

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

YAYGIN FİĞ (*Vicia sativa* L.) ÇEŞİTLERİNDE MİKROÇOĞALTIM ve  
*Agrobacterium tumefaciens* ARACILIĞIYLA *Cry1Ac*, *Cry2A* ve *bar* GENLERİNİN  
AKTARILMASI

Mohsen MIRZAPOUR

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2015

Her hakkı saklıdır

*Bu tezi  
her zaman yardımlarını esirgemeyen  
bilgisinden faydalandığım ve örnek aldığım  
“kişiyeye”  
ithaf ediyorum*

## TEZ ONAYI

Mohsen MIRZAPOUR tarafından hazırlanan “**Yaygın Fiğ (*Vicia sativa* L.) Çeşitlerinde Mikroçoğaltım ve *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla *CryIAc*, *Cry2A* ve *bar* Genlerinin Aktarılması**” adlı tez çalışması 14/04/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman:** Prof. Dr. Hayrettin KENDİR

### Jüri Üyeleri:

**Başkan** : Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR  
Ankara Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

**Üye** : Prof. Dr. Hayrettin KENDİR  
Ankara Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

**Üye** : Doç. Dr. Basri Hakan HAKYEMEZ\*  
T.C. Başbakanlık

**Üye** : Doç. Dr. Nurdan ŞAHİN DEMİRBAĞ  
Ankara Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

**Üye** : Doç. Dr. Sevil SAĞLAM  
Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi  
Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü

**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. İbrahim DEMİR**  
**Enstitü Müdürü**

\*TİK oluşturma tarihinde Kırıkkale Üniversitesi öğretim üyesi olan jüri üyesi, şu anda T.C. Başbakanlık Müşaviri olarak görev yapmaktadır.

## **ETİK**

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

14.04.2015

Mohsen MIRZAPOUR

## ÖZET

Doktora Tezi

### YAYGIN FİĞ ( *Vicia sativa* L.) ÇEŞİTLERİNDE MİKROÇOĞALTIM ve *Agrobacterium tumefaciens* ARACILIĞIYLA *CryIAc*, *Cry2A* ve *bar* GENLERİNİN AKTARILMASI

Mohsen MIRZAPOUR

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hayrettin KENDİR

Protein, mineral maddeler ve vitaminler bakımından oldukça zengin olan yaygın fiğ bitkisi (*Vicia sativa* L.)’de rejenerasyon ve genetik transformasyon büyük bir sorun olarak görülmektedir. Bu tez kapsamında yaygın fiğın Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde sürgün rejenerasyonu ve *A. tumefaciens* aracılığıyla transgenik bitki elde edilmesi hedeflenmiştir. Yaygın fiğın dört çeşidinde yüzey sterilizasyonda farklı oranlarda çamaşır suyu kullanılmıştır. Daha sonra sürgün rejenerasyon çalışmalarında farklı oranlarda BAP + NAA içeren MS ortamında, yarım ve tam kotiledon boğum eksplantı kullanılarak rejenerasyon sistemi geliştirilmiştir. Adaksial ve abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantları arasında sürgün rejenerasyonun bakımından adaksial şekilde kültüre alınmasının daha uygun olduğu görülmüştür. Her dört yaygın fiğ çeşidinde, BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub>’nın tohumlara priming olarak uygulanmasının sürgün oluşumuna olumlu etkileri izlenmiştir. Olgunlaşmamış embriyo eksplantlarında, farklı oranlarda BAP + NAA içeren MS ortamlarında da sürgün rejenerasyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Yukarıda belirtilmiş tüm denemelerden elde edilen sürgünler, 0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamda köklendirilmiş ve dış koşullara adaptasyonda başarı sağlanmıştır. *A. tumefaciens*’in GV2260 GUS INT, LBA4404 pTF101 AopR1 CryIAc bar, LBA4404 Cry2A, GNA, C58C1 pGreen AopR1 CryIAc bar ve C58C1 pGreen 35S CryIAc bar hatlarıyla embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem eksplantı kullanarak Selçuk 99 ve Kubilay 82 çeşitlerine gen aktarım yapılmış, T<sub>0</sub> ve T<sub>1</sub> generasyonuna kadar tohum ve transgenik bitkiler elde edilmiştir. Gen aktarım çalışmasından elde edilen sonuçlar, GUS testi, PCR testi ve biyoassay ile de doğrulanmıştır.

**Nisan 2015, 188 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Bitki rejenerasyonu, bioassay, böcekler dayanaklılık, gen aktarımı, Lepidoptera, PCR, *Spodoptera littoralis*

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### MICROPROPAGATION OF COMMON VETCH (*Vicia sativa* L.) VARIETIES AND *Agrobacterium tumefaciens* MEDIATED GENETIC TRANSFORMATION USING *CryIAc*, *Cry2A* AND *bar* GENES

Mohsen MIRZAPOUR

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Hayrettin KENDİR

Protein, minerals and vitamins rich common vetch (*Vicia sativa* L.), is very difficult to regenerate and transform genetically. This thesis aimed to develop protocols for shoot regeneration and *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of the plants using common vetch cultivars Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 and Selçuk 99. These cultivars were surface sterilized using different concentrations of commercial bleach. Thereafter, a regeneration system from ½ and fully developed cotyledon node explants was developed using different concentrations of BAP + NAA in MS medium. Comparing shoot regeneration system on adaxially and abaxially cultured cotyledon explants on different concentrations of BAP in MS medium, it seemed as adaxillary cultured explants were more productive. Priming of seeds with different concentrations of BAP, SA, GA<sub>3</sub> and BAP + GA<sub>3</sub> showed positive effects on regeneration. Similarly, different concentrations of BAP + NAA were used to regenerate immature embryo explants positively. Shoots regenerated on all of the above mentioned experiments were rooted on MS medium containing 0.75 µg/ml IBA and acclimated to external environmental conditions. Successful genetic transformation was after treatment of embryo, hypocotyl and stem node explants from common vetch cv. Selçuk 99 and the Kubilay 82 with GV2260 GUS INT, LBA4404 p*TF101* Aop*R1* *CryIAc* *bar*, LBA4404 *Cry2A*, GNA, C58C1 p*Green* Aop*R1* *CryIAc*, *bar* and C58C1 p*Green* 35*S* *CryIAc* *bar* lines of *A. tumefaciens*. Successfully transformed plants were used to obtain T<sub>0</sub> and T<sub>1</sub> generations, that flowered and set seeds. The results were confirmed using GUS test, PCR test and bioassay.

April 2015, 188 pages

**Key Words:** Bioassay, insect resistance, genetic transformation, Lepidoptera, PCR, Plant regeneration, *Spodoptera littoralis*

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda her türlü yardım ve desteklerini esirgemeyen çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Hayrettin KENDİR'e en içten teşekkürlerimi sunarım. Bilimsel çalışmam başlangıcı olan bu tezin oluşturulmasında, beni yönlendiren, bütün olanakları sağlayan, büyük bir sabırla, bilgi ve desteğini eksik etmeyen çok değerli hocam Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR başta olmak üzere, TİK üyesi Doç. Dr. B. Hakan HAKYEMEZ'e, Ankara Üniversitesi Tarla Bitkiler Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Sebahattin ÖZCAN'a, Prof. Dr. Cengiz SANCAK'a, Prof. Dr. Nilgün BAYRAKTAR'a, Prof. Dr. Mustafa YILDIZ'a, Bahçe Bitkileri ABD öğretim üyesi Prof. Dr. Şebnem Ellialtıoğlu'na, ve Ankara Üniversitesi Bahçe Bitkileri ABD, Biyoloji ABD ile Tarla Bitkileri ABD'den tüm hocalarıma en derin saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca, tezin laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını gördüğüm değerli hocam, Yard. Doç. Dr. Allah Bakhsh Joya'a (Niğde Üniversitesi Tarım Bölümleri ve Teknolojileri Fakültesi, Tarımsal Genetik Mühendisliği Bölümü) teşekkürlerimi ifade ederim. İran, Tebriz Üniversitesi'nden Prof. Dr. Javad FROUNCHI'ya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca, her zaman yanımda olan ve bana her türlü manevi desteği veren anne ve babam ile sabır ve fedakârlığı ile bana ilham kaynağı olan sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunmak istiyorum.

Çalışmalarımdeki doğrudan veya dolaylı katkılarından dolayı Tarla Bitkileri Bölümündeki idari personel ile laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Mohsen MIRZAPOUR

Ankara, Nisan 2015

## İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> İle Bitkilere Gen Aktarımı.....	4
2. KURAMSAL TEMELLER .....	9
2.1 Doku kültürü çalışmaları.....	10
2.2 Gen Aktarımı İle İlgili Bazı Çalışmalar.....	20
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1 Materyal.....	36
3.1.1 Bitki Materyali.....	36
3.1.2 Besin ortamı, bitki büyüme düzenleyiciler ve kültür koşulları.....	36
3.1.3 Tohumların <i>in vitro</i> koşullarda sterilizasyonu.....	37
3.1.4 Tohum canlılık testi.....	38
3.1.5 Rejenerasyon için kullanılan eksplanlatlar.....	39
3.1.6 <i>Invitro</i> koşullarında sürgünlerin köklendirilmesi.....	39
3.1.7 Köklenmiş bitkilerin dış şartlara alıştırılması.....	39
3.2 Gen Aktarım Çalışmaları.....	40
3.2.1 Bakteri materyali.....	40
3.2.2 Bakteri kültürlerinin saflaştırılması ve büyütülmesi.....	41
3.2.3 Antibiyotikler.....	42
3.2.4 <i>A. tumefaciens</i> GV2260 hattıyla gen aktarım çalışmaları.....	42
3.2.5 Bakteri kültürlerinin kısa ve uzun süreli korunması.....	44
3.2.6 Gen aktarılmış bitkilerin belirlenmesi.....	44
3.2.7 Histokimyasal gus analizi.....	45
3.3 Polmeraze Zincir Resaksiyonu (PCR).....	45
3.3.1 DNA izolasyonu.....	45
3.3.2 Primer dizileri.....	46
3.3.3 PCR reaksiyon koşulları.....	46
3.3.4 PCR programı.....	47
3.3.5 Örneklerin agaroz jel elektroforezi.....	47
3.4 Biyoassay.....	48
3.5 Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	48
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	49
4.1 Yaygın Fiğ Çeşitlerinde değişik Çamaşır Suyun Oranları ve Uygulama Zamanlarının Çimlenmeye Etkisi.....	49
4.1.1 Cumhuriyet 99 çeşidi.....	49
4.1.2 Karaelçi çeşidi.....	51
4.1.3 Kubilay 82 çeşidi.....	53



4.1.4	Selçuk 99 çeşidi.....	56
4.2	Yaygın Fiğ Çeşitlerinde Yarım Kotiledon Boğum Eksplantların Değişik Oranlarda uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonların Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi.....	58
4.2.1	Cumhuriyet 99 çeşidi.....	58
4.2.2	Karaelçi çeşidi.....	62
4.2.3	Kubilay 82 çeşidi .....	66
4.2.4	Selçuk 99 çeşidi.....	70
4.3	Yaygın Fiğ Çeşitlerinde Kotiledon Boğum Eksplantlarına Değişik Oranlarda Uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonlarının Sürgün Rejenerasyona Etkisi.....	74
4.3.1	Cumhuriyet 99 çeşidi.....	74
4.3.2	Karaelçi çeşidi .....	78
4.3.3	kubilay 82 çeşidi.....	82
4.3.4	Selçuk 99 çeşidi.....	86
4.4	Yaygın fiğ Çeşitlerinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> İle Priming Uygulanmış Olan Abaksial Şekilde Kültüre Alınmış Kotiledonlarının Değişik Oranlarda BAP İçeren MS Ortam Üzerinde Sürgün Rejenerasyonu.....	90
4.4.1	Cumhuriyet 99 çeşidi.....	90
4.4.2	Karaelçi çeşidi.....	93
4.4.3	Kubilay 82 çeşidi.....	96
4.4.4	Selçuk 99 çeşidi.....	100
4.5	Yaygın Fiğ Çeşitlerinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> İle Priming Uygulanmış Olan Adaksial Şekilde Kültüre Alınmış Kotiledon Eksplantların Değişik Oranlarda BAP İçeren MS Ortam Üzerinde Sürgün Rejenerasyonu.....	102
4.5.1	Cumhuriyet 99 Çeşidi.....	102
4.5.2	Karaelçi çeşidi.....	105
4.5.3	Kubilay 82 çeşidi.....	108
4.5.4	Selçuk 99 çeşidi.....	111
4.6	Yaygın Fiğ Çeşitlerinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> İle Priming Uygulanmış olan Tohumlardan Sürgün Rejenerasyonu.....	114
4.6.1	Cumhuriyet 99 çeşidi.....	114
4.6.2	Karaelçi çeşidi.....	119
4.6.3	Kubilay 82 çeşidi.....	124
4.6.4	Selçuk 99 çeşidi.....	130
4.7	Yaygın Fiğ Çeşitlerinin Olgunlaşmamış Embriyo Eksplantların Değişik Oranlarda Uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonların Etkisi ile Sürgün Rejenerasyonu.....	136
4.7.1	Cumhuriyet 99 çeşidi.....	136
4.7.2	Karaelçi çeşidi.....	139
4.7.3	Kubilay 82 çeşidi.....	142
4.7.4	Selçuk 99 çeşidi.....	145
4.8	<i>In vitro</i> "da Geliştirilen Bitkiciklerin Dış Şartlara Alıştırılması.....	147
4.9	Gen Aktarım Çalışmaları.....	149
4.9.1	<i>A. tumefaciens</i> 'in GV2260::p35 <i>GUSINT</i> bakteri hattına gen aktarım çalışmaları.....	149

4.9.2	<i>A. tumefaciens</i> 'in LBA4404AopR1 CryIAc bar bakteri hatları ile gen aktarımı.....	152
4.9.3	<i>A. tumefaciens</i> 'in LBA4404 Cry2A bakteri hatları ile gen aktarımı.....	155
4.9.4	GNA Lektin Genlerinin <i>A. tumefaciens</i> aracılığıyla aktarımı.....	156
4.9.5	<i>A. tumefaciens</i> 'in C58C1 pGreen AopR1 CryIAc bar bakteri hatları ile gen aktarımı.....	157
4.9.6	<i>A. tumefaciens</i> 'in C58C1 pGreen 35S CryIAc bar bakteri hatları ile gen aktarımı.....	158
4.10	Kubilay 82 ve Selçuk 99 Çeşitlerine Ait CryIAc Genini Taşıyan Bireysel Transgenik Bitkilerde <i>Spodoptera littoralis</i> böceği ve Glufosinat ammonium herbisti ile Biyoassey Çalışmaları.....	160
5.	TARTIŞMA.....	162
6.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	172
	KAYNAKLAR.....	174
	ÖZGEÇMİŞ.....	186

.

## SİMGELER DİZİNİ

µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
µM	Mikromolar
dk	Dakika
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
°C	Celsius
rpm	(Santrifüj işleminde) dakikadaki devir sayısı

### Kısaltmalar

AopR1	Asparagus officinalis <i>PR1</i> geni
Aseto	Asetosiringon (3,5 – Dimethoxy-4-hydroxyacetophenon)
BAP	6-Benzilaminopurin
2,4-D	2,4-Diklorofenoksi asetik asit DMSO Dimetilsulfoksit
bp	Baz çifti
Bt	<i>Bacillus thuringiensis</i>
cDNA	Komplementer DNA
ÇS	Çamaşır suyu
dNTP	Deoksiribonükleotit trifosfat
DUO	Duocid
DMSO	Dimetilsulfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
F primer	Forward Primer (ileri doğru olan primer)
GA <sub>3</sub>	Giberellik Asit
GUS	β-glukuronidaz
G6PD	Glukoz 6 fosfat dehidrojenaz
Hyg	Hygromisin
IBA	İndol butirik asit
IkP	İnsektisidal kristal protein
ISTA örgütü)	International seed testing association (Uluslararası tohum test
K.O.	Kareler ortalaması
Km	Kanamisinmonosülfat
MS	Murashige ve Skoog besin ortamı
NA	Nutrient agar
NAA	Naftalenasetik asit
NaOH	Sodyum Hidroksit
NB	Nutrient broth
Nos	Nopalin sentaz
NPTII	Neomisin fosfotransferaz II

OCI	Oryzasistein-I
OD	Optik yoğunluk
Onc	Oncogenes
p	plazmit
PAA	Phenoxy acetic acid
PCR	Polymerase chain reaction (polimeraz zincir reaksiyonu)
ppt	Fosfonitricin
R	primer Reverse primer (geri yönde olan primer)
SA	Salisilik asit
Strep	Streptomycin
Spec	Spectinomycin
Sp	Salmon sperm DNA sodium salt
S.D.	Serbestlik derecesi
Taq	Thermus aquaticus
TBE	Tris- Borik asit-EDTA
T-DNA	Transfer DNA
TDZ	Thidiazuron (1 Phenyl 3-(1,2,3-thidiazol 5yL) urea)
Ti	Tümör oluşturan
Tm	Erime sıcaklığı
U	Unit
V.K.	Varyasyon kaynakları
Vir	Virulens geni
X-gluc	5 Bromo - 4 kloro - 3 indolil glukoronid

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	<i>Bacillus thuringiensis</i> 'in etki mekanizması (Glare ve O'Callaghan 2000, değiştirerek).....	7
Şekil 3.1	Cumhuriyet çeşidinin steril edilmiş tohumların 1µg/µl oranda hazırlanmış trifeniltetrazolium klorit solüsyonu ile 24 saat sonra canlı tohumların fiziksel olarak belirlenmesi.....	38
Şekil 4.1	Cumhuriyet 99 çeşidinde %80 çamaşır suyu ile 15 dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler.....	50
Şekil 4.2	Karaelçi çeşidinde %80 çamaşır suyu ile 15dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler.....	52
Şekil 4.3	Kubilay 82 çeşidinde %100 çamaşır suyu ile 20 dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler.....	55
Şekil 4.4	Selçuk 99 çeşidinde %100 çamaşır suyu ile 15 dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler.....	57
Şekil 4.5	Cumhuriyet 99 çeşidinde sürgün rejenerasyonu.....	59
Şekil 4.6	Cumhuriyet 99 çeşidinin 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi .....	62
Şekil 4.7	Karaelçi çeşidinde sürgün rejenrasyonu a. b. c. d. eksplantlarda bir adet sürgün hariç sürgün gleşmelerinde inhibasyon etkisi .....	64
Şekil 4.8	Karaelçi çeşidinin 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	66
Şekil 4.9	Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	68
Şekil 4.10	Kubilay 82 çeşidinin 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	70
Şekil 4.11	Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	71
Şekil 4.12	Selçuk 99 çeşidinin 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	74
Şekil 4.13	Cumhuriyet 99 çeşidinin kotelidon boğum eksplantlar üzerinde sürgün rejenerasyonu.....	76
Şekil 4.14	Cumhuriyet 99 çeşidinin 0.8 µg/ml BAP+0.1µg/ml NAA içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	78
Şekil 4.15	Karaelçi çeşidinin kotelidon boğum eksplantların farklı oranda BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkileri.....	79
Şekil 4.16	Karaelçi çeşidinin 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	82
Şekil 4.17	Kubilay 82 çeşidinin kotelidon boğum eksplantların farklı oranda BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkileri .....	83

Şekil 4.18	Kubilay82 çeşidinin 0.8µg/ml BAP içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	86
Şekil 4.19	Selçuk 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların farklı oranda 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamda sürgün rejenerasyonu.....	87
Şekil 4.20	Selçuk 99 çeşidinin 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	90
Şekil 4.21	Cumhuriyet 99 çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların gelişmelerine etkileri.....	92
Şekil 4.22	Cumhuriyet 99 çeşidinin GA <sub>3</sub> ile priming yapılmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.75 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	93
Şekil 4.23	Karaelçi çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri.....	94
Şekil 4.24	Karaelçi çeşidinin GA <sub>3</sub> ile priming ile yapılmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 1.00 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	96
Şekil 4.25	Kubilay 82 çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların.....	98
Şekil 4.26	Kubilay 82 çeşidinin SA ile priming yapılmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 1 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	100
Şekil 4.27	Selçuk 99 çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların.....	101
Şekil 4.28	Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> ile priming yapılmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.75 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	102
Şekil 4.29	Cumhuriyet 99 çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların.....	104
Şekil 4.30	Cumhuriyet 99 çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> ile priming yapılmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	105
Şekil 4.31	Karaelçi çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların.....	107
Şekil 4.32	Karaelçi çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> ile priming yapılmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.25 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	108
Şekil 4.33	Kubilay 82 çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların.....	109

Şekil 4.34	Kubilyay 82 çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> ile priming yapılmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	111
Şekil 4.35	Selçuk 99 çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların.....	113
Şekil 4.36	Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	114
Şekil 4.37	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priminig ile yapılmış tohumlardan Gelişen gövde eksplantların.....	116
Şekil 4.38	Cumhuriyet 99 çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> ile priming yapılmış tohumlardan 0.25 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	118
Şekil 4.39	Karaelçi çeşidinde farklı priminig ile yapılmış tohumlardan gelişen gövde eksplantların.....	121
Şekil 4.40	Karaelçi çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> ile priming yapılmış tohumlardan 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	123
Şekil 4.41	Kubilyay 82 çeşidinde farklı priminig ile yapılmış tohumlardan gelişen gövde eksplantların.....	126
Şekil 4.42	Kubilyay 82 çeşidinin GA <sub>3</sub> ile priming ile yapılmış tohumlardan 0.25 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	129
Şekil 4.43	Selçuk 99 çeşidinde farklı priminig ile yapılmış tohumlardan gelişen gövde eksplantların.....	131
Şekil 4.44	Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA <sub>3</sub> priming ile yapılmış tohumlardan 0.75 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	134
Şekil 4.45	Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların .....	137
Şekil 4.46	Cumhuriyet 99 çeşidinin 0.1 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	139
Şekil 4.47	Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların 0.25 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamda sürgün rejenerasyonu..	141
Şekil 4.48	Karaelçi çeşidinin 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	142
Şekil 4.49	Kubilyay 82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortam konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu.....	143
Şekil 4.50	Kubilyay82 çeşidinin 0.5 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	144
Şekil 4.51	Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların 1.00 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortam konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu.....	145

Şekil 4.52	Selçuk 99 çeşidinin 0.5 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi.....	147
Şekil 4.53	<i>In vitro</i> koşullarda gelişen köklenmiş yaygın fiğ bitkilerin dış şartlara alıştırılması .....	148
Şekil 4.54	<i>In vitro</i> koşullarda gelişen adi fiğ (a) Karaelçi, (b) Cumhuriyet 99, (c) Selçuk 99 ve (d) Kubilay 82 çeşitlerinde bitkilerden elde edilen kurutulmuş bakla ve tohumların şematik görüntüsü.....	148
Şekil 4.55	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> OD <sub>600</sub> = 2.25 yoğunluğunda (a) Selçuk 99 ve (b) Kubilay 82 çeşitlerine ait embriyolar.....	151
Şekil 4.56	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> OD <sub>600</sub> =2.25 yoğunluğundaki süspansiyon ile muamele edilmiş Selçuk 99 çeşidine ait embriyolarından gelişen aday transgenik sürgünlerin seleksiyon ortamındaki gelişmelerin şematik görüntüsü.....	151
Şekil 4.57	Kubilay 82 çeşidinde GV2260 p35GUSINT bakteri hattı ile yapılan gen aktarımında GUS testi sonucunda maviye boyanmış yaprak örnekler.....	152
Şekil 4.58	GUS geni içeren <i>A. tumefaciens</i> 'nın GV2260::p35 GUSINT hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1,2) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil negatif (3) hipokotil pozitif (4) koltuk altı meristem pozitif (5) embriyo negatif ve (6) Selçuk 99 çeşidinin hipokotil negatif (7) koltuk altı meristem pozitif ve olarak elde edilen seçilmiş örnek bitkilerin <i>GUS</i> genin varlığın teyit eden PCR sonuçları.....	152
Şekil 4.59	Kubilay 82 çeşidin yapraklarında LBA4404 pTF101AopR1 <i>CryIAC</i> bar bakteri hattıyla gen aktarımı sonucunda elde edilen aday transgenik bitkilerin histokimyasal <i>GUS</i> geninin ekspresyonu.....	153
Şekil 4.60	<i>CryIAC</i> geni içeren <i>A. tumefaciens</i> 'nin LBA 4404:: pTF101AoRPR <i>CryIAC</i> hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında(1) Kubilay 82 çeşidinin koltuk altı meristem pozitif (2) koltuk altı meristemden negatif (3) koltuk altı meristemden pozitif (4) embriyo eksplantından pozitif ve (5) Selçuk 99 çeşidinin koltuk altı meristem pozitif (6) koltuk altı meristem pozitif (7) embriyo eksplantından negatif olarak elde edilen seçilmiş örnek bitkilerin <i>CryIAC</i> genin varlığın teyit eden PCR sonuçları.....	154
Şekil 4.61	kubilay 82 çeşidine ait transgenik bitkilerin.....	154
Şekil 4.62	Yaygın fiğ bitkisinde <i>Cry IAc</i> geni taşıyan transgenik T <sub>1</sub> bitkilerin şematik görüntüleri.....	154
Şekil 4.63	Selçuk 99 çeşidine ait T <sub>1</sub> transgenik bitkilerin görüntüleri.....	155
Şekil 4.64	<i>Cry2A</i> ve <i>GUS</i> geni içeren <i>A. tumefaciens</i> 'nin hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil pozitif (2) hipokotil negatif (3) koltuk altı meristemden pozitif (4) embriyo eksplantından pozitif seçilmiş örnek bitkilerin <i>GUS</i> genin varlığın teyit eden PCR sonuçları.....	156



Şekil 4.65	Yaygın fiğ Kubilay 82 çeşidinde yapraklarında <i>pGreen AopRI CryIAc bar</i> geni içeren <i>A. tumefaciens</i> 'nin hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil pozitif (2) hipokotil negatif (3) koltuk altı meristemden pozitif (4) embriyo eksplantından pozitif ve (5) Selçuk 99 çeşidinin hipokotil pozitif (6) koltuk altı meristem pozitif olarak seçilmiş örnek bitkilerin <i>Cry IAc</i> genin varlığın teyit eden PCR sonuçları.....	158
Şekil 4.66	Kubilay 82 çeşidinde <i>pGreen 35S CryIAc bar</i> içeren <i>A. tumefaciens</i> 'nin hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil pozitif (2) koltuk altı meristem pozitif (3) embriyo pozitif ve (4) Selçuk 99 çeşidine ait hipokotil pozitif ve (5) Selçuk 99 çeşidinin hipokotil negatif olarak seçilmiş örnek bitkilerin <i>CryIAc</i> genin varlığın teyit eden PCR sonuçları ve elde edilen aday transgenik bitkilerin histokimyasal GUS geninin ekspresyonu.....	159
Şekil 4.67	<i>In vitro</i> koşullarda sırasıyla <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 'nin (a) GV2260 <i>GUSINT</i> , (b) <i>AopRI CryIAc bar</i> , (c) <i>Cry2A</i> , (d) GNA , (e) <i>pGreen 35S CryIAc bar</i> ve (f) <i>pGreen AopRI CryIAc bar</i> hatlarıyla muamele edilmiş Kubilay 82 çeşidine ait elde edilen baklaların şematik görüntüleri.....	159
Şekil 4.68	<i>In vitro</i> koşullarda sırasıyla <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 'nin (a) GV2260 <i>GUSINT</i> (b) <i>AopRI CryIAc bar</i> (c) <i>Cry2A</i> (d) GNA lektin (e) <i>pGreen 35S CryIAc bar</i> (f) <i>pGreen AopRI CryIAc bar</i> hatlarıyla muamele edilmiş Kubilay 82 çeşidine ait elde edilen transgenik tohumların şematik görüntüleri.....	160
Şekil 4.69	kubilay 82 çeşidine ait bitkiler.....	161
Şekil 4.70	Kubilay 82 çeşidi.....	161

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Kullanılan büyüme düzenleyicileri, çözücüleri ve saklama koşulları.....	37
Çizelge 3.2	Çalışmada kullanılan <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ve <i>A. rhizogenes</i> hatları ve özellikleri.....	41
Çizelge 3.3	Gen aktarımı yapılan dokuların seleksiyonunda kullanılan antibiyotikler, çözücüler ve saklama koşulları.....	43
Çizelge 3.4	Gen aktarımı yapılan dokuların seleksiyonunda kullanılan antibiyotikler, bakteriostatic maddeler, seçici maddeler, yardımcı maddeler, çözücüler ve saklama koşulları.....	44
Çizelge 3.5	PCR işleminde kullanılan primer dizileri.....	46
Çizelge 4.1	Cumhuriyet 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi.....	49
Çizelge 4.2	Cumhuriyet 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamaları.....	51
Çizelge 4.3	Karaelçi çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi.....	52
Çizelge 4.4	Karaelçi çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamaları.....	53
Çizelge 4.5	Karaelçi çeşidinde değişik uygulama zamanlarının sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamaları.....	53
Çizelge 4.6	Kubilay 82 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi.....	54
Çizelge 4.7	Kubilay 82 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamaları.....	55
Çizelge 4.8	Selçuk 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi.....	56
Çizelge 4.9	Selçuk 99 çeşidinde değişik uygulama zamanlarının çimlenme oranı ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamaları.....	57
Çizelge 4.10	Selçuk 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamaları.....	58
Çizelge 4.11	Cumhuriyet 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonu etkisi ile varyans analizi.....	58

Çizelge 4.12	Cumhuriyet 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamaları.....	59
Çizelge 4.13	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları.....	60
Çizelge 4.14	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	61
Çizelge 4.15	Karaelçi çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına farklı oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi.....	62
Çizelge 4.16	Karaelçi çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamaları.....	63
Çizelge 4.17	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları....	64
Çizelge 4.18	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	65
Çizelge 4.19	Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi.....	66
Çizelge 4.20	Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamaları.....	67
Çizelge 4.21	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	68 69
Çizelge 4.22		
Çizelge 4.23	Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi.....	70
Çizelge 4.24	Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamaları.....	71
Çizelge 4.25	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları....	72
Çizelge 4.26	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	73
Çizelge 4.27	Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonu etkisi ile varyans analizi.....	74
Çizelge 4.28	Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonu etkisi ile ortalamaları.....	75

Çizelge 4.29	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları.....	76
Çizelge 4.30	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	77
Çizelge 4.31	Karaelçi çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi.....	78
Çizelge 4.32	Karaelçi çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamaları.....	79
Çizelge 4.33	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları....	80
Çizelge 4.34	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	81
Çizelge 4.35	Kubilay 82 çeşidinin kotelidon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile varyans analizi.....	82
Çizelge 4.36	Kubilay 82 çeşidinin kotelidon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamaları.....	83
Çizelge 4.37	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları	84
Çizelge 4.38	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	85
Çizelge 4.39	Selçuk 99 çeşidinin kotelidon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile varyans analizi .....	86
Çizelge 4.40	Selçuk 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamaları.....	87
Çizelge 4.41	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları.....	88
Çizelge 4.42	Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar.....	89
Çizelge 4.43	Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	91
Çizelge 4.44	Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	92
Çizelge 4.45	Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları.....	93

Çizelge 4.46	Karaelçi çeşidinde farklı priming yapılmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	94
Çizelge 4.47	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	95
Çizelge 4.48	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	96
Çizelge 4.49	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	97
Çizelge 4.50	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	99
Çizelge 4.51	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	99
Çizelge 4.52	nde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	100
Çizelge 4.53	Selçuk 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	102
Çizelge 4.54	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	103
Çizelge 4.55	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları	104
Çizelge 4.56	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	106
Çizelge 4.57	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	107
Çizelge 4.58	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısına ortalamaları .....	108

Çizelge 4.59	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	109
Çizelge 4.60	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	110
Çizelge 4.61	Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi .....	112
Çizelge 4.62	Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	113
Çizelge 4.63	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	115
Çizelge 4.64	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu ortalamaları.....	116
Çizelge 4.65	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	117
Çizelge 4.66	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşum oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu ortalamaları.....	118
Çizelge 4.67	Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	119
Çizelge 4.68	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi	120
Çizelge 4.69	Karaelçi çeşidinde farklı priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	120
Çizelge 4.70	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	122
Çizelge 4.71	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşumu oranı, kök sayısı ve kök uzunluğuna ait ortalamaları.....	123

Çizelge 4.72	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğu ve eksplant başına sürgün sayısına ait ortalamaları.....	124
Çizelge 4.73	Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı, kök sayısına ait ortalamaları.....	124
Çizelge 4.74	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	125
Çizelge 4.75	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	126
Çizelge 4.76	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	127
Çizelge 4.77	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşumu oranı, kök sayısı, kök uzunluğu ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	129
Çizelge 4.78	Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	130
Çizelge 4.79	Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analizi sonuçları.....	130
Çizelge 4.80	Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları.....	131
Çizelge 4.81	Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranda BAP üzerinde Sürgün Oluşum Oranı, Sürgün Uzunluğuna ait ortalamaları.....	132
Çizelge 4.82	Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	133
Çizelge 4.83	Selçuk 99 çeşidinde 4 adet BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşumu oranı, kök sayısı ve kök uzunluğuna ait ortalamaları.....	135
Çizelge 4.84	Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğu ve eksplant başına sürgün sayısına ait ortalamaları.....	135

Çizelge 4.85	Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA <sub>3</sub> ve BAP + GA <sub>3</sub> priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün sayısına ait ortalamaları.....	136
Çizelge 4.86	Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi	137
Çizelge 4.87	Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonunun ortalamaları.....	138
Çizelge 4.88	Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi	140
Çizelge 4.89	Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonunun ortalamaları.....	140
Çizelge 4.90	Kubilay 82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi	142
Çizelge 4.91	Kubilay 82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonunun ortalamaları.....	143
Çizelge 4.92	Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi	145
Çizelge 4.93	Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonunun ortalamaları.....	146
Çizelge 4.94	Kubilay82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak <i>A. tumefaciens</i> 'nin GV2260::p35 <i>GUSINT</i> hattıyla gen aktarım sonuçları.....	151
Çizelge 4.95	Kubilay82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak <i>A. tumefaciens</i> 'nin LBA4404AopR1 <i>CryI</i> Ac bar hattıyla gen aktarım sonuçları.....	153
Çizelge 4.96	Kubilay82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak <i>A. tumefaciens</i> 'nin <i>Cry2A</i> hattıyla gen aktarım sonuçları.....	155
Çizelge 4.97	Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak <i>A. tumefaciens</i> 'nin GNA hattıyla gen aktarım sonuçları.....	156
Çizelge 4.98	Kubilay82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak <i>A. tumefaciens</i> 'nin C58C1 pGreen AopR1 <i>CryI</i> Ac bar hattıyla gen aktarım sonuçları.....	157



Çizelge 4.99	Kubilay ve Selçuk çeşitlerinde 100er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak <i>A. tumefaciens</i> 'nin C58C1 p <i>Green35s CryIAc bar</i> hattıyla gen aktarım sonuçları.....	159
--------------	--	-----

## 1. GİRİŞ

Hızla artan dünya ve ülke nüfusunun ihtiyacı olan gıda maddelerinin karşılanmasında ana kaynak olan tarımsal ürünlerin miktar ve kalitesinin yükseltilmesi kaçınılmaz bir zorunluluktur. Bitkisel ve hayvansal üretim olarak iki ana sektörden oluşan tarımsal faaliyetlerin çevre ile bütünleşik bir anlayışta sürdürülmesi son derece önemlidir.

Tarımsal üretimin arttırılmasının daha kolay bir seçenek olan, tarım alanlarının genişletilmesinde tüm dünyada olduğu gibi Türkiye’de de sınırlara dayanılmıştır. Tarımsal faaliyetlerde üretimi arttırmak için, kaynakların daha verimli kullanılarak birim alan verimliliğinin yükseltilmesi seçeneği son dönemlerde daha da öne çıkmaktadır.

Tarımsal faaliyetin önemli bir parçası olan hayvancılığın temeli ve hayvancılık işletmelerindeki girdilerin büyük bir bölümünü oluşturan kaliteli kaba yemi sağlayan kaynak olmasının yanında yem bitkileri, toprağı korumak ve geliştirmek, havadaki serbest azotu toprağı bağlayarak toprağı gübrelemek, yıl boyunca üzerinde bulunduğu toprağı yeşil bir örtü ile kaplayarak, su ve rüzgar erozyonuna karşı korumak gibi fonksiyonlara sahiptir. Diğer yandan gelişmelerinin belli bir döneminde toprağı gömülerek karıştırılan yem bitkileri, yeşil gübre olarak toprakların fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirirler.

Dünya üzerinde hayvan beslemede kullanılan bitkilerin büyük bir kısmını baklagiller (Fabaceae) familyasından bitkiler oluşturmaktadır. Baklagil bitkilerinin besin değerleri ve hayvanlara yararlılıkları yüksektir. Baklagil otu kolay kartlaşmayan, bol yapraklı ve yumuşak gövdeli özellik gösterir. Baklagillerden elde edilen ot, protein, vitamin ve minerallerce zengindir. Baklagil familyasından yem bitkileri, kaba yem olarak kullanılmalarının yanında tane yem amacıyla da hayvan beslemede kullanılırlar (Tan ve Serin, 2009).

Fiğ (*Vicia*) cinsi esas olarak dünyada tropikal ılıman ve subtropikal bölgelerde bulunan yaklaşık 166 tür içermektedir (Maxted 1993). Özellikle Asya, Avrupa ve Akdeniz ülkelerinin yerli bir bitkisi olan ve A.B.D.'de 25 türü bulunan fiğ cinsinin, insanlık tarihinde tarımı ilk defa eski dünyada yapılmaya başlanmıştır. İlk kültüre alınan fiğ türleri ise yaygın fiğ ve bakla olduğu bildirilmektedir (Mckee 1952). Günümüzde ise fiğ türlerinin tarımı, hem yarı kurak alanlarda hem de serin bölgelerde olmak üzere, dünyanın her yerinde özellikle Avrupa, Akdeniz ve Ortadoğu ülkelerinde yaygın olarak yapılmaktadır (Avcıoğlu vd. 2009). Türkiye'de tarımı çok eski yıllardan beri yapılan ve son dönemlerde ekiliş ve üretimi yıldan yıla artış gösteren fiğ türlerinin ekim alanı yaklaşık 500 bin ha kadardır (TÜİK 2015).

Yaygın fiğ (*V. sativa*), fiğ türleri içinde tarımı en fazla yapılan bitki türüdür. Toprağı yormayan ve bol miktarda organik madde bırakan yaygın fiğ, *Rhizobium leguminosarum* bakterileri ile simbiyotik ilişkiye girerek havanın serbest azotunu bağlar ve toprağı azot bakımından zenginleştirir. Bitki ayrıca ekim nöbetinde, yeşil ot, kuru ot, silo yemi ve yeşil gübre olarak da kullanılmaktadır. Fazla derinlere gitmeyen bir kazık kök sistemine sahiptir. Toprak şartlarında bağlı olarak ortalama 40-60 cm. boylanabilmektedir. Yapraklar 4-6 çift yaprakçıktan meydana gelmiş olup, yaprakçık uçları sivridir. Meyvesi tipik bir fasulyedir; 3-5 cm. uzunluğunda olup, ortalama 5-6 dane bulunur. Adaptasyon yeteneği iyi bir bitkidir. Ancak fazla asitli toprakları sevmez. Kışı ılıman geçen bölgelerde sonbaharda erken ekilerek iyi bir şekilde yetiştirilebilir (Elçi 2009). Eksi 8 derecenin altındaki sıcaklıklarda donmaktadır. Bu yüzden kışı sert geçen yerlerde yazlık olarak, sıcak iklim bölgelerinde ise kışlık olarak yetiştirilmektedir. İç, Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde erken İlkbaharda ekimi yapılır (Anonim 2015a). Türkiye'de 2013 yılında yaygın fiğ 4 269 348 da alanda ekilmiş olup, 4 168 085 ton yeşil ot verimi elde edilmiştir (TÜİK 2015). Tarımı yapılan bölgelerde, iyi bakım koşullarında 3-3,5 ton/da yeşil ot ya da 500-700 kg/da kuru ot elde edilir (Anonim 2015b).

Protein, mineral maddeler ve vitaminler bakımından oldukça zengin olan yaygın fiğ bitkisi, entansif hayvancılığın kaba yem gereksiniminin karşılanmasında büyük önem göstermektedir. Yaygın fiğ kuru otu %13 - 18, tanesi %29 oranında ortalama ham

protein içermektedir (Ahlgren 1956, Akyıldız 1969). Yaygın fiğ'in yaprak ve sapların sırasıyla %16.8, ve %7.7 oranda ham protein saptanmıştır (Caballero vd. 1995). Yaygın fiğ hem ot hemde tane olarak birçok mineral madde ve aminoasit yönünden de zengindir. Yaygın fiğ tohumları içinde selüloz oranı çok düşük ve sindirilme oranı çok yüksektir (Akyıldız 1969); Hayvan beslemedeki kullanımının yanında, yaygın fiğın tanesi, dünyanın bazı bölgelerinde insanlar tarafından yemeklik olarak kullanılmaktadır (Enneking 1994).

Yaygın fiğın tohumu insanlar ve geviş getirmeyen hayvanlar tarafından fazla miktarda yendiği zaman  $\alpha$  - galactosides salgılanmakta ve bu toksin madde monogastrik hayvanlarda iştahsızlığa sebep olmaktadır (Eskin vd. 1980, Saini 1989). Ayrıca, yaygın fiğ  $\gamma$ - glutamyl-s-ethenylcysteine içermektedir (Enneking 1994). Fiğlerde hem  $\beta$  - cyanoalanine hemde  $\gamma$  - glutamyl aktif molekülleri olup, idrardaki sistationin (cystathionine) ile biyokimyasalla reaksiyonuna girip bir ara bunu ürün olarak salgılamaktadır (Enneking 1994). Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz enzim (G6PD) eksikliği olan kişilerde glutathion düşmesinin sebebi convicine, isouramil, divicine ve vicine gibi oksidanların varlığı ortaya çıkmakta favisim hastalığı olarak adlandırılmaktadır. Fiğler çiğ olarak yendiğinde de lektin phytohemoglutinin salgılanmasına (Enneking 1994), insan ve monogastrik hayvanlarda (Müntz vd. 1998) besleme için gerekli olan temel amino asitlerden metionin ve cysteinin azalmasına sebep olabilmektedir. Diğer fiğ türleri için de bu konu önemli olduğundan çalışmaların didiplinlerarası bir anlayışla devam etmesi büyük önem arz taşımaktadır. Gen aktarımı, doku kültürü, mikroçoğaltım vb biyoteknolojik yöntemler kullanılarak fiğlerdeki ıslah çalışmalarının daha kısa sürede sonuçlandırılması böylece, fiğlerin neden olabileceği toksik maddelerin insan ve hayvan sağlığına olan zararlı etkilerinin azaltılmasının sağlanabilecektir.

Diğer taraftan, Türkiye koşullarına uygun yeni yaygın fiğ çeşitlerin geliştirilmesinde özellikle böceklere ve herbistlere karşı dirençli çeşitler/hatların ıslah çalışmalarında ortaya konulması oldukça önemlidir. Klasik bitki ıslahı ile istenen özelliklerin bir bitkide toplanması uyumsuzluk, genetik bağlılık ve istenen özelliklerin seçiminin ve stabilizasyonunun, güç ve zaman alıcı bir işlem olabilmektedir. Bu nedenle, ıslah çalışmalarında alternatif olarak genetik mühendisliği tekniklerinin entegrasyon, ıslah

süresinin kısaltılmasının yanında; melezlemede karşılaşılan engeller, genetik bağlılık sorunları ve gen havuzlarından yararlanmadaki sınırlamalar kolayca ortadan kaldırılabilmekte, orijinal bitkinin arzu edilen karakterlerini değiştirmeden bir yada birkaç gen, yeni özellikler kazandırmak amacıyla değişik organizmalardan izole edilerek bitkilere aktarılabilmesi mümkündür (Özcan ve Özgen 1996).

Yaygın fiğ ile yapılan biyoteknolojik çalışmalarda bitki rejenerasyonu, en önemli sorunlardan biridir. Tüm gen aktarım tekniklerinin başarısını en fazla etkileyen faktör, gen aktarılacak olan hücre veya dokuların sürgün rejenerasyon kabiliyetidir. Ancak, sürgün rejenerasyon kabiliyeti, genotipi, eksplantın fizyolojik durumu, kültür koşulları (ortamının ışık ve sıcaklık gibi fiziki şartları) sonuçlarına son derece etkilenmektedir (Pierik 1987). Bitki doku kültürü çalışmalarında eksplant seçimi ve uygun ortamların belirlenmesi son derece önem arz etmektedirler. Ayrıca bitkilerin çeşitli dokuları aracılığı ile *in vitro* koşullarında çoğaltılması ile çok sayıda sağlıklı fide elde edilmesi mümkündür (Bhatti 2001).

### **1.1 *Agrobacterium tumefaciens* ile Bitkilere Gen Aktarımı**

Gen aktarımı, tam bir bitki oluşturabilme yeteneğine sahip olan hücrelerin kloroplastlarına veya kromozomlarına istenilen genleri taşıyan bir DNA parçasının yerleştirilmesi ve buradan yeni bitkilerin elde edilmesidir. Bitkilere gen aktarım çalışmalarında en yaygın olarak *Agrobacterium* aracılığıyla gen aktarımı yapılmaktadır (Arı 2001).

*A. tumefaciens* ve *A. rhizogenes*, toprak köklü bakteri türleri olup, bitkiyi genellikle oluşan yaralardan enfekte ederek tümör veya saçak kökler oluşturmaktadır. Enfeksiyon sonucunda bakteriden bitkiye geçen genler sayesinde bol miktarda oksin üretimiyle bitkinin kök boğazı hücrelerinde ortaya çıkan düzensiz bölünmeler kallus veya tümör oluşumuna neden olmaktadır (Bevan vd. 1983, Huffman vd. 1984). *A. tumefaciens* ve *A. rhizogenes* bakteri türlerinin T-DNA bölgesindeki tümör oluşumuna neden olan genler kesici enzimler aracılığıyla çıkartılarak yerlerine değişik kaynaklardan izole edilen tarımsal öneme sahip genler yerleştirildiğinde ve *in vitro* gelişen bitki doku ve hücreleri

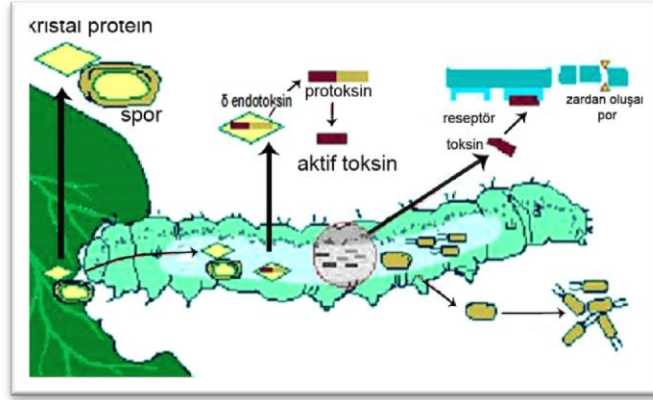
bu *Agrobacterium* hatlarıyla enfekte edildiklerinde, istenilen özellikleri taşıyan genler bitki hücrelerine aktarılmaktadır (Özcan vd. 2001).

*Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımında, gen aktarım oranı son derece düşük olduğundan, gen aktarımı yapılacak bitki türlerinde yüksek oranlarda adventif sürgün oluşumu da gen aktarım çalışmalarının başarısında önemli rol oynamaktadır. Ancak, yaygın fiğ bitkisinde *in vitro* bitki rejenerasyonu önemli bir sorun olup, yerli çeşitlerinde transgenik bitki elde edilememiştir. Yaygın fiğde *in vitro* bitki rejenerasyonu sorununun çözülmesi için Türkiye'nin yerel fiğ çeşitlerinin morfojenetik kapasitelerini etkileyen fizyolojik, ekolojik ve genetik faktörlerin bilinmesi büyük önem arz etmektedir. Ayrıca, rejenerasyon ve gen aktarımı kapasitesinin artırılabilmesi için kullanılan genotipler, besin maddeleri, kültür koşulları, hormonlar, eksplantların fizyolojik yaşı ve tipi gibi faktörlerin ve bu faktörler arasındaki etkileşimlerin çok iyi şekilde belirlenmesi ve bilinmesi çok önemlidir. Gen aktarımı yapılacak bitki türlerinde yüksek oranda sürgün oluşumu gen aktarımı ile yan ilişkili olup, transformasyon başarısında önemli rol oynamakta ve orijinal özelliklerini bozmadan kısa zamanda homojen ve stabil hem herbisitlere dayanıklı bitkilerin geliştirilmesi ve hemde böceklere karşı mikrobiyal etmenlerin etkinliklerinin artırılması çok önemliver istenilen bir hususdur. Bu nedenle, yaygın fiğ bitkisinde stabil genetik transformasyon için uygun rejenerasyon sistemlerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir (Walden ve Schell 1990, Fraley ve Schell 1991).

Tarımsal üretimde ekonomik kayıplara neden olan böceklere mücadelede kullanılan kimyasallar aynı zamanda insan, çevre ve doğal denge üzerindeki olumsuz etkilerde bulunmaktadır. Bu nedenle alternatif yöntemlerin geliştirilmesi önem kazanmıştır. Bu amaçla insektisidal etki gösteren proteinleri kodlayan bazı genler (çeşitli *Bacillus thuringiensis* endotoksinleri, proteinaz inhibitörleri, lektinler, alfa-amilaz inhibitörleri, kitinaz gibi) bitkilere aktararak değişik böcek takımlarına karşı dayanıklılık sağlanabilmektedir (Sağlam 2010).

Böceklere dayanıklılık için transformasyon çalışmalarının esası; böcekler üzerinde toksik etki yapan insektisidal proteinlerin sentezinden sorumlu genlerin bitkilere

aktarılarak transgenik bitkilerin geliştirilmesine dayanmaktadır. Bu amaçla en yaygın olarak, kullanılan genler doğal ve sentetik *Bt*  $\delta$ -endotoksin proteinlerinin sentezinden sorumlu olan *Cry* genleridir (Aasim 2010, Sağlam 2010). *Bt*  $\delta$ -endotoksin genlerine ek olarak böceklere dayanıklı transgenik bitkilerin geliştirilmesinde; proteinaz inhibitörleri,  $\alpha$ -amilaz inhibitörleri, lektinler, kitinaz, kolesterol oksidaz enzimi, avidin ve VIP (vegetative insectisidal proteins) gibi insektisidal etki gösteren proteinler de kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar  $\alpha$ -amilaz inhibitör-1 ( $\alpha$ AI-1) geninin özellikle Bruchidae familyasına ait böceklerle mücadele için transgenik bitkilerin geliştirilmesinde kullanıldığını göstermektedir (Crispeels 1997, Sonia vd. 2007).  $\alpha$ AI-1 genini taşıyan transgenik bitkilerin *Bt* endotoksin proteinleri yapısal özellikleri ve konukçu profillerine göre *Cry-1*, 2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 olmak üzere 8 farklı grupta toplanmaktadır (Ben-Dov vd. 1997). Bunlardan *Cry-1* toksinleri Lepidoptera üzerinde etki gösterirken, *Cry-3* toksinleri Coleoptera, *Cry-4* ise Diptera üzerinde etkili olabilmektedir. *Cry-2* toksinlerinin ise hem Lepidoptera hem de Diptera üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. Kristalin proteinler veya protoksinler yüksek pH derecelerinde böcek orta bağırsağında çözüldüğü zaman protoksinler parçalanır ve 65-70 kDa büyüklüğündeki aktif toksin formlarına dönüşür (130 kDa büyüklüğündeki protoksininin C- terminalinden yaklaşık 600 amino asit, N-terminalinden 30-50 aminoasit ayrılır böylece 65-70 kDa'luk toksin bölge açığa çıkar) (Wang 2003). Toksinin etki mekanizması, aktif haldeki toksinlerin bağırsak epitel hücrelerinde bulunan reseptör bölgelerine bağlanmasını takiben hücre zarı üzerinde delikler meydana getirmesi sonucu, bu hücrelerin patlaması ile oluşmaktadır (Özcan vd. 2001). *Bt* *Cry* proteinleri böceklerde orta bağırsak toksini olarak görev yaparlar. Proteinlerin etkin hale geçmesi için hedef böcek tarafından sindirilmesi gerekmektedir. Böcek parasporal kristalleri sindirdikten sonra insektisidal proteinler orta bağırsaktaki alkali (pH 8 – 10.5) ortamda proteazlar tarafından aktif hale getirilmektedir. IKP (insektisidal kristal protein) daha sonra peritrofik zarı geçerek orta bağırsak epiteli üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanıp, porlar oluşturmaktadır. Transmembran potansiyelinin kaybı; hücre lizisi, orta bağırsak içeriğinin sızması, böceğin felci veya ölüm ile sonuçlanmaktadır (Şekil 1.1). Bu aktivitenin spesifikliği, böceğin orta bağırsak florası ve IKP'nin sadece uygun reseptörü taşıyan zara bağlanması ile sağlanmaktadır (Glare ve O'Callaghan 2000).



Şekil 1.1 *Bacillus thuringiensis*'in etki mekanizması (Glare ve O'Callaghan 2000, değiştirerek)

Bu mücadele yönteminde, böcekler üzerinde toksik etki yapan proteinlerin sentezinden sorumlu genler bitkilere aktarılmaktadır. Bu amaçla en yaygın kullanılan genler doğal ve sentetik *Bacillus thuringiensis* (Bt)  $\delta$  - endotoksin proteinlerinin sentezinden sorumlu olan crystalline (*cry*) genleridir. Bunun yanında insektisidal etki gösteren proteinler içerisinde çeşitli proteinaz inhibitörleri,  $\alpha$ -amilaz inhibitörleri, lektinler, kitinaz, kolesterol oksidaz enzimi ve avidinleri de saymak mümkündür. Delta-endotoksin, *Cry* toksin veya insektisidal *Cry* proteinleri (IKP) olarak adlandırılan bazı kristalize yapılar oluşturmaktadır. Böcekler dayanıklı transgenik bitkiler elde etmek için farklı orijinlere sahip proteinaz inhibitörlerinin kullanıldığı Narváez-Vásquez vd. (1992) tarafından bildirilmektedir. Lektinler çoğu bitkide bulunan ve glikoprotein, glikolipid ve polisakkaritlere bağlanma özelliği gösteren proteinlerdir. Lektinler soya fasulye gibi birçok bitkinin tohum ve depo organlarında bulunmaktadır (Vodkin and Raikhel 1986). Lektinlerin böcekler üzerinde toksik etki yaptığı gözlenmiş; ancak, bu etkinin mekanizması tam olarak açıklanamamakla birlikte, lektinlerin böcek orta bağırsağındaki epitel hücreler üzerinde bulunan bazı karbonhidrat moleküllerine bağlanarak etki gösterdiği düşünülmektedir. Değişik organizmalardan izole edilen bazı lektinlerin Homoptera, Coleoptera, ve Lepidoptera takımlarına dahil böcekler dayanıklılık sağlamaktadır (Aasim 2010, sağlam 2010). Lektin genleri aktarılmış transgenik bitkiler üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda en yaygın kullanılan lektinin *Galanthus nivalis*'ten izole edilen GNA olduğu gözlenmektedir. Alfa-amilaz enzimi, böceklerin sindirim sisteminde önemli işlevi olan bir enzimdir. Enzimin sentezlenmemesi durumunda böceklerde bazı sindirim bozuklukları gözlenmekte ve besin



yetersizliğinden böcekler ölebilmektedir. Genin kullanımının artması özellikle baklagil tohumlarında büyük sorun olan *Bruchus* cinsine bağlı böceklerin mücadelesinde önem arz etmektedir. Doğrusal bir homopolimer olan kitin önemli bir yapısal molekül olmanın yanı sıra, böceklerde peritrofik zarların yapısında da bulunmaktadır. Birçok farklı organizmada yapısal işlevi olan kitin doğada en yaygın rastlanan biyopolimerlerdir. Gerçekleştirilen bu araştırmalar sonucunda, enzimin sentezinden sorumlu genin izole edilerek böceklere dayanıklı transgenik bitkilerin eldesin de kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Fiğlerde Orthoptera, Thysanoptera, Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, takımlarına ait böcekleri yaprak, çiçek, gövde, bakla ve polenlere zarar vermektedirler (Nuessly vd. 2004). Bu nedenle tarımsal üretimde önemli bir potansiyele sahip yaygın fiğde, böceklere ve herbisitlere dirençli bitkileri büyük önem arz etmektedir. Yaygın fiğde, bitki doku kültürü çalışmalarında sürgün rejenerasyon oranı oldukça düşük olduğu belirlenmiş (Çöçü 2002) *Agrobacterium* sp. aracılığıyla gen aktarımı konusunda herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu araştırmanın amacı farklı eksplantlar kullanarak yaygın fiğ bitkisinde gen aktarımına uygun yüksek oranda sürgün rejenerasyon sistemini geliştirmek ve Lepidoptera takımına ait böceklere karşı *A. tumefaciens* aracılığıyla transgenik yaygın fiğ bitki üretimi olmuştur.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

Yaygın fiğ ekilen yerlerde zararlılara ve herbisitlere dirençli bitkilerin ıslah edilmesi ve ya transgenik olarak geliştirilmesi biyoteknolojik yöntemlerinin geliştirilmesinin önemi dahada yükseltmektedir.Yaşam sürece Orthoptera, Thysanoptera, Hemiptera, Coleoptera, lepidoptera, Diptera, Hymenoptera takımlarına ait böcekleri yaygın fiğ bitkisinin yaprak, çiçek, gövde, bakla ve polenlere , zarar vermektedirler (Nuessly vd. 2004). Ayrıca, bitki tohumları depolama sürecinde tohum böcekleri ve özellikle *Bruchus* spp'den de zarar görmektedir. Fiğ tohum böceklerinin larvaları, konukçuları olan fiğ taneleri içinde beslenmeleri süresince, oyuklar meydana getirerek tanenin besin değerini düşürdükleri gibi dışkı ve vücut artıkları ile de kirletirler. Çok döl veren türlerin devamlı üremeleri sonucu, delinmiş ve içinin büyük kısmı yenilerek besin değerlerini tamamen yitirmiş olan taneler, hayvan yemi ve gübre olarak dahi kullanılmazlar. Fiğ tohum böcekleri, larvaları beslenmeleri sonucunda tanelerde kalite, çimlenme gücü ve ağırlık kayıplarına neden olurlar. Bu şekilde zarar görmüş, iç ve dış piyasada önemli yeri olan baklagillerin, pazar değeri de düşmektedir (Elçi 2005, Anonim 2015d).

Türkiye'de bugüne kadar, yaygın fiğ bitkisinde bitki doku kültürü olarak başarı oranı oldukça düşük olup, yapılan çalışmalarda *Agrobacterium* aracılığıyla genetik transformasyon çalışmaları bulunmamaktadır. Bu araştırmanın amacı ise önce *A. tumefaciens* aracılığıyla değişik eksplant kullanarak yaygın fiğ bitkisinde gen aktarımına uygun yüksek oranda sürgün rejenerasyon sistemin geliştirilmesi ve daha sonra hem Lepidoptera takımına ait böceklerine hemde herbisitlere karşı transgenik yaygınfiğ bitkisi üretmektir.

Yaşam sürecinin bitkilerin her aşamasında biyotik ve abiyotik streslerin sebep olduğu tüm faktörlerin önlenmesi çok önem kazanmaktadır. Biyotik ve abiyotik stres kaynakları çoklu genler tarafından kontrol edilmektedir. Geleneksel yöntemleri ile bunların (streslerin) önlenmesi imkansızdır. Yukarıda belirtilmiş yaygın fiğ bitkisine zarar veren böceklerindengelen ekonomik zararları azaltmak ve kaliteli ürün sağlamak için böceklere dirençli bitkilerin ıslah edilmesi gerekmektedir. Fakat, genel anlamda

ıslahçılar tarafından her zaman yem bitkilerin ıslah çalışmalarına önemsememesinden dolayı yaygın fiğde de böceklere dayanıklılık ıslah çalışmaları hemen hemen bulunmamaktadır. Hızlı nüfus artışına bağlı olarak dengeli ve yeterli beslenmenin hayvansal ürün üretimi gerekmekte bu da ancak kaliteli ve bol miktarda yem bitkileri üretimi ile mümkün olmaktadır. Artan nüfusun ihtiyaçlarını karşılamak amacıyla geleneksel metodlarla beraber biyoteknolojik yöntemlerin birleştirilmesi ile bu yöndeki çalışmalarına hız kazandırılmasının ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmada yaygın fiğ bitkisine *Agrobacterium* aracılığıyla lepidoptera takımına ait böceklerine ve herbisitlere karşı direnç kazandırmak amacıyla gen aktararak, dayanıklı bitkiler elde edilmeye çalışılmıştır. Bu konula ilgili yaygın fiğ ile yapılan bazı doku kültürü ve gen aktarım çalışmalarının azlığında diğer bitkilerle yapılan çalışmaların özetlerini aşağıda yer verilmiştir.

## 2.1 Doku Kültürü Çalışmaları

Gamborg vd. (1974), bezelye (*Pisum sativum* L)'de apikal hücrelerden sürgün oluşturmayı başarmışlardır. Sürgün uçlarını yumuşaması için bir gün suda bekletmişler ve hücreleri agarlı ortamda geliştirmişlerdir. Bu hücreler 0.2 - 5  $\mu$ M BAP ve 1 mM NAA içeren besin ortamında 4 - 6 hafta içinde kallus ve sürgün oluşturmuştur. Kalluslar çok sayıda sürgün oluşturmuş ancak gelişen sürgünlerden iyi bir köklenme meydana gelmemiştir.

Mroginski ve Kartha (1981), bezelye (*Pisum sativum*) bitkisinde promordial yaprakları belirli aralıklarla, değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS vitaminli B<sub>5</sub> besin ortamında kültüre almışlardır. En yüksek oranda sürgün oluşumunu 0.1  $\mu$ M NAA ve 10  $\mu$ M BAP içeren besin ortamından elde edilmiştir. Ayrıca, örneklerin yaşının sürgün oluşumunu etkilediğini gözlemişlerdir.

Rubluo vd. (1984) yaptıkları çalışmada, farklı konstrasyonlardaki bazı sitokin ve oksin kombinasyonlarını kullanarak, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış bezelye yaprakçıklardan öncelikle sürgünler daha sonra da tam bitkiler elde etmişlerdir. BAP, NAA, IBA ve IAA içeren MS besin ortamında olgunlaşmamış yaprakçıklar ortalama

0.9-1.8 mm uzunluğunda sürgünler oluşturmuştur. Oluşan sürgün oranı, ortalama %26 - 38 arasında değişmiştir. BAP ve NAA içeren ortamda, olgunlaşmış yapraklardan gelişen sürgünlerin oranı % 7'ye kadar düşmüştür. GA<sub>3</sub>'in sürgün oluşumunda etkili olmadığı, pikloram ve 2,4-D'nin ise olumsuz etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca, adventif sürgün rejenerasyonunun büyük ölçüde sıcaklık ve genotipten etkilendiği belirtilmiştir.

Mathews (1987), *Vigna radiata* bitkisinde sürgün ucu, kotiledon, kotiledon boğum, promordial yapraklar ve kökleri farklı BAP dozlarında kültüre almıştır. Sürgün ucu, kotiledon ve kotiledon boğumlardan direkt sürgün oluşumu elde etmiştir. Farklı eksplantlardan farklı hormon düzeylerinde farklı gelişme gözlemiştir.

Natali ve Cavallini (1987), bezelyede olgunlaşmamış embriyolardan gelişen kalluslardan yeni bitkiler elde etmişlerdir. Bu amaçla, kotiledonlardan embriyoları izole ederek değişik konsantrasyonda BAP ve NAA içeren besin ortamında kültüre almışlardır. Gelişen sürgünler, 2 µg/ml IBA içeren besin ortamında köklendirilmiştir. Rejenerasyon kabiliyeti ile genotip arasında önemli bir ilişki olduğu görülmüştür. Yapılan histolojik incelemede, sürgünlerin organogenesis yoluyla geliştiği belirlenmiştir. Elde edilen 20 bitkinin, diploid (2n=14), 9'u ise aneusomatik (2n = 12-16) olarak bulunmuştur.

Saxena ve King (1987), olgunlaşmış mercimek embriyolarından elde edilen embriyo ve kotiledonları, 1-10 µg/ml arasında değişen konsantrasyonlarda 2,4-D ve NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> içeren MS ve modifiye edilmiş B<sub>5</sub> besi ortamında kültüre almışlardır. Somatik embriyogenesis oluşturmak amacıyla, kalluslar 4 - 6 hafta sonra bitki büyüme düzenleyici maddeleri içeren ve içermeyen besin ortamlarına alınmışlardır. Burada oluşan somatik embriyolar, 70 g/l Glutamin, değişik oranlarda BAP ve IAA içeren B<sub>5</sub> ortamına aktarılmıştır. Oluşan somatik embriyolardan yeni bitkicikler elde edilmiştir.

Polanco vd. (1988), kültür ortamı ve eksplant tipinin, mercimekte kallus ve sürgün oluşumuna etkisini incelemişlerdir. Üç İspanyol mercimek çeşidine ait değişik eksplantlar, (sürgün ucu, birinci boğum ve ilk yaprak çifti) BAP, NAA ve IAA içeren 2 temel besin ortamında (MSO ve B<sub>5</sub>) kültüre alınmıştır. 2,4-D içeren besin ortamında

tüm eksplantlar kallus oluşturmuş, ancak hiç organogenesis meydana gelmemiştir. En çok sürgün, 2.25 µg/ml BAP, 0.186 µg/ml NAA ve 2.25 µg/ml IBA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşumunda en etkili hormonun BAP olduğu, ancak bu hormonun köklenmeyi azalttığı görülmüştür. Köklenme, sadece NAA veya IAA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. Sürgün oluşumu bakımından en iyi sonucun boğumlardan, en düşük sonuçların ise yapraklardan elde edildiği bildirilmiştir.

Albrecht ve Kohlenbach (1989), koca fiğ bitkisinde somatik embriyogenesis yolu ile bitki elde etmişlerdir. Picloram ve düşük konsantrasyonlarda BAP'nin kallus oluşumunu teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Fakhrai vd. (1989), bakla (*Vicia faba*) bitkisinde sap ve kotiledon boğum örneklerinden %3 şeker, 2 µg/ml BAP ve 0.2 µg/ml NAA içeren MS0 ortamında organogenesis yoluyla sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Gelişen sürgünler %1.5 şeker, 0.1 µg/ml NAA ve 0.5 µg/ml kinetin içeren yarım MS besin ortamında köklendirilmiştir.

Selva vd. (1989), bakla (*Vicia faba* L.) bitkisinde sıcaklık, azot kaynağı ve aktif karbonun kök oluşturma üzerine etkilerini araştırmışlardır. Düşük sıcaklığın örneklerde fenolik bileşiklerin oluşumunu engellediği için köklenme üzerine olumlu etki yaptığını ve aktif karbon uygulamasının gereksiz olduğunu bildirmişlerdir.

Jackson ve Hobbs (1990), bezelye (*Pisum sativum* L.) kotiledon boğumlarından, 1 µg/ml BAP içeren MS besin ortamında çok sayıda adventif sürgün elde etmişlerdir. Sitokinin konsantrasyonu arttıkça sürgün ucu sayısının da arttığı görülmüştür. Ancak, 5 µg/ml BAP içeren besin ortamında oluşan sürgünler camsılaşma göstermişler ve köklenememişlerdir. Kullanılan bütün çeşitlerin boğumları 5 gün sonra sürgün oluşturmuş ve bu sürgünlerden 21 gün sonra eksplant alınmıştır. Yapılan histolojik çalışmalar, boğum ve sürgünlerin yüzeysel doku tabakalarından geliştiğini göstermiştir. Bu sistemin transgenik bitkiler elde etmek için kullanılabileceği bildirilmiştir.

Leuba ve Tourneau (1990), 25-50 uM Phenoxy acetic acid (PAA) içeren besin ortamında mercimek eksplantlarından kallus oluşturmuşlar, 5 µM ve daha büyük konsantrasyonlardaki PAA'nın tütün, nohut ve mercimek dokularına toksik etki yapmadığını bildirmişlerdir.

Malik ve Saxena (1992), TDZ içeren MS besin ortamında nohut (*Cicer arietinum* L.), mercimek (*Lens culinaris* Medik) ve bezelye (*Pisum sativum* L.) olgunlaşmamış embriyolarını kültüre almışlardır. En yüksek sürgün rejenerasyonu 1.50 µM TDZ içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler 2.5 µM NAA içeren ortamda köklendirilmiştir.

Özcan vd. (1992), bezelyede olgunlaşmamış kotiledonlardan sürgün rejenerasyon protokolü geliştirmişlerdir. Çalışma sonunda, 0.5 µg/ml BAP ve 4 µg/ml NAA içeren MS besin ortamında çoklu sürgünler elde edilmiştir. Sürgün rejenerasyonu embriyo ekseninin kotiledondan koparıldığı bölgede gerçekleşmiştir. Ancak eksplantlarda embriyonik eksenlerin varlığı, sürgün oluşumuna engel olmuştur. Besin ortamına AgNO<sub>3</sub> ilave edildiğinde rejenere olan sürgün sayısı değişmediği, fakat iyi gelişmiş yapraklara sahip sürgünler elde edilmesine rağmen, köklenme kapasitesinin düşük olduğu gözlenmiştir. Rejenere olan sürgünler, 1 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilip, daha sonra komposta aktarılarak büyütülmüştür.

Haque ve Khanom (1993), farklı mercimek eksplantlarını (meristematik uç, epikotil, kotiledon boğumu, kotiledon ve olgunlaşmamış embriyo) kullanarak direkt veya kallus yoluyla adventif sürgün rejenerasyonu üzerinde çalışmışlar, farklı temel besin ortamları ile değişik hormon konsantrasyonları kullanarak bitki rejenerasyonunu optimize etmeyi amaçlamışlardır. Epikotil, kotiledon boğumu, kotiledon eksplantlarından, 1.0 µg/ml 2,4-D, 0.5 µg/ml BAP, 0.5 µg/ml Kinetin ve 0.25 µg/ml NAA içeren MS besin ortamında yeşil organogenik kalluslar elde edilmiş, ancak fazla sayıda adventif sürgün elde edilememiştir. Buna karşılık, meristematik uç ve olgunlaşmamış embriyodan çok sayıda adventif sürgün elde edilmiştir. En yüksek sürgün rejenerasyon oranı , 0.5 µg/ml BAP, 0.5 µg/ml Kinetin ve 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamında meristematik uçlardan elde edilmiştir.

Hiroshi and Zhumeng (1993), korungada (*Onobrychis viciifolia*), *in vitro* elde edilen fidelerden aldıkları kotiledon, hipokotil ve kök eksplantlarını farklı dozlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. Sürgün oluşumu bakımından en iyi ortamın 1  $\mu$ M NAA ve 10  $\mu$ M BAP kombinasyonu olduğunu, kallus oluşumu bakımından eksplantlar arasında bir fark olmadığını, sürgün oluşumu bakımından ise kök ve hipokotil eksplantlarının kotiledonlara göre daha iyi sonuç verdiğini, BAP ve NAA'ın bitki rejenerasyonu üzerinde etkili olduğunu ve elde edilen sürgünlerin 25  $\mu$ M IBA ile başarılı bir şekilde köklendirildiğini bildirmişlerdir.

Barna ve Wakhlu (1994), olgunlaşmamış nohut (*Cicer arietinum* L.) yapraklarından oluşan kalluslardan organogenesis yoluyla adventif sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. En iyi kallus oluşumunu, 10  $\mu$ M NAA ve 5  $\mu$ M BAP içeren besin ortamından kaydetmişlerdir. Gövde dokularının en alt kısımlarından alınan eksplantlar için en iyi sürgün rejenerasyonu ortamının ise 10  $\mu$ M BAP ve 0.1  $\mu$ M IBA içeren MSO besin ortamı olduğu bildirilmiştir. En iyi kök oluşumunu ise, 1  $\mu$ M IBA içeren ortamdan elde etmişlerdir.

White and Voisey (1994), ak üçgül (*Trifolium repens*) bitkisinde yüksek oranda adventif sürgün oluşumu elde etmek için, 3 günlük fidelerden elde ettikleri kotiledonları değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS0 besin ortamında kültüre almışlardır. En yüksek oranda sürgün, 1  $\mu$ g/ml BAP ve 0.05  $\mu$ g/ml NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

Ghanem (1995), yaptığı çalışmada, 2,4-D içermeyen MS besin ortamında mercimek yaprak, sap ve kök eksplantlarında kallus oluşturamamış, her bir eksplantta kallus ve sürgün oluşumu bakımından en iyi sonuçlar, 0.5  $\mu$ g/ml 2,4-D ve 2  $\mu$ g/ml Kinetin içeren besin ortamından elde etmiştir. Tuz içeren besin ortamında yeşil ve kuru bitki ağırlığı ile büyüme indeksi ve büyüme oranının azaldığı görülmüştür. Tuzlu ortamda (6000 ppm NaCl) büyüyen kalluslar yeniden alt kültür yapılarak (4 haftalık süre) 1  $\mu$ g/ml BAP ve 0.25  $\mu$ g/ml IAA içeren ortamda geliştirilmiş, embriyolarda ise sürgün oluşumu görülmemiştir.

Muthukumar vd. (1995), börülce'nin *in vitro* gelişen primer yapraklarından bitkicik elde etmişlerdir. *In vitro*'da gelişen 3 günlük bitkiciklerden petiol ile beraber primer yaprakları elde edilip  $8 \times 10^{-7}$  M 2, 4, 5 trichlorofenoksiasetik asit,  $1 \times 10^{-2}$  M L-Glutamine ve  $1 \times 10^{-4}$  M adenine sulfat içeren Gamborg B<sub>5</sub> ortamına kültüre alınmıştır. Petiol eksplantta kallus oluşumu gözlenmiş ve kallus  $5 \times 10^{-6}$  M BAP içeren ortamda yüksek oranda sürgün rejenerasyonu gözlenmiştir. Elde edilen sürgünler B<sub>5</sub> ortamında köklendirilmiş ve toprakta adaptasyon sağlanmıştır.

Özcan vd. (1996), gen aktarımına uygun adventif sürgün oluşumu sağlamak için, *in vitro* koşullarda gelişen korunga (*Onobrychis viciifolia*) fidelerinden elde ettikleri kotiledon ve hipokotil örneklerini değişik besin ortamlarında kültüre almışlardır. En yüksek oranda sürgün, 0.5 µg/ml BAP ve 0.2 µg/ml NAA içeren MS0 ortamında kültüre alınan hipokotil örneklerinden elde edilmiştir. Gelişen sürgünler daha sonra, 1 µg/ml IBA ya da 1 µg/ml NAA içeren MS0 ortamlarında köklendirilmiştir.

Tegeder vd. (1996), koca fiğ (*Vicia narbonensis*) bitkisinde sürgün ucu ve epikotillerden elde ettiği protoplastları örnek olarak kullanmışlardır. TDZ'nin sürgün oluşumunda önemli bir rolü olduğu bildirilmiştir.

Özgen vd. (1997), "Elçi" ve "Mesa-Sirsa" yonca çeşitlerinde, çimlendirme ile elde edilen fidelerden alınan sapçıklarda, *in vitro* koşullarda sürgün oluşumu sağlamışlardır. Sapçıkları farklı konsantrasyonlarda BAP ve NAA içeren MS0 ortamında büyütmüşlerdir. Sürgün sayısı, en fazla "Elçi" çeşidinde 2 µg/ml BAP ve 0.2 µg/ml NAA; "Mesa-Sirsa" çeşidinde ise, 1 µg/ml BAP ve 0.2 µg/ml NAA içeren kültür ortamlarından elde edilmiştir. Kültür ortamına ilave edilen IBA oranının artırılması ile köklenme miktarı %80 - 90 oranına ulaşmıştır. Bununla beraber, "Elçi" çeşidinin her bir sürgünde ortalama kök uzunluğu, "Mesa-Sirsa" çeşidinden daha fazla bulunmuştur. Kültür ortamında üretilen sürgünlerde somatik kromozom sayılarının değişmediğini gözlemlemişlerdir.

Polanco ve Ruiz (1997), olgunlaşmış ve olgunlaşmamış mercimek tohumlarını, 30 g/l sukroz ve çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri içeren MS besin ortamında 25°C ve 16



saatlik fotoperiyotta çimlendirmeye bırakmışlardır. Tohumlar, 4, 8 ve 4+4 (4 hafta MSO ve 4 hafta MS + BAP, Kinetin, GA3, IAA ve NAA) hafta çeşitli BAP, Kinetin, GA3, IAA ve NAA konsantrasyonları içeren MS besin ortamında çimlendirilmiştir. Yaklaşık 4 hafta sonra, 2.25 µg/ml BAP içeren MS besin ortamında % 25 oranında kallus oluşumu gözlenmiştir. 0.25 ve 2.25 µg/ml BAP içeren besin ortamında çok sayıda sürgün ucu elde edilmiştir. Düşük konsantrasyon (0.225 µg/ml) veya hiç BAP içermeyen besin ortamında, önemli ölçüde köklenme olduğu gözlenmiştir. BAP'ın *in vitro* koşullarda köklenmeyi olumsuz yönde etkilediğinden BAP konsantrasyonuna dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Parh vd. (1998), *In vitro*'da sıkça görülen mercimek meristem ucunda çürüme (nekroz) sorununu MS besin ortamına Ca ilave ederek çözmüşlerdir. Ayrıca, Ca konsantrasyonu arttıkça sap ve kök ağırlığı ile boğum sayısının arttığı, sürgün sayısının azaldığı bildirilmiştir.

Brar vd. (1999), çalışmada 17 börülce genotipi için bitki rejenerasyon protokolü geliştirmişlerdir. Kotiledon eksplantları ilk aşamada 15-35 mg/l BAP içeren 1/3 MS ortamına 5-15 gün bekletilmiştir. Daha sonra sürgün rejenerasyonu için eksplantlar 1mg/l BAP içeren besin ortamına kültüre alınmıştır. Bir hafta içerisinde kotiledonların üst kısmında sürgün rejenerasyonu gözlenmiştir. Rejenerasyon oranı %1-11 ve eksplant başına sürgün sayısı 4-12 arasında değişmiştir. Rejenerasyon oranı ve eksplant başına sürgün sayısı üzerinde genotip, kültür süresi ve büyüme düzenleyici miktarların etkisi önemli bulunmuştur. En fazla eksplant başına sürgün 15 mg/l BAP ile 5 gün muamele süresi ile elde edilmiştir. Buna karşı en fazla sürgün sayısı 35 mg/l BAP ile 5 gün muamele edilmiş eksplantlarından elde edilmiştir. Köklenme için bitkiler MS ortamına aktarılmıştır.

Khalafalla ve Hattari (1999), bakla (*Vicia faba* L. cv. S. Ghdar) bitkisinde 7 günlük kotiledon boğum eksplantlarını değişik oranlarda BAP, TDZ ve BAP-TDZ içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. En yüksek sürgün rejenerasyonu 2 µg/ml BAP ve 2 µg/ml TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Daha sonra bu sürgünler 0.5 µg/ml NAA içeren ortamda köklendirilmiştir.

Sancak (1999), yüksek oranda sürgün rejenerasyonu elde etmek için koca fiğın olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenlerini değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS0 besin ortamında kültüre almıştır. Çalışmada olgunlaşmamış kotiledon eksplantlarında en yüksek sürgün rejenerasyonu 1 µg/ml BAP ve 1 µg/ml NAA ilave edilen ortamdan elde edilirken, olgunlaşmamış embriyo eksenlerinde ise 2 µg/ml BAP ve 2 µg/ml NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Genel olarak, olgunlaşmamış kotiledonların sürgün rejenerasyon kapasitesi olgunlaşmamış embriyo eksenlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Sancak vd. (2000), Macar fiğinin (*Vicia pannonica*) olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenlerini değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. Olgunlaşmamış embriyo eksenlerinin sürgün rejenerasyon kapasitesi olgunlaşmamış kotiledon eksplantlarından yüksek bulunmuştur. Olgunlaşmamış kotiledon eksplantlarında en yüksek sürgün rejenerasyonu 20 µM BAP ve 2.5 µM NAA içeren ortamdan elde edilirken, olgunlaşmamış embriyo eksenlerinde ise 5 µM BAP ve 5 µM NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler 1/2 MS ve 5 uM IBA içeren ortamda köklendirilmiştir.

Bhatti (2001), 21 farklı mercimek çeşidinin olgunlaşmamış embriyonik eksenlerini izole edilerek ilk önce 20 µg/ml NAA içeren MS ortamında 10 gün kültüre almıştır. Daha sonra eksplantlar MS0 ortamında alt kültüre alınmıştır. MS0 ortamına aktarıldıktan bir hafta sonra bir kaç genotipin eksplantı üzerinde kallus oluşumu başlamış ve 3 hafta sonra da bu kalluslar üzerinde adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir. Sürgün oluşturan eksplant oranı %3.33 - 30, eksplant başına sürgün sayısı da 1.66 - 2.16 arasında değişmiştir. Fakat ön muamele yapılmamış eksplantlarda 4 µg/ml BAP ve 0.25 µg/ml NAA içeren MS ortamında sadece Emre 20 ve Kışlık 21 çeşidinde 10' ar sürgün ile %3.33 ve 43.33 arasında sürgün oluşumu gözlenmiştir. Geri kalan 19 çeşitte hiç sürgün oluşumu gözlenmemiştir.

Khawar ve Özcan (2002), MS besin ortamında gelişen Ali Dayı mercimek çeşidine ait 10 günlük sürgünler kesilerek, köklendirme için 0.25, 0.5, 1.0, ve 2.0 µg/ml IBA içeren MS0 besin ortamına aktarılmıştır. Dört hafta sonra en yüksek köklendirme oranı (%25),

sürgün başına ortalama kök sayısı (7.87 adet) ve ortalama kök uzunluğu (7.18 cm) 0.25 µg/ml IBA içeren MS0 besin ortamından elde edilmiştir. Ancak, Diğer IBA uygulamalarında kök oluşumu uyarılamamıştır.

Çöçü vd. (2003), 8 adet yaygın fiğ çeşidinde olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenlerini kullanarak en yüksek sürgün rejenerasyonu %95 ile Kubilay çeşidinden 4 µg/ml BAP ve 0.25 µg/ml NAA içeren besin ortamından; eksplant başına en fazla sürgün 9.47 adet ile Sarıelçi çeşidinden 2 µg/ml BAP ve 0.25 µg/ml NAA içeren besin ortamından elde edildiğini bildirmişlerdir. Olgunlaşmamış kotiledon eksplantlarında ise hiç sürgün rejenerasyonu elde edememişlerdir. Gelişen bu sürgünleri daha sonra, keserek 2.5 µg/ml IBA içeren MSO besin ortamında köklendirmişlerdir.

Uranbey vd. (2003), nohut geveninde (*Astragalus cicer* L.) hipokotil, gövde, kotiledon ve petiol eksplantlarını çeşitli konsantrasyonlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. En yüksek adventif sürgün rejenerasyonu hipokotil eksplantlarından 10 µM BAP and 0.1 µM NAA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir.

Erdoğan vd. (2004), burçak bitkisinde yaptıkları çalışmada, tohumları MS besin ortamında çimlendirdikten 4-5 gün sonra gelişen bitkilerden kotiledon boğum eksplantlarını izole ederek değişik oranlarda TDZ veya BAP ve NAA içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. Eksplant başına en fazla sürgün sayısını 15.7 adet ile 7 numaralı hattan 4 µg/ml BAP ve 0.25 µg/ml NAA içeren besin ortamından elde etmişler, ayrıca adventif sürgün rejenerasyonunu en fazla etkileyen faktörlerin başında ortamda bulunan bitki büyüme düzenleyicilerinin olduğunu ve besin ortamındaki oksin-sitokinin dengesinin iyi ayarlanması neticesinde yüksek oranda adventif sürgün rejenerasyonunun elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Gelişen sürgünleri daha sonra değişik oranlarda IBA içeren MSO ortamında köklendirmeye almışlar ve 7 hafta sonra en yüksek köklenme oranını (%100) ve sürgün başına ortalama kök sayısını (6 adet) 2 µg/ml IBA içeren ortamdan elde etmişlerdir.

Khawar vd. (2004), mercimekte (*Lens culinaris* Medik.) mercimek çeşitlerinden Ali Dayı ve Kayı-91 çeşitlerine ait yaprak, gövde, gövde boğumu ve kotiledon boğum eksplantları farklı oranlarda TDZ içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kotiledon ve gövde boğumlarından, başlangıç kallus gelişimini takiben organogenesis aracılığıyla adventif sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Yaprak ve gövde eksplantlarında ise kallus ve sürgün gelişimi gözlenmemiştir. Her iki çeşitte de en yüksek sürgün rejenerasyonu 0.25 µg/ml TDZ içeren MS besin ortamlarında kotiledon boğumlarından elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler (10-20 mm uzunlukta) 0.25 µg/ml IBA içeren MS ortamında köklendirilmiş ve köklenen sürgünler son olarak kum içeren saksılara aktarılmıştır.

Hou ve Jia (2004a), *Astragalus melilotoides* türün 7 günlük fideciklerden elde edilen hipokotil ve gövde eksplanttan yüksek frekansta somatik embriyogenesis ve organogenesis yoluyla bitki elde edilmiştir. 2.69 µM NAA ve 4.44 µM BA içeren MS besin ortamında hipokotil eksplantlarından %98.3 oranında somatik embriyo oluşumu elde edilmiştir.

Hou ve Jia (2004b), *Astragalus melilotoides* türün türün 7 günlük fideciklerden elde edilen hipokotil ve gövde eksplantta gelişen embriyogenik kalluslardan izole edilen protoplastlardan bitki rejenerasyonunu başarmışlardır. Hipokotil eksplantlarından gelişen embiyonik kalluslardan izole edilen protoplastlar, 1 µg/ml 2,4-D, 0.5 µg/ml BAP 0.2 µg/ml kinetin, 0.2 M glikoz ve 0.5 µg/ml manitol, 500 µg/ml kazein içeren KMP8 içeren katı ve sıvı besin ortamında kültüre alınmış daha sonra 0.5 µg/ml NAA ve 1-2 µg/ml BAP içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. %56.3 somatik embriyogenesis ve %21.6 organogenesis başarılmıştır.

Erdoğan vd. (2005), yüksek oranda bir adventif sürgün rejenerasyonu elde etmek için 6 farklı burçak hattına ait olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenlerini değişik oranlarda TDZ içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. TDZ konsantrasyonları, hatlar ve kullanılan eksplantların sürgün rejenerasyonuna önemli etkisi olduğunu belirlemişlerdir. En yüksek sürgün oluşturan eksplant oranı %90 ve eksplant başına en fazla sürgün sayısı da 22 adet olarak belirlenmiştir. Sekizinci hattan elde edilen adventif

sürgünleri farklı konsantrasyonlarda BAP, NAA ve TDZ içeren ortamlarda hızlı çoğaltıma almışlardır. Burada eksplant başına en yüksek sürgün sayısını 7.33 adet ile 2 µg/ml BAP ve 0.2 µg/ml NAA içeren MSO besin ortamından sağlamışlardır. Gelişen sürgünleri daha sonra, 2 µg/ml IBA içeren MSO ortamında köklendirmişlerdir.

Odutayo vd. (2005), yüzey steril edilmiş börülce tohumlarından elde edilen embriyoları değişik konsantrasyonlarda sitokinin-oksijen içeren ortamlara kültüre alınmışlardır. Embriyonun yaralanmış bölgeden kallus oluşumu gözlenmiştir. 5 hafta sonra kalluslar üzerinde 2-4 sürgün gözlenmiştir.

Mao vd. (2006), 3-5 günlük börülcenin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonu elde edilmişlerdir. 8.88 µM BAP, 1.0 g/l casein hydrolysate, 342 µM glutamine, % 3.0 sukroz, %0.3 fitagel (pH 5.8) içeren ortamda en fazla sürgün rejenerasyonu gözlenmiştir. Ortamın 5.8 veya 7.0 pH'sinin sürgün rejenerasyonda farklı etki yapmamıştır. En fazla sürgün oluşumu (%77) ve eksplant başına 8 sürgün elde edilmiştir. Sürgün uzaması için 14 µM GA<sub>3</sub> muamelesinin yeterli olduğu görülmüştür. Ortamda IBA, sürgünlerin köklendirilmesine hiç etki göstermemiş ve bitkiler seraya aktarılmıştır. Elde edilen bitkiler normal gelişme göstermişlerdir.

Aasim vd. (2008), börülcenin Akkız çeşidinin 3-4 günlük sürgün ucu eksplantından 0.50 µg/ml BAP ile 0, 0.10, 0.30 ve 0.50 µg/ml NAA içeren MS ortamından sürgün rejenerasyonu elde edilmişlerdir. NAA içeren ortamlarda daha fazla kallus oluşumu gözlenmiştir. En fazla 2.60 adet sürgün 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamında kaydedilmiştir. Elde edilen sürgünler 0.5 µg/ml IBA içeren MS ortamında köklendirilmiştir.

## **2.2 Gen Aktarım İle İlgili Bazı Çalışmalar**

Hussey vd. (1989), bezelye dokularının meristem uçlarını *A. tumefaciens* (C58 ve Ach 5) ve *A. rhizogenes* (9402)'in yabancı hatları ile inokule etmişler, her iki ırkın da tümör ve saçak kök oluşturduğunu bildirmişlerdir. Uç meristemler yaşlı meristem uçlarına

göre tümör oluşumu bakımından daha iyi sonuç vermiştir. *A. rhizogenes* en çok sap ucundaki meristematik dokularda saçak kök oluşturmuştur. Yapılan histolojik (dokusal) incelemede, enfekte olan hücrelerin ilk önce çok sayıda vakuol içerdiği, daha sonra ise hücrelerden tümör oluştuğu tespit edilmiştir.

Genga vd. (1990), fasulye bitkisinin *Phaseolus vulgaris* ve *Phaseolus coccineus* türlerinde onkogenik *A. tumefaciens* hatlarıyla transformasyon çalışması ile iki genotipte tümör oluşumu gözlenmiştir. Ancak tümör oluşma frekansı, tümör çapı bitki türlerine göre değişmiştir. *NPTII* transformasyonu PCR ile tespit edilmiştir.

Pounti-Kaerlas vd. (1990), bezelye bitkisine *A. tumefaciens* aracılığıyla bazı markör genleri (*NPTII*, *HPT-II*) aktararak higromisin ve kanamisin antibiyotigine dayanıklı transgenik bitkiler elde etmişlerdir. Çalışmada sap ve epikotil eksplantları kullanılmıştır. Transgenik kalluslar 15 µg/ml higromisin ve 75 µg/ml kanamisin içeren besin ortamında seçilmiştir. Higromisin içeren besin ortamında çok az sayıda sürgün elde edilmiştir. Ancak, kanamisin içeren besin ortamında ise hiç sürgün oluşmamıştır. Rejenere olan sürgünler köklendirilerek gelişen bitkicikler seraya aktarılmıştır. DNA analizi ile kallusların ve bitkiciklerin transgenik olduğu ispat edilmiştir.

Warkentin ve McHughen (1990) yaptıkları çalışmada, *A. tumefaciens* aracılığıyla mercimeğe gen aktarmışlardır. Serada yetiştirilen mercimek bitkilerinin sap uçları *A. tumefaciens* (C58, GV 3111, A281, ve Ach5)'in 4 yabancı hattı ile inokule edilmiştir. İnokulasyon sonunda sap ve sap uçlarında tümör oluşumu sağlanmıştır. *A. tumefaciens*'in GV3111 hattı ile muamele edilen embriyolardan alınan transgenik sürgünler kanamisin içeren ortamdan seçilmiştir. Daha sonra gen aktarımını doğrulamak amacıyla sonuçlar flourometrik ve histokimyasal GUS analizine tabii tutulmuştur.

Lulsdorf vd. (1991) yaptıkları çalışmada, bazı *A. tumefaciens* hatlarıyla (EHA 101 ve LBA 4404) bezelye (*Pisum sativum* L.) uç meristemlerini inokule ederek, 2, 3 ve 4 gün süreyle ko-kültivasyona bırakmışlardır. *A. tumefaciens* EHA 101 (pB 11042) hattı ile inokule edilen eksplantlar, en yüksek oranda kallus oluşturmuştur. Bu hatla inokule edilen eksplantların % 76'sı kanamisin (50 µg/ml), %77'si ise higromisin (25 µg/ml)

içeren besin ortamında kallus oluşturmuştur. Buna karşılık, LBA 4004 hattı ile inoküle edilen eksplantların %63'ü higromisin, %17'si kanamisine dayanıklı kallus oluşturmuştur.

Warkentin ve Mc Hughen (1992), mercimek sap ucu, epikotil ve kök eksplantlarını GV 2260 p35S GUS-INT *A. tumefaciens* hattı ile inoküle etmişlerdir. İnoküle edilen epikotil ve kök eksplantlarında yaklaşık 9 gün, sap uçlarında ise 17 gün sonra GUS ekspresyonu gözlenmiştir. Kontrol olarak kullanılan keten bitkisine göre mercimekte *GUS* geni ekspresyon seviyesinin çok daha düşük olduğu görülmüştür. Araştırma sonunda, epikotil ve kök eksplantları, sap ucu ve kotiledon boğumlarının transgenik bitki elde etmek için uygun eksplantlar olduğu bildirilmiştir.

Fontana vd. (1993), nohut apikal meristemlerini LBA4404 (*NPTII* ve *GUS* geni içeren) bakteri hattı ile inoküle etmişlerdir. Ko-kültüvasyondan sonra eksplantları kanamisin içermeyen ortamda 3 hafta tuttuktan sonra 50 µg/ml kanamisin içeren ortama alarak transgenik aday sürgünleri belirlemişlerdir. Kanamisin içeren ortamda köklenme olmadığı için köklendirme işlemini kanamisin içermeyen ortamda gerçekleştirmişlerdir. Transformasyon frekansını %4 olarak belirlemişlerdir.

Franklin vd. (1993), fasulye bitkisinin *A. tumefaciens*'in pKYLX71*GUS* içeren EHA101 hattı ile muamelesi sonucunda elde edilen yaprakları ve hipokotillerinden gelişen transgenik sürgünleri 50 µg/ml kanamisin içeren ortamdan seçilmiştir. Transformasyon *GUS*, florometrik analiz ve Southern Analizi ile tespit edilmiştir.

Schroeder vd. (1993), bezelyede olgunlaşmamış embriyo eksplantlarını kullanarak *A. tumefaciens* aracılığıyla transgenik bitkiler elde etmişlerdir. NOS promotörü tarafından kontrol edilen *NPTII* geni ve Karnıbahar mozaik virüsü 35S (*CaMV35S*) promotörü tarafından kontrol edilen *bar* genini taşıyan *A. tumefaciens* vektörü kullanılarak iki bezelye çeşidine bu markör genler aktarılmıştır. Organogenesis yoluyla adventif sürgün rejenerasyonu elde edilerek, transgenik sürgünler, 15 µg/ml fosfinonitrisin içeren besin ortamında seçilmiştir. Elde edilen sürgünlerden gelişen transgenik bitkilerden tohum

elde edilmiştir. Transgenik bitkiler, F<sub>1</sub> generasyonunda 3:1 Mendel açılım oranı göstermişlerdir. Northern blot analizi ile *NPTII* ve *bar* geninin varlığı kanıtlanmıştır.

Lewis and Bliss (1994), fasulye bitkisinin 10 çeşidini *A. tumefaciens*'in C58 onkogenik hattı ile muamele etmişlerdir. Çeşitler arasında tümör oluşumu ve çapı bakımından farklılıklar görülmüştür. En fazla UW325 yabancı fasulye çeşitinde tümör oluşumu gözlenmiştir. Bunun yanı sıra en az tümör oluşumu kültür çeşiti olan Olathe'de gözlenmiştir. GUS testi sonucunda da en az GUS aktivitesi yabancı fasulye çeşiti UW325'te gözlenmiştir. Monthcalm çeşitinde tümör oluşumu fazla fakat GUS aktivitesi az kaydedilmiştir. Ortamda Asetosrygone kullanımı ile virulansda bir değişiklik gözlenmemiştir. UW325 çeşitinin meristematik uçlarında yapılan GUS testinde % 60'dan fazla transformasyon gözlenmiştir.

Damiani vd. (1995), baklagil yem bitkilerinin çeşitli türlerine kanamisin ve higromisin antibiyotiklerine dayanıklılık genlerini taşıyan vektörleri içeren *A. rhizogenes* ve *A. tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımı yapmıştır. *M. sativa*'dan kanamisine dayanıklı transgenik bitkiler elde edilmesine rağmen *M. arborea*, *Lotus corniculatus*, *L. tenuis*, *Onobrychis viciifolia* türlerinden transgenik bitki eldesi mümkün olmamıştır. Transformasyon etkinliğinin *Agrobacterium* hattından etkilenmediğini gözlemlemişlerdir.

Desgagnes vd. (1995), *Medicago sativa*'nın rejenerasyon yeteneği yüksek üç genotipten elde edilen 11 ıslah hattı ile gen aktarım çalışması yapmışlardır. Çalışmalarında C58, A281, LBA 4404 *Agrobacterium* hatlarını kullanmışlardır. Deneme sonucunda PCR ve southern hibridizasyon yöntemleri ile yaptıkları analizlerde üç genotipten de transgenik kallus ve transgenik bitki elde ettiklerini belirtmişlerdir. Genotiplein kullanılan bakteri ırkları ile vektörlere farklı cevaplar verdiğini bu nedenle iyi bir transformasyon için genotip-bakteri ırkı-vektör kombinasyonunun önemli olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca kanamisinin transgenik olmayan materyalin ayırt edilmesinde oldukça etkili olduğunu bildirmişlerdir.



Grant vd. (1995), olgunlaşmamış kotiledonları kullanarak *A. tumefaciens* aracılığıyla bezelyeye gen aktarmışlardır. Bolero, Trounce, Bohatyr ve Huka bezelye çeşitlerinden transgenik bitkiler elde etmişlerdir. Kullanılan *A. tumefaciens* hattının plazmidinde, fosfinotrisin ve kanamisine dayanıklılığı kodlayan *NPTII* ve *bar* genler bulunduğundan, transgenik bezelye bitkilerinin seleksiyonu, 10 µg/ml fosfinotrisin içeren besin ortamında yapılmıştır. Ayrıca, transgenik bitkilerde fosfonitrisin asetil transferaz enzim testi yapılarak *BAR* geni tespit edilmiştir.

McClellan vd. (1995), yaptıkları çalışmada fasulyenin *A. tumefaciens*'in onkogenik hatları ile muamele sonucunda 1-3 günlük tohumlarda tümör oluşumunun fazla ve 5-7 günlük tohumlarda ise az olduğunu bildirmişlerdir. 19 çeşit *A. tumefaciens*'in nopalın, oktopin, ve agropin biyotipleri ile muamele etmesinden olumlu sonuçlar elde edilmiştir.

Samac (1995), *A. tumefaciens* kullanarak 9 ticari *M. sativa* çeşidinde genetik transformasyon çalışması yapmıştır. Araştırmacı *GUS* ve *NPTII* genini taşıyan ikili vektörleri içeren 3 hat ile A208, A348, A281, A136 yabancı bakteri ırklarını kullanmıştır. 2 haftalık kök ve kotiledon eksplantlarını bakteriler ile inoküle etmiştir. Elde ettiği sonuçlara göre doku kültüründe bitki çeşidinin, bitki transformasyonunda bakteri ırkının yüksek oranda etkili olduğunu belirtmiştir.

Schroeder vd. (1995), pMCP3 plazmid vektörünü taşıyan *A. tumefaciens* aracılığıyla bürülceden izole edilen *AI* geni bezelyeye aktararak bezelyede alfa amilaz sentezi engellenmiştir. *AI* geni, T<sub>5</sub> generasyonuna kadar gösterilmiş ve kullanılan bu yöntemle mercimek bitkisine gen aktarabileceği ortaya konmuştur. Fasulye bitkisinin *Phaseolus vulgaris* ve *Phaseolus coccineus* türlerinde onkogenik *A. tumefaciens* hatlarıyla transformasyon çalışması yapılmıştır. Her iki genotipte tümör oluşumu gözlenmiş fakat tümör oluşma frekansı ve tümör çapı bitki türlerine göre farklılık göstermiştir. *NPTII* transformasyonu PCR ile tespit edilmiştir.

Stewart vd. (1996), kolza (*Brassica napus*)'da *cryIAc* (35S promotörü tarafından kontrol edilen) geni içeren *A. tumefaciens* ile gen aktarımı yapmışlardır. 57 adet transgenik aday bitkide Southern analizi sonucunda transgen kopya sayısını 1-12

arasında belirlemişlerdir. Toplam çözünebilir protein içerisinde ekspresyon seviyesini % 0-0.4 arasında olduğunu gözlemişler. Bu bitkilerin *Plutella xylostella* ve *Trichoplusia ni*'ye karşı tamamen dayanıklı olduğunu bildirmişlerdir.

Barros vd. (1997), 1 µg/ml BAP içeren ortamda fasulye bitkisinin Rosinha çeşitinin kotiledon eksplantlarında gelişen dokularda % 3 sürgün gelişimi ve Carioka çeşitinde ise % 0,7 sürgün gelişimini gözlemişlerdir. % 30 gelişme gösteren sürgünlerde *GUS* ekspresyonu gözlenmiştir. Benzer şekilde *A. rhizogenes* ile epikotillerden transgenik kök elde edilmiştir.

Bean vd. (1997), çimlenen Puget bezelye (*Pisum sativum* L.) çeşidinin yanal kotiledon dokuları ile *A. tumefaciens*'i inokule ederek bir gen aktarım protokolu geliştirmişlerdir. Bu yöntemde, kotiledon meristemleri kullanılarak kallus oluşturmada transgenik sürgünler elde edilmiştir. Böylece, fenotipik olarak kısır olmayan normal transgenik bitkiler elde etmenin mümkün olabileceği ortaya konmuştur.

Dillen vd. (1997), *A. tumefaciens*'in C581 Rif hattı ile "*Phaseolus acutifolius*" da ilk gen aktarım çalışması yapmışlardır. Sonuçta transgenik bitkilerden transgenik tohum elde edilmiştir. *P. acutifolius*'un *P. vulgaris* ile melezlenmesiyle fasulye bitkisine gen aktarımı önerilmiştir.

Gatehouse vd. (1997), GNA lektin genini kullanarak elde ettikleri transgenik patateslerde ekspresyon seviyesini %2 olarak belirlemişlerdir. *Lacania oleracea* (L.) yaptıkları deneylerde *GNA* geni bulunan bitkilerde yapraklardaki zararın %50 azaldığını, böcek popülasyonununun %45-65 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

Kar vd. (1997), nohutta *Heliothis armigera*'ya dayanıklı transgenik bitkiler elde etmek amacıyla CaMV35S promotor ve NOS terminator dizileri tarafından kontrol edilen *cry IAc* geni ve seleksiyon amacıyla *NPTII* genini içeren plasmidler ile bitkilere gen bombardımanı yapmışlardır. Eksplantlar kanamisin içeren ortamda kültüre alınmıştır. 3 hafta 25 µg/ml kanamisin içeren ortamda tutulan sürgünlerden yeşil kalanlar daha sonra

50 µg/ml kanamisin içeren ortama alınmıştır. Kanamisine dayanıklı sürgünlerde moleküler analizler yapılmış, yapılan analizler sonucunda fonksiyonel *cry IAc* geni içeren bitkiler ortaya konmuştur. *CryIAC* geni ekspre olan nohut bitkisinde *Heliothis armigera* larvalarının gelişiminin engellendiği bildirilmiştir. *NPTII* geninin transgenik sürgünlerin seçimi için etkili bir markör olduğu belirtilmiştir.

Cheng vd. (1998), 9 farklı çeltik genotipinde *A. tumefaciens* ile *Chilo suppressalis* ve *Scirpophaga incertulas*'a dayanıklı transgenik bitkiler elde etmişlerdir. Bu amaçla mısır *ubiquitin*, *CaMV35S* ve *Bp10* (polen spesifik) promotorları ve NOS terminatörleri tarafından kontrol edilen *cryIAb* ve *cryIAC* genleri ile iki farklı *Agrobacterium* hattı (LBA4404 ve EHA105) kullanmışlardır. Çeltikte LBA4404 bakteri hattı süpervirulent EHA105 bakteri hattından daha etkili bulunmuştur. 35S promotoru bulunan bitkilerde toplam çözünebilir protein içerisinde toksin miktarı %0.01-0.15 arasında değişim gösterirken bu oran *ubiquitin* promotoru ile elde edilenlerden 10 kat daha düşük bulunmuştur. Polen spesifik Bp10 promotoru bulunan bitkilerde ise yaprak dokularında beklendiği gibi hiç ekspresyon seviyesi görülmemiştir. R<sub>1</sub> transgenik bitkilerinde her iki böcek ile yapılan analizlerde 5 gün içerisinde %97 -100 ölüm oranı belirlemiştir.

Cho vd. (1998), yaptıkları çalışmada *Agrobacterium rhizogenes* ile Çin gevenine (*Astragalus sinicus*) gen aktarımını başarmışlardır. Çalışmada kullanılan pB121 binari vektörünü taşıyan DC-AR2 *A. rhizogenes* ırkı, plazmidinde GUS aktivitesini kodlayan uidA genini içermektedir. Gen aktarımı, mikimopin ve histokimyasal GUS analizi ile belirlenmiştir. *In vitro* da çimlendirilen bitkiciklerin oluşan kökleri, DC-AR2 *A. rhizogenes* ırkı ile inoküle edilmiştir. Enfeksiyondan 15 gün sonra test edilen köklerin %46'sı GUS pozitif bulunmuştur. Daha sonra GUS aktivitesi gösterenler Southern Blot analizi ile teyit edilmiştir.

Dattla vd. (1998), çeltikte değişik promotorların *cryIAb* geni ekspresyon seviyesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla 35SCaMV ve Actin -1 ile doku spesifik PEPC (pepcoxylase) promotor kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre 35S promotoru Actin-1'den daha etkili bulunmuştur. PEPC promotoru kullanılarak elde edilen bitkilerde *cryIAb* proteini seviyesi konstitütif promotorlarla karşılaştırıldığında

oldukça etkili bulunmuştur. Fakat pith promotörü ile elde edilen bitkilerde saptaki *cryIAb* proteini seviyesinin düşük bulunduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen 800 bitkiden 81 tanesinin *Scirpophaga incertulas* larvalarına karşı etkili olduğunu belirlemişlerdir.

Christov vd. (1999), tütünde yaptıkları çalışmalarda yeşil doku spesifik (*rbcS*) promotörlerle kontrol edilen yabancı tip ve sentetik *cryIC* (LBA 4404 bakterisi hattı kullanılmış) genleri ile transgenik bitkiler elde etmiş ve bu bitkilerin *Spodoptera litura*'ya dayanıklılığını belirlemişlerdir. Sentetik *cryIC* geni yabancı tipten daha etkili bulunmuştur. Ayrıca elde edilen 23 tek bitkide 3 gün içerisinde % 80-100 arasında ölüm oranı gözlenmiştir. %100 ölüm oranı elde edilen RSC23 bitkisinde yaprakta toplam çözünebilir protein içerisinde *cryIC* oranı % 0.01 bulunmuştur. Kökte hiç *cryIC* proteinine rastlanmazken saptaki protein miktarı yapraktan daha az bulunmuştur.

Yılmazlar (1999), korunga, çayır üçgülü ve İskenderiye üçgülünün kotiledon, hipokotil, kök, gövde ve yaprak eksplantlarını *in vitro* gelişen bitkiciklerden izole ederek A281 ve A136 NC *Agrobacterium tumefaciens* hatlarıyla inoküle etmiştir. İnokülasyondan 6 hafta sonra çayır üçgülü eksplantlarının hiçbirinde tümör oluşumu gözlenmemesine karşı kullanılan korunga ve İskenderiye üçgülü eksplantlarında yüksek oranda tümör oluşumu gözlenmiştir. Her iki bitkide de en yüksek tümör oluşumu A281 hattı ile inoküle edilen hipokotil eksplantlarından elde edilmiştir.

De Maagd vd. (2000), *cryIAb*, *Ac*, *Ba*, *Da*, *E* ve *Fa* genlerinin I. ve II. Domanlerini *cryIc*a geninin III. domaini ile hibritleşmişler ve hibrid ve ebebeyn genlerin pamuk çizgili yaprak kurdu *Spodoptera exigua*'ya karşı etkilerini incelemişlerdir. *CryIc*a-*cryIc*a hibridi dışındaki bütün hibridlerin *S. exigua*'ya karşı toksitesini artmıştır. Ayrıca *cryIc*a-*cryIc*a hibrid geninin domates kurdu (*Manduca sexta*)'ya karşı oldukça toksik olduğunu bulmuşlardır.

Krishnamurthy vd. (2000), tarafından 4 farklı nohut çeşidinin embriyo eksenleri GV 2260 p35GUS-INT ve EHA 101 Pib-GUS *A. tumefaciens* hatlarıyla inoküle edilmişlerdir. *A. tumefaciens* p353S GUS-INT hattı ile inoküle edilen eksplantlar, 0.5 µg/ml BAP ve 100 µg/ml kanamisin içeren MS besin ortamına, EHA101 *A. tumefaciens*

hattı ile inokule edilenler ise 10 µg/ml fosfinotrisin içeren MS ortamına aktarılmıştır. Bu ortamlarda rejenere olan sürgünlerde *GUS* geninin varlığı ispat edilmiştir. Bu antibiyotik ve herbisitlere dayanıklı sürgünlerin beş gün karanlıkta geliştirilen fideler üzerine aşı yapılarak olgunlaşmış bitkiler elde edilmiştir. Gen aktarımı Southern blot analizi ile ispatlanmıştır.

Yan vd. (2000), soya fasulyesinde gen aktarımı frekansı üzerine olgunlaşmamış zigotik kotiledon büyüklüğü, *Agrobacterium* yoğunluğu, ko-kültüvasyon süresi ve seleksiyon rejiminin etkilerini incelemiştir. Bu amaçla, EHA 105 (ST-LS1 intron içeren *GUS* geni ve higromisin fosfotransferaz geni) bakteri hattını kullanmışlardır. Araştırma sonuçlarına göre, 5 mm'den küçük zigotik kotiledonlar ko-kültüvasyondan sonra hemen ölmüştür. Araştırmacılar bakteri yoğunluğu arasında bir farklılık gözlemlememişlerdir. 4 gün ve üzerindeki ko-kültüvasyon süresi kotiledonların canlılık oranını ve embriyogenik potansiyelini azaltmıştır. Direk yüksek dozda (25 µg/ml) seleksiyon ortamı yerine öncelikle düşük dozda (10 µg/ml) sonra yüksek dozda higromisin uygulaması daha etkili bulunmuştur. Bu çalışma sonucunda transformasyon frekansı %0.03 olarak belirlenmiş ve döllerde 3:1 Mendel açılımını gözlenmiştir.

Karakaya ve Özcan (2001), değişik doğrudan gen aktarım teknikleri geliştirilmesine rağmen, *Agrobacterium tumefaciens*'in birçok bitki türüne yabancı genlerin aktarımında tercih edildiğini ve *A. tumefaciens*'in en büyük dezavantajının konukçusunun sınırlı olması olarak bildirmişlerdir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada farklı fasulye çeşitlerinin doğal tip *A. tumefaciens*'in A281 hattına karşı duyarlılıklarını belirlemişlerdir. 4F-2409, Karacaşehir-90, Akman-98 ve Eskişehir- 855 çeşitleri test edilen diğer çeşitlere oranla daha yüksek oranda ur oluşumu, Afyon-3, IVD-10, Göynük-98, Yunus-90 ve Şehirali-90 çeşitlerinde ise hiç ur oluşumu gözlenmediklerini bildirmişlerdir. Bitkilerin hipokotil ve epikotil kısımlarında ur oluşumu tespit edilmiştir.

Naimov vd. (2001), *CryI* delta endotoksinlerinin genellikle Lepidopterler üzerinde etki olduğunu bildirmişlerdir. Ancak *cryIIa* ve *cryIIa*'nın düşük düzeylerde de olsa *Leptinotarsa decemlineata* gibi Coleopterler üzerinde etkili olduğunu ve bunların domainleri arasında yapılacak hibritlemelerle elde edilen yeni genlerde Coleopterlere

karşı daha fazla dayanıklılık elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Bu amaçla yaptıkları hibritler sonucunda elde edilen 3 yeni gen *SNI5(Ia/Ia/Ba)*, *SNI6 (Ba/Ba/Ia)* ve *SNI9 (Ba/Ia/Ba)* *L. decemlineata* karşı *cryIIa* ve *cryIIa*'dan daha toksik bulunmuştur. *SNI9* geni *cryIIa*'dan 7 defa, *cryIIa*'dan 21 defa daha toksik bulunmuştur ve bu genin Coleoptera ile mücadelede *cry3A*'ya alternatif olabileceği bildirilmiştir.

Yamada vd. (2001), *Vigna angularis*'te *A. tumefaciens* aracılığı ile etkili bir gen aktarım yöntemi geliştirmeye çalışmışlardır. Bu amaçla LBA4404, AGL1 ve EHA 105 bakteri hatları ile iki farklı binary vektör pIG121 (CaMV35S/*GUS* ve NOS/*NPTII*), pSG65T (CaMV35S/*gfp*) ve asetosrington ile BAP kullanmışlardır. Eksplantlar 2 gün ko-kültürasyon ortamında tutulmuştur. Araştırma sonuçlarına göre, AGL1 ve EHA 105 bakteri hatlarını LBA4404 bakteri hattından daha etkili bulmuşlardır. Transgenik aday bitkilerin seçimini 100 µg/ml kanamisin içeren seleksiyon ve köklendirme ortamında gerçekleştirmişler. Ko-kültürasyon ortamına AS ve BAP ilavesinin transformasyon frekansını artırdığını ve frekansın %2 olduğunu belirlemişler ve T<sub>1</sub> bitkilerinde 3:1 Mendel tek gen kalıtımı gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Cho and Widholm (2002), yaptıkları çalışmada *Agrobacterium rhizogenes* ile gen aktarılmış *Astragalus sinicus*'un saçak köklerinden sürgün rejenerasyon protokolu geliştirmişlerdir. pB121 binari vektörünü taşıyan DC-AR2 *A. rhizogenes* ırkı ile transforme edilen hipokotil uçlarından gelişen saçak köklerden 7.5-10 µg/ml 2,4-D içeren MS besin ortamında somatik embriyolar gelişmiştir.

Ağdağ (2003), bu çalışmada korunga bitkisinin hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak sapı eksplantları *in vitro* gelişen bitkiciklerden izole edilerek EHA 105, GV2260 ve LBA4404 *A. tumefaciens* hatları ile değişik inokülasyon metotları kullanarak inoküle etmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, korungada gen aktarımında GV2260 ve EHA 105 bakteri hatlarının LBA4404 bakteri hatlarından daha etkin çalıştığı gözlemlenmiştir.

Akbulut (2003), nohut bitkisinde farklı eksplantları (kotiledon boğum ve embriyo eksen) ve farklı hormonları (BAP, TDZ) kullanarak güvenilir ve tekrarlanabilir bir rejenerasyon ve transformasyon sistemi geliştirilmiştir. En fazla 3.7 adet sürgün 3 µg/ml

BAP içeren MS ortamında elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler 0.1 µg/ml IBA içeren besin ortamında köklendirilmiştir. *A. tumefaciens* hatları (KYRT1, C58C1, EHA105) ile transformasyon çalışmalarda en fazla geçici GUS aktivitesi PTJK136 taşıyan KYRT1 hatıyla 24 saat inkubasyon yapılmış eksplantlarda görülmüştür.

Frick vd. (2004), *Agrobacterium tumefaciens* aracılığı ve antisens yöntemile *Papaver somniferum* bitkisinde alkaloit biyosentezi üzerine araştırmalar yapmışlardır. Çalışmada geliştirdikleri kalluslardan somatik embriyolar oluşturup embriyolardan köklü bitkiler elde etmişler. Son aşamada bitkileri toprağa aktarmış ve fenotip olarak 49 adet normal bitkiden tohum alınmıştır. Tohumlardan gelişen T<sub>1</sub> bitkilerden 1 transgen bitki elde edilmiştir ve elde edilen bitkilerde yabani akrabalara göre değişik tip alkaloitler bulunmuştur. Bu çalışmada doku kültürü ve gen aktarımı yoluyla alkaloit üretimi dünyada yapılan ilk çalışma olarak bildirilmişlerdir.

Havas vd. (2004), fasulye bitkisine glufosanate ammonium'a dayanıklılık genlerini *A. tumefaciens* yoluyla çiçek saplarına aşlamışlardır. Çalışma sonucunda gelişen baklaların birinci ve ikinci tohumlarında transformasyon gözlenmiştir ve PCR ile tespit edilmiştir.

Barik vd. (2005), *Lathyrus sativus* bitkisinde *A. tumefaciens* ile gen aktarımını etkileyen faktörleri (eksplant tipi, büyüme devresi, hücre yoğunluğu, inokulasyon zamanı, ko-kültivasyon zamanı, bakteri hattı ve ön inkübasyon) araştırmışlardır. Bu amaçla p35S GUS-INT binary vektörünü içeren LBA4404 ve EHA 105 bakteri hatlarını kullanmışlardır. En yüksek transformasyon frekansını 4 gün ön inkübasyona süresi, 10 dk 10<sup>9</sup> hücre/ml bakteri yoğunluğu ile inokülasyon, 4 gün ko-kültivasyon süresinden elde etmişlerdir. Bakteri hatları arasında transformasyon etkinliği bakımından bir farklılık bulamamışlardır. Transgenik bitkilerin seleksiyonu için en uygun kanamisin dozunu 100 µg/ml, bakteri eliminasyonu için ise en uygun antibiyotik dozunu ise 500 µg/ml sefotaksim olarak belirlemişlerdir. T<sub>1</sub> bitkilerinde 3:1 Mendel açılımı saptamışlardır.

Chen vd. (2005), çeltiğe *cry2A* genini *Agrobacterium* aracılığıyla aktarmışlardır. Yapılan PCR analizinde 102 adet tek bitkiden 71 tanesinin *cry2A* genini içerdiğini belirlemişler. Transgenik bitkilerde *Cry2A* protein miktarı 9.65 - 12.11 ug/g arasında değişim göstermiştir. Transgenik bitkilerin Lepidoptera takımına ait çeltik zararlılarına karşı önemli ölçüde koruma sağladığını gözlemişlerdir

Kumar ve Rajam (2005), poliamin varlığının vir genleri ve T-DNA transferi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla diamin putrescine (PUT) ve triamin spermidine (SPD) kullanmışlardır. Bakteriler inokulasyondan iki saat önce SPD ve PUT ile inkübe edilmiştir. Bakteri olarak GV2260 bakteri hattı kullanılmıştır. 100 µg/ml kanamisin içeren ortamda 7 gün süreyle kültüre alınan eksplantlarda histokimyasal *GUS* analizi yapılmıştır. Kontrol bitkilerinde *GUS* pozitif bitki oranı %70 bulunurken 1 mM PUT ile muamele edilenlerde %89.5, 1 mM SPD ile muamele edilenlerde ise %94 bulunmuştur. SPD'nin PUT'tan daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Mutasim vd. (2005), *A. tumefaciens* aracılığıyla Adzuki fasulyesine [*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi & Ohashi] higromisin fosfotransferaz (*hpt*), yeşil floresan protein (*sgfp*) ve posfonitrisin asetiltransferaz (*bar*) genlerini akatararak transgenik bitkiler elde etmişlerdir. Çalışmada *A. tumefaciens*'in pZHBG içeren EHA105 hattı ve 210 adet epikotil eksplantı kullanılmıştır. Kokültivasyon ortamına 100 mM asetosringon ve 10 µg/ml of BA ilave edilmiştir. 15 µg/ml higromisin içeren ortamdan seçilen sürgünler köklenme ortamına aktarılmıştır. Tespit edilen 31 adet transgenik bitki toplam bitki sayısının %14'dür. Transgenik bitkiler PCR ve southern blot analizleri ile tespit edilmiştir. RT-PCR ( reverse transcription polymerase chain reaction) analizi ile de *bar* ve *hpt* genleri tespit edilmiştir. Ayrıca, *sgfp*- pozitif transgenik bitkilerinde de *bar* geni tespit edilmiştir.

Sağlam vd. (2005a), fasulyenin Aras ve Eskişehir-855 çeşitleri laboratuvar koşullarında çimlendirmişler ve dört yapraklı döneme geldiklerinde gövdelerini *A. tumefaciens*'in onkogenik A281 hattı ve nononkogenik GV2260, EHA105 hatları ile aşlamışlardır. Aşılama sonucunda *A. tumefaciens*'in A281 hattı ile muamele edilmiş Aras ve Eskişehir-855 çeşitlerinde tümörler görülmüştür. Kökler üzerinde herhangi bir olumsuz



etkisine rastlanmamış ve köklerin normal gelişimine devam ettiği görülmüştür. Aynı şekilde her iki çeşidin *A. tumefaciens*'in non-onkogenik GV2260 ve EHA105 hatları ile aşılması sonucunda bitkilerin yapraklarında mozaiklik ve sararma görülmüştür. Bunlar GUS testine tabi tutulmuş fakat GUS pozitif sonuçlar elde edilememiştir. Bitkiler dört yapraklı aşamada iken *A. rhizogenes*'in 15834 hattı ile de aşılma ve bitkilerin gövdelerinde kökler görülmüştür. Bakteri aşılama kontrol bitkilerinde köklenme görülmemiştir. *A. tumefaciens*'in onkogenik hatları ile bitkilerde tümör ve kök oluşumu *in planta* koşullarda gen aktarılabileceğini göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları fasulye bitkisinde genetik mühendisliği için gerekli alt yapıyı oluşturmaktadır. Onkogenik ve işaret genlerinin aktarılması sırasında kullanılan yöntemlerde tarımsal ilaçlara, soğuğa, hastalık ve zararlılara dayanıklılık genlerinin fasulye bitkisine aktarılması yolunda da izlenebilecektir.

Sağlam (2005b), fasulyenin (*Phaseolus vulgaris* L.) Aras, Eskişehir - 855 ve Şehirali-90 çeşitlerinin rejenerasyon, köklendirme, *in planta* ve *in vitro* koşullarda *Agrobacterium*'un *A. tumefaciens* ve *A. rhizogenes*'in değişik hatlarını kullanarak gen aktarımı kabiliyetini incelemiştir. Adventif sürgün rejenerasyonu amacıyla apikal meristem, petiol, kotiledon boğum ve hipokotil eksplantları 2,4-D ve kinetin içeren MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Petiol ve hipokotilden hiç sürgün rejenerasyonu gözlenmezken, apikal meristem ve kotiledon boğum eksplantlarından az sayıda sürgün gözlenmiştir. Sürgün gelişimini hızlandırmak amacıyla 0.1 µg/ml GA<sub>3</sub> içeren MS ortamına alt kültüre alınmış, ancak bunlardan gelişmeler kaydedilmemiştir. Sürgün rejenerasyonu için olgunlaşmamış embriyolar 0.05 - 0.15 µg/ml TDZ ve 0.25 µg/ml NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Köklenme sağlamak için, rejenerasyon olan sürgünler 0.00, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 µg/ml IBA içeren MS besin ortamına aktarılmıştır. IBA oranının artışına paralel olarak köklenmenin arttığı gözlenmiştir. *A. tumefaciens*'in A281 hattı ile çalışma sonucunda incelenen çeşitler gen aktarımına uygun görülmüştür. Ancak onkogenik olmayan hatlarla yapılan çalışmalarda bitkilerin kanamisinmonosülfata dayanıklı olduğu halde GUS pozitif olmadığı tespit edilmiştir.

Sanyal vd. (2005), nohutta *cryIac* genini kullanarak *A. tumefaciens* ile böceklere dayanıklı transgenik bitkiler elde etmeye çalışmışlardır. Transformasyon frekansını

%1.12 olarak belirlemişler. T<sub>0</sub> ve T<sub>1</sub> bitkilerinde *CryIAc* protein miktarı 14.5-23.5 ng/mg olarak belirlemişler. 10 ng/mg'dan daha yüksek ekspresyon seviyelerinde *Helicoverpa armigera*'ya karşı yüksek oranlarda koruma sağlamışlardır.

Zaidi vd. (2005), tütünde ST-LS1 (sap ve yaprak spesifik) promotorunun *cry2Aa2* geninin değişik dokulardaki ekspresyon seviyesi ile *Heliothis virescens* larvalarına karşı etkisini araştırmışlardır. Toplamda 30 adet kanamisine dayanıklı bitki elde etmişler, bunun 27 tanesinin PCR sonuçları pozitif bulunmuştur. Southern hibridizasyonu sonucunda 2AST(A), 2AST(E), 2AST(F) ve 2AST(G) bitkilerinde sırasıyla *cry2Aa2* geni kopya sayısı 7, 2, 4, ve 1 olarak gözlenmiştir. Protein analizleri sonucunda yaprakta toplam çözünebilir protein içindeki toksin miktarını sırasıyla % 0.16, 0.21, 0.12 ve 0.03 iken, sapta sırasıyla %0.01, 0.012, 0.009 ve 0.004 olarak belirlemişlerdir. Bioassay sonuçlarında ise, yaprakla beslenen larvalarda ölüm oranı % 100, sapla beslenenlerde sırasıyla %41, 44, 35 ve 22, kökte ise %1-5 olmuştur. Yeşil dokularda belirlenen bu değişik protein oranlarının, bitkiye zarar veren böceklerin devamlı toksine maruz kalma durumunda kazanacakları dayanıklılığa karşı engel oluşturabileceği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Dita vd. (2006), baklagil bitkilerinin birkaç zararlıya karşı hassas olduğunu, verimde büyük kayıplara yol açtıklarını ve bundan dolayı zararlılara dayanıklılığı başarmada, amilaz inhibitör genleri, proteaz inhibitör genleri, *Cry* genleri ve lektin genlerinin baklagillere transfer edilecek genler olduğunu bildirmişlerdir.

Estrada-Navarrete vd. (2006), fasulye bitkisi ve onun yabani akrabalarından olan '*coccineus*, *P. lunatus* ve *P. acutifolius*'da gen aktarımı çalışmaları yapmışlar ve %75-90 arasında transformasyon görmüşlerdir. Marker gen olarak 35S promotor, yeşil floresans protein ve P-glukuronidaz kullanmışlardır. *Rhizobium* ile muamele sonucunda transgenik ve normal bitkilerin köklerinde meydana gelen azot fiksasyon oranında değişiklik görülmediği bildirmişlerdir.

Naimov vd. (2006), patatesten SN19 hibrid geninin ekspresyon seviyelerini ölçmüşlerdir. SN19 *cryIbA*'nın I. ve III. domainlerini ve *cryIIa*'nın II. domainini içeren hibrit bir

gendir. SN19 hibrid geni ve *NPTII* genini içeren AglO bakteri hattı ile yapılan gen aktarımı sonucunda 14 adet transgenik patates bitkisi elde etmişler ve yapılan analizler sonucunda bu bitkilerde SN19 ekspresyon seviyesinin % 0.06 - % 0.15 arasında değişim gösterdiği bulunmuştur. Böylelikle önemli patates zararlıları ile etkin bir mücadele yapılabileceğini belirtmişlerdir.

Dang ve Wei (2007), soya fasulyesinde sürgün uçlarını 1 gün süreyle KRYT1 (yardımcı plasmidinde *cryIac*, *pta*, BAR genleri bulunan) *Agrobacterium* hattı ile inoküle ettikten sonra 5 gün süreyle 22 °C'de pH'sı 5.4 olan ko-kültivasyon ortamında bırakmışlardır. Transformasyon fekansını %4.29 - %18 arasında belirlemişler ve T<sub>1</sub> bitkilerinin bir kısmının *Helicoverpa armigeraya* karşı dayanıklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Facchini vd. (2008), herbisitlere dayanıklı haşhaş üretimi için güvenilir bir gen aktarımı ve somatik embriyogenezis protokolü geliştirmişler. Gen aktarımı için pCAMBIA3301 vektörünü içeren bakteri kullanılarak regenerasyon yapılmış. ko-kültivasyon aşamasında 50µM ATP ve 50µM MgCl<sub>2</sub> içeren MS ortamında kök eksplantlarını kallus gelişimi için kullanmışlar. 2-4.D ve BA içeren MS ortamlarına aktarılan kök eksplantlarından herbisitlere dayanıklı kallus geliştirilmiştir. Bu kalluslardan elde edilen sürgünleri köklendirerek toprağa aktarıp ve tohum elde etmişler ve T<sub>1</sub> bitkilerin büyük kısmı gen aktarımı açısından pozitif çıkmıştır.

Singh vd. (2009), transgenik nohut bitkileri elde etmek amacıyla *GUS* ve *PPT* geni taşıyan pCGP125 ve değişik *Agrobacterium* hatları kullanılmıştır. Kokültivasyondan sonra 2 mm'lik sürgün uçları 2 µg/ml sıvı PPT ortamıyla ıslanıp PPT olamayan ortama aktarılmıştır. Daha sonra elde edilen sürgünler 10 µg/ml PPT içeren besin ortamına kültüre alınmıştır. Canlı kalan sürgünler her iki hafta sonra 20 µg/ml PPT içeren ortamda alt kültüre alınmıştır. Her kültürden sonra canlı kalan bitki sayısı azalmıştır. Çalışma sonucunda % 1.22 - 3.33 arasında transformasyon gerçekleştirilmiştir.

Akçay vd. (2009), transgenik mercimek bitkisi elde etmek amacıyla kotiledon boğum eksplantlarını *NPT* ve *GUS* geni taşıyan (pTJK136) *Agrobacterium tumefaciens*'in

KYRT1 hattı ile inoküle etmişlerdir. Elde edilen transgenik sürgünler mercimeğin rootstok üzerinde mikro aşılama yapılmıştır. PCR, RT-PCR ve Southern hibridizasyonu ile bitkilerin transgenik olduğu doğrulanmıştır. T<sub>0</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> ve T<sub>3</sub> bitkilerinde GUS varlığı PCR analizi ile doğrulanmıştır

Nirala (2010), asmanın fungusitlere karşı dayanıklılık potansiyelini artırmak amacıyla pirinçde bulunan Kitinaz genini mısırın ubiquitin promoter yardımıyla asmanın yaprak disklerinde bulunan somatic embriyo eksplantlarına *Agrobacterium tumefaciens*' aracılığıyla aktarmıştır. Eksplantları ko- kültürasyondan sonra WPM (BAP 1.5 ve NAA 0.1 ve 25µg/ml hygromycin) seleksyon ortamına alınmıştır ve Bitkiciklerde PCR, RT-PCR ve southern blot ve western blot analizi yapılmıştır. Transgenik bitkiler Seraya aktarılmış ve bitkilerde fenotip değişiklikle beraber hastalıklara dayanıklılık teyit edilmiştir.

Yadav (2010), ilk kez susam (*Sesamum indicum*) bitkisinin kotildon eksplantını kullanılarak *Agrobacterium tumefaciens* (binary vector taşıyan pCAMBIA2301 *NPTII*, *GUS* ve *uidA* geni içeren) aracılığıyla gen aktarımı yapmıştır. 25.0 µM BA, 25.0 µg/ml kanamycin ve 400.0 µg/ml cefotaxime içeren MS ortamından elde edilen yeşil sürgünleri 2.0 µM IBA ve 5.0 µg/ml kanamycin içeren MS ortamda köklendirmiş. Bitkicikler toprağa aktarılıp tohum alınmıştır. T<sub>0</sub> bitkileri GUS, PCR Southern blot analiz yöntemi ile teyit etmiştir.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Bitki materyali**

Bitki materyali olarak kullanılan Kubilay 82, Selçuk 99 ve Cumhuriyet 99 yaygın fiğ çeşitlerine ait tohumlar T.C. Ceylanpınar Tarım İşletmesi, Müdürlüğü, Şanlıurfa'dan ve Karaelçi çeşidi ise T.C. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölüm'ünden temin edilmiştir.

Cumhuriyet 99 ve Selçuk 99, Ege Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü tarafından 1999 yılında ve Kubilay 82 Ege Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü tarafından 1982 yılında tescil edilmiştir. Karaelçi çeşidi ise Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, emekli Prof. Dr. Şehabettin Elçi tarafından 1969' de tescil ettirilmiştir.

##### **3.1.2 Besin ortamı, bitki büyüme düzenleyiciler ve kültür koşulları**

Denemelerde 30 g/l sukroz ve 6.5 g/l agar (Duchefa) ile katılaştırılan MS ortamı (Murashige and Skoog 1962) kullanılmıştır. Ortamların hazırlığında bidistile su kullanılmış olup, MS ortamına denemeler ihtiyaçlarına göre farklı konsantrasyonlar ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri (BAP, NAA, KNA ve IBA) ilave edilmiştir. Bir çalışmada priming yapılmıştır. Ortamların hazırlığında bidistile su kullanılmış olup, 100 µg/ml BAP, 100 µg/ml GA<sub>3</sub> ve 200 µg/ml SA ile 100 µg/ml BAP + 100 µg/ml GA<sub>3</sub> ile muamele ettikten sonra eksplantları farklı oranlarda BAP NAA, KNA ve IBA içeren MS ortamına kültüre alınmıştır. Tüm denemelerde besin ortamlarının pH'sı 1 M NaOH ya da 1 M HCl kullanılarak 5.7 ± 0.1'e ayarlanmıştır. Otoklav 104 kPa basınç altında 121°C'de 20 dk tutularak steril edilmiştir.

Büyüme düzenleyicilerin stok solüsyonları üretici firmanın tarafından tarif edildiği gibi (Çizelge 3.1) gerekli çözücülerle çözüldükten sonra saf su ile istenen miktarlarda ve oranlarda hazırlanmış olup, 4°C de saklanmıştır.

Çizelge 3.1 Kullanılan büyüme düzenleyicileri, çözücüler ve saklama koşulları

Büyüme Düzenleyicileri	Çözücü	Stok miktarları	Saklama Koşulları (°C)	Kaynak
<b>Sitokininler</b>				
BAP	1 M NaOH	1 µg/ml	+4	Sigma Aldrich St Lo Mo
<b>Oksinler</b>				
IBA	1 M NaOH	1 µg/ml	+4	Sigma Aldrich St Lo Mo
NAA	1 M NaOH	1 µg/ml	+4	Sigma Aldrich St Lo Mo
KNA	su		+4	Sigma Aldrich St Lo Mo
<b>Priming</b>				
BAP	1 M NaOH	100 µg/ml	+4	Sigma Aldrich St Lo Mo
GA <sub>3</sub>	1 M NaOH	100 µg/ml	+4	Sigma Aldrich St Lo Mo
SA	Su	200 µg/ml	+4	Sigma Aldrich St Lo Mo

Tüm kültürler beyaz floresan ışığında 16 saat ışık fotoperiyodunda 24±1°C’de tutulmuştur. Sterilizasyon ve tüm doku kültürü işlemleri steril kabin içinde yapılmıştır. Her muamele içerisinde 5 adet eksplantın bulunduğu 4 tekerrürlü petri kutuları (100 × 10 mm) ya da kültür kaplar (120 × 80 mm) kullanılmıştır. Ortamların, kültür kaplarının ve saf suyun sterilizasyonunda 104 kPa basınç, 121°C sıcaklıkta 20 dk ayarlı Hirayama markalı Japonya’da üretilmiş otoklav kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan cam petri kutuları 160°C’de 2 saat etüv içerisinde steril edilmiştir. Çalışma ihtiyaçlarına göre bazen tek kullanımlı steril polystyrene petri kutuları (100 x 10 mm) da kullanılmıştır.

### 3.1.3 Tohumların *in vitro* koşullarda sterilizasyonu

Doktora tez kapsamında kullanılan yaygın fiğ çeşitlerinin (Kubilay 82, Selçuk 99, Cumhuriyet 99 ve Karaelçi) tohumları sterilizasyondan önce itina ile seçilmiştir. Çalışmada kullanılmak üzere zedelenmiş, çürük veya hasta tohumları seçilmemiştir. Her dört yaygın fiğ çeşidinin tohumları yüzey sterilizasyonu amacıyla ticari çamaşır suyunun (Ace) 6 farklı dozlarda %10, 20, 40, 60, 80 ve 100 tohumlara oda sıcaklığında (24±1°C) her biri 3 farklı sürede (10, 15 ve 20 dk.) uygulanmıştır. Yüzey sterilizasyonundan sonra tohumlar steril saf su ile 5×3 dk durulanmıştır. Steril edilen

tohumları yine steril petri kapları içerisinde % 3 sukroz içeren ve % 0.65 agar ile katılaştırılan MS besin ortamında  $24\pm 2$  °C'de 16 saat ışık fotoperiyodunda çimlendirilmiştir.

### 3.1.4 Tohum canlılık testi

Bitki tohumlarının canlılık tespiti için Anonim (1999)'un önerdiği 2,3,5 trifeniltetrazolium klorit (TTC) yöntemi kullanılmaktadır. Bu çalışmada yaygın fiğ Cumhuriyet çeşidinde tohumları kabuklarını çıkartılmış 24 saat su içinde ve oda sıcaklığında ( $24\pm 1$ °C) bekletikten sonra tohum canlılığı tespit için aşağıda verilmiş uygulamalar yapılmıştır.

- 1) Tohumların kabukları çıkartılıp direkt  $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$  oranda hazırlanmış trifeniltetrazolium klorit solüsyonu içine konularak 24 saat sonra tohumların canlılık kontrol edilmiştir.
- 2) Tohumları NaOCl %10 oranında 10 dk steril ettikten sonra  $3\times 5$  dk durulama yapıp,  $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$  oranda hazırlanmış trifeniltetrazolium klorit solüsyonu içine daldırarak 24 saat sonra tohumların canlılık kontrol edilmiştir.
- 3) Tohumları %20  $\text{H}_2\text{O}_2$  süre 10 dk steril ettikten sonra  $3\times 5$  dk durulama yapıp,  $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$  oranda hazırlanmış trifeniltetrazolium klorit solüsyonu içine daldırarak 24 saat sonra tohumların canlılık kontrol edilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Cumhuriyet çeşidinin steril edilmiş tohumların  $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$  oranda hazırlanmış trifeniltetrazolium klorit solüsyonu ile 24 saat sonra canlı tohumların fiziksel olarak belirlenmesi

### 3.1.5 Rejenerasyon için kullanılan eksplanlatlar

Steril edilen tohumlardan elde edilen 7 - 10 günlük bitkiciklerin hipokotil, epikotil, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolar, kotiledon, kotiledon boğum, abaksial kotiledon ve adaksial kotiledon eksplantları, kabukları uzaklaştırılmış olgunlaşmış iki kotiledon ile birlikte embriyo eksplantları kullanılmıştır.

### 3.1.6 *İn vitro* koşullarında sürgünlerin köklendirilmesi

*In vitro* koşullarda gelişen yaygın fiğ sürgünleri 5-10 cm uzunluğa geldiklerinde kesilerek steril Magenta® kutuları içinde 0.75 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren MS ortamda köklendirilmiştir. *npt II* geni taşıyan transgenik aday bitkilerin köklendirilmesinde ise ortama ilave olarak 50 µg/ml kanamisin monosülfat ve bakteriyostatik 500 µg/ml Duocid eklenmiştir. *Bar* geni taşıyan transgenik aday bitkilerin köklendirilmesinde ise ortama ilave olarak 1.5 µg/ml Fosfinotricin ve bakteriyostatik 500 µg/ml Duocid eklenmiştir.

### 3.1.7 Köklenmiş bitkilerin dış şartlara alıştırılması

Doku kültürü ile elde edilmiş ve transgenik aday köklenmiş bitkilerin dış şartlara alıştırılması amacıyla şeffaf poşet ile kapatılmış olup, torf içeren 2 litrelik saksılarda iklim odasında bırakılmıştır. İklim odasında sıcaklık 24 ± 2 °C, 3000 lüks ışık 16 saat ışık fotoperiyodu ve %80 nesbi nem içeren ortam sağlanmıştır. Yaklaşık 1 hafta sonra çevrilmiş, kapatılmış poşetler yavaş yavaş açılmış olup, nem seviyesi %40'a indirilmiştir. Yaklaşık 3 hafta sonra, adaptasyon sağlanmış bitkiler gölgelik yerde olup, çiçekler, baklalar ve tohum elde etmek amacıyla bırakılmıştır.



## 3.2 Gen Aktarım Çalışmaları

### 3.2.1 Bakteri materyali

İlk aşamada gen aktarımı denemelerinde bakteri materyali olarak onkogenik olmayan EHA105::p35 *GUS INT*, LBA4404 p*RGGbar*, onkogenik olan A136 NC, A281::p35 *GUS INT* ve yarım onkogenik *A. rhizogenes*'nin 15834 hatları gen aktarım çalışmalarında kullanılmıştır.

İkinci aşamada *A. tumefaciens*'nin *npt II* ve *gus* geni taşıyan GV2260 *GUS INT*, *CryIAc* ve *bar* geni taşıyan LBA4404 p*TF101 AopR1 CryIAc bar*, *gus* ve *cryIAc* geni taşıyan LBA 4404 *Cry2A*, *npt II* geni taşıyan GNA ve *CryIAc* ve *bar* geni taşıyan C58C1 pGreen *AopR1 CryIAc bar* ile C58C1 pGreen 35S *CryIAc bar* hatları gen aktarım çalışmalarında kullanılmıştır.

Çalışmamızda onkogenik *Agrobacterium* hattıyla çizelge 3.2'de verilen *A. tumefaciens* ve *A. rhizogenes* bakteri hatları kullanılmıştır.

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan *Agrobacterium tumefaciens* ve *A. rhizogenes* hatları ve özellikleri

Bakteri hattı	Onkogenik/ Onkogenik olmayan tipi	Yardımcı Plazmid	Bakteri seleksiyon için kullanılmış Antibiyotikler	İkili Vektör	Bitki seleksiyon için kullanılmış Antibiyotikler	Bitki seleksiyon için kullanılmış kimyasallar
EHA 105	Onkogenik olmayan	pTiBo542	(50 µg/ml rifampisin)	p35SGUSIT (50µg/ml km)	km (50-250 µg/ml)	
LBA4404	Onkogenik olmayan	pAL 4404	(50 µg/ml rifampisin)	pRGGbar 25µg/ml km	-	fos(0.5-1.5 µg/ml)
A136 NC	Onkogenik				-	
A281	Onkogenik	P35GUSINT ;:pTiBo542	(50 µg/ml rifampisin)	pBI121.1(25µg/ml km)	-	fos(0.5-1.5 µg/ml)
15834	Yarım onkogenik	pRI 15834	(50 µg/ml rifampisin)	pRGGbar#2 (25 µg/ml km)	hyg (20-50 µg/ml)	-
GV2260	Onkogenik olmayan	P35GUSINT:: pGV2260 100µg/ml rif	(50 µg/ml rifampisin)	p35SGUSIT (50 mg/ L km)	km (50-250 µg/ml)	-
LBA4404	Onkogenik olmayan	pTF101	(50 µg/ml rifampisin)	<i>CryIac</i>	-	fos(0.5-1.5 µg/ml)
LBA4404	Onkogenik olmayan	Cry 2A	(50 µg/ml rifampisin)	<i>Cry2A</i>	-	fos(0.5-1.5 µg/ml)
LBA4404	Onkogenik olmayan	GNA	(50 µg/ml rifampisin)	-	km (50-250 µg/ml)	-
C58C1	Onkogenik olmayan	pGreen AopR1	-	<i>CryIac</i>	-	fos(0.5-1.5 µg/ml)
C58C1	Onkogenik olmayan	pGreen 35S	-	<i>CryIac</i>	-	fos(0.5-1.5 µg/ml)

### 3.2.2 Bakteri kültürlerinin saflaştırılması ve büyütülmesi

Sıvı bakteri kültürlerinin çoğaltılmasına, NA besin ortamında büyütülmüş olan bireysel kolonilerden başlanmış, tek koloniler steril lup ile alındıktan sonra gerekli antibiyotikleri içeren NB (Sigma-aldrich Chemical Co St Lo, Mo) bakteri büyütme ortamına konulmuştur. Daha sonra bakteri kültürleri çalkalamalı inkübatörde 28°C'lik sıcaklıkta 1 ya da 2 gün süreyle büyütülmüştür. Bu kültürler daha sonra gen aktarımında kullanılmıştır. Yeniden bireysel koloniler elde edebilmek için çok az miktarda bakteri kültürü agarlı besin ortamı üzerine steril bir lupla yayılmış, bu kültürleri içeren petri kutuları ters çevrilerek 28°C'de inkübe edilmiştir. 2 gün içinde kolonilerin oluştuğu gözlenmiştir. Herhangi bir bulaşmayı önlemek için bütün bakteriyel çalışmalar laminar flow kabin içerisinde yapılmıştır.

### 3.2.3 Antibiyotikler

Bakteri büyüme ortamlarına ilave edilmeden önce her antibiyotik mikro filtreler (0.22 $\mu$ ) kullanılarak steril edilmiş ve otoklavdan çıktıktan sonra ısısı 40 - 45°C'ye düşmüş olan ortamlara ilave edilmiştir. Bu amaçla kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları Çizelge 3.3 ve 3.4'de verilmiştir. GV2260 p35GUS-INT, proteinaz inhibitör ve GNA lektin genlerini taşıyan LBA4404 bakteri hatları büyütülürken ortama 50  $\mu$ g/ml rifamisin, 50  $\mu$ g/ml kanamisin monosülfat eklenmiştir. *Cry2A* genlerini içeren LBA4404 bakteri hatları büyütülürken 50  $\mu$ g/ml kanamisin monosülfat ve *CryIAC* büyütülürken ise ortama 50  $\mu$ g/ml rifamisin ve 300  $\mu$ g/ml streptomycin ve 100  $\mu$ g/ml spectinomycin eklenmiştir. Rifamisin metanol, kanamisin monosülfat, streptomycin ve spectinomycin ise su ile çözüldükten ve filtre sterilizasyonundan sonra stok çözeltiler - 20 °C'de muhafaza edilmiştir.

Yöntemde her çeşide ait embriyo eksplantlarını tüm bakteri hatlarıyla maumele ederken OD<sub>600</sub>'da 1, 1.25, 1.5, 2, 2.25, 2.5, 3 ve 4 değerinde 35 dk inoküle edilmiştir. OD<sub>600</sub>= 2.25'de sürgün rejenerasyon ve genetik transformasyon açısından en iyi sonuç elde edilmiştir. Dolayısıyla daha sonra yapılan tüm denemelerde bu OD<sub>600</sub> değeri tercih edilmiştir. Ayrıca, *Agrobacterium*'un virulans artırmak amacıyla modifiye ederek Belide vd. (2011)'a takip ederek 5  $\mu$ g/ml asetosiringon ve 37.5  $\mu$ g/ml spermidin de kullanılmıştır.

Asetosiringon yaralanmış bitki dokularından salgılanan, virülens genlerinin transkripsiyonunu etkileyen önemli bir fenolik bileşiktir (Stachel vd. 1985). Yamada vd. (2001) ve Polowick vd. (2004)'e göre asetosiringonun monokotiledon ve dikotiledon bitkilerde *Agrobacterium* ile transformasyon frekansını artırmaktadır.

### 3.2.4 *A. tumefaciens* GV2260 hattıyla gen aktarım çalışmaları

Gen aktarımında hipokotil, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantları kullanılmıştır. Gen aktarımında induksiyon tamponu olarak ½  $\times$  sıvı MS ortamı kullanılmıştır. Ortam pH'sının 5.7'de bakterilerin saldırma gücünün, virülensliğinin arttırabilmesi için (5

$\mu\text{g/ml}$ ) asetosiringon ve ( $37.5 \mu\text{g/ml}$ ) spermidin ortama ilave edilmiştir (değiştirerek Belide vd. 2011).

*A. tumefaciens*'in GV2260 p35S *GUS-INT* hattının yoğunlukları OD<sub>600</sub> değerinde ölçülüp 1, 1.25, 1.5, 2, 2.25, 2.5, 3 ve 4 değerinde konsantrasyonlarında deneyerek optimize edilmiştir. Transformasyonun gerçekleştirilmesinde, embriyo eksplantlarda önce bistüri ile yaralanmış ve vakum infiltrasyon muamele edilmiş eksplantları 35 dk 5  $\mu\text{g/ml}$  asetosiringon ve 37.5  $\mu\text{g/ml}$  spermidin içeren bakteri süspansiyon ile inokülasyon yapılmıştır. İnokülasyondan sonra, ko kültürasyon için de eksplantları 5  $\mu\text{g/ml}$  asetosiringon ve 37.5  $\mu\text{g/ml}$  spermidin içeren MS ortamında 72 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra, bakteri gelişimini önlemek için eksplantlar, steril saf su ile yıkandıktan sonra 500 mg/l Duocid içeren sıvı rejenerasyon ortamında birkaç dk bekletilmiştir. sadece gen aktarılmış eksplantlardan sürgün gelişimini sağlamak için plazmitin taşıdığı *NptII* geninden dolayı 50 mg/l kanamisin monosülfat ve bakteri büyümesini engellemek için 500 mg/l Duocid içeren sürgün ve kök rejenerasyon ortamında eksplantlar kültüre alınmıştır. Daha sonra elde edilen sonuçlar değerlendirilerek, en iyi bakteri yoğunluğu OD<sub>600</sub> değerinde seçilmiştir. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi sonucunda transformasyon için seçilen en uygun eksplant, taşıdığı genlerinin (*gus*, *nptII* ve *CryIAC*, *Cry2A* ve *bar vb*) bitki genomuna entegre olmasına ait GUS, PCR gibi bilgileri elde ederek kontrol edilmiştir.

Çizelge 3.3 Gen aktarımı yapılan dokuların seleksiyonunda kullanılan antibiyotikler, çözücüler ve saklama koşulları

Antibiyotikler	Kullanım oranları ( $\mu\text{g/ml}$ )	Stok konsantrasyonları (mg/ml)	Çözücüler	Saklama koşulları ( $^{\circ}\text{C}$ )
Rifamisin	50	25	Metanol/DMSO	-20
Kanamisin monosülfat	50	50	su	-20
Fosfinotricin	1.5	1	su	-20
Streptomycin	300	100	su	-20
Spectinomycin	100	100	su	-20

Çizelge 3.4 Gen aktarımı yapılan dokuların seleksiyonunda kullanılan antibiyotikler, bakteriyostatik maddeler, seçici maddeler, yardımcı maddeler, çözücüler ve saklama koşulları

Seçici Antibiyotikler	Kullanım oranları (µg/ml)	Stok (mg/ml)	Çözücüler	Saklama koşulları (°C)
Kanamisin monosülfat	50	50	Su	-20
Streptomisin	300	100	Su	-20
<b>*Bakteriyostatik maddeler</b>				
Doucicid	500	100	Su	-20
<b>Seçici maddeler</b>				
Fosfinotrisin	1.5	1	Su	-20
<b>**Yardımcı maddeler</b>				
Salemona Spermidin	37.5	100	Su	-20
Asetosiringon	5	100	Su	-20

\*Ko kültürasyondan sonra *A. tumefaciens*'in gelişimini engellemek için kullanılmıştır

\*\*Ko kültürasyondan önce ve sonra transformasyonuna yardımcı olmak için kullanılmıştır

### 3.2.5 Bakteri kültürlerinin kısa ve uzun süreli korunması

*A. tumefaciens* kültürleri, seçici antibiyotikler içeren 5 - 10 ml NB (Lab-Lemco Powder 1.0 g/l; Yeast extract 2.0 g/l; Pepton 5.0 g/l; Sodyum klorit 5.0 g/l) ortamında bir gece 28°C'de 150 devir/d (rpm)'da inkübatörde büyütülmüştür. Kısa süre için kullanılmak amacıyla NA (Nutrient Agar) içeren ortamda çizilerek 28°C'de büyütülmüştür ve daha sonra elde edilen bakteri kültürleri streç film ile sarılmış, ters çevrilen petri kutularında 4°C'de 6 hafta korunmuştur. Daha uzun süreli muhafaza işlemi için eşit miktarda bakteri kültürü ve %40 gliserol içeren NB, 2 ml'lik kriyogenik tüplerde karıştırıldıktan sonra sıvı azotla hızlı bir şekilde dondurulup, - 85 °C'de muhafaza edilmiştir. Bu yolla bakteri kültürlerinin canlılığını 10 yıl boyunca muhafaza etmek mümkündür (Bhatti 2001).

### 3.2.6 Gen aktarılmış bitkilerin belirlenmesi

Seçici rejenerasyon ortamında gelişen aday transgenik sürgünler, kanamisin monosülfat ve ya gerekir ise fosfinotrisin içeren besin ortamında köklendirildikten sonra saksılara aktarılmıştır. Aday transgenik bitkilerin transgenik olup, olmadıkları yukarıda ayrıca

belirtilmiş gibi aktarılan genlere göre histokimyasal GUS ve PCR analizi ile teyit edilmiştir (Bhatti 2001, değiştirerek).

### **3.2.7 Histokimyasal GUS analizi**

Histokimyasal GUS analizi Jefferson (1987)'in tarif ettiği şekilde yapılmıştır. Bitki dokuları 100 mM sodyum fosfat (pH=7.0), 10 mM EDTA, % 0.1 Triton X - 100 ve 1 mM 5 bromo-4 chloro 3 indolyl glucoronide (X-GLUC) içeren solüsyonda  $38\pm 1$  °C'de gece boyu inkübe edilmiştir. Daha sonra, 3 - 4 gün boyunca dokulardaki klorofil %100'lük alkolda bekletilerek parçalanmış olup, mavi bölge belirlenmiştir.

## **3.3 Polimeraze Zincir Reaksiyonu (PCR)**

### **3.3.1 DNA izolasyonu**

Genomik DNA izolasyonu, taze yaprak dokuları kullanılarak CTAB DNA ekstraksiyon protokolüne göre yapılmıştır (Anonim 2015c). Transgenik adayı bitkilerden alınan yaprak örnekleri - 85 °C'de 15 - 20 dk bekletildikten sonra dondurularak ezilmiştir. Yaprak örneklerinin bulunduğu 1.5 ml'lik her bir tüp içine 50 ul buffer (1M Tris pH=8; 0.5M EDTA; 5M NaCl; ddH<sub>2</sub>O/Easy pure ) eklenerek karıştırılmış ve üzerine 550 µL buffer daha ilave edip, yaprak örneklerinin tam olarak ezilmesi sağlanmıştır. 65°C'de su banyosuna tüpler yerleştirilerek 40 - 60 dk inkübe edilmiştir. 13000 rpm'de 7 dk santrifüj edilmiştir. Üst faz yeni bir tüpe alınarak üzerine eşit hacimde kloroform eklenmiştir. Herhangi bir katı kısmın alınmamasına dikkat edilmiştir. DNA'lar toplandıktan sonra örnekler 15000 rpm'de 13 dk santrifüj edilmiş ve üst faz yeni tüpe alındıktan sonra üzerine 750 µl soğuk isopropanol eklenmiştir. Örnekler 1 saat 20°C'de bekletildikten sonra 30 dk 13000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Sivinin üst tabakası (süpernatant) döküldükten sonra soğuk %70'lik etil alkolden 200 µl eklenmiş ve 5 dk 7000 rpm'de yeniden santrifüj edilmiştir. İçindeki alkol dökülerek DNA peleti iyice kurutulmuş ve 50 µl TE eklenerek çözülmüştür. Elde edilen DNA'lar PCR çalışmalarında kullanılmıştır (Anonim 2015).

### 3.3.2 Primer dizileri

Transgenik bitkileri belirlemek amacıyla *CryIAc* ve *GUS* genleri ile 35S promotör ve NOS terminatör dizileri PCR ile çoğaltılmıştır. çizelge 3.5’de transgenik bitkileri belirlemek amacıyla *CryIAc* ve *GUS* genleri ile 35S promotör ve NOS terminatör bölgelerinin çoğaltımında kullanılan primer dizileri görülmektedir (Bakhsh vd. 2009).

Çizelge 3.5 PCR işleminde kullanılan primer dizileri

Hedef	Baz Dizilişi	Hedef Büyüklüğü
<i>GUS</i> geni	F- CTC GAC GGC CTG TGG GAC TTC R- CTT TCG GCT TGT TGC CCG C	310 bp
<i>CryIAc</i> geni	F: ACAGAAGACCCTTCAATATC R: GTTACCGAGTGAAGATGTAA	693 bp
<i>Cry2A</i> geni	F : AGATTACCCAGTTCCAGAT R : GTTCCCGAAGGACTTTCTAT	693 bp

F: Forward ; R: Reverse

### 3.3.3 PCR reaksiyon koşulları

3 µl DNA,

2.5 µl 10× PCR tamponu,

3 µl MgCl<sub>2</sub> (25 mM),

2 µl dNTP (10mM),

Primer 1, 2 µl,

Primer 2, 2 µl,

0.2 µl Tag DNA polymerase

10.3 µl dH<sub>2</sub>O kullanılarak 25 µl toplam hacimde yapılmıştır. Reaksiyonlar, Biometra T-personal thermocycler aleti kullanarak aşağıdaki döngü koşulları altında reaksiyonu gerçekleştirilmiştir (Bhatti 2001, Aasim 2010, Sağlam 2010 değiştirerek)

### 3.3.4 PCR Programı

#### A. *CryIAC* genler için

95 °C 5dk	}	35 döngüsü
94 °C 30 sec		
58 °C 30 sec		
72 °C 30 sec		
72 °C 7 dk		
4 °C pause		

#### B. *bar* genler için

95 °C 5dk	}	35 döngüsü
94 °C 30 sec		
60 °C 30 sec		
72 °C 30 sec		
72 °C 7 dk		
4°C pause		

#### *GUS* genler için

98 °C 5 dk	}	36 döngüsü
98 °C 5 sec		
55 °C 15 sec		
72 °C 30 sec		
72 °C 3 dakika		

### 3.3.5 Örneklerin agaroz jel elektroforezi

PCR reaksiyonları %1'lik agaroz gel elektroforezi ile ayrılmıştır. Bunun için 1 g agaroz 100 ml 1XTBE (10.8 g/l Trizma - base, 5.5 g/l Borik asit, 4 ml 0.5 M EDTA pH=8) tamponunda mikrodalga fırında çözdürülmüş ve sıcaklığı 50-60°C'ye düştüğünde DNA'nın UV'de görüntülenebilmesi için 5 µl etüdyumbromit eklenmiştir. Elektroforez işlemi 80 Voltta 1 saatte gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işlemi sonlandırıldıktan sonra jel UV lambası üzerinde kontrol edilmiştir (Aasim 2010, Sağlam 2010).



### 3.4 Biyoassay

Birinci Biyoassay çalışmalarında *Cry IAc* geni aktarılmış ve aktarılmamış (kontrol) bireysel bitkilerden 2 - 4 adet yaprak kopartılarak tabanında nemli kurutma kağıdı bulunan 100 × 10 mm çapında kapaklı yuvarlak polysterene kutularına yerleştirilmiştir. Yaprığın canlılığını koruması için ise petiol kısımları saf su içeren ependorf tüplerine sokularak sarılmıştır. Daha sonra, *Spodoptera littoralis* Boisduval 1833 (Gelbic vd. 2011) böceği larvaları, her bir kapaklı yuvarlak polysterene kutularına 2 adet olmak üzere bitki yapraklar üzerine bırakılarak 24-36 saat kadar beslenmeleri sağlanmıştır. Denemeler 25±2°C sıcaklıkta ve 11/13 (aydınlık/karanlık) şartlarda yürütülmüştür.

İkinci biyoassay çalışmalarında *bar* geni aktarılmış ve aktarılmamış (kontrol) bireysel bitkileri 1.5 mg/l Glufosinat ammonium (ticari isim misket 200 sl) herbisti ile spreylenmiştir ve 72 saat sonra bitkilerin canlılığı kontrol edilmiştir. Denemeler 25±2°C sıcaklıkta ve 11/13 (aydınlık/karanlık) şartlarda yürütülmüştür (Aasim vd. 2013).

### 3.5 Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Rejenerasyon denemeleri 4 tekerrürlü olarak faktoriyel Deneme Desenine göre kurulmuş ve elde edilen veriler "IBMSPPSS 20 for Windows" bilgisayar programı yardımıyla analiz edilmiştir. Uygulama ortalamaları gerektiğinde MSTAT-C bilgisayar programı kullanılarak Duncan testi ile karşılaştırılmıştır. Yüzde değerleri istatistik analizi yapılmadan önce arcsin değerlerine çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran 1967).

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Yaygın Fiğ Çeşitlerinde değişik Çamaşır Suyun Oranları ve Uygulama Zamanlarının Çimlenmeye Etkisi

#### 4.1.1 Cumhuriyet 99 çeşidi

Yaygın Fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinde değişik çamaşır suyu (ÇS) oranları ve farklı zamanlarının uygulanmış olan yüzey sterilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.1’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm çamaşır suyu oranları ile uygulama sonucunda tohumlar üzerinde her hangi fungal veya bakteriyel kontaminasyon görülmemiştir. Çamaşır suyu oranları arasında, çimlenme oranı, kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre çamaşır suyunun farklı uygulama zamanları arasında çimlenme oranı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Çimlenme oranı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde çamaşır suyu ve zamanlar arasında önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.1 Cumhuriyet 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Çimlenme Oranı (%)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
ÇS Oranları	5	522.96	2.61*	6.10	4.06**	6.94	3.35*
Zamanlar	2	585.18	2.92*	0.48	0.32	0.62	0.30
Uygulama × Zaman	10	291.85	1.45*	1.93	1.28*	1.85	0.89
Hata	36	200.00		1.50		2.06	
Genel Toplam	53						

\*\* $P<0.01$ ,\* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.2’de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre farklı çamaşır suyu oranları ve 20, 15 ve 10 dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen çimlenme oranı sırasıyla % 66.66 ile % 93.33,

% 80.00 ile % 100.00 ve % 60.00 ile % 93.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.2 - Şekil 4.1). Sonuçlara göre % 100.00, % 80.00 ve % 60.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile 20 dk uygulama sonucunda % 93.33, % 80.00 ve % 40.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile % 100.00, ve % 80 çamaşır suyu ile %93.33 tohumlarda çimlenme sağlanmıştır. Duncan testi sonuçlarına göre farklı çamaşır suyu oranları ve 20, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda çimlenen tohumların sürgün uzuluğu sırasıyla 0.90 ile 3.06 cm, 0.95 ile 3.44 cm ve 0.56 ile 3.07 cm arasında değişmiştir. Sonuçlara göre sırasıyla en uzun sürgün 20 dk yüzey sterilizasyon sonucunda en uzun sürgün % 60 çamaşır suyu, 15 dk yüzey sterilizasyon sonucunda en uzun sürgün % 80 çamaşır suyu uygulama sonucunda ve 10 dk yüzey sterilizasyon sonucunda en uzun sürgün % 40.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile elde edilmiştir. En uzun kök ise % 100.00 çamaşır suyu uygulama sonucunda elde edilmiştir.



Şekil 4.1 Cumhuriyet 99 çeşidinde % 80 çamaşır suyu ile 15 dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler

Çizelge 4.2 Cumhuriyet 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamalar

ÇS oranları (%)	Çimlenme Oranı (%)			Sürgün Uzunluğu (cm)			Kök Uzunluğu (cm)
	Zaman(dk)			Zaman(dk)			
	20	15	10	20	15	10	
100	93.33a	86.66b	86.66b	2.64b	2.27b	2.91a	3.15a
80	93.33a	100.00a	93.33a	2.67b	3.44a	2.25b	3.09a
60	93.33a	80.00b	66.66d	3.06a	1.54c	2.96a	3.02a
40	86.66b	100.00a	73.33c	2.84b	2.93b	3.07a	2.99b
20	66.66c	80.00b	86.66b	0.90c	0.95d	0.56c	1.08c
10	80.00b	86.66b	60.00d	0.62c	3.34a	1.07c	1.75c

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

#### 4.1.2 Karaelçi çeşidi

Yaygın Fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinde değişik çamaşır suyu oranları ve farklı zamanlarının uygulanmış olan yüzey sterilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.3'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm çamaşır suyu oranları ile uygulama sonucunda tohumlar üzerinde her hangi fungal veya bakteriyel kontaminasyon görülmemiştir. Çamaşır suyu oranları arasında sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre çamaşır suyunun farklı uygulama zamanları arasında sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Çamaşır suyu ve süre olarak yapılan tüm uygulamalar sonucunda her hangi bulaşıklığı görülmemiştir. Çimlenme oranı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde çamaşır suyu ve zamanlar arasında önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.3 Karaelçi çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Çimlenme Oranı (%)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	5	11.85	0.40	2.06	4.64**	3.704	5.60**
Zaman	2	7.40	0.25	0.90	2.03*	0.475	0.72*
Uygulama × Zaman	10	34.07	1.15*	0.37	0.84	0.544	0.82
Hata	36	29.63		0.44		0.660	
Genel Toplam	53						

\*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.4 ve 4.5’de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre farklı çamaşır suyu oranları ve 20, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen çimlenme oranı sırasıyla % 93.33 ile % 100.00, % 93.33 ile % 100.00 ve % 93.33 ile % 100.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.4). Sonuçlara göre % 100.00 (Şekil 4.2) ve % 80.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile 15 ve 10 dk uygulama sonucunda % 100.00 ve % 60.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile 20 ve 15 dk uygulama sonucunda % 100.00 ve % 40, % 20 çamaşır suyu ile 20,15 ve 10 dk uygulama sonucunda % 100.00 ve % 10 konsantrasyon çamaşır suyu ile 20 ve 10 dk süre uygulama sonucunda tohumlarda çimlenme sağlanmıştır. Duncan sonuçlarına göre en uzun sürgün ve kök uzunluğu ise % 100.00 çamaşır suyu uygulama sonucunda elde edilmiştir.



Şekil 4.2 Karaelçi çeşidinde % 80 çamaşır suyu ile 15dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler

Çizelge 4.4 Karaelçi çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamalar

ÇS oranları (%)	Çimlenme Oranı (%)			Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Uzunluğu (cm)
	Zaman (dk)				
	20	15	10		
100	93.33b	100.00a	100.00a	2.35a	3.30a
80	93.33b	100.00a	100.00a	2.16a	2.63b
60	100.00a	100.00a	93.33b	1.35c	1.94c
40	100.00a	100.00a	100.00	1.18c	1.48c
20	100.00a	100.00a	100.00	1.42c	2.68b
10	100.00a	93.33b	100.00a	1.92b	2.71b

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre değişik zamanlar 20, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda çimlenen tohumların sürgün ve kök uzunluğu sırasıyla 1.55cm ile 1.98 cm ve 2.29 ile 2.62 cm arasında değişmiştir. Sonuçlara göre en uzun sürgün ve kökler 15 dk sterilizasyon sonucunda %80 çamaşır suyu ile elde edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5 Karaelçi çeşidinde değişik uygulama zamanlarının sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamalar

Zaman (dk)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Uzunluğu (cm)
20	1.66b	2.46b
15	1.98a	2.62a
10	1.55b	2.29c

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

#### 4.1.3 Kubilay 82 çeşidi

Yaygın Fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinde değişik çamaşır suyu oranları ve farklı zamanlarının uygulanmış olan yüzey sterilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.6'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm çamaşır suyu oranları ile uygulama sonucunda tohumlar üzerinde her hangi fungal veya bakteriyel

kontaminasyon görülmemiştir. Çamaşır suyu oranları arasında sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.01$  ve  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre çamaşır suyunun farklı uygulama zamanları arasında sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Çamaşır suyu ve süre olarak yapılan tüm uygulamalar sonucunda herhangi bir bulaşıklığı görülmemiştir. Çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde çamaşır suyu ve zamanlar arasında önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.6 Kubilay 82 çeşidinde değişik çamaşır suyunun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Çimlenme Oranı (%)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	5	47.40	0.49	2.77	5.28**	5.40	3.39*
Zaman	2	7.40	0.07	0.81	1.55*	2.58	1.62*
Uygulama × Zaman	10	122.96	1.27*	1.26	2.41*	4.34	2.72*
Hata	36	96.29		0.52		1.59	
Genel Toplam	53						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.7’de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre farklı çamaşır suyu oranları ve 20, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen çimlenme oranı sırasıyla % 93.33 ile % 100.00, % 86.66 ile % 100.00 ve % 86.66 ile % 100.00 arasında değişmiştir (Şekil 4.3, Çizelge 4.7). Sonuçlara göre % 100.00, % 20 konsantrasyon çamaşır suyu ile 20 dk süre uygulama sonucunda % 100.00, % 80.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile 15 ve 10 dk süre uygulama sonucunda % 100.00 ve % 60 çamaşır suyu ile 20, 15 dk süre uygulamada % 100.00, % 40 ve % 10 konsantrasyon çamaşır suyu ile 10 dk uygulamada % 100.00 tohumlarda çimlenme sağlanmıştır. Duncan sonuçlarına göre farklı çamaşır suyu oranları ve 20, 15 ve 10 dk yüzey sterilizasyon sonucunda çimlenen tohumların sürgün uzunluğu sırasıyla 0.92 ile 2.48 cm, 0.67 ile 3.30 cm ve 0.80 ile 2.89 cm arasında değişmiştir. Sonuçlara göre sırasıyla en uzun sürgün 20 dk yüzey

sterilizasyon sonucunda %20 çamaşır suyu, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda en uzun sürgün %40 çamaşır suyu uygulama sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre farklı çamaşır suyu oranları ve 20, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda çimlenen tohumların kök uzunluğu 1.72 ile 2.68 cm, 1.54 ile 5.19 cm ve 1.17 ile 4.36 cm arasında değişmiştir. Sonuçlara göre sırasıyla en uzun kök 20 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda % 10 çamaşır suyu 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda en uzun kök % 40 çamaşır suyu uygulama sonucunda elde edilmiştir.



Şekil 4.3 Kubilay 82 çeşidinde % 100 çamaşır suyu ile 20 dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler

Çizelge 4.7 Kubilay 82 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamalar

ÇS oranları (%)	Çimlenme Oranı (%)			Sürgün Uzunluğu (cm)			Kök Uzunluğu (cm)		
	Zaman (dk)			Zaman (dk)			Zaman (dk)		
	20	15	10	20	15	10	20	15	10
100	100.00a	93.33b	86.66c	1.56b	0.67e	1.06c	2.26c	1.77c	1.54c
80	93.33b	100.00a	100.00a	1.26c	2.52b	1.55b	2.00d	5.14a	2.51b
60	100.00a	100.00a	93.33b	0.92d	1.99c	0.80d	1.96e	2.81b	2.16b
40	86.66b	93.33b	100.00a	1.48c	3.30a	2.89a	1.72e	5.19a	4.36a
20	100.00a	93.33b	86.66c	2.48a	1.65c	1.55b	3.73a	1.74c	2.42b
10	93.33b	86.66c	100.00a	1.68b	1.10d	0.93c	2.68b	1.54c	1.17c

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



#### 4.1.4 Selçuk 99 çeşidi

Yaygın Fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinde değişik çamaşır suyu oranları ve farklı zamanlarının uygulananmış olan yüzey sterilizasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.8’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tüm çamaşır suyu oranları ile uygulama sonucunda tohumlar üzerinde her hangi fungal veya bakteriyel kontaminasyon görülmemiştir. Çamaşır suyu oranları arasında kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Çamaşır suyu oranları ve süre olarak yapılan tüm uygulamalar sonucunda her hangi bulaşıklığı görülmemiştir (Şekil 4.4). Varyans analiz sonuçlarına göre farklı zamanlar arasında çimlenme oranı ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde çamaşır suyu ve zamanlar arasında önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.8 Selçuk 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Çimlenme Oranı (%)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	5	60.74	0.29	0.32	0.69	1.40	1.49*
Zaman	2	762.96	3.67*	0.25	0.56	2.53	2.70*
Uygulama × Zaman	10	158.51	0.76	0.44	0.97*	0.39	0.42
Hata	36	207.40		0.46		0.93	
Genel Toplam	53						

\* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.9 -10’de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre değişik zamanlar 20, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda çimlenen tohumların en fazla çimlenme oranı ve en uzun kök sırasıyla 10 ve 15 dk yüzey sterilizasyon sonucunda çamaşır suyu ile elde edilmiştir. (Çizelge 4.9)

Çizelge 4.9 Selçuk 99 çeşidinde değişik uygulama zamanlarının çimlenme oranı ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamalar

Zaman (dk)	Çimlenme Oranı (%)	Kök Uzunluğu (cm)
20	81.11b	1.39b
15	91.11a	2.13a
10	93.33a	1.65ab

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



Şekil 4.4 Selçuk 99 çeşidinde %100 çamaşır suyu ile 15 dk yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen bitkicikler

Elde edilen sonuçlara göre farklı çamaşır suyu oranları ve 20, 15 ve 10 dk süre yüzey sterilizasyon sonucunda elde edilen sürgün uzunluğu sırasıyla 0.56 ile 1.26 cm, 0.69 ile 1.75cm ve 0.50 ile 1.55cm arasında değişmiştir (Çizelge 4.10). Sonuçlara göre % 100.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile 10 dk süre uygulama sonucunda 1.55 cm ve % 20.00 konsantrasyon çamaşır suyu ile 15 dk uygulama sonucunda 1.75 cm ve %10 çamaşır suyu ile 10 dk uygulama sonucunda 1.26 cm uygulama sonucunda uzun sürgünler elde edilmiştir. Duncan testi sonuçlarına göre en uzun kökler ise %10.00 çamaşır suyu uygulama sonucunda elde edilmiştir.

Çizelge 4.10 Selçuk 99 çeşidinde değişik çamaşır suyun oranları ve uygulama zamanlarının çimlenme oranı, sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu etkisine ait ortalamalar

ÇS oranları (%)	Sürgün Uzunluğu (cm)			Kök Uzunluğu (cm)
	Zaman (dk)			
	20	15	10	
100	0.60d	0.87d	1.55a	1.83b
80	1.05b	1.04b	1.30b	1.70c
60	0.59d	0.79e	0.84c	1.63c
40	0.90c	0.69f	0.71d	1.26e
20	0.56d	1.75a	0.50e	1.49d
10	1.26a	0.97c	1.38b	2.42a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

## 4.2 Yaygın Fiğ Çeşitlerinde Yarım Kotiledon Boğum Eksplantların Değişik Oranlarda uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonların Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi

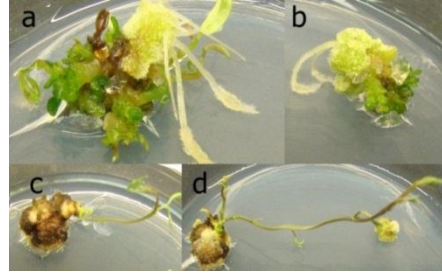
### 4.2.1 Cumhuriyet 99 çeşidi

Yaygın Fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.11’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kallus oluşumu oranı, sürgün oluşum oranı  $P<0.05$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.11 Cumhuriyet 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonu etkisi ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	880.80	1.49*	565.65	1.59*	36.39	19.55**	0.32	3.26**
Hata	24	588.88		355.55		1.86		0.09	
Genel Toplam	35								

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$



Şekil 4.5 Cumhuriyet 99 çeşidinde sürgün rejenerasyonu  
a, b. 0.6 µg/ml BAP  
c, d. 0.8 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamda sürgün oluşumları

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12 Cumhuriyet 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)*	Sürgün Oluşum Oranı (%)*	Sürgün Sayısı (adet)**	Sürgün Uzunluğu (cm)**
0.2	0.0	60.00a	60.00abc	5.00b	0.41bc
0.2	0.1	40.00b	46.66abc	4.00bc	0.35bc
0.2	0.2	60.00ab	46.66abc	4.33bc	0.92ab
0.4	0.0	60.00ab	66.66ab	5.00b	0.60bc
0.4	0.1	46.66b	40.00bc	2.66bc	0.26c
0.4	0.2	40.00b	40.00bc	2.33bc	0.36bc
0.6	0.0	100.00a	80.00a	15.00a	0.23c
0.6	0.1	53.33ab	53.33abc	4.66b	0.15c
0.6	0.2	66.66ab	46.66abc	3.33bc	1.27a
0.8	0.0	40.00b	53.33abc	4.00bc	0.35bc
0.8	0.1	53.33ab	53.33abc	2.33bc	0.31c
0.8	0.2	73.33ab	26.66c	1.66c	0.21c

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.12’de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 40.00 ile % 100.00 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşumu 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşum oranı % 26.66 ile % 80.00 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir

(Şekil 4.5 a.b). Eksplant başına sürgün sayısı ise 1.66 ile 15.00 adet arasında değişmiştir. Adet olarak en az ve en fazla sürgün sayısı sırasıyla 0.8 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA (Şekil 4.5 c.d) ve 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. En uzun sürgünler 0.6 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA, içeren MS ortamından izlenmiştir.

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın Fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinin yarım kotelidon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.13’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sırası ile eksplant başına sürgün sayısı ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde, sürgün uzunluğu, kök oluşum oranı ve kök sayısı bakımından sürgün rejenerasyon ortamların kök oluşumunda  $P<0.01$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.13 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	1.66	2.72*	1.33	7.15**	698.99	6.29**
Hata	24	0.61		0.18		111.11	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	2.78	3.13**	8.45	1.99*		
Hata	24	0.88		4.23			
Genel Toplam	35						

\*\*  $P<0.01$ ,\* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.14 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)**	Kök Oluşum Oranı (%)**	Kök Sayısı (adet)**	Kök Uzunluğu (cm)*
0.2	0.0	5.00abc	4.07a	73.33b	6.33a	7.99ab
0.2	0.1	4.66abcd	2.47b	60.00bcd	4.33bcde	3.84c
0.2	0.2	3.66cd	2.48b	93.33a	6.00ab	8.39a
0.4	0.0	5.33ab	2.03bc	66.66bc	5.66abc	4.22bc
0.4	0.1	4.66abcd	1.90bc	53.33bcd	4.33bcde	5.24abc
0.4	0.2	3.66cd	2.12bc	46.66cd	4.00bcde	5.68abc
0.6	0.0	5.66a	1.91bc	66.66c	5.00bcd	5.96abc
0.6	0.1	4.33abcd	1.59c	40.00d	4.66abcde	3.51c
0.6	0.2	4.66abcd	2.45b	60.00bcd	4.66abcde	6.40abc
0.8	0.0	5.33ab	1.73bc	40.00d	3.00e	3.38c
0.8	0.1	4.00bcd	1.74bc	60.00bcd	4.33bcde	5.41abc
0.8	0.2	3.33d	1.79bc	46.66cd	3.66de	3.80c

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.14'de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 3.33 ile 5.66 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.59cm ile 4.07cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 40.00 ile % 93.33 arasında değişmiştir. Kök oluşumu oranı 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Cumhuriyet 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarından 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamda gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Cumhuriyet 99 çeşidinin 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.2.2 Karaelçi çeşidini

Yaygın Fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.15’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kallus oluşum oranı ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.01$  düzeyinde, sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.15 Karaelçi çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına farklı oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant başına Sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	177.7	4.00**	505.05	2.67*	60.08	3.80**	0.05	2.56*
Hata	24	44.44		188.88		15.80		0.02	
Genel Toplam	35								

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.16’de verilmiştir.

Çizelge 4.16 Karaelçi çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamalar

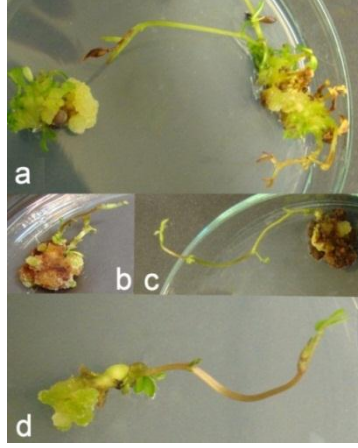
BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)**	Sürgün Oluşum Oranı (%)*	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)**	Sürgün Uzunluğu (cm)*
0.2	0.0	100.00a	86.66ab	14.33ab	0.16bc
0.2	0.1	100.00a	100.00a	19.00a	0.24b
0.2	0.2	100.00a	93.33ab	14.66ab	0.11c
0.4	0.0	100.00a	100.00a	14.66ab	0.52a
0.4	0.1	100.00a	100.00a	10.66bcd	0.12c
0.4	0.2	100.00a	93.33ab	13.00abc	0.35ab
0.6	0.0	100.00a	93.33ab	14.66ab	0.15bc
0.6	0.1	100.00a	80.00ab	7.33bcd	0.11c
0.6	0.2	100.00a	73.33ab	8.00bd	0.14bc
0.8	0.0	73.33b	66.66b	7.66b	0.10c
0.8	0.1	100.00a	73.33ab	6.66cd	0.42ab
0.8	0.2	100.00a	66.66b	4.00d	0.18bc

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.16'de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 73.33 ile % 100.00 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşumu 0.2 µg/ml BAP, 0.2 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA, 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA, 0.4 µg/ml BAP , 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA, 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA, 0.6 µg/ml BAP , 0.6 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA, 0.6 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA, 0.8 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA ve 0.8 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün oluşum oranı % 66.66 ile % 100.00 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.2 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA, 0.4 µg/ml BAP ve 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 4.00 (Şekil 4.7 a.b.c.d) ile 19.00 adet arasında değişmiştir. Adet olarak en fazla sürgün sayısı 0.2 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Ancak, bir çoğu eksplantlarda bir adet sürgün hariç sürgün gelişmelerinde inhibasyon etkisi çok belirgin olarak görülmüştür. En uzun sürgünler (0.52 cm) 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamdan izlenmiştir.





Şekil 4.7 a.b.c.d. Karaelçi çeşidinde sürgün rejenrasyonu eksplantlarda bir adet sürgün hariç sürgün gleişmelerinde inhibasyon etkisi

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.17’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sırası ile eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kök oluşum oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından sürgün rejenerasyon ortamların kök oluşumunda  $P<0.05$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.17 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	1.56	1.61*	0.47	1.02*	432.32	1.69*
Hata	24	0.97		0.46		255.55	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	2.05	3.07*	7.96	2.22*		
Hata	24	0.66		3.57			
Genel Toplam	35						

\* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.18’de verilmiştir.

Çizelge 4.18 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP ( $\mu\text{g/ml}$ )	NAA ( $\mu\text{g/ml}$ )	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Oluşum Oranı (%)	Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)
0.2	0.0	5.00a	2.54bc	46.66c	4.66b	4.13c
0.2	0.1	3.33ab	2.71bc	60.00ab	3.33bc	5.28bc
0.2	0.2	3.00bc	2.90bc	73.33ab	4.66b	5.95bc
0.4	0.0	4.33ab	2.77bc	86.66a	3.66bc	6.07bc
0.4	0.1	3.00b	2.98bc	73.33ab	5.66a	6.19bc
0.4	0.2	4.00ab	3.24a	46.66c	4.66b	6.51bc
0.6	0.0	3.66ab	2.25b	53.33bc	5.33a	7.19abc
0.6	0.1	3.00b	2.32b	66.66ab	4.33b	7.78ab
0.6	0.2	3.00b	2.52bc	73.33ab	3.33b	7.95ab
0.8	0.0	2.66c	2.01bc	73.33ab	3.33bc	8.16ab
0.8	0.1	3.00bc	2.81bc	66.66ab	5.33a	8.46ab
0.8	0.2	2.66c	1.92c	66.66ab	4.33bc	10.18a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.18’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 2.66 ile 5.00 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.2  $\mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.92 cm ile 3.24 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.4  $\mu\text{g/ml}$  BAP + 0.2  $\mu\text{g/ml}$  NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 46.66 ile 86.66 arasında değişmiştir. Kök oluşumu oranı 0.4  $\mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.4  $\mu\text{g/ml}$  BAP + 0.1  $\mu\text{g/ml}$  NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sonuçlara göre 0.8  $\mu\text{g/ml}$  BAP + 0.2  $\mu\text{g/ml}$  NAA içeren MS ortamdan izlenmiştir. Karaelçi çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarından 0.2  $\mu\text{g/ml}$  BAP içeren ortamda gelişen sürgünleri 0.75  $\mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Karaelçi çeşidinin 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.2.3 Kubilay 82 çeşidi

Yaygın Fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile 5 - 6 gün sonra kallus oluşturmuş olup, üzerinde sürgün uçları görülmeye başlanmıştır. Daha sonra oluşan kalluslar üzerinde sürgün oluşmaya başlamıştır. oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi sonuçları çizelge 4.19’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kallus oluşum oranı, sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.01$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.19 Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	415.15	1.86*	568.68	2.43*	36.43	5.90**	1.09	3.05*
Hata	24	222.22		233.33		6.16		0.35	
Genel Toplam	35								

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.20’de verilmiştir.

Çizelge 4.20 Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)*	Sürgün Oluşum Oranı (%)*	Sürgün Sayısı (adet)**	Sürgün Uzunluğu (cm)*
0.2	0.0	86.66a	80.00a	13.66a	1.75a
0.2	0.1	80.00ab	40.00bc	3.00cd	0.23c
0.2	0.2	80.00ab	40.00bc	2.00d	0.13cd
0.4	0.0	73.33ab	40.00bc	6.00bc	1.43ab
0.4	0.1	86.66a	40.00bc	5.33bc	0.29c
0.4	0.2	86.66a	40.00bc	1.66d	0.45bc
0.6	0.0	53.33bc	33.33c	2.00d	0.31c
0.6	0.1	80.00ab	60.00ab	5.33bc	0.27c
0.6	0.2	73.33ab	46.66bc	3.33cd	0.30c
0.8	0.0	66.66ab	40.00bc	8.00b	1.63a
0.8	0.1	53.33bc	26.66c	2.66cd	0.70bc
0.8	0.2	80.00ab	40.00bc	2.00cd	0.19cd

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.20’de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 53.33 ile % 86.66 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşumu 0.2 µg/ml BAP, 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA ve 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir ( Şekil 4.9. a.b). Sürgün oluşum oranı % 26.66 ile % 80.00 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 1.66 ile 13.66 adet arasında değişmiştir. Adet olarak en az (Şekil 4.9.c) ve en fazla sürgün sayısı 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan (Şekil 4.9. d.e) elde edilmiştir. En uzun sürgünler 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan izlenmiştir.



Şekil 4.9 Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu

a,b. Yarım kotiledon eksplantta kallus oluşumu ve sürgün uçların gözükmemesi

c. 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren ortamda en az (1.66 adet)

d,e. 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamda en fazla sürgün oluşumu

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın Fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.21’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.01$  düzeyinde ve sürgün uzunluğu, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından sürgün rejenerasyon ortamların kök oluşumunda  $P<0.05$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.21 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V. K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	3.38	3.29**	6.48	2.93*	229.29	0.68
Hata	24	1.02		2.20		333.33	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	2.77	2.43*	8.58	1.72*		
Hata	24	1.13		4.98			
Genel Toplam	35						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.22’de verilmiştir.

Çizelge 4.22 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)**	Sürgün Uzunluğu (cm)*	Kök Oluşum Oranı (%)	Kök Sayısı (adet)*	Kök Uzunluğu (cm)*
0.2	0.0	6.33a	4.02ab	86.66a	6.00ab	5.65bc
0.2	0.1	3.33bc	2.01b	60.00c	5.66abc	4.99c
0.2	0.2	3.00c	1.77c	73.33ab	5.00abc	4.96c
0.4	0.0	5.00ab	5.48a	80.00a	4.66bc	7.35ab
0.4	0.1	5.00ab	1.97bc	60.00c	5.66abc	4.01c
0.4	0.2	3.66bc	2.44b	73.33ab	7.00a	5.65b
0.6	0.0	3.33bc	1.85bc	66.66c	5.33abc	4.71c
0.6	0.1	3.66bc	1.78c	73.33ab	4.33bc	5.68b
0.6	0.2	3.00c	2.00b	73.33ab	3.66c	7.29ab
0.8	0.0	4.66abc	5.82a	86.66a	4.66bc	9.96a
0.8	0.1	3.33bc	3.17ab	73.33ab	5.00abc	7.85ab
0.8	0.2	3.00c	1.92bc	66.66c	3.66c	5.05bc

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.22’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 3.00 ile 6.33 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.77 cm ile 5.82 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 60.66 ile % 86.66 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.2 µg/ml BAP ve 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sonuçlara göre en uzun kökler 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan izlenmiştir. Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarından 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamda gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Kubilay 82 çeşidinin 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

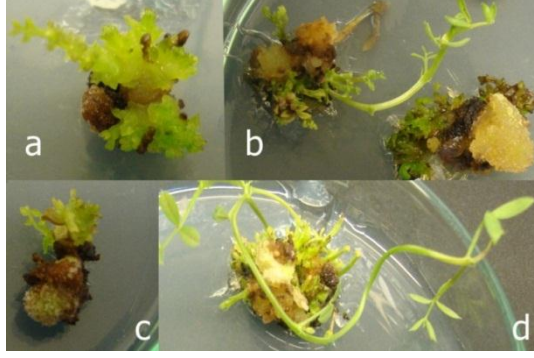
#### 4.2.4 Selçuk 99 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.23’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kallus oluşum oranı, sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.23 Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	408.08	1.46*	366.66	2.06*	5.06	2.93*	6.38	1.79*
Hata	24	277.77		177.77		1.72		3.55	
Genel Toplam	35								

\* $P<0.05$



Şekil 4.11 Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu

a. 0.6 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren ortamda gelişen kalluslar üzerinde yüksek hiperhidrisiti  
b.c.d. 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamda gelişen sürgünler ve yüksek rekabetten dolayı güçlü sürgünlerin baskı yaparak zayıf sürgünlerde dormansi etkileri

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.24’de verilmiştir.

Çizelge 4.24 Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)	Sürgün Oluşum Oranı (%)	Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0.2	0.0	66.66c	33.33c	2.00d	4.88a
0.2	0.1	80.00ab	46.66abc	4.33abc	0.61c
0.2	0.2	86.66ab	46.66abc	4.00abc	1.26b
0.4	0.0	86.66ab	60.00a	6.33a	1.56abc
0.4	0.1	80.00ab	60.00a	4.33abc	3.95ab
0.4	0.2	80.00ab	53.33ab	3.33bc	0.91c
0.6	0.0	93.33a	46.66abc	4.66ab	1.53abc
0.6	0.1	73.33ab	53.33ab	2.33cd	0.29d
0.6	0.2	93.33a	33.33c	2.00d	0.31d
0.8	0.0	86.66ab	46.66abc	3.33bc	2.02abc
0.8	0.1	60.00c	33.33c	3.00bc	1.24bc
0.8	0.2	60.00c	26.66c	2.33cd	0.23d

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.24’de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 60.00 ile % 93.33 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşumu 0.6 µg/ml BAP, 0.6 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. 0.6 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren ortamda gelişen kalluslar üzerinde yüksek hiperhidrisiti görülmüştür (Şekil



4.11 a). Hiperhidrik sürgünlerde belirgin gelişmeleri gözlenmemiştir. Sürgün oluşum oranı % 26.66 ile % 60.00 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.4 µg/ml BAP (Şekil 4.11. b.c.d) ve 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Ancak, sürgünler arasında yüksek rekabetten dolayı güçlü sürgünlerde uzama ve geri kalan sürgünlerde dormansi etki gözlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 2.00 ile 6.33 adet arasında değişmiştir. Adet olarak en fazla sürgün sayısı 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. En uzun sürgünler 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan izlenmiştir.

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın Fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.25 'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu  $P<0.05$  düzeyinde ve kök oluşum oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından sürgün rejenerasyon ortamlarının kök oluşumunda  $P<0.01$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.25 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	3.63	3.11*	16.93	1.64*	1159.59	6.52**
Hata	24	1.16		10.28		177.77	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	4.02	8.05**	30.98	3.93**		
Hata	24	0.50		7.88			
Genel Toplam	35						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.26'de verilmiştir.

Çizelge 4.26 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)*	Kök Oluşum Oranı (%)**	Kök Sayısı (adet)**	Kök Uzunluğu (cm)**
0.2	0.0	4.33bc	9.69a	80.00abc	6.66bc	11.81ab
0.2	0.1	4.66abc	4.02ab	100.00a	8.66a	11.14ab
0.2	0.2	6.33ab	5.60ab	86.66ab	6.33bc	11.64ab
0.4	0.0	6.66a	5.32ab	100.00a	7.33b	10.74ab
0.4	0.1	5.33abc	7.73ab	86.66ab	5.66cd	12.06a
0.4	0.2	4.00c	3.76ab	73.33bcd	4.33d	9.16bc
0.6	0.0	5.33abc	4.56ab	60.00cde	5.33cd	8.31bc
0.6	0.1	3.33c	2.02bc	46.66e	5.33cd	6.07bc
0.6	0.2	3.33c	1.72c	53.33de	6.66bc	3.41d
0.8	0.0	4.00c	5.77ab	80.00abc	6.66bc	8.99bc
0.8	0.1	5.00abc	4.14ab	53.33de	5.33cd	5.87c
0.8	0.2	3.66c	1.88c	46.66e	5.33cd	3.13d

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.26'de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 3.33 ile 6.33 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.72 cm ile 9.69 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşumu oranı ise % 46.66 ile % 100.00 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.2 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA ve 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.2 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sonuçlara göre en uzun kökler 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan izlenmiştir. Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarından 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamda gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12 Selçuk 99 çeşidinin 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamda yarım kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

### 4.3 Yaygın Fiğ Çeşitlerinde Kotiledon Boğum Eksplantlarına Değişik Oranlarda Uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonlarının Sürgün Rejenerasyona Etkisi

#### 4.3.1 Cumhuriyet 99 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına farklı oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi sonuçları çizelge 4.27’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sürgün oluşum oranı ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P < 0.05$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.27 Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonu etkisi ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	347.47	0.74	360.35	1.16*	25.52	1.82*	1.95	0.90
Hata	24	466.66		308.33		14.00		2.17	
Genel Toplam	35								

\*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

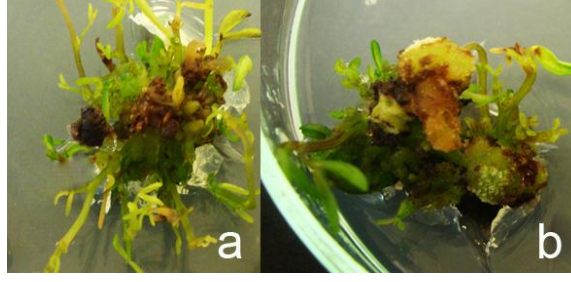
Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.28’de verilmiştir.

Çizelge 4.28 Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonu etkisi ile ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)	Sürgün Oluşum Oranı (%)	Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0.2	0.0	40.00d	26.66e	2.33e	2.69a
0.2	0.1	53.33c	26.66e	2.66e	2.39ab
0.2	0.2	73.33a	40.00c	5.00c	0.52e
0.4	0.0	46.66d	46.66b	11.66a	1.52c
0.4	0.1	60.00b	46.66b	4.00d	0.52e
0.4	0.2	60.00b	33.33d	5.00c	2.21ab
0.6	0.0	40.00d	26.66e	1.33f	0.58e
0.6	0.1	66.66b	46.66b	2.66e	1.81b
0.6	0.2	60.00bc	33.33d	5.33bc	1.00d
0.8	0.0	60.00bc	60.00a	7.66ab	1.01d
0.8	0.1	66.66b	30.00d	5.66bc	1.49c
0.8	0.2	66.66b	26.66e	1.66f	0.31e

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.28’de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 40.00 ile % 73.33 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşum 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün oluşum oranı % 26.66 ile % 60.00 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 1.33 ile 11.66 adet (Şekil 4.13.a) arasında değişmiştir. Daha sonra adet olarak en fazla sürgün sayısı 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir (şekil 4.13.b). En uzun sürgünler 0.2 µg/ml içeren MS ortamdan izlenmiştir.



Şekil 4.13 Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlar üzerinde  
a. 0.4 µg/ml BAP  
b. 0.8 µg/ml BAP içeren ortamda sürgün rejenerasyonu

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların farklı oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.29'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre eksplant başına sürgün sayısı, kök oluşum oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından sürgün rejenerasyon ortamlarının kök oluşumunda  $P<0.05$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.29 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	3.17	2.33*	12.00	0.67	447.47	1.18*
Hata	24	1.36		17.87		377.77	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	5.26	1.22*	25.36	1.72*		
Hata	24	4.30		14.68			
Genel Toplam	35						

\* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.30'de verilmiştir.

Çizelge 4.30 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Cumhuriyet 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)	Kök Oluşum Oranı (%)	Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)
0.2	0.0	4.66ab	8.17a	73.33ab	7.33a	12.24a
0.2	0.1	4.66ab	6.58ab	73.33ab	6.00ab	11.54ab
0.2	0.2	2.66d	1.70f	46.66d	4.33c	4.55cd
0.4	0.0	3.33bc	4.61c	73.33ab	5.33b	9.64abc
0.4	0.1	3.00bc	1.85f	80.00ab	3.00d	4.21cd
0.4	0.2	3.33bc	5.17b	66.66ab	7.66a	9.37abc
0.6	0.0	2.33d	4.18c	86.66a	5.33b	7.30bc
0.6	0.1	5.33a	5.00b	73.33ab	5.00b	7.91bc
0.6	0.2	4.33abc	3.97cd	53.33bc	6.66ab	5.53abc
0.8	0.0	3.66bc	2.77e	73.33ab	6.33ab	6.25bc
0.8	0.1	5.33a	5.12b	80.00ab	6.66ab	9.00abc
0.8	0.2	3.00bc	1.72f	53.33bc	5.00b	3.17d

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.30'de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 2.33 ile 5.33 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.6 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA ve 0.8 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.72 cm ile 8.17 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 46.66 ile % 86.66 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.6 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. En uzun kökler 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan izlenmiştir. Cumhuriyet 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarından 0.8 µg/ml BAP+ 0.1 µg/ml NAA içeren MS içeren ortamda gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 Cumhuriyet 99 çeşidinin 0.8 µg/ml BAP+ 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

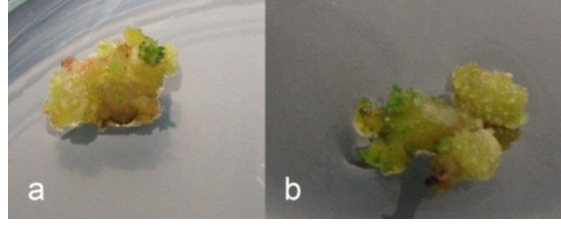
#### 4.3.2 Karaelçi çeşidi

Yaygın Fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.31’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kallus oluşum oranı, sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.31 Karaelçi çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonuna etkisi ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	2362.62	21.26**	835.35	4.17**	0.86	1.95*	0.24	4.03**
Hata	24	111.11		200.00		0.44		0.06	
Genel Toplam	35								

\*\*  $P<0.01$ ,\* $P<0.05$



Şekil 4.15 Karaelçi çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda BAP + NAA konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonuna etkileri

- a. 0.2 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA  
b. 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamda kallus ve sürgün oluşumları

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.32’de verilmiştir.

Çizelge 4.32 Karaelçi çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)**	Sürgün Oluşum Oranı (%)**	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)**
0.2	0.0	46.666c	40.00abc	2.33ab	0.43b
0.2	0.1	73.333bc	20.00c	1.33b	0.10b
0.2	0.2	100.00a	53.33ab	2.00ab	0.39b
0.4	0.0	33.33c	26.66bc	1.33b	0.16b
0.4	0.1	100.00a	26.66bc	1.66b	0.25b
0.4	0.2	100.00a	66.66a	1.33b	0.38b
0.6	0.0	33.33c	26.66bc	1.66b	0.31b
0.6	0.1	100.00a	53.33ab	2.33ab	0.47b
0.6	0.2	93.33ab	66.66a	1.66b	0.45b
0.8	0.0	46.66c	40.00ab	3.00a	0.22b
0.8	0.1	86.66bc	26.66bc	1.33b	1.20a
0.8	0.2	100.00a	26.66bc	1.33b	0.18b

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.32’de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 33.33 ile % 100.00 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşumu 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA, 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA, 0.6 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA ve 0.8 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir (Şekil 4.15. a.b). Sürgün oluşum oranı % 20.00 ile % 66.66 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA, 0.6 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren



MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 1.33 ile 2.33 adet arasında değişmiştir. Adet olarak en fazla sürgün sayısı 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. En uzun sürgünler 0.8 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA, içeren MS ortamdan izlenmiştir.

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına farklı oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.33’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kök oluşum oranı  $P<0.05$  düzeyinde, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından sürgün rejenerasyon ortamların kök oluşumunda  $P<0.01$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.33 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	0.87	1.66*	4.59	2.95*	569.69	3.01*
Hata	24	0.52		1.55		188.88	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	13.66	8.63**	17.10		3.64**	
Hata	24	1.58		4.69			
Genel Toplam	35						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.34’de verilmiştir.

Çizelge 4.34 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Karaelçi çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)*	kök Oluşum Oranı (%)*	Kök Sayısı (adet)**	kök Uzunluğu (cm)**
0.2	0.0	3.33ab	2.35b	73.33ab	4.66de	11.45ab
0.2	0.1	3.33ab	2.03b	93.33a	4.33de	13.84ab
0.2	0.2	4.00a	2.03b	93.33a	6.33bc	14.60a
0.4	0.0	2.66b	2.33b	66.66b	3.33e	9.79cd
0.4	0.1	3.33ab	2.49b	66.66b	7.33b	10.22bcd
0.4	0.2	3.66ab	2.60b	60.00b	10.00a	7.75d
0.6	0.0	2.33b	2.16b	53.33c	4.66de	6.79d
0.6	0.1	3.66ab	2.39b	86.66a	4.66de	10.59bc
0.6	0.2	3.00ab	2.03b	93.33a	5.66cd	9.34cd
0.8	0.0	3.33ab	1.78c	73.33ab	5.66cd	10.47bc
0.8	0.1	2.66b	6.45a	73.33ab	7.00b	9.97bc
0.8	0.2	2.33b	2.69b	86.66a	10.00a	7.07d

\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.34'de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 2.33 ile 4.00 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.78cm ile 6.45cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.8 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 53.33 ile % 93.33 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.2 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA, 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA ve 0.6 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.4 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA ve 0.8 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sonuçlara göre en uzun kökler 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan izlenmiştir. Karaelçi çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarından 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren ortamda gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16 Karaelçi çeşidinin 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.3.3 Kubilay 82 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.35’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu  $P<0.05$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.35 Kubilay 82 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	226.26	0.47	218.18	0.93	4.33	1.64*	16.23	1.30*
Hata	24	477.77		233.33		2.63		12.47	
Genel Toplam	35								

\* $P<0.05$

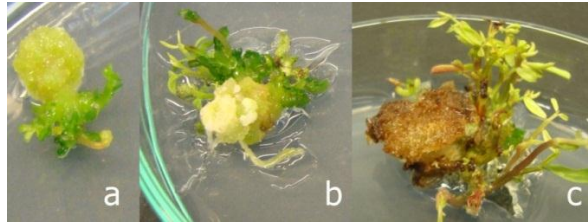
Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.36’de verilmiştir.

Çizelge 4.36 Kubilay 82 çeşidinin kotelidon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)	Sürgün Oluşum Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0.2	0.0	40.00d	26.66c	2.66bc	8.58a
0.2	0.1	53.33ab	26.66c	2.66bc	5.14ab
0.2	0.2	66.66a	33.33b	2.33bc	0.30e
0.4	0.0	40.00d	40.00ab	1.66c	2.95bc
0.4	0.1	60.00b	26.66c	1.33d	5.63ab
0.4	0.2	46.66c	33.33b	1.33d	1.48de
0.6	0.0	53.33ab	33.33b	1.66c	1.96d
0.6	0.1	46.66c	53.33a	1.66c	0.85e
0.6	0.2	40.00d	20.00d	1.66c	2.86bc
0.8	0.0	53.33ab	40.00ab	5.00a	2.34bc
0.8	0.1	53.33ab	33.33b	3.33b	3.22b
0.8	0.2	60.00ab	33.33b	4.33ab	1.93d

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.36'de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 40.00 ile % 66.66 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşumu 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün oluşum oranı % 20.00 ile % 53.33 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.6 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 1.33 ile 5.00 adet arasında değişmiştir. Adet olarak en fazla sürgün sayısı 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir (Şekil 4.17. a.b.c). En uzun sürgünler 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan izlenmiştir.



Şekil 4.17 Kubilay 82 çeşidinin kotelidon boğum eksplantlarının değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonuna etkileri

- a. 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamda 3 hafta sonra
- b. 6 hafta sonra
- c. 8 hafta sonra gelişen sürgünleri

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.37’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından sürgün rejenerasyon ortamların kök oluşumunda  $P<0.05$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.37 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	2.45	2.10*	64.86	1.48*	250.50	0.86
Hata	24	1.16		43.83		288.88	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	3.96	1.58*	68.09	1.71*		
Hata	24	2.50		39.79			
Genel Toplam	35						

\* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.38’de verilmiştir.

Çizelge 4.38 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Kubilay 82 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)	kök Oluşum Oranı (%)	Kök Sayısı (adet)	kök uzunluğu (cm)
0.2	0.0	4.00bc	17.38a	73.33b	4.66c	20.09a
0.2	0.1	3.33bc	10.95ab	66.66bc	6.33bc	6.26bc
0.2	0.2	3.66bc	1.37g	80.00ab	5.66bc	4.07d
0.4	0.0	3.00bc	5.26d	86.66a	5.66bc	10.45b
0.4	0.1	2.33c	12.88ab	73.33b	4.33c	16.53ab
0.4	0.2	2.33c	3.50f	66.66a	5.00c	5.64c
0.6	0.0	3.66bc	3.96f	80.00a	6.66bc	6.93bc
0.6	0.1	2.66c	4.04e	80.00ab	5.00c	8.74c
0.6	0.2	3.00b	5.30d	66.66bc	5.33bc	10.98b
0.8	0.0	5.33a	6.51cd	86.66a	7.66a	13.54b
0.8	0.1	3.66bc	8.99c	86.66a	8.00a	13.80b
0.8	0.2	4.66ab	4.21e	60.00c	5.33bc	9.03bc

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.38’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 2.33 ile 5.33 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.37 cm ile 17.38 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 60.00 ile % 86.66 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.4 µg/ml BAP, 0.8 µg/ml BAP ve 0.8 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak 0.8 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. En uzun kökler 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan izlenmiştir. Kubilay 82 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarından 0.8 µg/ml BAP içeren ortamda gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 Kubilay 82 çeşidinin 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.3.4 Selçuk 99 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi sonuçları çizelge 4.39’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kallus oluşum oranı, sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımında  $P < 0.05$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.39 Selçuk 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	859.59	2.86*	536.36	1.60*	9.12	1.25*	4.30	1.22*
Hata	24	300.00		333.33		7.27		3.51	
Genel Toplam	35								

\* $P < 0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.40’de verilmiştir.

Çizelge 4.40 Selçuk 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların sürgün rejenerasyonuna etkisi ile ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Kallus Oluşum Oranı (%)	Sürgün Oluşum Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0.2	0.0	26.66e	20.00d	5.00b	1.06c
0.2	0.1	60.00c	46.66b	5.33ab	1.83b
0.2	0.2	66.66bc	40.00bc	4.00bc	3.77ab
0.4	0.0	46.66d	40.00bc	5.00b	1.07c
0.4	0.1	93.33a	73.33a	5.66ab	3.03ab
0.4	0.2	73.33b	26.66cd	2.66e	1.10c
0.6	0.0	66.66bc	40.00bc	4.33bc	0.94de
0.6	0.1	53.33cd	33.33c	2.66e	3.96a
0.6	0.2	73.33b	40.00bc	3.00d	0.38e
0.8	0.0	60.00c	53.33ab	9.00a	1.24b
0.8	0.1	66.66bc	46.66b	5.66ab	1.19b
0.8	0.2	80.00ab	40.00bc	5.66ab	0.89d

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.40'de verilmiştir. Kallus oluşum oranı % 26.66 ile % 93.33 arasında değişmiştir. En fazla kallus oluşumu 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Sürgün oluşumu oranı % 20.00 ile % 73.33 arasında değişmiş olup, en fazla sürgün oluşumu 0.4 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir (Şekil 4.19). Eksplant başına sürgün sayısı ise 2.66 ile 9.00 adet arasında değişmiştir. Adet olarak en fazla sürgün sayısı 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. En uzun sürgünler 0.6 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan izlenmiştir.



Şekil 4.19 Selçuk 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantların değişik oranlarda 0.8 µg/ml BAP içeren MS ortamda sürgün rejenerasyonu



### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinin yarım kotiledon boğum eksplantlarına değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile rejenerasyon olmuş sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA ile köklendirilmesi ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.41’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve kök sayısı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde, kök oluşum oranı ve kök uzunluğu bakımından sürgün rejenerasyon ortamların kök oluşumunda  $P<0.01$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.41 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait varyans analizi sonuçları

V.K.	S.D.	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	11	1.44	2.88*	19.81	1.53*	456.56	4.56**
Hata	24	0.50		12.88		100.00	
Genel Toplam	35						
V.K.	S.D.	Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Uygulama	11	1.80	1.91*	70.54		4.72**	
Hata	24	0.94		14.91			
Genel Toplam	35						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.42’de verilmiştir.

Çizelge 4.42 Farklı rejenerasyon ortamlardan gelişen Selçuk 99 çeşidine ait sürgünlerin köklendirilmesine ait ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)*	Kök Oluşum Oranı (%)**	Kök Sayısı (adet)*	Kök Uzunluğu (cm)**
0.2	0.0	5.33a	2.62c	60.00e	4.66 bc	5.80de
0.2	0.1	4.00bc	4.55b	80.00bc	3.33c	7.92cd
0.2	0.2	4.00bc	8.41ab	66.66de	5.33ab	20.63 a
0.4	0.0	3.66c	3.22bc	93.33a	3.66 bc	11.57bcd
0.4	0.1	3.33cd	7.03ab	86.66ab	4.33 bc	15.44ab
0.4	0.2	3.33d	2.58c	60.00e	4.66 bc	12.80bcd
0.6	0.0	3.33c	2.36c	66.66de	4.00bc	7.24 c
0.6	0.1	5.00ab	9.63a	86.66ab	5.00ab	16.17 ab
0.6	0.2	3.33d	2.10b	53.33f	4.00bc	6.41d
0.8	0.0	4.33ab	3.42bc	73.33cd	5.33 ab	14.44ab
0.8	0.1	4.33ab	3.43bc	66.66de	6.00a	6.04 de
0.8	0.2	3.33cd	2.66c	73.33cd	5.00ab	8.21cd

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.42’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 3.33 ile 5.33 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 2.10 cm ile 9.63 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.6 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 53.33 ile % 93.33 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.4 µg/ml BAP içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak 0.8 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. En uzun kökler 0.2 µg/ml BAP + 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamdan izlenmiştir. Selçuk 99 çeşidinin kotiledon boğum eksplantlarından 0.2 µg/ml BAP içeren ortamda gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.20).



Şekil 4.20 Selçuk 99 çeşidinin 0.2 µg/ml BAP içeren MS ortamda kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.4 Yaygın fiğ Çeşitlerinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> İle Priming Uygulanmış Olan Abaksial Şekilde Kültüre Alınmış Kotiledonlarının Değişik Oranlarda BAP İçeren MS Ortam Üzerinde Sürgün Rejenerasyonu

##### 4.4.1 Cumhuriyet 99 çeşidi

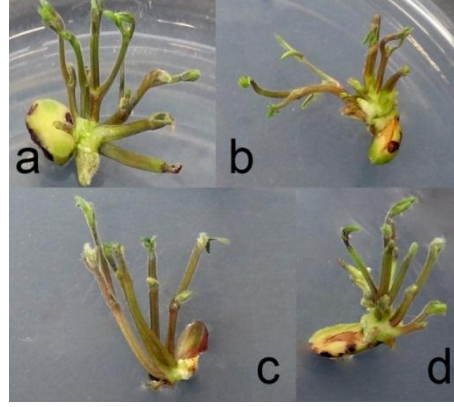
Yaygın Fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarının değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.43’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında sürgün oluşum oranı bakımından  $P<0.01$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıkları görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonları arasında eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Eksplant başına sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonları arasında  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.43 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	1511.11	5.18**	6.36	1.25*	0.25	1.67*
BAP Konsantrasyonları	3	155.55	0.53	7.58	1.49*	0.06	0.43
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	214.81	0.73	4.00	0.79	0.23	1.51*
Hata	32	291.66		5.06		0.15	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sırasıyla eksplant başına sürgün oluşum oranı ve eksplant başına sürgün sayısı % 30.00 ile % 53.33 ve 3.41 ile 5.00 (adet) arasında değişmiştir (Çizelge 4.44). Sonuçlarına göre GA<sub>3</sub> priming ile en iyi sürgün oluşumu ve eksplant başına sürgün sayısı elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sırasıyla BAP priming ile uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 0.84 - 1.60 cm (Şekil 4.21 a) arasında, SA priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 1.18 cm – 1.39 cm (Şekil 4.21.b), GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 1.34 cm – 1.84 cm (Şekil 4.21.c) ve BAP + GA<sub>3</sub> priming ile uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 1.08 -1.62 cm (Şekil 4.21. d) arasında değişmiştir.



Şekil 4.21 Cumhuriyet 99 çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların

- a. BAP
- b. SA
- c. GA<sub>3</sub>
- d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Çizelge 4.44 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Sürgün Oluşum Oranı (%)**	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)*			
			BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
			1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	30.00b	4.91a	0.84d	1.42c	1.23c	1.60a
SA	33.33b	4.50b	1.39c	1.18d	1.20c	1.38b
GA <sub>3</sub>	53.33a	5.00a	1.71a	1.84a	1.34b	1.37b
BAP + GA <sub>3</sub>	30.00b	3.41c	1.62b	1.62b	1.65a	1.08c

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre değişik BAP konsantrasyonlar içeren MS ortamda 1.00, 0.75, 0.50 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sürgün sayısı 3.58 ile 5.50 arasında değişmiştir (Çizelge 4.45). Sonuçlara göre 0.50 µg/ml BAP içeren MS ortamda en fazla eksplant başına sürgün sayısı elde edilmiştir.

Çizelge 4.45 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ortalamaları

BAP Konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
1.00	3.58c
0.75	4.50b
0.50	5.50a
0.25	4.25b

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Cumhuriyet 99 çeşidinin  $\text{GA}_3$  ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından  $0.75 \mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin  $0.75 \mu\text{g/ml}$  IBA içeren MS ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22 Cumhuriyet 99 çeşidinin  $\text{GA}_3$  ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından  $0.75 \mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin  $0.75 \mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.4.2 Karaelçi çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinde BAP, SA,  $\text{GA}_3$  ve BAP +  $\text{GA}_3$  ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarının değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.46'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamaları arasında

sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıkları görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonları arasında sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. eksplant başına sürgün sayısı bakımından priming ve BAP konsantrasyonları arasında  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.46 Karaelçi çeşidinde farklı priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	333.33	1.66*	14.79	2.42*	0.08	1.80*
BAP Konsantrasyonları	3	66.66	0.33	0.24	0.04	0.05	1.21*
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	118.51	0.59	12.00	1.96*	0.04	0.92
Hata	32	200.00		6.10		0.04	
Genel Toplam	47						

\*  $P<0.05$



Şekil 4.23 Karaelçi çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarının

- BAP
- SA
- GA<sub>3</sub>
- BAP + GA<sub>3</sub> ile priming yapılmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamında sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sırasıyla eksplant başına sürgün oluşumu oranı % 30.00 ile % 53.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.47). Sonuçlara göre SA priming ile (Şekil 4.23.b) en iyi eksplant başına sürgün oluşum sonucu elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 1.66 ile 9.00 (Şekil 4.23 a), 2.66 ile 8.00, 3.00 ile 6.33 ve 4.00 ile 5.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.47). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde Eksplant başına sürgün sayısı GA<sub>3</sub> priming ile (Şekil 4.23 c), 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı SA ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla BAP ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming (Şekil 4.23.d) sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 0.75 ile 0.91 (cm) arasında değişmiştir (Çizelge 4.47). Sonuçlara göre SA priming ile en iyi eksplant başına sürgün uzunluğu sonucu elde edilmiştir.

Çizelge 4.47 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Sürgün Oluşum Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)				Sürgün Uzunluğu (cm)
		BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				
		1.00	0.75	0.50	0.25	
BAP	26.66c	1.66c	5.33b	5.00b	5.33a	0.75c
SA	38.33a	4.33bc	2.66c	6.33a	5.00a	0.91a
GA <sub>3</sub>	33.33b	9.00a	8.00a	6.00a	4.00b	0.89b
BAP + GA <sub>3</sub>	28.33c	6.00b	4.66bc	3.00c	5.33a	0.76c

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre farklı BAP konsantrasyonlar içeren MS ortamda 1.00, 0.75, 0.50 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 0.76 ile 0.89 arasında değişmiştir (Çizelge 4.48). Sonuçlara göre 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda en fazla eksplant başına sürgün uzunluğu elde edilmiştir.



Çizelge 4.48 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

BAP Konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )	Sürgün Uzunluğu(cm)
1.00	0.77b
0.75	0.88a
0.50	0.76b
0.25	0.89a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Karaelçi çeşidinin  $\text{GA}_3$  ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından  $1.00 \mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin  $0.75 \mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.24).



Şekil 4.24 Karaelçi çeşidinin  $\text{GA}_3$  ile priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından  $1.00 \mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin  $0.75 \mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.4.3 Kubilay 82 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinde BAP, SA,  $\text{GA}_3$  ve BAP +  $\text{GA}_3$  ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların değişik

oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.49’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklılıkları görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Sürgün oluşum oranı ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

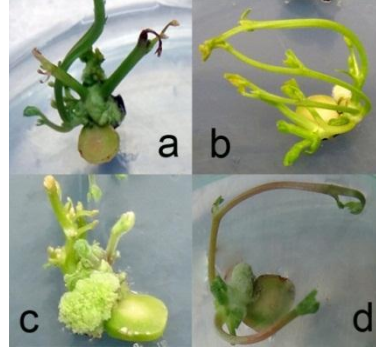
Çizelge 4.49 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	830.55	2.76*	5.85	1.83*	2.47	4.86**
BAP Konsantrasyonları	3	386.11	1.28*	3.18	1.00*	1.14	2.24*
Priming×BAP Konsantrasyonları	9	371.29	1.23*	6.53	2.05*	0.25	0.50
Hata	32	300.00		3.18		0.51	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün oluşum oranı % 33.33 ile % 73.33, % 26.66 ile % 53.33, % 33.33 ile % 60.00 ve % 40.00 ile % 46.66 arasında değişmiştir (Çizelge 4.50). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum SA priming ile ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum sırasıyla BAP ve SA priming ile ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum sırasıyla BAP ve GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla Eksplant başına sürgün sayısı 3.33 ile 7.33, 3.00 ile 5.00, 3.00 ile 5.33 ve 3.66 ile 7.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.50). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde Eksplant başına sürgün sayısı SA priming ile, 0.75 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP priming

ile, 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı SA priming ile ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sırasıyla BAP priming uygulamalardan sonra farklı BAP konsantrasyonları içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 1.31 cm (Şekil 4.25.a), SA priming uygulamalardan sonra farklı BAP konsantrasyonları içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 2.33 cm (Şekil 4.25.b), GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra farklı BAP konsantrasyonları içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 1.57 cm (Şekil 4.25.c) ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra farklı BAP konsantrasyonları içeren MS ortamda sürgün uzunluğu 1.24 cm (Şekil 4.25. d) olarak bulunmuştur.



Şekil 4.25 Kubilay 82 çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarının  
a. BAP  
b. SA  
c. GA<sub>3</sub>  
d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamında sürgün oluşumun ve gelişmelerine etkileri

Çizelge 4.50 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Sürgün Oluşum Oranı (%)*				Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*				Sürgün Uzunluğu (cm)**
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25	
BAP	33.33c	46.66b	60.00a	46.66a	3.33c	5.00a	5.00a	7.33a	1.31c
SA	73.33a	53.33a	60.00a	40.00b	7.33a	4.00b	5.33a	3.66c	2.23a
GA <sub>3</sub>	46.66b	26.66c	33.33bc	46.66a	4.00b	3.00c	3.00b	5.66b	1.57b
BAP + GA <sub>3</sub>	46.66b	26.66c	46.66b	40.00b	3.66c	3.33c	5.00a	3.66c	1.24c

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre farklı BAP konsantrasyonlar içeren MS ortamda 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 1.27 ile 2.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.51). Sonuçlara göre 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda eksplant başına sürgün uzunluğu elde edilmiştir.

Çizelge 4.51 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğuna ait ortalamaları

BAP Konsantrasyonları (µg/ml)	Sürgün Uzunluğu (cm)
1.00	1.27d
0.75	1.62b
0.50	1.46c
0.25	2.00a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Kubilay 82 çeşidinin SA ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 1.00 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.26).



Şekil 4.26 Kubilay 82 çeşidinin SA ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 1.00 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.4.4 Selçuk 99 çeşidi

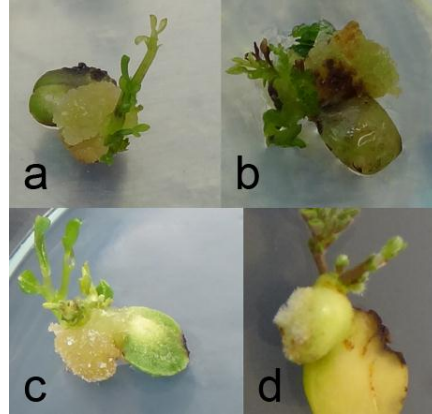
Yaygın fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarına değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.52’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Eksplant başına sürgün sayısı ve eksplant başına sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.52 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	88.88	0.41	5.13	2.51*	2.76	4.03*
BAP Konsantrasyonları	3	155.55	0.71	1.63	0.80*	0.30	0.44
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	111.11	0.51	3.80	1.86*	0.82	1.20*
Hata	32	216.66		2.04		0.68	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P<0.01$ , \*  $P<0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 3.33 ile 4.66, 2.66 ile 6.66, 3.66 ile 6.33 ve 3.33 ile 4.33 (adet) arasında değişmiştir (Çizelge 4.53). Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 1.19 ile 2.96 , 1.46 ile 2.10 , 1.18 ile 2.07 ve 1.07 ile 3.01 arasında değişmiştir (Çizelge 4.53). Sonuçlara göre 1.00, 0.5, 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu GA<sub>3</sub> priming ile, 0.75 µg/ml BAP (Şekil 4.27.a) üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu SA priming (Şekil 4.27.b) sonucunda elde edilmiştir. Sonuçlara göre 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı GA<sub>3</sub> priming ile (Şekil 4.27.c) ve 1.00 µg/ml BAP üzerinde Eksplant başına sürgün sayısı SA priming ile, 0.75 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming (Şekil 4.27.d) sonucunda elde edilmiştir (Çizelge 4.53).



Şekil 4.27 Selçuk 99 çeşidinde abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların  
a. BAP  
b. SA  
c. GA<sub>3</sub>  
d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Çizelge 4.53 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Sürgün Sayısı (adet)				Sürgün Uzunluğu (cm)			
	BAP Konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )				BAP Konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	4.00b	3.33b	3.66c	3.33c	1.19c	1.56b	1.30c	1.29c
SA	4.66a	2.66c	4.66b	3.66b	1.27c	2.10a	1.65b	1.82b
GA <sub>3</sub>	3.66c	3.00b	3.66c	4.33a	2.96a	1.46b	2.07a	3.01a
BAP + GA <sub>3</sub>	3.33c	6.66a	6.33a	3.66b	2.08b	1.21c	1.18d	1.07d

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.75  $\mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS ortam üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75  $\mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.28).



Şekil 4.28 Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.75  $\mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS ortam üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75  $\mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.5 Yaygın Fiğ Çeşitlerinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> İle Priming Uygulanmış Olan Adaksial Şekilde Kültüre Alınmış Kotiledon Eksplantların Değişik Oranlarda BAP İçeren MS Ortam Üzerinde Sürgün Rejenerasyonu

##### 4.5.1 Cumhuriyet 99 Çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların

değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.54’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.01$  ve sürgün uzunluğu  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu  $P<0.05$  düzeyinde priming ve BAP konsantrasyonlar arasında önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.54 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

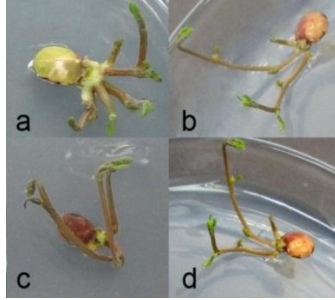
V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	2546.52	24.94**	69.27	34.28**	0.78	4.12*
BAP Konsantrasyonları	3	179.86	1.76*	5.72	2.83*	0.40	2.11*
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	172.45	1.68*	3.55	1.75*	0.48	2.54*
Hata	32	102.08		2.02		0.19	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Elde edilen sonuçlarına göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün oluşum oranı % 23.33 ile % 53.33, % 20.00 ile % 66.66, % 26.66 ile % 60.00 ve % 20.00 ile % 46.66 arasında değişmiştir (Çizelge 4.55). Sonuçlara göre 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi eksplant başına sürgün oluşumu BAP + GA<sub>3</sub> sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlarına göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 3.33 ile 8.33 (Şekil 4.29.a), 2.00 ile 8.33 (Şekil 4.29.b), 2.66 ile 9.00 (Şekil 4.29.c) ve 2.33 ile 6.33 (Şekil 4.29.d), arasında değişmiştir (Çizelge 4.55). Elde edilen sonuçlara göre 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün



uzunluğu 1.07 ile 1.71 cm , 1.14 ile 1.48 cm, 0.87 ile 2.21cm ve 1.07 ile 2.15 cm arasında değişmiştir (Çizelge 4.55). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.75 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu BAP priming sonucunda elde edilmiştir.



Şekil 4.29 Cumhuriyet 99 çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların

- a. BAP  
b. SA  
c. GA<sub>3</sub>  
d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra farklı oranda BAP içeren MS ortamda BAP üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Çizelge 4.55 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Sürgün Oluşumu Oranı (%)				Sürgün Sayısı (adet)			
	BAP Konsantrasyonları ( µg/ml)				BAP Konsantrasyonları ( µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	46.66b	20.00c	26.66c	26.66b	6.33b	2.00c	2.66c	3.33b
SA	23.33d	26.66b	26.66c	20.00c	3.33c	3.66b	2.66c	2.66c
GA <sub>3</sub>	33.33c	26.66b	33.33b	26.66b	3.33c	3.00b	3.33b	2.33c
BAP + GA <sub>3</sub>	53.33a	66.66a	60.00a	46.66a	8.33a	8.33a	9.00a	6.33a
Priming	Sürgün Uzunluğu (cm)							
	BAP Konsantrasyonları ( µg/ml)							
	1.00	0.75	0.50	0.25				
BAP	1.07c	1.48a	2.21a	1.48b				
SA	1.13c	1.15c	0.87c	2.03a				
GA <sub>3</sub>	1.37b	1.14c	1.02c	1.07b				
BAP + GA <sub>3</sub>	1.71a	1.33b	1.68b	2.15a				

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Cumhuriyet 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi sonucunda kökler izlenmiştir (Şekil 4.30).



Şekil 4.30 Cumhuriyet 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.5.2 Karaelçi çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.56'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.01$  ve sürgün uzunluğu  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıkları görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.05$  düzeyinde ve eksplant başına sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Sürgün oluşum oranı  $P<0.05$  düzeyinde ve eksplant başına sürgün uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde priming ve BAP konsantrasyonlar arasında önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.56 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	52.77	0.35	3.02	5.38**	0.10	2.31*
BAP Konsantrasyonları	3	297.22	1.98*	0.58	1.03*	0.59	12.74**
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	215.74	1.43*	0.34	0.60	0.17	3.76**
Hata	32	150.00		0.56		0.04	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.57 - 58'de verilmiştir.

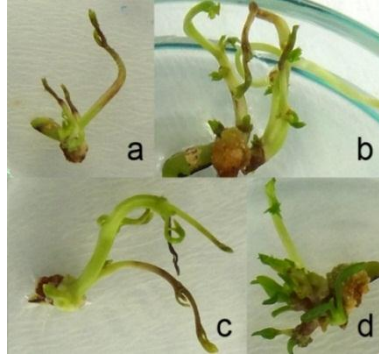
Elde edilen sonuçlarına göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün oluşum oranı % 26.66 ile % 46.66 (Şekil 4.31.a), % 33.33 ile % 46.66 (Şekil 4.31.b), % 20.00 ile % 40.00 (Şekil 4.31.c), ve % 20.00 ile % 33.33 (Şekil 4.31.d), arasında değişmiştir gelişen sürgünler fazla, morfolojik olarak güçlü ve geniş yapraklar izlenmiştir. (Çizelge 4.57). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşumu BAP priming ile, 0.75 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşumu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşumu SA priming sonucunda elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı 2.25 ile 3.41 adet arasında değişmiştir. Eksplant başına en fazla sürgünler BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucundan elde edilen sürgünlerden elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 0.80 ile 1.01, 0.58 ile 1.18, 0.84 ile 1.06 ve 0.92 ile 1.55 arasında değişmiştir (Çizelge 4.38). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi eksplant başına sürgün uzunluğu GA<sub>3</sub> priming ile, 0.75 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde en iyi eksplant başına sürgün uzunluğu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en eksplant başına sürgün uzunluğu BAP priming sonucunda elde edilmiştir.

Çizelge 4.57 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları

Priming	Sürgün Oluşum Oranı (%)*				Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)**			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)					BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25		1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	46.66a	33.33b	20.00d	26.66b	2.25b	0.86b	0.58d	0.84b	1.55a
SA	33.33b	33.33b	26.66c	33.33a	2.50b	0.80b	0.71c	0.85b	0.92c
GA <sub>3</sub>	26.66b	40.00ab	33.33b	20.00c	2.66b	1.01a	0.87b	0.86b	1.44ab
BAP + GA <sub>3</sub>	26.66b	46.66a	40.00a	26.66b	3.41a	0.47c	1.18a	1.06a	1.18b

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



Şekil 4.31 Karaelçi çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarının

a. BAP

b. SA

c. GA<sub>3</sub>

d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda BAP üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Elde edilen sonuçlara göre farklı BAP konsantrasyonları 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 2.50 ile 3.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.58). Sonuçlara göre 0.50 µg/ml BAP içeren MS ortamda fazla sürgün sayısı elde edilmiştir.

Çizelge 4.58 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısına ortalamalar

BAP Konsantrasyonları ( $\mu\text{g/ml}$ )	Eksplant Başına Sürgün Sayısı(adet)
1.00	2.50c
0.75	2.58c
0.50	3.00a
0.25	2.75b

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Karaelçi çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.5  $\mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75  $\mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.32).

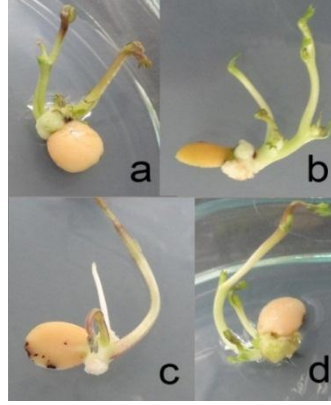


Şekil 4.32 Karaelçi çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.5  $\mu\text{g/ml}$  BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75  $\mu\text{g/ml}$  IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.5.3 Kubilay 82 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.59'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında

sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonları arasında sürgün oluşum oranı  $P<0.05$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde priming ve BAP konsantrasyonları arasında önemli etkileşim bulunmuştur.



Şekil 4.33 Kubilay 82 çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarının  
a. BAP  
b. SA  
c. GA<sub>3</sub>  
d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming ile uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda BAP üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Çizelge 4.59 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	2377.77	15.85**	40.55	36.04**	3.03	16.00**
BAP Konsantrasyonları	3	422.22	2.81*	11.16	9.92**	3.61	19.06**
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	474.07	3.16**	3.53	3.14**	1.07	5.64**
Hata	32	150.00		1.12		0.19	
Genel Toplam	47						

\*\* $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün oluşum oranı % 33.33 ile % 66.66 (Şekil 4.33.a), % 33.33 ile % 60.00 (Şekil 4.33.b), % 20.00 ile %73.33 (Şekil 4.33.c), ve % 26.66 ile % 60.00 (Şekil 4.33.d), arasında değişmiştir (Çizelge 4.60). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum oranı BAP priming ile ve 0.75, 0.5, 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum oranı sırasıyla BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 3.00 ile 6.00, 3.00 ile 8.00, 1.33 ile 7.00 ve 2.33 ile 6.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.60). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 0.63 ile 1.91 , 0.92 ile 1.94, 1.52 ile 3.35 ve 1.51 ile 3.05 arasında değişmiştir (Çizelge 4.60). Sonuçlara göre 1.00, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.75 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir.

Çizelge 4.60 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları

Priming	Sürgün oluşum Oranı (%)				Sürgün Sayısı (adet)				Sürgün Uzunluğu (cm)			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	66.66a	46.66c	33.33b	33.33b	5.66a	3.66c	3.00b	2.33b	0.88b	0.92d	2.12b	3.05a
SA	33.33c	33.33d	20.00c	26.66c	3.00b	3.00c	1.33c	2.66b	0.63b	1.28c	2.10b	1.71b
GA <sub>3</sub>	33.33c	53.33b	20.00c	26.66c	6.00a	5.33b	2.33c	2.33b	1.82a	1.94a	1.52b	1.51c
BAP + GA <sub>3</sub>	46.66b	60.00a	73.33a	60.00a	6.00a	8.00a	7.00a	6.33a	1.91a	1.78b	3.35a	3.32a

Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Kubilay 82 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.75 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34 Kubilay 82 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.75 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.5.4 Selçuk 99 çeşidi

Yaygınfiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantların değişik oranlarda BAP içeren MS ortam üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.61’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.05$  ve sürgün uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılık görülmüştür. Sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.05$  ve sürgün uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde priming ve BAP konsantrasyonlar arasında önemli etkileşim bulunmuştur.

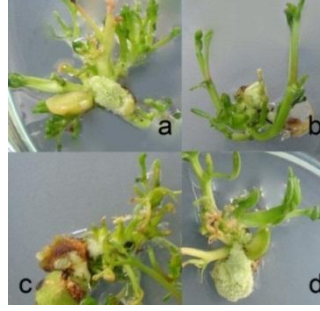


Çizelge 4.61 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	88.88	0.62	10.13	3.49*	11.50	16.83**
BAP Konsantrasyonları	3	244.44	1.72*	0.85	0.29	2.35	3.44*
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	170.37	1.20*	5.92	2.04*	2.63	3.85**
Hata	32	141.66		2.89		0.68	
Genel Toplam	47						

\*\* $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün oluşum oranı % 26.66 ile % 33.33, % 26.66 ile % 53.33, % 20.00 ile % 26.66 ve % 26.66 ile % 26.66 arasında değişmiştir (Çizelge 4.62). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşumu oranı GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum oranı BAP priming ile, 0.5 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum oranı sırasıyla SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşum oranı sırasıyla BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir (Şekil 4.35. a.b.c.d). Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 3.00 ile 6.00, 3.00 ile 7.66, 3.00 ile 6.33 ve 3.33 ile 6.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.62). Sonuçlara göre 1.00, 0.75 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP priming ile ve 0.5, 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 0.98 ile 2.17, 1.26 ile 4.94, 1.78 ile 3.56 ve 1.03 ile 4.73 arasında değişmiştir (Çizelge 4.62). Sonuçlara göre 1.00, 0.75 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu GA<sub>3</sub> priming ile, 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu SA priming sonucunda elde edilmiştir.



Şekil 4.35 Selçuk 99 çeşidinde adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarının  
a. BAP  
b. SA  
c. GA<sub>3</sub>  
d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda BAP üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

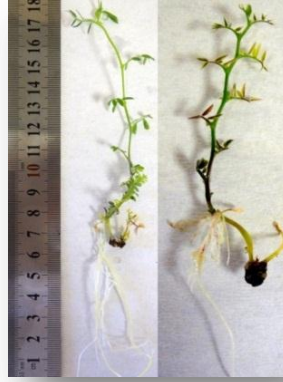
Çizelge 4.62 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlarının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Sürgün Oluşum Oranı (%)*				Sürgün Sayısı (adet)*			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	26.66b	53.33a	20.00b	26.66a	6.00a	7.66a	5.00b	4.33c
SA	26.66b	33.33b	26.66a	26.66a	3.66c	4.00b	3.00d	3.33d
GA <sub>3</sub>	33.33a	26.66c	26.66a	26.66a	4.33b	4.33b	4.66c	5.33b
BAP + GA <sub>3</sub>	20.00c	26.66c	26.66a	26.66a	3.00c	3.00c	6.33a	6.33a
Priming	Sürgün Uzunluğu (cm)**							
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)							
	1.00		0.75		0.50		0.25	
BAP	0.98d		1.26d		1.78d		1.03d	
SA	1.59c		3.10b		3.56a		1.92c	
GA <sub>3</sub>	2.17a		4.94a		2.37b		4.73a	
BAP + GA <sub>3</sub>	1.92b		1.32c		1.87c		2.41b	

\*\*Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütün içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.5 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.36).



Şekil 4.36 Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan adaksial şekilde kültüre alınmış kotiledon eksplantlarından 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.6 Yaygın Fiğ Çeşitlerinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> İle Priming Uygulanmış olan Tohumlardan Sürgün Rejenerasyonu

##### 4.6.1 Cumhuriyet 99 çeşidi

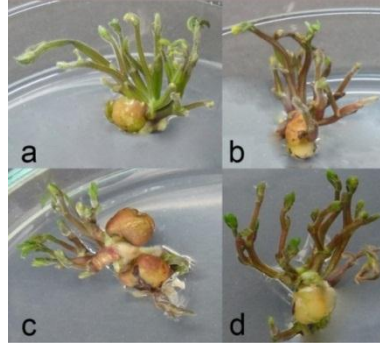
Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.63'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sırasıyla sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$ ,  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P<0.01$  düzeyinde ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.63 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	8724.30	41.87**	40.55	23.17**	569.62	37.45**
BAP Konsantrasyonları	3	1213.19	5.82**	2.83	1.61*	41.08	2.70*
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	1139.12	5.46**	3.09	1.76*	101.60	6.68**
Hata	32	208.33		1.75		15.21	
Genel Toplam	47						

\*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün oluşum oranı % 30.00 ile % 100.00 (Şekil 4.37.a), % 40.00 ile % 100.00 (Şekil 4.37.b), % 26.66 ile % 100.00 (Şekil 4.37.c) ve % 40.00 ile % 100.00 arasında değişmiştir (Şekil 4.37.d - Çizelge 4.64). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşumu SA priming ile ve 0.5, 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi sürgün oluşumu sırasıyla SA ve GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 2.66 ile 7.00, 2.33 ile 5.66, 2.33 ile 6.33 ve 2.33 ile 7.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.64). Sonuçlara göre 1.00, 0.75, 0.25 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde Eksplant başına sürgün sayısı BAP priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 1.55 ile 12.69, 1.38 ile 28.15, 1.54 ile 16.88 ve 1.89 ile 13.26 arasında değişmiştir (Çizelge 4.64). Sonuçlara göre 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu SA priming sonucunda elde edilmiştir (Şekil 4.37.b. c).



Şekil 4.37 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış tohumlardan gelişen gövde eksplantların

- a. BAP
- b. SA
- c. GA<sub>3</sub>
- d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda BAP üzerinde sürgün oluşumu

Çizelge 4.64 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu ortalamalar

Priming	Sürgün oluşum Oranı (%)**				Sürgün sayısı (adet)*			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	80.00b	80.00b	80.00b	93.33ab	7.00a	5.66a	6.33a	7.33a
SA	100.00a	100.00a	100.00a	100.00a	2.66c	2.00c	2.66c	2.33c
GA <sub>3</sub>	30.00c	40.00c	100.00a	100.00a	3.33bc	2.33c	2.33c	2.33c
BAP + GA <sub>3</sub>	33.33c	46.66c	26.66c	40.00c	4.33b	4.33b	3.00bc	6.00b
Priming	Sürgün Uzunluğu (cm)**							
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)							
	1.00	0.75	0.50	0.25				
BAP	1.63c	1.38c	1.54c		2.31b			
SA	12.69a	28.15a	16.88a		13.26a			
GA <sub>3</sub>	1.55c	3.69b	12.05b		13.26a			
BAP + GA <sub>3</sub>	3.07b	2.80b	2.03c		1.89c			

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumların farklı oranlarda BAP içeren MS ortamda gelişen sürgünlerin kök rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.65'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında kök sayısı, kök uzunluğu,

sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonları arasında kök oluşum oranı ve kök uzunluğu bakımından sırasıyla  $P<0.05$ ,  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Kök oluşum oranı, kök uzunluğu ve sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonları arasında  $P<0.01$  düzeyinde ve eksplant başına sürgün sayısı bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.65 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantının değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	Ko	f	K.O.	F
Priming	3	288.88	2.16	9.16	4.68**	50.38	28.88**
BAP Konsantrasyonları	3	555.55	4.16*	2.38	1.22	12.51	7.17**
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	429.63	3.22**	1.37	0.70	6.25	3.58**
Hata	32	133.33		1.95		1.74	
Genel Toplam	47						
V.K.	S.D.	Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Priming	3	12.13	8.82**	23.56	10.24**		
BAP Konsantrasyonları	3	0.47	0.34	0.83	0.36		
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	3.78	2.75*	9.34	4.06**		
Hata	32	1.37		2.29			
Genel Toplam	47						

\*\* $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.66 - 67'de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla kök oluşum oranı % 80.00 ile % 86.66, % 73.33 ile % 93.33, % 60.00 ile % 100.00 ve % 86.66 ile % 100.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.66). Elde edilen sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu BAP ve SA priming ile ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu

SA priming ile, 0.5 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en iyi kök oluşumu BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Eksplant başına kök sayısı 4.33 ile 6.25 adet arasında değişmiştir. Eksplant başına en fazla kökler SA priming sonucundan elde edilen sürgünlerden elde edilmiştir. Kök uzunluğu ise 1.00, 0.75 ve 0.25 µg/ml BAP konsantrasyonlarda sırasıyla 5.91 ile 7.49, 3.54 ile 8.51, 4.27 ile 10.20 ve 3.79 ile 10.81 arasında değişmiştir. Sonuçlara göre 1.00, 0.75 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en uzun kök BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en uzun kök GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Cumhuriyet 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulanmış tohumlardan 0.25 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen gövde eksplantlarından sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.38).



Şekil 4.38 Cumhuriyet 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış tohumlardan 0.25 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

Çizelge 4.66 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşum oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu ortalamalar

Priming	Kök Oluşum Oranı (%)				Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)					BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25		1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	86.66a	73.33b	60.00b	86.66a	4.50 c	7.09a	5.39b	8.06c	6.44b
SA	86.66a	93.33a	66.66b	93.33a	6.25 a	5.91b	3.54c	4.27d	3.79c
GA <sub>3</sub>	80.00a	80.00a	100.00a	93.33a	4.33 c	5.94b	6.08b	10.20a	10.31a
BAP + GA <sub>3</sub>	66.66b	80.00a	86.66a	100.00a	5.25 b	7.49a	8.51a	9.58b	10.81a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 3.66 ile 5.00, 3.66 ile 5.00, 2.33 ile 7.66 ve 3.00 ile 6.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.67). Sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün uzunluğu 3.67 ile 9.12, 4.86 ile 9.55, 6.51 ile 8.71 ve 4.03 ile 10.36 arasında değişmiştir (Çizelge 4.67). Elde edilen sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en uzun sürgünler BAP priming ile, 0.75 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda en uzun sürgünler BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en uzun sürgünler GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir.

Çizelge 4.67 Cumhuriyet 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)				Sürgün Uzunluğu (cm)			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	5.00a	4.66a	4.00b	3.66b	9.12a	6.90a	6.51b	4.03b
SA	4.66a	5.00a	7.66a	6.33a	3.67b	4.86b	7.02a	6.69a
GA <sub>3</sub>	4.00a	3.66b	4.66b	3.00b	6.78a	6.34a	8.71a	6.51a
BAP + GA <sub>3</sub>	3.66b	5.00a	2.33c	4.00b	8.23a	9.55a	7.55a	10.36a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

#### 4.6.2 Karaelçi çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.68'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$ ,  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.



Çizelge 4.68 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	22.22	0.66	29.52	10.57**	0.45	4.41*
BAP Konsantrasyonları	3	22.22	0.66	4.63	1.65*	0.31	3.02*
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	29.63	0.88	2.96	1.06*	0.12	1.24*
Hata	32	33.33		2.79		0.10	
Genel Toplam	47						

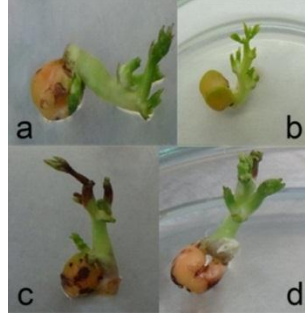
\*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 7.00 ile 12.33, 7.00 ile 11.33, 6.66 ile 9.66 ve 8.66 ile 11.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.69). Sonuçlara göre 1.00, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 0.98 ile 1.23 cm, 1.04 ile 1.59 cm, 1.13 ile 1.50 cm ve 1.15 ile 2.12 cm arasında değişmiştir (Çizelge 4.69). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir.

Çizelge 4.69 Karaelçi çeşidinde farklı priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Sürgün Sayısı (adet)				Sürgün Uzunluğu (cm)			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	7.00c	7.00b	6.66c	8.66b	0.98c	1.26c	1.24c	1.15d
SA	9.66b	8.33b	8.66b	9.66b	1.09b	1.43b	1.13d	1.48b
GA <sub>3</sub>	12.33a	11.33a	9.66a	11.33a	1.19a	1.59a	1.50a	2.12a
BAP + GA <sub>3</sub>	8.33c	11.33a	8.33b	9.33b	1.23a	1.04d	1.38b	1.31c

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



Şekil 4.39 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış tohumlardan gelişen gövde eksplantların

- BAP
- SA
- GA<sub>3</sub>
- BAP + GA<sub>3</sub> ile priming yapılmış ve daha sonra farklı oranlarda BAP içeren MS ortamda BAP üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumların değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda gelişen sürgünlerin kök rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.70'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında kök oluşum oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P < 0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sırasıyla kök oluşum oranı, kök sayısı, sürgün ve sürgün uzunluğu bakımından  $P < 0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Kök oluşum oranı ve sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P < 0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.70 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.o.	F	K.O.	F
Priming	3	1452.7 7	4.05*	5.79	3.02*	87.58	3.93*
BAP Konsantrasyonları	3	1141.6 6	3.18*	2.35	1.22*	8.14	0.36
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	437.96	1.22*	1.52	0.79	15.97	0.71
Hata	32	358.33		1.91		22.26	
Genel Toplam	47						
V.K.	S.D.	Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Priming	3	1.74	1.13*	17.02	1.96*		
BAP Konsantrasyonları	3	3.68	2.39*	16.87	1.94*		
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	0.74	0.48	19.08	2.20*		
Hata	32	1.54		8.67			
Genel Toplam	47						

\*\* $P < 0.01$ , \* $P < 0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.71-73'de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlarına göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla kök oluşum oranı % 26.66 ile % 60.00, %3 3.33 ile % 66.66, % 46.66 ile % 86.66 ve % 33.33 ile % 66.66 arasında değişmiştir (Çizelge 4.71). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en iyi kök oluşumu BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Eksplant başına kök sayısı 3.00 ile 4.58 adet arasında değişmiştir. Eksplant başına en fazla kök sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucundan elde edilen sürgünlerden elde edilmiştir. Kök uzunluğu ise 6.44 ile 12.27 cm arasında değişmiştir. En uzun kökler BAP priming sonucundan elde edilen sürgünlerden elde edilmiştir. Karaelçi çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming yapılmış tohumlardan 0.5 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen gövde eksplantlarından

sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi sonucundan kökler izlenmiştir (Şekil 4.40).

Çizelge 4.71 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşumu oranı, kök sayısı ve kök uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Kök Oluşum Oranı (%)				Eksplant başına kök sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)					
	1.00	0.75	0.50	0.25		
BAP	26.66c	33.33c	46.66c	46.66b	3.00b	12.27a
SA	33.33b	60.00a	53.33b	33.33c	3.25b	10.62ab
GA <sub>3</sub>	60.00a	53.33b	60.00a	46.66b	3.58b	12.03ab
BAP + GA <sub>3</sub>	33.33b	66.66a	86.66a	66.66a	4.58a	6.44b

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlarına göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün uzunluğu 7.45 ile 11.95, 5.80 ile 11.49, 4.53 ile 10.03 ve 5.21 ile 10.41 arasında değişmiştir (Çizelge 4.72). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde en uzun sürgünler BAP priming ile ve 0.50 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en uzun sürgünler SA priming sonucunda elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı 3.75 ile 4.58 adet arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> uygulama sonucundan elde edilmiştir.



Şekil 4.40 Karaelçi çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış tohumlardan 0.50 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

Çizelge 4.72 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğu ve eksplant başına sürgün sayısına ait ortalamaları

Priming	Sürgün Uzunluğu (cm)				Eksplant başına sürgün Sayısı (adet)
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				
	1.00	0.75	0.50	0.25	
BAP	11.95a	11.49a	4.53c	5.21b	3.75b
SA	9.00b	10.17a	10.03a	10.41a	4.41a
GA <sub>3</sub>	11.42a	5.80c	8.45a	7.64b	4.50a
BAP + GA <sub>3</sub>	7.45c	6.02b	5.26b	9.29a	4.58a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre farklı BAP konsantrasyonlar içeren MS ortamda 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sürgün sayısı 3.50 ile 4.75 arasında ve eksplant başına kök sayısı ise 3.25 ile 4.25 arasında değişmiştir (Çizelge 4.73). Sonuçlara göre 0.50 µg/ml BAP içeren MS ortamda hem en fazla eksplant başına sürgün sayısı ve hemde eksplant başına kök sayısı elde edilmiştir.

Çizelge 4.73 Karaelçi çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı, kök sayısına ait ortalamaları

BAP Konsantrasyonları (µg/ml)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Eksplant Başına kök Sayısı (adet)
1.00	4.50b	3.50b
0.75	3.50b	3.41b
0.50	4.75a	4.25a
0.25	4.50b	3.25b

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

#### 4.6.3 Kubilay 82 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.74'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında sürgün oluşumu oranı  $P<0.01$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP

konsantrasyonlar arasında sırasıyla sürgün oluşumu oranı  $P<0.01$  ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Sürgün oluşumu oranı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.05$  düzeyinde priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P<0.01$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

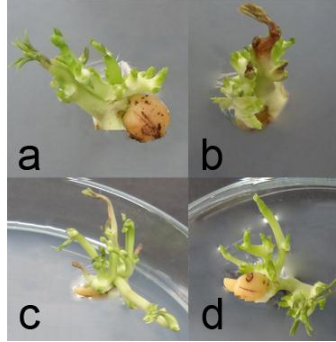
Çizelge 4.74 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu(cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	1096.52	12.53**	8.28	2.15*	9.39	1.56*
BAP Konsantrasyonları	3	618.75	7.07**	1.82	0.47	20.71	3.44*
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	831.71	9.50**	10.43	2.70*	18.94	3.15**
Hata	32	87.50		3.85		6.00	
Genel Toplam	47						

\*\* $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün oluşum oranı % 86.66 ile % 100.00, %80.00 ile % 100.00, % 73.33 ile % 90.00 ve % 36.66 ile % 100.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.75). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi eksplant başına sürgün oluşumu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.75 µg/ml BAP üzerinde en iyi eksplant başına sürgün oluşumu sırasıyla GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.5 µg/ml BAP üzerinde en iyi eksplant başına sürgün oluşumu BAP priming ile ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi eksplant başına sürgün oluşumu sırasıyla SA ve BAP + GA<sub>3</sub> sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 2.33 ile 7.66, 3.66 ile 7.10 , 2.33 ile 6.33 ve 3.66 ile 6.66 arasında değişmiştir (Çizelge 4.75). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde Eksplant başına sürgün sayısı BAP priming ile (Şekil 4.41.a), 0.75 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 3.58 ile 12.69 , 6.96 ile 11.99 (Şekil 4.41.c), 5.90 ile

6.66 ve 7.35 ile 10.60 arasında değişmiştir (Çizelge 4.75). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile (Şekil 4.41.d), 0.75 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu SA (Şekil 4.41.b) priming ile, 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün uzunluğu GA<sub>3</sub> priming ile elde edilmiştir (Şekil 4.41.c).



Şekil 4.41 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış tohumlardan gelişen gövde eksplantların

- a. BAP  
b. SA  
c. GA<sub>3</sub>  
d. BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış ve daha sonra değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda BAP üzerinde sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Çizelge 4.75 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün oluşumu oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamaları

Priming	Eksplant Başına Sürgün Oluşum Oranı (%)**				Sürgün Sayısı (adet)*			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	93.33b	86.66b	90.00a	93.33b	7.66a	3.66d	6.33a	4.33b
SA	96.66b	80.00c	66.66d	100.00a	4.66c	4.33c	2.33c	3.66c
GA <sub>3</sub>	86.66c	100.00a	73.33c	36.66c	5.00b	6.66b	3.33b	4.66b
BAP + GA <sub>3</sub>	100.00a	100.00a	86.66b	100.00a	2.33d	7.10a	6.00a	6.66a
Priming	Sürgün Uzunluğu (cm)**							
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)							
	1.00		0.75		0.50		0.25	
BAP	3.58d		9.42b		6.66b		9.15b	
SA	9.53b		11.99a		8.16a		7.35c	
GA <sub>3</sub>	5.43c		9.95b		5.90c		10.60a	
BAP + GA <sub>3</sub>	12.11a		6.96c		6.16b		9.31b	

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumların değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda gelişen sürgünlerin kök rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.76'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında kök oluşum oranı, sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$ ,  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sırasıyla kök oluşum oranı, kök sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$ , kök uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. kök oluşum oranı bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P<0.01$  düzeyinde ve kök sayısı, bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.76 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	Ko	F	K.O.	F
Priming	3	497.22	5.42**	1.68	0.57	1.73	0.42
BAP Konsantrasyonları	3	97.22	1.06*	3.24	1.09*	47.03	11.38**
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	408.33	4.45**	3.03	1.02*	6.02	1.45
Hata	32	91.66		2.95		4.13	
Genel Toplam	47						
V.K.	S.D.	Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Priming	3	0.96	0.45	6.32	0.81*		
BAP Konsantrasyonları	3	0.46	0.22	14.96	1.92*		
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	0.98	0.46	5.69	0.73		
Hata	32	2.10		7.75			
Genel Toplam	47						

\*\* $P<0.01$ , \* $P<0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.77-78'de verilmiştir.



Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla kök oluşum oranı % 66.66 ile % 100.00, % 60.00 ile % 100.00, % 80.00 ile % 86.66 ve % 73.33 ile % 86.66 arasında değişmiştir (Çizelge 4.77). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu BAP priming ile ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu SA priming ile ve 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en iyi kök oluşumu sırasıyla BAP ve BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.25 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu SA ve GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlarına göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına kök sayısı 4.00 ile 4.66, 3.00 ile 6.66, 4.00 ile 6.00 ve 5.00 ile 6.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.77). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına kök sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına kök sayısı sırasıyla SA ve GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise eksplant başına kök sayısı BAP priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla kök uzunluğu 7.00 ile 9.08 cm, 5.34 ile 7.17 cm, 3.04 ile 4.91 cm ve 5.40 ile 8.78 cm arasında değişmiştir (Çizelge 4.77). Sonuçlara göre 1.00 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde kök uzunluğu GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.75 µg/ml BAP üzerinde kök uzunluğu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise kök uzunluğu BAP priming sonucunda elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu ise 7.02 ile 8.76 cm arasında değişmiştir. En uzun sürgünler GA<sub>3</sub> priming sonucundan elde edilen sürgünlerden elde edilmiştir. Kubilay 82 çeşidinin GA<sub>3</sub> priming ile yapılmış tohumlardan 0.5 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen gövde eksplantlarından sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.42).



Şekil 4.42 Kubilay 82 çeşidinin GA<sub>3</sub> ile priming ile uygulanmış tohumlardan 0.5 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

Çizelge 4.77 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşumu oranı, kök sayısı, kök uzunluğu ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Kök Oluşum Oranı (%)**				Kök Sayısı (adet)*			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	100.00a	80.00b	86.66a	73.33b	4.00b	6.66a	4.00c	5.00b
SA	80.00b	100.00a	80.00b	86.66a	4.00b	5.33b	5.33b	6.00a
GA <sub>3</sub>	66.66c	60.00c	80.00b	86.66a	4.33b	3.00c	4.33c	6.00a
BAP + GA <sub>3</sub>	80.00b	66.66c	86.66a	73.33b	4.66a	5.33b	6.00a	5.00b
Priming	Kök Uzunluğu (cm)**				Sürgün Uzunluğu (cm)*			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)							
	1.00	0.75	0.50	0.25				
BAP	8.16a	5.34b	4.91a	5.40b	7.75b			
SA	8.98a	4.01c	3.04b	8.78a	8.12a			
GA <sub>3</sub>	9.08a	5.77b	3.39b	8.78a	8.76a			
BAP + GA <sub>3</sub>	7.00b	7.17a	3.73b	5.87b	7.02b			

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre farklı BAP konsantrasyonları içeren MS ortamda 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün uzunluğu 6.26 ile 8.66 arasında değişmiştir (Çizelge 4.78). Sonuçlara göre 0.50 µg/ml BAP içeren MS ortamda fazla sürgün uzunluğu elde edilmiştir.

Çizelge 4.78 Kubilay 82 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğuna ait ortalamaları

BAP Konsantrasyonları (µg/ml)	Sürgün Uzunluğu (cm)
1.00	6.26b
0.75	8.23a
0.50	8.66a
0.25	8.51a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

#### 4.6.4 Selçuk 99 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.79’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.01$  düzeyinde ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sırasıyla sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklıklar görülmüştür. Eksplant başına sürgün sayısı  $P<0.01$  düzeyinde, sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında önemsizlik etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.79 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analizi sonuçlar

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Priming	3	5.55	0.44	89.58	14.09**	35.62	2.96*
BAP Konsantrasyonları	3	16.66	1.33*	36.36	5.72**	19.57	1.63*
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	11.11	0.88	25.19	3.96**	8.29	0.69
Hata	32	12.50		6.35		12.00	
Genel Toplam	47						

\*\* $P<0.01$ ,\*  $P<0.05$

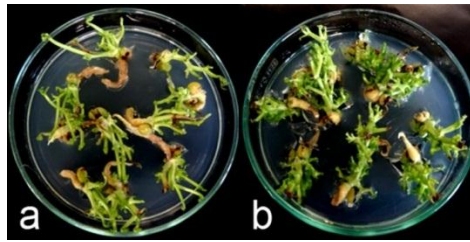
Elde edilen sonuçlarına göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 2.33 ile 13.36 (Şekil 4.43.a), 2.33 ile 13.33 (Şekil 4.43.b), 2.00 ile 3.00 ve 2.33 ile 3.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.80). Sonuçlara göre 1.00, 0.75 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün uzunluğu 7.71cm ile 11.59 cm arasında değişmiştir. Eksplant başına sürgün uzunluğu BAP priming sonucundan elde edilen sürgünlerden elde edilmiştir.

Çizelge 4.80 Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranda BAP üzerinde eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)**				Sürgün Uzunluğu (cm)*
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				
	1.00	0.75	0.50	0.25	
BAP	3.33b	3.33c	2.33c	3.00a	11.59a
SA	2.33c	2.33d	2.00d	2.33b	11.05a
GA <sub>3</sub>	3.33b	4.00b	3.00a	3.00a	10.45b
BAP + GA <sub>3</sub>	13.66a	13.33a	2.66b	3.33a	7.71c

\*\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



Şekil 4.43 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış tohumlardan gelişen gövde eksplantların

a. BAP

b. SA ile priming uygulanmış ve daha sonra 0.5µg/ml BAP içeren MS ortamda sürgün oluşumuna ve gelişmelerine etkileri

Elde edilen sonuçlarına göre değişik BAP konsantrasyonlar içeren MS ortamda 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün oluşumu oranı ve eksplant başına sürgün uzunluğu % 97.50 ile % 100.00 ve 8.49 ile 11.38 arasında değişmiştir (Çizelge 4.81). Sonuçlara göre 0.75, 0.50 µg/ml BAP içeren

MS ortamda eksplant başına sürgün oluşumu oranı ve 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamda fazla sürgün uzunluğu elde edilmiştir.

Çizelge 4.81 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranda BAP üzerinde Sürgün Oluşum Oranı, Sürgün Uzunluğuna ait ortalamalar

BAP Konsantrasyonları (µg/ml)	Sürgün Oluşum Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (cm)
1.00	99.16b	10.93b
0.75	100.00a	8.49d
0.50	100.00a	11.38a
0.25	97.50c	10.00c

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

### ***Köklendirilmesi***

Yaygın fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumların değişik oranlarda BAP içeren MS ortamda gelişen sürgünlerin kök rejenerasyonuna ait varyans analiz sonuçları çizelge 4.82’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre priming uygulamalar arasında kök oluşum oranı  $P<0.01$  düzeyinde, kök sayısı, kök uzunluğu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Varyans analiz sonuçlarına göre BAP konsantrasyonlar arasında sırasıyla kök oluşum oranı, Kök sayısı, ve sürgün sayısı bakımından,  $P<0.05$  düzeyinde ve kök uzunluğu  $P<0.01$  düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. Kök oluşum oranı  $P<0.01$  düzeyinde ve kök sayısı, kök uzunluğu ve sürgün uzunluğu bakımından priming ve BAP konsantrasyonlar arasında  $P<0.05$  düzeyinde önemli etkileşim bulunmuştur.

Çizelge 4.82 Selçuk 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantlarından değişik oranlarda BAP üzerinde rejenerasyonuna ait varyans analizi

V.K.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	Ko	F	K.O.	F
Priming	3	586.11	8.79**	4.24	3.04*	11.91	1.33*
BAP Konsantrasyonları	3	163.88	2.45*	1.18	0.85*	43.00	4.81**
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	215.74	3.23**	2.20	1.58*	14.06	1.57*
Hata	32	66.66		1.39		8.93	
Genel Toplam	47						
V.K.	S.D.	Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)			
		K.O.	F	K.O.	F		
Priming	3	1.79	1.66*	16.79	2.70*		
BAP Konsantrasyonları	3	1.07	0.99*	3.24	0.52		
Priming × BAP Konsantrasyonları	9	0.91	0.84	5.91	0.95*		
Hata	32	1.08		6.20			
Genel Toplam	47						

\*\*P<0.01, \*P<0.05

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.83 - 85'de verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla kök oluşum oranı % 80.00 ile % 100.00, % 93.33 ile % 100.00, % 73.33 ile % 100.00 ve % 80.00 ile % 100.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.83). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde en iyi kök oluşumu BAP ve GA<sub>3</sub> priming ile, 0.75 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en iyi kök oluşumu GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en iyi kök oluşumu BAP priming ile ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en iyi kök oluşumu BAP ve BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına kök sayısı 3.33 ile 3.66, 2.66 ile 6.33, 3.33 ile 4.33 ve 2.66 ile 4.33 arasında değişmiştir (Çizelge 4.83). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına kök sayısı BAP, GA<sub>3</sub>

ve BAP + GA<sub>3</sub> , 0.75 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına kök sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.5 µg/ml BAP üzerinde eksplant başına kök sayısı BAP + GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise eksplant başına kök sayısı BAP priming sonucunda elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> ile priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla kök uzunluğu 4.34 ile 6.20, 5.68 ile 11.66, 5.46 ile 7.25 ve 6.21 ile 12.46 arasında değişmiştir (Çizelge 4.83). Sonuçlara göre 1.00 µg/ml BAP üzerinde kök uzunluğu GA<sub>3</sub> priming ile, 0.75 µg/ml BAP üzerinde kök uzunluğu BAP + GA<sub>3</sub> priming ile, 0.5 µg/ml BAP üzerinde kök uzunluğu SA priming ile ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise kök uzunluğu BAP priming sonucunda elde edilmiştir. Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> priming ile uygulanmış tohumlardan gelişen gövde eksplantlarından sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir (Şekil 4.44).



Şekil 4.44 Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> priming ile uygulanmış tohumlardan 0.75 µg/ml BAP içeren MS üzerinde gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

Çizelge 4.83 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming ile uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde kök oluşumu oranı, kök sayısı ve kök uzunluğuna ait ortalamalar

Priming	Kök Oluşum Oranı (%)**				Kök Sayısı (adet)*			
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				BAP Konsantrasyonları (µg/ml)			
	1.00	0.75	0.50	0.25	1.00	0.75	0.50	0.25
BAP	100.00a	93.33b	100.00a	100.00a	3.66a	4.66b	3.66b	5.00a
SA	80.00b	93.33b	73.33c	80.00b	3.33b	3.66c	3.33b	2.66c
GA <sub>3</sub>	100.00a	100.00a	86.66b	80.00b	3.66a	2.66c	4.00a	4.33b
BAP + GA <sub>3</sub>	80.00b	100.00a	93.33b	100.00a	3.66a	6.33a	4.33a	4.00b
Priming	Kök Uzunluğu (cm)*							
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)							
	1.00	0.75	0.50	0.25				
BAP	4.34b	10.64b	5.63b	12.46a				
SA	4.60b	7.95c	7.25a	6.65b				
GA <sub>3</sub>	6.20a	5.68c	5.46b	6.21b				
BAP + GA <sub>3</sub>	4.85b	11.66a	4.45c	6.90b				

\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Elde edilen sonuçlara göre BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> priming uygulamalardan sonra 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla sürgün uzunluğu 7.40 ile 13.45, 7.22 ile 11.32, 9.28 ile 11.54 ve 8.62 ile 10.31 arasında değişmiştir (Çizelge 4.84). Sonuçlara göre 1.00, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP üzerinde en uzun sürgünler GA<sub>3</sub> priming ile ve 0.75 µg/ml BAP içeren MS ortamda ise en uzun sürgünler BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı 3.75 ile 4.08 adet arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı BAP + GA<sub>3</sub> uygulama sonucundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.84 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün uzunluğu ve eksplant başına sürgün sayısına ait ortalamaları

Priming	Sürgün Uzunluğu (cm)				Sürgün Sayısı (adet)
	BAP Konsantrasyonları (µg/ml)				
	1.00	0.75	0.50	0.25	
BAP	7.40c	7.22d	10.59b	9.25b	3.75b
SA	8.87b	9.67c	11.08a	9.70b	3.25b
GA <sub>3</sub>	13.45a	10.50b	11.54a	10.31a	3.33b
BAP + GA <sub>3</sub>	8.86b	11.32a	9.28c	8.62c	4.08a

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



Elde edilen sonuçlara göre değişik BAP konsantrasyonlar içeren MS ortamında 1.00, 0.75, 0.5 ve 0.25 µg/ml BAP içeren MS ortamda sırasıyla eksplant başına sürgün sayısı 3.33 ile 4.00 arasında değişmiştir (Çizelge 4.85). Sonuçlara göre 0.75 µg/ml BAP içeren MS ortamda en fazla eksplant başına sürgün sayısı elde edilmiştir.

Çizelge 4.85 Selçuk 99 çeşidinde farklı priming uygulanmış olan tohumlardan gelişen gövde eksplantın değişik oranlarda BAP üzerinde sürgün sayısına ait ortalamaları

BAP Konsantrasyonları (µg/ml)	Sürgün Sayısı (adet)
1.00	3.66b
0.75	4.00a
0.50	3.33c
0.25	3.41b

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

#### **4.7 Yaygın Fiğ Çeşitlerinin Olgunlaşmamış Embriyo Eksplantların Değişik Oranlarda Uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonların Etkisi İle Sürgün Rejenerasyonu**

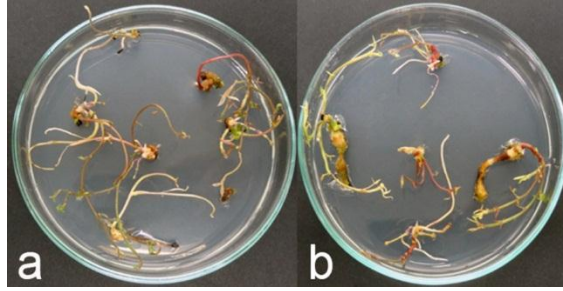
##### **4.7.1 Cumhuriyet 99 çeşidi**

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.86'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sürgün oluşum oranı, kök oluşum oranı, kök sayısı, kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından  $P<0.01$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.86 Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	282.22	1.05*	29.40	8.50**	7.36	8.69**
Hata	32	266.66		3.45		0.84	
Genel Toplam	47						
V.k.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	612.77	2.45*	5.28	2.88*	0.38	1.08*
Hata	32	250.00		1.83		0.35	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$



Şekil 4.45 Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların

a. 0.5 µg/ml BAP + 0.075 µg/ml NAA

b. 0.75 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA içeren MS ortamda sürgün rejenerasyonu

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.87’de verilmiştir.

Çizelge 4.87 Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarının değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonunun ortalamaları

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Sürgün Oluşum oranı (%)*	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)**	Sürgün Uzunluğu (cm)**	Kök Oluşum oranı (%)*	Kök Sayısı (adet)*	Kök Uzunluğu (cm)*
0.25	0.025	80.00ab	5.00e	4.09c	80.00ab	7.33ab	2.51a
0.25	0.050	73.33bc	6.33d	4.61c	66.66bc	4.66c	1.56bc
0.25	0.075	80.00ab	7.00cd	6.01a	60.00c	5.00bc	1.98b
0.25	0.100	100.00a	7.33cd	4.39c	66.66abc	5.00bc	1.28c
0.50	0.025	93.33ab	7.66cd	4.20c	66.66bc	4.00c	2.50ab
0.50	0.050	80.00ab	7.66cd	5.12ab	66.66bc	3.66cd	1.83b
0.50	0.075	86.66ab	6.33d	5.99ab	86.66a	4.66c	2.02ab
0.50	0.100	80.00ab	5.00e	4.21cd	46.66cd	2.66e	1.77b
0.75	0.025	93.33ab	11.66ab	2.09d	80.00ab	7.66a	1.35c
0.75	0.050	73.33bc	12.66ab	2.03d	46.66cd	3.66cd	1.58bc
0.75	0.075	86.66ab	12.66ab	2.07d	46.66cd	5.00bc	1.70b
0.75	0.100	93.33ab	13.33a	1.77e	66.66bc	5.33bc	1.58bc
1.00	0.025	80.00ab	12.66ab	1.94e	40.00d	3.00c	1.58bc
1.00	0.050	100.00a	13.33a	2.05d	46.66cd	4.33c	1.50bc
1.00	0.075	80.00ab	11.33ab	1.97e	46.66cd	4.33c	1.54bc
1.00	0.100	66.66bc	10.66bc	1.96e	53.33c	5.00bc	1.53bc

\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parametreler arasındaki farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.87’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün oluşum oranı % 73.33 ile % 100.00 arasında değişmiştir. En fazla sürgün oluşum oranı 0.25 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA ve 1.00 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 5.00 ile 13.33 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 0.75 µg/ml BAP + 0.1 µg/ml NAA (Şekil 4.45.b) ve 1.00 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.77cm ile 5.99cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.5 µg/ml BAP + 0.075 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir (Şekil 4.45.a). Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 46.66 ile % 86.66 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.5 µg/ml BAP + 0.075 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Cumhuriyet 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 0.1 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren

ortamda gelişen sürgünlerinden 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda en uzun kök elde edilmiştir (Şekil 4.46).



Şekil 4.46 Cumhuriyet 99 çeşidinin 0.1 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.7.2 Karaelçi çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.88’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı , kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde ve, sürgün uzunluğu ve kök oluşum oranı, bakımından  $P<0.01$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.88 Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	442.22	1.43*	8.95	2.00*	3.15	3.60**
Hata	32	308.33		4.45		0.87	
Genel Toplam	47						
V.k.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	715.00	2.86**	3.18	1.62*	0.48	2.48*
Hata	32	250.00		1.95		0.19	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P < 0.01$ , \*  $P < 0.05$

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları Çizelge 4.89’de verilmiştir.

Çizelge 4.89 Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonunun ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Sürgün Oluşum Oranı (%)*	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet*)	Sürgün Uzunluğu (cm)**	Kök Oluşum Oranı (%)**	Kök Sayısı (adet)*	Kök Uzunluğu (cm)*
0.25	0.025	100.00a	5.33c	5.60a	66.66ab	4.33cd	2.03ab
0.25	0.050	86.66ab	5.00c	3.38bcde	53.33c	4.66 cd	1.52cd
0.25	0.075	86.66ab	4.33d	2.10de	66.66ab	4.66cd	1.76bc
0.25	0.100	100.00a	8.33a	3.89bcde	33.33d	5.33bc	1.47cd
0.50	0.025	73.33b	6.00bc	3.33bcde	66.66ab	4.66cd	1.98b
0.50	0.050	86.66ab	9.66a	2.95cde	86.66a	7.66a	1.06d
0.50	0.075	73.33a	5.00c	2.38cde	53.33c	6.00bc	1.89bc
0.50	0.100	66.66bc	4.00d	2.11de	33.33d	5.00c	1.45bc
0.75	0.025	73.33a	7.33ab	4.12ab	46.66cd	4.66cd	1.98b
0.75	0.050	66.66bc	7.33ab	3.05bcde	66.66ab	4.00 c	1.50cd
0.75	0.075	86.66ab	4.66cd	4.81ab	60.00bc	4.66cd	2.92a
0.75	0.100	66.66bc	4.66cd	2.24de	66.66ab	5.66bc	1.84bc
1.00	0.025	66.66bc	7.00b	3.11bcde	46.66cd	3.66c	1.63cd
1.00	0.050	60.00c	8.00ab	1.88e	53.33c	4.33cd	1.91bc
1.00	0.075	73.33b	4.33d	2.77cde	86.66a	5.66bc	1.84bc
1.00	0.100	73.33b	4.66cd	2.85cde	53.33c	6.66ab	1.58cd

\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*\* Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



Şekil 4.47 Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların 0.25 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamda sürgün rejenerasyonu

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.89’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün oluşum oranı % 60.00 ile % 100.00 arasında değişmiştir. En fazla sürgün oluşum oranı 0.25 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA ve 0.25 µg/ml BAP + 0.10 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 4.33 ile 9.66 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.88 cm ile 5.60 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.25 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir (Şekil 4.47). Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 33.33 ile %86.66 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA ve 1.00 µg/ml BAP + 0.075 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Karaelçi çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren ortamda gelişen sürgünlerinden 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda en uzun kök elde edilmiştir (Şekil 4.48).



Şekil 4.48 Karaelçi çeşidinin 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.7.3 Kubilay 82 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Kubilay 82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.90'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı, kök oluşum oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde ve sürgün uzunluğu ve bakımından  $P<0.01$  düzeyinde farklılığı izlenmiştir.

Çizelge 4.90 Kubilay 82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	315.00	1.02*	7.00	1.59*	4.84	11.68**
Hata	32	308.33		4.39		0.41	
Genel Toplam	47						
V.k.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	462.22	1.35*	5.17	2.02*	0.16	0.99*
Hata	32	341.66		2.56		0.16	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$



Şekil 4.49 Kubilay82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortam konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.91’de verilmiştir.

Çizelge 4.91 Kubilay 82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik da uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan oranları sürgün rejenerasyonunun ortalamaları

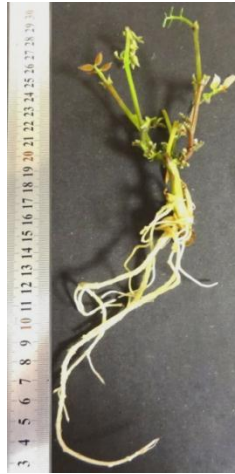
BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Sürgün Oluşum oranı (%)*	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)**	Kök Oluşum Oranı (%)*	Kök Sayısı (adet)*	Kök Uzunluğu (cm)*
0.25	0.025	73.33b	5.33 de	3.09cde	66.66ab	5.33ab	1.69bc
0.25	0.050	73.33b	5.66 de	4.84ab	46.66cd	4.33bc	1.37de
0.25	0.075	73.33b	6.66cd	5.19a	40.00cd	4.33bc	1.74ab
0.25	0.100	86.66ab	5.66 de	4.16abc	60.00ab	5.33ab	1.18de
0.50	0.025	73.33b	7.00 bc	2.66def	46.66cd	5.33a	1.84ab
0.50	0.050	60.00c	7.66 bc	4.22abc	46.66cd	5.66ab	1.20de
0.50	0.075	66.66bc	6.66cd	4.43ab	66.66ab	3.00c	1.87a
0.50	0.100	66.66bc	4.66de	3.48bcd	33.33d	2.66b	1.52c
0.75	0.025	93.33a	10.00a	2.00e	80.00a	7.33a	1.45cd
0.75	0.050	66.66bc	9.00ab	2.09e	46.66ab	3.00c	1.55bc
0.75	0.075	86.66ab	7.00bc	2.06e	53.33 bc	4.33bc	1.82ab
0.75	0.100	80.00ab	6.66cd	1.94e	40.00cd	3.00c	1.49cd
1.00	0.025	66.66bc	5.00cd	1.63e	53.33 bc	3.00c	1.30cd
1.00	0.050	93.33a	9.33ab	1.90e	60.00ab	3.66c	1.53bc
1.00	0.075	66.66bc	7.33bc	1.58f	66.66ab	4.66bc	1.35cd
1.00	0.100	80.00ab	7.00bc	1.60f	46.66ab	5.66ab	1.19de

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P < 0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur



Gözlenen parametreler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.91’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün oluşum oranı % 60.00 ile % 93.33 arasında değişmiştir. En fazla sürgün oluşum oranı 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA ve 1.00 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 4.66 ile 10.00 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.58 cm ile 5.19 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 0.25 µg/ml BAP + 0.075 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir (Şekil 4.49). Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 33.33 ile % 80.00 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan ve kök uzunluğu 0.5 µg/ml BAP + 0.075 µg/ml NAA içeren ortamda elde edilmiştir. Kubilay 82 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren ortamda gelişen sürgünlerinden 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda en uzun kök elde edilmiştir (Şekil 4.50).



Şekil 4.50 Kubilay 82 çeşidinin 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### 4.7.4 Selçuk 99 çeşidi

Yaygın fiğ bitkisinin Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analiz sonuçları çizelge 4.92’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sürgün oluşum oranı  $P<0.01$  düzeyinde, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu , kök oluşum oranı, kök sayısı ve Kök Uzunluğu bakımından  $P<0.05$  düzeyinde farklılıklar izlenmiştir.

Çizelge 4.92 Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu ile ilgili varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	602.22	3.28**	11.50	1.51*	1.35	1.31*
Hata	32	183.33		7.60		1.03	
Genel Toplam	47						
V.k.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Kök Sayısı (adet)		Kök Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Uygulama	15	568.33	2.27*	8.32	2.32*	0.67	2.32*
Hata	32	250.00		3.58		0.29	
Genel Toplam	47						

\*\*  $P<0.01$ , \* $P<0.05$



Şekil 4.51 Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortam konsantrasyonlarının etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonu

Önemli bulunmuş parametrelerine ait farklılık ve etkileşim gösteren ortalamaların sonuçları çizelge 4.93’de verilmiştir.

Çizelge 4.93 Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantların değişik oranlarda uygulanan BAP + NAA konsantrasyonların etkisi ile oluşan sürgün rejenerasyonunun ortalamalar

BAP (µg/ml)	NAA (µg/ml)	Sürgün Oluşum Oranı (%)**	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)*	Sürgün Uzunluğu (cm)*	Kök Oluşum Oranı (%)*	Kök Sayısı (adet)*	Kök Uzunluğu (cm)*
0.25	0.025	93.33ab	8.00bc	3.08 cd	73.33ab	5.00de	1.85cd
0.25	0.050	73.33bc	6.33bc	2.98 de	53.33cd	5.66d	1.82cd
0.25	0.075	93.33ab	6.33bc	3.24 bc	66.66 bc	7.00cd	2.61ab
0.25	0.100	100.00a	8.66bc	3.19 cd	86.66a	5.66d	2.00 bc
0.50	0.025	86.66ab	6.66bc	3.63 bc	66.66 bc	8.33ab	2.76a
0.50	0.050	100.00a	9.33ab	2.40de	73.33ab	8.66ab	1.58de
0.50	0.075	93.33ab	6.00cd	3.68 bc	53.33cd	8.66ab	1.90bc
0.50	0.100	80.00ab	4.33cd	3.68 bc	46.66d	6.66cd	1.68de
0.75	0.025	93.33ab	11.00a	4.12ab	66.66 bc	8.00bc	2.56ab
0.75	0.050	66.66bc	4.00cd	3.48 cd	46.66d	4.66de	1.94bc
0.75	0.075	66.66bc	5.66cd	2.80de	66.66bc	6.66cd	1.75d
0.75	0.100	86.66ab	7.33bc	2.74de	73.33ab	9.00a	1.51de
1.00	0.025	93.33ab	7.00bc	4.70a	86.66a	7.33cd	2.61ab
1.00	0.050	53.33c	3.33d	2.95de	40.00de	3.33e	1.23e
1.00	0.075	73.33bc	6.66bc	2.60de	53.33cd	6.00abcd	1.61de
1.00	0.100	66.66bc	6.66bc	1.98e	66.66bc	5.00 de	1.34e

\*\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.01$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

\*Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi sonuçlarına göre  $P<0.05$  düzeyinde farklılık bulunmuştur

Gözlenen parameterler arasında farklılığın önem düzeyi belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.93’de verilmiştir. Eksplant başına sürgün oluşum oranı % 53.33 ile % 100.00 arasında değişmiştir. En fazla sürgün oluşum oranı 0.25 µg/ml BAP + 0.10 µg/ml NAA ve 0.5 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı adet olarak 3.33 ile 11.00 arasında değişmiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 1.98 cm ile 4.70 cm arasında değişmiş olup, en fazla sürgün uzunluğu 1.00 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde edilmiştir (Şekil 4.51). Eksplant başına kök oluşum oranı ise % 46.66 ile % 86.66 arasında değişmiştir. Kök oluşum oranı 0.25 µg/ml BAP + 0.10 µg/ml NAA ve 1.00 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamdan elde

edilmiştir. Kök sayısı adet olarak en fazla 0.75 µg/ml BAP + 0.10 µg/ml NAA kök uzunluğu 0.5 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren ortamda içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Selçuk 99 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren ortamda gelişen sürgünlerinden 0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamda en uzun kök elde edilmiştir (Şekil 4.52).



Şekil 4.52 Selçuk 99 çeşidinin 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren MS ortamda olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından gelişen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmesi

#### **4.8 *In vitro*"da Geliştirilen Bitkiciklerin Dış Şartlara Alıştırılması**

*In vitro* koşullarda gelişen (Şekil 4. 53) ve transgenik aday köklenmiş bitkilerin dış şartlara alıştırılması amacıyla torf bulunduğu siyah renkli polytin saksılara iklim odasında  $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , 4000 lüks ışık 16 saat ışık fotoperiyodu ve %70 -72 nem sağlanmıştır. Yaklaşık 1 hafta sonra nem seviyesi % 43 - 45'e düşürülmüştür. Burada gelişen bitkiler killi torflu (1:1) bulunduğu plastik saksılara aktararak serada geliştirilmiş ve bitkilerden çiçek ve tohum elde edilmiştir (Şekil 4.54). Çalışma faktoriyel deneme desenine göre yapılmıştır/kurulmuştur.



Şekil 4. 53 *In vitro* koşullarda gelişen köklenmiş yaygın fiğ bitkilerin dış şartlara alıştırılması



Şekil 4.54 *In vitro* koşullarda gelişen yaygın fiğ (a) Karaelçi, (b) Cumhuriyet 99, (c) Selçuk 99 ve (d) Kubilay 82 çeşitlerinde bitkilerden elde edilen kurutulmuş bakla ve tohumların şematik görüntüsü

## 4.9 Gen Aktarım Çalışmaları

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde epikotil, hipokotil eksplantından adventif ve kotiledon boğum, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantından yan sürgün rejenerasyonu çalışmalarında en başarılı sonuç veren hormon kombinasyonları kullanarak gen aktarım çalışmaları devam edilmiştir. Her dört çeşidinin 100'er adet epikotil, hipokotil ve kotiledon boğum eksplantları *A. tumefaciens*'nin EHA105::p35 *GUS INT*, LBA4404 p*RGGbar*, A136 NC, A281::p35 *GUS INT* ve *A. rhizogenes*'nin 15834 hatlarıyla materyal ve yöntemde belirtilmiş gibi muamele edilmiştir. Her dört çeşidinde her hangi transgenik pozitif sonucu elde edilememiştir. Ancak, Bhatti (2001) ve Khawar vd. (2002) mercimekte de bu *Agrbacterium* hatlarıyla başarılı şekilde transgenik mercimek bitkiler elde etmişlerdir. Çalışma sonucunda *A. tumefaciens*'nin EHA105::p35 *GUS INT*, LBA4404 p*RGGbar*, A136 NC, A281::p35 *GUS INT* ve *A. rhizogenes*'nin 15834 hatlarının fiğ bitkisinin transformasyon için uyumsuzluğunu ve yetersizliğini göstermektedir.

Daha sonraki çalışmalarda hipokotil, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantları *A. tumefaciens*'nin GV2260 *GUS INT*, LBA4404 p*TF101 AopRI CryIAC bar*, LBA4404 *Cry2A*, GNA, C58C1 p*Green AopRI CryIAC bar* ve C58C1 p*Green 35S CryIAC bar* hatlarıyla da materyal yöntemde belirtilmiş gibi muamele edilmiş olup, seleksiyon ortamlarına alınmıştır. Seleksiyon ortamda yaşayan/ canlı kalan eksplantlar üzerinde gelişen sürgünleri 6 hafta sonra 0.75 µg/ml IBA + seçici antibiyotik ve bakteriostatik 250 µg/ml Duocid içeren ortamına akatarılarak köklendirilmiştir. Transformasyon sonuçları çizelge 4.94-99'de verilmiştir. Selçuk 99 ve Kubilay82 çeşitlerine ait transgenik aday yaygın fiğ bitkilerinde transformasyonun olup olmadığını PCR analizi ile teyiti edilmiştir. Ayrıntılar aşağıda ayrı ayrı ele alınmıştır.

### 4.9.1 *A. tumefaciens*'in GV2260::p35 *GUSINT* bakteri hattına gen aktarım çalışmaları

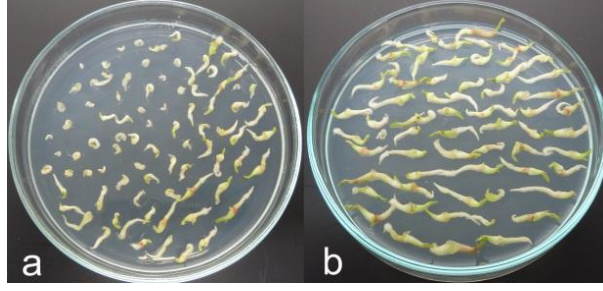
*A. tumefaciens*'in GV2260::p35 *GUSINT* bakteri hattına gen aktarım çalışmalarında hipokotil, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantları kullanılmıştır.

*In vitro* koşullarda Selçuk 99 ve Kubilay 82 çeşidinden alınan embriyo eksplantları, bistüri aracılığıyla yaralandırıp, her çeşidine ait embriyo eksplantları *A. tumefaciens*'in GV2260::p35 *GUSINT* hattına ait bakteri süspansiyonların OD<sub>600</sub>'da 1, 1.25, 1.5, 2, 2.25, 2.5, 3 ve 4 değerinde 35 dk inokülasyon ettikten sonra sonra 72 saat kokültivasyon tamponu içeren ortamında bekletilmiştir. Ardından eksplantlar, 50 µg/ml kanamisin monosülfat ile 500 µg/ml Duocid içeren sürgün ve 50 µg/ml kanamisin monosülfat içeren ortamına kültüre alınmıştır. Gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA, 250 µg/ml Duocid ve 50 µg/ml kanamisin monosülfat içeren ortamda köklendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Kubilay 82 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipkotil ve koltuk altı meristem) tan kanmisine dayanıklı bitki sayısı 26 - 29 arasında değişmiştir. Benzer şekilde Selçuk 99 çeşidinde embriyo, hipkotil ve koltuk altı meristem eksplantlardan kanmisine dayanıklı bitki sayısı 22 - 31 adet arasında değişmiştir (Çizelge 4.94).

Kanamisinde yaşayan ve gelişen bitkilerden doku örnekleri alınarak histokimyasal GUS analizi yapılmıştır (Şekil 4.57). Deneme sonucunda, transformasyona uğramış Kubilay 82 çeşidinde gus pozitif açısından bitki sayısı 7 - 13 ve Selçuk 99 çeşidinde 4 - 14 adet arasında değişmiş olup, dokularında mavi renkten oluşan hücre kümeleri tespit edilmiştir.

Ayrıca histokimyasal GUS pozitif aday sürgünlerin, 35S promotor primerleri ile PCR analizi da yapılmıştır (Şekil 4.58). Transgenik bitkilerde transgenlerinin bitki kromosomlarda varlığını teyid edilmiştir. PCR Testlerine ait sonuçların özeti, kanamisine dayanıklı aday transgenik bitki sayısı (adet), GUS histokimyasal analizi sonucunda elde edilen pozitif sonuç (adet) ile ilgili bilgileri çizelge 4.94'de ayrıntılı şekilde verilmiştir.

Elde edilen sonuçlarına göre OD<sub>600</sub>= 2.25'değerinde en fazla oranda embriyo eksplantların genetik transformasyon izlenmiştir (Şekil 4.56 - 57). Dolayısıyla daha sonra yapılan tüm denemelerde bu OD<sub>600</sub>= 2.25 değeri tercih edilmiştir.



Şekil 4.55 *Agrobacterium tumefaciens* OD<sub>600</sub>= 2.25 yoğunluğunda a. Selçuk 99 ve b. Kubilay 82 çeşitlerine ait embriyolar



Şekil 4.56 *Agrobacterium tumefaciens* OD<sub>600</sub>=2.25 yoğunluğundaki süspansiyon ile muamele edilmiş Selçuk 99 çeşidine ait embriyolarından gelişen aday transgenik sürgünlerin seleksiyon ortamındaki gelişmelerin şematik görüntüsü

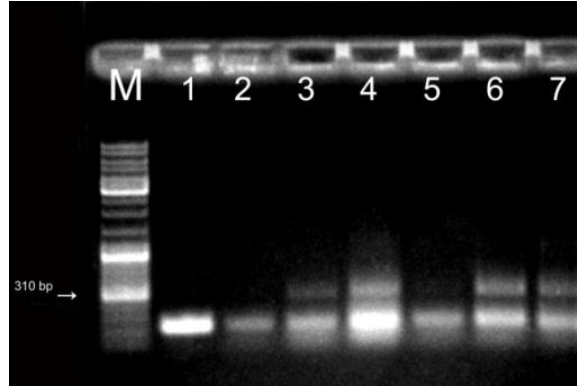
Çizelge 4.94 Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak *A. tumefaciens*'nin GV2260::p35 GUSINT hattıyla gen aktarım sonuçları

Çeşit	Hipoktil		Koltuk altı meristemi		Embriyo	
	Selksiyon Ortamdaki bitki Sayısı	GUS + Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı
<b>Kubilay 82</b>	27	12	26	7	29	13
<b>Selçuk 99</b>	22	4	31	13	31	14





Şekil 4.57 Kubilay 82 çeşidinde GV2260 p35GUSINT bakteri hattı ile yapılan gen aktarımında GUS testi sonucunda maviye boyanmış yaprak



Şekil 4.58 *GUS* geni içeren *A. tumefaciens*'nin GV2260::p35 *GUSINT* hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1,2 ) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil negatif (3) hipokotil pozitif (4) koltuk altı meristem pozitif (5) embryo negatif ve (6) Selçuk 99 çeşidinin hipokotil negatif (7) koltuk altı meristem pozitif ve olarak elde edilen seçilmiş örnek bitkilerin *GUS* genin varlığın teyit eden PCR sonuçları

#### 4.9.2 *A. tumefaciens*'in LBA4404 pTF101AopR1 CryIAc bar bakteri hatları ile gen aktarımı

Tüm eksplantlar 72 saat ko-kültivasyon ortamına kültüre alınmıştır. Daha sonra, eksplantları çizelge 4.95'de belirtilmiş gibi seleksiyon amacıyla kullanılmış 1.5 µg/ml fosfotricin ve 500 µg/ml bakteriyostatik Duocid içeren ortama kültüre alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Kubilay 82 çeşidinde her 3 eksplantta seleksiyon ortamda kanmisine dayıklı bitki sayısı 32 - 55 arasında ve gus pozitif açısından bitki sayısı 16-39 arasında değişmiştir. Benzer şekilde Selçuk 99 çeşidinde her 3 eksplantta seleksiyon ortamda kanmisine dayıklı bitki sayısı 24 - 30 adet arasında ve gus pozitif

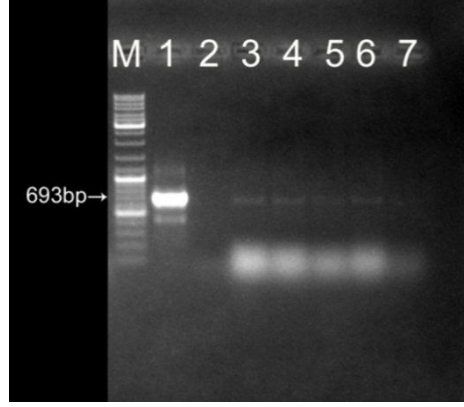
açısından bitki sayısı 11-14 adet arasında değişmiştir (Şekil 4.59). Transgenik adayı fiğ bitkisinin Selçuk 99 ve Kubilay 82 çeşidinin yukarıda belirtilmiş eksplantlardan gelişen bitkilerinin PCR analizi ile teyiti edilmiştir. (Şekil 4.60) 693 kb *CryIAc* geni amplifiye edilmiş olup bitkilerin transgenik olduğunu teyit edilmiştir. Elde edilen bitkileri saksılarda büyütülmüş olup, T<sub>0</sub> ve T<sub>1</sub> bitkilerden tohum elde edilmiştir (Şekil 4.61.b, Şekil 4.62, Şekil 4.68).

Çizelge 4.95 Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak *A. tumefaciens*'nin LBA4404 p*TF101AopR1 CryIAc bar* hattıyla gen aktarım sonuçları

Çeşit	Hipokotil		Koltuk altı meristemi		Embriyo	
	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı
Kubilay 82	32	16	30	22	55	39
Selçuk 99	24	11	31	10	30	14



Şekil 4.59 Kubilay 82 çeşidinin yapraklarında LBA4404 p*TF101AopR1 CryIAc bar* bakteri hattıyla gen aktarımının sonucunda elde edilen aday transgenik bitkilerin histokimyasal *GUS* geninin ekspresyonu



Şekil 4.60 *CryIAC* geni içeren *A. tumefaciens*'nin LBA 4404:: p*TF101A*o*RPR CryIAC* hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1) Kubilay 82 çeşidinin koltuk altı meristem pozitif (2) koltuk altı meristem negatif (3) koltuk altı meristemden pozitif (4) embriyo eksplantından pozitif ve (5) Selçuk 99 çeşidinin koltuk altı meristem pozitif (6) koltuk altı meristem pozitif (7) embriyo eksplantından negatif olarak elde edilen seçilmiş örnek bitkilerin *CryIAC* genin varlığın teyit eden PCR sonuçları



Şekil 4.61 Kubilay 82 çeşidine ait transgenik bitkilerin  
a. köklenmiş T<sub>0</sub> bitkileri  
b. T<sub>1</sub> bitkileri üzerinde yeşil çiçek ve baklalar görüntüleri



Şekil 4.62 Yaygın fiğ bitkisinde *Cry IAc* geni taşıyan transgenik T<sub>1</sub> bitkilerin şematik görüntüleri



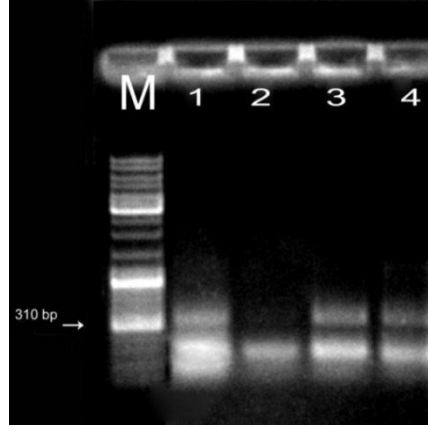
Şekil 4.63 Selçuk 99 çeşidine ait T<sub>1</sub> transgenik bitkilerin görüntüleri

#### 4.9.3 *A. tumefaciens*'in LBA4404 *Cry2A* bakteri hatları ile gen aktarımı

Tüm eksplantlar 72 saat ko-kültivasyon ortamına kültüre alınmıştır. Daha sonra, eksplantları çizelge 4.96'de belirtilmiş gibi seleksiyon amacıyla kullanılmış 1.5 µg/ml fosfinotricin ve 500 µg/ml bakteriostatik Duocid içeren ortama alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Kubilay 82 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)'ta kanmisine dayanıklı bitki sayısı 29 - 45 arasında ve gus pozitif açısından bitki sayısı 12 - 23 arasında değişmiştir. Benzer şekilde Selçuk 99 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)'ta kanmisine dayanıklı bitki sayısı 20 - 37 adet arasında ve gus pozitif açısından bitki sayısı 9 - 11 adet arasında değişmiştir. Transgenik adayı fiğ bitkisinin Selçuk 99 ve Kubilay 82 çeşidinin eksplantlardan gelişen bitkilerinin PCR analizinde *gus* ve *Cry2A* geni amplifiye edilmiş olup, bitkilerin transgenik olduğunu teyit edilmiştir (Şekil 4.64). Elde edilen bitkileri saksılarda büyütülmüş olup T<sub>1</sub> bitkilerinden tohum elde edilmiştir (Şekil 4.68).

Çizelge 4.96 Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak *A. tumefaciens*'nin LBA4404 *Cry2A* hattıyla gen aktarım sonuçları

Çeşit	Hipokotil		Koltuk altı meristemi		Embriyo	
	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı
Kubilay 82	29	12	28	18	45	23
Selcuk 99	20	9	26	8	37	11



Şekil 4.64 *Cry2A* ve *GUS* geni içeren *A. tumefaciens*'nin hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil pozitif (2) hipokotil negatif (3) koltuk altı meristemden pozitif (4) embriyo eksplantından pozitif seçilmiş örnek bitkilerin *GUS* genin varlığın teyit eden PCR sonuçları

#### 4.9.4 GNA Lektin genlerinin *A. tumefaciens* aracılığıyla aktarımı

Tüm eksplantlar 72 saat ko-kültivasyona alınmıştır. Daha sonra eksplantları Çizelge 4.97'de belirtilmiş gibi seleksiyon amacıyla kullanılmış 50 µg/ml kanamisin ve 500 µg/ml bakteriyostatik Duocid içeren ortama alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Kubilay 82 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)'tan 50 µg/ml kanamisine daynıklı bitki sayısı 31 - 32 arasında değişmiştir. Benzer şekilde Selçuk 99 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)dan 250 µg/mlkanmisine daynıklı bitki sayısı 26 - 34 arasında değişmiştir. Transgenik olamayan bitkilerde albinizm görülmüştür. Çalışma esnasında *npt II* primerlerin bulunmadığı için sonuçların pcr analizi ile teyit edilememiştir.

Çizelge 4.97 Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak *A. tumefaciens*'nin GNA hattıyla gen aktarım sonuçları

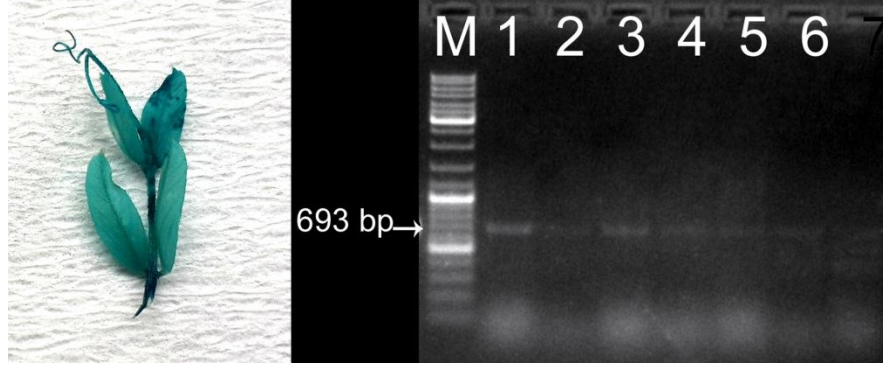
Çeşit	Hipokotil	Koltuk altı meristemi	Embriyo
	Selksiyon Ortamdaki bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı
Kubilay 82	31	32	32
Selcuk 99	26	31	34

#### 4.9.5 *A. tumefaciens*'in C58C1 pGreen AopR1 CryIAC bar bakteri hatları ile gen aktarımı

Tüm eksplantlar 72 saat ko-kültivasyona alınmıştır. Daha sonra eksplantları çizelge 4.98'de belirtilmiş gibi seleksiyon amacıyla kullanılmış 1.5 µg/ml fosfotricin ve 500 µg/ml bakteriostatik Duocid içeren ortama alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Kubilay 82 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)'tan elde edilen kanmisine daynıklı bitki sayısı 39 - 42 arasında ve gus pozitif açısından bitki sayısı 20 - 28 arasında değişmiştir. Benzer şekilde Selçuk 99 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)'tan kanmisine daynıklı bitki sayısı 27 - 38 adet arasında ve gus pozitif açısından bitki sayısı 11-13 adet arasında değişmiştir. Transgenik adayı fiğ bitkisinin Selçuk 99 ve Kubilay 82 çeşidinin yukarıda belirtilmiş eksplantlardan gelişen bitkilerinin PCR analizi ile teyiti edilmiştir. 693 kb *cryIac* geni amplifiye edilmiş olup, bitkilerin transgenik olduğunu teyit edilmiştir. Elde edilen bitkileri saksılarda büyütülmüş olup, T<sub>1</sub> bitkilerin tohum elde edilmiştir (Şekil 4.65, şekil 4.67).

Çizelge 4.98 Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100'er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak *A. tumefaciens*'nin C58C1 pGreen AopR1 CryIAC bar hattıyla gen aktarım sonuçları

Çeşit	Hipokotil		Koltuk altı meristemi		Embriyo	
	Seleksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Seleksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Seleksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı
Kubilay 82	39	20	32	18	42	28
Selcuk 99	27	13	36	9	38	11



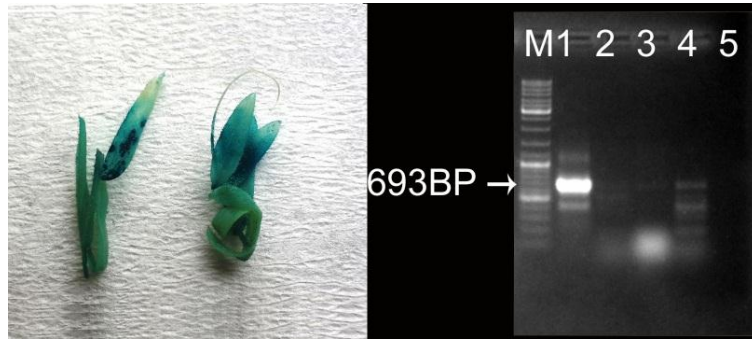
Şekil 4.65 Kubilay 82 çeşidinde yapraklarında *pGreen AopRI CryIAc bar* geni içeren *A. tumefaciens*'nin hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil pozitif (2) hipokotil negatif (3) koltuk altı meristemden pozitif (4) embriyo eksplantından pozitif ve (5) Selçuk 99 çeşidinin hipokotil pozitif (6) koltuk altı meristem pozitif olarak seçilmiş örnek bitkilerin *Cry IAc* genin varlığın teyit eden PCR sonuçları

#### 4.9.6 *A. tumefaciens*'in C58C1 *pGreen 35S CryIAc bar* bakteri hatları ile gen aktarımı

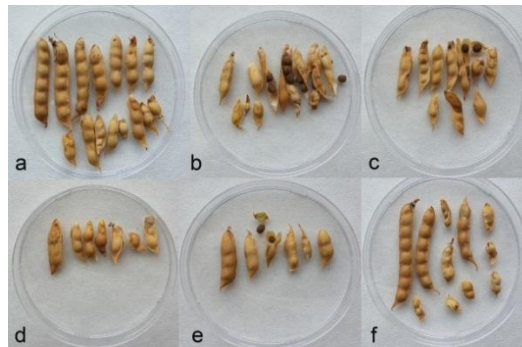
Tüm eksplantlar 72 saat ko-kültivasyona alınmıştır. Daha sonra eksplantları çizelge 4.99' de belirtilmiş gibi seleksiyon amacıyla kullanılmış 1.5 µg/ml fosfotricin ve 500 µg/ml bakteriostatik duocid içeren ortama alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Kubilay 82 çeşidinde her 3 eksplant(embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)'dan kanmasına daynıklı bitki sayısı 36 - 47 arasında ve gus pozitif açısından bitki sayısı 14-29 arasında değişmiştir. Benzer şekilde Selçuk 99 çeşidinde her 3 eksplant (embriyo, hipokotil ve koltuk altı meristem)'tan kanmasına daynıklı bitki sayısı 20 - 42 adet arasında ve gus pozitif açısından bitki sayısı 9 - 12 adet arasında değişmiştir. Transgenik adayı Selçuk 99 ve Kubilay 82 çeşitlerine 693 kb *cryIAc* geni amplifiye edilmiş olup, bitkilerin transgenik olduğunu teyit edilmiştir (Şekil 4.66, Şekil 4.68). Elde edilen bitkileri saksılarda büyütülmüş olup T<sub>1</sub> bitkilerden tohum elde edilmiştir.

Çizelge 4.99 Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde 100er adet hipokotil, koltuk altı meristem ve embriyo eksplantları kullanarak *A. tumefaciens*'nin C58C1 *pGreen 35S CryIAc bar* hattıyla gen aktarım sonuçları

Çeşit	Hipokotil		Koltuk altı meristemi			Embriyo	
	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	Selksiyon Ortamdaki Bitki Sayısı	GUS Pozitif Bitki Sayısı	
Kubilay 82	36	14	30	20	47	29	
Selçuk 99	20	9	30	12	42	12	



Şekil 4.66 Kubilay 82 çeşidinde *pGreen 35S CryIAc bar* içeren *A. tumefaciens*'nin hattıyla yapılmış gen aktarım çalışmasında (1) Kubilay 82 çeşidinin hipokotil pozitif (2) koltuk altı meristem pozitif (3) embriyo pozitif ve (4) Selçuk 99 çeşidine ait hipokotil pozitif ve (5) Selçuk 99 çeşidinin hipokotil negatif olarak seçilmiş örnek bitkilerin *CryIAc* genin varlığın teyit eden PCR sonuçları ve elde edilen aday transgenik bitkilerin histokimyasal *GUS* geninin ekspresyonu



Şekil 4.67 *In vitro* koşullarda sırasıyla *Agrobacterium tumefaciens*'nin: a. GV2260 *GUSINT* b. *AopR1 CryIAc bar* c. *Cry2A* d. *GNA* e. *pGreen 35S CryIAc bar* ve f. *pGreen AopR1 CryIAc bar* hatlarıyla muamele edilmiş Kubilay 82 çeşidine ait elde edilen baklaların şematik görüntüleri



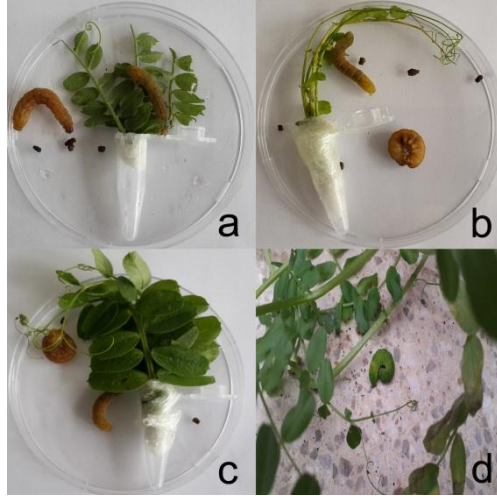


Şekil 4.68 *In vitro* koşullarda sırasıyla *Agrobacterium tumefaciens*'nin: a. GV2260 *GUSINT* b. *AopR1 CryIAC bar* c. *Cry2A* d. GNA lektin e. *pGreen 35S CryIAC bar* f. *pGreen AopR1 CryIAC bar* hatlarıyla muamele edilmiş Kubilay 82 çeşidine ait elde edilen transgenik tohumların şematik görüntüleri

#### 4.10 Kubilay 82 ve Selçuk 99 Çeşitlerine Ait *CryIAC* Genini Taşıyan Bireysel Transgenik Bitkilerde *Spodoptera littoralis* böceği ve Glufosinat ammonium herbisti ile Biyoassey Çalışmaları

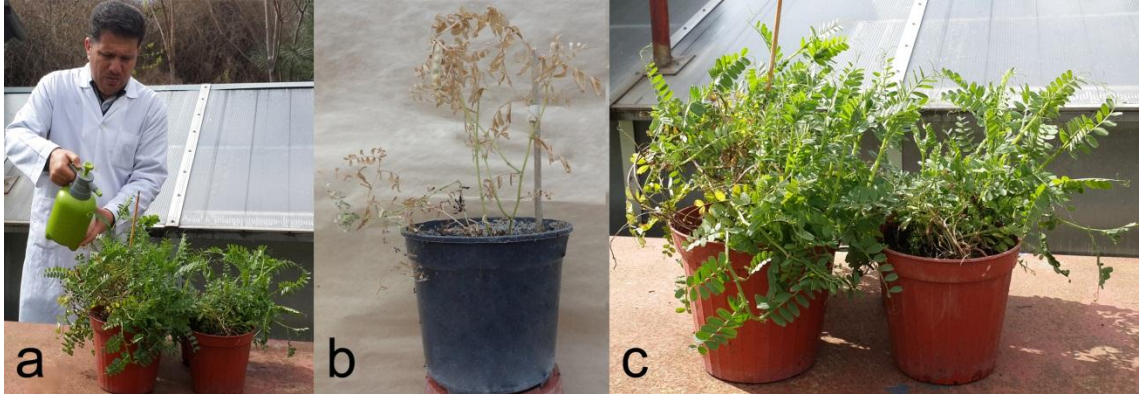
Yaygın fiğ *Spodoptera* böceği larvaları, her 3-4 yaprak bulunduğu bir petride 2 adet olmak üzere yapraklar üzerine bırakılmış olup, beslenme imkanları sağlanmıştır. Kubilay çeşitlerde böcek biyoassey çalışmalardan elde edilen sonuçlara ait görseller Şekil 4.72 verilmiştir. Şekiller incelendiğinde transgenik olmayan kontrol bitki yapraklarıyla beslenen *S. littoralis* larva ve erginlerinin ölmediği ve devamlı olarak beslenmeye devam ettikleri gözlenmiştir. Öte yandan, transgenik bitkilerin yapraklarıyla beslenen larvaların 24-36 saat içerisinde öldükleri gözlenmiştir. Bunun sonucunda *CryIAC* genini taşıyan transgenik bitkilerin *S. littoralis* larvalarını öldürmede son derece etkili olduğu gözlenmiştir.

İkinci biyoassay çalışmalarında bar geni aktarılmış ve aktarılmamış (kontrol) bireysel bitkileri 1.5 mg/l Glufosinat ammonium (ticari isim msket 200 sl) herbisti ile sprey edilmiştir ve 72 saat sonra transgenik bitkilerin canlı ve transgenik olmayan bitkilerde kurutma ve ölüm not edilmiştir. Denemeler doğal koşullarda  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta ve 11/13 (aydınlık/karanlık) şartlarda yürütülmüştür (Şekil 4.73).



Şekil 4.69 Kubilay 82 çeşidine ait bitkilerden

- a. Transgenik olmayan kontrol bitki yapraklarda 6 saat sonra *S. littoralis* larvaların zararları
- b. 24 saat sonra *S. littoralis* larvaların zararları
- c,d. *CryIAc* genini taşıyan transgenik bitki yaprakları ve ölmüş *S. littoralis* larvalar



Şekil 4.70 Kubilay 82 çeşidinde

- a. 1.5 mg/l Glufosinat ammonium (ticari isim misket 200 sl) herbisti ile sprey edilmesi
- b. 72 saat sonra transgenik olmayan
- c. Transgenik bitkilerin şematik görüntüleri

## 5. TARTIŞMA

### **Yaygın Fiğ Bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 Çeşitlerinde Değişik Çamaşır Suyu Oranları ve Uygulama Zamanlarının Çimlenmeye Etkisi**

Her bitki tohumunun yüzeysel olarak bakteri, mantar ve benzeri organizmalardan temizlenebilmesi için gerekli dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresi farklıdır. Dolayısıyla en uygun dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresinin belirlenmesi önemlidir (Bhatti 2001). Kyte (1987)'nin anlatılmış gibi bir eksplantın yüzey sterilizasyonu için en etkili ancak en düşük dezenfektan dozunun belirlenmesi hedeflenmiştir. Doku kültürü çalışmalarında, tohum yüzey sterilizasyonunda ne kadar hidrojen peroksit, civa, gümüş nitrat ve antibiyotikler kullanılabilirse de ticari sodyum hipoklorit (Çamaşır suyu) en yaygın olarak kullanılmaktadır (Özcan ve Özgen 1996). Bu tez kapsamında fiğ bitkisinin 4 çeşidi kullanılmıştır. Tohumlarda yüzey sterilizasyonu için en yüksek başarının alınacağı en düşük dezenfektan dozu (50 adet tohum için) belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıntılı bakacak olursa, Cumhuriyet 99 çeşidinde %80 çamaşır suyu uygulanmış 15 dk zamanda %100 çimlenme ile en uzun sürgün (3.44 cm) ve en uzun kökler (3.09 cm) elde edilmiştir. Karaelçi çeşidinde %100 çamaşır suyu uygulanmış 15 dk zamanda %100 çimlenme, en uzun sürgün (2.35 cm) ve kökler (3.30 cm) elde edilmiştir. Kubilay 82 çeşidinde %80 çamaşır suyu uygulanmış, 15 dk süre ile %100 çimlenme elde edilmiştir. Ancak, elde edilen sürgünler ve köklerin gelişmelerinde olumsuz etki görülmüş olup, % 40 çamaşır suyu oranında kullanılmış 15 dk zamanda en uzun sürgün (3.30 cm) ve kökler (5.19 cm) elde edilmiştir. Selçuk 99 çeşidinde ise %80 çamaşır suyu uygulanmış 15 dk zamanında en uzun sürgün (1.04 cm) ve kök (1.70 cm) olarak elde edilmiştir. Her dört çeşidinde eşit miktar ve eşit zaman ile çamaşır suyunun uygulanması farklı tepki göstermiştir. Elde edilen sonuçlara göre üç çeşidinde %80 oranlarında çamaşır suyu ile 15 dk uygulama zaman ve bir çeşidinde %100 oranında çamaşır suyu ile 15 dk uygulama zaman ile sterilizasyonu sağlanmıştır. Bu farklılıkların sebebi farklı çeşitlerin hassasiyet seviyesinde farklılığın kaynaklanan sebeplerden olduğu düşünülmektedir. Elde edilen sonuçları değişik araştırmacılar tarafından çamaşır suyunun (Ticari Sodyum hipoklorit) yüzey sterilizasyonu için en

uygun dezenfektan olduğu, (Allan 1991); ancak, uyumlu olmayan yüksek oranda çamşır suyunun bitki hücrelere zarar verdiği bildirmektedir. Dolayısıyla aynı oran ve zamanda çamaşır suyu uygulama çeşit özelliğine bağlı olarak tohumların hücrelerinde farklı seviyede olumsuz şekilde etkilenerak hem çimlenme yüzdelere hemde başka çimlenme öğelerine farklı şekilde etkilendiği düşünölmüştür. Elde edilen sonuçları William ve McHughen (1986) Polanco vd (1988) , Polanco ve Ruiz (1997), Bhatti (2001), Çoçü (2002), Aasim (2010), Sağlam (2010) ve Çetin (2010)' nın sonuçlara benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar farklı oranlarda çamaşır suyu kullanarak sterilizasyonu sağlamışlardır.

### **Yaygın Fiğ Bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 Ve Selçuk 99 Çeşitlerinde Yarım Kotiledon Boğum Eksplantlarından Değişik Oranlarda Uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonların Rejenerasyonuna Etkisi**

Bu çalışmada, her dört çeşidinde değişik oranlarda BAP + NAA içeren MS ortamda yarım ile tam kotiledon boğum eksplant üzerinde farklı oranlarda kallus oluşumu, sürgün oluşumu ve sürgün uzunluğu kıyaslanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre her iki tip eksplantta sürgün rejenerasyon ve kullanıldığı hormonlar ve onların konsantrasyonların tepkisi ile önemli şekilde farklı gelişmeler meydana geldiği izlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Cumhuriyet 99 ve Kubilay 82 çeşitlerinin yarım ve tam kotiledon eksplantında tek başına BAP kullanımı olumlu ve BAP ile NAA birlikte kullanıma sonucu belirgin şekilde olumsuz gelişmeler izlenmiştir. ve tam kotiledon eksplantında Selçuk 99 çeşidinde ise yarım kotiledon boğum eksplantında tek başına BAP kullanımı olumsuz ve tam kotildeon eksplantında BAP ile NAA birlikte kullanım sonucu belirgin şekilde olumlu gelişmeleri izlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ilk belirtilmiş iki çeşidinin stabil ve Selçuk 99 çeşidinde kararsizliğin göstergesi olarak değerlendirmektedir. Stewart-Jr. (2008)'nın çalışmalarına uyum sağlanmaktadır. Araştırmacı BAP'nın hücre bölünmesine ve sürgün gelişiminde önemli ve pozitif rol oynamaktadır.

Ayrıca, Karaelçi çeşidinde hem yarım hemde tam kotiledon boğum eksplantlarında BAP ile NAA kullanıldığında sürgün oluşum oranı ve eksplant başına sürgün sayısı

bakımından olumlu gelişmeleri izlenmiştir. Yaygın fiğ bitkisinin bu çeşidi çok sert kabuklu tohum çimlenmesi ve sürgün rejenerasyon açısından inatçı bir çeşit olarak bilinmektedir. Dolayısıyla, yukarıda belirtilmiş çeşitlere göre Karaelçi çeşidinin yarım ve tam kotiledon boğum eksplantlarından rejenerasyon sağlamak için NAA'nın BAP'ın bir destekçi hormon olarak gerekli işlemlerin yapmasının ihtiyaç olduğu ve, BAP'in tek başına kullanılması yetersiz olduğu düşünülmektedir.

Yarım kotiledon boğum eksplantta her dört çeşidinde en fazla 19.00 adet sürgün ile Cumhuriyet 99 çeşidi 1. sırada ve Selçuk 99 çeşidi 6.33 sürgün ile en az rejenersyon yeteneğine sahip olduğu saptanmıştır. Tam kotiledon boğum eksplantta her dört çeşidinde en fazla 7.66 adet sürgün ile Cumhuriyet 99 çeşidi 1. sırada ve Karaelçi çeşidi 2.33 sürgün ile en az rejenersyon yeteneğine sahip olduğu saptanmıştır.

Ayrıca, her 2 eksplanttan elde edilen sonuçları arasında kıyaslama yaparken yarım kotiledon eksplantın kullanılması tam kotiledon eksplantın kullanılmasından daha avantajlı olduğu tespit edilmiştir. Kotiledon boğum eksplantı ortadan kesme sonucu sürgün rejenerasyonu için yarım kotiledon boğum eksplant üzerinde tek nod kalmaktadır. Kotiledon boğum kesmemesi sonucunda üzerinde 2 adet nod bulunmaktadır. Her 2 nod arasında rekabet sürgün rejenerasyonuna olumsuz etki yapmaktadır. Yarım kotiledon eksplanttaki tek nodu rekabetsiz sürgün rejenerasyonuna teşvik etmektedir. Dolayısıyla yarım kotiledon eksplantından daha fazla miktarda sürgün oluşmaktadır. Elde edilen sonuçları Aasim vd. (2014)'nın sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Benzer şekilde Mathews (1987), *Vigna radiata* bitkisinde tam kotiledon boğum, BAP içeren ortamda farklı hormon düzeylerinde farklı gelişme gözlemiştir. Fakhrai vd. (1989), bakla (*Vicia faba*) bitkisinde kotiledon boğum eksplantından 2 µg/ml BAP ve 0.2 µg/ml NAA içeren MS ortamında organogenesis yoluyla sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir. Jackson ve Hobbs (1990), bezelye (*Pisum sativum* L.) kotiledon boğumlarından, 1 µg/ml BAP içeren MS besin ortamında çok sayıda adventif sürgün elde etmişlerdir. Natali ve Cavallini (1987), bezelyede olgunlaşmamış embriyolardan gelişen kalluslardan yeni bitkiler elde etmişlerdir. Bu amaçla, kotiledonlardan embriyoları izole ederek değişik konsantrasyonda BAP ve NAA içeren besin ortamında kültüre almışlardır. Sancak (1999), koca fiğın ve Sancak vd. (2000),

Macar fiğinin (*Vicia pannonica*) olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenlerini değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamında kültüre almıştır ve her 2 eksplanttan yüksek oranda sürgün rejenerasyonu elde etmiştir.

### **Yaygın Fiğ Bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 Çeşidinde Tam Kotiledon Boğum Eksplantların Değişik Oranlarda BAP ve NAA Konsantrasyonların ile Oluşan Sürgünlerin Köklendirilmesi**

Khawar ve Özcan (2002), Aasim vd. (2008), Akbulut (2003), Yadav (2010), tarafından in vitro koşullarda elde edilen sürgünlerin köklendirilmesinde IBA kullanılmıştır. Fiğ bitkisinde Çöçü (2002)'nin yapılmış çalışmada da köklendirmek amacıyla 2.5µg/ml IBA kullanılmıştır. Ancak, elde ettiği köklerde belirgin şekilde kararma ve odunlaşma görülmüştür. Farklı oranlarda uygulanan BAP ve BAP + NAA içeren MS ortamda yarım ve tam kotiledon boğum eksplantlardan elde edilen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamında köklendirilmiştir. Bu tez kapsamında, yapılan çalışmaları ile elde edilen sonuçlara göre yarım kotiledon boğum ile yapılan rejenerasyon çalışmalarında Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinin değişik oranlarda BAP içeren MS ortamlar üzerinde gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamda köklendirirken eksplantlar üzerinde hem kök hemde köklendirme ortamda olumlu şekilde sürgün oluşumu da görülmüştür. BAP + NAA içeren MS ortamlardan elde ettiği sürgünlerde böyle gelişmeleri rastlanmamıştır ve köklenmede olumsuz etkileri görülmüştür. Buna karşı tam kotiledon eksplantı kullanarak Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinin farklı oranlarda uygulanan BAP + NAA içeren ortamlar üzerinde gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiş sürgünlerde olumlu şekilde (hem kök hemde adventif sürgün oluşumu ile) ve tek başına BAP olarak kullanılmış ortamlarda gelişen sürgünler üzerinde olumsuz gelişmeleri ile zayıf ve düşük oranlarda kök oluşumu izlenmiştir. Bunun sebebi rejenerasyon için kullanılmış eksplantlarında doğal olarak bulunan hormonların yarım ve tam kotiledon boğum eksplantları üzerinde gelişen sürgünlerde IBA muamele sonucunda farklı şekilde etkilenmesinden kaynaklandığını düşünülmektedir. Daha önce yapılmış çalışmalarında buna yönelik her hangi yorum rastlanmamaktadır. Ancak, Aasim vd. (2010)'de börülce bitkisinde IBA' nın hem sürgün hemde kök oluşumuna olumlu etkileri rapor edilmiştir. Ancak, Bu tez kapsamında, bu araştırmada fiğ bitkisinde IBA içeren MS ortamda hem sürgün ve hemde kök oluşumu ile ilgi ilk kayıt oluşturmaktadır. Her dört çeşitte en fazla

kök oluşumu % 86.66 – 100 arasında değişmiştir. Elde edilen sonuçlara göre çalışmada kullanılmış tüm çeşitlerinde sürgün rejenerasyon için kullanılan değişik oranlarda BAP veya BAP + NAA kullanımının yan etkilerden dolayı tek oran ( 0.75 µg/ml) IBA içeren MS ortamda yarım ve tam kotiledon boğum eksplantlardan gelişen sürgünler üzerinde farklı oran veya sayıda köklenme görülmüştür.

### **Yaygın Fiğ Bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 Çeşitlerinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> İle Priming Uygulanmış olan Abaksialve Adaksial Şekilde Kültüre Alınmış Kotiledonlarının Değişik Oranlarda BAP İçeren MS Ortam Üzerinde Bitki Rejenerasyonu**

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulanmış olan abaksial şekilde kültüre alınmış kotiledonlar üzerinde Cumhuriyet 99 çeşidinde en fazla sürgün oluşum oranı (% 53.33), eksplant başına sürgün sayısı (5 adet) en uzun sürgünler (1.84 cm) GA<sub>3</sub> priming ile elde edilmiştir. Karaelçi çeşidinde en fazla sürgün oluşum oranı (%38.33) SA priming ile, eksplant başına sürgün sayısı (9 adet) GA<sub>3</sub> priming ile en uzun sürgünler (0.91 cm) SA priming ile elde edilmiştir. Kubilay 82 çeşidinde en fazla sürgün oluşum oranı (%100), eksplant başına sürgün sayısı (7.33 adet) en uzun sürgünler (2.23 cm) SA priming ile ve Selçuk 99 çeşidinde ise en fazla sürgün oluşum oranı (%73.33) BAP + GA<sub>3</sub> priming ile , eksplant başına sürgün sayısı (4.66 adet) SA priming ile ve en uzun sürgünler (3.01cm) GA<sub>3</sub> priming ile elde edilmiştir.

Buna karşı adaksial şekilde kullanılmış kotiledon eksplantlarda Cumhuriyet 99 ve Kubilay 82 çeşidinde BAP + GA<sub>3</sub> muamelesiyle sürgün oluşum oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda en iyi sonuçları BAP + GA<sub>3</sub> priming sonucunda elde edilmiştir. Karaelçi çeşidinde ise sürgün oluşum oranı ve sürgün sayısı bakımında BAP + GA<sub>3</sub> muamelesi ile en iyi sonuç alınırken, BA+ GA<sub>3</sub> priming ile sürgün uzunluğunda azalma ve yalnız BAP priming ile en uzun sürgün elde edilmiştir. Selçuk 99 çeşidinde ise sürgün oluşum oranı ve sürgün sayısı bakımından BAP priming ile ve sürgün uzunluğunda GA<sub>3</sub> ile priming sonucu sürgün uzunluğunda artış ve geri kalan tüm priming muamele sonucu gelişen sürgün uzunluğunda azalma görülmüştür. Yalcın-Mendil et al (2004) ve Compton (1999) kavun bitkisinde kotiledon eksplantların

rejenerasyon Doku kültürü çalışmalarında eksplantların rejenerasyon yeteneği kutup etkilerinden dolayı ve ya eksplantların kültüre alınma şekil ile değişmektedir. Bhatti (2001) 10 µg/ml (10 mg/l) NAA ile ön muamele (priming) uygulanmış eksplantlarda 4 µg/ml BAP ve 0.25 µg/ml NAA içeren MS ortamında Emre 20 ve Kışlık 21 çeşidinde 10'ar sürgün ile %3.33 ve 43.33 arasında sürgün oluşumu gözlenmiştir. Bu tez kapsamında yapılmış çalışmaları daha önce yapılmış çalışmaları ile uyum sağlamaktadır. Bu çalışmada da eksplantların rejenerasyon kapasitesi, eksplantların yerleşme/kültüre alınma şekili (abaksial/adaksial) ile değişmiştir. Abaksial ve adaksial şekilde kullanılmış eksplantlar arasında kıyaslama yapılacak olursa her bakımından adaksial şekilde kullanılmış eksplantları abaksial şekilde kullanılmış eksplantlardan üstün sonuçlar vermektedir. Rejenerasyon ortamda abaksial şekilde kullanılmış eksplantları ortamlara değen yüzey adaksial şekilde kullanılan eksplantların ortama değen yüzeyden az olmaktadır. Dolayısıyla, bulgularda anlatılmış şekilde abaksial şekilde kullanılmış eksplantlarda oluşan sürgünleri zayıf ve küçük kalmışlardır. Ancak, adaksial şekilde kullanılmış eksplantlar üzerinde fazla, morfolojik olarak güçlü ve geniş yapraklar izlenmiştir.

Abaksial ve adaksial şekilde kullanılmış eksplantlardaki sürgün rejenerasyon ve sürgün uzunluğundaki farklılığının sebebi kütüb etkisinden dolayı anlaşılmaktadır (Ozcan 1993).

#### **Yaygın Fiğ Bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay82 ve Selçuk 99 Çeşitlerinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> Priming İle Uygulanmış Olan Tohumlardan Bitki Rejenerasyonu**

Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay82 ve Selçuk 99 çeşitlerin tohumları BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> muamelelere maruz bırakılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre her dört çeşitte en fazla % 100 sürgün oluşumu kayıt edilmiştir.

Cumhuriyet 99 çeşidinin tohumlarından SA muamelesiyle BAP içeren ortamlarda 28.15 cm uzun en fazla 2.66 adet sürgün görülmüştür. Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99 çeşidinde BAP, SA, GA<sub>3</sub> ve BAP + GA<sub>3</sub> uygulanmış olan tohumlardan gelişen sürgünler 0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamına köklendirmek amacıyla kültüre alınmıştır. SA ile priming yapılmış tohumların 0.5 µg/ml BAP içeren MS ortamdan



elde edilen sürgünlerin 0.75 µg/ml IBA içeren köklendirme ortamında eksplant başına 7.66 adet sürgün ve 7.02 cm uzun sürgünler elde edilmiştir.

Daha önce uygulanmış çalışmalarına göre salisilik asit (SA)'in bitkide bulunan fenolik bileşiklerin etkiler azalatarak adventif köklenmeyi stimüle ettiği bildirilmiştir. Fakat bu bileşiklerin konsantrasyona bağlı etkileri yeterince açık değildir (Prof. Dr. K.M. Khawar ile kişisel görüşmeleri - Şubat 2015). Cumhuriyet çeşidinde ise, SA priming ile tohumdeki fenolik bileşiklerini azaltarak sürgün çoğalmasına yardımcı olmuş olabilir düşünülmektedir. Elde edilen sonuçları Ray (1986), Raskin (1995), James et al. (1998), Ferrarese, et al. (1996)'nın rapor edilmiş sonuçlarına uyum sağlanmaktadır. Araştırmacılar, SA fenolik bileşiklerin etkilerin azalmasında olumlu etkileri olduğunu rapor etmişlerdir.

Buna karşı Karaelçi çeşidinin tohumlarında GA<sub>3</sub> muamelesiyle %100 sürgün oluşum ile 2.12 cm uzun en fazla 11.33 adet sürgün elde edilmiştir. Ancak, elde edilen eksplant başına en fazla sürgün BAP + GA<sub>3</sub> ile yapılmış priming ile elde edilmiştir. Sürgünler 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir. köklendirme sonucunda %86.66 kök oluşum , eksplant başına 4.58 adet kök elde edilmiştir. Bu çeşitte BAP ve GA<sub>3</sub> her ikisi beraber olduğu zaman sürgün ve kök uzunluğunda olumsuz etkileri görülmüştür.

Ancak, Kubilay 82 ve Selçuk çeşitlerinin tohumlarından BAP + GA<sub>3</sub> muamelesiyle BAP içeren ortamlarda sırasıyla 6.96 cm ve 7.71 cm uzun en fazla 7.10 ve 13.66 adet sürgün elde edilmiştir. Kubilay 82 çeşidinin BAP ile yapılmış olan tohumların priming sonucunda 1.00 µg/ml BAP içeren ortmada gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirme sonucunda %100.00 kök oluşumu ile 4.00 adet kök ile 8.16 cm uzun kökler ve 7.75 cm uzun sürgünler elde edilmiştir. Buna karşı, Selçuk 99 çeşidinin BAP + GA<sub>3</sub> ile yapılmış olan tohumların priming sonucunda 0.75 µg/ml BAP içeren ortmada gelişen sürgünleri 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirme sonucunda %100.00 kök oluşumu, 6.33 adet kök, 11.66 cm uzunluğunda kök, eksplant başına 4.08 adet sürgün ve 11.32 cm sürgün uzunluğu elde edilmiştir. Sonuçlar daha önce yapılmış çalışmalara uyum sağlanmaktadır. Yapılmış Stewart-Jr. (2008)'nin rapor edildiği çalışmalarına göre sitokininlerin *in vitro* koşullarında hücre bölünmesine ve

sürgün gelişmesine ve GA<sub>3</sub>'ise hücre bölünmesine hızlandırma ve uzamasına (Besnard-Wibaut vd. 1981) sebep olmaktadır.

### **Yaygın fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 Çeşitlerinde Olgunlaşmamış Embriyo Eksplantların Değişik Oranlarda Uygulanan BAP + NAA Konsantrasyonlarının Etkisi İle Sürgün Rejenerasyonu**

Her dört çeşitten elde edilen sonuçlara göre normal koşullarda köklendirilmiş sürgünler üzerinde adventif veya yan sürgün oluşumu beklenmez durumdur. Ancak, bu köklendirme çalışmasında her dört çeşidinde ortamların yan etkisi yüzünden sonradan gelişen sürgün ve kök oluşum dışında tüm faktörler üzerinde belirgin şekilde yan etkisi yansıtılmıştır. Cumhuriyet 99 ve Kubilay 82 çeşidinde 1.00 µg/ml BAP + 0.05 µg/ml NAA ve 0.75 µg/ml BAP + 0.025 µg/ml NAA içeren ortamda rejenerasyon olmuş sürgünlerin köklendirme ortamda (0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamı) %100 sürgün oluşumu ve sırasıyla %80.00 ile 86.66 kök oluşumu izlenmiştir. Karaelçi ve Selçuk 99 çeşidinde ise 0.25 µg/ml BAP + µg/ml 0.025 NAA ve 0.25 µg/ml BAP + 0.100 NAA içeren ortamda rejenerasyon olmuş sürgünlerin köklendirme ortamda (0.75 µg/ml IBA içeren MS ortamı) %100 sürgün ve %86.66 kök oluşumu gözlenmiştir. Her çeşidinin rejenerasyon yeteneğine bağlı köklendirmek için alınmış sürgün eksplant üzerinde 2.0 – 5.99 cm uzanan sürgün başına 8.66 – 13.33 adet adventif sürgün elde edilmiştir. Her dört çeşit arasında değerlendirme yapılırsa Cumhuriyet 99 çeşidi en üstün özelliklere sahip olmuştur. Daha önce Aasim vd. (2010) bürülce bitkisinde IBA içeren MS ortamda köklendirilmiş bitkilerde yan sürgün oluşumunu rapor edilmiştir.

Köklenme açısından her dört çeşit arasında kıyaslandırma yapılırsa hemen hemen benzer sonuçlar ( $\geq 80\%$  köklenme) elde edilmiştir. Ancak, oluşan köklerin sayısı 4.66 - 7.66 adet ve onların uzunluk 1.06 ve 2.02 arasında değişmiştir. Her dört çeşit arasında kıyaslanma yapılırsa Karaelçi ve Kubilay 82 çeşitleri en fazla (sırasıyla 7.66 ve 7.33 adet) kök üretilmiş olup, üstün özelliklere sahip olmuş ve Cumhuriyet çeşidinde en az kök sayısı (4.66 adet) izlenmiştir. Ancak, fiğ bitkisinde böyle gözlem ilk kez rapor edilmektedir. Benzer şekilde, Natali ve Cavallini (1987), Gelişen sürgünler, 2.0 µg/ml

IBA içeren besin ortamında köklendirilmiştir. Rejenerasyon kabiliyeti ile genotip arasında önemli bir ilişki olduğu görülmüştür.

Daha önce Gamage, ve Nakanishi (2000)nın elma (*Malus communis*) bitkisinde ve Bhattacharyya vd. (2014) *Dendrobium nobile* vb çalışmalarında farklı hormonların sürgün rejenerasyonuna veya oluşumuna yan etki yaptığı bilinmektedir. Ancak, bu çalışmada ilk kez sürgün rejenerasyonda kullanılmış hormonların köklenmede de yan etki yaptığı ortaya konulmaktadır.

### **Gen aktarım**

Yaşam sürece yaygın fiğ bitkisi yeşilken Orthoptera, Thysanoptera, Hemiptera, Coleoptera, lepidoptera, Diptera, Hymenoptera, yaprak, çiçek, gövde, bakla ve polenlere ile *Bruchus* spp'den zarar görmektedir zarar vermektedirler (Nuessly vd. 2004). Türkiye'de bugüne kadar, yaygın fiğ bitkisinde bitki doku kültürü olarak başarı oran oldukça düşük olup, *Agrobacterium* aracılığıyla transgenik bitki elde edilememiştir. Bu tez kapsamında fiğ bitkisinin Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerine *Agrobacterium* aracılığıyla Lepidoptera takımına ait böceklerine ve herbisitlere karşı gen aktararak, dayanıklı bitkiler elde edilmeye çalışılmıştır. Gen aktarım çalışmalarında hipokotil, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantları kullanılmıştır. *A. tumefaciens*'nin EHA105::p35 *GUS INT*, LBA4404 p*RGGbar*, A136 NC, A281::p35 *GUS INT*, ve *A. rhizogenes*'nin 15834 hatlarıyla her hangi transgenik bitki elde edilememiştir. Ancak, hipokotil, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantları ile *A. tumefaciens*'nin GV2260 *GUS INT*, LBA4404 p*TF101 AopRI CryIAC bar*, LBA4404 *Cry2A*, GNA, C58C1 p*Green AopRI CryIAC bar* ve C58C1 p*Green 35S CryIAC bar* hatlarıyla seleksiyon ortamda farklı oranda gelişen bitkilerden PCR pozitif sonuç elde edilmiş olup, T<sub>0</sub> ve T<sub>1</sub> generasyonuna kadar bitki ve tohum elde edilmiştir. Elde edilen sonuçları daha önce Bhatti (2001), Çöçü (2002), Sağlam (2010), Aasim (2010), Ahmet (2014)'nin mercimek, korunga, fasulye, börülce, pamuk ve patatesde elde ettiği sonuçları onaylamaktadır. Elde edilen sonuçları Damiani vd. (1989)'nin *Medicago sativa* 'dan transgenik ve *M. arborea*, *Lotus corniculatus*, *L. tenuis*, *Onobrychis viciifolia* türlerinden transgenik bitki eldememişlerdir. Benzer

şekilde Pounti-Kaerlas vd. (1990)'da bezelye bitkisine sap ve epikotil eksplantları kullanarak *A. tumefaciens* aracılığıyla *NPTII*, *HPT-II* genler aktararak kanamisin ve higromsin antibiyotiğine dayanıklı transgenik bitkiler elde etmişlerdir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Doku kültürü çalışmalarında sterilizasyon çimlenmeyi doğrudan etkilemekte ve oldukça önemli olmaktadır. Ticari çamaşır suyu (<%5 NaOCl) sterilizasyonda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda Cumhuriyet 99, Karaelçi, Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinde için %80 çamaşır suyu 15 dk süre ile sterilizasyon sağlanmıştır.
2. Tüm sürgün rejenerasyonu için kullanılan hipokotil, epikotil, kotledon boğum, olgunlaşmamış embriyo, adaksial ve abaksia eksplantlar kullanılmıştır ve her dört çeşidin tüm eksplantlardan rejenerasyon sağlanmıştır.
3. Tez kapsamında her dört çeşidin abaksial ve adaksial şekilde kotledon eksplantlarından da rejenerasyon elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre eksplantlarda kutub etkisi bulunmuştur ve adaksial şekilde kullanılmış kotledon eksplantlardan daha fazla sürgün rejenerasyon elde edilmiştir.
4. Yukarıda belirtilmiş gibi tüm eksplantlardan yüksek oranda sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Hipokotil, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantları değişik plasmid içeren *A. tumefaciens* hatlarıyla gen aktarım çalışmalarında transgenik bitki elde etmek için uygun bulunmuştur.
5. Her dört çeşidinde EHA105::p35 *GUS INT*, LBA4404 p*RGG bar*, A136 NC , A281::p35 *GUS INT* ve *A. Rhizogenes* 15834 hatlarıyla muamele edilmiş her hangi eksplant tan transgenik aday pozitif bitki elde edilememiştir.
6. Kubilay 82 ve Selçuk 99 çeşitlerinin hipokotil, koltuk altı meristemi ve embriyo eksplantları *Agrobacterium tumefaciens*'nin GV2260 *GUS INT*, LBA4404 p*TF101 AopRI CryIAc bar*, LBA4404 *Cry2A*, GNA, C58C1 p*Green AopRI CryIAc bar* ve C58C1 p*Green 35S CryIAc bar* hatlarıyla muamele edilmiş olup kanamisin veya fosfinotrisin içeren ortamda seleksiyon yapılmıştır ve farklı oranda transgenik aday bitkilerinde pozitif bitkiler elde edilmiştir.
7. Elde edilen transgenik ve transgenik olmayan sürgünler kolayca 0.75 µg/ml IBA içeren ortamda köklendirilmiştir. Köklendirilmiş bitkilerin iklim odasında veya serada adaptasyonu sağlanmıştır. Sera koşullarda *cryIAc* gen taşıyan transgenik

adayı bitkiler başarıyla 6 aya kadar geliştirilmiş ve çiçeklenerek tohum bağlamışlardır. T<sub>0</sub> ve T<sub>1</sub> bitkilerden PCR pozitive sonuç elde edilmiştir.

8. Elde edilen sürgün rejenerasyon ve gen aktarım için geliştirilmiş sisteminin diğer fiğ türlerde uygulanmasının yüksek potansiyeli bulunmaktadır.

Diğer fiğ bitkilerine yatay yoluyla gen kaçışını engellemek amacıyla elde edilen transgenik bitkiler, sera şartlarında kontrollü ortamda alıştırılmıştır.

Elde edilen bitkilerinden T<sub>1</sub> generasyonuna kadar tohum elde edilmiştir ve PCR analizi ile sonuçların teyid edilmesi aktarılan genlerin etkili şekilde bitki genomuna aktardığını göstermektedir. Transgenik T<sub>0</sub> ve T<sub>1</sub>, generasyonuna ait bitkilerinden yaprak örnekleri *S. littoralis* böcek larvalarına karşı direnç göstermişlerdir. Ayrıca, bitkilerde glufosinat (fosfonitrisin)'e karşı direnç de izlenmiştir.

## KAYNAKLAR

- Aasim M, Khawar KM , Özcan S. 2013. Production of herbicide-resistant cowpea (*Vigna unguiculata* L.) transformed with the bar gene. Turk J Biol. 37: 472-478.
- Aasim, M. 2010. Börülce (*Vigna unguiculata* L.)'de doku kültürü ve gen aktarım çalışmaları. Doktora tezi. Ankara üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.
- Aasim, M., Khawar, K.M. and Özcan, S. 2008. *In vitro* Micro Propagation From Shoot Meristems Of Turkish Cowpea ( *Vigna unguiculata* L.) Cultivar Akkız. Bangladesh Journal of Botany, 37, 149-154.
- Ağdağ, F. 2003. Korunga (*Onobrychis sativa* L.)'da *Agrobacterium tumefaciens* Aracılığıyla Gen Aktarımı. Yüksek Lisans Tezi (Basılmamış), Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Ahlgren, G.h. 1956. Forage Crops. McGraw-Hill Book Company. Inc., New York.
- Ahmet. H . 2014. Yaralanmayla Aktif OLAN AoPR1 promotorunun Kontrolü Altındaki *Cry* Genlerinin Protein Üretimlerinin Patateste Sınırlandırılması. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fenbilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.
- Akbulut, M. 2003. Optimization of regeneration and transformation conditions for chickpea (*Cicer arietinum* L.). Doktora tezi (Basılmamış), Middle East Technical University, 138p, Ankara.
- Akçay, U. C., Mahmoudian, M., Kamci, H., Yucel, M. and Oktem H. A. 2009. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of a recalcitrant grain legume, lentil (*Lens culinaris* Medik) plant cell reports, 28, 407-417.
- Akyıldız R (1969) Yemler bilgisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:380,Ders Kitabı:136,120-121.
- Albrecht, C., and Kohlenbach, H. W. 1989. Induction of somatic embryogenesis in leaf-derived callus of *Vicia narbonensis* L., Plant Cell Rep., 8: 267-269.
- Allan, A. 1991. Plant cell culture in: "Plant Cell and Tissue Culture". Stafford, A. and Warren, G. (eds.), Open University Press, UK.
- Anonim 2015a. Web sitesi.\_[http://elmali.antalya-tarim.gov.tr/index\\_tr.asp?mn=22&bn=0&in=69](http://elmali.antalya-tarim.gov.tr/index_tr.asp?mn=22&bn=0&in=69) Erişim tarihi 01.05.2015.
- Anonim 2015b. Web sitesi. <http://www.fmrtr.com/tarim-ve-hayvancılık/3733266-adi-yerli-fig.html>. Erişim tarihi 1.05.2015.
- Anonim 2015c. Web sitesi [http://www.mbari.org/phyto-genome/pdfs/CTAB%20DNA%20Extract\\_GenomeSeq%20quality.pdf](http://www.mbari.org/phyto-genome/pdfs/CTAB%20DNA%20Extract_GenomeSeq%20quality.pdf) Erişim tarihi 01.05.2015.

- Anonim 2015d. Web sitesi.  
<http://kırıkkale.tarim.gov.tr/bahsili/Belgeler/SolMenu/sebze%20zararlar%C4%B1lar%C4%B1/Baklagil%20Tohum%20B%C3%B6ce%C4%9Fif.pdf> Erişim tarihi 1.05.2015.
- Anonim. 1999. Seed Science and Technology rules. International rules for seed testing. Vol. 27 supp. Rules 1999. International Seed Testing Association (ISTA) Zurich. Switzerland.
- Arı, 2001. Doğrudan Gen Aktarım Teknikleri. Özcan S., Gürel E., Babaoğlu M. (eds), Bitki Biyoteknolojisi II, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Basımevi, s. 160-169, Konya
- Avcıoğlu, R., Y.T. Kavut, H. Okkaoğlu, 2009, Yembitkileri, Baklagil Yembitkileri, Bölüm 13.1.4., Koca Fiğ (*Vicia narbonensis* L.) - TC Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, TÜGEM, Cilt2, s:421-425.
- Bakhsh A, Rao AQ, Shahid AA, Husnain T, Riazuddin S. 2009. Insect resistance and risk assessment studies in advanced lines of Bt cotton harboring Cry1 Ac and Cry2A genes. American-Eurasian J. Agric. / Environ. Sci., &:1-11.
- Barik, D.P., Mohapatra, U. and Chand, P.K. 2005. Transgenic grasspea (*Lathyrus sativus* L.): factors influencing *Agrobacterium-mediated* transformation and regeneration, Plant cell report, 24:523-531.
- Barna, K. S. and Wakhlu, A.K. 1994. Whole plant regeneration of *Cicer arietinum* from callus cultures via organogenesis. Plant Cell Rep., 13:510-513.
- Barros LMG, Gama MICS, Goncalves CHRde P, Barreto CC, Santana EF, Carneiro VT de C. 1997. Bean tissue culture with a view to introducing foreign genes.
- Bean , S.J., Gooding, P.S., Mullineaux, P.M., and Davis, D.R., 1997. A simple system for pea transformation. *Plant Cell Rep.* 16: 513-519.
- Belide S, Hac L , Singh SP , Green AG and Wood CC. 2011. Agrobacterium-mediated transformation of safflower and the efficient recovery of transgenic plants via grafting. Plant Methods 7:12 doi:10.1186/1746-4811-7-12
- Ben-Dov E, Zaritsky A, Dahan E, Ze'ev B , Sinaı R, Manasherob R, Khamraev A, Troitskaya E, Dubitsky A, Berezina N, Margalith Y. 1997. Microbiology Extended Screening by PCR for Seven Cry-Group Genes from Field-Collected Strains of *Bacillus thuringiensis* Applied And Environmental Microbiology. 63: 4883–4890.
- Besnard-Wibaut C 1981. Effectiveness of gibberellins and 6-benzy- ladenine on flowering of *Arabidopsis thaliana*. *Physiol Plant* 53 : 205-212
- Bevan, M., Flavel, R.B. and Chilton, M.D. 1983. Achimeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. *Nature*, 304;185-187.
- Bhattacharyya P, Kumaria S 2014. Molecular characterization of *Dendrobium nobile* Lindl., an endangered medicinal orchid, based on randomly amplified



polymorphic DNA. Plant Systemat Evol, 08 May 2014, DOI 10.1007/s00606-014-1065-1.

- Bhatti, K.M.K. 2001. Mercimek (*Lens culinaris* Medik)' te doku kültürü çalışmaları ve *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımı. Doktora tezi (Basılmamış), Ankara Üniversitesi, 147p, Ankara. *Biotechnology*, 8, 85-90. *Bitkilerinin Elde Edilmesi*, (Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi
- Brar, M.S., Al-Khayri, J.M., Morelock T.E. and Anderson, E.J. 1999. Genotypic response of cowpea *Vigna unguiculata* (L.) to *in vitro* regeneration from cotyledon explants. *In vitro Cellular and Developmental Biology*, 35, 8-12.
- Caballero REL, Goicoechea and Hernaiz PJ.1995. Forage yields and quality of common vetch and oat sown at varying seeding ratios and seeding rates of vetch. *Field Crops Research*, 41: 135- 140.
- Chen, H., Tang, W., Xu, C, Li, X., Lin, Y. and Zhang, Q. 2005. transgenic indica rice plants harboring a synthetic *cry2A* gene of *Bacillus thuringiensis* exhibit enhanced resistance against Lepidopteran rice pests. *Theor App Gen*, 111:7 1432-2242.
- Cheng, X., Sardana, R., Kaplan, H. and Altosaar, I. 1998. *Agrobacterium*-transformed rice plants expressing synthetic *cryIA(b)* and *cryIA(c)* genes are highly toxic to striped stem borer and yellow stem borer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 2767-2772.
- Cho, H.J. and Widholm, J.M. 2002. *Agrobacterium tumefaciens*- mediated transformation of the legume *Astragalus sinicus* using kanamycin resistance selection and green fluorescent protein expression. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 69: 251-258.
- Cho, H.J., Widholm, J.M., Tanaka, N., Nakaniski, Y. and Murooka, Y. 1998. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation and regeneration of the legume *Astragalus sinicus* (Chinese milkvetch). *Plant Sci*. 138: 53-65
- Christov, N. K., Imaishi, H. and Ohkawa, H. 1999. Green-tissue-specific expression of a reconstructed *cryIC* gene encoding the active fragment of *Bacillus thuringiensis* 8-endotoxin in haploid tobacco plants conferring resistance to *Spodoptera litura*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 63(8): 1433-1444.
- Crispeels, M.J. 1997. Transfer of bruchid resistance from the common bean to other strachy grain legumes by genetic engineering with the alfa-amylase inhibitor gene, In: Carozzi N., Koziel M. (Eds.), *Advances in Insect Control: The Role of Transgenic Plants*. Tylor & Francis, Bristol, 139-156.
- Çetin, G. 2010. *Bakla (Vicia faba L.) Bitkisinde Doku Kültürü Çalışmaları* , (Yüksek lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çöçü, S. 2002. Bazı fiğ (*Vicia sativa L*) çeşitlerinde doku kültürü yöntemleriyle bitki çoğaltımı, (Yüksek lisans Tezi), Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Çöçü, S. 2008. Böceklere Dayanıklı Transgenik Korunga (*Onobrychis sativa* Lam.) Doktora tezi. Ankara üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.
- Çöçü, S., Uranbey, S. ve Sancak, C. 2003. Bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi 9 (4): 445-449.
- Damiani, F., Pupilli, F., Pezzotti, M. and Arcioni, S. 1995. *Agrobacterium* mediated transformation in legumes. Proceedings of the XVI International Grassland Congress, 1989. 425-426.
- Dang, W. and Wei, Z. 2007. An optimized *Agrobacterium*-mediated transformation for soybean for expression of binary insect resistance genes. Plant Science 173: 381-389.
- Dattla, K., Vasquez, A., Torizzo, L., Alam, M.F., Oliva, N., Abrigo, E., Khush, G.S. and Datta S.K. 1998. Constitutive and tissue-specific differential expression of the *cryIA(b)* gene in transgenic rice plants conferring resistance to rice insect pest. Theor Appl Genet, 97:20-30.
- De Maagd, R.A., Weemen-Hendriks, M., Stiekema, W. and Bosch, D. 2000. *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin *cryI C* domain III can function as a specificity determinant for *Spodoptera exigua* in different, but not all, *cryI-cryIc* hybrids. Applied and Environmental Microbiology, 66, 1559-1563.
- Desgagnes, R., Laberge, S., Allard, G., Khoudi, H., Castonguay, Y., Lapointe, J., Michaud, R. and Vezina, L.P. 1995. Genetic transformation of commercial breeding lines of alfalfa (*Medicago sativa*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 42: 129-140.
- Dillen W, Clerca J de, Goossens A, Zambre M, Montagu M van, Angenon G, Ge Clercq J, Van Montagu M. 1997. Exploiting the presence of regeneration capacity in the Phaseolus gene pool for *Agrobacterium* mediated gene transfer to the Common bean. Eleventh forum for applied biotechnology. 62 (4a): 1397-1402
- Dita, M. A., Rispaill, N., Prats, E., Rubiales, D. and Singh, K. B. 2006. Biotechnology approaches to overcome biotic and abiotic stress constraints in legumes. Euphytica, 147, 1-24.
- Elçi Ş 2005. Baklagil ve Buğdaygil Yembitkileri. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. Ankara. ISBN 975-407-189-6.
- Enneking D. 1994. The toxicity of *Vicia* species and their utilisation as grains legumes Dept. of Plant Science. The University of Adelaide Digital Library (Australia).
- Erdoğan Y., Çöçü S., Parmaksız İ., Sancak C. ve Arslan, O. 2004. Bazı Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) Kotiledon Boğum Eksplantlarından Adventif Sürgün Rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 10 (2) 206-210.
- Erdoğan, Y., Çöçü, S., Parmaksız, İ., Sancak, C ve Arslan, O. 2005. Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) Bitkisinin Olgunlaşmamış Embriyo Eksplantlarından Adventif Sürgün Rejenerasyonu ve Hızlı Çoğaltım. Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi Dergisi ,11 (1), 60-64.

- Eskin NAM, Johnsons S, Vaisey-Genser M, McDonald BE. 1980. A study of oligosaccharides in a select group of legumes .Can Ins Food Sci Tech J. 13:40–42.
- Estrada-Navarrete, G., Alvarado-Affantranger, X., Olivares, J. E., Díaz-Camino, C., Santana, O., Murillo, E., Guillen, G., Sánchez-Guevara, N., Acosta, J., Quinto, C., Li, D., Gresshoff, P. M. and Sánchez, F. 2006. *Agrobacterium* rhizogenes transformation of the phaseolus spp.: A tool for functional genomics. Mol Plant Microbe Interact, 19 (12):1385-93.
- Facchini, P.J. 2008. Genetic transformation via somatic embryogenesis to establish herbicide-resistant opium poppy, Plant Cell Reports , pp 719-727.
- Fakhrai H., Fakhrai H. and Evans P.K. 1989: *In vitro* culture and plant regeneration in *Vicia faba* subsp. *Journal Exp. Bot.* 40: 813-817.
- Ferrarese, I., Moretto, P., Trainotti, L., Rascio N., and Casadoro, G. 1996. Cellulase involvement in the abscission of peach and pepper leaves is affected by salicylic acid, Journal of Experimental Botany, 47, 251, Copyright Oxford University Press.
- Fontana, G., Santini L., Caretto S., Frugis, G. and Mariotti, D. 1993. Genetic transformation in the grain legume *Cicer arietinum* L. (chickpea). Plant cell report, 12:194-198.
- Fraley, R., Schell, eds. J. 1991. Plant Biotechnology, Current Opinion in Biotech, 2, 145-210.
- Franklin CI, Trieu TN, Cassidy BG, Dixon RA, Nelson RS .1993. Genetic transformation of green bean callus via *Agrobacterium* mediated DNA transfer. Plant Cell Reports 12 (2): 74-76
- Frick, S., Chitty J. A., Kramell R., Schamid J., Allen R.S., Larkin P. and Kutchan T.M. 2004. Transformation of opium poppy (*Papaver somniferum* L.) with antisense berberine bridge enzyme gene (anti-bbe) via somatic embryogenesis result in an altered ratio of alkaloids in latex but not in roots. Transgenic Research, vol13(6), pp 604 – 613.
- Gamage N, Nakanishi T 2000. In vitro shoot regeneration from leaf tissue of apple (cultivar ‘Orine’): high shoot proliferation using carry over effect of TDZ. Acta Horticult 520:291–298
- Gamborg, O.L., Constabel, F. and Shyluk, J.P. 1974. Organogenesis in callus from shoot apices of *Pisum sativum* L. Physiol. Plantarum, 30; 125-128.
- Gatehouse, A.M.R., Davidson, G.M., Newell, C.A., Merryweather, A., Hamilton, W.D.O., Burgess, E.P.J. Gilbert, R.J.C. and Gatehouse, J.A. 1997. Transgenic potato plants with enhanced resistance to the tomato moth *Lacanobia oleracea*: growth room trials. Mol. Breed. 3: 49-63.
- Gelbic I, Adel MM, Hussein HM. 2011. Effects of nonsteroidal ecdysone agonist RH-5992 and chitin biosynthesis inhibitor lufenuron on *Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833). Central European Journal of Biology. 6, Issue 5, pp 861-869

- Genga A, Allavena A, Ceriotti A, Bollini R. 1990. Toward genetic transformation of bean by *Agrobacterium tumefaciens*. Acta Hort. 280: 527-536
- Ghanem, S.A. 1995. *In vitro* embryo genesis of lentil under saline conditions. Bul. Facul. Agric. Univ. Cairo, 46: (1); 113-125.
- Glare T.R., O'Callaghan M., *Bacillus thuringiensis*: Biology, Ecology and Safety, s. 350, John Wiley & Sons, Ltd., UK, 2000.
- Grant, J.E., Cooper, P.A., McAra, A.E. and Frew, T.J. 1995. Transformation of pea (*Pisum sativum*) using immature cotyledons. Plant Cell Reports, 15, 254-258.
- Haque, M. I. and Khanom, R. 1993. *In vitro* plant regeneration from different Eksplants of lentil (*Lens culinaris* Medik). *In vitro*, 29A, 3 pt. 2, 74 A.
- Havas I, Bisztray Gy. D, Velich I. 2004. Attempts for the transformation of bean (*Phaseolus vulgaris*) Poster No.P6-15. 5th IVHCB symposium. *In vitro* culture and horticultural breeding. Biotechnology as Theory and Practice in horticulture. Debrecen. Hungary.
- Hiroshi, N. ve Zhuomeng, Y. 1993. Tissue culture of sainfoin. Proceedings of The XVII International Grassland Congress, 1044-1045.
- Hou SW & Jia JF (2004a). High frequency plant regeneration from *Astragalus melilotoides* hypocotyl and stem explants via somatic embryogenesis and organogenesis. Plant Cell Tiss Org 79: 95-100.
- Hou, S.W. and Jia, J.F. (2004b). Plant regeneration from protoplasts isolated from embryonic calli of the forage legume *Astragalus melilotoides* Pall. Plant Cell Reports.
- Huffman, G.A., White, F.F., Gordon, M.P. and Nester, E.W. 1984. Hairy root inducing plasmid physical map and homology to tumour-inducing plasmids, J. Bact., 157:269-276.
- Hussey, G., Johnson, R.D. and Warren, S. 1989. Transformation of meristematic cells in shoot apex cultured pea shoots by *Agrobacterium tumefaciens* and *A. rhizogens*. Protoplasma, 14, 101-105
- Jackson, J.A. and Hobbs, S.L.A. 1990. Rapid multiple shoot production from cotyledonary node explants of pea. *In vitro* Cellular and Developmental Biology, 26, 835-838.
- James, D.F., Foyer, C.H. and Scott, I.M. 1998. Changes in Salicylic acid and Antioxidants during Induced Thermotolerance in Mustard Seedlings, Plant Physiol. 118, 1455.
- Jefferson, R.A. 1987. Assaying chimeric genes in plants: the GUS gene fusion system.
- Kar, S., Basu, D., Das, S., Ramkrishnan, N.A., Mukherjee, P., Nayak, P. and Sen, S.K. 1997. Expression of *cryIA(c)* gene of *Bacillus thuringiensis* in transgenik chickpea plants inhibits development of pod-borer (*Heliothis armigera*) larvae. Transgenik Ressearch, 6, 177-185.

- Karakaya, A. and Özcan, S. 2001. Susseptibility of different bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivars to *Agrobacterium tumefaciens*. Turkish Journal Biology, 25 (4), 447-452.
- Kendir H, Sahin-Demirbag N, Khawar KM, Aasim M, 2008. *In vitro* plant regeneration from Narbon Vetch (*Vicia narbonensis* L.) using cotyledonary node explants African Journal of Biotechnology, 7 (14): 2491-2494.
- Khalafalla, M.M. and Hattari, K. 1999. A combination of thidiazuron and benzyladenine promotes multible shoot production from cotyledonary node explants of faba bean (*Vicia faba* L. ), Plant Growth Regulation, 27:145-148
- Khawar, K. M., Sancak, C., Uranbey, S. and Özcan, S. 2004. Effect of thidiazuron on shoot regeneration from different explants of lentil (*Lens culunaris* Medik.) via organogenesis. Turkish Journal of Botany, 28, 421-426.
- Khawar, M.K. and Özcan, S. 2002. Effect of Indole-3-Butyric Acid on *in vitro* Root Development in Lentil (*Lens culinaris* Medik.). Turkish Journal of. Botany, 26, 109-111.
- Krishnamurthy, K.V., Suhasini, K., Sagare, A.P., Meixner, M., De Kathen, A. and Pickardt, T. 2000. *Agrobacterium* mediated transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) embryo axes. Plant Cell Reports, 19, 235-240.
- Kumar, V. S. and Rajam, M.V. 2005. Polyamines enhance *Agrobacterium tumefaciens* vir gene induction and T-DNA transfer. Plant science, 168: 475-480.
- Kyte, L.1987. Micropropagation. Plants from test tubes, An Introduction to Micro propagation, (Rev. ed.). Timberpress, Portland.59-78.
- Leuba V, Le Tourneau D. 1990. Auxin activity of phenylacetic acid in tissue culture. Journal of Plant Growth Regulation 9:71–76.
- Lewiss ME, Bliss FA. 1994. Tumor formation and beta- glucuronidase expression in *Phaseolus vulgaris* inoculated with *Agrobacterium tumefaciens*. Journal of the American Society for Horticultural Science 119 (2) :361-366
- Lulsdorf, M.M., Hans, R., Jennie, A.J., David, S.B., Shaun, L.A., Hobs. 1991.Optimizing the production of transformed pea (*Pisum sativum* L.) callus using disarmed *A. tumefaciens* stains. Plant Cell Rep., 9:479-483.
- Malik, K.A. and Saxena P.K. 1992. Regeneration in *Phaseolus vulgare* L., high frequency induction of direct shoot formation in intact seedlings by N6-benzylaminopurine and thidiazuron. Planta, 186: 384-389.
- Mao, J.Q., Zaidi, M.A., Aranson, J.T. and Altosaar, I. 2006. *In vitro* regeneration of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. cv. Black eye cowpea via shoot organogenesis.Plant Cell Tissue and Organ Culture. 87, 121-125.
- Mathews, H. 1987. Morphogenetic responses from *in vitro* cultured seedling explants of mung bean ( *Vigna radiata* L. Wilezek). Plant Cell, Tiss. Org. Cult., 11:233-240.
- Maxted N, Callimassia MA, Bennett MD. 1991. Cytotaqonomic Studies of Eastern Mediterranean Vicia Species (*Leguminosae*). Pl. Syst. Evol. 177:221-234

- Maxted N. 1993. A phenetic investigation of *Vicia* L. subgenus *Vicia* (*Leguminosae*, *Vicieae*). *Botanical J Linnean Soc.* 111:155-182.
- Mckee R .1952. The vetches. Forages. In:HD. Huges, ME Heath, DS Metcalfe(Ed), The Iowa State college press, Ames, Iowa,234-241.
- Mcclean P., Held B., Simental J., Drong RF., Slightom J. 1995. Susceptibility of dry bean (*Phaseolus vulgaris* L. ) to *Agrobacterium* infection transformation of cotyledonary and hypocotyl tissues. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 24 (2):131-138
- Mroginski, L.A. and Kartha, K.K. 1981. Regeneration of pea (*Pisum sativum* L. cv. Century) plants by *in vitro* culture of immature leaflets. *Plant Cell Reports*, 1, 64-66.
- Murashige, T. and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant.*, 15: 473-497.
- Mutasim, M., Khalafalla, H. A., El-Shemy, Rahman, S. M., Masayoshi, T., Masayoshi, T. and Masao, I. 2005. Recovery of herbicide-resistant Azuki Bean [*Vigna angularis* (Wild.), Ohwi & Ohashi] plants via *Agrobacterium-mediated* transformation. *African Journal of Biotechnology*, 4, 61-67.
- Muthukumar, B., Mariamma, M. and A. Gnanam. 1995. Regeneration of plants from primary leaves of cowpea. *Plant Cell Tissue and Organ Culture.* 42, 153-155.
- Müntz K, Christove V, Saalbach G, Saalbach I, Waddell D, Pickardt T, Schieder O, Wüstenhagen. 1998. *Nahrung* 42:125-127.
- Naimov, S., Weemen-Hendriks, M., Dukiandjiev, S. and Maagd, R.A. 2001. *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin *CryI* hybrid proteins with increased activity against the Colorado potato beetle. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5328-5330.
- Naimov, S., Zahmanova, G., Boncheva, R., Kostova, M., Minkov, I., Dukiandjiev, S. and De Maagd, R. 2006. Expression of synthetic SN19 hybrid delta-Endotoxin encoding gene in transgenic potato. *Biotechnol. & Biotechnol Eq.* 20: 38-41.
- Narváez-Vásquez J, Orozco-Cárdenas ML, Ryan CA. 1992. Differential expression of a chimeric CaMV-tomato proteinase Inhibitor I gene in leaves of transformed nightshade, tobacco and alfalfa plants. *Plant Mol Biol.* 20(6):1149-57.
- Natali, L. and Cavallini, A. 1987. Regeneration of pea *Pisum sativum* L plantlets by *in vitro* culture of immature embryos. *Plant Breeding*, 99; 172-176.
- Nirala, N.K. 2010. Expression of a rice chitinase gene enhances antifungal potential in transgenic grapevine (*Vitis vinifera* L.), *Vitis - Journal of Grapevine Research* , pp. 181-187.
- Nuessly G. S., Hentz M. G., Beiriger R., Scully B. T. 2004. Insects associated with faba bean, *Vicia faba* (Fabales: Fabaceae), in Southern Florida. *Florida entomologist.* 87(2): 204-211.
- Odutayo, O.I., Akinrimisi, F.B., Ogunbosoye, I. and Oso, R.T. 2005. Multiple shoot induction from embryo derived callus cultures of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp. *African Journal of Biotechnology*, 4, 1214-1216.

- Özcan, S., Barghchi, M., Firek, S. and Draper, J. 1992. High frequency adventitious shoot regeneration from immature cotyledons of pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Cell Reports*, 11, 44-47
- Özcan, S. 1993. Tissue culture in pea and engineering a marker gene for specific expression in target cells for plant transformation (Ph.D. Thesis), University of Leicester, U.K.
- Özcan, S., Gürel, E. ve Babaoğlu M. 2001. Agrobacterium Aracılığıyla ve Doğrudan Gen Aktarım Teknikleri. Bitki Biyoteknolojisi II, Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 112-189, Konya.
- Özcan, S., Yıldız, M., Sancak, C. and Özgen, M., 1996. Adventitious Shoot Rejeneration in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.), *Tr. J. of Botany*, 20, 497-501.
- Özcan, S.ve Özgen, M. 1996. Bitki Genetik Mühendisliği. *Kükem Dergisi*, 1, 69-95.
- Özgen, M., Altınok, S., Özcan, S. and Sevimay, C. S. 1997. *In vitro* Micropropagation of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Cultivars. *Turkish Journal of Botany*, 21, 275-278.
- Parh, D.K., Conner, A.J., Jacobs, J.M.E. and McNeil, D.L. 1998. Shoot tip necrosis and its alleviation during *in vitro* culture of *Lens culinaris*. *SABRAO J. Br. & Genet.*, 30 (2); 97-101.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff, Dordrecht, 139-154 and 183-230. *Plant Mol. Biol. Rep.* 5; 387-405.
- Polanco, M.C. and Ruiz, M.L. 1997. Effect of Benzylaminopurine on *in vitro* and *in vivo* root development in *Lens culinaris* Medik. *Plant Cell Reports*, 17, 22-26.
- Polanco, M.C., Pelaez, M.I. and Ruiz, M.L. 1988. Factors affecting callus and shoot formation from *in vitro* cultures of *Lens culinaris* Medik. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 15, 175-182.
- Polowick, P. L., Baliski, D.S. and Mahon, J.D. 2004. *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.): gene integration, expression and inheritance. *Plant Cell Rep.*, 23:485-491.
- Pounti-Kaerlas, J., Eriksson, T. And Engstrom, P. 1990. Production of transgenik pea (*Pisum sativum*) plants by *Agrobacterium* mediated gene transfer. *Theoretical*
- Raskin, I. 1995. Salicylic Acid. *Plant Hormones Physiology. Biochemistry and Molecular Biology*, 188. New York. USA.
- Ray, S.D. 1986. GA, ABA, Phenol Interaction in the Control of Growth: Phenolic Compounds as Effective Modulators of GA-ABA Interaction in Radish Seedlings. *Biologia Plantarum (PRAHA)* 28, 5, 361.
- Rubluo, A., Kartha, K.K., Morginski, L.A. and Dyck, J. 1984. Plant regeneration from pea leaflets culture *in vitro* and genetic stability of regenerants. *Journal of Plant Physiology*, 117, 119-130.

- Sağlam S. 2010. Tohum Böceklerine (Bruchidae: Coleoptera) Dayanıklı Transgenik Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) Bitkilerinin Elde Edilmesine Yönelik Araştırmalar. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fenbilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.
- Sağlam, S., Çiftçi, C. Y., Khawar, K. M., Atak, M. ve Özcan, S. 2005b. *In vitro* koşullarda fasulye bitkisine dört yapraklı aşamada transformasyon çalışmaları. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 18:2, 291 - 294, Antalya.
- Sağlam, S., Çiftçi, C.Y., Khawar, K.M., Atak, M. ve Özcan, S. 2005a. Fasulye bitkisinde *in planta* koşullarda gen aktarımı. XIV. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, Eskişehir.
- Sahin-Demirbag N, Kendir H, Khawar KM., Aasim M. 2008. *In vitro* plant regeneration from Hungarian vetch (*Vicia pannonica*) using cotyledonary node explants Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 22 (4): 929-932.
- Saini HS. 1989. In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds. Pudoc, Huisman, J., van der Poel, AFB, Liener IE (Eds.) Wageningen.
- Samac, D. 1995. Strain specificity in transformation of alfalfa by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant Cell, Tiss. Organ Cult. 43: 271-277.
- Sancak, C. 1999. *In vitro* Micropropagation of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). Turkish Journal of Botany, 23, 133-136.
- Sancak, C., Mirici, S. and Özcan, S. 2000. High frequency shoot regeneration from embriyo explants of Hungarian vetch, Plant Cell, Tiss. and Org. Cult., 61: 231-235.
- Sanyal, I., Singh, A.K., Kaushik, M. and Amla, D.V. 2005. *Agrobacterium*-mediated transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) with *Bacillus thuringiensis cryIIAc* gene for resistance against pod borer insect *Helicoverpa armigera*. Plant Science, 168, 1135-1146.
- Saxena, P.K. and King, J. 1987. Plant regeneration from callus cultures of *Lens culinaris* Medik via somatic embryogenesis. Plant Science, 52, 223-227.
- Schroeder, H. E., Gollasch, S., Moor, A., Tabe, L.M., Craig, S., Hardie, D.C., Chrispeels, M. J., Spencer, D. and Higgins, T.J.V.1995. Plant Physiol. 107 (4);1233-1239.
- Schroeder, H.E., Schotz, A.H., Wardley-Richardson, T., Spencer, D. and Higgins, T.J.V. 1993. Transformation and regeneration of two cultivars of pea *Pisum sativum* L. Plant Physiology, 101, 751-777.
- Selva, E., Stouffs, B., Briquet, M. 1989. *In vitro* Micropropagation of *Vicia faba* L. by micro-cutting and multiple shoot induction, Plant Cell, Tiss. Org. Cult.,18, 2. 167-79.
- Singh, R., Singh, N. P., Datta, S., Yadav, I. S. and Singh, A. P. 2009. *Agrobacterium*-mediated transformation of chickpea using shoot meristem. Indian Journal of
- Snedecor, G. W. and Cochran, W.G. 1967. Statistical Methods, The Iowa State University Press, Iowa, USA.



- Sonia, R. S., Rana, P. S. and Pawan, K. J. 2007. *Agrobacterium tumefaciens* mediated transfer of Phaseolus vulgaris a-amylase inhibitor-1 gene into mugbean Vigna radiata (L.) Wilczek using bar as selectable marker. Plant Cell Rep., 26, 187-198
- Stachel, S.E, Messens, E., Van Montagu, M. and Zambryski, P. 1985. Identification of the signal molecules produced by wounded plant cells that activate T-DNA transfer in Agrobacterium tumefaciens, Nature, 318:624-629
- Stewart, JR C. N. 2008. Doku kültürü Bitki gelişiminin yönlendirmesi. Çevirmen Öktem HA, Yücel M. 2012. Bitki Biyoteknolojisi ve Genetik-İlkeler, Teknikler ve Uygulamalar. Nobel yayın evi. Yenimahalle. Ankara. Türkiye
- Stewart, N.C., Adang, M.J., All, J.N., Raymer, P.L., Ramachandran, S. and Parrott, W. 1996. Insect control and dosage effects in transgenik canola containing a synthetic *Bacillus thuringiensis cryIAc* gene. Plant Physiology, 112, 115-120
- Tan M., Serin Y. 2009. Baklagil Yembitkilerinin Tarımsal Özellikleri, Ekonomik Önemleri, Taksonomileri ve genel Yapısal Özellikleri. Yembitkileri Baklagil Yembitkileri. CİLT II, T.C Tarım Ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim Ve Geliştirme Genel Müdürlüğü. Ankara
- Tegeder, M., Kohn, H., Nibbe, M., Schieder, O. and Pickardt, T. 1996. Plant regeneration from protoplast of *Vicia narbonensis* via somatic embriyogenesis and shoot organogenesis, Plant Cell Rep., 16:22-25.
- TÜİK . 2015 . Web sitesi. <http://www.tuik.gov.tr> (Erişim tarihi 01.04.2015)
- Uranbey, S., Çöçü, S., Sancak, C., Parmaksız, İ., Khawar. K.M., Mirici, S. ve Özcan, S.2003. "Efficient adventitious shoot regeneration in cicer milkvetch". Biotech. and Biotech. Equip., 17, 33-37.
- Vodkin LO, Raikhel NV. 1986. Soybean Lectin and Related Proteins in Seeds and Roots of  $Le^+$  and  $Le^-$  Soybean Varieties Plant Physiol. 81(2): 558-565.
- Walden, R. and Schell, J. 1990. Techniques in Plant Molecular Biology. European Biochem, 192, 563-576.
- Warkentin, T.D. and Mc Hughen, A. 1992. Potential for the Genetic Transformation of Lentil (*Lens culinaris* Medik) with *Agrobacterium tumefaciens*. Invited presentation to the International Industrial Biotechnology Conference on Bio-Recognition, June 1-4, 1992, Montreal, Quebec.
- Warkentin, T.D. and McHughen, A. 1990. Potential for genetic transformation of lentil (*Lens culinaris* Medik) with *Agrobacterium tumefaciens*. *In vitro*, 26, pt. 2, 44A.
- White, D. W. R. and Voisey, C. 1994. Prolific direct plant regeneration from cotyledons of white clover, Plant Cell Rep., 13: 303-308.
- Williams, D.J. and McHughen, A. 1986. Plant regeneration of the legume *Lens culinaris* Medik (lentil) *in vitro*. Plant Cell Tiss. Org Cult., 7; 149-153.

- Yadav, M. 2010. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated genetic transformation of sesame (*Sesamum indicum* L.) Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Pp 377-386.
- Yamada, T., Teraishi, M., Hattori K. and Ishimoto, M. 2001. Transformation of azuki bean (*Vigna angularis*) by *Agrobacterium tumefaciens*. Plant cell tissue organ culture, 64:4754.
- Yan, B., Reddy, M.S., Collins, G.B. and Dinkins, R.D. 2000. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.] using immature zygotic cotyledon explants. Plant cell rep, 19:1090-1097.
- Yılmazlar, B. 1999. Korunga, Çayır üçgülü ve İskenderiye üçgülünün *Agrobacterium tumefaciens* 'e karşı duyarlılığının belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi (Basılmamış), Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Zaidi, M. A., Mohammadi, M., Postel, S., Mason, L. and Altosaar, I. 2005. The *Bt* gene *cry2Aa2* driven by a tissue specific ST-LS1 promoter from potato effectively controls *Heliothis virescens*. Transgenic Research, 14:289-298.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Mohsen MIRZAPOUR  
Doğum Yeri : İRAN- KHOY  
Doğum Tarihi : 1973  
Medeni Hali : Evli  
Yabancı Dili : Azerice, Farsça, İngilizce, Türkçe

### Eğitim Durumu (Kurum)

Lise : Şehit Madani Lisesi (1991)  
Lisans : AZAD Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat ve Bitki İslahı Mühendisliği  
Anabilim Dalı (1996)  
Yüksek Lisans : AZAD Üniversitesi Ziraat ve Bitki İslahı Fakültesi Bitki İslahı  
Anabilimi Dalı (2003)

### Uluslararası SCI ve SCI Expanded Kapsamındaki ve Hakemli Dergiler

- 1- **Mirzapour M**, Hajyzadeh M, Khawar KM, Kendir H, 2012. Comparison of abaxially and adaxially cultured cotyledon explants on *in vitro* regeneration of *Vicia sativa* cv. Selçuk. Journal of Biotechnology, Volume 161, Supplement, November Page15.
- 2- Hajyzadeh M, Bakhsh A, **Mirzapour M**, Khawar KM. 2012. Genetic transformation of cv. Gokçe of chickpea using mature embryonic axis explants. Journal of Biotechnology, Volume 161, Supplement, November, Page 15
- 3- **Mirzapour M**, Nofouzi F, Mokhtarzadeh S, Kendir H, Khawar KM. 2013. Effects of BAP-NAA on plant regeneration from half cotyledon explants of Turkish Common Vetch (*Vicia sativa* L.) cultivar Kubilay. Current Opinion in Biotechnology, Volume 24, Supplement 1, Page S121
- 4- Nofouzi F, **Mirzapour M**, Mokhtarzadeh S, Khawar KM. 2013. *In vitro* mass proliferation of two commercially important Turkish Broad Bean (*Vicia faba* L.) cultivars. Current Opinion in Biotechnology, Volume 24, Supplement 1, July, Page S121
- 5- Mokhtarzadeh S, Niyazpour F, Nofouzi F, **Mirzapour M**, Khawar KM, NeseKirimer.2013. Effect of BAP and NAA plant growth regulators *in*

*in vitro* regeneration and rooting of *Echinacea purpurea* (L.) Moench. Current Opinion in Biotechnology, Volume 24, Supplement 1, July , Page S121

### Ulusal kongreler

- 1- Valizadeh N, Nofouzi F, **Mirzapour M**, Mobasher Jannat S, Javani M. 2014. Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.)’da Farklı sulama düzeyleri ile mineral ve biyolojik azotlu gübrenin verim ve verim üyeleri üzerinde etkisi. XI. Ulusal Tarla Bitkileri Kongresi 10-13 Eylül Konya 2013.pp 336.
- 2- **Mirzapour M**, Dereli E, Allahverdikhani Vaziri P, Kayan M, Aycan M, Yıldız M. 2014. Ketende (*Linum usitatissimum* L.) Yüzey sterilizasyonu süresinin *in vitro* fide gelişimi, sürgün rejenerasyonu ve bitkicik gelişimi üzerine etkisi. Ulusal Botanik Kongresi. 25-28 Ekim 2014. www.botanik.web.tr
- 3- **Mirzapour M**, Khawar KM, Kendir H. 2012. Adi Fiğın Selçuk Çeşidinde İki Kotiledon ile Embriyo Eksplantları Kullanarak *in vitro* Mikroçoğaltım Çalışmaları. 15-18 Kasım. 2012. 2. Moleküler Biyoloji Kongresi Antalya.

### Uluslararası kongreler

- 1- **Mirzapour M**, Kendir H, Khawar KM. 2014. Micropropagation of vetch (*Vicia sativa* L) cv. Kubilay. International Molecular Biology and Biotechnology Congress Bosnia and Herzegovina. 3RD International Molecular Biology and Biotechnology Congress. June 02-06 2014. pp 44.
- 2- **Mirzapour M**, Khawar KM, Kendir H. 2013. Salisilik Asit Ve GA<sub>3</sub> Ön Uygulanmasının Adi Fiğın Karaelçi Çeşidin Kotiledon Eksplantın Rejenerasyon Üzerinde Etkileri. International Plant Breeding Congress. Nov. 10-14. 2013. Antalya.
- 3- **Mirzapour M**. 2014. Establishment of efficient micropropagation system of *Astragalus vulneraria* DC. an important plant of arid landscaping. 1<sup>st</sup> National Ornamental Plants Congress. Tehran 21-22 October. 2014.

### Poster

1. **Mirzapour M**, Khawar KM, Kendir H. 2012 . Adi Fiğın Kubilay Çeşidinde Yarım Kotiledon Eksplantı ile *in vitro* Hızlı Çoğaltımı. 15-18 Kasım. 2012.2. Moleküler biyoloji Kongresi Antalya.
2. Derelli E, VAZIRI P, **Mirzapour M**, Yıldız M. 2012 Dokudaki Su Eksikliğinin Neden Olduğu Stresin *In vitro* Şartlar Altında Keten (*Linum Usitatissimum* L.) Hipokotil Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu Üzerine Etkisi. Tarla Bitkileri Kongresi. 2012. Çankırı

3. **Mirzapour M**, Nofouzi F, Valizadeh N, Khawar KM, Kendir H. 2013. Adi Fiğın Cumhuriyet Ve Karaelçi Çeşidin Tohumlarından Gelişen Fideciklerin Morfolojik Özelleikleri Üzerine Sodyum Hipoklorit Muamelerin Etkileri. XI. Ulusal Tarla Bitkileri kongresi 10-13 Eylül Konya 2013.
4. Nofouzi F, **Mirzapour M**, Valizadeh N, Khawar KM. 2013. Türkiye’de Yetiştirilen İki Önemli Bakla Çeşitlerinde BAP ve NAA Büyüme Düzenleyici Maddelerin *In vitro* Koşullarında Rejenerasyon Üzerinde Etkileri. XI. Ulusal Tarla Bitkileri kongresi 10-13 Eylül Konya 2013.
5. **Mirzapour M**, Dilaver Z, Kendir H, Khawar KM. 2013. Micropropagation of *Astragalus vulnerariae* DC – a potential plant for use in arid landscaping. International Plant Breeding Congress. Nov. 10-14. 2013. Antalya.