.

Çizelge 4.5. Korunga türlerinin farklı NaCl dozlarındaki kuru madde oranı (%) ortalamaları

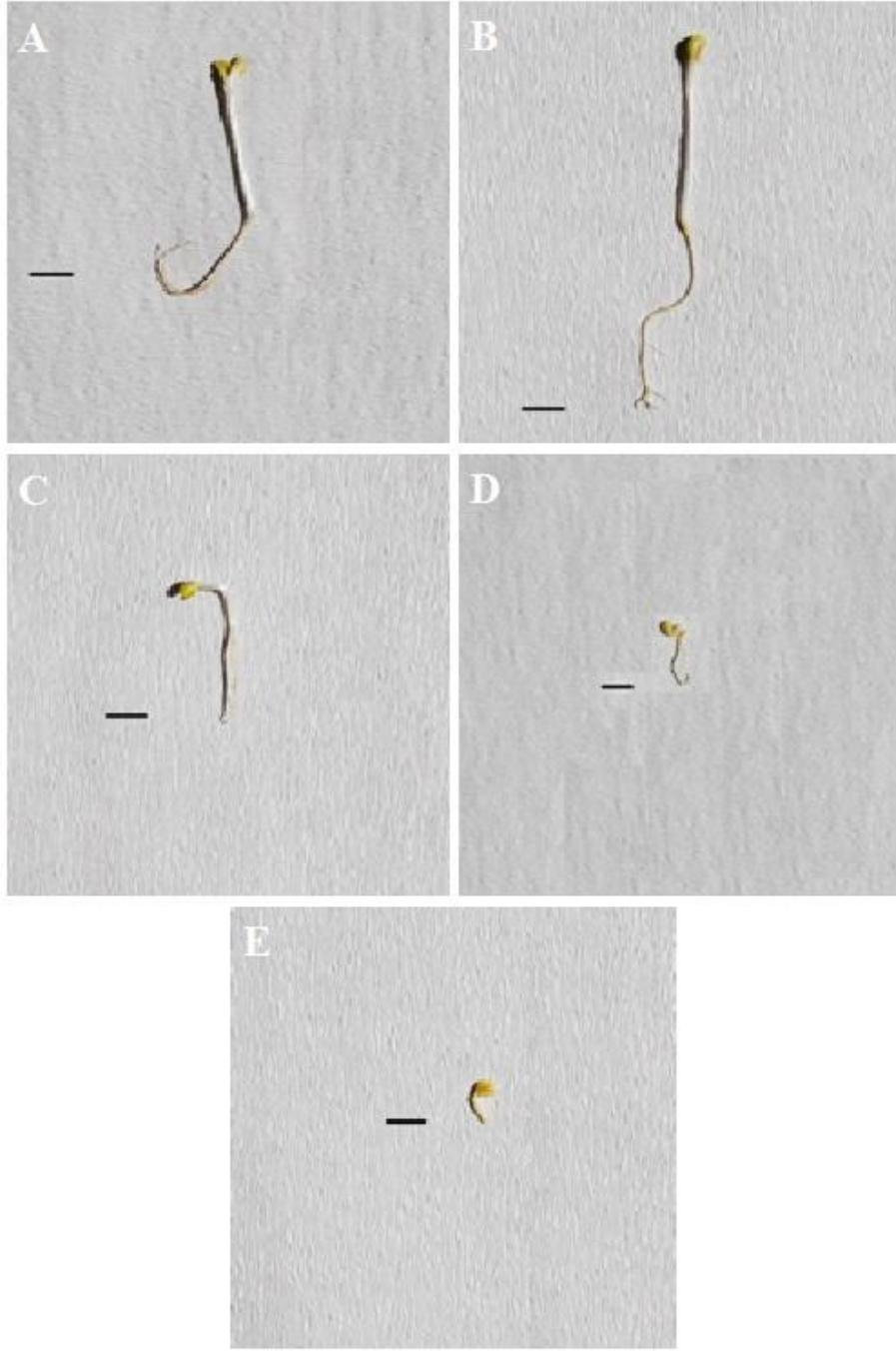
NaCl Dozları (dS/m)	Kuru madde oranı (%)		
	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama
Kontrol	6.00 f	8.00 de*	7.00
5	7.50 ef	6.75 ef	7.12
10	9.75 cd	10.50 c	10.12
20	14.75 b	15.75 b	15.25
30	28.75 a	-	14.37
Ortalama	<i>13.35</i>	<i>8.20</i>	<i>10.77</i>

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

-: Yeterli fide elde edilemediğinden kuru madde oranı hesaplanamamıştır.



Şekil 4.1. Farklı NaCl dozları uygulanarak çimlendirilen *Onobrychis viciifolia* Scop. türünün 14. günde ölçümü yapılan fideleri. (A) 0 dS/m NaCl, (B) 5 dS/m NaCl, (C) 10 dS/m NaCl, (D) 20 dS/m NaCl, (E) 30 dS/m NaCl. Çizgi = 1cm



Şekil 4.2. Farklı NaCl dozları uygulanarak çimlendirilen *Onobrychis oxydonta* var. *armena* türünün 14. günde ölçümü yapılan fideleri. (A) 0 dS/m NaCl, (B) 5 dS/m NaCl, (C) 10 dS/m NaCl, (D) 20 dS/m NaCl, (E) 30 dS/m NaCl. Çizgi = 1 cm

4.2 In vitro çimlendirme denemeleri

In vitro koşullarda korunga türlerinin farklı NaCl konsantrasyonlarındaki incelenen özelliklerine ilişkin elde edilen verilerle yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.6'da özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. incelendiğinde, çimlenme yüzdesi, ortalama çimlenme süresi, hipokotil uzunluğu, fide yaş ve kuru ağırlığı bakımından Tür x Ortam x NaCl interaksyonu istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Kök uzunluğu ve kuru madde oranı bakımından Tür x Ortam x NaCl interaksyonunun %5 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Belirlenen farklılıkların önem düzeyini saptamak amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları ve ortalama değerler Çizelge 4.7., 4.8., 4.9., 4.10., 4.11., 4.12., 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.7'de görüldüğü gibi, en fazla çimlenme yüzdesi %100 ile 5 ve 10 dS/m NaCl dozundan 1/2 MS0 ortamında *O. viciifolia* türünden, en az çimlenme yüzdesi %2 ile 30 dS/m NaCl dozundan 1/4 MS0 ortamında *O. oxydonta* türünden elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en yüksek değer %100 ile 1/2 MS0'nun 5 ve 10 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer %38 ile 1/4 MS0'nun 30 dS/m NaCl dozunda belirlenmiştir. *O. oxydonta* türünde ise en yüksek çimlenme yüzdesi %85 ile MS0'nun kontrolünde, en düşük çimlenme yüzdesi %2 ile 1/4 MS0'nun 30 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. MS konsantrasyonları bakımından *O. viciifolia* türünde ortalama olarak en fazla değeri 1/2 MS0'dan, *O. oxydonta* türü için en fazla değeri ise 1/4 MS0'dan elde edilmiştir. Genel olarak, NaCl dozlarındaki artış her iki türde de çimlenme yüzdesinde azalmaya neden olurken, *O. viciifolia* türü artan NaCl seviyelerinde daha yüksek çimlenme yüzdesi vermiştir. Dölek (2001), Amini and Ehsanpour (2006) ve Yokaş *et al.* (2008) tarafından benzer sonuçlar bulunmuştur.

Çizelge 4.6. In vitro çimlendirmede incelenen karakterlerin varyans analiz tablosu

V.K.	S.D.	Çimlenme yüzdesi (%)		Ortalama çimlenme süresi (gün)		Hipokotil uzunluğu (cm)		Kök uzunluğu (cm)		Fide yaş ağırlık (mg/bitki)		Fide kuru ağırlık (mg/bitki)		Kuru madde oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Genel	119	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tür (T)	1	13.821	308.4**	4.1	11.7**	89.7	496.9**	109.5	137.1**	597276.3	195.4**	8500.8	151.26**	405.9	55.9**
Ortam (O)	2	792	17.7**	23.2	66.1**	4.9	27.4**	0.6	0.7	39489.8	12.9**	252.3	4.49**	218.6	30.1*
Doz (D)	4	12.187	271.9**	50.1	143.6**	77.5	429.4**	150.0	187.9**	469433.6	153.6**	7377.3	131.27**	721.0	99.3*
T×O	2	1.493	33.3**	8.3	23.9**	4.0	22.4**	6.4	8.1**	19262.4	6.3**	195.8	3.48*	358.5	49.4*
T×D	4	119	2.6*	52.7	151.2**	8.7	47.9**	8.8	10.9**	27589.6	9.0**	170.1	3.03*	599.9	82.7*
O×D	8	325	7.2**	9.5	27.1**	1.6	9.1**	2.4	2.9**	19466.8	6.4**	266.4	4.74**	209.8	28.9*
T×O×D	8	256	5.7**	25.0	71.6**	0.9	5.1**	1.8	2.2*	33014.7	10.8**	409.1	7.28**	205.2	28.3*
Hata	90	44	-	0.3	-	0.2	-	0.8	-	3056.0	-	56.2	-	7.2	-

*: 0.05 düzeyinde önemli, **: 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.7. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki çimlenme yüzdesi (%) ortalamaları

Tür	MS Konsantrasyonu	NaCl Dozları (dS/m)					
		Kontrol	5	10	20	30	Ortalama
<i>O. viciifolia</i>	MS0	97 a	98 a	79 bcd	58 e*	-	66.4
	1/2 MS0	98 a	100 a	100 a	83 bc	52 ef	86.6
	1/4 MS0	99 a	99 a	98 a	88 b	38 f	84.4
	Ortalama	98.0	99.0	92.3	76.3	30.0	78.4
<i>O. oxydonta</i>	MS0	85 b	79 bcd	60 e	40 f	14 g	55.6
	1/2 MS0	64 de	81 bc	77 bcd	35 f	7 g	52.8
	1/4 MS0	81 bc	65 de	69 cde	51 ef	2 h	53.6
	Ortalama	76.6	75.0	68.6	42.0	7.6	54.0

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

-: Çimlenme olmamıştır.

Ortalama çimlenme yüzdesi bakımından Tür x Ortam x NaCl interaksyonu incelendiğinde; en uzun çimlenme süresi 8.18 gün ile 20 dS/m NaCl dozunda 1/4 MS0 ortamında *O. oxydonta* türünden, en kısa çimlenme süresi 2.19 gün ile kontrolden MS0 ortamında *O. viciifolia* türünden elde edilmiştir (Çizelge 4.8.). Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en uzun süre 7.08 gün ile MS0'ın 20 dS/m NaCl dozunda, en kısa süre ise 2.19 gün ile 1/4MS0'ın kontrolünde belirlenmiştir. *O. oxydonta* türünde ise en uzun süre 8.18 gün ile 1/4MS0'ın 30 dS/m NaCl dozunda, en kısa süre ise 4.76 gün ile 1/2 MS0'ın kontrolünde bulunmuştur. MS konsantrasyonları bakımından *O. viciifolia* türünde ortalama olarak en yüksek değer MS0'dan, *O. oxydonta* türü için en yüksek değer ise 1/4 MS0'dan elde edilmiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak, ortalama çimlenme süresinin belirgin bir şekilde uzadığı tespit edilmiştir. *O. viciifolia* türünün daha kısa sürede çimlendiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki ortalama çimlenme süresi (gün) ortalamaları

Tür	MS Konsantrasyonu	NaCl Dozları (dS/m)					
		Kontrol	5	10	20	30	Ortalama
<i>O.viciifolia</i>	MS0	3.01 gh ₁	3.29 gh	4.34 ef	7.08 b*	-	3.54
	1/2 MS0	2.57 h ₁	3.01 gh ₁	3.52 fg	6.38 bc	-	3.09
	1/4 MS0	2.19 ₁	2.47 h ₁	2.80 gh ₁	4.74 e	-	2.44
	Ortalama	2.59	2.92	3.55	6.06	-	3.02
<i>O.oxydonta</i>	MS0	5.05 de	4.64 e	6.07 c	-	-	3.15
	1/2 MS0	4.76 e	5.16 de	6.13 c	-	-	3.21
	1/4 MS0	5.72 cd	6.02 c	6.26 bc	8.18 a	-	5.23
	Ortalama	5.17	5.27	6.15	2.72	-	3.86

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur (p<0.05).

-: Yeterli çimlenme sağlanamadığından OÇS hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.9’da görüldüğü gibi, en uzun hipokotil uzunluğu 6.80 cm ile kontrolden 1/2 MS0 ortamında *O.viciifolia* türünden, en kısa hipokotil uzunluğu 0.68 cm ile 20 dS/m NaCl dozundan MS0 ortamında *O.oxydonta* türünden elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en yüksek değer 6.80 cm ile 1/2 MS0’ın kontrolünde, en düşük değer 1.06 cm ile 1/4 MS0’ın 20 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O.oxydonta* türünde ise en uzun hipokotil uzunluğu 3.48 cm ile MS0’ın 5 dS/m NaCl dozunda, en kısa hipokotil uzunluğu 0.68 cm ile MS0’ın 20 dS/m NaCl dozunda hesaplanmıştır. MS konsantrasyonları bakımından *O. viciifolia* türünde ortalama olarak en fazla değeri 1/2 MS0 ortamı, *O.oxydonta* türü için en fazla değeri MS0 ortamı vermiştir. Türlerde en yüksek değer *O.viciifolia*’dan elde edilmiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak hipokotil uzunluğunun azaldığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.9. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki hipokotil uzunluğu (cm) ortalamaları

Tür	MS Konsantrasyonu	NaCl Dozları (dS/m)					Ortalama
		Kontrol	5	10	20	30	
<i>O.viciifolia</i>	MS0	4.65 cd	5.22 bc	4.59 d	1.29 j*	-	3.15
	1/2 MS0	6.80 a	5.77 b	4.44 d	1.52 ij	-	3.70
	1/4 MS0	5.34 b	3.14 ef	3.09 ef	1.06 e	-	2.52
	Ortalama	<i>5.59</i>	<i>4.71</i>	<i>4.04</i>	<i>1.29</i>	-	<i>3.12</i>
<i>O.oxydonta</i>	MS0	2.66 fg	3.48 e	1.96 hı	0.68 k	-	1.75
	1/2 MS0	2.63fg	2.00 ghı	1.59 ij	-	-	1.24
	1/4 MS0	2.44 gh	2.17 ghı	1.31 j	-	-	1.18
	Ortalama	<i>2.57</i>	<i>2.54</i>	<i>1.62</i>	<i>0.22</i>	-	<i>1.39</i>

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur (p<0.05).

-: Yeterli çimlenme sağlanamadığından hipokotil uzunluğu hesaplanamamıştır.

En uzun kök uzunluğu 8.15 cm ile kontrolden 1/4 MS0 ortamında *O.viciifolia* türünden, en kısa kök uzunluğu 1.17 cm ile 20 dS/m NaCl dozundan MS0 ortamında *O.viciifolia* türünden elde edilmiştir (Çizelge 4.10.). Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O.viciifolia* türü için en yüksek değer 8.51 cm ile 1/4 MS0'ın kontrolünde, en düşük değer 1.17 cm ile MS0'ın 20 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O.oxydonta* türünde ise en yüksek değer 4.79 cm ile MS0'ın 5 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer 1.25 cm ile MS0'ın 20 dS/m NaCl dozunda hesaplanmıştır. MS konsantrasyonları bakımından *O.viciifolia* türünde ortalama olarak en fazla değeri 1/2 MS0 ortamı, *O.oxydonta* türü için en fazla değeri MS0 ortamı vermiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak kök uzunluğunun azaldığı tespit edilirken, *O.viciifolia* türünde daha yüksek değerler saptanmıştır. Artan NaCl dozlarında *in vitro*'da fide gelişiminin olumsuz etkilendiği belirlenmiştir. Cano *et al.* (1998), Kharais *et al.* (1998), Turan (2000), Küçükahmetler (2003), Yokaş *et al.* (2008) tarafından bulunan sonuçlar benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4.10. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki kök uzunluğu (cm) ortalamaları

Tür	MS Konsantrasyonu	NaCl Dozları (dS/m)					Ortalama
		Kontrol	5	10	20	30	
<i>O.viciifolia</i>	MS0	5.60 cde	6.91 bc	4.95 d-g	1.17 lm*	-	3.72
	1/2 MS0	7.11 b	6.20 bcd	6.71 bc	3.20 hij	-	4.64
	1/4 MS0	8.51 a	5.62 cde	5.50 c-f	1.52 kl	-	4.23
	Ortalama	7.07	6.24	5.72	1.96	-	4.19
<i>O.oxydonta</i>	MS0	3.95 ghı	4.79 dfg	3.61 g-j	1.25 klm	-	2.72
	1/2 MS0	4.25 e	3.87 ghı	2.39 jkl	-	-	2.10
	1/4 MS0	4.13 fgh	3.51 g-j	2.60 ijk	-	-	2.04
	Ortalama	4.11	4.05	2.86	0.41	-	2.28

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

-: Yeterli çimlenme sağlanamadığından kök uzunluğu hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.11’de görüldüğü gibi, en fazla fide yaş ağırlık 563.8 mg/bitki ile 20 dS/m NaCl dozundan MS0 ortamında *O.viciifolia* türünden, en az fide yaş ağırlık 75.3 mg/bitki ile 20 dS/m NaCl dozundan MS0 ortamında *O.oxydonta* türünden elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en yüksek değer 563.8 mg/bitki ile MS0’ın 20 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer 127.0 mg/bitki ile 1/4 MS0’ın 20 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O.oxydonta* türünde ise en yüksek değer 333.8 mg/bitki ile MS0’ın kontrolünde, en düşük değer 75.3 mg/bitki ile MS0’ın 20 dS/m NaCl dozunda hesaplanmıştır. MS konsantrasyonları bakımından *O. viciifolia* türünde ortalama olarak en fazla değeri MS0 ortamı, *O.oxydonta* türü için en fazla değeri 1/2 MS0 ortamı vermiştir. Türler arasında en yüksek değeri *O.viciifolia* türü vermiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak fide yaş ağırlığı azalmıştır.

Çizelge 4.11. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki fide yaş ağırlık (mg/bitki) ortalamaları

Tür	MS Konsantrasyonu	NaCl Dozları (dS/m)					Ortalama
		Kontrol	5	10	20	30	
<i>O.viciifolia</i>	MS0	367.8 bc	563.8 a	512.5 a	189.0 gh*	-	326.6
	1/2 MS0	394.3 b	319.8 bcd	277.5 def	169.0 gh	-	232.1
	1/4 MS0	551.0 cde	289.8 e-h	204.3 hij	127.0 jk	-	234.4
	Ortalama	437.7	391.1	331.4	161.6	-	264.3
<i>O.oxydonta</i>	MS0	333.8 bcd	193.0 b-h	118.3 hij	75.3 ijk	-	144.0
	1/2 MS0	331.8 bcd	207.8 e-h	153.8 ghi	-	-	138.7
	1/4 MS0	227.5 efg	152.3 ghi	120.3 e-j	-	-	100.0
	Ortalama	297.7	184.3	130.8	25.1	-	127.5

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

-: Yeterli çimlenme sağlanamadığından fide yaş ağırlık hesaplanamamıştır.

Korunga türlerinin farklı NaCl dozları içeren farklı MS ortamlarındaki fide kuru ağırlık değerleri incelendiğinde, en fazla kuru ağırlık 67.00 mg/bitki ile kontrolden 1/4 MS0 ortamında *O.viciifolia* türünden, en az kuru ağırlık 16.25 mg/bitki ile 20 dS/m NaCl dozundan MS0 ortamında *O.oxydonta* türünden elde edilmiştir (Çizelge 4.12.). Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en yüksek değer 67.00 mg/bitki ile 1/4 MS0'ın kontrolünde, en düşük değer 23.00 mg/bitki ile 1/4 MS0'ın 20 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O.oxydonta* türünde ise en yüksek değer 44.00 mg/bitki ile MS0'ın kontrolünde, en düşük değer 16.25 mg/bitki ile MS0'ın 20 dS/m NaCl dozunda hesaplanmıştır. MS konsantrasyonları bakımından *O. viciifolia* türünde ortalama olarak en fazla değeri MS0 ortamı, *O.oxydonta* türü için en fazla değeri 1/2 MS0 ortamı vermiştir. Her iki türde de 30 dS/m NaCl dozunda fide kuru ağırlığı ölçülmemiştir. Artan NaCl dozlarında her iki korunga türünde de fide kuru ağırlık azalmıştır.

Fide yaş ve kuru ağırlıktaki elde edilen bu azalış, Kharais *et al.* (1998), Turan (2000), Küçükahmetler (2003), Amini and Ehsanpour (2006) tarafından bulunan sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

Çizelge 4.12. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki fide kuru ağırlık (mg/bitki) ortalamaları

Tür	MS Konsantrasyonu	NaCl Dozları (dS/m)					Ortalama
		Kontrol	5	10	20	30	
<i>O.viciifolia</i>	MS0	42.75 b	64.50 a	62.00 a	30.00 c-h*	-	39.85
	1/2 MS0	56.25 a	42.50 b	43.50 b	26.25 b-g	-	33.70
	1/4 MS0	67.00 a	45.50 b	34.25 bcd	23.00 dfg	-	36.85
	Ortalama	63.58	50.83	46.58	26.41	-	36.80
<i>O.oxydonta</i>	MS0	44.00 b	28.00 c-f	20.25 efg	16.25 fg	-	21.70
	1/2 MS0	42.25 b	42.75 b	26.25 dfg	-	-	22.25
	1/4 MS0	38.25 bc	23.25 dfg	20.00 efg	-	-	16.30
	Ortalama	41.50	31.33	22.16	5.41	-	20.08

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur (p<0.05).

-: Yeterli çimlenme sağlanamadığından fide kuru ağırlık hesaplanamamıştır.

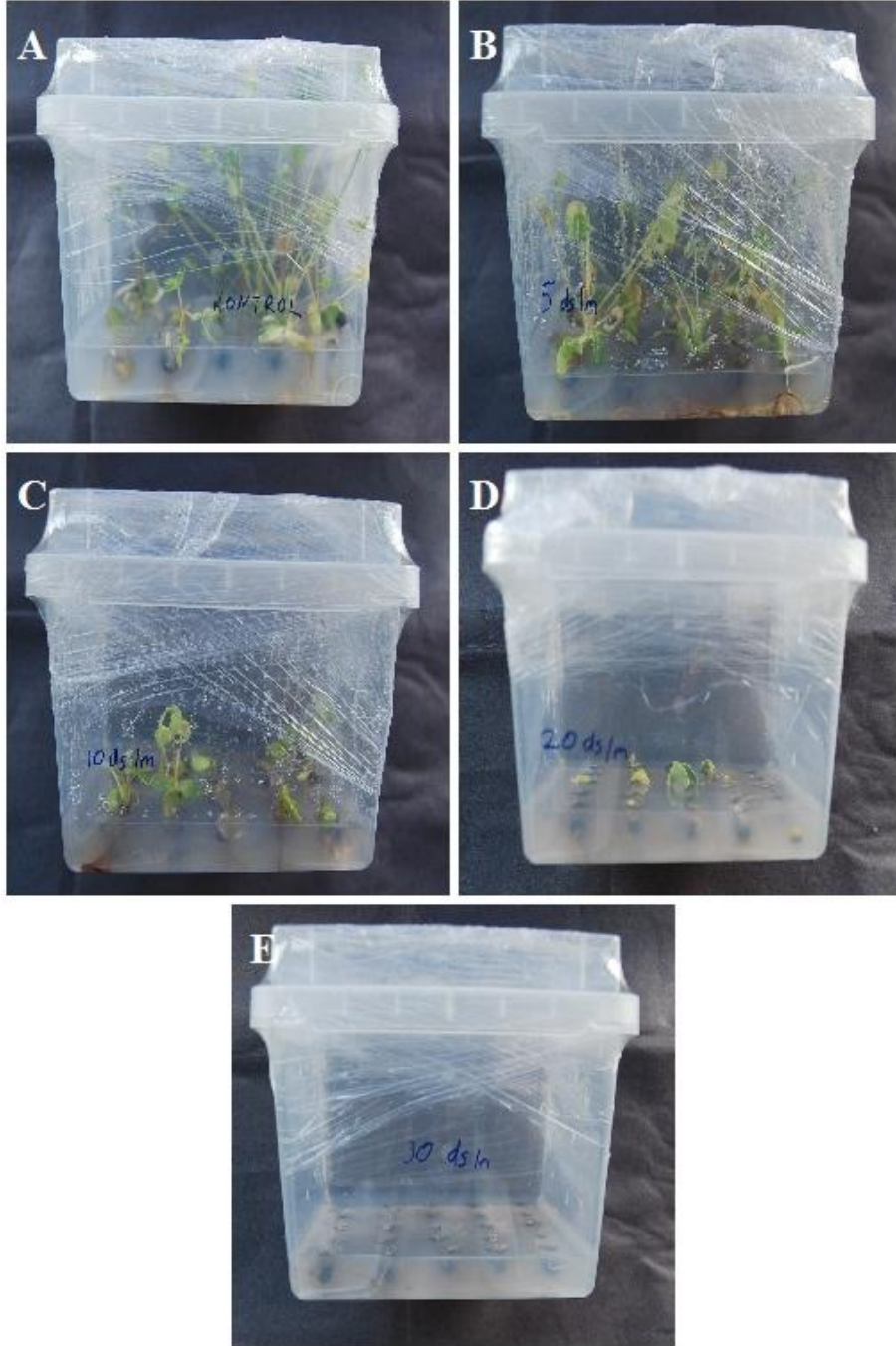
Çizelge 4.13’de görüldüğü gibi, en fazla kuru madde oranı %19.50 ile 30 dS/m NaCl dozundan MS0 ortamında *O. oxydonta* türünden, en az kuru madde oranı % 11.00 ile 10 dS/m NaCl dozundan MS0 ortamında *O. viciifolia* türünden elde edilmiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O. viciifolia* türü için en yüksek değer %18.00 ile 1/4 MS0’ın 20 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer %11.00 ile MS0’ın 10 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O. oxydonta* türünde ise en yüksek değer %21.00 ile 1/2 MS0’ın 5 dS/m NaCl dozunda, en düşük değer %13.25 ile 1/2 MS0’ın kontrolünde hesaplanmıştır. MS konsantrasyonları bakımından *O. viciifolia* türünde ortalama olarak en fazla değeri 1/4 MS0 ortamı, *O.oxydonta* türü için en fazla değeri MS0 ortamı vermiştir. Artan NaCl dozlarında bağlı olarak kuru madde oranının arttığı belirlenmiştir. *O. oxydonta* türünde daha yüksek değerler saptanmıştır.

Çizelge 4.13. Korunga türlerinin farklı NaCl dozları ve MS ortamlarındaki kuru madde oranı (%) ortalamaları

Tür	MS Konsantrasyonu	NaCl Dozları (dS/m)					Ortalama
		Kontrol	5	10	20	30	
<i>O.viciifolia</i>	MS0	11.25 gh	11.25 gh	11.00 h	15.25 c-h*	-	9.75
	1/2 MS0	13.75 d-h	13.50 e-h	15.75 c-h	15.50 c-h	-	11.70
	1/4 MS0	11.75 fgh	14.75 c-h	16.75 c-g	18.00 b-e	-	12.25
	<i>Ortalama</i>	12.25	13.16	14.50	16.25	-	11.23
<i>O.oxydonta</i>	MS0	13.50 e-h	14.50 c-h	17.25 c-f	19.50 bcd	-	12.95
	1/2 MS0	13.25 e-h	21.00 bc	18.75 b-e	-	-	10.60
	1/4 MS0	16.75 c-g	17.25 c-f	18.25 b-e	-	-	10.45
	<i>Ortalama</i>	14.50	17.58	18.08	6.50	-	11.33

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

-: Yeterli fide gelişimi sağlanamadığından kuru madde oranı hesaplanamamıştır.



Şekil 4.3. In vitro’da MS ortamında 8 hafta boyunca farklı NaCl dozlarında çimlendirilen *O. vicifolia* türü. (A) 0 dS/m NaCl, (B) 5 dS/m NaCl, (C) 10 dS/m NaCl, (D) 20 dS/m NaCl, (E) 30 dS/m NaCl.

4.3 Bitki büyüme ve rejenerasyonu

Farklı NaCl konsantrasyonlarında *Onobrychis viciifolia* ve *Onobrychis oxydonta* var. *armena* türlerinin yaprak ve sap eksplantlarından deneme başlangıcından 8 hafta sonra *in vitro* kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonuna ilişkin elde edilen verilerle yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.14 incelendiğinde, kallus oluşturma oranı bakımından Tür x Eksplant x NaCl interaksiyonu istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Kallus yaş ağırlık bakımından Eksplant ve NaCl , kallus kuru ağırlık bakımından ise farklı NaCl oranları arasındaki fark %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Ayrıca, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün oluşturan eksplant sayısında Tür x NaCl interaksiyonunun %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Belirlenen farklılıkların önem düzeyini saptamak amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları ve ortalama değerler Çizelge 4.15., 4.16., 4.17.’de gösterilmiştir.

En fazla kallus oluşturma oranı %100 ile kontrol ve 5 dS/m NaCl dozundan yaprak eksplantında *O.oxydonta* türünden, en az kallus oluşturma oranı %7.5 ile 20 dS/m NaCl dozundan yaprak eksplantında *O.oxydonta* türünden elde edilmiştir (Çizelge 4.15.). *O.viciifolia* türünün 30 dS/m NaCl dozunda yaprak eksplantında, *O.oxydonta* türün 30 dS/m NaCl dozunda yaprak ve sap eksplantlarında kallus oluşumu görülmemiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O.viciifolia* türü için en yüksek oran %97.5 ile sap eksplantından kontrolde, en düşük oran %25.0 ile sap eksplantından 20 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. Ortalama olarak sap eksplantı yaprak eksplantına göre daha yüksek değer vermiştir. *O.oxydonta* türünde ise en yüksek oran %100 ile yaprak eksplantından kontrol ve 5 dS/m NaCl dozunda, en düşük oran %7.5 ile yaprak eksplantından 20 dS/m NaCl dozunda hesaplanmıştır. Ortalama olarak yaprak eksplantı sap eksplantına göre daha yüksek değer vermiştir. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak kallus oluşturma oranının belirgin bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Arzani and Mirodjagh (1999), Baohong and Yun (1999), Lutts *et al.* (1999), Turan (2000), Shankhdhar *et al.* (2000), Akkeçeci (2001), Şen

Çizelge 4.14. Kültür başlangıcından 8 hafta sonra in vitro kallus oluşumunda incelenen karakterlerin varyans analiz tablosu

V.K.	S.D.	Kallus oluşturma oranı (%)		Yaş ağırlık (g)		Kuru ağırlık (g)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Genel	80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tür (T)	1	2.487	14.55**	0.02	0.992	0.003	2.52	833	11.04**	376.71	5.60*
Eksplant (E)	1	527	3.08	0.22	7.78**	0.001	1.21	187	2.48	30.75	0.46
Doz (D)	4	14.043	82.16**	0.74	26.24**	0.010	8.12**	1.567	20.76**	986.19	14.67**
T×E	1	333	1.95	0.031	1.10	0.000	0.009	4.00	0.05	1.15	0.02
T×D	4	22	0.13	0.059	2.10	0.000	0.69	578	7.66**	434.08	6.45**
E×D	4	2.313	13.53**	0.041	1.47	0.001	1.17	187	2.48	144.38	2.15
T×E×D	4	1.229	7.19**	0.043	1.52	0.000	0.77	4.00	0.05	94.28	1.40
Hata	60	170	-	0.028	-	0.001	-	76.00	-	67.23	-

*: 0.05 düzeyinde önemli, **: 0.01 düzeyinde önemli

(2005), Dokuyucu (2005), Akhtar (2006), Babu *et al.* (2007), Khaleda *et al.* (2007) tarafından benzer sonuçlar bulunmuştur.

Çizelge 4.15. Farklı NaCl değerleride *O. viciifolia* ve *O. oxydonta* türlerinin yaprak ve sap eksplantlarından kallus oluşturma oranı (%) ortalamaları

Tür	Eksplant Türü	NaCl Dozları (dS/m)					Ortalama
		Kontrol	5	10	20	30	
<i>O.viciifolia</i>	Yaprak	95.0 a	90.0 a	90.0 a	30.0 cd*	-	61.0
	Sap	97.5 a	87.5 a	45.0 bcd	57.5 bc	25.0 de	65.5
	Ortalama	96.3	88.8	67.5	43.8	12.5	63.2
<i>O.oxydonta</i>	Yaprak	100.0 a	100.0 a	57.5 bc	7.5 ef	-	53.0
	Sap	60.0 b	55.0 dc	52.5 dc	52.5 dc	-	44.0
	Ortalama	80.0	77.5	55.0	30.0	-	48.5

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

-: Kallus sağlanamadığından kallus oluşturma oranı hesaplanamamıştır.

Çizelge 4.16.'da görüldüğü gibi, en fazla sürgün oluşturan eksplant sayısı 29.20 adet ile kontrolden *O.viciifolia* türünde, en az sürgün oluşturan eksplant sayısı 6.25 ile kontrolden *O.viciifolia* türünde elde edilmiştir. Türleri kendi içinde değerlendirdiğimizde; *O.viciifolia* türü için kontrol ve 5 dS/m NaCl dozunda sürgün elde edilirken, 10, 20 ve 30 dS/m NaCl dozlarında sürgün oluşumu tespit edilmemiştir. *O.oxydonta* türünde ise sadece 6.25 adet ile kontrolde sürgün elde edilirken, 5, 10, 20 ve 30 dS/m NaCl dozlarında sürgün oluşumu görülmemiştir.

Farklı NaCl konsantrasyonlarındaki eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde; en fazla eksplant başına sürgün sayısı 37.70 adet ile kontrolde *O.viciifolia* türünden, en az eksplant başına sürgün sayısı 2.50 adet ile 5 dS/m NaCl dozunda *O.viciifolia* türünden elde edilmiştir (Çizelge 4.16.). Türleri kendi içinde değerlendirdiğimizde; *O.viciifolia* türü için kontrol ve 5 dS/m NaCl dozunda eksplant başına sürgün sayısı hesaplanırken, 10, 20 ve 30 dS/m NaCl dozlarında hesaplanamamıştır. *O.oxydonta* türünde ise sadece kontrode eksplant başına sürgün sayısı hesaplanırken, 5, 10, 20 ve 30 dS/m NaCl dozlarında hesaplanamamıştır. Artan NaCl dozlarına bağlı olarak sürgün oluşturan eksplant sayısı ve eksplant başına sürgün sayısının azaldığı belirlenmiştir. Benzer sonuçlar Baohong and

Yun (1999), Lutts *et al.* (1999), Turan (2000), Shankhdhar *et al.* (2000), Akkeçeci (2001), Şen (2005), Akhtar (2006), Khaleda *et al.* (2007), Dasgupta *et al.* (2008) tarafından bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Korunga türlerinin farklı NaCl konsantrasyonlarındaki sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalamaları

NaCl Dozları (dS/m)	Sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet)			Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		
	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama
Kontrol	29.20 a	6.25 b	17.72	37.70 a	6.20 b*	21.95
5	7.50 b	0 b	3.75	2.50 b	0 b	1.25
10	0 b	0 b	0	0 b	0 b	0
20	0 b	0 b	0	0 b	0 b	0
30	0 b	0 b	0	0 b	0 b	0
Ortalama	7.34	1.25	4.29	8.00	1.24	4.62

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

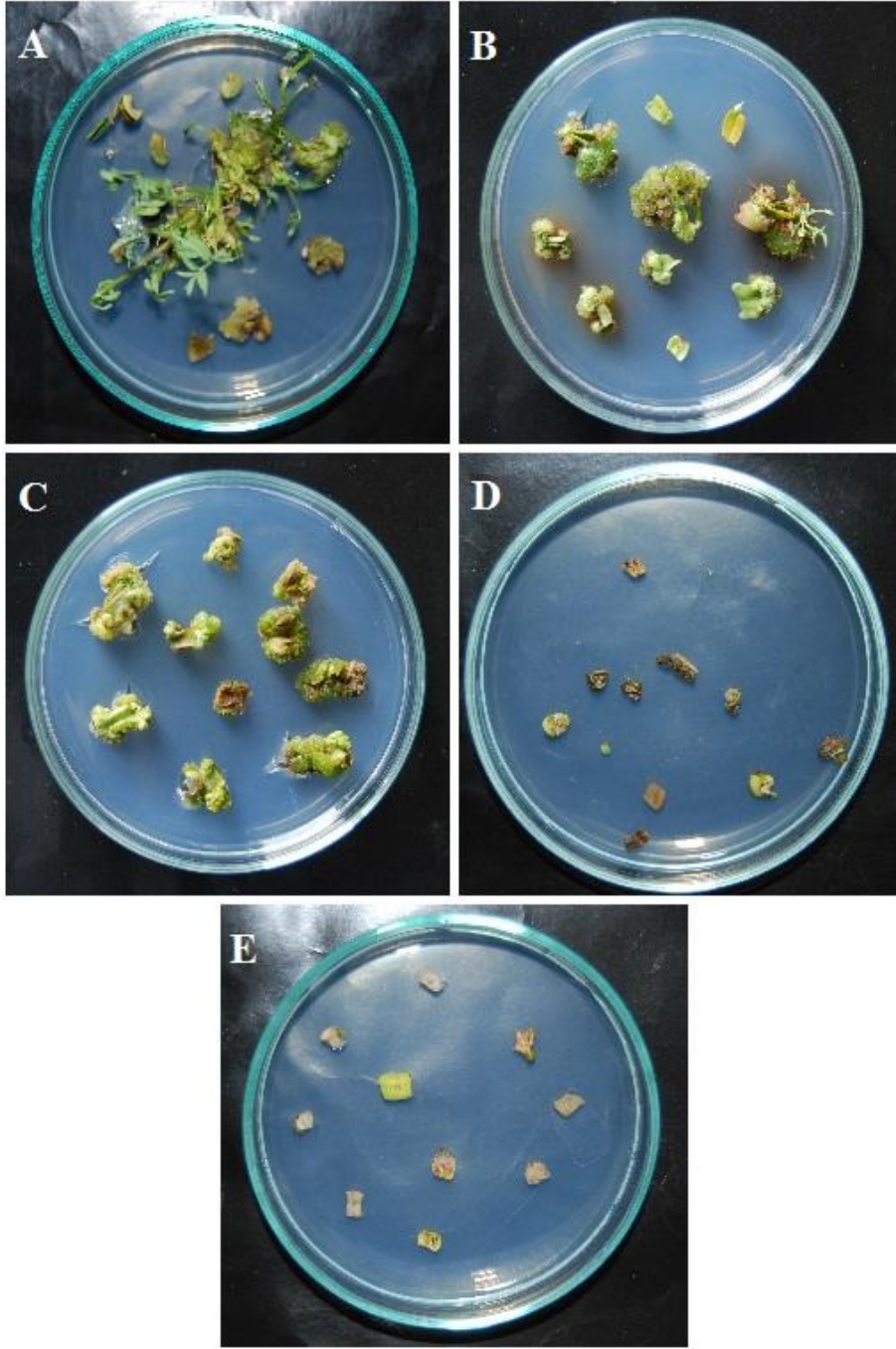
Çizelge 4.17’de görüldüğü gibi, yaş ağırlık bakımından en yüksek değer 0.49 g ile kontrolde ölçülmüştür. Eksplant bakımından ise yaş ağırlık yaprak eksplantında 0.266 g, sap eksplantında 0.161 g olarak tespit edilmiştir. Yaş ağırlıkta istatistiki olarak 4 farklı grup belirlenmiştir. Kuru ağırlıkta en yüksek değer 0.06 g ile kontrolde elde edilmiştir. Artan NaCl dozlarında kallus yaş ve kuru ağırlıkların azaldığı tespit edilmiştir. Cano *et al.* (1998), Arzani and Mirodjagh (1999), Turan (2000), Akkeçeci (2001), Rashid and Raziuddin (2002), Şen (2005), Dokuyucu (2005), Babu *et al.* (2007) tarafından benzer sonuçlar bulunmuştur.

Çizelge 4.17. Farklı NaCl konsantrasyonlarının kallus yaş (g) ve kuru (g) ağırlığı üzerine etkisi

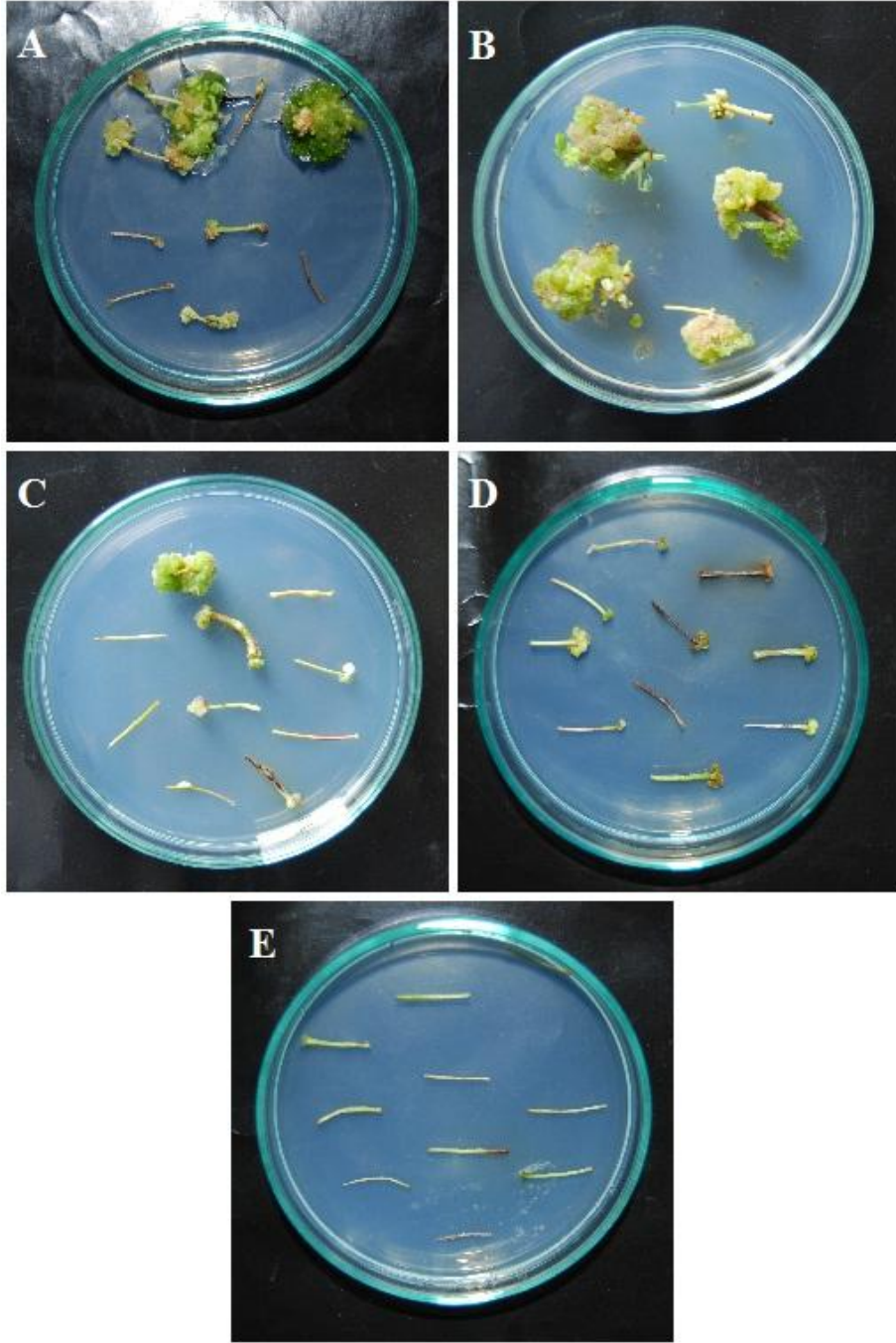
NaCl Dozları (dS/m)	Kontrol	5	10	20	30	Ortalama
Yaş ağırlık (g)	0.49 a	0.37 b	0.19 c*	-	-	0.21
Kuru ağırlık (g)	0.06 a	0.03 b	0.03 b	-	-	0.02
Yaş ağırlık (g)						
Eksplant	Yaprak	0.266 a*				
	Sap	0.161 b				

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$).

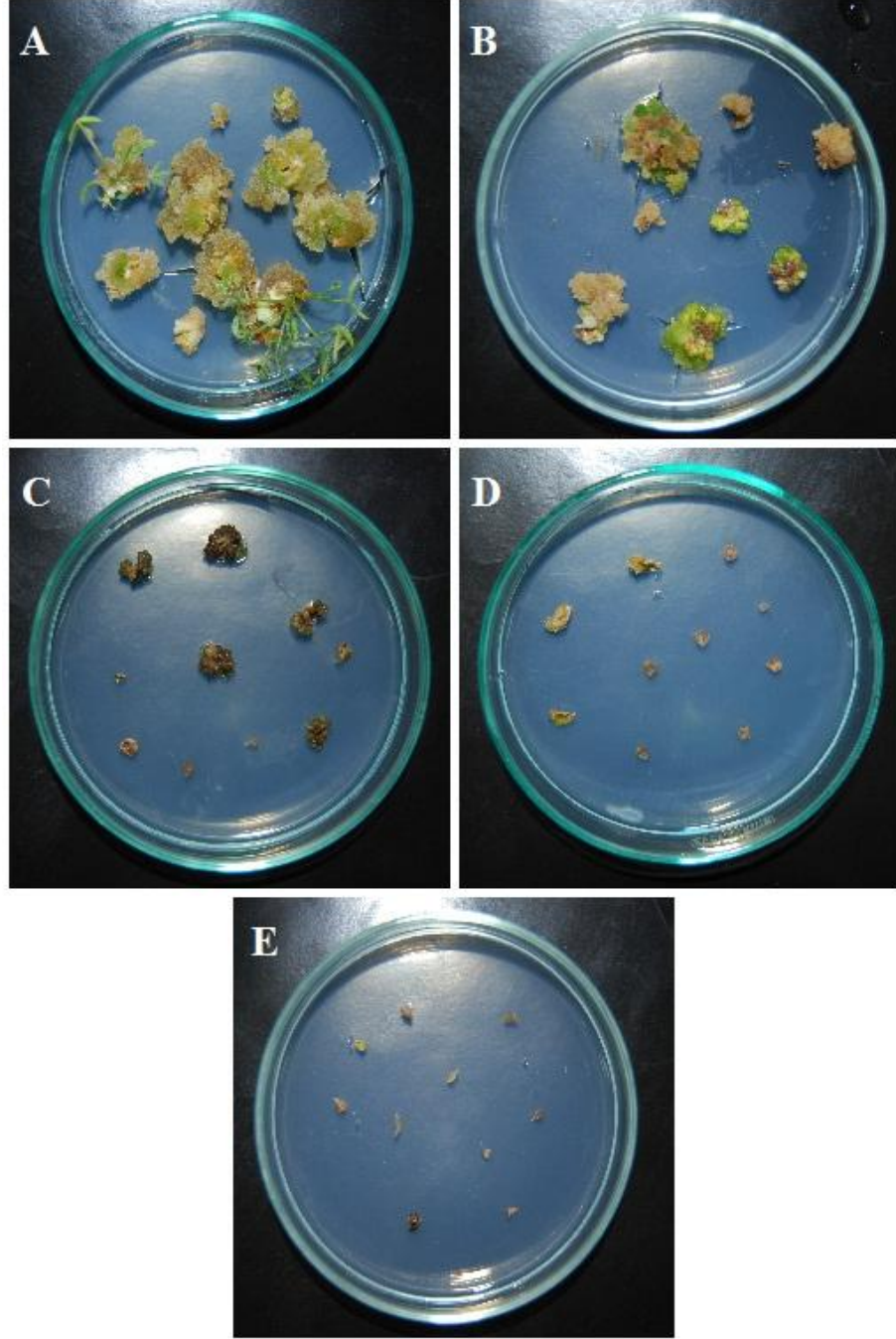
-: Kallus oluşumu sağlanamadığından hesaplanamamıştır.



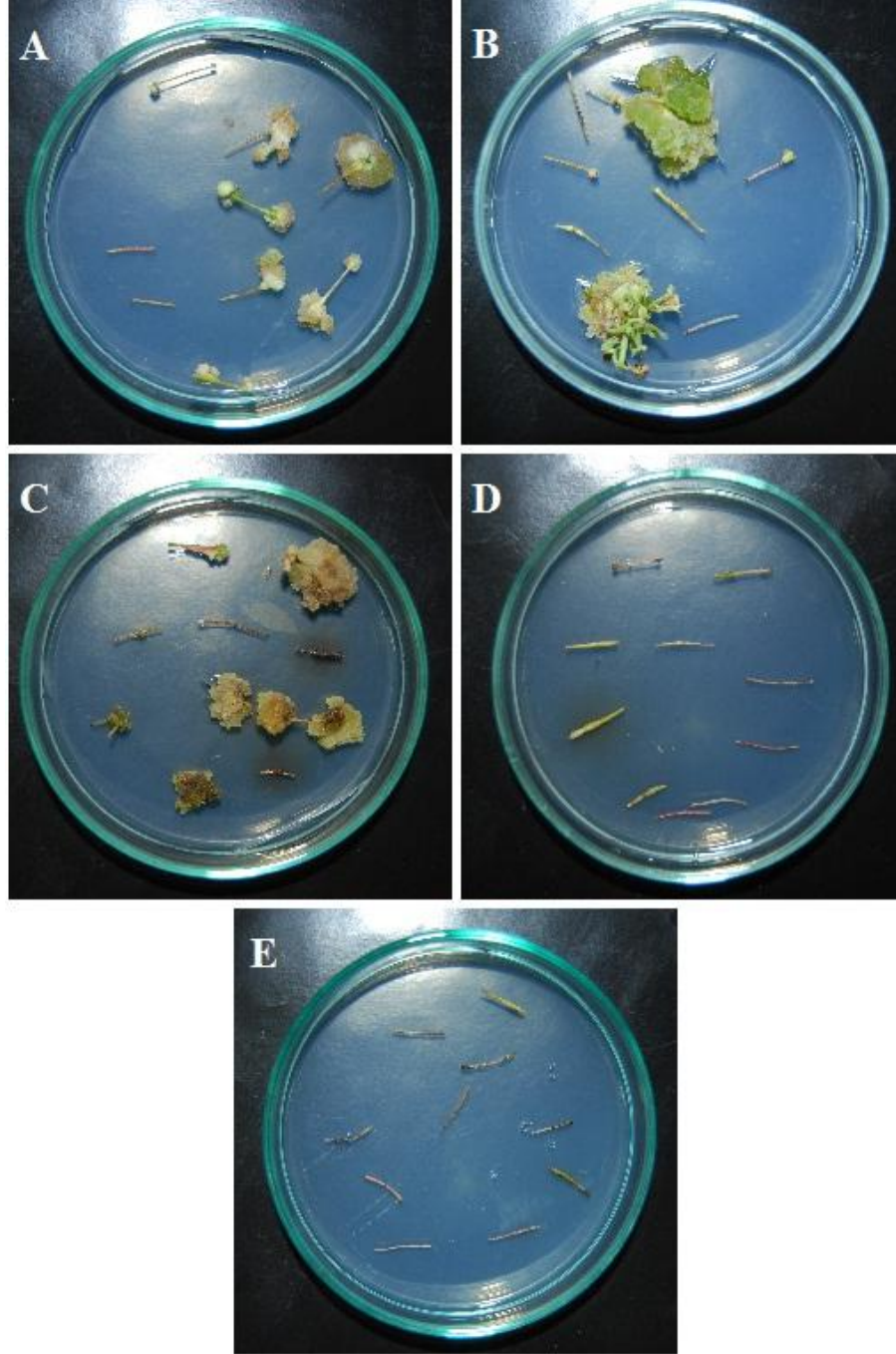
Şekil 4.4. In vitro’da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) *O. viciifolia* türünün yaprak eksplantları. (A) MS+0 dS/m NaCl, (B) MS+5 dS/m NaCl, (C) MS+10 dS/m NaCl, (D) MS+20 dS/m NaCl, (E) MS+30 dS/m NaCl.



Şekil 4.5. In vitro’da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) *O. viciifolia* türünün sap eksplantları. (A) MS+0 dS/m NaCl, (B) MS+5 dS/m NaCl, (C) MS+10 dS/m NaCl, (D) MS+20 dS/m NaCl, (E) MS+30 dS/m NaCl.



Şekil 4.6. In vitro'da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) *O. oxydonta* türünün yaprak eksplantları. (A) MS+0 dS/m NaCl, (B) MS+5 dS/m NaCl, (C) MS+10 dS/m NaCl, (D) MS+20 dS/m NaCl, (E) MS+30 dS/m NaCl.



Şekil 4.7. In vitro'da kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen (8 hafta) *O. oxydonta* türünün sap eksplantları. (A) MS+0 dS/m NaCl, (B) MS+5 dS/m NaCl, (C) MS+10 dS/m NaCl, (D) MS+20 dS/m NaCl, (E) MS+30 dS/m NaCl.

4.4 Polen Çimlenmesi

In vitro koşullarda farklı NaCl dozları içeren besi ortamında polen taneleri çimlendirilen korunga *Onobrychis viciifolia* ve *Onobrychis oxydonta* var. *armena* türlerinden elde edilen verilerle yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Farklı NaCl dozlarının korunga türlerinin polen çimlenme oranına ilişkin varyans analiz tablosu

V.K.	S.D.	Polen Çimlenme Oranı (%)	
		K.O.	F
Genel	39	-	-
Tür (T)	1	874.296	43.508**
Doz (D)	4	8383.601	417.196**
T×D	4	86.290	4.294**
Hata	30	20.095	-

*: 0.05 düzeyinde önemli, **: 0.01 düzeyinde önemli

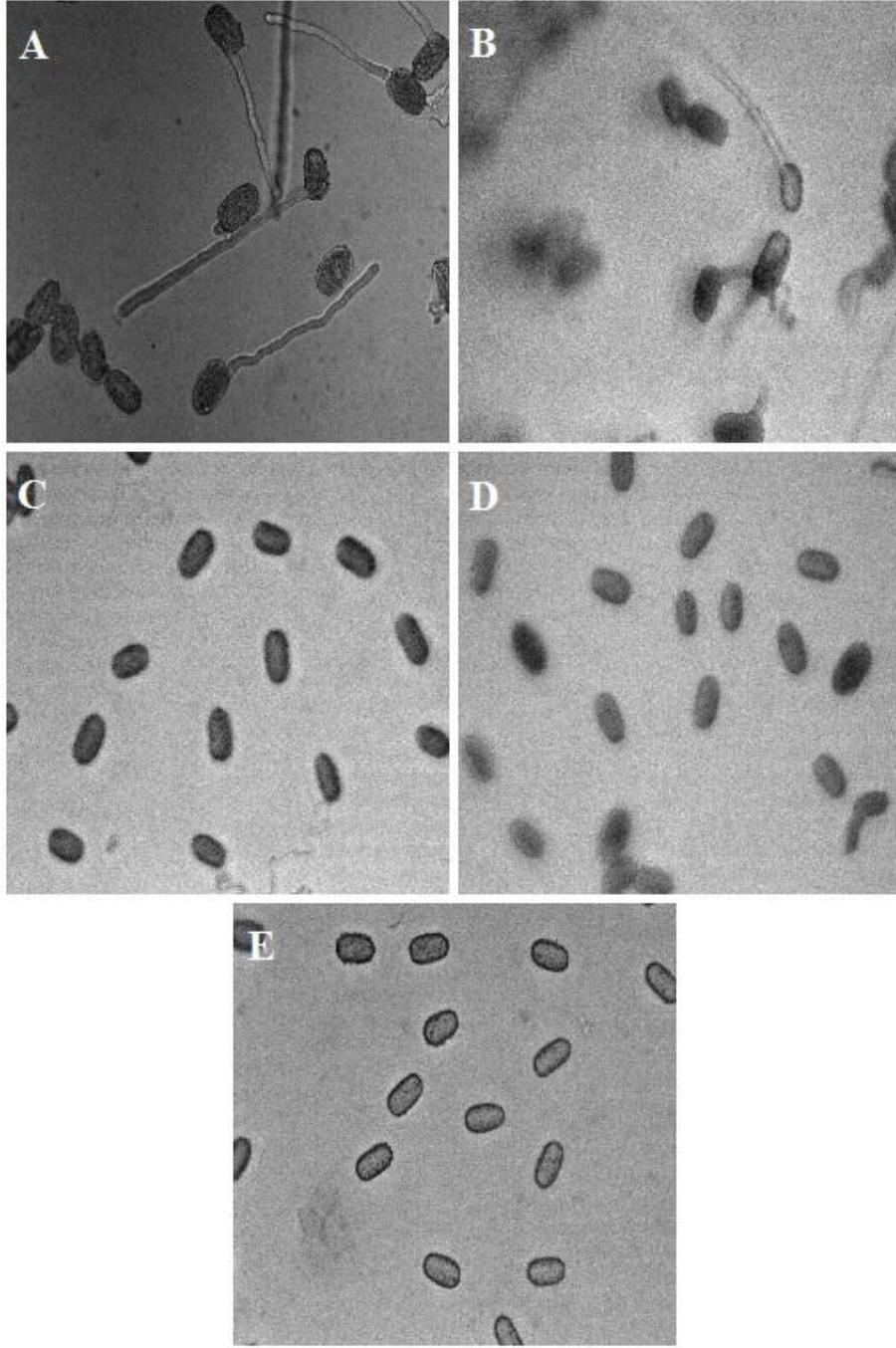
Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi, polen çimlenme oranı bakımından Tür x NaCl interaksiyonunun %1 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Belirlenen farklılıkların önem düzeyini saptamak amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları ve ortalama değerler Çizelge 4.19’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.19. Farklı NaCl dozlarında korunga türlerinin polen çimlenme oranına (%) etkisi

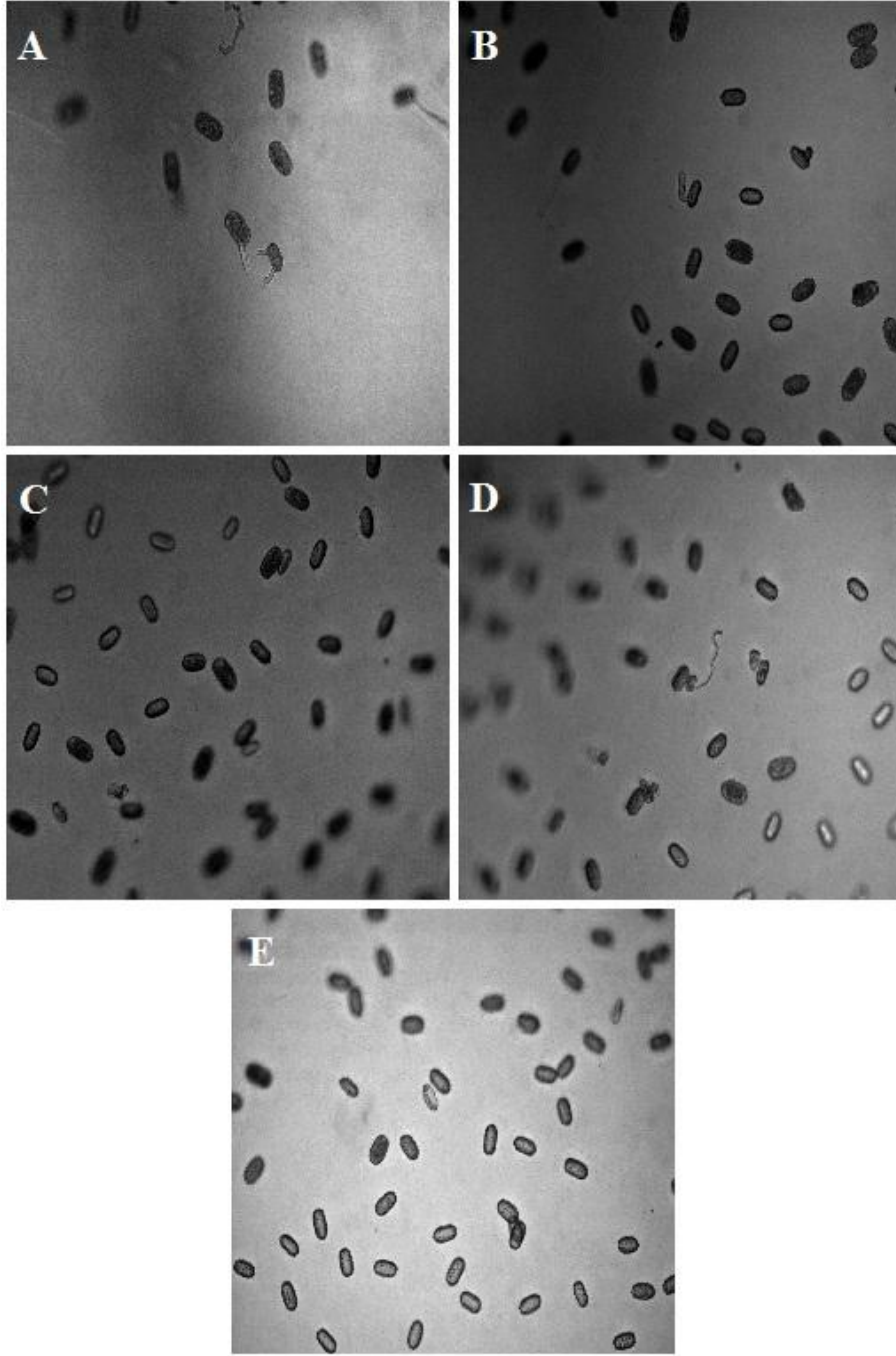
NaCl Dozları (dS/m)	<i>O. viciifolia</i>	<i>O. oxydonta</i>	Ortalama
Kontrol	83.0 b	96.0 a*	89.5
5	58.0 c	84.0 b	71.0
10	24.0 e	38.0 d	31.0
20	0.0 f	3.0 f	1.5
30	0.0 f	0.0 f	0.0
Ortalama	33.0	55.3	44.1

*Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında fark yoktur ($p < 0.05$). Çimlendirme ortamında değişen doz NaCl olup, 100 g/l şeker, 175 g/l PEG 4000, 200 mg/l KNO₃, 150’şer mg/l Ca (NO₃), MgSO₄, H₃BO₃ sabit tutulmuştur. Polenler 60 dakika aydınlıkta inkübe edilmiştir.

Çizelge 4.19’da görüldüğü gibi, en fazla polen çimlenme oranı %96 ile kontrolde *O.oxydonta* türünden, en az polen çimlenme oranı ise %3 ile 20 dS/m NaCl dozunda *O.oxydonta* türünden elde edilmiştir. *O.viciifolia* türünde 20 ve 30 dS/m NaCl dozunda, *O.oxydonta* türünde 30 dS/m NaCl dozunda polen çimlenmesi görülmemiştir. Türleri kendi içerisinde değerlendirdiğimizde; *O.viciifolia* türü için en yüksek değer %83.0 ile kontrolde, en düşük değer %0.0 ile 20 ve 30 dS/m NaCl dozunda ölçülmüştür. *O.oxydonta* türünde ise en yüksek değer %96 ile kontrolde, en düşük değer %0.0 ile 30 dS/m NaCl dozunda hesaplanmıştır. *O.oxydonta* türü çimlenme oranı bakımından daha yüksek değerler vermiştir. Artan NaCl dozları polen çimlenme oranını önemli ölçüde etkilemiştir. Benzer sonuçlar Dhingra and Varghese (1985), Azorov *et al.* (1989) ve Sancak *et al.* (2003), Yokaş *et al.*(2008) tarafından bulunmuştur.



Şekil 4.8. In vitro'da farklı NaCl dozları içeren ortamlarda inkubasyona alındıktan sonra *O. viciifolia* türünün çimlenen polen taneleri. (A) 0 dS/m NaCl, (B) 5 dS/m NaCl, (C) 10 dS/m NaCl, (D) 20 dS/m NaCl, (E) 30 dS/m NaCl.



Şekil 4.9. In vitro'da farklı NaCl dozları içeren ortamlarda inkübasyona alındıktan sonra *O. oxydonta* türünün çimlenen polen taneleri. (A) 0 dS/m NaCl, (B) 5 dS/m NaCl, (C) 10 dS/m NaCl, (D) 20 dS/m NaCl, (E) 30 dS/m NaCl.

5. SONUÇ

Bu çalışma, Türkiyede yetiştirilen *Onobrychis viciifolia* ve Türkiye ekolojisinde bulunan *Onobrychis oxydonta* var. *armena* korunga türlerinin *in vivo* ve *in vitro* şartlar altında NaCl tuzluluğuna karşı gösterdiği tepkilerin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla *in vivo* ve *in vitro* çimlendirme ortamına ilave edilen farklı NaCl dozlarının çimlenme yüzdesi, ortalama çimlenme süresi, hipokotil ve kök uzunluğu, fide yaş ve kuru ağırlığı, kuru madde oranı üzerine etkisi, ayrıca *in vitro*'da bitki yaprak ve sap eksplantlarından kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu ortamına ilave edilen farklı NaCl dozlarının kallus oluşturma yüzdesi, kallus yaş ve kuru ağırlık, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün oluşturan eksplant sayısı üzerine etkisi ve *in vitro*'da farklı NaCl dozlarının polen çimlenme oranı üzerine etkisi araştırılmıştır.

In vivo çimlendirme denemesinde incelenen korunga türlerinin NaCl tuzluluğuna karşı gösterdiği tepkiler incelendiğinde, çimlenme yüzdesinin azaldığı, ortalama çimlenme süresinin uzadığı, hipokotil ve kök uzunluğunun azaldığı, fide yaş ağırlığının azaldığı, fide kuru ağırlığının ve kuru madde oranının arttığı tespit edilmiştir. Bitki gelişimi bakımından *Onobrychis viciifolia* türünün daha iyi performansı gösterdiği belirlenmiştir.

Korunga türlerinin *in vitro*'da çimlendirme denemelerinde, MS besi ortamına ilave edilen farklı dozlardaki NaCl'ye gösterdiği tepki incelenmiştir. Deneme sonuçlarına göre ortalama çimlenme süresinin uzadığı, çimlenme yüzdesi, hipokotil ve kök uzunluğu, fide yaş ve kuru ağırlığının azaldığı, kuru madde oranının arttığı belirlenmiştir. 1/2 MS0 ortamının MS0 ortamı yerine kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Kallus oluşumu ve adventif sürgün rejenerasyonu için teşvik edilen yaprak ve sap eksplantlarının farklı dozlardaki NaCl tuzluluğuna karşı gösterdiği tepkiler incelendiğinde, artan NaCl dozlarında kallus oluşturma oranı, kallus yaş ve kuru ağırlığı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün oluşturan eksplant sayısının azaldığı saptanmıştır. Kallus oluşturma özelliğinin *Onobrychis viciifolia* türünde daha iyi olduğu belirlenmiştir. Yine eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün oluşturan eksplant sayısında *Onobrychis viciifolia*

türünün iyi performans gösterdiği tespit edilmiştir. Kallus oluşturma özelliğinde *Onobrychis viciifolia* türü için sap eksplantlarının yaprağa göre daha iyi değerler verdiği, *Onobrychis oxydonta* var. *armena* türünde ise yaprak eksplantlarının sap eksplantlarına göre daha iyi değerler verdiği belirlenmiştir. Eksplantlarda kallus yaş ağırlık bakımından yaprak eksplantlarında daha yüksek değerler elde edilmiştir.

Farklı NaCl dozlarının *in vitro*'da polen çimlenme oranını önemli ölçüde etkilediği bulunmuştur. Artan NaCl dozlarında polen çimlenme oranının azaldığı belirlenmiştir. *Onobrychis oxydonta* var. *armena* türünün polenlerinin çimlenme oranı bakımından ortalama olarak *Onobrychis viciifolia* türünün polen tanelerine göre daha iyi olduğu bulunmuştur.

Korunga türlerinin NaCl tuzluluğuna tepkilerini belirlemek amacıyla farklı yöntemlerle yürütülen çalışmaların sonucunda; polen çimlendirmesi hariç , diğer incelenen yöntemlerde genel olarak benzer sonuçlar elde edilmiştir. Polen çimlendirme denemelerinde 5 dS/m NaCl seviyesi üzerindeki artış polen çimlendirmesini engellemiştir. Halbuki, *in vivo* ve *in vitro* denemelerde incelenen korunga türlerinin 10 dS/m NaCl seviyesine kadar tuzluluğa tolerans gösterdiği belirlenmiştir.

Araştırma sonuçları topluca değerlendirildiğinde *Onobrychis viciifolia* türünün NaCl'ye daha toleranslı olduğu belirlenmiştir. Bu toleransın 10 dS/m NaCl dozuna kadar olduğu bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Akhtar, A. 2006. Callogenesis and organogenesis response of wheat cultivars under sodium chloride salt stress. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 (11); 2092-2096.
- Akıncı, S., Akıncı, İ.E. 2000. Bazı patlıcan (*Solanum melongena L.*) çeşitlerinin çimlenme döneminde tuza tepkileri. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3 (1); 58-64.
- Akkeçeci, Ş. 2001. Bazı ekmeklik buğday (*Triticum aestivum L.*) çeşitlerinin tuza toleranslarının belirlenmesi. *KSÜ. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi*, 37s, Kahramanmaraş.
- Almansouri, M., Kinet, J.M., Lutts, S. 2001. Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum Desf.*). *Plant and Soil*, 231; 243-254.
- Amini, F., Ehsanpour, A.A. 2006. Response of tomato (*Lycopersicon esculentum Mill.*) cultivars to MS, water agar and salt stress in *in vitro* culture. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9 (1); 170-175.
- Anonim 2007. Türkiye İstatistik Kurumu Tarım İstatistikleri Özeti (1988-2007).
- Arzani, A., Mirodjagh, S. 1999. Response of durum wheat cultivars to immature embryo culture, callus induction and *in vitro* salt stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58; 67-72.
- Ayyıldız, M. 1990. Sulama suyu kalitesi ve tuzluluk problemleri. A.Ü.Z.F yayınları.
- Azarov, A.S., Tokarev, B.I., Netchepurenko, A.E. 1989. Effect of sodium chloride on pollen germination and pollen tube growth *in vitro* in *Arabidopsis Thaliana (L.) Heynh.* Dept. of Genetics and Plant Mineral Nutrition, 27.
- Babu, S., Sheeba, A., Yogameenakshi, P., Anbumalaramathi, J., Rangasamy, P. 2007. Effect of salt stress in the selection of salt tolerant hybrids in rice (*Oryza sativa L.*) under *in vitro* and *in vivo* condition. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6(1); 137-142.
- Baltacı, C., Can, D., Karaoğlu, A., Tantur, A. 2004. Sulanan Alanlarda Tuzluluk Yönetimi Sempozyumu. Devlet Su İşleri Bildiriler Kitabı, 185-186, Ankara.

- Baohong, Z., Yun, Z. 1999. Effects of NaCl stress on cotton tissue culture and plant regeneration. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2 (4); 1085-1087.
- Cano, E.A., Perez-Alfocae, F., Moreno, V., Caro, M., Bolarin, M.C.1998. Evaluation of salt tolerance in cultivated and wild tomato species through *in vitro* shoot apex culture. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 53; 19-26.
- Day, S., Kaya, M.D., Kolsarıcı, Ö. 2008. Bazı çerezlik ayçiçeği (*Helianthus annuus L.*) genotiplerinin çimlenmesi üzerine NaCl konsantrasyonlarının etkileri. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 14 (3); 230-236.
- Dasgupta, M., Sahoo, M.R., Kole, P.C., Muharje, A. 2008. Evaluation of orange-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas L.*) genotypes for salt tolerance through shoot apex culture under *in vitro* NaCl mediated salinity stress conditions. *Plant Cell Tiss Organ Culture*, 94; 161-170.
- Dhingra, H.R., Varghese, T.M. 1985. Effect of growth regulators on the *in vitro* germination and tube growth of maize (*Zea mays l.*) pollen from plants raised under sodium chloride salinity. *New Phytol*, 100; 563-569.
- Doğan, M. 2004. Domateste (*Lycopersicon sp.*) tuz stresini bazı fizyolojik parametreler ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerindeki etkilerinin *in vivo* ve *in vitro* olarak incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, 168s, Ankara.
- Doğan, M., Avu A., Can E.N., Aktan, A. 2008. Farklı domates tohumlarının çimlenmesi üzerine tuz stresinin etkisi. *SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 3(2); 174-182.
- Dokuyucu, T., Akkeçeci Ş., Akkaya, A., Kara, R. 2005. Investigation of response of bread wheat cultivars to salinity by using callus culture. *J Envirol Biol*, 26 (2); 251-255.
- Dölek, B. 2001. Tuz stresinin *Phaseolus vulgaris L*'nin çimlenmesi ve gelişimi üzerine etkileri. İ.Ü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 45s, İstanbul.
- Dumlupınar, Z. 2005. Elektrik akımı ve tuz konsantrasyonlarının makarnalık buğdayda çimlenmeye etkisi. K.S.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 44s, Kahramanmaraş.

- Düzgüneş, O., Kesici T., Kavuncu O., Gürbüz, F. 1987. Araştırma ve deneme metotları (İstatistiki Metotlar II). A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları:1021. Ders Kitabı, 295s, Ankara.
- Elçi, Ş. 2005. Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri Kitabı. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, 486s, Ankara.
- Eroğlu, İ. 2007. Tuz stresinin bazı fasulye (*Phaseolus vulgaris L.*) kültür çeşitlerinde tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkileri. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 77s, İzmir.
- Farhatullah, R.M., Farhatullah, R. 2002. *In vitro* effect of salt on the vigor of potato (*Solanum Tuberosum L.*) plantlets. Biotechnology, 1 (2-4); 73-77.
- Karakullukçu, E. ve Adak, S.İ. 2008. Bazı nohut (*Cicer arietinum L.*) çeşitlerinin tuza toleranslarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 14 (4); 313-319.
- Karagüzel, O. 2003. Farklı tuz kaynak ve konsantrasyonlarının Güney Anadolu doğal (*Lupinus varius*) tohumlarının çimlenme özelliklerine etkisi. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16(2); 211-220.
- Kaya, M.D., İpek, A. 2003. Effects of different soil salinity levels on germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius L.*). Turk.J.Agric., 27; 221-227.
- Kaya, M. D., Kaya, G., Kolsarıcı, Ö. 2005. Bazı Brassica türlerinin çimlenme ve çıkışı üzerine NaCl konsantrasyonlarının etkileri. Tarım Bilimleri Dergisi, 11 (4); 448-452.
- Khaleda, L., Ahmed, A.M.A., Marzan, L.W., Al-Forkan, M. 2007. Identification of callus Induction and plant regeneration responsiveness in presence of NaCl in *in vitro* culture of some deepwater rice. Asian Journal of Plant Science, 6 (1); 36-41.
- Khrais, T., Leclerc, Y., Donnelly, D.J. 1998. Relative salinity tolerance of potato cultivars assessed by *in vitro* screening. American Journal of Potato, 75; 207-210.
- Kocaçalışkan, İ. 2005. Bitki Fizyolojisi Ders Kitabı. DPÜ Fen Edebiyat Fakültesi, 420s, Kütahya.

- Küçükahmetler, Ö. 2003. Farklı *Lisanthus (Eustoma grandiflorum Raf. Shinn)* çeşitlerinde *in vivo* ve *in vitro* koşullarda tuz stresinin büyümeye ve gelişime etkisi. U.Ü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, 135s, Bursa.
- Lutts, S., Kinet, J.M., Bouharmont, J. 1999. Improvement of rice callus regeneration in the presence of NaCl. *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*, 57; 3-11.
- Munsuz, N., Çaycı, G., Sözüdoğru Ok, S. 2001. Toprak Islahı ve Düzenleyiciler (Tuzlu ve Alkali Toprakların Islahı) Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:1518, Ankara.
- Özdemir, S. 1993. Tuzluluk stresinin bazı nohut çeşitlerinde çimlenme, bitki gelişimi ve simbiyotik sisteme etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 68s, Adana.
- Sancak, C., Çöçü, S., Khawar, K.M., Özcan, S. 2003. Abiotic factors affecting *in vitro* pollen germination in sainfoin. *Pakistan Journal of Botany*, 35.
- Sadeghian, S.Y., Yavari, N. 2004. Effect of water-deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*, 190;138-144.
- Şen, A. 2005. Buğday (*Triticum aestivum L.*) doku kültüründe tuz stresinin etkileri. İ.Ü. Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 72s, İstanbul.
- Shankhdhar, S.C. and Pant, R.C. 2000. *In vitro* selection for salt tolerance in rice. *Biologia Plantarum*, 43(3); 447-480.
- Sönmez, B. 2008. Türkiye çoraklık kontrol rehberi. Toprak Gübre ve Su Kaynakları Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, No:33, 67s, Ankara.
- Turan, M. 2000. Türkiye’de kültürü yapılan bazı patates çeşitlerinin *in vitro*’da tuza dayanıklılığının belirlenmesi üzerine araştırmalar. A.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı Doktora Tezi, 123s, Ankara.
- Tatar, M.Ö. 2006. Tuzluluğun bazı çeltik çeşit ve hatlarının çimlenme ile fide gelişimi üzerine etkisi. E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 78s, İzmir.
- Türkmen, Ö., Kabay, T., Şensoy, S., Erdal, İ. 2002. Kalsiyum uygulamalarının tuzlu fide yetiştirme ortamlarında domateste çıkış ve fide gelişimi üzerine etkileri. *Y.Y.Ü. Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12(2); 53-57.

- Yaşar, F. 2003. Tuz stresi altındaki patlıcan genotiplerinde bazı antioksidant enzim aktivitelerinin *in vitro* ve *in vivo* olarak incelenmesi. Y.Y.Ü. Fen Bilimleri Enst. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Doktora Tezi, 140s, Van.
- Yıldırım, E., Güvenç, İ. 2006. Salt tolerance of pepper cultivars during germination and seedling growth. Turk. J. Agric. , 30; 347-353.
- Yokaş, İ., Levent, T., Bürün, B., Altunlu, H., Altan, F., Kaya, C. 2008. Responses of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant to exposure to different salt forms and rates. Turk. J. Agric. , 32; 319-329.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ramazan BEYAZ

Doğum Yeri : Kayseri

Doğum Tarihi : 04/07/1983

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Ankara Eryaman Süper Lisesi

Lisans : Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji
Bölümü

: Anadolu Üniversitesi İşletme Fakültesi İşletme Bölümü

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Biyoteknoloji
Anabilim Dalı (Şubat 2007-Ocak 2010)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl: -

Yayımları (SCI ve diğer): -