



**KOLZADA (*Brassica napus* L.) ÇİMLENME  
VE SİTOGENETİK ÖZELLİKLER İLE  
İN VİTROREJENERASYON ÜZERİNE MEMELİ  
CİNSİYET HORMONLARININ ETKİSİ**

**Gholamreza JANNATI**

**Doktora Tezi  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı  
Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU**

**2018**

**Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**KOLZADA (*Brassica napus* L.) ÇİMLENME VE SİTOGENETİK  
ÖZELLİKLER İLE *İN VİTRO* REJENERASYON ÜZERİNE  
MEMELİ CİNSİYET HORMONLARININ ETKİSİ**

Gholamreza JANNATI

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM**  
2018

Her Hakkı Saklıdır



T. C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**KOLZADA (*Brassica napus*) ÇİMLENME VE SİTOGENETİK ÖZELLİKLER  
İLE *İN VİTRO* REJENERASYON ÜZERİNE MEMELİ CİNSİYET  
HORMONLARININ ETKİSİ**

Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU danışmanlığında, Gholamreza JANNATI tarafından hazırlanan bu çalışma 24.../...04.../...2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Doktora Tezi olarak (5.7.0) oybirliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Başkan :Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

İmza:

Üye :Prof. Dr. Bünyamin YILDIRIM

İmza:

Üye :Prof. Dr. Ertan YILDIRIM

İmza:

Üye :Prof. Dr. Metin TOSUN

İmza:

Üye :Doç. Dr. Ahmet Metin KUMLAY

İmza:

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 17.../...05...2018 tarih ve 20.../...24...nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Mehmet KARAKAN**

Fen Bilimleri Enstitüsü

Müdürü  
**Prof. Dr. Cavit KAZAZ**

Enstitü Müdürü

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

## ÖZET

Doktora Tezi

### **KOLZADA (*Brassica napus* L.) ÇİMLENME VE SİTOGENETİK ÖZELLİKLER İLE *İN VİTRO* REJENERASYON ÜZERİNE MEMELİ CİNSİYET HORMONLARININ ETKİSİ**

Gholamreza JANNATI

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU

Kolza (*Brassica napus*) dünyada besinsel anlamda son derece zengin niteliklere sahip bitkisel yağ kaynağı olduğu gibi, aynı zamanda hayvansal yem olarak da oldukça önemli bir bitki türüdür. Bu tez çalışmasının amacı kolza bitkisinin tohumlarının çimlenmesi, sitogenetiği ve *in vitro* doku kültürü üzerine memeli cinsiyet hormonlarından 17 $\beta$ -estradiol, östrojen, progesteron ve testosteron'un etkisini belirlemektir. Çalışma kapsamında kullanılan hormonlar 0 (kontrol),  $5 \times 10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-3}$  ve  $5 \times 10^{-2}$  mM konsantrasyonlarda uygulanmıştır. Çimlenme parametrelerinden elde edilen verilerde en başarılı uygulamanın östrojenin  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonu olduğu görülmüştür.

Memeli cinsiyet hormonlarının kolza bitkisinin meristematik hücrelerini kromozom anormalliklerden koruyamadığı, aksine kontrol gruba göre nispeten daha yüksek bir oranla kromozom anormalliklere neden olduğu belirlenmiştir. Kontrol grupta hem mitotik indeks daha yüksek olmuş hem de kromozomal anormalliklere sahip hücre oranı daha düşük olmuştur. Kontrol grubu tüm hormon tiplerinde  $5 \times 10^{-5}$  ve  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonlar izlemiştir.

*In vitro* doku kültürüne memeli cinsiyet hormonlarının etkisini incelemek için 2 farklı eksplant (hipokotil ve kotiledon), 4 farklı memeli cinsiyet hormonu ve bunların 5 farklı dozu hem ışık hem de karanlık ortam koşullarında değerlendirmeye alınmıştır. İki aşamalı olarak yapılan rejenerasyon çalışmasında, kallus gelişimi eksplant olarak hipokotil kullanıldığında, hormon olarak ise progesteronun  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık konsantrasyonu uygulandığında en yüksek oranda olmuştur. Embriyogenik kallus oluşumu uyarımında ise en başarılı uygulama,  $5 \times 10^{-4}$  mM östrojen olmuştur. Testosteron uygulamalarının *in vitro* kültür ortamında genel anlamda başarılı etkiler sergilemediği görülmüş, diğer hormon yapılarının etkilerinin ortam şartları ve konsantrasyon bağımlı bir şekilde değişiklik gösterdikleri anlaşılmıştır.

**2018, 142 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Kolza (*Brassica napus*), doku kültürü, 17 $\beta$ -estradiol, östrojen, progesteron, testosteron

## ABSTRACT

P.h.D Thesis

### THE EFFECT OF MAMMALIAN SEX HORMONES ON THE GERMINATION, CYTOGENETIC, *IN VITRO* REGENERATION OF RAPESEED (*Brassica napus* L.)

Gholamreza JANNATI

Atatürk University  
Schools of Applied and Natural Sciences  
Department of Field Crops

Supervisors: Prof. Dr. Kamil HALILOĞLU

Rapeseed (*Brassica napus*) is a vegetable oil source with extremely rich nutritional qualities in the world as well as a very important plant species as animal feed. The aim of this thesis is to determine the effect of mammalian sex hormones 17 $\beta$ -estradiol, estrogen, progesterone and testosterone on germination of seeds of the rapeseed plant, cytogenetics and in vitro tissue culture. The hormones used in the study were  $5 \times 10^{-5}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-3}$  and  $5 \times 10^{-2}$  mM respectively. In the data obtained from the germination parameters of the study, the most successful application was found to be the concentration of  $5 \times 10^{-4}$  mM of estrogen.

It has been found that mammalian sex hormones do not protect the meristematic cells of the rapeseed plant from chromosome abnormalities, but rather cause chromosome abnormalities at a slightly higher rate than the control group. In the control group, the mitotic index was higher, while the percentage of cells with chromosomal abnormalities was lower. Concentrations of  $5 \times 10^{-5}$  and  $5 \times 10^{-4}$  mM of all hormone types were monitored by the control group.

Two different explants (hypocotyl and cotyledon), 4 different mammalian sex hormones and their 5 different doses were evaluated in both light and dark conditions to examine the effect of mammalian sex hormones on in vitro tissue culture. In a two-stage regeneration study, callus development was highest when hypocotyl was used as an explant and when the concentration of progesterone was  $5 \times 10^{-5}$  mM as a hormone. In the induction of embryogenic callus, the most successful application was  $5 \times 10^{-4}$  mM estrogen. It has been found that testosterone applications do not generally have successful effects in the in vitro culture medium, and that the effects of other hormone constructs vary in ambient conditions and in a concentration-dependent manner.

**2018, 142 pages**

**Keywords:** Rape (*Brassica napus*), tissue culture, 17 $\beta$ -estradiol, estrogen, progesterone, testosterone

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın, planlanıp yürütülmesinde bilgi birikimi ve engin tecrübelerini benimle paylaşan, her konuda çalışma azmi ve cesareti veren, tez çalışmamın her konusunda ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, sosyal hayatımda her zaman desteğini ve değerli vaktini sabırla ayıran değerli hocam Sayın Prof. Dr. Kamil HALİLOĞLU'na teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmamın başlangıcından, bitişine kadar her türlü desteği sunan, anlayış gösteren, yardımlarını esirgemeyen, bilgisini ve sosyal hayatımda her zaman desteğini ve değerli vaktini sabırla ayıran Sayın Prof. Dr. Metin TOSUN'na ve Sayın Doç. Dr Murat AYDIN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın, Dr. Arash HOSSEIN POUR, Doktora öğrencisi Sayın Kimya SEYYEDCHERAGHİ, Farrokh LAFZİ, Ali NADERİ, Sayın Arş. Gör Selçuk KODAZ, Sayın Arş. Gör Furkan ÇOBAN ve Güller ÖZKAN'a,

Hayatım boyunca güzel namına yaptığım işlerin tamamına tüm güçleriyle maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli annem Sakine JANNATI, babam Reza JANNATİ, değerli kardeşlerime ve her zaman ve her konuda beni yalnız bırakmayan sevgili eşim Hamide HAJİHOSSEİNLU'a ve ailesine ve canım oğlum Alisan JANNATI teşekkür ederim.

**Gholamreza JANNATI**

**Nisan, 2018**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	x
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>6</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>24</b>
3.1. Farklı Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) ve Dozlarının Kolzada Çimlenme ve Fide Gelişimi Üzerine Etkileri.....	24
3.1.1. Bitki materyali .....	24
3.1.1.a. Memeli cinsiyet hormonu uygulaması .....	24
3.1.2. Çimlenme ile ilgili karakterler .....	25
3.1.3. Fide ile ilgili karakterler .....	26
3.2. Farklı Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) ve Dozlarının Kolzada Sitogenetik Parametreler Üzerine Etkileri.....	28
3.2.1. Yöntem .....	28
3.2.1.a. Somatik kromozomların gözlemi için materyalin hazırlanması.....	28
3.2.1.b. Preparatın hazırlanışı .....	29
3.2.1.c. Sitogenetik ile ilgili parametrelere ilişkin verilerin istatistiksel analizi .....	29
3.3. Farklı Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) ve Dozlarının Kolza Bitkisinin Doku Kültürüne Etkileri .....	30
3.3.1. Bitkilerden eksplantların alımı .....	30
3.3.2. Kallus kültürü ortamlarında kullanılan kimyasallar .....	31
3.3.2.a. Temel besi ortamı .....	31
3.3.3. Bitki rejenerasyonu ortamlarında kullanılan kimyasallar .....	36
3.3.4. Kullanılan yöntemler .....	36
3.3.4.a. Birinci ve ikinci yöntemlerin uygulanışı .....	36

3.3.4.b. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanması.....	38
3.3.4.c. <i>İn vitro</i> MCH uygulaması.....	39
3.3.4.d. İncelenen karakterler .....	40
3.3.5. Verilerin istatistiksel analizi .....	42
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>	<b>43</b>
4.1. Memeli Cinsiyet Hormonlarının (MCH) Çimlenme Parametreleri ve Fide Oluşumu Üzerine Etkileri.....	43
4.1.1. Çimlenme ile ilgili karakterler .....	43
4.2. Memeli Cinsiyet Hormonlarının (MCH) Çeşitli Sitogenetik Parametreler Üzerine Etkileri .....	56
4.3. Doku Kültüründe Memeli Cinsiyet Hormonlarının (MCH) Etkisi .....	65
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>	<b>121</b>
5.1. Tartışma.....	121
5.2. Sonuç ve Öneriler.....	133
KAYNAKLAR .....	135
ÖZGEÇMİŞ .....	143



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Simgeler

%	Yüzde
°C	Santigrat Derece
μM	Mikromolar
cm	Santimetre
g	Gram
ha	Hektar
Kg	Kilogram
kPa	Kilo paskal
L	Litre
M	Metre
M	Molar
m <sup>2</sup>	Metrekare
Mbp	Mega baz çifti
Mg	Miligram
ml	Mililitre
Mm	Milimetre
mM	Milimolar
Mol	Mol
N	Normal

### Kısaltmalar

2,4-D	2,4-Diklorofenoksi asetik asit
ABA	Absisik asit
BAP	6-Benzil amino pürin
BS	Bitki sayısı

Ca	Kalsiyum
ÇGİ	Çim gücü indeksi
ÇHİ	Çimlenme hızı indeksi
ÇHK	Çimlenme hızı katsayısı
ÇO	Çimlenme oranı
ÇU	Çim uzunluğu
Fe	Demir
HKO	Hata kareler ortalaması
K	Potasyum
KKA	Kök kuru ağırlığı
KO	Kalus oluşum oranı
KOU	Koleoptil uzunluğu
KS	Toplam embriyonal kök sayısı
KU	Kök uzunluğu
KYA	Kök yaş ağırlığı
MCH	Memeli cinsiyet hormonları
MES	2-(N-morpholino) ethansülfonik asit
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
MS	Temel besi ortamı, Murashige and Skoog (1962)
N	Azot
OÇZ	Ortalama çimlenme zamanı
P	Fosfor
pH	Asitlik derecesi
Pikloram	4-amino-3,5,6-trikloro pikolinik asit
RE	Rejenerasyon etkinliği
S	Kükürt
SD	Serbestlik derecesi
SKA	Sürgün kuru ağırlığı
SU	Sürgün uzunluğu
SYA	Sürgün yaş ağırlığı

TDZ

1-Fenil-3-(1,2,3-thidiazol-5yl) üre (Thidiazuron)

TÜBİTAK

Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu



## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 3.1.</b> Hipokotil ve kotiledon yapraklarının kesim yerlerinin şematik gösterimi .....	31
<b>Şekil 4.1.</b> MCH'nin farklı konsantrasyonlarında çimlendirilen kolza ( <i>Brassica napus</i> L.) normal mitoz evreleri.....	57
<b>Şekil 4.2.</b> Çeşitli konsantrasyonlarda MCH uygulamasından sonra çimlendirilen kromozom anormallikleri.....	63
<b>Şekil 4.3.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında .....	72
<b>Şekil 4.4.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında;.....	73
<b>Şekil 4.5.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında;.....	87
<b>Şekil 4.6.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında;.....	88
<b>Şekil 4.7.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütmeye şartlarında 30. günlerdeki görünümü .....	100
<b>Şekil 4.8.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütmeye şartlarında 30. günlerdeki görünümü .....	101
<b>Şekil 4.9.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında karanlık (24 saat karanlık) büyütmeye şartlarında 30. günlerdeki görünümü .....	113
<b>Şekil 4.10.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında karanlık (24 saat ışık ve karanlık) büyütmeye şartlarında 30. günlerdeki görünümü .....	114

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 3.1.</b> MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları.....	31
<b>Çizelge 3.2.</b> MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar.....	35
<b>Çizelge 3.3.</b> Memeli cinsiyet hormonlarının (MCH) stok solüsyonunun hazırlanışı .....	35
<b>Çizelge 3.4.</b> Sitokinin hormonu stok solüsyonunun hazırlanışı.....	36
<b>Çizelge 4.1.</b> Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çimlenme ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları .....	44
<b>Çizelge 4.2.</b> Kolzay bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çimlenme ile ilgili bazı karakterlere etkilerine ait ortalamalar .....	45
<b>Çizelge 4.3.</b> Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çim ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları.....	50
<b>Çizelge 4.4.</b> Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çim ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları ait veriler .....	51
<b>Çizelge 4.5.</b> Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının sitogenetik ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları .....	58
<b>Çizelge 4.6.</b> Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çim ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları ait veriler .....	59
<b>Çizelge 4.7.</b> Farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının <i>in vitro</i> ortamda ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları .....	68
<b>Çizelge 4.8.</b> Hipokotil ve kotiledonların eksplant olarak kullanıldığı farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının uygulandığı <i>in vitro</i> ortamda incelenen bazı karakterlere ait veriler. ....	69

<b>Çizelge 4.9.</b> Farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının <i>in vitro</i> ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları.....	83
<b>Çizelge 4.10.</b> Farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının <i>in vitro</i> ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait veriler.....	84
<b>Çizelge 4.11.</b> 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları .....	96
<b>Çizelge 4.12.</b> 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı bazı karakterlere ait veriler .....	97
<b>Çizelge 4.13.</b> 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları .....	109
<b>Çizelge 4.14.</b> 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı bazı karakterlere ait veriler .....	110

## 1. GİRİŞ

Brassicaceae familyası kapsamında yer alan *Brassica* cinsi, ekonomik değeri en yüksek olan familya üyesidir. Dünya üzerinde bulunan pek çok farklı *Brassica* türü, farklı şekillerde sınıflandırılmış ve yağ, sebze veya yem bitkisi olarak adlandırılmıştır. Lifli gıda olmaları sebebiyle birçok ülkenin mutfak kültüründe kendilerine oldukça yoğun kullanım imkanı bulmuşlardır. Sebze olarak tüketilen *Brassica* türlerinin içeriğinde, vitaminler, mineraller, lifler ve bunlara ek olarak yeni birçok fitokimyasalın varlığından da söz etmek mümkündür (Steinmetz and Potter 1996).

Yağ bitkisi olarak kullanılan türler içerisinde en önemlilerden birisi olarak *Brassica* türleri gösterilmektedir. Yağ içeriği yüksek olan tohum türlerini *Brassica juncea*, *Brassica carinata*, *Brassica rapa* ve *Brassica napus* olarak sıralandırmak mümkündür. Bir *Brassica* türü tohumun Kanola niteliğine sahip olabilmesi için; düşük glikosinolat ve düşük erusik asit değeri taşınması gerekmektedir. Kanola deyince akla gelen ilk tür olan *Brassica napus*; yağ bitkisi olarak dünyada önemli bir yere sahiptir (Snowdon *et al.* 2007).

Kolza bitkisinin Kanada’da ıslah edilmesiyle glikosinolat ve erusik asit içermeyen veya düşük oranda içeren bir çeşit elde edilmiştir. Bu kapsamda yeni elde edilen türe İngilizce “Canadian Oil Low Acid” (Düşük Asitli Kanada Yağı) kelimelerinin kısaltılması olan Kanola ismi verilmiştir (Baran 2010). En sık tüketilen ve dünyada son derece yüksek bir öneme sahip olan *B. napus*; *B. rapa* ve *B. oleraceae* (lahana) gibi diploit özellikteki bazı türlerin doğada doğal olarak melezlenmesi sonucunda ortaya çıkmış bir türdür. Diploit türlerin melezlenmesinden doğan bu tür amfidiploit bir genetik yapıya sahiptir. Böyle bir genetik yapıya sahip olmasının anlaşılmasında yapay melezleme teknikleri rol oynamıştır. Diğer türlerle arasındaki ilişkilerin anlaşılmasında ise toksonomik ve sitogenetik çalışmaların etkinliği söz konusudur (Doğru 2006).

Bitkilerin büyüme ve gelişme süreçlerinin kontrolünde, fitofizyolojik olayların belirli bir

doğrultuda, spesifik mekanizmalar içerisinde ilerlemesinin sağlanmasında fitohormonlar son derece önemli bir role sahiptir. Fitohormonlar; üretildikleri yerden büyüme ve gelişmenin yoğun olduğu bölgelere taşınarak etkisini gösteren, büyüme ve gelişme kadar farklılaşmada da rol oynayan, düşük miktarlarda dahi etkili olan bileşiklerdir (Babaoğlu vd 2001; Aydoğdu ve Boyraz 2005; Kılıç 2007; Kumlay ve Eryiğit 2011).

Bitki hormonları veya bitki büyüme düzenleyicileri olarak da tanımlanan bu endojen bileşiklerin çok az miktarlarda bulunmasına rağmen; bitkinin çimlenme, tomurcuk gelişimi gibi pek çok önemli olayda yönlendirme suretiyle etkinliği gözlenmektedir. *In vivo* koşullarda “hormon” olarak adlandırılan bu maddelere, *in vitro* koşullarda “bitki büyüme düzenleyicileri (BBD)” denilmektedir (Acemi 2011).

Bitki gelişiminde etkisi gözlenen hormonların, yalnızca büyümeyi teşvik ettiği değil, aynı zamanda büyümeyi engellediği de tespit edilmiştir. Bu yüzden bu maddelerin genel olarak “kimyasal düzenleyiciler” şeklinde adlandırılması uygundur (Kumlay ve Eryiğit 2011).

Bitki gelişiminde rol oynayan ve en çok kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri sitokininler, oksinler, etilen, absisik asit ve giberellinlerdir. Ancak yapılan son çalışmalarda bu fitohormonların yanı sıra farklı sinyal moleküllerinin de savunma ve sinyal iletiminde rol oynadığı görülmüştür. Bu moleküllere jasmonik asit ve salisilik asit örnek olarak gösterilebilmektedir (Taiz and Zeiger 2008). Bunların yanında hormon niteliği göstermekte olan steroid gruplarından da bahsedilebilmektedir. Fitosteroller olarak ifade edilen bu maddelerin pek çok bitki türünde varlığına rastlanılmıştır (Milanesi and Boland 2004; Sarin 2005).

En sık kullanılan hormonlar içerisinde yer alan oksinler daha çok hücre gelişimi, köklerin gelişimi, yan sürgün oluşumunun önlenmesi, fotoperiyot, apikal dominans süreçlerinde etkilerini göstermektedir. Doku kültürlerinde oksin türevlerinin tek başına kullanılması kallus gelişimini uyarırken, somatik embriyo oluşumu ile hücre süspansiyonlarının eldesini de kolaylaştırmaktadır. Fitohormonların bir diğeri olan sitokininler ise; genellikle



bitkinin rejenere olmasını sağlamakta, bunun yanında sürgün çoğalmasını uyararak antioksidan etkiyle yaşlanmayı geciktirmektedir (Babaoğlu vd 2001).

Giberellinlerin bitki büyüme ve gelişmesindeki görevi; sitokininler gibi bitki rejenerasyonunun tetiklenmesi üzerinedir. Sürgünlerin boyuna gelişimini sağlamakta olan giberellinler, embriyo ve ovül kültürlerinde sıklıkla kullanılmaktadırlar. Bir diğer fitohormon olan absisik asit genellikle somatik embriyoların olgunlaştırılması amacıyla kullanılmaktadır (Babaoğlu vd 2001). Bitki büyüme düzenleyicilerinden etilen, bitkinin bütün organlarında üretilmektedir. Temelde bitkinin strese cevabı olarak üretilen etilenin bitkinin gelişim sürecindeki rolü henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Olgunlaşmadan toplanan meyvelerin *in vitro* koşullarda olgunlaşmasına olanak sağlar. Bezelyelerin gövde uzamasını engelleme niteliği sergilerken, sucul ve yarı sucul bitkilerin pek çok yapısının uzamasının sorumlusu olarak etilen gösterilmektedir (Özen ve Onay 2007).

Bitkilerde tartışmalı bir konu olan steroller pek çok bitki türünün doku kültüründen elde edilmiştir. Fitosterollerin izole edileceği bitkiler arasında; *Momordica charantia*, *Lindera strychnifolia*, *Digitalis lanata*, *Stephania cepharantha* gibi türler örnek olarak gösterilmektedir (Sarin 2005).

Pek çok bitki türünde varlığına sıkça rastlanan fitosterollerin bitkideki rolü hakkında yapılan araştırmalarda ise bu yapıların genellikle hücre gelişimi, doku farklılaşması ve çimlenme gibi süreçlerin denetlenmesinde rol oynayabildiği görülmüştür (Milanesi and Boland 2004).

Bitki sterolleri genellikle ökaryotik organizmaların tamamında hücre membranının esas yapı elemanı olarak ifade edilmektedir (Piironen *et al.* 2000). Steroidler içerisinde çoğunluğu oluşturan bir kısım ise hormonal nitelikler sergilemektedir. Brassinosteroidler daha çok fitohormon olarak ifade edilmektedir. Ecdysteroid yapıları ise daha çok böcek hormonları olarak görülmektedir (Janeczko 2012).

Günümüzün sterol grupları arasında yer alan memeli cinsiyet hormonları (MCH); memeli canlıların üreme fonksiyonları, metabolizmaları için gerekli ve önemlidir. Bu hormonlar arasında yer alan kortikoidler, östrojenler, androjenler, progesteron da pek çok bitki türünde üretilmektedir (Milanesi *et al.* 2001; Janeczko 2012).

MCH'nın bitkilerde hangi roller üstlendiği henüz bilinmemektedir. Bu bilinmezliği giderecek bilimsel çalışmaların da literatürde eksikliği söz konusudur (Janeczko *et al.* 2012).

MCH arasında yer alan progesterone, estron, testesteron, androsteron,  $\beta$ -estroidal ve 17 $\beta$ -estradiol yapıları hem bitki hem de hayvanlarda doğal olarak üretilmekte olan steroid türevleridir (Milanesi and Boland 2004; Janeczko *et al.* 2008; Erdal vd 2012; Erdal 2012). Androsteron ve progesteronun araştırma yapılan bitkilerin %80'inden fazla bir kısmında üretildiği gözlenmiştir. Bunun yanında testesteronun aynı bitki türlerinin %70'inde, östrojenlerin ise %50'sinde üretildiği ortaya koyulmuştur (Speranza 2010).

Cinsiyet hormonlarının bitkilerdeki rolleri üzerine yapılan çalışmalarda, MCH'lerin hücre büyümesi ve bölünmesinin tetiklenmesi, enzim aktivitesi, protein yapılarının içerikleri, hücre membran yapısı, fotosentetik fonksiyonların geliştirilmesi konularında etki gösterdiği görülmüştür. Bu yapıların, bitki büyümesini doğal süreç içerisinde hızlandırdığı, vejetatif gelişim sürecinin daha kısa tutulmasına yardımcı olduğu, meyve niteliklerinin ve besleyiciliğinin geliştirilmesine katkı sağladığı, stres, hastalığa direncin artırılmasında ve dolayısıyla bitkiden elde edilen verimin artırılmasında etkili olduğu ifade edilmektedir (Khripach *et al.* 2000).

Bu hormonların bitki büyüme ve gelişimi esnasında dışarıdan verilmesi durumunda, bitkilerde hücre bölünmesini uyararak kök ve sürgün, embriyo gelişimini, polen çimlenmesini, bitkilerin çiçeklenmesini ve gelişmesini tetiklemektedir (Janeczko *et al.* 2008; Speranza 2010; Janeczko *et al.* 2012). MCH'ler tam olarak fitohormon olarak kabul görmüyor olsa da bitki büyüme ve gelişmesinde rol oynadığı açıkça görülürken, bu

yapıların stres koşullarına yanıt olarak aktivite sergilediklerine dair çalışmalardan da söz edilebilmektedir (Speranza 2010; Janeczko *et al.* 2012).

Kolza bitkisi üzerinde MCH'lerin etkisinin belirlenmesine yönelik çalışmaların eksikliği literatürde göze çarpmaktadır. Bu çalışmanın amacı literatürde eksikliği görülen; MCH yapılarının kolzanın çimlenme süreci üzerine etkisine bakılması olduğu kadar *in vitro* doku kültürü gelişimi üzerine de ne derecede etki ettiğini saptayabilmektir. Yine çalışmanın bir diğer amacı; kolza bitkisinde bazı sitogenetik özellikler üzerine MCH'lerin etkisinin olup olmadığını belirlemektir. Bu kapsamda yapılan bu tez çalışmasında, kolzada bazı memeli cinsiyet hormonlarının çimlenme, bitki doku kültürü ve sitogenetik parametreleri üzerine etkisi incelenmiştir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kolza (*Brassica napus*) yağlı tohumlara sahip bir bitki türüdür. Kolza tohumlarından çıkarılan yağın yüksek oranda erusik asit ve eikosenoik asit içeriyor olmasının, pek çok kalp rahatsızlığına davetiye çıkarttığı ve anemiye neden olduğu yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur. Bu sebeple yağ bitkisi olarak son derece yüksek bir öneme sahip olan bu bitki türünün arzu edilmeyen bu karakterlerden arındırılması amacıyla 1980'li yıllara kadar başarılı pek çok çalışmaya imza atılmıştır. Bitki ıslahçıları tarafından yapılan çalışmalar neticesinde erusik asit oranı %5'e, hatta sonralarda %2'ye kadar düşürülen kolza tohumları elde edilebilmiştir. Kanada'da elde edilen bu tohumlara, eski tohumlardan farklı yepyeni bir bitki olması dolayısıyla farklı isim verilmiş ve Kanola denilmiştir (Özgüven 1995).

Olumsuzluklarından sıyrılmış yepyeni bir tohum olan kanola, pek çok üstünlüklere sahip olması dolayısıyla yetiştiriciliği sıklıkla tercih edilmektedir. Üstünlükleri arasında ilk sırada; diğer yağ bitkilerinden farklı zaman ve bölgelerde yetiştirilebilmesi niteliği yer almaktadır. Bunun yanında kanola hem yazlık hem de kışlık formlarının varlığıyla her mevsim yüksek verim elde edilmesini teoride garanti altına almaktadır. Diğer yandan kanola bitkilerinin içerdiği yağ oranının yüksek oluşu da yetiştiricilerin kanolaya doğru yaklaşmasına neden olan bir diğer sebep olarak ortaya çıkmaktadır. Ayrıca kanola bitkisinin ekimden hasada kadar yetiştiriciliğinin her aşamasının mekanizasyona uygun oluşu da kanolayı diğer yağ bitkilerinden ayıran üstünlükler arasında yer almaktadır (Erdem 1993).

Kanola dünyada en çok ekim alanına sahip, en çok üretimi yapılan ve verim alınan bitkiler arasında soya fasulyesi ve pamuk tohumu ardından üçüncü sırada görülmektedir (Anonymous 2007). Ülkemizde ise kanola 35.081,7 hektar alanda ekim imkanı bulurken, 120 bin ton üretim, 342 kg/da verime sahiptir (Anonymous 2016).

Bitkisel yağlar arasında doymamış yağ oranı bakımından ilk sırada yer alan kanola, yemeklik yağ olarak da kullanılabilir nitelikler sergilemektedir. 238°C gibi yüksek bir kaynama noktasına sahip oluşuyla iyi bir kızartma yağı olarak kabul edilen kanola yağı, E vitamini içeriği bakımından da oldukça zengindir. Geleneksel üretim teknikleriyle uyumlu yetiştirilmesi, ek masraf gerektirmemesi ve üretiminin son derece kolay olması dolayısıyla kanola aynı zamanda ekonomik nitelik sergileyen bitkiler arasındadır (Sobutay 2004).

Kolza bitkisinden geliştirilen Kanolanın üretiminde de kullanılan transformasyon, rejenerasyon, *in vitro* çoğaltım gibi teknikler genellikle bitkilerle yapılan araştırmaların temelini oluşturmaktadır. Bütün bir bitkinin eldesi için tek bir hücrenin kullanımını kapsayan *in vitro* rejenerasyon teknikleri, hem klonal çoğaltım bakımından hem de genetik çalışmalar için son derece önemli uygulamalardır (Ahmadabadi *et al.* 2007).

Bitkilerin *in vitro* rejenerasyon teknikleriyle daha iyi nitelikler kazanmasını sağlamak amacıyla yapılan genetik uygulamalar, genellikle bitkinin genotipinin rejenerasyon kabiliyetinin derecesine göre değişiklik arz etmektedir. Bu kabiliyet özellikle kallus, hücre ve protoplastlar düzeyinde, bu yapıların bütün bir bitkiyi ne ölçüde oluşturabildiklerine göre değerlendirilmektedir (Niizeki and Saito 1987).

Tek bir hücreden tam bir bitkinin rejenerasyonunu başlatmak amacıyla sıklıkla kullanılan bitki doku kültürü tekniği, özellikle soyu tükenmekte olan türlerin soylarının devam ettirilmesinde, üretilmesi zorlu süreçler gerektiren bitkilerin daha kolay elde edilebilmesinde rutin bir uygulama yöntemi olarak görülmektedir. Bitki doku kültürü tekniğinin temelini oluşturan bitki rejenerasyonu, kullanılan hücre özelliklerine göre üç kısımda değerlendirilebilmektedir: a) meristematik hücreler içeren somatik dokudan rejenerasyon, b) meristematik nitelik taşımayan somatik dokulardan rejenerasyon, c) mayoz bölünme sonrasında gametik hücrelerin rejenerasyonu (Babaoğlu vd 2001).

İslah amacıyla kolza gibi pek çok bitki türünün bitki rejenerasyonuna teşvik edilmesi için doku kültürlerinin yapıldığı görülmüştür. Bu kapsamda eksplant olarak bu bitkilerin

hipokotilleri (Yang *et al.* 1991), kotiledonları (Hachey *et al.* 1991), yaprakları (Radke *et al.* 1988), kökleri (Xu *et al.* 1982), anterleri, mikrosporları (Keller and Armstrong 1977; Lichter 1982), protoplastları (Glimelius 1984; Spangenberg *et al.* 1986) sıklıkla kullanılmıştır.

Kolza bitkisinde de farklı miktarlarda büyüme düzenleyicilerine eşlik eden farklı bitki eksplantları, farklı genotipler ve farklı besi ortamı seçimleri yapılarak, rejenerasyonun iyi olduğu ortam koşulları tespit edilmeye çalışılmaktadır (Jain *et al.* 1988; Khehra and Mathias 1992).

Bitki doku kültüründe kullanılan *Brassica* türleri arasında *B.oleracea*'nın en kolay rejenerere olabilen tür olduğu, buna karşın *B.rapa*'nın ise rejenerasyon konusunda en inatçı tür olduğu belirlenmiştir (Murata and Orton 1987; Narasimhulu and Chopra 1988).

Yapılan çalışmalarda rejenerasyon konusunda en inatçı tür olan *B.rapa* ve diğer türlerin sürgün gelişimini tetiklemek için aminoetoksivinilglisin ve gümüş nitrat gibi etilen inhibitörlerinin uygulandığı görülmüştür (Chi *et al.* 1990; Williams *et al.* 1990; Sethi *et al.* 1990; Palmer 1992; Pua and Chi 1993).

Bitki doku kültüründe bitki gelişimini etkileyecek pek çok faktörün varlığından söz edilmektedir. Bunlar arasında besi ortamının içeriği, pH, şeker miktarı, fitohormonların varlığı ve oranları gibi pek çok etken sayılabilmektedir. Bu parametreler üzerinde oluşturulacak farklılıklar, eksplantın gelişim seyrini değiştirebilmekte ve bu doğrultuda türlerin rejenerasyon kabiliyetine etkide bulunabilmektedir (Gibbs 1991).

Bir fitohormon, tek bir bitki üzerinde bulunan farklı doku ve organlarda farklı etkiler ortaya koyabilir veya bir doku ve organın birbirinden çok farklı gelişme periyotlarında etkisini gösterebilir (Kumlay ve Eryiğit 2011).

Memeli cinsiyet hormonlarının bitkilerdeki rolü, oluşum şekilleri hakkında yapılan bir çalışmada bitkilerin %60-80'inde bu yapıların varlığına rastlanıldığı, sentezlenmesi ve

Üretim aşamalarında rol oynayan enzimlerin tamamının bitkilerde var olduğu belirtilmiştir. Yapılan bu çalışmada bitkileri bu hormonlara maruz bırakmanın bitki kök, sürgün, polen tüpü, embriyo gelişimleri ile kallus oluşumu, çiçeklenme gibi olaylar üzerinde çeşitli etkiler gösterdiği açıkça grlmştir (Janeczko and Skoczowski 2005).

Bitkilerde böylesi önemli işlevlere sahip olduğu düşünülen bu yapılar, yaşayan pek çok organizma için önemli nitelik arz etmektedir. Steroid yapılarının çoğunun hormon niteliği taşıdığı unutulmamalıdır (Janeczko *et al.* 2011).

Bitkilerin steroidler içerisinden hormon özellikleri sergileyen yapılar üretebildiği bilinmektedir. Ortaya koyulan çalışmalar bazı MCH yapılarının hücre bölünmesini uyardığı, protein, nükleik asit sentezi aktivasyonu, enzimlerin aktivasyonu, fotosentetik aktivite artışı gibi pek çok konuda etki gösterdiğini nitelemiştir. Aynı zamanda bu yapıların bitki verimini artırmaya yönelik meyve kalitesinin ve boyutlarının artışı, olumsuz koşullara direncin gelişmesi, bitki büyümesinin teşviki gibi fonksiyon sergilediği de görülmektedir (Khripach *et al.* 2000).

Progesteron hormonunun bitkilerde saptanması 1960'lı yıllara rastlamaktadır. Buğday bitkisinin hücre zarında progesteron hormonuna spesifik olan reseptörlerin varlığı tespit edilmiştir. Bu yapının buğdayın generative gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir (Janeczko and Filek 2002; Janeczko *et al.* 2008).

Yapılan bir çalışmada buğday bitkisinin progesteron hormonunu ürettiği gösterilmeye çalışılmıştır. Su stresi uygulanan kuraklığa hassas ve dayanıklı buğday bitkilerinde hormon yapısının değişimi gözlemlenmiştir. Kuraklık stresine duyarlı olan buğday bitkisinde progesteron hormon seviyesinin üçte bir oranında arttığı tespit edilmiştir. Bunun yanında dayanıklı türde ise progesteron miktarında bir değişiklik olmadığı anlaşılmıştır (Janeczko *et al.* 2011).

Steroidler hayvanlarda olduğu gibi bitkilerde de temel bir hormon olarak rol oynar. Bitkiler sayısız steroidleri ve sterollerini sentezlerler ki bunlar içerisinde bazıları hayvan hormonları olarakta tanınırlar (Bishop and Koncz 2002).

Polen tüpü ve polen çimlenmesi ile ilgili yapılan bir çalışmada testesteron, estradiol, progesteron gibi MCH yapılarının bitkilerde polen tüpü oluşumunu ve çimlenmesi uyardığı tespit edilmiştir. Bitki hormonlarına ek olarak MCH yapılarının da ortamda var olmasının erkek gametofitlerin etkin bir şekilde büyümelerini pozitif yönde etkilediği anlaşılmıştır (Ylstra *et al.* 1995).

MCH yapılarının bitki büyüme ve gelişimindeki rollerinin saptanması ile birlikte, bu yapıların *in vitro* koşullarda bitki doku kültürü gibi ortam şartlarında uygulanarak pratikte kullanılmaları yaygınlaşmaya başlamıştır (Janeczko and Skoczowski 2005).

Fitoöstrojen olarak adlandırılan bitkilerde bulunan östrojenler, birden fazla kimyasal yapıya sahip, spesifik reseptörü üzerinden etkisini ortaya koyan proteinik yapılardır (Aşkın 2009).

İnsan vücudundaki östrojenler gibi fonksiyon gösteren, memelilerde de östrojenik fonksiyonları tetikleyen maddelere fitoöstrojenler denmektedir. Başka bir ifadeyle fitoöstrojenler; östrojene benzer, ancak bitkisel nitelikli polifenolik nonsteroidal yapılardır ( zer 2006).

Fitoöstrojenler, spesifik östrojen reseptörüne bağlanma niteliğinde olan, insanlarda da sahip olduğu fonksiyonları yerine getirebilen yapılardır. Bu yapılar insan sağlığına özellikle lipit profilleri ile tansiyon üzerinde etkileriyle fayda sağlayabilmektedir (Murkies and Frydenberg 2000).

Fitoöstrojenler, bitkiler arasında 300'den fazla türde belirlenmiştir. Bitkisel östrojenlerin bitkilerde var olup olmama durumu bazı faktörlere göre değişkenlik göstermektedir. Yonca, soya, gazal boynuzu gibi pek çok bitkide östrojen aktivitesine rastlanmıştır



(Adams 1995). Özellikle baklagiller familyasında östrojen ihtiva eden pek çok bitki bildirilmiştir. Bu doğrultuda baklagiller için doğal östrojen kaynağı olabileceği düşünülmektedir (Yoo *et al.* 2005).

Östrojenik maddeler, birbirlerine benzer fonksiyonlarda görev alan, doğada pek çok bitki yapısında ve tohumlarında sıklıkla rastlanılan yapılar olarak görülmektedir. Daha önce de bahsedildiği gibi 300'e yakın bitkide östrojene benzeyen nitelik taşıyan birbirinden farklı yapılar sergileyen 20 ayrı maddenin varlığı görülmüştür. Bu bitkilere örnek vermek gerekirse; tahıllar (buğday, arpa, yulaf, mısır), taze meyveler (elma, muz, kivi), keten tohumu, susam, kurutulmuş meyveler (hurma, incir, üzüm), sebzeler (brokoli, kereviz, rezene), baklagiller (soya fasulyesi, mercimek) östrojenik madde içeriğine sahip bitkiler arasında sayılabilir (Aşkın 2009).

Bitkiler yalnızca östrojen ihtiva eden yapılar değildir. Bunların yanında pek çok hayvan ve bitkide de görülen steroid yapıda gestagen, androjenleri de içermektedirler. Ayrıca bitkilerin yapısında, steroid yapıda olmayan fitoöstrojenlerin varlığından da söz etmek mümkündür. Bazı durumlarda bitkilerde sentezlenen fitoöstrojen yapıları hayvanlarda östrojenik fonksiyonların ortaya çıkmasına neden olacak nitelikte olabilmektedir. Bu durumda yem bitkilerinde artış gösteren fitoöstrojen yapıları hiperöstrojenik sendroma neden olabilmektedir. Bu sendromda hayvanlarda infertilite, et ve sür veriminde azalma görülebilmektedir (Slama 1980).

Fitoöstrojen olarak tanımlanan estron,  $17\beta$  – estradiol gibi yapıların çiçeklenmenin uyarımı, vejetatif doku ve organ gelişiminin tetiklenmesi gibi etkiler gösterebileceği bilinmektedir. Bunun yanında gelişimde ve cinsiyetin saptanmasında da bu yapıların rolü olduğu görülmektedir (Milanesi *et al.* 2001).

Östrojen içeriği dolayısıyla bünyesinde sıklıkla östrojen aktivitesi sergileyen bitkiler arasında en çok bilineni buğdaygiller olmaktadır. Buğdaygiller arasında özellikle çayırotu ile mısırın östrojen oranının yüksekliği dikkat çekmektedir. Bitkilerin çoğunda özellikle çiçeklenme dönemine kadar olan süreçte östrojen miktarının arttığı gözlenmektedir.

Baklagil bitkisi olan yoncada en yoğun östrojenik aktivitenin 3. veya 4. biçimde, çiçeklenme sürecinin hemen ardından görüldüğü belirlenmiştir. Mevsimlere göre de östrojenik aktivitenin arttığı bilinmektedir. Özellikle ilkbahar ve yaz aylarının son dönemlerde bu fitohormon seviyesinin arttığı bilinmektedir (Baran ve Kocabağlı 2010).

Bitkilerde var olan östrojenlerin birbirlerinden ve doğal olanlardan farklı olduğunu tespit etmeyi amaçlayan bir çalışmada *Hycoscyamus niger* L. ve *Salvia* bitkilerinin özellikle çiçeklerinden yapılan ekstraksiyonda üç farklı östrojen yapısına benzer nitelikte madde belirlenmiştir. Yapılan çalışmaların sonucunda elde edilen üç madde içerisinde iki adetinin standart östrojenlerden farklılığı anlaşılmıştır (Kopcewicz 1972).

Östrojenin çiçeklenmenin uyarılması noktasında etkinliğini ortaya koymak isteyen bir çalışmada; adaçayı bitkilerinden elde edilen östrojen yapılarının, hem yalnız formlarının hem de giberelein ve sitokininlerle kombinasyonlarının *Salvia splendens* sallow bitkisine uygulanması ile özellikle kısa gün koşullarında çiçeklenmeyi uyardığı görülmüştür (Kopcewicz and Porazinski 1974).

Domates kökleriyle yapılan bir çalışmada, domates bitkisinin sürgünlerinden elde edilen östrojen türevlerini (estrogen, estrone, estradiol) bitkinin köklerine uygulamışlar ve özellikle 1 µM konsantrasyonunun üzerine çıkan uygulamalarda toplam kök uzunluğu, kök sayısı ve kök gelişimini olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir. Kök gelişimini en çok olumsuz şekilde etkileyen östrojen türevinin estradiol olduğu saptanırken, östrojenin kök gelişimine olumsuz etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Guan and Roddick 1988).

Yoncanın vejetatif büyüme ve gelişmesi üzerine steroidal hormonların etkisini inceleyen bir çalışmada, bitkiler hem estrone and 17β-estradiol'ün varlığında hem de yokluğunda geliştirilmiştir. Elde edilen bitkileri değerlendirme aşamasında bitki ağırlığı, östrojen ve fitoöstrojen oranları, nodülasyon durumu ve nitrojen fikse etme başarısına bakılmak suretiyle değerlendirme yapılmıştır. Çalışma sonuçlarına bakıldığında östrojenlerin 0,005-0,5 µg/l konsantrasyonları arasında kök ve sürgünlerin kuru ağırlığının artışına katkıda bulunduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında araştırma sonuçları göstermiştir ki;

azot eksikliğinde östrojen bitki gelişimine daha etkin bir katkı sağlayabilmektedir. Ayrıca estrone yapısının 17 $\beta$ -estradiol yapısından özellikle gelişmeyi teşvik etme bakımından daha etkin olduğu tespit edilmiştir. Sonuçları son derece kapsamlı olan çalışmada; östrojenin nodül sayısı ve azot fiksasyonu bakımından etkisizliği ile dışarıdan gelişimi takviye eden östrojen seviyesinde uygulama yapıldığında bitki içeriğindeki östrojenin değişmediği belirlenmiştir. Bunlara ek olarak dışarıdan vejetatif gelişimi engelleyen bir konsantrasyonda östrojen uygulaması yapıldığında bitki içeriğindeki östrojen seviyesinde artış gözlenmiştir (Shore *et al.* 1992).

Kışlık buğday çeşidi olan Granada'da MCH'lerin ne gibi etkiler ortaya koyduğu araştırılmıştır. *In vitro* koşullarda yapılan çalışmada, farklı MCH konsantrasyonlarında bitkilerin sapa kalkma oranları ile hızları incelenmiştir. 63 günlük soğuk ihtiyacı olan bu bitkinin embriyoları üzerinde uygulama ile yapılan çalışmada; özellikle 21 ve 28 günlük soğukluk dönemi boyunca yapılan uygulamalarda en yüksek etkinin saptandığı rapor edilmiştir. 28 günlük vernalizasyon ardından yapılan hormon takviyeleri ile sapa kalkma oranlarının %8'den %100'e ulaştığı tespit edilmiştir (Janeczko and Filek 2002).

Bitki doku kültüründe *in vitro* olarak kışlık buğday olgunlaşmamış embriyo ve kallusları üzerine yapılan çalışmada MCH yapılarının gelişime etkisine bakılmıştır. MS (Murashige-Skoog) besin ortamında gelişimi sağlanan embriyolar, 0,1-1  $\mu\text{mol}/\text{dm}^3$  konsantrasyon aralıklarında östrojen türevleri (17 $\beta$ -estradiol, estron, estriol (estrogens)), progesteron ve androjenleri (androsterone, androstenedione) içeren ortamlarda kültüre alınmışlardır. İncelenen parametrelerden biri olan çimlenme ve ilk yaprak gelişimi en çok androjen türevleri tarafından, özellikle testesteronun öncüsü androstenedione tarafından, teşvik edildiği tespit edilmiştir. Kallus oluşumuyla ilgili MCH yapılarının etkileri incelendiğinde, kallus oluşumu ve gelişimi üzerinde standarttan farklı bir etki oluşturmadığı anlaşılmıştır. Bunun yanında estriol ve 17 $\beta$ -estradiol yapılarının olgunlaşmamış embriyoların çimlenme kapasitesine etki etmediği de saptanmıştır. Bitki gelişimi üzerine MCH yapıları ve bunların öncülerinin etkili olduğu belirlenmiştir. Özellikle hücre bölünmesi, çimlenme, çiçeklenme, kallus çoğalması üzerine pozitif

etkileri olduğu bilinen MCH yapılarının *in vitro* koşullarda bitki gelişimini başlatma amacıyla kullanımının mümkün olduğu bildirilmiştir (Janeczko *et al.* 2002).

Östrojenin fenotip ve çiçeklenmeye etkisini incelemek amacıyla yapılan bir çalışmada kavun ve balkabağı bitkileri kullanılmıştır. İlk testlerde her iki bitki için de estradiol'ün çiçeklenme oranını %260 artırdığı belirlenmiştir. Eş zamanlı olarak absisik asitin de erkek çiçek sayısını artışı uyardığı tespit edilmiştir (Tanino *et al.* 2002).

*Arabidopsis thaliana* ile yapılan bir çalışmada *in vitro* olarak yapılan çalışmada steroidlerin bitki gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. MCH kullanılarak yapılan çalışmalarda, erkek cinsiyet hormonlarının dişi cinsiyet hormonlarına kıyasla çiçeklenmeyi daha efektif bir şekilde uyardığı tespit edilmiştir. Çiçeklenme üzerine etkisine bakılan aldosteron hormonunun (0,1 mM konsantrasyonda) çiçeklenme oranını %41'den %96'ya çıkarmak suretiyle artırdığı saptanmıştır. Bunun yanında aynı konsantrasyondaki östrojen miktarının çiçeklenmeyi azalttığı görülmüştür. Yapılan çalışmada 24-epibrassinolide *A. thaliana* bitkisinin çiçeklenmesini teşvik etmediği gözlenmiştir (Janeczko *et al.* 2003).

Yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur ki gübreleme faaliyetleri dolayısıyla hem yüzey hem yeraltı sularında hem de toprakta pek çok cinsiyet hormonunun varlığına rastlanmaktadır. 17- $\beta$  estradiol yapısı mikroorganizmaların faaliyetleri sonucunda östrojene çevrilmektedir (Shore *et al.* 1992).

17- $\beta$  estradiol yapısının toprakta östrojene dönüşümü pek çok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Ternes *et al.* 1999a; Colucci *et al.* 2001; Raman *et al.* 2001). Bu dönüşümün daha çok kumlu tınlı, siltli tınlı ve tınlı topraklarda olduğu da ifade edilmiştir.

Yonca gelişimi üzerine 17-  $\beta$  estradiol etkisinin incelendiği bir çalışmada, 5,4 ile 544 ng/l konsantrasyon aralığında gelişimi teşvik ettiği saptanmıştır. Ancak 54,4 ile 544  $\mu$ g/l konsantrasyon aralığında 17-  $\beta$  estradiol'ün yoncanın gelişimini olumsuz yönde etkilediği ifade edilmektedir (Shore *et al.* 1992).

Yüksek bitkilerin hangi oranda progesteron ürettiği ve bu yapıların vejetatif gelişim üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, GC-MS yöntemi kullanılarak progesteron miktarları saptanmıştır. Arabidopsis türü üzerine yapılan çalışmada, progesteronun düşük yoğunluklu konsantrasyonlarda büyümeyi artırdığı, yüksek konsantrasyonlarda ise karanlık veya ışıklı ortam farketmeksizin büyümeyi engeller nitelikte etki sergilediği görülmektedir (Lino *et al.* 2007).

Bitkiler sahip oldukları cinsiyet hormon içerikleri dolayısıyla, tüketildikleri zaman bitkiyi tüketen bireylerin hormon seviyelerinde minimal de olsa değişikliklere neden olabilirler. Bu durumu ifade etmek amacıyla yapılan bir çalışmada diyabetik erkek farelerin öncelikle sahip oldukları hormon seviyeleri serumdan tespit edilmiştir. Bu amaçla testesteron, progesteron, östrojen, FSH, LH hormonlarının seviyeleri belirlenmiştir. *Withania somnifera* bitkisi ile beslenen diyabetik farelerin hormon seviyelerindeki değişimler not edilmiştir. Bu kapsamda özellikle progesteron başta olmak üzere MCH yapı miktarlarındaki değişikliklerin diyabeti azaltmaya yönelik bir etki sergilediği, bu doğrultuda bu yapıların düzenleyici olarak kullanılabileceği ifade edilmiştir (Kiasalari *et al.* 2009).

Arpa ve nohut bitkileri üzerine MCH yapılarının büyüme ve biyokimyasal değerler ne derecede etkilediğini araştıran bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışma kapsamında değerlendirilen parametreler arasında bitkilerin kök ve gövde uzunlukları, yaş ve kuru ağırlıkları, lipit peroksidasyonu, protein ve karbonhidrat içerikleri, çeşitli enzim aktiviteleri, hidrojen peroksit içeriği, inorganik element miktarları yer almaktadır. Deneyin yapılışında 7 günlük bitki yaprakları kullanılmıştır. Örnekler üzerine 5 farklı konsantrasyonda ( $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-9}$ ,  $10^{-12}$  ve  $10^{-15}$  M) hormon çözeltileri muamele edilmiştir. Deneye alınan bitkiler 18 gün ardından hasat edilmek suretiyle deney sonlandırılmıştır. Uygulanan MCH yapılarının nohut bitkisinde bitkinin gelişimini olumlu yönde etkilediği saptanmıştır. Bitki uzunluğunu, kök gelişimini artıran MCH'lar, aynı zamanda incelenen enzim parametrelerinde de aktivite artışını sağlamıştır. Bahsi geçen olumlu etkiler progesteron hormonunun  $10^{-6}$  M konsantrasyonunda gözlenirken,  $\beta$ -östradiol ve androsteron hormonlarının  $10^{-9}$  M konsantrasyonunda kendini göstermiştir. Bunların

yanında lipit oksidasyonu ile hidrojen peroksit seviyelerinin ise MCH hormon uygulamaları ile azaldığı saptanmıştır. Arpa bitkisinde de birkaç parametrede nohuta benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak nohut bitkisinden elde edilen sonuçlara benzemeyen değerlerden de söz etmek mümkündür. Arpada MCH yapıları, bitki ağırlığını, protein ve şeker içeriğini azaltmak suretiyle etki göstermiştir. Yine nohut bitkisinde elde edilenin aksine enzim aktivitelerinde de azalmalar gözlenmiştir. Nohutta elde edilen sonuçlara benzer şekilde hidrojen peroksit ve lipit oksidasyon seviyelerinde önemli derecede bir azalma tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak her iki bitkide de MCH yapıları önemli inorganik içerik değişimlerine neden olmuştur. Potasyum, kükürt, alüminyum, kalsiyum, magnezyum, çinko, demir, fosfat ve bakır yoğunluğu her iki bitkinin de yapraklarında artış göstermiştir. Ancak nohut bitkisinde mangan ve klor oranlarının, arpa bitkisinde ise sodyum muhtevisiyatının azaldığı belirlenmiştir. Genel anlamda inorganik içeriği artırmak suretiyle etki gösteren MCH yapılarının büyüme ve gelişmeye pozitif katkısı olduğundan bahsedilebilmektedir. Bunlara ek olarak enzim aktivitelerinde de olumlu katkıları olduğu tespit edilebilmektedir (Erdal vd 2010).

Bir başka araştırmacı grubunun yaptığı çalışmada, MCH yapılarının (progesteron,  $\beta$ -estradiol ve androsterone) arpa yapraklarının ihtiva ettiği inorganik elementlere etkisi incelenmiştir. Bu kapsamda yapılan çalışmada her üç hormonun 5 ayrı konsantrasyonu test edilmiş, arpa yapraklarına 7. günde hormon uygulaması yapılmıştır. 18.günde hasat edilen bitkilerin inorganik içerikleri X ışını floresans spektroskopisi ile tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre bitkinin yapraklarında tüm uygulanan hormon konsantrasyonlarında P, S, Ca, Fe, K, Cu, Mn, Al, Zn, Cl elementlerinin yoğunluğunun artışı gözlenirken, sodyum içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir. Maksimum değişiklik elde edilen hormon konsantrasyonları her bir hormon için farklı olsa da, her bir hormonun bitki gelişiminde ve besleyiciliğinde önemli rol arz eden inorganik içeriğin artışında rol oynadığı açıkça görülmektedir (Dumlupınar vd 2011).

Erdal (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, tuz stres koşullarında yetiştirilen mısır bitkisinin gelişimi üzerine MCH yapılarının ne derecede etki ettiğinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Özellikle antioksidan etkinlik, anabolik reaksiyonlar ile fide gelişimine

hormonların etki derecesini hesaplamayı hedefleyen çalışmada ayrı doz uygulaması yapılmıştır. Tuz stresi koşullarında bitki köklerinin uzunluğunun negatif etkilendiği, fide gelişiminin sekteye uğradığı tespit edilmiş ve MCH yapılarının bu olumsuzlukları dikkate değer bir seviyede pozitif yönde etkilediği anlaşılmıştır. Ayrıca yapılan çalışmada MCH yapılarının enzim aktivitelerini artırdığı belirlenirken, oksijen radikallerinin ve yapıların oksidasyonlarında dikkat çekici bir azalma sergilediği de ifade edilmektedir.

Memeli cinsiyet hormonlarından olan progesterone,  $\beta$ -estradiol, ve androsterone yapılarının tuz stresi altındaki buğday yapraklarındaki etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, 3 ayrı doz uygulaması yapılmıştır. Bu çalışmanın amacı stress altındaki bitkinin MCH yapıları ile ne derecede korunduğunu tespit edebilmektir. 9. günde uygulanan hormonların, stres altındaki buğday yapraklarını tuzun negative etkileri kontrol altına alma bakımından son derece etkin olduğu tespit edilmiştir. Tuz toleransı gelişimine katkı sağlayan hormon konsantrasyonlarının  $10^{-6}$  molar  $L^{-1}$  ile  $10^{-8}$  molar  $L^{-1}$  olduğu ifade edilmiştir (Erdal vd 2011).

Nohut bitkisinin gelişimi, antioksidan aktivitesi üzerine MCH'larının etkisinin incelendiği bir çalışmada, 7 günlük nohut yapraklarına uygulanan 5 farklı konsantrasyondaki progesterone, androsterone ve  $\beta$ -östradiol yapılarının 18 gün sonunda hasat edilen bitkilere etkileri araştırılmıştır. Uygulanan tüm konsantrasyonlarda MCH'larının nohut bitkisi gelişimini pozitif yönde etkilediği, antioksidan aktivitesini artırdığı, içeriğindeki protein ve şeker oranlarında artışı sağladığı ortaya koyulmuştur. MCH yapılarının özellikle biyokimyasal parametreleri pozitif yönde etkileyerek bitki gelişimini desteklediği sonucuna varılmıştır (Erdal ve Dumlupınar 2011).

Yapılan bir çalışmada hıyar genotipleri üzerine MCH'larının etkileri araştırılmıştır. Bu etkilerin, çimlenme, gelişim, cinsiyet oluşumu, antioksidan aktivite parametreleri değerlendirilerek tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çimlenme üzerine MCH'larının etkisi, ortalama olarak bitkinin toprak üzerine çıkış süresini hızlandırması şeklinde görülmüştür. Hıyar bitkilerinin gelişiminde memeli cinsiyet hormonlarının etkisine bakıldığında, kotiledon uzunluğu ve genişliğini kontrol grubundan fazla oranda etkilemediği tespit

edilmiştir. Ancak hipokotil uzunluğuna etkisi istatistiki olarak önemli olarak bildirilmiştir. Farklı dozlar, bitkinin farklı nitelikleri üzerinde en yüksek katkıyı sergilemiş, boy uzunluğu, yaprak sayısı, gövde boyu uzunluğu bakımından kontrol grubuna kıyasla önemli etkiler gözlenmiştir. Ancak yaprakların kuru ağırlığı bakımından kontrol grubundan daha yüksek bir değer elde edebilen bir konsantrasyon varlığından söz edilememektedir. Bahsi geçen bu değerlerin istatistiki olarak çok önemli olduğu kaydedilmiştir. Yapılan MCH uygulamalarının çiçeklenme oranlarında (erkek, dişi ve toplam) önemli bulgular ortaya koyduğu görülmüştür. En fazla dişi çiçek ortaya çıkaran dozlarla, en fazla erkek çiçek oluşumunu indükleyen dozlar tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak antioksidan aktivitenin artmasıyla beraber, antioksidan enzimlerin artış göstermeleri istatistiki açıdan da önemli nitelik arz etmiştir. (Hacıbektaşoğlu 2011).

Domates bitkisinde yapılan bir çalışmada yine MCH'lerinin etkileri değerlendirilmiş, özellikle çimlenme, gelişim, antioksidan aktivite ve çiçeklenme üzerine bu hormonların nasıl etki edeceği araştırılmıştır. Testesteron hormonunun çimlenme hızını önemli kabul edilen istatistiki nitelikte artırdığı belirlenmiştir. Diğer MCH yapılarının da çimlenme hızına pozitif katkıları söz konusu olmaktadır. Çimlenme oranı bakımından da MCH'ların pozitif katkı sergilediği görülürken, en yüksek değerlerin yine testesteron hormonunun etkisinde olduğu saptanmıştır. Ortalama çimlenme oranı dikkate alındığında ise, en yüksek etkinin östrojen hormonunun aktivitesi sonucunda ortaya çıktığı belirlenmiştir.

Yine aynı çalışmada hipokotil, kök ve gövde uzunluğuna MCH'ların etkisi incelendiğinde, hormonların bitki gelişimini pozitif yönde etkileyen sonuçlar ortaya koyduğu ifade edilmektedir. Uzunlukların artışını sağlayan memeli cinsiyet hormonlarının kök kuru madde oranını kontrolden daha yüksek bir nitelikte değiştiremediği görülmektedir. Bazı uygulamaların kontrol grubuna kıyasla gövde uzunluklarının daha kısa olduğu tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi sonucunda antioksidan etki gösteren enzimlerin faaliyetlerinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. Ancak memeli cinsiyet hormonlarının çiçeklenmeye katkısının sonuçları değerlendirildiğinde bu verilerin istatistiki olarak önem arz ettiği ifade edilmektedir (Peşken 2011).



Bitki doku kültürü ortamında MS besiyerinde yetiştirilen *Hippeastrum vittatum* soğanları üzerinde steroidlerin test edilmesini kapsayan bir çalışmada, metil jasmonate, spermin, kazein hidrolizat ve progesteron maddeleri kullanılmıştır. Bu maddelerin uygulandığı *in vitro* test koşullarında en yüksek gelişimin görüldüğü ortamın, spermin uygulaması yapılan besi ortamı olduğu tespit edilmiştir. Bitkinin soğan ağırlığının MCH uygulamaları ile ne derece değiştiği konusunda inceleme yapıldığında en yüksek etkinin metil jasmonate ile elde edildiği belirlenmiştir. Yaprak uzunluğunu pozitif yönde en çok etkileyen steroid ise progesteron ve kazein hidrolizat uygulamaları olmuştur (Zayed *et al.* 2011).

Soğuk stresine maruz bırakılan mısır fidelerine androsterone uygulaması ile stres koşullarının olumsuzluğunun ne derece giderileceğinin araştırıldığı bir çalışmada, moleküler ve fizyolojik değişimlerin sonuçlarına odaklanılmıştır. 11 günlük fide yapraklarına üç gün boyunca tek bir dozda androsteron uygulaması yapılmış, 10/7°C (gündüz/gece) koşullarında deneme yapılmıştır. Elde edilen veriler ışığında androsteronun soğuk stresi ile ortaya çıkan olumsuzlukların giderilmesinde etkili olduğu ifade edilmiştir. Oksijen radikal oluşumunun enzim aktiviteleriyle azalması, enzim aktivitelerinin yoğun artışının görülmesinin de nedeni olarak androsteronun varlığı gösterilmiştir (Erdal 2012).

Bir başka çalışmada nohut bitkilerinin yapraklarına uygulanan progesteron hormonunun soğuk stresine duyarlılığı ne derece etkileyeceği araştırılmıştır. Bu kapsamda oksijen radikallerini söndürmek için aktivite gösteren enzim miktarlarındaki yoğun artışın progesteron katkısı sonucunda ortaya çıktığı ve soğuğa tolerasta progesteronunun önemli bir alternatifi olduğu ifade edilmiştir (Genisel *et al.* 2012).

Baklagiller de kendi östrojenlerini üreten ve bu yapılardan fayda sağlayan bitki türleri arasında yer almaktadır. Özellikle *rhizobium* bakterilerinin baklagillerde nodül oluşturmaları için gerekli olan nodD geninin fonksiyon gösterebilmesi amacıyla uyarımının da östrojenler tarafından sağlanabildiği bilinmektedir. Fitoöstrojenlerin nodülasyon olayını artırdığı bilinirken, farklı bitkilerde farklı hormonal yapıların etkin

olduğu kaydedilmiştir. Bu kapsamda soyada genistein, yoncada coumestrol yapılarının nodülasyonu teşvik eden fitoöstrojen yapıları olduğu görölmektedir. Atık suların içeriğinde de östrojen varlığından bahsetmenin mümkün olduğu bilinmektedir. Bu atık suların kullanımıyla sulaması yapılan yonca bitkisinin vejetatif gelişimine östronun uyarımının daha aktif ve dikkat çekici nitelik arz ettiği ve 17- $\beta$  estraidolden daha pozitif sonuçlar ortaya koyduğu açıkça görölmektedir (Shemesh and Shore 2012).

Bitkilerin kendi bünyelerinde ürettiği fitohormonların fizyolojik aktiviteleri yavaş yavaş anlaşılıyorken, memeli cinsiyet hormonlarının bitkilerin fizyolojik metabolizmalarında ne derece etkin olduğu konusu hala netlik kazanmamıştır. Ancak bitkilerde de bu hormonlara spesifik reseptörleri belirlenmesinin, bu kapsamda yapılacak araştırmalara yön verebileceği düşünölmektedir (Milanesi *et al.* 2001). *Solanum glaucophyllum* ile yapılan *in vitro* doku költürü çalışmalarında görölmüştür ki; kallus yapılarında östrojen ve türevlerine spesifik bağlanma bölgeleri bulunmaktadır (Milanesi *et al.* 2001).

Memeli cinsiyet hormonlarından olan östrojenin bitki fizyolojisindeki rolü hala tam olarak netlik kazanmamışken, fitoöstrojenlerin memeli doku ve organlarında östrojenin gerçekteşirdiği düzenleme işlerini, spesifik olarak östrojen reseptörlerine bağlanmak suretiyle engelleyebildikleri tespit edilmiştir. Fitoöstrojen yapılarının memeli östrojen reseptörlerine bağlanabilmesi dolayısıyla baskın bir etkinlik sergileyebildikleri ifade edilmektedir. Östrojen reseptörleri memelilerde alfa ve beta olarak iki ayrı formda bulunmaktadır. En yüksek reseptöre bağlanma kapasitesi estradiol türevine aittir (Snochowski and Romanowicz, 2003).

Östrojen reseptörlerinin protein ekspresyonu doğrultusunda östrojene yönelik spesifitesi ile ilgili yapılan bir çalışmada sıçan dokularından yararlanılmıştır. Alfa ve beta östrojen reseptörü alt tipleri insan ve sıçandan *in vitro* koşullarda sentezlenmiştir. Spesifitesini tespit etmek içinse saturasyon bağlanma analizi yapılmış, bu kapsamda en yüksek bağlanma oranının 17 $\beta$ -estradiol'e ait olduğu saptanmıştır. Östrojenik nitelik taşıyan agonist ve antagonist maddelerin her iki reseptör tipine bağlanabilmek için 17 $\beta$ -estradiol ile yarışmaktadırlar (Kuiper *et al.* 1997).

Steroid hormonların bitkilerin pek çok fizyolojik süreçlerinde düzenleyici roller oynadıkları bilinmektedir. Etki mekanizmalarının tam olarak nasıl geliştiği bilinmeyen steroidal yapıdaki hormonların çimlenme, doku farklılaşması gibi etkileri olduğu bilinmektedir. Yapılan bir araştırmada *Lycopersicon esculentum* ve *Solanum glaucophyllum* bitkileri hem 17 $\beta$ -estradiol içeren, hem de içermeyen ortamlarda bitki organlarının endoplazmik retikulum yapılarını bulundurduğu tespit edilmiştir. *S. Glaucophyllum* bitkisinin kallus dokusunda dahi bu yapıların varlığı görülmüştür. Buna ek olarak her iki bitkinin ekstraktlarında da yine östrojen türevlerinin varlığı tespit edilmiştir. Solanaceae türünde hem östrojeni bağlayan yapıların varlığı hem de dahili ligandların bulunduğu gösterilmiştir (Milanesi and Boland 2004).

Östrojen reseptörleri ile ilişkili bir başka çalışma da *Triticum aestivum* bitkisi üzerinde yapılmıştır. Buğday bitkisinin hem östrojen bağlanma bölgeleri hem de progesteron bağlanma bölgeleri taşıdığı anlaşılmıştır. Hücre membranı veya sitoplazmada reseptörleriyle bağlantıya girebilen hormonların özellikle membranlarda daha yoğun varlık teşkil ettiği ifade edilmiştir (Janeczko *et al.* 2008).

Etki mekanizmaları hakkındaki bilinmezliklere rağmen bitkilerde MCH yapılarının, özellikle de östrojen ve testosteronun, öncülü olan steroid yapısı saptanabilmiştir. Androstenedione olarak ifade edilen bu yapı *Nicotiana tabacum* L. ve *Inula helenium* L. bitkilerinde tespit edilmiştir. Bu yapının aynı zamanda insan ve hayvanlarda MCH olarak etki gösterdiği bilinmektedir (Janeczko *et al.* 2012).

Bitki yetiştiriciliğinde besin maddeleri, hormonlar ve gelişimi teşvik edici uyarıların varlığı bitkilerin optimum gelişim gösterebilmesi için son derece önemli olduğu bilinmektedir. Optimum gelişimin yalnızca bitki besin maddelerine değil, aynı zamanda bitkinin sahip olduğu genetik yapıyla da ilişkili olduğu ifade edilmektedir. Bu durumun bitkinin toprak altı ve üstü aksam geliştirmesi, tohum, meyve ve benzeri ürün geliştirebilmesi ve dolayısıyla alınmak istenen maksimum verimi sunması için gerekli koşullar olduğu söylenmektedir (Blair *et al.* 1993).

Daha önce arpa, ayçiçeği, soğan gibi pek çok bitki üzerine stres koşullarının sitogenetik anlamda etkilerinin araştırıldığı çalışmalara literatürde rastlamak mümkündür. Genel olarak stress koşullarının mitotik aktivite üzerinde negatif bir etki gösterdiği gözlenirken, koşulların ağırlaşması ile birlikte kromozom anormalliklerine de rastlandığı yapılan çalışmalarda görülmüştür (Tabur 2009).

Deneysel anlamda araştırılan olguların sitogenetik etkileri değerlendirilirken, öncelikli olarak gözlemlenen olgu kromozomlardaki yapısal değişikliklerdir. Bu yapısal değişiklikler kromozomlarda anormalliklerin oluşumuna neden olmaktadır. Anormallikler kromozom yapısında olabileceği gibi, kromatitlerde de ortaya çıkabilmektedir. Bu durumlar duplikasyon, delesyon, translokasyon, inversiyon, izokromozom, halka kromozom telosentrik veya disentrik kromozom oluşumları gibi anormallikleri kapsar (Tosun, 2015).

Sitogenetik gözlemlerde rastlanan anormalliklerin temel nedenleri arasında iyonize edici radyasyon, ultraviyole radyasyon, kimyasal maddelerin etkisi, gametosidal kromozomlar gösterilebilir. Bu nedenlere ek bir diğer neden olarak *in vitro* doku kültürü tekniğinden da kaynaklanan kromozomal değişiklikler de dikkat çekmektedir. Bitki doku kültüründe ortaya çıkan kromozom kökenli yapısal değişiklikleri etkileyen birkaç faktör bulunmaktadır: Kullanılan bitkinin genotipi, eksplantın tipi, eksplantın alındığı bitkinin poliploidü düzeyi, kültür ortamının içeriği, ortamın katı veya sıvı oluşu, kallusun yaşı ve alt kültür sayısı, kallusun yapısı (Tosun, 2015).

Hücre bölünmesi sırasında bölünmeyi kontrol edebilecek 8- hidroksikinolin (Rousi, 1961),  $\alpha$ -monobromonaftalin (Kuta 1980; Elçi 1982), paradiklorbenzen (Elçi 1982; Sharma and Gupta 1982; Tabur vd 2002), kolşisin (Terziiski and Dimitrov 1983; Guidetta RotiMichelozzi 1986) ve erimekte olan buz (Ladizinsky and Hadassa 1984; Maxted *et al.* 1991) gibi ön uygulama çözeltilerinin kullanıldığı bilinmektedir. Bu çalışmada ön uygulama için Elçi (1982), Sharma and Gupta (1982) ve Tabur vd (2002)'nin uyguladığı metot esas alınarak paradiklorbenzenin doymuş çözeltisi kullanılmıştır. Hematoksilen ile yapılan boyamalarda kromozomların optimum boyayı almasındaki en önemli noktalardan

birisi olan ve özellikle dokuların birbirinden ayrılarak hücrelerin daha iyi gözlemlenebilmesi için hidrolizin önemli olduğu belirtilmiştir.

Hidroliz için zaman, sıcaklık ve hidrolizde kullanılan HCl'nin konsantrasyonu önemlidir. Yine hidroliz süresi de materyale göre değişiklik gösterdiğinden çok iyi zamanlama yapılması gerekmektedir. Çalışma materyalimiz için hidroliz süresinin 60°C'de 1 N HCl içerisinde 17 dakika bekletilmesinin (Fox 1969) uygun olduğu görülmüştür. Yapılan literatür çalışmalarında, borik asidin normal şartlar altında çimlenme, mitotik indeks ve kromozom anormallikleri üzerine etkileri ile ilgili birkaç çalışma olmasına rağmen (Dönbak vd 2002; Toprak 2002; Konuk vd 2007; Pandey and Santosh 2007; Kumar and Srivastava 2011), stres şartları altında bu parametreler üzerinde yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Ayrıca literatür verileri tarandığında, özellikle memeli cinsiyet hormonlarının kolza bitkisinin sitogenetik durumunu etkileyip etkilemeyeceğine dair bir çalışmanın olmadığı görülmektedir. MCH yapılarının kolzada kromozom anormalliklerine neden olup olmadığı, mitotik aktiviteyi ne ölçüde etkilediğine dair literatürde bir veri açığı bulunmaktadır. Yapılan bu çalışma literatürde var olan bu bilgi eksikliğini gidermek anlamında literature önemli katkılarda bulunacaktır.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Farklı memeli cinsiyet hormonlarının ve bu hormonlara ait farklı dozların kolzada; çimlenme, sitogenetik parametreler ve *in vitro* rejenerasyon üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir.

#### 3.1. Farklı Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) ve Dozlarının Kolzada Çimlenme ve Fide Gelişimi Üzerine Etkileri

##### 3.1.1. Bitki materyali

Araştırmada kolzanın (*Brassica napus* L.) Okapi çeşidine ait tohumlar Karaj-İran Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

##### 3.1.1.a. Memeli cinsiyet hormonu uygulaması

Uygulama öncesinde tohumlar musluk suyunda yıkanmış ve akabinde %70'lik etil alkol içerisinde (EtOH) 3 dakika boyunca çalkalanmış, süre sonunda steril saf suyla 3 defa durulama yapılmıştır. Birkaç damla Tween 20 (Sigma) içeren %15'lik sodyum hipokloritte 10 dakika süreyle karıştırılarak tohumların yüzeylerinin sterilize edilmesi sağlanmıştır. Tohumlara 4 farklı MCH (östrojen, progesteron, 17 $\beta$ -estradiol ve testosteron) ve her bir MCH'nin 5 farklı dozu [0 (kontrol), 0.00005, 0.00050, 0.005 ve 0.05 mM] uygulanmıştır. Bu doğrultuda elde edilen kombinasyon oranı 4 $\times$ 5=20 olarak tespit edilmiştir. Her bir uygulama kombinasyonu için 600 tohum kullanılmıştır. Her bir petri kabına 25 tohum yerleştirilmiş, tohumlara farklı hormon çeşidi ve konsantrasyon çözeltilisinden 10 ml uygulanmıştır. Bu uygulama sonrasında tohumlar 16:8 saat ışık:karanlık fotoperiyotta 25°C'de çimlendirme sürecine bırakılmışlardır.

### 3.1.2. Çimlenme ile ilgili karakterler

Çimlenme ve fide ile ilgili parametreleri incelemek amacıyla, 100'lük gruplara ayrılan tohumlar 3 tekrarlı bir şekilde çimlendirme denemesine tabi tutulmuştur. Çimlendirme denemesi için tohumlar petri kaplarında, Whatman kurutma kağıdı üzerinde çimlendirme dolabında 25°C'de 16:8 saat ışık:karanlık fotoperiyotta 14 gün tutulmuştur.

Çimlendirme süreci boyunca her gün sayım yapılmış, çimlenme ile ilişkili olarak aşağıda verilen karakterler incelenmiştir.

**a. Çimlenme oranı (%) (ÇO):** Her gün aynı saatte yapılan sayımlarla çimlenme ortamına bırakılan tohumların kaç tanesinin çimlendiği belirlenmiştir. Bu sayım kapsamında kök uzunluğunun 1-2 mm ve üzerinde olanlar çimlenmiş olarak kabul edilmiştir. Çimlenme sürecinin sonunda, çimlenme oranını hesaplamak için aşağıda verilen formül kullanılmıştır.

$$\text{Çimlenme oranı (\%)} = (\text{çimlenen toplam tohum sayısı} / \text{toplam tohum sayısı}) \times 100$$

**b. Çimlenme hızı katsayısı (ÇHK):** çimlenme oranını belirlemek amacıyla yapılan sayımlar doğrultusunda çimlenme hızı katsayısını hesaplamak için aşağıda verilen formül kullanılmıştır (Maguire 1962). Formülde  $T_i$ ; denemenin başladığı günden ölçüm yapılan güne kadar olan toplam gün sayısını,  $N_i$  ise her bir günde çimlenen tohum sayısını göstermektedir.

$$\text{ÇHK} = \sum N_i / \sum N_i T_i \times 100$$

**c. Ortalama çimlenme zamanı (OÇZ):** Ortalama çimlenme zamanını hesaplamak için aşağıda verilen formülden yararlanılmıştır (Kaya *et al.* 2006). Formülde  $f$  her sayım gününde kaç adet tohum çimlendiğini,  $x$  ise kaç gün sayım yapıldığını ifade etmektedir.

$$O\check{C}Z \text{ (g\u00fcn)} = \Sigma(fx) / \Sigma f$$

**d. \u00c7imlenme hızı indeksi (\u00c7H\u0130):** A\u015fa\u011fıda verilen form\u00fcl kullanılarak \u00c7H\u0130 hesaplanm\u0131\u015ftır.

$$\u00c7H\u0130 = (N_i) / (T_i)$$

Form\u00fclde  $T_i$ , denemenin ba\u015flam\u0131\u015f oldu\u011fu g\u00fcnden itibaren sayım yapılıncaya kadar olan g\u00fcn sayısını,  $N_i$  ise her bir g\u00fcnde \u00c7imlenen tohum sayısını g\u00f6stermektedir (Maguire 1962).

**e. \u00c7im g\u00fc\u00e7\u00fc indeksi (\u00c7G\u0130):** \u00c7im olu\u015fum g\u00fc\u00e7\u00fc indeksini hesaplamak i\u00e7in a\u015fa\u011fıdaki form\u00fcl kullanılm\u0131\u015ftır (Abdul-Baki and Anderson 1970).

$$\u00c7G\u0130 = (\text{ortalama s\u00fcrg\u00fcn uzunlu\u011fu} + \text{ortalama k\u00f6k uzunlu\u011fu}) \times \text{toplam \u00c7imlenme y\u00fczdesi}$$

#### **f. \u00c7imlenme ile ilgili karakterlere ait verilerinin istatistiksel analizi**

Tam \u015fansa ba\u011fı rastgele bir deneme planında 3 tekrarlı ve 4x5 fakt\u00f6riyel bi\u00e7iminde yapılm\u0131\u015f olan MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının \u00c7imlenme \u00fczerine etkisi sonucu elde edilen veriler varyans analiziyle de\u011ferlendirilmi\u015ftir. Bu parametreler bakımından elde edilen verilerin ortalamaları aralarındaki fark %5 \u00f6nem seviyesinde tutularak Duncan \u00e7oklu kar\u015fıla\u015ftırma testi ile de\u011ferlendirilmi\u015ftir. MCH  $\times$  konsantrasyona dair ba\u011flantının etki derecesi basit ana etki ile her bir hormon kapsamında konsantrasyonlar kar\u015fıla\u015ftırılmalı olarak ifade edilmi\u015ftir.

#### **3.1.3. Fide ile ilgili karakterler**

Tohumlar \u00c7imlendirme ortamına ekildikten itibaren 14. g\u00fcnde her petri kutusundan \u015fansa ba\u011fı olarak 10'ar adet fide alınm\u0131\u015f ve a\u015fa\u011fıda verilen parametreler incelenmi\u015ftir.



- a. Kök uzunluğu (cm) (KU):** Örneklemede kullanılan 10 adet fidenin her birinde en uzun kökün uzunluğu milimetrik cetvelle ölçülmüş ve ortalaması alınmıştır.
- b. Sürgün uzunluğu (cm) (SU):** Kök uzunluğunun ölçüldüğü fidelerde tohumdan ilk çıkmış olduğu konumdan itibaren yaprağın ucuna kadar olan uzunluğu milimetrik cetvelle ölçülerek ortalama kök uzunluğu tespit edilmiştir.
- c. Fide uzunluğu (cm) (FU):** Kök ucu ve yaprak ucu arasında kalan mesafe milimetrik cetvelle ölçülmüş elde edilen verilerin ortalaması alınarak fide uzunluğu belirlenmiştir.
- d. Kök yaş ağırlığı (g) (KYA):** Rastgele seçimi yapılan 10 fideden ayrılan embriyonal köklerin yaş formdaki ağırlıkları tartılmış ve elde edilen bu değer 10'a bölünerek kök yaş ağırlığı hesaplanmıştır.
- e. Kök kuru ağırlığı (g) (KKA):** Yaş ağırlıkları belirlenen kökler 72°C'de 72 saat süreyle kurutulduktan sonra hassas terazide yapılan tartılmış ve değer 10'a bölünerek kök kuru ağırlığı tespit edilmiştir.
- f. Sürgün yaş ağırlığı (g) (SYA):** Kök ağırlığının belirlenmesinde kullanılan 10 fidenin sürgünleri ayrılarak hassas terazide tartılmış ve değer 10'a bölünerek sürgün yaş ağırlığı tespit edilmiştir.
- g. Sürgün kuru ağırlığı (g) (SKA):** Kuru ağırlık belirleme yapılan işlemler tekrar edilerek sürgünlerin 72°C'de 72 saat kurutulması sağlanmış, ardından hassas terazide tartımı ile kuru ağırlığı saptanmıştır. Her bir sürgünün ağırlığını belirlemek içinse elde edilen verinin ona bölümü gerçekleştirilmiştir.
- h. Fide ile ilgili karakterlere ait verilerin istatistiksel analizi:** Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde; MCH uygulaması ve konsantrasyon etkisi incelenen 4x5 faktöriyel tam şansa bağlı deneme planı kapsamında 3 tekrarlı bir biçimde yapılmış olan uygulama verileri varyans azalizi ile değerlendirilmiştir. Ortalamaların analizinde ise aralardaki farklar %5 önem oranında değerlendirilerek Duncan çoklu karşılaştırma testi ile tespit edilmiştir. Yapılan değerlendirmeler ve analiz kapsamında ortalama veriler arasındaki farkları açıklamak için, MCH hormon uygulama konsantrasyonlarının oluşturduğu değişikliklere yönelik bir formatta çalışılmıştır.

## **3.2. Farklı Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) ve Dozlarının Kolzada Sitogenetik Parametreler Üzerine Etkileri**

### **3.2.1. Yöntem**

Tohumlar Whatman kurutma kağıtlarında çimlendirilmiştir. Petri kaplarına uygun şekilde kesilen filtre kağıtları saf su ile ıslatılmıştır. Nemlendirilmiş filtre kağıtları üzerine tohumlar seyrek olarak yerleştirilmiştir. 1-2 günün ardından çimlenmeye başlayan tohumlar her gün kontrol edilmiştir. 10-15 mm uzunluğa erişen kökler kesilerek alınmıştır. Küçük tüplere bırakılan kök uçlarına aşağıda sıralanan işlemler yapılmıştır.

#### **3.2.1.a. Somatik kromozomların gözlemi için materyalin hazırlanması**

Somatik kromozom çalışmaları için kök ucu meristem hücrelerinden yararlanılmıştır. Bu amaçla öncelikle kök ucu örnekleri elde edilmiştir. Ardından meristem hücrelerinde iğ ipliklerinin oluşumunu önlemek için kök ucu örneklerine 2-3 saat süreyle %0.05'lik kolşisin uygulanmıştır. Fiksasyon basamağında Karnoy 1 ile muamele sonrasında yapılan tespitin ardından köklerin musluk suyunda 5 dakika boyunca yıkanması ve bu yıkama işleminin 3 defa üst üste tekrar edilmesi ile hücreler bölünme safhasında sabitlenmiştir. Bu işlemin ardından 60°C'de 1N NaOH'te 10 dakika süreyle bekletilerek hidroliz yapılmıştır. Son basamak olan boyama işleminde ise boyama yöntemi olarak aseto iron hematoksilin tercih edilmiştir. Bu amaçla kök uçları 6 saat süreyle aseto iron hematoksilin boyasında inkübe edilmiştir.

#### **a. Aseto iron hematoksilin boyasının hazırlanışı**

Boyayı hazırlamak için 100 ml'lik %45'lik asitik asit içerisine 4 gr aseto-iron-hematoksilin tartılarak ilave edilmiş ve ardından 1 gr  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$  eklenmiştir. Hazırlık süreci boyunca cam çubuk yardımıyla karışım devamlı karıştırılmıştır. Böylece hazırlanan boya bir şişe içerisine konularak ağzı sıkıca kapatılmıştır ve karanlık ortamda,

24 saat süreyle buzdolabında bekletilerek boyanın siyahtan açık çay rengine dönüşü sağlanmıştır. Hazırlanan boya buzdolabında saklanmıştır.

### **b. Ezme ve kök uçlarının mikroskopta incelenmesi**

Kök uçlarında yer alan meristem hücrelerinde kromozomların bölünme esnasında görüntülenebilmesi için ezilmesi gerekmektedir. Bu kapsamda hücre duvarı yapısını parçalayabilmek için bir damla %45'lik asetik asit çözeltisinden faydalanılmış ve bu çözelti damlatılarak kök uçları ezilmiştir (Elçi ve Sancak 2009). Hazırlanan preparatlardan görüntü almak içinse fotoğraf çekimi yapabilen donanıma sahip (Canon DS126291) bir 400X mikroskop (Olympus BX51) kullanılmıştır.

#### **3.2.1.b. Preparatın hazırlanışı**

Kök uçlarında 1-2 mm'lik bölümün boyanmasıyla elde edilen meristematik bölgeler, bistüri ile kesilmek suretiyle lam üzerine bırakılmıştır. Akabinde bu yapı yine bistüri yardımıyla daha küçük parçalara ayrılmıştır. Parçalama sürecinin devamında lam üzerine lamel kapatılmış ve kuşun kalemin arka tarafıyla vurularak incelenecek yapıların dağılımının daha düzgün olması hedeflenmiş, böylece kromozomlarına aynı düzlemde bulunmaları sağlanmıştır. Bu işlemin ardından baş parmak ile preparat üzerine kuvvetli bir şekilde bastırılmış, böylece preparatlar incelemeye hazır hale getirilmiştir (Elçi 1982).

#### **3.2.1.c. Sitogenetik ile ilgili parametrelere ilişkin verilerin istatistiksel analizi**

a) Mitotik faz döneminde olan hücrelerde incelenen parametreler;

%Profaz : Profaz evresinde olan hücre sayısı /toplam hücre sayısı  $\times$  100

%Metafaz: Metafaz evresinde olan hücre sayısı /toplam hücre sayısı  $\times$  100

%Anafaz : Anafaz evresinde olan hücre sayısı /toplam hücre sayısı  $\times$  100

%Telofaz : Telofaz evresinde olan hücre sayısı /toplam hücre sayısı  $\times$  100

Mitotik indeks : Mitoz bölünmede olan hücre sayısı/toplam hücre sayısı  $\times$  100

b) Anafaz evresinde ortaya çıkan anormalliklerin belirlenmesi;

Mikroskopta yapılan gözlemler esnasında mitoz bölünmenin tüm evrelerinde görülen kromozom anormalliklerine dikkat edilmiş ve bu parametre şu şekilde hesaplanmıştır:

$$\text{Kromozomal anormalliklere sahip hücre oranı} = \frac{\text{anormallik içeren hücre sayısı}}{\text{mitozdaki hücre sayısı}} \times 100$$

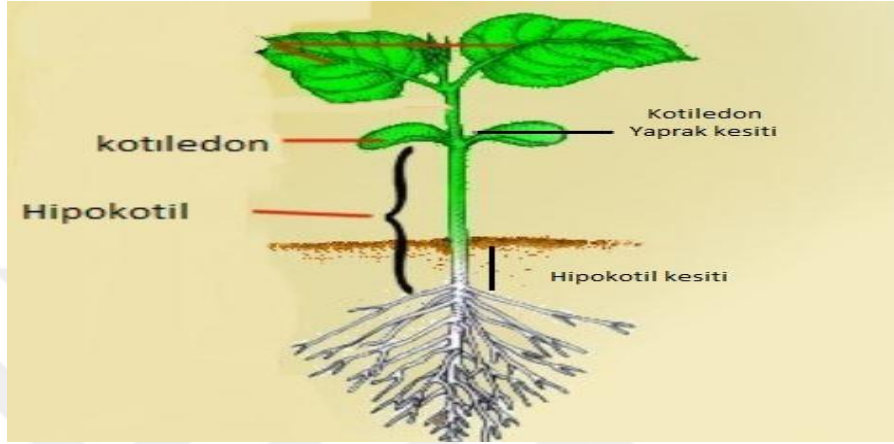
Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, MCH yapılarının ve konsantrasyonlarının etkisi (4x5 faktöriyel kapsamında) tesadüfi seçimi yapılan 5 tekrarlı biçimde (her bir slayt bir tekerrür olarak kabul edilmiştir) varyans analizi kullanılmıştır. Ortalamalarının hesaplanmasında ise aralarındaki farklılıklar %5 önem derecesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi ile tespit edilmiştir. Hormonlarla konsantrasyonların uygulamasına dair interaksyon etkisi ise basit ana etki ile hormonlar kapsamında konsantrasyonların etki dereceleri karşılaştırılarak ifade edilmiştir.

### **3.3. Farklı Memeli Cinsiyet Hormonları (MCH) ve Dozlarının Kolza Bitkisinin Doku Kültürüne Etkileri**

#### **3.3.1. Bitkilerden eksplantların alımı**

Kanola tohumları öncelikle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Akabinde MS besin ortamı ve vitaminler içeren petri kaplarına aseptik koşullarda ekimi yapılmıştır. 25°C sıcaklıkta, 16 saat gün/8 saat karanlık periyot kapsamında çimlenmeye bırakılmışlardır. Ekimin akabinde 10 günün sonunda eksplantlar alınmıştır. Bu tez çalışmasında eksplant olarak kullanılan bitki materyalleri hipokotil ve kotiledon yapraklarıdır. MS ortamında çimlendirilen kanola türünde hipokotili çimlenen tohumların ilk çıkış yapmış kısmı özellikle sap kısmında 1-2 cm yukarısından kesilerek elde edilmiştir. Kotiledon yapraklarından eksplant eldesinde ise yaprakların uç kısmından yaprak sapına doğru enine kesimle eksplant alınmıştır. Yaprak arasını ikiye bölerken sapı ile birlikte bölüm yapılmış ve bu bölünmenin simetrik olmasına özen gösterilmiştir (Şekil 3.1). Elde edilen

eksplantları ekerken her petride 20 adet eksplant bulunacak şekilde yerleşim yapılmıştır. Her bir petri kabı bir tekrar olarak kabul edilmiş ve her bir uygulama 4 tekrarlı olacak şekilde hazırlanmıştır.



**Şekil 3.1.** Hipokotil ve kotiledon yapraklarının kesim yerlerinin şematik gösterimi

### 3.3.2. Kallus kültürü ortamlarında kullanılan kimyasallar

#### 3.3.2.a. Temel besi ortamı

Kallus gelişimi ile ilgili çalışmalarda Murashige and Skoog (1962) besi ortamından yararlanılmıştır. Bu ortamın içerisinde yer alan bileşikler ve miktarları Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** MS kültür ortamında kullanılan kimyasallar ve miktarları

KİMYASAL BİLEŞİMİ	Miktarı (mg/l)
<b>İnorganikler</b>	
<b>Makro elementler</b>	
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
KNO <sub>3</sub>	1900
CaCl <sub>2</sub>	332.2
MgSO <sub>4</sub>	180.7
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170

**Çizelge 3.1.** (devam)

<b>Mikro elementler</b>	
Na <sub>2</sub> EDTA	37.26
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ).7H <sub>2</sub> O	27.8
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	16.9
KI	0.83
<b>Organikler</b>	
Glisin	2
Myo-inositol	100
Nikotonik asit	0.5
Pridoksin-HCl	0.5
Tiamin-HCl	0.1

MS besi ortamını hazırlamak için; makro (20X), mikro (100X) element ile demir şelelat (100X) ve vitaminler (100X) için stok solüsyon hazırlaması yapılmış, bu şekilde besi ortamı hazırlanmıştır.

### 1. MS makro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı

MS makro elementleri içeren 20X oranında stok solüsyonu hazırlama amacıyla aşağıda verilen basamaklardan faydalanılmıştır:

- Çizelge 3.1’de bir litre içerisinde yer alması gereken makro element bileşiklerinin 20’şer katı hassas terazide tartılmak suretiyle 20X stok solüsyon hazırlanmıştır.
- 2 litre hacmindeki bir beher içerisinde manyetik balıkla beraber 700 ml civarında saf su koyulmuş, manyetik karıştırıcı üzerinde makro elementlerin her biri sırayla eridikçe ilave edilmek suretiyle çözdürülmüştür. Karışım tamamen homojen bir görünüm sergilediğinde, tüm makro elementlerin erimesi sona erdiğinde, karışımın hacmi saf su

yardımıyla bir litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan karışım amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine karışımın hazırlanma tarihi, adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı ve 1 litre standart MS hazırlamak için içerisinde alınması gereken miktar yazılarak buzdolabında saklanmıştır.

## **2. MS mikro elementler için stok solüsyonunun hazırlanışı**

MS besi ortamının hazırlanmasında kullanılan mikro element stok solüsyonunun (100X) hazırlanması için aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır.

a) Çizelge 3.1’de yer alan mikro elementler bölümündeki  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  bileşikleri haricindeki diğer bileşikler 100’er katı olacak şekilde hassas bir terazide tartılmak suretiyle solüsyon hazırlığına başlanmıştır.

b) 2 litre hacmindeki bir beher içerisinde manyetik balıkla beraber 700 ml civarında saf su koyulmuş, manyetik karıştırıcı üzerinde mikro elementlerin her biri sırayla eridikçe ilave edilmek suretiyle çözdürülmüştür. Karışım tamamen homojen bir görünüm sergilediğinde, tüm mikro elementlerin erimesi sona erdiğinde, karışımın hacmi saf su yardımıyla bir litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan karışım amber şişeye doldurulmuştur. Üzerine karışımın hazırlanma tarihi, adı, konsantrasyonu, hazırlayan kişinin adı ve 1 litre standart MS hazırlamak için içerisinde alınması gereken miktar yazılarak buzdolabında saklanmıştır.

## **3. MS demir şelat stok solüsyonunun hazırlanışı**

MS besi ortamı için kullanılacak demir şelat stok solüsyonu (100X) hazırlamak için aşağıda bahsedilen basamaklar takip edilmiştir.

a) Çizelge 3.1 içerisinde yer alan mikro elementler kısmında belirtilen  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$  bileşiklerinin 100 katı miktarının hassas terazi ile tartımı sağlanmıştır.

b) Demir şelat solüsyonunun ilk aşamasının hazırlığı için öncelikle 500 ml'lik bir erlenmayer içerisine 300 ml saf su koyulmuştur. Erlenmayer manyetik karıştırıcı üzerine koyulup, karıştırıcının ısıtıcısı da açılmak suretiyle içerisine manyetik balık bırakılmıştır. Tartımı yapılan 3.726 gr miktarındaki Na<sub>2</sub>-EDTA erlenmayer içerisine eklenmiş ve tamamen eriyinceye kadar karıştırılması beklenmiştir. Karışım homojen bir görünüm sergilediğinde karıştırıcının ısıtıcısı kapatılmış ve karıştırma işlemi esnasında hacmin saf su yardımıyla 400 ml'ye tamamlanması sağlanmıştır.

c) Demir şelat solüsyonunun ikinci aşamasının hazırlığı için farklı bir 500 ml'lik bir erlenmayer içerisine 300 ml saf su koyulmuştur. Erlenmayer manyetik karıştırıcı üzerine koyulup, karıştırıcının ısıtıcısı da açılmak suretiyle içerisine manyetik balık bırakılmıştır. Tartımı yapılan 2.78 gr miktarındaki FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O erlenmayer içerisine eklenmiş ve tamamen eriyinceye kadar karıştırılması beklenmiştir. Karışım homojen bir görünüm sergilediğinde karıştırıcının ısıtıcısı kapatılmış ve karıştırma işlemi esnasında hacmin saf su yardımıyla 400 ml'ye tamamlanması sağlanmıştır.

d) Stok solüsyonun hazırlama sürecinin son aşamasında daha önceki basamaklarda hazırlanan iki çözelti birleştirilmiştir. Elde edilen karışımın hacmi oda sıcaklığında bulunan saf su yardımıyla bir litreye tamamlanmıştır. Toplam karışım amber şişeye aktarılmış, açık renkli bu solüsyonun adının ne olduğu, kimin hazırladığı, hazırlama tarihi, bir litre standart MS besi ortamı hazırlamak adına içerisinden kaç ml miktarında alınması gerektiğine dair bilgilerin yazıldığı etiketin yapıştırılmasıyla 4°C'de saklanmıştır.

#### **4. MS vitamin stok solüsyonlarının hazırlanışı**

MS besi ortamının hazırlığı için bir diğer basamak olan vitamin stok solüsyonunun (100X) hazırlığı için aşağıda belirtilen basamaklar takip edilmiştir.

a) Çizelge 3.1 kapsamında ifade edilen organikler kısmında sıralanan bileşiklerin 100 katı tartılmıştır.



b) Bir litrelik erlenmayer içerisine 700 ml saf su koyulmuş, kap manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Manyetik balık da bırakıldıktan sonra, oda sıcaklığında sırayla tek tek vitaminler ilave edilmiş, çözünme süreci tamamlandıktan sonra karışımın hacmi 1 litreye tamamlanmak suretiyle hazırlanmış ve karışım amber şişeye doldurulmuştur. Etiketlenen şişenin üzerine hazırlanmış stok solüsyon adı, konsantrasyonu, kimin hazırladığı, hangi tarihte hazırlandığı ve akabinde bir litre standart MS hazırlamak için içerisinden alınması gereken hacim yazılmalıdır. Şişe 4°C’de saklanmalıdır.

### 5. MS ortamı hazırlanırken kullanılan harici kimyasallar ve bu kimyasalların stok solüsyonlarının hazırlanışı

MS ortamı hazırlanırken kullanılan bileşiklere ek olarak çalışmalarda bazı harici kimyasalların kullanımı da söz konusudur. Bahsedilen bu kimyasallar Çizelge 3.2’de verilmiştir. Çalışmalara dahil edilen MCH hormonlarının stok solüsyonlarının nasıl hazırlandığına dair bilgiler Çizelge 3.3’de, sitokinin hormonunun hazırlığına ilişkin bilgiler ise Çizelge 3.4’de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** MS tuzları ve vitaminlerine ilave olarak kullanılan kimyasallar

<b>Kullanılan Kimyasallar</b>	<b>Miktarı</b>
Askorbik Asit	100 mg/l
MES hidrate	1.95 g/l
Pyhtagel	2 g/l
Sakkaroz	20 g/l

**Çizelge 3.3.** Memeli cinsiyet hormonlarının (MCH) stok solüsyonunun hazırlanışı

<b>MCH Tipi</b>	<b>Çözücü</b>	<b>Seyreltici</b>	<b>Saklama koşulu</b>	<b>Çalışma konsantrasyonu</b>
B- Estradiol	Etil alkol	Su	24°C	1 mg/ml
Progesteron	Etil alkol	Su	+4°C	1 mg/ml
Östrojen	Etil alkol	Su	24°C	1 mg/ml
Testosteron	Etil alkol	Su	+4°C	1 mg/ml

**Çizelge 3.4.** Sitokin hormonu stok solüsyonunun hazırlanışı

Sitokin Tipi	Çözücü	Seyreltici	Saklama koşulu	Çalışma konsantrasyonu
TDZ	Dimetil Sülfoksit	Su	+4°C	1 mg/ml

### 3.3.3. Bitki rejenerasyonu ortamlarında kullanılan kimyasallar

Bitkilerin rejenerasyonunu teşvik etmeye yönelik çalışmalarda Murashige ve Skoog (1962) besi ortamı kullanılmış ve MS besi ortamına 0.25 mg/l TDZ takviyesi yapılmıştır.

### 3.3.4. Kullanılan yöntemler

Bu tez çalışmasının doku kültürü çalışmaları iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşama; 4 farklı memeli cinsiyet hormonu içerisinde (B-Estradiol, progesteron, östrojen ve testosteron), farklı konsantrasyonlarda [0 (kontrol), 0.00005, 0.00050, 0.005 ve 0.05 mM] gelişimi beklenen eksplant (hipokotil ve kotiledon) yapılarının ışıklı ve karanlık koşullarda bir ay süreyle yetiştirilmesi metodudur. İkinci aşama ise; ilk aşamadan elde edilen hipokotil ve kotiledon eksplantlarının 0.25 mg/l TDZ içeren MS rejenerasyon ortamına aktarılması ve ardından 30 gün süre ile inkübe edilmesi metodudur.

#### 3.3.4.a. Birinci ve ikinci yöntemlerin uygulanışı

Bu tez çalışmasının yürütülme süreci esnasında aşağıda ifade edilen basamaklar takip edilmiştir.

## **1) Sterilizasyon yöntemleri**

### **a) Çalışma ortamının ve kullanılan aletlerin sterilizasyonu**

Çalışma esnasında kullanılan tüm yüzey alanları kullanılmadan 10–15 dakika önce %70'lik etil alkolle yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Akabinde UV lambası açılarak de sterilizasyon devam ettirilmiştir. Doku kültürü çalışması başlatılmadan önce UV lamba kapatılmıştır. Kullanılan aletlerin sterilizasyonu ise, aletlerin (Bistüri, pens gibi) önce etil alkol içerisine batırılması, ardından aleve tutulması ile yapılmıştır. Eksplantları kesmek içinse alüminyum folyoya sarılmış bir şekilde otoklavlanmış 10x15 cm boyutları dahilindeki kurutma kağıtlarının yüzeyleri kullanmıştır.

### **b) Tohumların yüzey sterilizasyonu**

Eksplant olarak kullanılacak tohumların yüzey kısımlarını sterilize etmek için öncelikle tohumların musluk suyunda yıkanmıştır. Akabinde %70'lik etil alkolde 3 dakika süreyle karıştırılmıştır. Devamında ise steril kabin içerisinde tohumların 3 defa art arda saf suyla yıkanması gerekmektedir. Sonrasında %15'lik sodyumhipokloritte (%20'lik ticari çamaşır suyu) 10 dakika çalkalanmış ve yine 3 defa steril saf su ile yıkanmıştır.

### **c) Besi ortamının ve diğer bileşenlerinin sterilizasyonu**

Besin ortamının sterilize edilebilmesi için otoklav cihazı kullanılmıştır. Otoklav cihazının çalışma prensibi doğrultusunda; 105 kPa basınç altında 121°C sıcaklıkta 20 dakika süreyle sterilizasyon sağlanmıştır. Besi ortamlarına eklenen ancak yüksek sıcaklıkta stabilitesini kaybederek bozulan vitamin, hormon, memeli cinsiyet hormonları, bitki büyüme düzenleyicileri gibi yapıların sterilizasyonu ise 0.22 µm por çapına sahip selüloz nitrat yapılı filtrelerden (Milipor) faydalanılarak yapılmıştır.

**d) Sterilizasyonda kullanılan solüsyonların hazırlanışı**

**%70'lik Etil alkolün hazırlanışı:** %96 oranlı etil alkol sıvısından 700 ml alınmış ve hacmi saf su ile 960 ml'ye tamamlanmıştır.

**%15'lik Sodyum hipoklorit solüsyonunun hazırlanışı:** İçeriğinde %5 NaOCl (sodyum hipoklorit) bulunan çamaşır suyundan (ticari marka: ACE) 150 ml alınmış ve hacmi saf su yardımıyla 1 litreye tamamlanmış, ışıktan korunması için amber renkli şişe içerisine aktarılmış ve saklaması oda sıcaklığı koşullarında yapılmıştır.

**3.3.4.b. Kallus ve bitki rejenerasyon ortamlarının hazırlanması**

Besi ortamı hazırlığı için aşağıda basamaklarca verilen işlemler uygulanmıştır.

1. 1000 ml hacmindeki beher içerisine 600 ml bidistile su eklenmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde manyetik balık yardımı ile karıştırılmaya başlanmıştır.
2. Daha önce hazırlanan ve MS besi ortamının temel elementleri olan makro element stok solüsyonundan (20X) 50 ml alınmış, mikro element stok solüsyonu ile demir şelat stok solüsyonundan (100X) 10'ar ml alınarak beher içerisine bırakılmıştır.
3. Bu karışım üzerine 20 gr sakkaroz ile 1.95 g MES Hydrate hassas terazide tartılıp ilave edilmiş ve beher içerisinde eriyinceye dek karıştırılmıştır. Elde edilen karışımın hacmi 950 ml'ye tamamlanmış ve 1N NaOH ile 0.1 N HCl çözeltilerinden faydalanılmak suretiyle pH=5.8'e sabitlenmiştir.
4. Karışımın son hacmi saf su ile 985 ml'ye tamamlanmıştır.
5. Otoklav öncesinde karışımın otoklavlanacağı şişe içerisine 2 gr jel yapıcı madde (Phytigel) ilave edilmiş, karışım bunun üzerine eklenmiştir. Otoklavlanacak şişenin ağzı alüminyum folyo ile kapatıldıktan sonra sterilizasyon için otoklavda 20 dakika süreyle yüksek basınç altında 121°C'de sterilizasyon sağlanmıştır.
6. Sıcaklık dolayısı ile yapısı bozulabilecek olan vitamin ve hormonların besi ortamına eklenmesi işlemi otoklavlama aşamasının ardından gerçekleşmiştir. Bu amaçla 50 ml hacimli beher içine daha önceden hazırlanmış MS vitamin stok solüsyonu içerisinden

(10X) 10 ml, askorbik asit (50 mg/l) çözeltilisinden 1 ml eklenmiş ve elde edilen son hacmin saf su ilavesiyle 15 ml olması sağlanmıştır.

7. Besi ortamına vitamin ve hormon yapılarının ilavesi ise, otoklav işleminin sona ermesinin ardından ortam sıcaklığı yaklaşık olarak 40-45°C civarlarında seyrederken 0.22 µm çapında porlara sahip filtreler yardımıyla gerçekleştirilmiştir.

### 3.3.4.c. *In vitro* MCH uygulaması

1. Önceden yüzey bölgeleri sterilize edilmiş kolza tohumlarından elde edilen hipokotil ve kotiledon yaprakları kesilmiştir (Şekil 3.2).

2. MS (Murashige and Skoog 1962) ortamına ek olarak farklı memeli cinsiyet hormonları; B-Estradiol, progesteron, östrogen ve testosteron ve bu hormon yapılarının farklı konsantrasyonları [0 (kontrol), 0.00005, 0.00050, 0.005 ve 0.05 mM], 20 gr/l sakkaroz, 2 gr/l phytigel ve 1.95 gr/l MES Hydrate [(2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid)] maddelerini barındıran besi ortamlarında yetiştirine kolza eksplantları karanlık ve ışık büyütme koşullarında 25±1°C'de 30 gün boyunca tutulmuştur.

3. İnkübasyon süresi olan bir ayın bitişiyle birlikte, hem karanlık ortam koşullarında yetişen hem de aydınlık şartlarda geliştirilmeye çalışılan kolza hipokotil ve kotiledon eksplantları, yetiştirildikleri ortama ek olarak 0.25 mg/l TDZ, 2 mg/l phytigel ve 20 g/l sakkaroz içeren rejenerasyon teşvik edici ortamda yetiştirilmeye çalışılmıştır. Bu ortamda yetiştirme koşulları ise; 24 saat karanlık ile 16:8 saat süreyle ışık:karanlık fotoperiyotlu 25±1°C sıcaklık niteliklerine sahiptir. Bu ortamda da bitki eksplantları 30 gün süreyle inkübe edilmişlerdir. Işık kaynağı olarak kullanılan floresan lambanın ışık yoğunluğu ise 62 µmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> olarak ifade edilmiştir.

### 3.3.4.d. İncelenen karakterler

#### Birinci aşamada elde edilen gözlemler

Hem hipokotil hem de kotelidon yapraklarına uygulanan MCH yapıları ve farklı dozları sonucunda, farklı ışık ve karanlık koşullarının da katkısıyla aşağıda verilen parametreler incelenmiştir.

**1) Morfolojik değişim (MD):** Eksplantların ortamlara yerleştirilmesinin akabinde ortaya çıkan şişme, renk, şekil gibi değişimlerdir.

**2) Kallus oluşum (KO) oranı (%):** Kallus oluşum oranını hesaplama için aşağıdaki formül dikkate alınmıştır (Aydın 2010).

$$\text{Kallus oluşum oranı (\%)} = (\text{oluşan kallus sayısı} / \text{kültüre alınan eksplant sayısı}) \times 100$$

**3) Kök oluşturan eksplant (KOE) yüzdesi (%):** Aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplanmıştır.

$$\%KOE = (\text{Kök oluşturan eksplant sayısı} / \text{toplam eksplant sayısı}) \times 100$$

**4) Sürgün oluşturan eksplant (SOE) yüzdesi (%):** Aşağıdaki formül doğrultusunda hesaplanmıştır.

$$\text{SOE (\%)} = (\text{Sürgün oluşturan eksplant sayısı} / \text{toplam eksplant sayısı}) \times 100$$

**5) Bitki Sayısı (BS):** Çalışmanın sonunda elde edilen toplam bitki sayısıdır.

\*Kök ve sürgüne sahip bitkicik meydana getiren embriyogenik kallus veya somatik embriyo sayısı.

## İkinci aşamada yapılan gözlemler

**1) Kallus oluşum (KO) oranı (%):** Kallus oluşum oranını hesaplama için aşağıdaki formül dikkate alınmıştır (Aydın 2010).

$$\text{Kallus oluşum oranı (\%)} = (\text{oluşan kallus sayısı} / \text{kültüre alınan eksplant sayısı}) \times 100$$

**2) Embriyogenik kallus oluşum oranı (%):** Embriyogenik kallus yapılarının sert nitelik sergileyen, dağılabilecek gibi görünen, sıkı ve pütürlü bir yapı gösteren ve embriyo oluşturabilecek özellikler taşıyan kallusların oluşum oranıdır. Hesaplaması eksplant sayısı ile ilişkili şekilde yapılmıştır (Aydın 2010).

Eksplant sayısına göre embriyogenik kallus oluşum (ESEKO) oranı (%): ESEKO oranı hesaplamak için aşağıda verilen formülden faydalanılmıştır.

$$\text{ESEKO oranı (\%)} = (\text{embriyogenik kallus sayısı} / \text{eksplant sayısı}) \times 100$$

**3) Sürgün oluşturan eksplant (SOE) yüzdesi (%):** Aşağıda verilmekte olan formül doğrultusunda hesaplanmıştır.

$$\text{SOE (\%)} = (\text{Sürgün oluşturan eksplant sayısı} / \text{toplam eksplant sayısı}) \times 100$$

**4) Bitki Sayısı (BS):** Çalışmanın sonunda elde edilen toplam bitki sayısıdır.

\*Kök ve sürgüne sahip bitkicik meydana getiren embriyogenik kallus veya somatik embriyo sayısı.

### 3.3.5. Verilerin istatistiksel analizi

İstatistiksel analizle tam şansa bağlı faktöriyel deneme deseni baz alınarak ve 4 tekrarlı olarak yapılmıştır. Çalışmada kullanılan her bir petri kabı bir deneme ünitesi olarak dikkate alınmıştır. Her bir petri kabında 20 adet bitki eksplantını kapsamaktadır.

Çalışmadan elde edilen veriler tam şansa bağlı deneme planı temel alınarak Genel Linear model doğrultusunda varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Her bir denemeye ait ortalama veriler arasında olan farklar %5 önem derecesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi ile tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 22 paket programı ile analiz edilmiştir.



## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1. Memeli Cinsiyet Hormonlarının (MCH) Çimlenme Parametreleri ve Fide Oluşumu Üzerine Etkileri

Tohumlar ortama konulduktan yaklaşık 1-2 gün sonra çimlenmeye başladıkları görülmüştür ve 14 gün boyunca bu ortamda tutularak büyümeleri sağlanmıştır.

#### 4.1.1. Çimlenme ile ilgili karakterler

##### a. Çimlenme oranı (ÇO)

Çimlenme oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları uygulaması ve konsantrasyonu ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1).

Ortalamalar esas alınarak veriler MCH'ye göre değerlendirildiğinde, en yüksek çimlenme oranının %100 ile östrojen hormonu uygulamasında, en düşük çimlenme oranının ise %60 ile testesteron hormonu uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Uygulama konsantrasyonlarının ortalamalarına göre, çimlenme oranı kontrol,  $5 \times 10^{-5}$  mM ve  $5 \times 10^{-4}$  uygulamalarında %100 olarak tespit edilmiş, bunu azalan sıra ile  $5 \times 10^{-3}$  mM (%50) ve  $5 \times 10^{-2}$  mM (%25) konsantrasyonları izlemiştir. Diğer taraftan, kontrol,  $5 \times 10^{-5}$  mM ve  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamaları arasındaki farklılıkların önemsiz olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.2).

Çimlenme oranı üzerine, memeli cinsiyet hormonlarının etkisi konsantrasyonlar bakımından farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon×konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1). En yüksek çimlenme oranı 17  $\beta$ -östradiol kontrol grubu, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, östrojen + 0.00, östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, östrojen +

$5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron kontrol grubu, progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, testesteron kontrol grubu, testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında %100 oranıyla elde edilirken; en düşük çimlenme oranı 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarında ise çimlenme oranı (%) elde edilmemiştir. (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.1.** Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çimlenme ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Kareler ortalaması					
	SD	ÇO	ÇHK	OÇZ	ÇHi	ÇGi
Hormon	3	5500.00**	652.53**	5.04**	67.65**	2020310.06**
Konsantrasyon	4	15000.00**	1529.75**	14.51**	172.61**	3396700.98**
H×K	12	3000.00**	187.68**	5.33**	21.05**	302117.28**
Hata	40					
Toplam	59					

\*, p<0.05; \*\*, p<0.01 düzeyinde önemlidir

**Çizelge 4.2.** Kolzay bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çimlenme ile ilgili bazı karakterlere etkilerine ait ortalamalar

Hormon	Konsantrasyon (mM)	ÇO%	ÇHK	OÇZ	Çİİ	ÇGİ
17 β-östradiol	0.00	100.00 <sup>a</sup>	28.76 <sup>a</sup>	3.48 <sup>a</sup>	9.63 <sup>a</sup>	1418.33 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	100.00 <sup>a</sup>	28.41 <sup>a</sup>	3.52 <sup>a</sup>	9.73 <sup>a</sup>	1120.00 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	100.00 <sup>a</sup>	28.17 <sup>a</sup>	3.56 <sup>a</sup>	9.42 <sup>a</sup>	913.33 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>d</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>d</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>60.00<sup>c</sup></b>	<b>17.07<sup>c</sup></b>	<b>2.11<sup>c</sup></b>	<b>5.75<sup>c</sup></b>	<b>690.33<sup>c</sup></b>
Östrojen	0.00	100.00 <sup>a</sup>	28.76 <sup>c</sup>	3.48 <sup>b</sup>	9.63 <sup>c</sup>	1418.33 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	100.00 <sup>a</sup>	32.97 <sup>b</sup>	3.03 <sup>c</sup>	11.13 <sup>ab</sup>	1575.00 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	100.00 <sup>a</sup>	34.89 <sup>a</sup>	2.87 <sup>c</sup>	11.27 <sup>a</sup>	1757.67 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	100.00 <sup>a</sup>	33.59 <sup>b</sup>	2.98 <sup>c</sup>	10.84 <sup>b</sup>	1618.33 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	100.00 <sup>a</sup>	22.81 <sup>d</sup>	4.39 <sup>a</sup>	7.80 <sup>d</sup>	866.67 <sup>d</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>100.00<sup>a</sup></b>	<b>30.60<sup>a</sup></b>	<b>3.35<sup>a</sup></b>	<b>10.13<sup>a</sup></b>	<b>1447.20<sup>a</sup></b>
Progesteron	0.00	100.00 <sup>a</sup>	28.76 <sup>c</sup>	3.48 <sup>b</sup>	9.63 <sup>c</sup>	1418.33 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	100.00 <sup>a</sup>	34.10 <sup>a</sup>	2.93 <sup>d</sup>	11.34 <sup>a</sup>	1640.00 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	100.00 <sup>a</sup>	31.95 <sup>b</sup>	3.13 <sup>c</sup>	10.63 <sup>b</sup>	1544.67 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	100.00 <sup>a</sup>	27.37 <sup>d</sup>	3.66 <sup>a</sup>	9.13 <sup>d</sup>	890.00 <sup>d</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>e</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>80.00<sup>b</sup></b>	<b>24.43<sup>b</sup></b>	<b>2.64<sup>b</sup></b>	<b>8.15<sup>b</sup></b>	<b>1098.60<sup>b</sup></b>
Testesteron	0.00	100.00 <sup>a</sup>	28.76 <sup>a</sup>	3.48 <sup>b</sup>	9.63 <sup>a</sup>	1418.33 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	100.00 <sup>a</sup>	28.15 <sup>ab</sup>	3.56 <sup>ab</sup>	9.79 <sup>a</sup>	1101.67 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	100.00 <sup>a</sup>	27.37 <sup>b</sup>	3.66 <sup>a</sup>	9.22 <sup>b</sup>	898.33 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>d</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 <sup>b</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>d</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>60.00<sup>c</sup></b>	<b>16.86<sup>c</sup></b>	<b>2.14<sup>c</sup></b>	<b>5.73<sup>c</sup></b>	<b>683.67<sup>c</sup></b>
Ortalama Doz	0.00	100.00 <sup>a</sup>	28.76 <sup>b</sup>	3.48 <sup>a</sup>	9.63 <sup>c</sup>	1418.33 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	100.00 <sup>a</sup>	30.91 <sup>a</sup>	3.26 <sup>b</sup>	10.50 <sup>a</sup>	1359.17 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	100.00 <sup>a</sup>	30.60 <sup>a</sup>	3.30 <sup>b</sup>	10.13 <sup>b</sup>	1278.50 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	50.00 <sup>b</sup>	15.24 <sup>c</sup>	1.66 <sup>c</sup>	4.99 <sup>d</sup>	627.08 <sup>d</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	25.00 <sup>c</sup>	5.70 <sup>d</sup>	1.10 <sup>d</sup>	1.95 <sup>e</sup>	216.67 <sup>e</sup>

### **b. Çimlenme hızı katsayısı (ÇHK)**

ÇHK üzerine MCH uygulaması ve konsantrasyonlarının etkileri ile bu iki faktör arasındaki interaksiyonun çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Ortalamalar esas alınarak MCH'nin etkisine göre değerlendirilme yapıldığında, en yüksek çimlenme hızı katsayısı 30.6 ile östrojen hormonunda tespit edilirken, en düşük çimlenme hızı katsayısı 16.86 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir. Diğer taraftan, testesteron ve 17  $\beta$ -östradiol hormonları arasındaki farklılıkların ise önemsiz olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Bütün uygulama konsantrasyonlarının ortalamalarına göre ise, çimlenme hızı katsayısı  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarının ortalamasında 30.91 olarak tespit edilmiş, bunu azalan sıra ile  $5 \times 10^{-4}$  mM (30.60), 0 mM (28.76),  $5 \times 10^{-3}$  mM (15.24) ve  $5 \times 10^{-2}$  mM (5.70) konsantrasyonları izlemiştir. Diğer taraftan,  $5 \times 10^{-5}$  mM ve  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalar arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur (Çizelge 4.2).

Çimlenme hızı katsayısına MCH yapılarının etkisi kullanılan konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon $\times$ konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1). En yüksek çimlenme hızı katsayısı östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamada 34.89 oranıyla bulunurken, en düşük çimlenme hızı katsayısı ise 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarda 0.00 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

### **c. Ortalama çimlenme zamanı (OÇZ)**

OÇZ üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyonun çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Ortalamalar esas alınarak farklı MCH'ye göre değerlendirildiğinde, en uzun ortalama

çimlenme zamanı 3.35 gün ile östrojen hormonunda elde edilmiş, bunu 2.64 gün ile progesteron, 2.14 gün ile testesteron ve 2.11 gün ile 17-  $\beta$ -östradiol uygulamaları izlemiştir (Çizelge 4.2).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek ortalama çimlenme zamanı 3.48 gün ile kontrol grupta tespit edilmiş, bunu  $5 \times 10^{-4}$  mM (3.30 gün)  $5 \times 10^{-5}$  mM (3.26 gün),  $5 \times 10^{-3}$  mM (1.66 gün) ve  $5 \times 10^{-2}$  mM (1.10'lük) konsantrasyonlar takip etmiştir (Çizelge 4.2).

Ortalama çimlenme zamanı üzerine memeli cinsiyet hormonlarının etkisi kullanılan konsantrasyonlarda farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon $\times$ konsantrasyon interaksyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1). En yüksek ortalama çimlenme zamanı östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamada 4.39 gün şeklinde tespit edilmiş ve 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında ise bu değer 0.00 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

#### **d. Çimlenme hızı indeksi**

Çimlenme hızı üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının etkileri ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon değeri çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1).

MCH yapılarına göre ortalamalar esas alınarak değerlendirilme yapıldığında, en yüksek çimlenme hızı, 10.13 ile östrojen hormonunda elde edilirken, en düşük çimlenme hızı katsayısı ise 5.73 oran ile testesteron hormonunda belirlenmiştir. Diğer taraftan, testesteron ve 17  $\beta$ -östradiol hormonları arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur (Çizelge 4.2).

Konsantrasyon ortalamalarına göre en yüksek çimlenme hızı 10.50 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM konsantrasyon grubunda tespit edilmiş ve son sırada  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulama konsantrasyonu yer almıştır (Çizelge 4.2).

Çimlenme hızı üzerine memeli cinsiyet hormonlarının etkisi kullanılan konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle bu parametre üzerinde hormon×konsantrasyon interaksyonunun etkisi önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1). En yüksek çimlenme hızı progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamasında 11.34 ile tespit edilmiş ve 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarda bu değer 0.00 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

#### e. Çimlenme gücü indeksi

Çimlenme gücü indeksi MCH uygulamaları ve konsantrasyonu ile bu iki faktör arasındaki interaksyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1).

Ortalamalar esas alınarak MCH'ye göre yapılan değerlendirmede, en yüksek çimlenme gücü indeksi, östrojen uygulamasından (14470.20) elde edilirken, bunu 1098.60 ile progesteron, 690 ile 17  $\beta$ -östradiol ve 683.67 ile testesteron uygulamaları izlemiştir. Bununla birlikte, 17  $\beta$ -östradiol ve testesteron uygulamaları arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Konsantrasyon ortalamalarına göre en yüksek çimlenme gücü indeksi 1418.33 ile kontrol grubunda tespit edilmiş ve 216.67 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyon en düşük çimlenme gücü indeksi ile son sırada yer almıştır (Çizelge 4.2).

Çimlenme gücü indeksi üzerine memeli cinsiyet hormonlarının etkisi kullanılan konsantrasyonlara göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon×konsantrasyon interaksyonunun etkisi önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1). En yüksek çimlenme gücü indeksi östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında 1757.67 ile tespit edilmiş ve 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında ise bu değer 0.00 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

## 2) Fide ile ilgili karakterler

Tohumların ortama yerleştirilmesinin ardından yaklaşık iki gün sonra kök ve sürgünler meydana gelmiştir.

### a. Kök uzunluğu

Kök uzunluğu üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının etkileri ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3).

Ortalamalar esas alınarak MCH'ye göre yapılan değerlendirmede, en fazla kök uzunluğu 9.43 cm ile östrojen uygulamasında elde edilmiş, bunu 7.26 cm ile progesteron, 4.25 cm ile 17  $\beta$ -östradiol ve 4.24 cm ile testesteron uygulamaları izlemiştir (Çizelge 4.4).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre, en uzun köklerin 9.65 cm ile kontrol grubunda olduğu tespit edilmiş, bunu 8.58 cm ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, 8.10 cm ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, 4.01 cm ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve 1.13 cm ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.4).

Kök uzunluğu üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.1). En yüksek kök uzunluğu 11.57 cm ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamada gözlenmiştir. En düşük kök uzunluğu 5.17 cm ile 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık uygulamalarda elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarda kök elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

**Çizelge 4.3.** Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çim ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Kareler ortalaması							
	SD	KU	SU	ÇU	KYA	KKA	SYA	SKA
Hormon	3	95.89**	19.78**	202.03**	0.002490**	0.0000048**	0.138**	8.984E-05**
Konsantrasyon	4	154.70**	37.18**	339.67**	0.002993**	9.792E-06**	0.269**	6.114E-05**
H×K	12	13.39**	4.60**	30.21**	0.000345**	1.403E-06**	0.029**	1.869E-05**
Hata	40							
Toplam	59							

\* p<0.05; \*\*: p<0.01 düzeyinde önemlidir.



**Çizelge 4.4.** Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çim ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları ait veriler

Hormon	Konsantrasyon (mM)	KU	SU	ÇU	KYA	KKA	SYA	SKA
17 β-östradiol	0.00	9.65 <sup>a</sup>	4.53 <sup>ab</sup>	14.18 <sup>a</sup>	0.0450 <sup>a</sup>	0.0017 <sup>ab</sup>	0.4363 <sup>a</sup>	0.0057 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	6.42 <sup>b</sup>	4.78 <sup>a</sup>	11.20 <sup>b</sup>	0.0277 <sup>b</sup>	0.0023 <sup>a</sup>	0.3290 <sup>b</sup>	0.0027 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	5.17 <sup>c</sup>	3.97 <sup>b</sup>	9.13 <sup>c</sup>	0.0230 <sup>c</sup>	0.0013 <sup>b</sup>	0.3120 <sup>b</sup>	0.0017 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>4.25<sup>c</sup></b>	<b>2.66<sup>c</sup></b>	<b>6.90<sup>c</sup></b>	<b>0.0191<sup>c</sup></b>	<b>0.0011<sup>c</sup></b>	<b>0.2155<sup>c</sup></b>	<b>0.0020<sup>c</sup></b>
Östrojen	0.00	9.65 <sup>c</sup>	4.53 <sup>c</sup>	14.18 <sup>c</sup>	0.0450 <sup>b</sup>	0.0017 <sup>b</sup>	0.4363 <sup>a</sup>	0.0057 <sup>bc</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	10.57 <sup>b</sup>	5.18 <sup>b</sup>	15.75 <sup>b</sup>	0.0480 <sup>ab</sup>	0.0023 <sup>ab</sup>	0.4180 <sup>a</sup>	0.0070 <sup>ab</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	11.57 <sup>a</sup>	6.01 <sup>a</sup>	17.58 <sup>a</sup>	0.0577 <sup>a</sup>	0.0037 <sup>a</sup>	0.4667 <sup>a</sup>	0.0113 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	10.83 <sup>b</sup>	5.35 <sup>b</sup>	16.18 <sup>b</sup>	0.0513 <sup>ab</sup>	0.0027 <sup>ab</sup>	0.4303 <sup>a</sup>	0.0090 <sup>ab</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	4.53 <sup>d</sup>	4.13 <sup>d</sup>	8.67 <sup>d</sup>	0.0237 <sup>c</sup>	0.0003 <sup>c</sup>	0.3213 <sup>b</sup>	0.0017 <sup>c</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>9.43<sup>a</sup></b>	<b>5.04<sup>a</sup></b>	<b>14.47<sup>a</sup></b>	<b>0.0451<sup>a</sup></b>	<b>0.0021<sup>a</sup></b>	<b>0.4145<sup>a</sup></b>	<b>0.0069<sup>a</sup></b>
Progesteron	0.00	9.65 <sup>c</sup>	4.53 <sup>c</sup>	14.18 <sup>c</sup>	0.0450 <sup>a</sup>	0.0017 <sup>b</sup>	0.4363 <sup>a</sup>	0.0057 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	11.02 <sup>a</sup>	5.38 <sup>a</sup>	16.40 <sup>a</sup>	0.0513 <sup>a</sup>	0.0030 <sup>a</sup>	0.4247 <sup>a</sup>	0.0093 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	10.42 <sup>b</sup>	5.03 <sup>b</sup>	15.45 <sup>b</sup>	0.0457 <sup>a</sup>	0.0020 <sup>b</sup>	0.4133 <sup>a</sup>	0.0067 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	5.22 <sup>d</sup>	3.68 <sup>d</sup>	8.90 <sup>d</sup>	0.0373 <sup>b</sup>	0.0013 <sup>b</sup>	0.3370 <sup>b</sup>	0.0013 <sup>d</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>e</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>7.26<sup>b</sup></b>	<b>3.73<sup>b</sup></b>	<b>10.99<sup>b</sup></b>	<b>0.0359<sup>b</sup></b>	<b>0.0016<sup>b</sup></b>	<b>0.3223<sup>b</sup></b>	<b>0.0046<sup>b</sup></b>
Testesteron	0.00	9.65 <sup>c</sup>	4.53 <sup>a</sup>	14.18 <sup>a</sup>	0.0450 <sup>a</sup>	0.0017 <sup>ab</sup>	0.4363 <sup>a</sup>	0.0057 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	6.32 <sup>a</sup>	4.70 <sup>a</sup>	11.02 <sup>b</sup>	0.0293 <sup>b</sup>	0.0020 <sup>a</sup>	0.3267 <sup>b</sup>	0.0017 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	5.23 <sup>b</sup>	3.75 <sup>b</sup>	8.98 <sup>c</sup>	0.0217 <sup>c</sup>	0.0007 <sup>bc</sup>	0.3163 <sup>b</sup>	0.0013 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 <sup>e</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.00 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>d</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>	0.0000 <sup>c</sup>
	<b>Ortalama</b>	<b>4.24<sup>c</sup></b>	<b>2.60<sup>c</sup></b>	<b>6.84<sup>c</sup></b>	<b>0.0192<sup>c</sup></b>	<b>0.0009<sup>c</sup></b>	<b>0.2159<sup>c</sup></b>	<b>0.0017<sup>c</sup></b>
Ortalama Konsantrasyon	0.00	9.65 <sup>a</sup>	4.53 <sup>b</sup>	14.18 <sup>a</sup>	0.0450 <sup>a</sup>	0.0017 <sup>b</sup>	0.4363 <sup>a</sup>	0.0057 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-5</sup>	8.58 <sup>b</sup>	5.01 <sup>a</sup>	13.59 <sup>b</sup>	0.0391 <sup>b</sup>	0.0024 <sup>a</sup>	0.3746 <sup>b</sup>	0.0052 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-4</sup>	8.10 <sup>c</sup>	4.69 <sup>b</sup>	12.79 <sup>c</sup>	0.0370 <sup>b</sup>	0.0019 <sup>b</sup>	0.3771 <sup>b</sup>	0.0053 <sup>a</sup>
	5×10 <sup>-3</sup>	4.01 <sup>d</sup>	2.26 <sup>c</sup>	6.27 <sup>d</sup>	0.0222 <sup>c</sup>	0.0010 <sup>c</sup>	0.1918 <sup>c</sup>	0.0026 <sup>b</sup>
	5×10 <sup>-2</sup>	1.13 <sup>e</sup>	1.03 <sup>d</sup>	2.17 <sup>e</sup>	0.0059 <sup>d</sup>	0.0001 <sup>d</sup>	0.0803 <sup>d</sup>	0.0004 <sup>c</sup>

### **b. Sürgün uzunluğu**

Sürgün uzunluğunu üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonunun etkileri ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3).

Memeli cinsiyet hormonlarının ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en uzun sürgünler östrojen uygulamalarından (5.04 cm) elde edilmiş, bunu azalan sıra ile 3.73 cm ile progesteron, 2.66 cm ile 17  $\beta$ -östradiol ve 2.60 cm ile testesteron uygulamaları izlemiş, ancak 17  $\beta$ -östradiol ve testesteron uygulamalar arasındaki farklılıkların önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, sürgün uzunluğu  $5 \times 10^{-5}$  mM grupta 5.01 cm iken, bunu azalan sıra ile 4.69 cm ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, 4.53 cm ile 0.00 mM'lık, 2.26 cm ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve 1.03 cm ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.4).

Sürgün uzunluğu üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3). En yüksek sürgün uzunluğu 6.01 cm ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük sürgün uzunluğu 3.68 cm ile 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık uygulamada elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında sürgün elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

### **c. Fide uzunluğu**

Sürgün uzunluğunu üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3).

Uygulama süresine göre ortalama çim uzunluğu dikkate alındığında, en fazla çim uzunluğunun 14.47 cm ile östrojen uygulamasından elde edildiği belirlenirken, bunu 14.18 cm ile 0.00 mM, 13.59 cm ile  $5 \times 10^{-5}$  mM ve 12.79 cm ile  $5 \times 10^{-4}$  mM, 6.27 cm ile  $5 \times 10^{-3}$  mM ve 2.17 cm ile  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarının takip ettiği saptanmıştır (Çizelge 4.4).

Çim uzunluğu üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon×konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). En yüksek çim uzunluğu 17.58 cm ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük çim uzunluğu ise 8.67 cm ile östogen +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarda elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında çim elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

#### **d. Kök yaş ağırlığı**

Kök yaş ağırlığı üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3).

Fide başına en yüksek kök yaş ağırlığı 0.0451 g ile östrojen uygulamasında elde edilmiş, bunu 0.0359 g ile progesteron, 0.0191 g ile 17  $\beta$ -östradiol ve 0.0192 g ile testesteron uygulamaları izlemiştir (Çizelge 4.4).

Konsantrasyonların ortalamaları dikkate alınarak incelendiğinde, en yüksek kök yaş ağırlığı 0.0450 g ile 0.00 mM'lık konsantrasyonda tespit edilmiş, bunu 0.0391 g ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, 0.0370 g ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, 0.0222 g ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve 0.0059 g ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.4).

Kök yaş ağırlığı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda

hormon×konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3). En yüksek kök yaş ağırlığı 0.0577 g ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük kök yaş ağırlığı ise 0.0217 g ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamasında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarda kök yaş ağırlığı elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

#### e. Kök kuru ağırlığı

Kök kuru ağırlığı üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3).

Fide başına en yüksek kök kuru ağırlığı 0.0021 g ile östrojen uygulamasında elde edilmiş, bunu 0.0016 g ile progesteron, 0.0011 g ile 17  $\beta$ -östradiol ve 0.0009 g ile testesteron uygulamaları izlemiştir (Çizelge 4.4).

Konsantrasyonların ortalamaları dikkate alınarak incelendiğinde, en yüksek kök kuru ağırlığı 0.0024 g ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık konsantrasyonda tespit edilmiş, bunu 0.0019 g ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, 0.0017 g ile 0.00 mM'lık, 0.0010 g ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve 0.0001 g ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.4).

Kök kuru ağırlığı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon×konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3). En yüksek kök kuru ağırlığı 0.0037 g ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük kök kuru ağırlığı ise 0.0007 g ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamasında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında kök kuru ağırlığı elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

#### **f. Sürgün yaş ağırlığı**

Sürgün yaş ağırlığı üzerine etil metansülfonatın uygulama süresi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ), konsantrasyonun etkisi önemsiz, süre  $\times$  konsantrasyon interaksyonu ise çok önemli ( $P < 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.15).

En yüksek sürgün yaş ağırlığı 0.4145 g ile östrojen uygulamasında tespit edilmiş, bunu 0.3223 g ile progesteron, 0.2159 g ile testesteron ve 0.2155 g ile 17  $\beta$ -östradiol uygulamaları izlemiştir (Çizelge 4.4).

Konsantrasyonların kendi içerisindeki ortalamaları esas alındığında, sürgün yaş ağırlığı bakımından ilk sırada 0.4363 g ile kontrol grubunun yer aldığı, bunu 0.3771 g ile  $5 \times 10^{-4}$  mM, 0.3746 g ile  $5 \times 10^{-5}$  mM, 0.1918 g ile  $5 \times 10^{-3}$  mM ve 0.0803 g ile  $5 \times 10^{-2}$  mM konsantrasyonların izlediği tespit edilmiş, ancak  $5 \times 10^{-4}$  mM ve  $5 \times 10^{-5}$  mM konsantrasyonları arasındaki farklılıkların istatistiksel anlamda önemsiz olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4).

Sürgün yaş ağırlığı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3). En yüksek sürgün yaş ağırlığı 0.4667 g ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük sürgün yaş ağırlığı ise 0.3120 g ile 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamalarında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarda kök yaş ağırlığı elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

#### **g. Sürgün kuru ağırlığı**

Sürgün kuru ağırlığı üzerine MCH uygulamaları ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3).

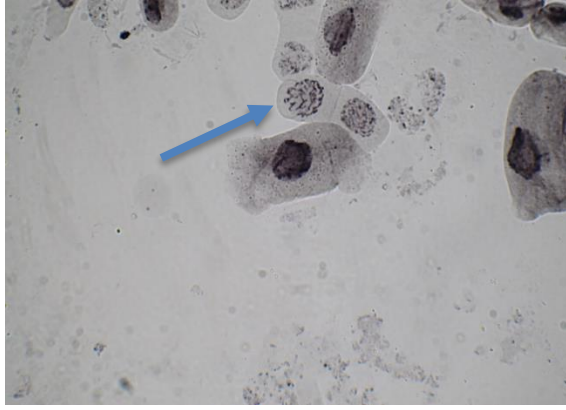
En yüksek sürgün kuru ağırlığı 0.0069 g ile östrojen uygulamasında elde edilmiş ve bunu 0.0046 g ile progesteron uygulaması, 0.0020 g ile 17  $\beta$ -östradiol uygulaması izlemiş ve bu karakter bakımından son sırada 0.0017 g ile testesteron uygulaması yer almıştır (Çizelge 4.4).

Konsantrasyonların kendi içerisindeki ortalamaları esas alındığında, sürgün kuru ağırlığı bakımından ilk sırada 0.0057 g ile kontrol grubunda yer aldığı, bunu 0.0053 g ile  $5 \times 10^{-4}$  mM, 0.0052 g ile  $5 \times 10^{-5}$  mM, 0.0026 g ile  $5 \times 10^{-3}$  mM ve 0.0004 g ile  $5 \times 10^{-2}$  mM konsantrasyonların tespit edilmiş, ancak 0 mM,  $5 \times 10^{-5}$  mM ve  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemsiz olmuştur (Çizelge 4.4).

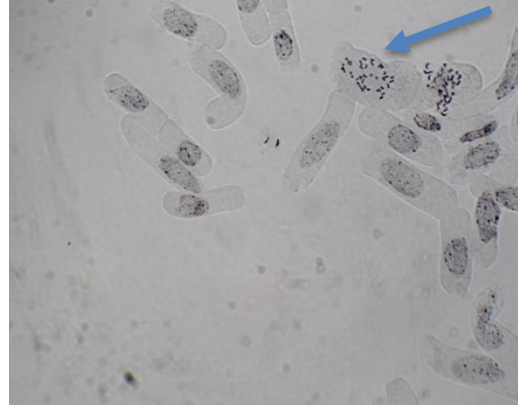
Sürgün yaş ağırlığı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3). En yüksek sürgün kuru ağırlığı 0.0113 g ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük sürgün kuru ağırlığı ise 0.0013 g ile progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamalarında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında ise sürgün kuru ağırlığı elde edilmemiştir (Çizelge 4.4).

#### **4.2. Memeli Cinsiyet Hormonlarının (MCH) Çeşitli Sitogenetik Parametreler Üzerine Etkileri**

Yapılan incelemeler sonucunda farklı MCH'lerin çeşitli konsantrasyonlarında çimlendirilen kolza tohumlarının kök ucu meristemlerinde normal mitoz evreleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



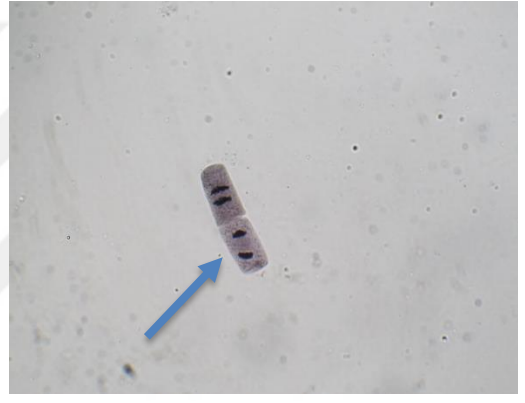
(a)



(b)



(c)



(d)

**Şekil 4.1.** MCH'nin farklı konsantrasyonlarında çimlendirilen kolza (*Brassica napus* L.) normal mitoz evreleri a) Profaz, b) Metafaz c) Anafaz d) Telofaz

### a. Profaz oranı

Profaz oranı üzerine memeli cinsiyet hormonlarının uygulaması ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5).

Ortalamalar esas alınarak MCH'ye göre değerlendirildiğinde, en yüksek profaz oranı %7.75 ile östrojen hormonunda, en düşük profaz oranı ise %3.98 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek profaz oranı %7.60 oranıyla  $5 \times 10^{-5}$  mM grubunda gözlenirken, bunu azalan sırada %7.56 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %6.81 ile 0.00 mM'lık, %3.82 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve %1.58 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlara sahip gruplar izlemiştir (Çizelge 4.6).

Profaz oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5). En yüksek profaz oranı %8.58 ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük profaz oranı %6.54 ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamasında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında meristematik kök örnekleri oluşmadığı için profaz oranı 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.5.** Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının sitogenetik ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler ortalaması					
		Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	Koromozom anormallikleri	Mitotik İndeks
Hormon	3	247.30**	18.20**	5.50**	0.60**	0.26**	75.44**
Konsantrasyon	4	429.10**	59.10**	15.70**	1.74**	0.16**	1129.13**
H×K	12	59.70**	10.00**	2.57**	0.20**	0.20**	125.54**
Hata	40						
Toplam	59						

\*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$  düzeyinde önemlidir



**Çizelge 4.6.** Kolza bitkisinde farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının çim ile ilgili bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları ait veriler

Hormon	Konsantrasyon (mM)	Profaz	Metafaz	Anafaz	Telofaz	Anafaz anormallikleri	Mitotik İndeks
17 β-östradiol	0.00	6.81 a	2.82 a	1.46a	5.33 a	0.09 b	11.73 a
	5×10 <sup>-5</sup>	6.75 a	2.72ab	1.44 a	3.40 b	0.267 a	11.52 ab
	5×10 <sup>-4</sup>	6.67 a	2.67 b	1.34a	3.53 b	0.280 a	11.33 b
	5×10 <sup>-3</sup>	0.00 b	0.00 c	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 b	0.00 c	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 c
	<b>Ortalama</b>	<b>4.04 c</b>	<b>1.64 c</b>	<b>0.85 c</b>	<b>0.24 c</b>	<b>0.109 a</b>	<b>6.91 c</b>
Östrojen	0.00	6.81 b	2.82 a	1.46 a	0.53 a	0.09 b	11.73 a
	5×10 <sup>-5</sup>	8.55 a	2.76 ab	1.44 a	0.39b	0.05 b	8.77 b
	5×10 <sup>-4</sup>	8.58 a	2.67 bc	1.42 ab	0.44 b	0.053 b	8.75 b
	5×10 <sup>-3</sup>	8.52 a	2.62 c	1.38 ab	0.41 b	0.06 b	8.63 b
	5×10 <sup>-2</sup>	6.32c	2.40 d	1.28 c	0.36 b	0.2.8 a	6.91 c
	<b>Ortalama</b>	<b>7.75 a</b>	<b>2.65 a</b>	<b>1.40 a</b>	<b>0.42 a</b>	<b>0.091 b</b>	<b>8.96 a</b>
Progesteron	0.00	6.81 b	2.82a	1.46 a	0.53 a	0.09 b	11.73 a
	5×10 <sup>-5</sup>	8.56 a	2.66 ab	1.40 a	0.42 b	0.073 b	8.69 b
	5×10 <sup>-4</sup>	8.46 a	2.57 ab	1.34 a	0.36 b	0.087 b	8.50 b
	5×10 <sup>-3</sup>	6.76 b	2.78 ab	1.38a	0.42 b	0.18 a	7.57 c
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 c	0.00 c	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 d
	<b>Ortalama</b>	<b>6.12 b</b>	<b>2.1.68 b</b>	<b>1.11 b</b>	<b>0.34 b</b>	<b>0.069 c</b>	<b>7.30 b</b>
Testesteron	0.00	6.81 a	2.82 a	1.46 a	0.53 a	0.09 c	11.73 a
	5×10 <sup>-5</sup>	6.56 b	2.66 b	1.36 ab	0.37 b	0.24 b	11.21 b
	5×10 <sup>-4</sup>	6.54 b	2.60 b	1.24 b	0.30 c	0.30 a	10.98 b
	5×10 <sup>-3</sup>	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	5×10 <sup>-2</sup>	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	<b>Ortalama</b>	<b>3.98 c</b>	<b>16.17 c</b>	<b>8.15 c</b>	<b>2.41 c</b>	<b>1.08 a</b>	<b>6.78 d</b>
Ortalama Konsantrasyon	0.00	6.81 b	2.82 a	1.46 a	0.53 a	0.09 c	11.73 a
	5×10 <sup>-5</sup>	7.60 a	2.70 b	1.41 a	0.38 b	0.15 b	10.05 b
	5×10 <sup>-4</sup>	7.56 a	2.63 c	1.34 b	0.36 b	0.18 a	9.89 c
	5×10 <sup>-3</sup>	3.82 c	1.35 d	0.69 c	0.21 c	0.19d	4.05 d
	5×10 <sup>-2</sup>	1.58 d	0.60 e	0.32 d	0.090 d	0.2 d	1.73 e

**a. Metafaz oranı**

Metafaz oranı üzerine memeli cinsiyet hormonlarının ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5).

Ortalamalar esas alınarak MCH etkisine göre yapılan değerlendirmede, en yüksek metafaz oranı %2.65 ile östrojen hormonunda, en düşük metafaz oranı ise %1.61 testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek metafaz oranı 0.00 mM grupta %2.82 iken, bunu azalan sırada %2.7 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %2.63 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %1.35 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve %0.6 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.6).

Metafaz oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5). En yüksek metafaz oranı %2.82 ile tüm MCH hormonları + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük metafaz oranı ise %2.6 ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamalarında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarda meristematik kök örnekleri oluşmadığı için metafaz oranı 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

**a. Anafaz oranı**

Anafaz oranı üzerine memeli cinsiyet hormonlarının ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5).

Ortalamalar esas alınarak MCH'ye göre yapılan değerlendirmede, en yüksek anafaz oranı %1.4 ile östrojen hormonunda gözlenirken, en düşük anafaz oranı ise %0.8 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (izelge 4.6).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek anafaz oranı 0.00 mM grubunda %1.46 bulunurken, bunu azalan sırada %14.12 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %13.40 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %0.69 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve %0.32 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (izelge 4.6).

Anafaz oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (izelge 4.5). En yüksek anafaz oranı %1.46 ile tüm MCH hormonları + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük anafaz oranı ise %1.24 ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamalarda elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarda meristematik kök örnekleri oluşmadığı için anafaz oranı 0.00 olarak belirlenmiştir (izelge 4.6).

#### **a. Telofaz oranı**

Telofaz oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (izelge 4.5).

Ortalamalar esas alınarak MCH'ye göre yapılan değerlendirmelerde, en yüksek telofaz oranı %0.42 ile östrojen hormonunda gözlenirken, en düşük telofaz oranı ise %0.24 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (izelge 4.6).

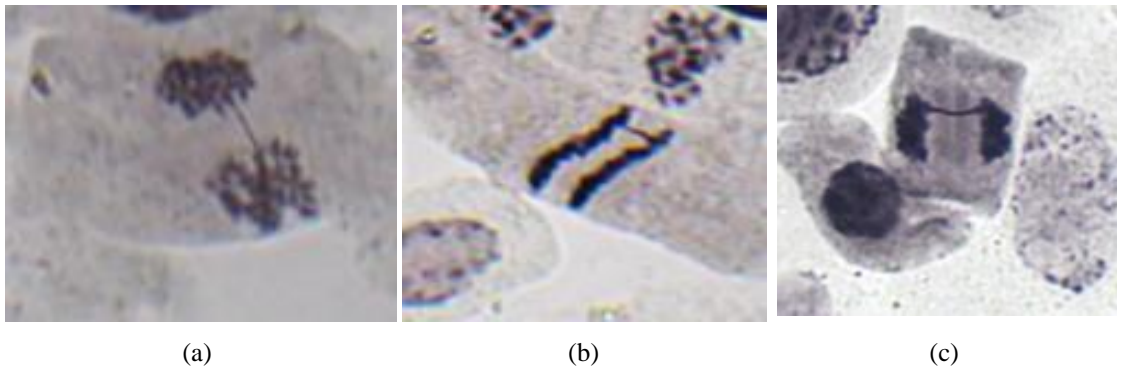
Konsantrasyonların ortalamalarına göre yapılan değerlendirmede, en yüksek telofaz oranı 0.00 mM grubunda %5.33 bulunurken, bunu azalan sırada %0.38 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %0.36 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %0.21 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve %0.09 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık

konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.6).

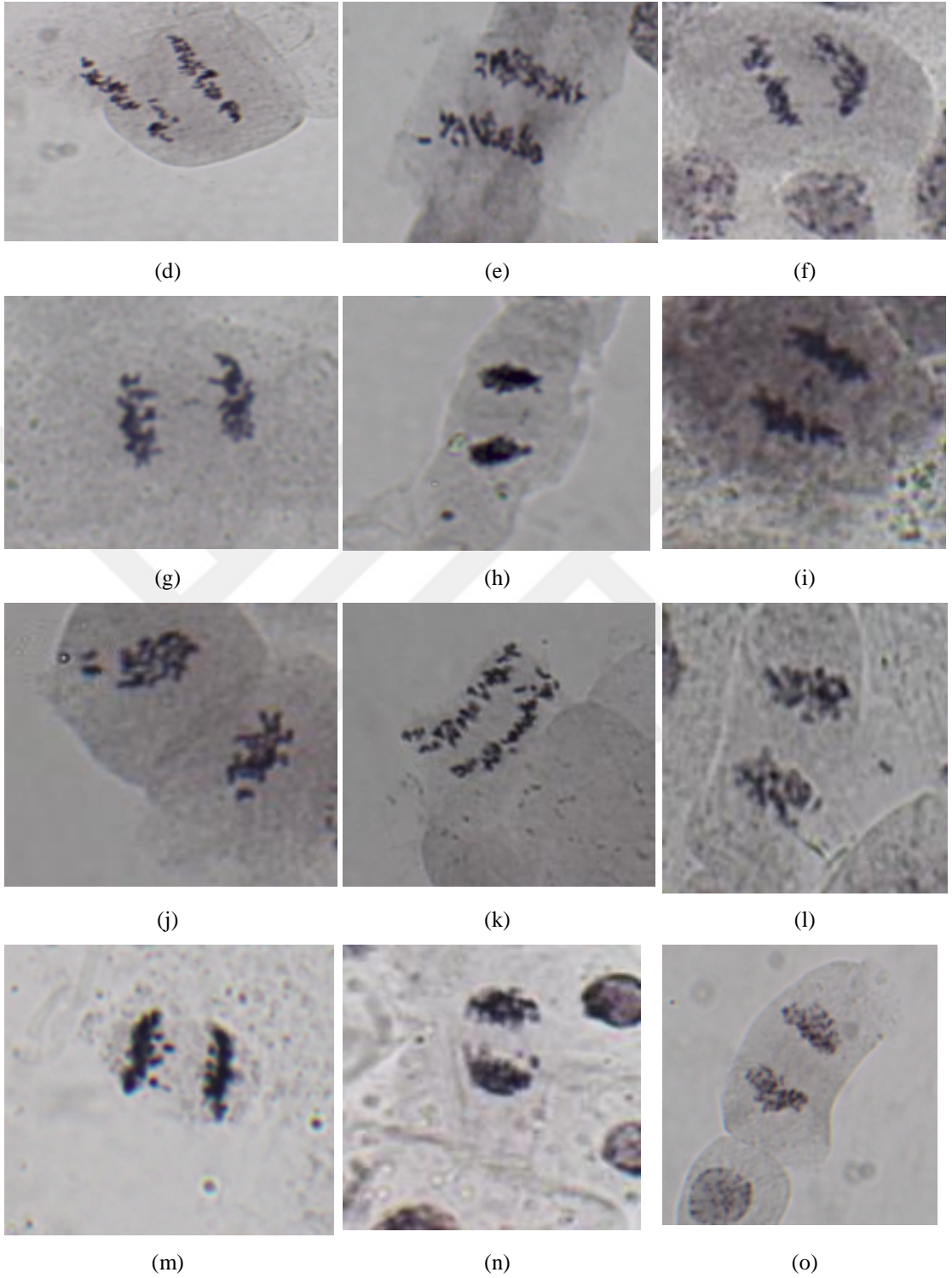
Telofaz oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5). En yüksek telofaz oranı %0.53 ile tüm MCH hormonları + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük telofaz oranı ise %0.3 ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık uygulamalarında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında meristematik kök örnekleri oluşmadığı için telofaz oranı 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

#### a. Anafaz anormalliklere sahip hücrelerin oranı

Gerek kontrol grupta gerekse MCH uygulamalarının yapıldığı gruplarda kök uçlarından hazırlanan preparatlarda gözlenen çeşitli kromozom anormallikleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Söz konusu anormalliklerin çoğu mikronükleus, granülizasyon, düzensiz profaz, kromozomların sarmallanamaması, yapışık kromozom, anafaz ve telofazda kromozom köprüleri, alignment anafaz, multipolar anafaz, anafazda geri kalmış kromozom, anafaz ve telofazda kutup kayma şeklindedir.



Şekil 4.2. (devam)



**Şekil 4.2.** Çeşitli konsantrasyonlarda MCH uygulamasından sonra çimlendirilen kromozom anormallikleri  
a,b,c) Kopru oluşumu; d,e,f) Geciken kromozomlar; g,h,i) Kromozom parçaları; j,k,l) Erken ayrılım m,n,o) Geciken ayrılım

Kromozom anormalikleri oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonları etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5).

Ortalamalar esas alınarak MCH'ye göre yapılan değerlendirmede, en yüksek kromozom anormalikleri oranı %0.19 ile 17  $\beta$ -östradiol hormonunda, en düşük kromozom anormalikleri oranı ise %0.069 progesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre yapılan değerlendirmede ise, en yüksek kromozom anormalikleri oranı  $5 \times 10^{-4}$  mM grubunda %1.80 olarak bulunurken, bunu azalan sırada %0.15 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %0.09 ile 0.00 mM'lık, %0.07 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık, %0.06 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.6).

Kromozom anormalikleri oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5). En yüksek kromozom anormalikleri oranı %0.30 ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında gözlenmiştir. En düşük kromozom anormalikleri oranı ise %0.053 ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM ve östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık uygulamalarında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında meristematik kök örnekleri oluşmadığı için kromozom anormalikleri oranı 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

#### **a. Mitotik indeks**

Mitotik indeks üzerine memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonları etkisi ile bu iki faktör arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5).

Ortalamalar esas alınarak MCH'ye göre yapılan değerlendirmede, en yüksek mitotik indeks %8.96 ile östrojen hormonunda, en düşük mitotik indeks oranı ise %6.78 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek mitotik indeks 0.00 mM grubunda %11.73 iken, bunu azalan sırada %10.05 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %9.89 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %4.05 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve %1.73 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.6).

Mitotik indeks üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulamalarda hormon  $\times$  konsantrasyon interaksyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5). En yüksek mitotik indeks %11.73 ile kontrol grupta gözlenmiştir. En düşük mitotik indeks oranı ise %6.91 ile östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarında elde edilmiştir. Diğer taraftan, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında meristematik kök örnekleri oluşmadığı için mitotik indeks 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

### 4.3. Doku Kültüründe Memeli Cinsiyet Hormonlarının (MCH) Etkisi

Bu araştırmada, hipokotil ve kotiledon yaprakları olmak üzere iki farklı eksplant kaynağı kullanılmıştır. Çalışma iki aşamada yürütülmüştür. Birinci aşamada 4 farklı memeli cinsiyet hormonunun (17 $\beta$ - Estradiol, Östrojen, Progesteron, Testosteron) ve bunların 5 farklı konsantrasyonunu (0.00,  $5 \times 10^{-5}$  mM,  $5 \times 10^{-4}$  mM,  $5 \times 10^{-3}$  ve  $5 \times 10^{-2}$  mM) içeren toplam 20 farklı kültür ortamında, karanlık ve ışık yetiştirme şartlarında, bazı *in vitro* parametreleri üzerine etkileri belirlenmiştir. İkinci aşamada sitokinin hormonunun (0.25 mg/l'lik TDZ hormonu) bitki rejenerasyonu üzerine olan etkisinin belirlenmesi amacıyla; 30 gün süren birinci aşamanın sonunda elde edilen bitkilerin rejenerasyonuna daha önceden kullanılmış olan farklı MCH ve konsantrasyonlarının ne derece etki ettiği araştırılmıştır.

## A) Birinci aşama

### a) Işıklı (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında MCH etkisi

#### 1) Morfogenetik değişim (MD) oranı (%):

Morfogenetik değişim oranı (%MD) üzerine memeli cinsiyet hormonunun uygulaması, eksplant tipi ve konsantrasyonları arasındaki interaksiyon çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7).

Ortalamalar esas alınarak 4 farklı memeli cinsiyet hormonuna göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek MD oranı %12.88 ile progesteron hormonunda, en düşük MD oranı ise %5.75 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Ortalamalar esas alınarak 2 farklı eksplant tipine göre değerlendirilme yapıldığında, en yüksek MD oranı %16.31 ile hipokotil eksplantında, en düşük MD oranı ise %1.63 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirme yapıldığında ise, en yüksek MD oranı  $5 \times 10^{-5}$  mM grupta %21.88 iken, bunu azalan sırada %16.88 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %5.00 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %1.09 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. Ayrıca 0.00 mM'lık konsantrasyonunda morfolojik olarak değişim gözlenmemiştir (Çizelge 4.8).

MD oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7). Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi en yüksek MD oranı %21.00 ile östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük MD oranı; 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, östrojen + kotiledon, testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 değeri olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4).



MD oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) nitelik sergilemiştir (Çizelge 4.7). En yüksek MD oranı %34.38 ile progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük MD oranı olan 0.00 verisinin elde edildiği uygulamalar ise; 17  $\beta$ -östradiol + 0.00 mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + 0.00 mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + 0.00 mM, testesteron + 0.00 mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4).

MD oranı üzerine farklı eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama eksplant  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4.7). En yüksek MD oranı %40.63 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük MD oranı ise hipokotil + 0.00 mM, kotiledon + 0.00 mM ve kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4).

MD oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulamasının etkisi ile alınan veriler farklılıklar arz etmektedir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) istatistiki nitelik sergilemektedir (Çizelge 4.7). En yüksek MD oranı %56.25 ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük MD oranları ise; 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil + 0.00 mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonları, progesteron + hipokotil + 0.00 mM, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon + 0.00 mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + hipokotil 0.00 mM, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonları, testesteron + hipokotil + 0.00 mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonları uygulamalarında %0.0 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4).

**Çizelge 4.7.** Farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının *in vitro* ortamda ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Kareler ortalaması					
	SD	MD%	KO%	KOK%	SU%	B%
Hormon (H)	3	438.48**	1138.75**	275.57**	15.15625	16.40*
Eksplant (E)	1	8628.90**	49350.62**	65407.65**	45.15**	316.40**
Konsantrasyon (K)	4	3098.28**	6202.34**	5152.34**	16.25	47.49**
H × E	3	183.91**	1118.54**	1211.40**	15.15625	19.32**
H × K	12	191.61**	370.78**	813.07**	7.604167	10.41*
E × K	4	2492.96**	5210.00**	3794.37**	16.25	39.84**
H × E × K	12	141.72**	338.85**	1427.81**	7.604167	14.63**
Hata	120	79.95	90.42	71.71**	6.927083	5.05
Toplam	159					

\*\* : p<0.01 düzeyinde önemlidir

**Çizelge 4.8.** Hipokotil ve kotiledonların eksplant olarak kullanıldığı farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının uygulandığı *in vitro* ortamda incelenen bazı karakterlere ait veriler.

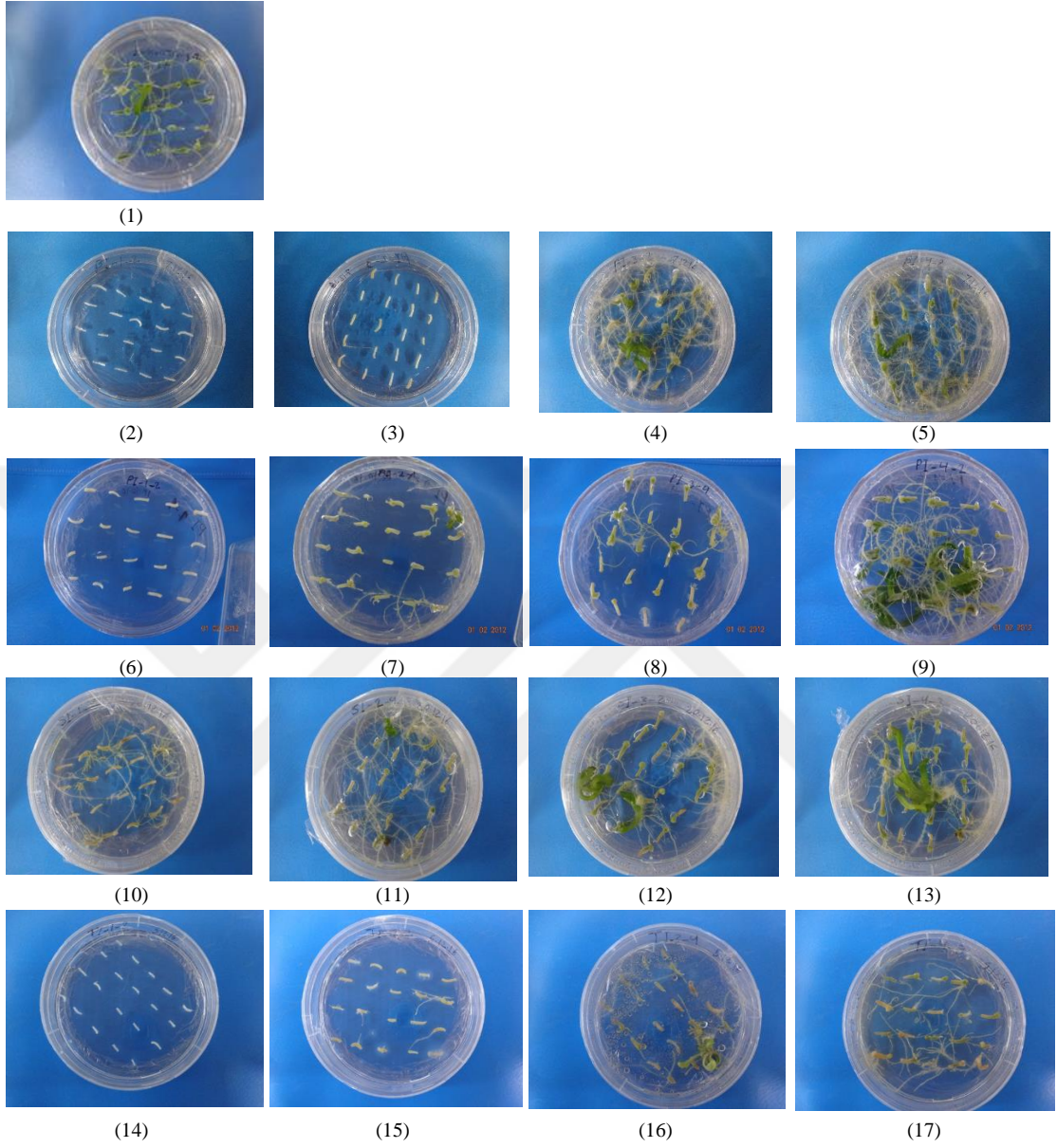
Hormon	Eksplant	Konsantrasyon (mM)	Morfolojik değişme	kalus	kök	surgun	Bitki
17 β-östradiol	Hipokotil	0.00	0.00 b	53.75 a	57.50 b	0.00 a	5.00 ab
		5×10 <sup>-5</sup>	36.25 a	58.75 a	87.50 a	0.00 a	6.25 a
		5×10 <sup>-4</sup>	31.25 a	52.50 a	83.75 a	0.00 a	7.50 a
		5×10 <sup>-3</sup>	0.00 b	0.00 b	12.50 c	0.00 a	0.00 b
		5×10 <sup>-2</sup>	0.00 b	0.00 b	0.00 d	0.00 a	0.00 b
		<b>Ortalama</b>	13.50 BC	33.00 B	48.25 A	0.00 A	3.75 A
	Kotiledon	0.00	0.00 a	8.75 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-5</sup>	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-4</sup>	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-3</sup>	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-2</sup>	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 B	1.75 AB	0.00 B	0.00 A	0.00 A
	Ortalama	0.00	0.00 b	31.25 a	28.75 b	0.00 a	2.50 ab
		5×10 <sup>-5</sup>	18.13 a	29.38 a	43.75 a	0.00 a	3.13 a
		5×10 <sup>-4</sup>	15.63 a	26.25 a	41.88 a	0.00 a	3.75 a
5×10 <sup>-3</sup>		0.00 b	0.00 b	6.25 c	0.00 a	0.00 b	
5×10 <sup>-2</sup>		0.00 b	0.00 b	0.00 d	0.00 a	0.00 b	
<b>Ortalama</b>		6.75 AB	17.38 B	24.13 A	0.00 A	1.88 a	
Progesteron	Hipokotil	0.00	0.00 b	43.75 b	73.75 a	0.00 a	5.00 a
		5×10 <sup>-5</sup>	56.25 a	80.00 a	36.25 b	8.75 a	3.75 a
		5×10 <sup>-4</sup>	40.00 a	46.25 b	30.00 b	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-3</sup>	0.00 b	45.00 b	48.75 ab	1.25 a	1.25 a
		5×10 <sup>-2</sup>	0.00 b	0.00 c	0.00 c	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	19.25 AB	43.00 B	37.75 B	2.00 A	2.00 A
	Kotiledon	0.00	0.00 a	3.75 a	0.00 c	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-5</sup>	12.50 a	0.00 a	26.25 b	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-4</sup>	7.50 a	0.00 a	32.50 a	0.00 a	1.25 a
		5×10 <sup>-3</sup>	12.50 a	0.00 a	0.00 c	0.00 a	0.00 a
5×10 <sup>-2</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 c	0.00 a	0.00 a		
<b>Ortalama</b>	6.50 A	0.75 B	11.75 A	0.00 A	0.25 A		

Çizelge 4.8. (devam)

		0.00	0.00 b	23.75 b	36.88 a	0.00 a	2.50 a
		$5 \times 10^{-5}$	34.38 a	40.00 a	31.25 a	4.38 a	1.88 a
	Ortalama	$5 \times 10^{-4}$	23.75 a	23.13 b	31.25 a	0.00 a	0.63 a
		$5 \times 10^{-3}$	6.25 b	22.50 b	24.38 a	0.63 a	0.63 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 b	0.00 c	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	12.88 A	21.88 A	24.75 A	1.00 A	1.13 AB
		0.00	0.00 b	55.00 b	57.50 a	0.00 a	3.75 b
		$5 \times 10^{-5}$	32.50 a	75.00 a	32.50 b	5.00 a	2.50 b
	Hipokotil	$5 \times 10^{-4}$	36.25 a	77.50 a	28.75 b	2.50 a	11.25 a
		$5 \times 10^{-3}$	27.50 a	31.25 b	37.50 b	3.75 a	3.75 b
		$5 \times 10^{-2}$	8.75 b	0.00 c	35.00 b	0.00 a	0.00 b
		<b>Ortalama</b>	21.00 A	47.75 A	38.25 B	2.25 A	4.25 A
		0.00	0.00 a	13.75 a	2.50 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
	Kotiledon	$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 B	2.75 A	0.50 B	0.00 A	0.00 A
		0.00	0.00 a	34.38 a	30.00 a	0.00 a	1.88 b
		$5 \times 10^{-5}$	16.25 a	37.50 a	16.25 b	2.50 a	1.25 b
	Ortalama	$5 \times 10^{-4}$	18.13 a	38.75 a	14.38 b	1.25 a	5.63 a
		$5 \times 10^{-3}$	13.75 a	15.63 b	18.75 b	1.88 a	1.88 b
		$5 \times 10^{-2}$	4.38 a	0.00 c	17.50 b	0.00 a	0.00 b
		<b>Ortalama</b>	10.50 AB	25.25 A	19.38 B	1.13 A	2.13 A
		0.00	0.00 c	50.00 a	80.00 a	0.00 a	2.50 b
		$5 \times 10^{-5}$	37.50 a	40.00 ab	80.00 a	0.00 a	0.00 c
	Hipokotil	$5 \times 10^{-4}$	20.00 b	30.00 c	57.50 b	0.00 a	5.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 c	0.00 d	31.25 c	0.00 a	0.00 c
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.00 d	0.00 d	0.00 a	0.00 c
		<b>Ortalama</b>	11.50 C	24.00 C	49.75 A	0.00 A	1.50 A

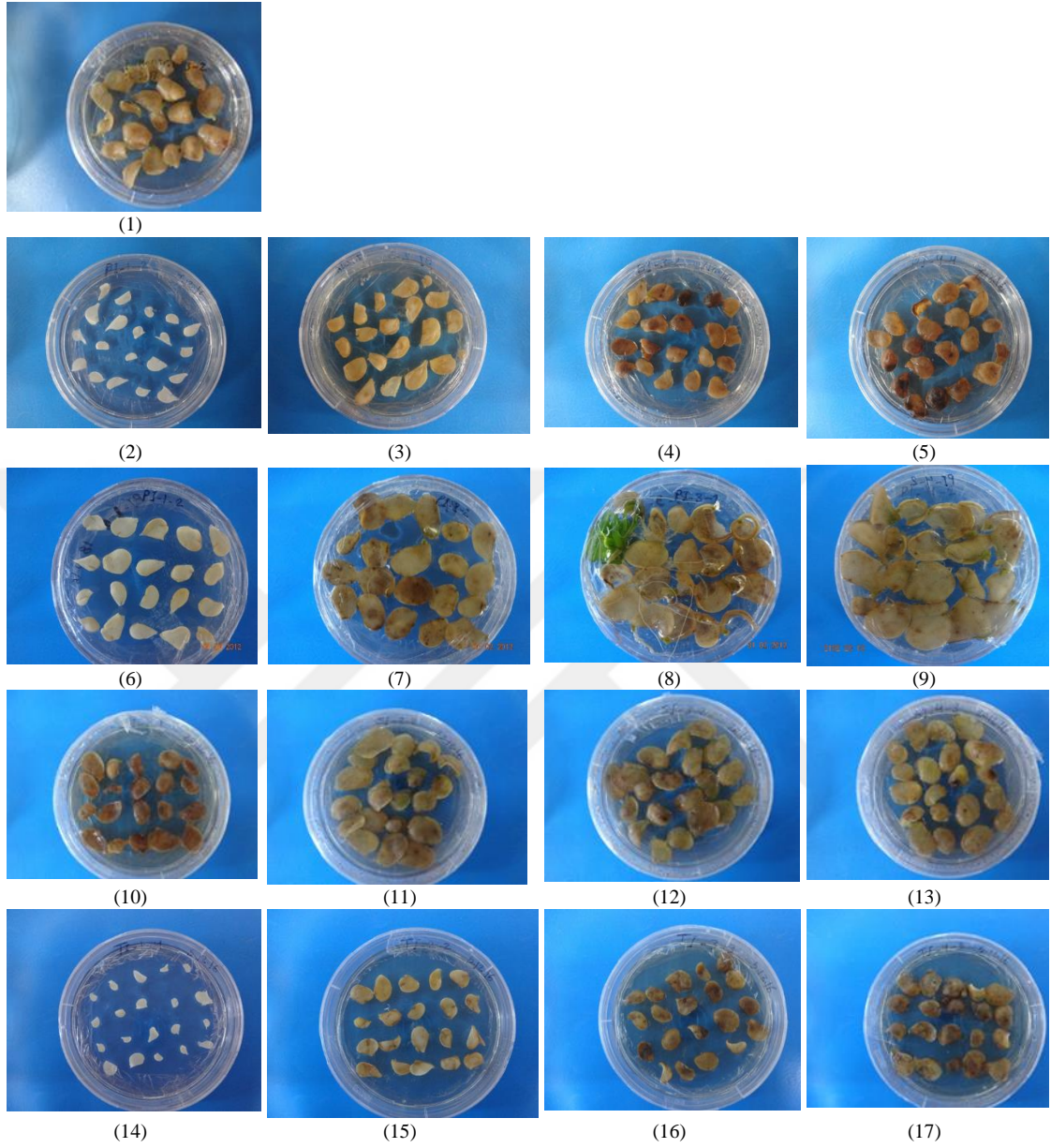
Çizelge 4.8. (devam)

Testesteron	Kotiledon	0.00	0.00 a	10.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 B	2.00 AB	0.00 B	0.00 A	0.00 C
	Ortalama	0.00	0.00 c	30.00 a	40.00 a	0.00 a	1.25 b
		$5 \times 10^{-5}$	18.75 a	20.00 b	40.00 a	0.00 a	0.00 c
		$5 \times 10^{-4}$	10.00 b	15.00 b	28.75 b	0.00 a	2.50 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 c	0.00 c	15.63 c	0.00 a	0.00 c
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.00 c	0.00 d	0.00 a	0.00 c
<b>Ortalama</b>		5.75 A	13.00 C	24.88 A	0.00 A	0.75 B	
Ortalama	Hipokotil	0.00	0.00 c	50.63 b	67.19 a	0.00 a	4.06 ab
		$5 \times 10^{-5}$	40.63 a	63.44 a	59.06 a	3.44 a	3.13 bc
		$5 \times 10^{-4}$	31.88 b	51.56 b	50.00 b	0.63 b	5.94 a
		$5 \times 10^{-3}$	6.88 c	19.06 c	32.50 c	1.25 ab	1.25 cd
		$5 \times 10^{-2}$	2.19 c	0.00 d	8.75 d	0.00 b	0.00 d
		<b>Ortalama</b>	16.31 A	36.94 A	43.50 A	1.06 A	2.88 A
	Kotiledon	0.00	0.00 a	9.06 a	0.63 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	3.13 a	0.00 b	6.56 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	1.88 a	0.00 b	8.13 a	0.00 a	0.31 a
		$5 \times 10^{-3}$	3.13 a	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 b	0.00 b	0.00 a	0.00 a
<b>Ortalama</b>		1.63 B	1.81 B	3.06 B	0.00 B	0.06 B	
Ortalama	0.00	0.00 d	29.84 ab	33.91 a	0.00 b	2.03 ab	
	$5 \times 10^{-5}$	21.88 a	31.72 a	32.81 ab	1.72 a	1.56 bc	
	$5 \times 10^{-4}$	16.88 b	25.78 b	29.06 b	0.31 b	3.13 a	
	$5 \times 10^{-3}$	5.00 c	9.53 c	16.25 c	0.63 ab	0.63 cd	
	$5 \times 10^{-2}$	1.09 cd	0.00 d	4.38 d	0.00 b	0.00 d	



**Şekil 4.3.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyüme şartlarında;

1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.



**Şekil 4.4.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyüme şartlarında;

1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.

## 2) Kallus oluşum (KO) oranı (%):

Kallus oluşumu (KO) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonunun uygulaması, eksplant tipi ve konsantrasyonları çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) nitelik sergilemiştir (Çizelge 4.7).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonları baz alınarak değerlendirme yapıldığında, en yüksek KO oranı %25.25 ile östrojen hormonunda, en düşük KO oranı ise %13.00 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre değerlendirme yapıldığında ise, en yüksek KO oranı %36.94 ile hipokotil eksplantında, en düşük KO oranı ise %1.81 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre yapılan değerlendirme sonucunda, en yüksek KO oranı  $5 \times 10^{-5}$  mM konsantrasyonluk grupta %31.72 iken, bunu azalan sırada %29.84 ile 0.00 mM'lık, %25.78 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %9.53 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık konsantrasyon grupları izlemiştir. Ayrıca  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonunda kallus oluşumu değişim göstermemiştir (Çizelge 4.8).

KO oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi ilişkisinin etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) istatistiksel önem arz etmektedir (Çizelge 4.7). Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi en yüksek KO oranı %47.75 ile östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük KO oranı, progesteron + kotiledon uygulamasında %0.75 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

KO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulanan hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek KO oranı %40.00 ile progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen



+  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

KO oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulanan eksplant  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek KO oranı %63.44 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı; hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM, kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM, kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

KO oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek KO oranı %80.00 ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranları ise; 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + hipokotil  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4).

### 3) Kök oluşturan eksplant (KOE) yüzdesi (%):

Kök oluşturan eksplant (KOE) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonunun uygulaması, eksplant tipi ve konsantrasyonları istatistiksel olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek KOE oranı %24.88 ile testesteron hormonunda, en düşük KOE oranı ise %19.38 ile östrojen hormonunda belirlenmiştir. Ayrıca, 17  $\beta$ -östradiol (%24.13), progesteron (%24.75), testesteron (%24.88) hormonları arasında istatistiksel olarak bir fark oluşmamıştır ve aynı grupta yer almışlardır. (Çizelge 4.8).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre yapılan değerlendirmede, en yüksek KOE oranı %43.50 ile hipokotil eksplantında, en düşük KOE oranı ise %3.06 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre yapılan değerlendirilme sonucu, en yüksek KOE oranı kontrol (0.00 mM) grupta %33.91 iken, bunu azalan sırada %32.81 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %29.06 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %16.25 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %4.38  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. (Çizelge 4.8).

KOE oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi en yüksek KOE oranı %49.75 ile testesteron + hipokotil uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük KOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon ve testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

KOE oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek KOE oranı %43.75 ile 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

KOE oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama eksplant  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok

önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek KOE oranı %67.19 ile hipokotil + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KOE oranı, kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

KOE oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması sonucunda alınan veriler neticesinde farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant interaksyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek KOE oranı %87.50 ile 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + kotiledon + 0.00 mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-3}$  mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında %0.0 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

#### 4) Sürgün oluşturan eksplant (SOE) yüzdesi (%):

Sürgün oluşturan eksplant (SOE) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonları önemsiz, ancak eksplant tipi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek SOE oranı %1.13 ile östrojen hormonunda, en düşük SOE oranı ise %0.00 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir. Ancak MCH hormonları arasında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve tüm hormonlar aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.8).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre yapılan değerlendirmede, en yüksek SOE oranı %1.06 ile hipokotil eksplantında, en düşük SOE oranı ise %0.00 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (izelge 4.8).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre yapılan değerlendirme sonucunda, en yüksek SOE oranı  $5 \times 10^{-2}$  mM konsantrasyon grubunda %1.72 iken, bunu azalan sırada %0.31 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %0.63 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %0.00 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık ve 0.00 mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. Ancak konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve tüm konsantrasyonlar aynı grupta yer almıştır (izelge 4.8).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi önemsiz olmuştur (izelge 4.7). Çizelge 4.8'de göründüğü gibi en yüksek SOE oranı %2.25 ile östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiştir. En düşük SOE oranı olarak, progesteron + hipokotil (%2.00) hariç diğer kombinasyonlar %0.00 şeklinde tespit edilmiştir. Ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve aynı grupta yer almışlardır (izelge 4.8, şekil 4.3 ve 4.4).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi önemsiz olmuştur (izelge 4.7). En yüksek SOE oranı %4.38 ile progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + tüm konsantrasyonlar, progesteron + 0.00 mM'lık, progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + 0.00 mM'lık, östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testosteron + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir. Ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve aynı grupta yer almışlardır (izelge 4.8, şekil 4.3 ve 4.4).

SOE oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyon interaksiyonu etkisi önemsiz olmuştur (izelge 4.7). En yüksek SOE oranı %3.44 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM

uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, hipokotil + 0.00 mM, hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, kotiledon + tüm konsantrasyonlarında %0.00 olarak belirlenmiştir. Ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

SOE oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant interaksiyonunun etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek SOE oranı %8.75 ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, testesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak tespit edilmiştir. Ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

##### **5) Bitkicik Sayısı (BS):**

Bitkicik sayısı (BS) üzerine memeli cinsiyet hormonlarının etkisi önemli ( $P \leq 0.01$ ), eksplant tipi ve konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek BS 2.13 adet ile östrojen hormonunda, en düşük BS ise %0.75 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre yapılan değerlendirmede, en yüksek BS 2.88 adet ile hipokotil eksplantında, en düşük BS ise %0.06 adet ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek BS  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyon grubunda 3.13 adet iken, bunu azalan sırada 2.03 ile 0.00 mM'lık,

1.56 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, 0.63 adet ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve 0.00 adet ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.8).

BS üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi en yüksek BS; 4.25 adet ile östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, östrojen + kotiledon ve testosteron + kotiledon uygulamalarında 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

BS üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek BS; 3.75 adet ile 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testosteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testosteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarda 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

BS üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek BS, 4.06 adet ile hipokotil + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, kotiledon + tüm konsantrasyonları ( $5 \times 10^{-4}$  mM haric) uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

BS, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi istatistiki olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). En yüksek BS, 11.25 adet ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar ( $5 \times 10^{-4}$  mM haric), östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar,

testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında 0.00 adet olarak elde edilmemiştir (Çizelge 4.8, Şekil 4.3 ve 4.4).

## **b) Karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında MCH etkisi**

### **1) Morfogenetik değişim (MD) oranı (%):**

Morfogenetik değişim oranı (%MD) üzerine memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının etkisi istatistiki olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ), eksplant tipi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.9).

Ortalamalar esas alınarak 4 farklı memeli cinsiyet hormonuna göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek MD oranı %6.88 ile progesteron hormonunda, en düşük MD oranı ise %0.00 ile 17  $\beta$ -östradiol ve testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Ortalamalar esas alınarak 2 farklı eksplant tipine göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek MD oranı %3.50 ile kotiledon eksplantında, en düşük MD oranı ise %0.44 ile hipokotil eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre yapılan değerlendirmede, en yüksek MD oranı  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyon grubunda %4.53 olarak bulunurken, bunu azalan sırada %2.81 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %2.500 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. Ayrıca 0.00 ve  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlarda morfolojik olarak değişim görülmemiştir (Çizelge 4.10).

MD oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi interaksiyon etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). Çizelge 4.10'de görüldüğü gibi en yüksek MD oranı %12.00 ile progesteron + kotiledon uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük MD oranı

17  $\beta$ -östradiol hipokotil, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, östrojen + hipokotil, testesteron + hipokotil ve testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

MD oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulanan hormon  $\times$  konsantrasyon interaksyonunun etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek MD oranı %15.00 ile progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük MD oranı 17  $\beta$ -östradiol + tüm konsantrasyonlarda, , progesteron + 0.00 mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + 0.00 mM, östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM testesteron + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 5 ve 6).

MD oranı üzerine farklı eksplant uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyon interaksyonunun etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek MD oranı %8.75 ile kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük MD oranı hipokotil + 0.00 mM, hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM ve kotiledon + 0.00 mM ve kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

MD oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık tespit edilememiştir. En yüksek MD oranı %28.75 ile progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük MD oranı 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonları, progesteron + hipokotil + 0.00 mM, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon + 0.00 mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, östrojen + kotiledon + 0.00 mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar ve testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonları uygulamalarında %0.0 olarak elde edilmemiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).



**Çizelge 4.9.** Farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının *in vitro* ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Kareler ortalaması				
	SD	MD	%KO	%KOE	%SOE
Hormon (H)	3	436.82**	24.32**	670.57**	11.87
Eksplant (E)	1	375.15**	620.15**	19031.40**	15.62
Konsantrasyon (K)	4	122.50*	620.15**	3843.51**	7.42
H × E	3	238.49*	24.32**	4251.82**	11.87
H × K	12	82.39*	24.32**	384.24**	7.31
E × D	4	96.250	620.15**	1434.92**	7.42
H × E × K	12	58.021	24.32**	885.02**	7.31
Hata	120	42.031	3.69	143.69	5.52
Toplam	159				

\*\* : p<0.01 düzeyinde önemlidir

**Çizelge 4.10.** Farklı memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonlarının *in vitro* ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait veriler

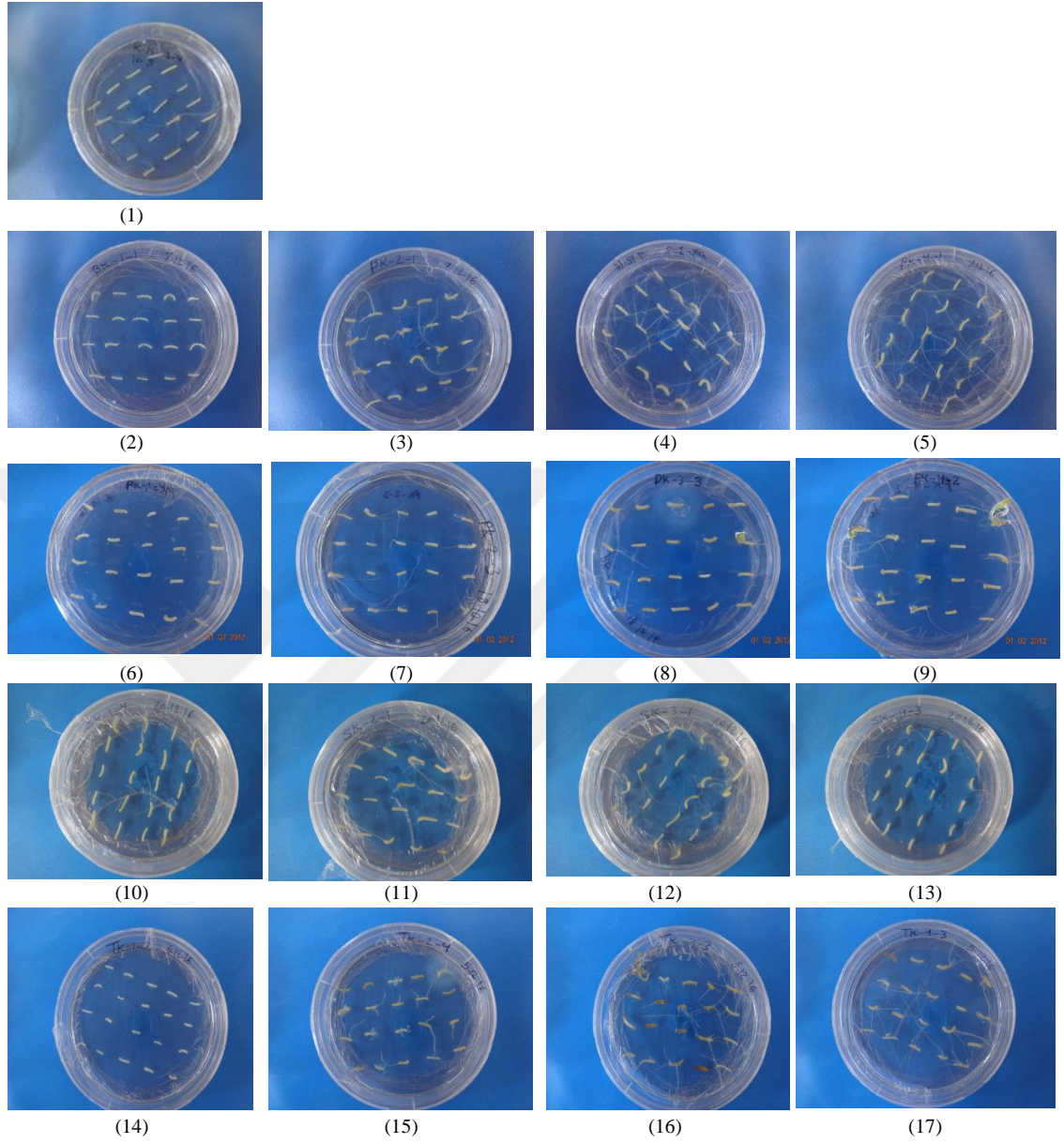
Hormon	Eksplant	Konsantrasyon (mM)	MD	%KO	%KOE	%SOE
17 $\beta$ -östradiol	Hipokotil	0.00	0.00 a	0.00 a	37.50 c	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 a	78.75 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 a	53.75 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 a	25.00 c	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 a	0.00 d	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 B	0.00 B	39.00 A	0.00 A
	Kotiledon	0.00	0.00 a	15.00 a	11.25 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 B	3.00 B	2.25 B	0.00 A
	Ortalama	0.00	0.00 a	7.50 a	24.38 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 b	39.38 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 b	26.88 b	0.00 a
$5 \times 10^{-3}$		0.00 a	0.00 b	12.50 c	0.00 a	
$5 \times 10^{-2}$		0.00 a	0.00 b	0.00 d	0.00 a	
<b>Ortalama</b>		0.00 B	1.50 B	20.63 A	0.00 A	
Progesteron	Hipokotil	0.00	0.00 a	0.00 a	21.25 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	2.50 a	0.00 a	21.25 ab	8.75 a
		$5 \times 10^{-4}$	1.25 a	0.00 a	30.00 a	2.50 a
		$5 \times 10^{-3}$	5.00 a	0.00 a	26.25 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 a	2.50 b	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	1.75 A	0.00 B	20.25 B	2.25 A

Çizelge 4.10. (devam)

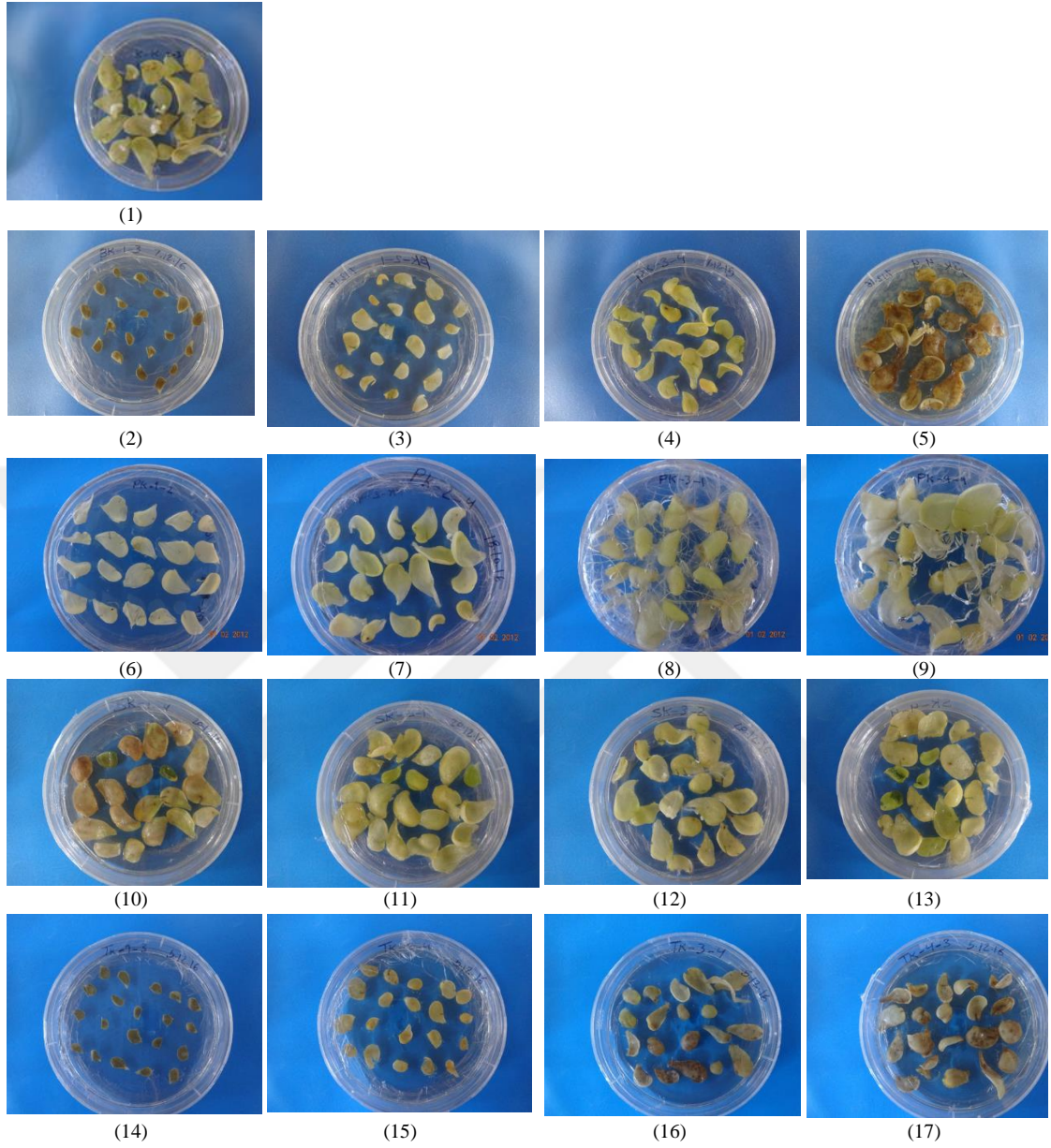
Progesteron	Kotiledon	0.00	0.00 a	15.00 a	13.75 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	15.00 a	0.00 b	17.50 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	28.75 a	0.00 b	28.75 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	16.25 a	0.00 b	10.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	12.00 A	3.00 B	14.00 A	0.00 A
	Ortalama	0.00	0.00 b	7.50 a	17.50 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	8.75 ab	0.00 b	19.38 ab	4.38 a
		$5 \times 10^{-4}$	15.00 a	0.00 b	29.38 a	1.25 a
		$5 \times 10^{-3}$	10.63 ab	0.00 b	18.13 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 b	0.00 b	1.25 b	0.00 a
<b>Ortalama</b>		6.88 A	1.50 B	17.13 AB	1.13 A	
Östrojen	Hipokotil	0.00	0.00 a	0.00 a	25.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 a	7.50 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 a	16.25 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 a	11.25 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 a	6.25 b	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 B	0.00 B	13.25 B	0.00 A
	Kotiledon	0.00	0.00 b	31.25 a	12.50 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	2.50 ab	0.00 b	16.25 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	6.25 a	0.00 b	20.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	1.25 ab	0.00 b	7.50 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 b	0.00 b	0.00 b	0.00 a
<b>Ortalama</b>		2.00 B	6.25 A	11.25 A	0.00 A	
Ortalama	0.00	0.00 b	15.63 a	18.75 a	0.00 a	
	$5 \times 10^{-5}$	1.25 ab	0.00 b	11.88 ab	0.00 a	
	$5 \times 10^{-4}$	3.13 a	0.00 b	18.13 a	0.00 a	
	$5 \times 10^{-3}$	0.63 b	0.00 b	9.38 ab	0.00 a	
	$5 \times 10^{-2}$	0.00 b	0.00 b	3.13 b	0.00 a	
	<b>Ortalama</b>	1.00 B	3.13 A	12.25 B	0.00 A	

Çizelge 4.10. (devam)

Testesteron	Hipokotil	0.00	0.00 a	0.00 a	30.00 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 a	72.50 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 a	76.25 a	1.25 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 a	32.50 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 a	0.00 c	0.00 a
	<b>Ortalama</b>	<b>0.00 B</b>	<b>0.00 B</b>	<b>42.25 A</b>	<b>0.25 A</b>	
	Kotiledon	0.00	0.00 a	17.50 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 b	0.00 a	0.00 a
	<b>Ortalama</b>	<b>0.00 B</b>	<b>3.50 B</b>	<b>0.00 B</b>	<b>0.00 A</b>	
	Ortalama	0.00	0.00 a	8.75 a	15.00 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 b	36.25 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 b	38.13 a	0.63 a
$5 \times 10^{-3}$		0.00 a	0.00 b	16.25 b	0.00 a	
$5 \times 10^{-2}$		0.00 a	0.00 b	0.00 c	0.00 a	
<b>Ortalama</b>	<b>0.00 B</b>	<b>1.75 B</b>	<b>21.13 A</b>	<b>0.13 A</b>		
Ortalama	Hipokotil	0.00	0.00 a	0.00 a	28.44 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.63 a	0.00 a	45.00 a	2.19 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.31 a	0.00 a	44.06 a	0.94 a
		$5 \times 10^{-3}$	1.25 a	0.00 a	23.75 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 a	0.00	0.00
	<b>Ortalama</b>	<b>0.44 b</b>	<b>0.00 b</b>	<b>28.69 a</b>	<b>0.63 a</b>	
	Kotiledon	0.00	0.00 a	19.69 a	9.38 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	4.38 a	0.00 b	8.44 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	8.75 a	0.00 b	12.19 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	4.38 a	0.00 b	4.38 ab	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 b	0.00 b	0.00 a
	<b>Ortalama</b>	<b>3.50 a</b>	<b>3.94 a</b>	<b>6.88 b</b>	<b>0.00 a</b>	
	Ortalama	0.00	0.00 a	9.84 a	18.91 b	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	2.50 ab	0.00 b	26.72 a	1.09 a
		$5 \times 10^{-4}$	4.53 a	0.00 b	28.13 a	0.47 a
$5 \times 10^{-3}$		2.81 ab	0.00 b	14.06 b	0.00 a	
$5 \times 10^{-2}$		0.00 b	0.00 b	1.09 c	0.00 a	



**Şekil 4.5.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında; 1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.



**Şekil 4.6.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 30 günlerdeki görünümü karanlık (24 saat karanlık) büyüme şartlarında; 1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.

## 2) Kallus oluşum (KO) oranı (%):

Kallus oluşumu (KO) oranı üzerine; memeli cinsiyet hormonunun uygulaması, eksplant tipi ve konsantrasyonlarının etkisi istatistiki olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek KO oranı %3.13 ile östrojen hormonunda bulunmuş, bunu azalan sırada %1.75 ile testesteron, %1.50 ile 17  $\beta$ -östradiol ve progesteron hormonları izlemiştir (Çizelge 4.10).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre değerlendirme yapıldığında ise, en yüksek KO oranı %3.94 ile kotiledon eksplantında, en düşük KO oranı ise %0.00 ile hipokotil eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.9).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek KO oranı 0.00 mM konsantrasyon grubunda %9.84 bulunmuş ve diğer konsantrasyonlarda kallus oluşmamıştır (Çizelge 4.10).

KO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). Çizelge 4.10'de görüldüğü gibi en yüksek KO oranı %6.25 ile östrojen + kotiledon uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük KO oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil, progesteron + hipokotil, östrojen + hipokotil, testesteron + hipokotil uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

KO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulanan hormon  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek KO oranı %15.63 ile östrojen + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir.

En düşük KO oranı 17  $\beta$ -östradiol + tüm konsantrasyonlar (0.00 mM hariç; %7.50), progesteron + tüm konsantrasyonlar (0.00 mM hariç; %7.50), östrojen + tüm konsantrasyonlar (0.00 mM hariç; %15.63), ve testesteron + tüm konsantrasyonlar (0.00 mM hariç; %8.75) uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

KO oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek KO oranı %19.69 ile kotiledon + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı hipokotil + tüm konsantrasyonlar, kotiledon + tüm konsantrasyonlar (0.00 mM hariç; %19.69) uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

KO oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH yapıları ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek KO oranı %31.25 ile östrojen + kotiledon + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. Elde edilen KO oranları; %15.00 ile 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + 0.00 mM, %15.00 ile progesteron + kotiledon + 0.00 mM, %17.50 ile testesteron + kotiledon + 0.00 mM şeklindedir. Diğer kombinasyonlarda KO oranı %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

### **3) Kök oluşturan eksplant (KOE) yüzdesi (%):**

Kök oluşturan eksplant (KOE) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonunun uygulaması, eksplant tipi ve konsantrasyonlarının etkileri istatistiki olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek KOE oranı %24.88 ile testesteron hormonunda, en düşük KOE oranı ise %12.25 ile östrojen hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.10).



Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre yapılan değerlendirmede, en yüksek KOE oranı %28.69 ile hipokotil eksplantında, en düşük KOE oranı ise %6.88 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek KOE oranı  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyon grubunda %28.13 olarak bulunurken, bunu azalan sırada %26.72 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %18.91 ile 0.00 mM'lık, %14.06 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %1.09  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. (Çizelge 4.10).

KOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). Çizelge 4.10'de görüldüğü gibi en yüksek KOE oranı %42.25 ile testesteron + hipokotil uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük KOE oranı, testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

KOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek KOE oranı %38.13 ile testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

KOE oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyon etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek KOE oranı %45.00 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KOE oranı, kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

KOE oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulanan hormon  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge

4.9). En yüksek KOE oranı %78.75 ile 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar 0.00 mM (%11.25) hariç, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

#### 4) Sürgün oluşturan eksplant (SOE) yüzdesi (%):

Sürgün oluşturan eksplant (SOE) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonları, eksplant tipi ve bunların interaksiyonları önemsiz olmuştur (Çizelge 4.9).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre yapılan değerlendirmede, en yüksek SOE oranı %1.13 ile progesteron hormonunda, en düşük SOE oranı ise %0.00 ile 17  $\beta$ -östradiol ve östrojen hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre değerlendirme yapıldığında ise, en yüksek SOE oranı %0.63 ile hipokotil eksplantında, en düşük SOE oranı ise %0.00 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Konsantrasyonların ortalamaları baz alınarak değerlendirildiğinde ise, en yüksek SOE oranı  $5 \times 10^{-5}$  mM konsantrasyon grubunda %1.09 bulunurken, bunu azalan sırada %0.47 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. Ancak konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve tüm konsantrasyonlar aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.10).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi interaksyonu etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.7). Çizelge 4.10'de görüldüğü gibi en yüksek SOE oranı %2.25 ile progesteron + hipokotil uygulamasında tespit edilmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonunun etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek SOE oranı %4.38 ile progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

SOE oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonunun etkisi istatistiksel olarak önemsiz olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek SOE oranı %2.19 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

SOE oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonu  $\times$  eksplant interaksyonunun etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.9). En yüksek SOE oranı %8.75 ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir (Çizelge 4.10, Şekil 4.5 ve 4.6).

### 5) Bitkicik Sayısı (BS):

Karanlık büyütme şartlarında, iki farklı eksplant tipinde (hipokotil ve kotiledon) farklı MCH ve konsantrasyonları kombinasyonu sonucunda bitki gelişimi gözlenmemiştir (Şekil 4.5 ve 4.6).

### B) İkinci aşama

Okapi çeşidine ait kolza tohumları sterilize edildikten sonra MS ortamında çimlendirilmiştir. Daha sonra hipokotil ve kotiledon yaprakları kesilerek farklı memeli cinsiyet hormon doz ve konsantrasyonlarında ışık ve karanlık şartlarda kültüre alınmıştır. 30 gün kültüre alınan bu eksplantlar bir miktar büyüdüktan sonra hemen hemen tamamına yakın kısmı ölmüştür. Çok az sayıda canlı kalmayı başaran eksplantların rejenerasyonunu sağlamak için 30. günün sonunda 0.25 mg/l TDZ içeren standart MS ortamında 30 gün süre ile kültüre alınmışlardır. Ancak bu ortamda da bir çok eksplant rejenere olamadan

ölmüşlerdir. Çok az sayıda eksplant canlı kalmayı başarmış bunlardan bazıları da rejenerasyon sergileyebilmiştir. Bu aşamanın tamamlanmasıyla birlikte aşağıda verilen karakterler incelenmiştir.

#### **a) Işıklı (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında**

##### **1) Kallus oluşum (KO) oranı (%):**

Kallus oluşumu (KO) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonunun ve eksplant tipinin etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ), konsantrasyonların etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.11).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek KO oranı %40.13 ile östrojen hormonunda, en düşük KO oranı ise %17.13 ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek KO oranı %50.50 ile hipokotil eksplantında, en düşük KO oranı ise %0.00 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek KO oranı kontrol (0.00 mM) grupta %50.00 olarak bulunurken, bunu azalan sırada %28.28 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %26.09 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %16.25 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. Ayrıca  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonda kallus oluşumu %5.63 oranında gözlenmiştir (Çizelge 4.12).

KO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). Çizelge 4.12'de görüldüğü gibi en yüksek KO oranı %80.25 ile östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük KO oranı, 17  $\beta$ -östradiol

+ kotiledon, progesteron + kotiledon, östrojen + kotiledon, testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

KO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonu interaksiyon etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek KO oranı %50.00 ile 17  $\beta$ -östradiol + 0.00 mM, progesteron + 0.00 mM, östrojen + 0.00 mM, testesteron + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

KO oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek KO oranı %100.00 ile hipokotil + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı kotiledon + tüm konsantrasyonlarda 0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 8).

KO oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  hormon  $\times$  konsantrasyon interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek KO oranı %100.00 ile MCH + hipokotil + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

**Çizelge 4.11.** 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Kareler ortalaması				
	SD	%KO	%EKO	%SOE	BS
Hormon (H)	3	4374.17**	4357.66**	213.91**	83.07**
Eksplant (E)	1	102010.00**	4357.66**	213.91**	1182.66**
Konsantrasyon (K)	4	8708.83**	377.19**	45.55**	117.03**
H × E	3	4374.17**	4357.66**	213.91**	83.07**
H × K	12	542.27**	377.19**	45.55**	74.74**
E × K	4	8708.83**	377.19**	45.55**	117.03**
H × E × K	12	542.27**	377.19**	45.55**	74.74**
Hata	120	85.00	19.53	5.47	13.18
Toplam	159				

\*\* : p<0.01 düzeyinde önemlidir.

**Çizelge 4.12.** 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı bazı karakterlere ait veriler

Hormon	Eksplant	Konsantrasyon (mM)	%KO	%EKO	%SOE	BS
17 β-östradiol	Hipokotil	0.00	100.00 a	0.00 a	0.00 a	3.75 ab
		5×10 <sup>-5</sup>	45.00 b	0.00 a	0.00 a	8.75 a
		5×10 <sup>-4</sup>	43.75 b	0.00 a	0.00 a	6.25 ab
		5×10 <sup>-3</sup>	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 b
		5×10 <sup>-2</sup>	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 b
		<b>Ortalama</b>	37.75 C	0.00 B	0.00 B	3.75 B
	Kotiledon	0.00	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-5</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-4</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-3</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-2</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A
	Ortalama	0.00	50.00 a	0.00 a	0.00 a	1.88 ab
		5×10 <sup>-5</sup>	22.50 b	0.00 a	0.00 a	4.38 a
		5×10 <sup>-4</sup>	21.88 b	0.00 a	0.00 a	3.13 ab
5×10 <sup>-3</sup>		0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 b	
5×10 <sup>-2</sup>		0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 b	
<b>Ortalama</b>		18.88 C	0.00 B	0.00 B	1.88 B	
Progesteron	Hipokotil	0.00	100.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 b
		5×10 <sup>-5</sup>	57.50 b	0.00 a	0.00 a	13.75 a
		5×10 <sup>-4</sup>	51.25 b	0.00 a	0.00 a	1.25 b
		5×10 <sup>-3</sup>	40.00 b	0.00 a	0.00 a	15.00 a
		5×10 <sup>-2</sup>	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 b
		<b>Ortalama</b>	49.75 B	0.00 B	0.00 B	6.00 B
	Kotiledon	0.00	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-5</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-4</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-3</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		5×10 <sup>-2</sup>	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
<b>Ortalama</b>	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A		

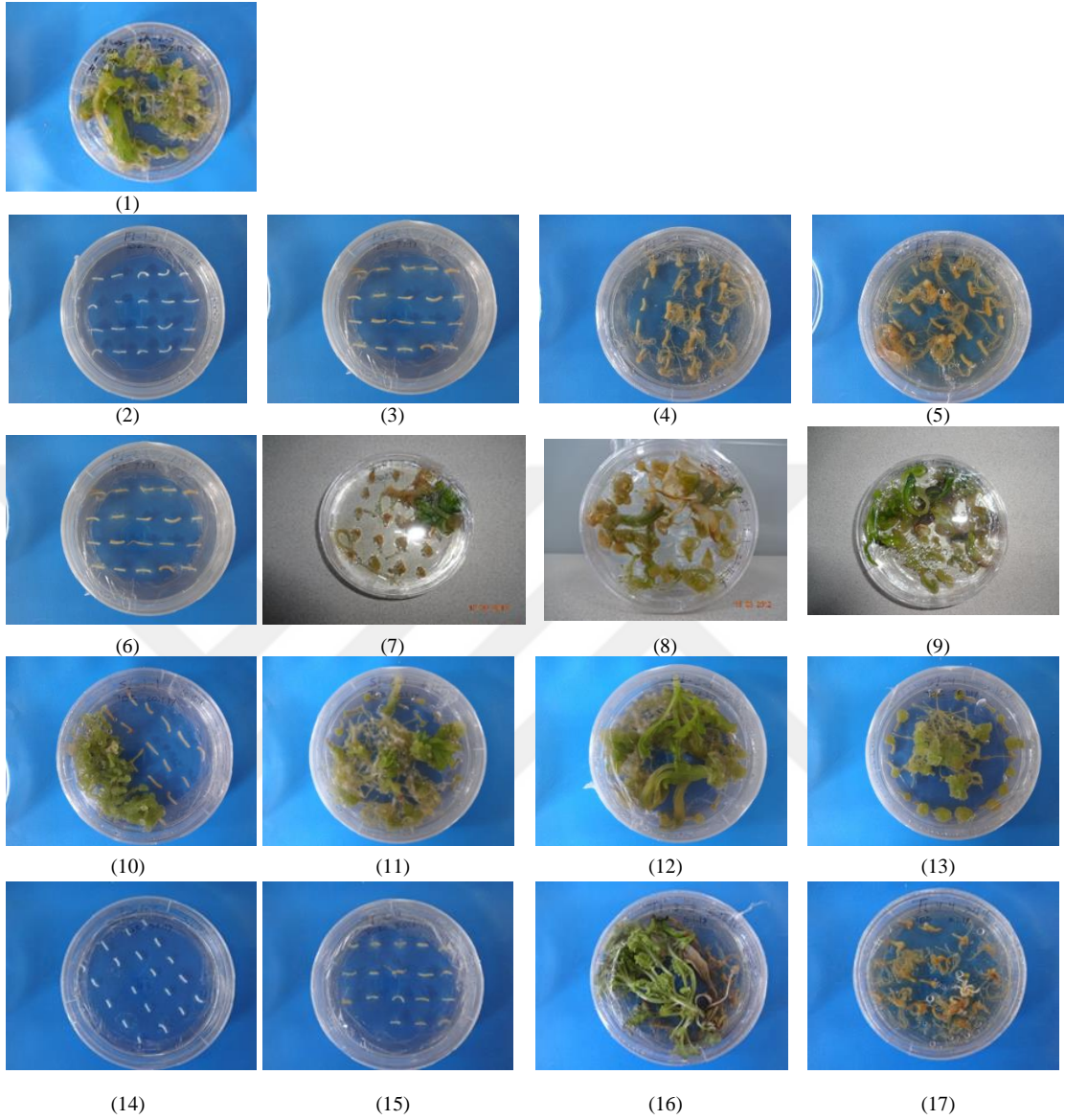
Çizelge 4.12. (devam)

Progesteron	Ortalama	0.00	50.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 b
		$5 \times 10^{-5}$	28.75 b	0.00 a	0.00 a	6.88 a
		$5 \times 10^{-4}$	25.63 b	0.00 a	0.00 a	0.63 b
		$5 \times 10^{-3}$	20.00 b	0.00 a	0.00 a	7.50 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 b
		<b>Ortalama</b>	<b>24.88 B</b>	<b>0.00 B</b>	<b>0.00 B</b>	<b>3.00 B</b>
Östrojen	Hipokotil	0.00	100.00 a	0.00 d	0.00 c	0.00 d
		$5 \times 10^{-5}$	71.25 b	32.50 c	10.00 bc	7.50 bc
		$5 \times 10^{-4}$	95.00 a	70.00 a	23.75 a	23.75 a
		$5 \times 10^{-3}$	90.00 a	61.25 ab	11.25 b	12.50 b
		$5 \times 10^{-2}$	45.00 c	45.00 bc	1.25 bc	2.50 cd
		<b>Ortalama</b>	<b>80.25 A</b>	<b>41.75 A</b>	<b>9.25 A</b>	<b>9.25 A</b>
Östrojen	Kotiledon	0.00	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>
Progesteron	Ortalama	0.00	50.00 a	0.00 d	0.00 b	0.00 d
		$5 \times 10^{-5}$	35.63 b	16.25 c	5.00 bc	3.75 bc
		$5 \times 10^{-4}$	47.50 a	35.00 a	11.88 a	11.88 a
		$5 \times 10^{-3}$	45.00 a	30.63 ab	5.63 b	6.25 b
		$5 \times 10^{-2}$	22.50 c	22.50 bc	0.63 bc	1.25 cd
		<b>Ortalama</b>	<b>40.13 A</b>	<b>20.88 A</b>	<b>4.63 A</b>	<b>4.63 A</b>
Testesteron	Hipokotil	0.00	100.00 a	0.00 a	0.00 a	5.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	35.00 b	0.00 a	0.00 a	2.50 a
		$5 \times 10^{-4}$	36.25 b	0.00 a	0.00 a	6.25 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	<b>34.25 C</b>	<b>0.00 B</b>	<b>0.00 B</b>	<b>2.75 B</b>



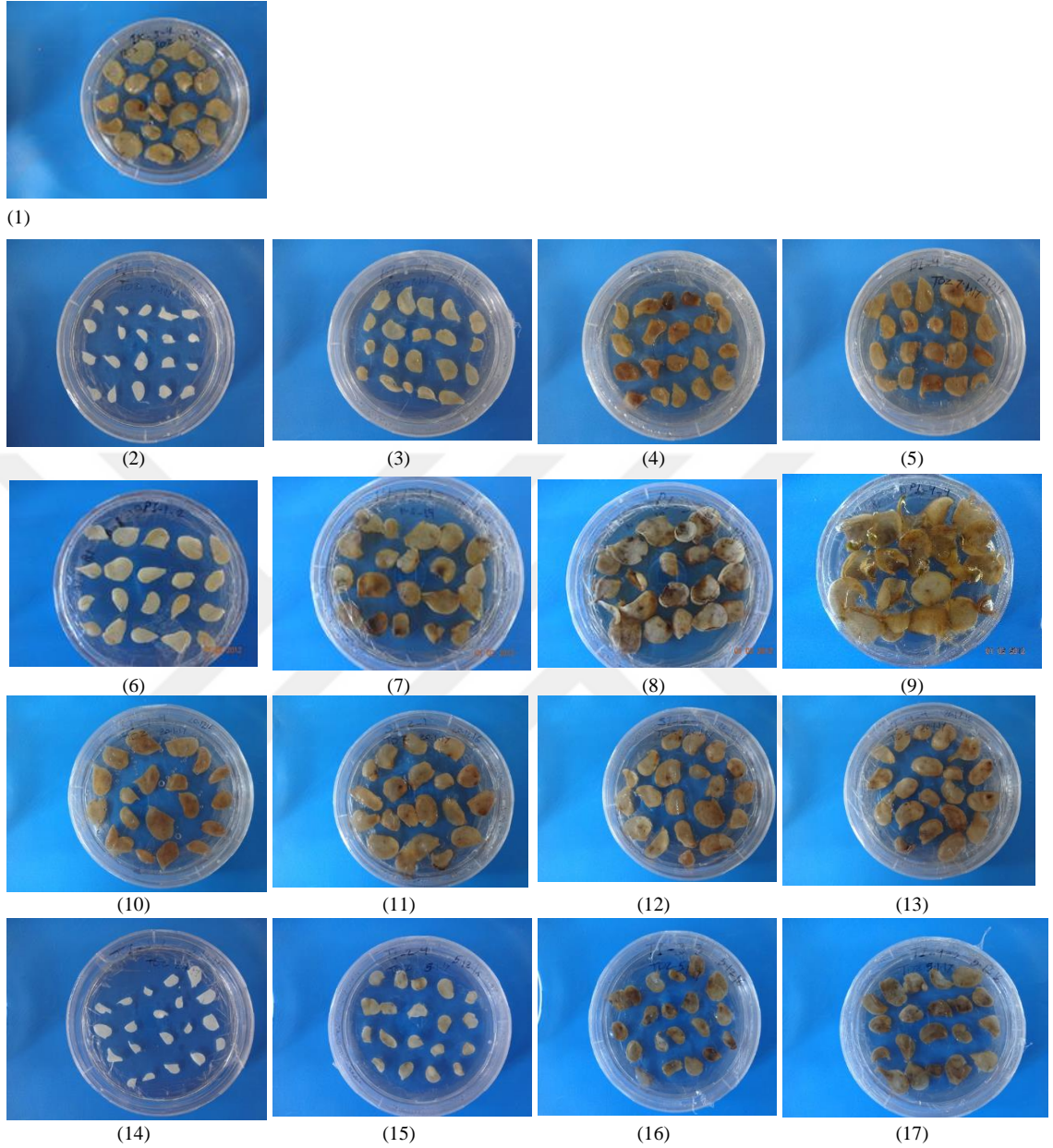
Çizelge 4.12. (devam)

		0.00	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
	Kotiledon	$5 \times 10^{-4}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 A	0.00 A	0.00 A	0.00 A
Testesteron		0.00	50.00 a	0.00 a	0.00 a	2.50 a
		$5 \times 10^{-5}$	17.50 b	0.00 a	0.00 a	1.25 a
	Ortalama	$5 \times 10^{-4}$	18.13 b	0.00 a	0.00 a	3.13 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.00 a	0.00 a	0.00 a
		<b>Ortalama</b>	17.13 C	0.00 B	0.00 B	1.38 B
		0.00	100.00 a	0.00 d	0.00 d	2.19 b
		$5 \times 10^{-5}$	52.19 b	8.13 c	2.50 bc	8.13 a
	Hipokotil	$5 \times 10^{-4}$	56.56 b	17.50 a	5.94 a	9.38 a
		$5 \times 10^{-3}$	32.50 c	15.31 ab	2.81 b	6.88 a
		$5 \times 10^{-2}$	11.25 d	11.25 bc	0.31 cd	0.63 b
		<b>Ortalama</b>	50.50	10.44	2.31	5.44
Ortalama		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		$5 \times 10^{-5}$	0.00	0.00	0.00	0.00
	Kotiledon	$5 \times 10^{-4}$	0.00	0.00	0.00	0.00
		$5 \times 10^{-3}$	0.00	0.00	0.00	0.00
		$5 \times 10^{-2}$	0.00	0.00	0.00	0.00
		<b>Ortalama</b>	0.00	0.00	0.00	0.00
		0.00	50.00 a	0.00 d	0.00 d	1.09 b
		$5 \times 10^{-5}$	26.09 b	4.06 c	1.25 bc	4.06 a
	Ortalama	$5 \times 10^{-4}$	28.28 b	8.75 a	2.97 a	4.69 a
		$5 \times 10^{-3}$	16.25 c	7.66 ab	1.41 b	3.44 a
		$5 \times 10^{-2}$	5.63 d	5.63 bc	0.16 cd	0.31 b



**Şekil 4.7.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında 30. günlerdeki görünümü;

1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.



**Şekil 4.8.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında ışık (16:8 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında 30. günlerdeki görünümü;

1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17 β-östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.

## 2) Embryogenik Kallus oluşum (EKO) oranı (%):

Embryogenik kallus oluşumu (EKO) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonu uygulaması, eksplant tipi ve konsantrasyonlarının etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek EKO oranı %20.88 ile östrojen hormonunda, en düşük EKO oranı ise %0.00 ile 17  $\beta$ -östradiol, progesteron, testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre değerlendirildiğinde, en yüksek EKO oranı %10.44 ile hipokotil eksplantında, en düşük EKO oranı ise %0.00 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek EKO oranı  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyon grubunda %8.75 bulunurken, bunu azalan sırada %7.66 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %5.63 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık, %4.06 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. Ayrıca 0.00 mM'lık (0.25 mg/l TDZ içermeyen MS ortamı) konsantrasyonda embryogenik kallus oluşmamıştır (Çizelge 4.12).

EKO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). Çizelge 4.12'de görüldüğü gibi en yüksek EKO oranı %41.75 ile östrojen + hipokotil uygulamalarında tespit edilmiş ve en düşük EKO oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, progesteron + hipokotil, progesteron + kotiledon, östrojen + kotiledon, testesteron + hipokotil ve testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

EKO oranı üzerine farklı MCH'nin uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek EKO oranı %35.00 ile

östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük EKO oranı 17  $\beta$ -östradiol + tüm konsantrasyonlar, progesteron + tüm konsantrasyonlar, östrojen + 0.00 mM, testesteron tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

EKO oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyon interaksiyonu etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek EKO oranı %17.50 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük EKO oranı hipokotil + 0.00 mM, kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

EKO oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek EKO oranı %70.00 ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük EKO oranı 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + hipokotil + 0.00 mM, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, testesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

### **3) Sürgün oluşturan eksplant (SOE) yüzdesi (%):**

Sürgün oluşturan eksplant (SOE) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları ve konsantrasyonları önemsiz, ancak eksplant tipi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek SOE oranı %4.63 ile östrojen hormonunda, en düşük SOE oranı ise %0.00 ile 17  $\beta$ -östradiol, progesteron ve testesteron hormonunda bulunmuştur (Çizelge 4.12).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek SOE oranı %2.31 ile hipokotil eksplantında, en düşük SOE oranı ise %0.00 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek SOE oranı  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyon grubunda %2.97 bulunurken, bunu azalan sırada %1.41 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, %1.25 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %0.16 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonları izlemiştir. Ancak 0.00 mM'lık konsantrasyonlarda SOE oluşmamıştır (Çizelge 4.12).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.7). Çizelge 4.12'de görüldüğü gibi en yüksek SOE oranı %9.25 ile östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, progesteron + hipokotil, progesteron + kotiledon, östrojen + kotiledon, testesteron + hipokotil ve testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek SOE oranı %11.88 ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + tüm konsantrasyonlar, progesteron + tüm konsantrasyonlar, östrojen + 0.00 mM'lık, testesteron + tüm konsantrasyonları uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

SOE oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama eksplant  $\times$  konsantrasyon etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ )

olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek SOE oranı %3.44 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, hipokotil + 0.00 mM, hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, kotiledon + tüm konsantrasyonları uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir. Ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

SOE oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonu  $\times$  eksplant etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek SOE oranı %23.75 ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + hipokotil + 0.00 mM, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, testesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

##### **5) Bitkicik Sayısı (BS):**

Bitkicik sayısı (BS) üzerine memeli cinsiyet hormonları, eksplant tipi ve konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre değerlendirme yapıldığında, en yüksek BS, 4.36 adet ile östrojen hormonunda, en düşük BS ise 1.38 adet ile testesteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre değerlendirildiğinde ise, en yüksek BS 5.44 adet ile hipokotil eksplantında, en düşük BS ise 0.00 adet ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre analiz yapıldığında, en yüksek BS,  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyon grubunda 4.69 adet bulunurken, bunu azalan sırada 4.06 adet ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, 3.44 adet ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık, 1.09 adet ile 0.00 mM'lık ve 0.31 adet ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.12).

BS üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). Çizelge 4.12'de görüldüğü gibi en yüksek BS 9.25 adet ile östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, progesteron + kotiledon, östrojen + kotiledon, testesteron + hipokotil ve testesteron + kotiledon uygulamalarında 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

BS üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek BS, 11.88 adet ile östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + 0.00 mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + 0.00 mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarda 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

BS üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek BS, 9.38 adet ile hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

BS bakımından, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek BS, 23.75 adet ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +



hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + hipokotil + 0.00 mM, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + hipokotil + 0.00 mM, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM ve testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında 0.00 adet olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.12, Şekil 4.7 ve 4.8).

## **b) Karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında**

### **1) Kallus oluşum (KO) oranı (%):**

Kallus oluşumu (KO) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları, konsantrasyonları ve eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.13).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre analiz yapıldığında, en yüksek KO oranı %34.38 ile östrojen hormonunda, en düşük KO oranı ise %10.88 ile 17  $\beta$ -östradiol hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre analiz yapıldığında ise, en yüksek KO oranı %37.13 ile hipokotil eksplantında, en düşük KO oranı ise %3.75 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre analiz yapıldığında, en yüksek KO oranı kontrol (0.00 mM) grupta %50.00 iken, bunu azalan sırada %16.56 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %13.59 ile  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık, %12.97 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve %9.06 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.14).

KO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). Çizelge 4.12'de görüldüğü gibi en yüksek KO oranı %55.00 ile

östrojen + hipokotil uygulamasında tespit edilmiş ve en düşük KO oranı, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon ve progesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

KO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek KO oranı %50.00 ile 17  $\beta$ -östradiol + 0.00 mM, progesteron + 0.00 mM, östrojen + 0.00 mM, testesteron + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

KO oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek KO oranı %100.00 ile hipokotil + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı kotiledon + 0.00 mM ve kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarda %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

KO oranı bakımından, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  hormon  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek KO oranı %100.00 ile MCH (tüm hormonlar) + hipokotil + 0.00 mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük KO oranı 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + kotiledon + 0.00 mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + kotiledon + 0.00 mM, testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + kotiledon + 0.00 mM ve testesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

**Çizelge 4.13.** 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı karakterlere ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Kareler ortalaması				
	SD	%KO	%EKO	%SOE	BS
Hormon (H)	3	5107.29**	160.00**	40.20**	10.57
Eksplant (E)	1	44555.62**	160.00*	2.50	68.90**
Konsantrasyon (K)	4	8967.73**	29.14	8.82	9.92*
H × E	3	2082.29**	160.00**	4.58	10.57
H × K	12	751.17**	29.14	5.18	7.84*
E × K	4	11145.07**	29.14	0.54	9.92*
H × E × K	12	1035.80**	29.14	5.23	7.84*
Hata	120	89.58	31.15	3.95	4.22
Toplam	159				

\*\* : p<0.01 düzeyinde önemlidir.

**Çizelge 4.14.** 0.25 mg/l TDZ içeren ortamda karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında incelenen bazı bazı karakterlere ait veriler

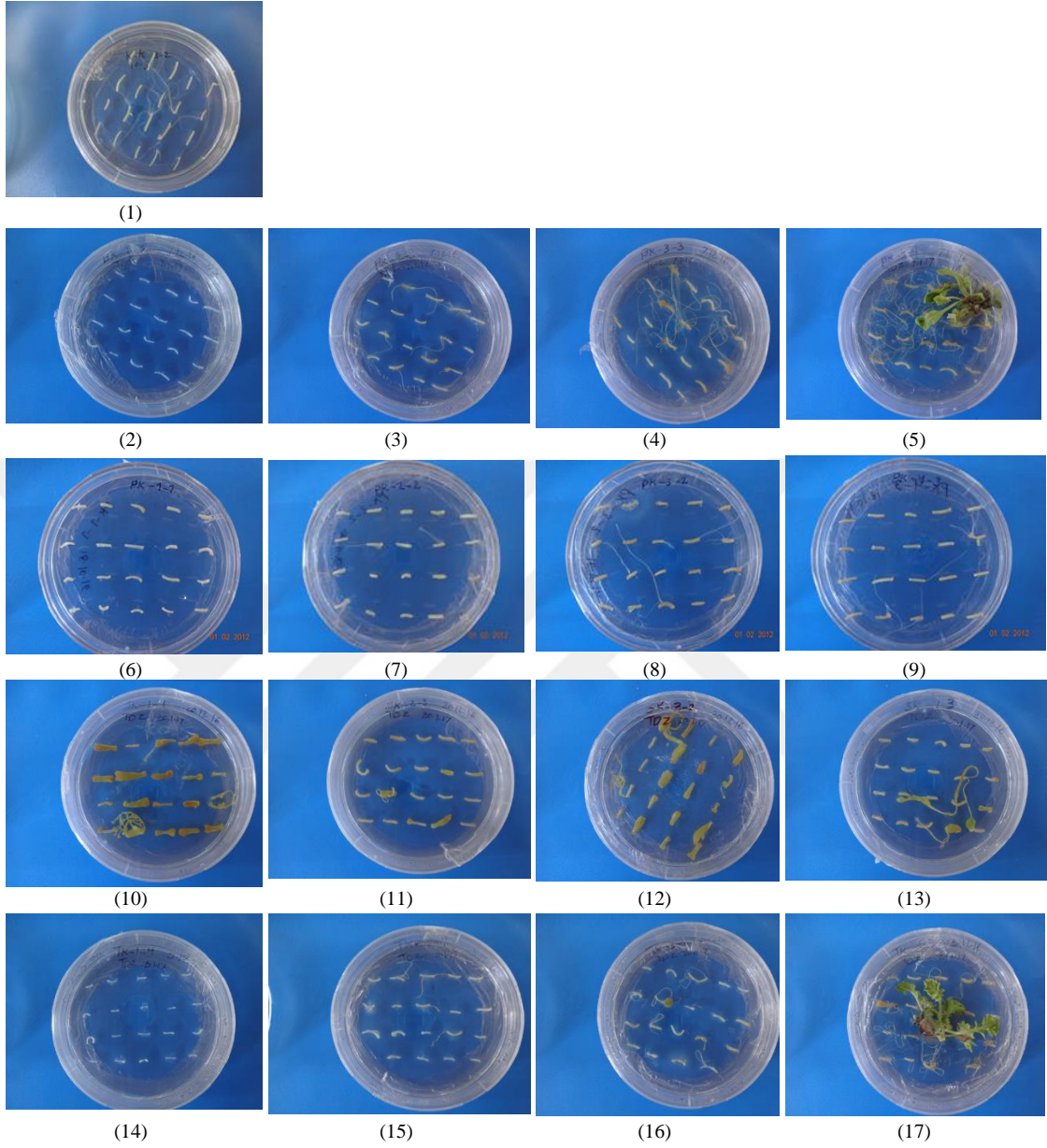
Hormon	Eksplant	Konsantrasyon (mM)	%KO	%EKO	%SOE	BS
17 β-östradiol	Hipokotil	0.00	100.00 a	0.000 a	0.000 a	3.750 a
		$5 \times 10^{-5}$	5.00 b	0.000 a	0.000 a	2.500 a
		$5 \times 10^{-4}$	3.75 bc	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		<b>Ortalama</b>	21.75 B	0.000 B	0.000 B	1.250 AB
	Kotiledon	0.00	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		<b>Ortalama</b>	0.00 B	0.000	0.000 A	0.000
	Ortalama	0.00	50.00 a	0.000 a	0.000 a	1.875 a
		$5 \times 10^{-5}$	2.50 b	0.000 a	0.000 a	1.250 a
		$5 \times 10^{-4}$	1.88 bc	0.000 a	0.000 a	0.000 a
$5 \times 10^{-3}$		0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000 a	
$5 \times 10^{-2}$		0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000 a	
<b>Ortalama</b>		10.88 C	0.000 B	0.000 B	.625 AB	
Progesteron	Hipokotil	0.00	100.00	0.000 a	0.000	0.000
		$5 \times 10^{-5}$	43.75	0.000 a	2.500	5.000
		$5 \times 10^{-4}$	42.50	0.000 a	0.000	6.250
		$5 \times 10^{-3}$	62.50	0.000 a	3.750	1.250
		$5 \times 10^{-2}$	0.00	0.000 a	0.000	0.000
		<b>Ortalama</b>	49.75 A	0.000 B	1.250 AB	2.500 A
	Kotiledon	0.00	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-5}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-4}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.000 a	0.000 a	0.000 a	

Çizelge 4.14. (devam)

		<b>Ortalama</b>	0.00 B	0.000	0.000 A	0.000
		0.00	50.00 a	0.000 a	0.000 a	0.000
		$5 \times 10^{-5}$	21.88 b	0.000 a	1.250 a	2.500
	Ortalama	$5 \times 10^{-4}$	21.25 b	0.000 a	0.000 a	3.125
		$5 \times 10^{-3}$	31.25 b	0.000 a	1.875 a	.625
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000
		<b>Ortalama</b>	24.88 B	0.000 B	.625 B	1.250 A
		0.00	100.00 a	0.000	0.000	0.000 a
		$5 \times 10^{-5}$	30.00 cd	18.750	2.500	0.000 a
	Hipokotil	$5 \times 10^{-4}$	53.75 bc	6.250	3.750	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	18.75 d	2.500	1.250	0.000 a
		$5 \times 10^{-2}$	72.50 ab	12.500	2.500	0.000 a
		<b>Ortalama</b>	55.00 A	8.000 A	2.000 A	0.000
		0.00	0.00 b	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-5}$	22.50 a	0.000 a	5.000 a	0.000 a
	Kotiledon	$5 \times 10^{-4}$	23.75 a	0.000 a	2.500 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	22.50 a	0.000 a	3.750 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 b	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		<b>Ortalama</b>	13.75 A	0.000 A	2.250 A	0.000 B
Östrojen		0.00	50.00 a	0.000 a	0.000 b	0.000 a
		$5 \times 10^{-5}$	26.25 bc	9.375 a	3.750 a	0.000 a
	Ortalama	$5 \times 10^{-4}$	38.75 ab	3.125 a	3.125 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	20.63 bc	1.250 a	2.500 ab	0.000 a
		$5 \times 10^{-2}$	36.25 ab	6.250 a	1.250 ab	0.000 a
		<b>Ortalama</b>	34.38 A	4.000 A	2.125 A	0.000 B
		0.00	100.00 a	0.000 a	0.000 a	5.000
		$5 \times 10^{-5}$	3.75 bc	0.000 a	0.000 a	2.500
	Hipokotil	$5 \times 10^{-4}$	6.25 b	0.000 a	0.000 a	0.000
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000
		<b>Ortalama</b>	22.00 B	0.000 B	0.000 B	1.500 AB
Testesteron						

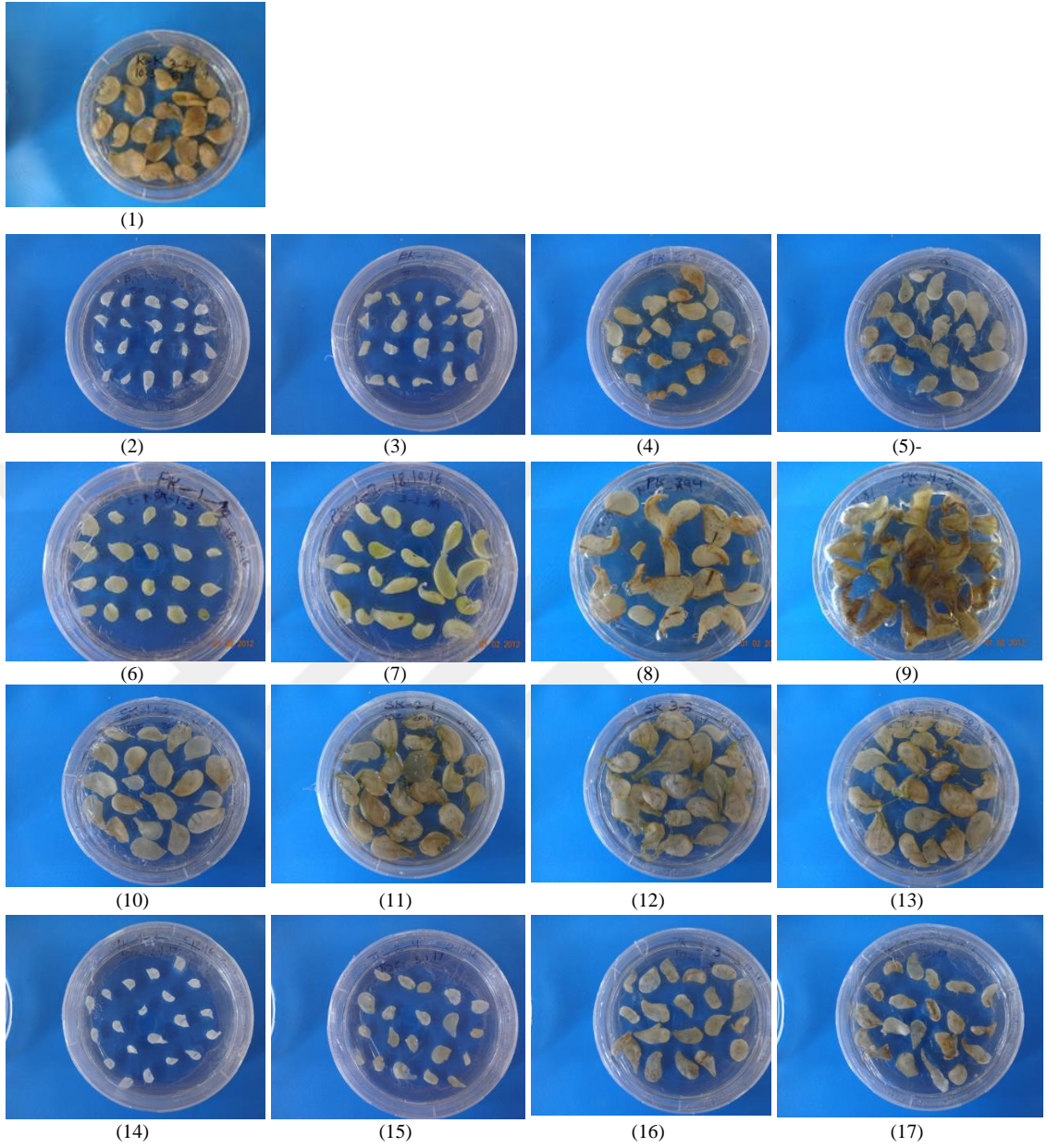
Çizelge 4.14. (devam)

Testesteron	Kotiledon	0.00	0.00 b	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-5}$	3.75 a	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-4}$	2.50 ab	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 b	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-2}$	0.00 b	0.000 a	0.000 a	0.000 a
	<b>Ortalama</b>	1.25 B	0.000	0.000 A	0.000	
	Ortalama	0.00	50.00 a	0.000 a	0.000 a	2.500 a
		$5 \times 10^{-5}$	3.75 b	0.000 a	0.000 a	1.250 a
		$5 \times 10^{-4}$	4.38 b	0.000 a	0.000 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000 a
$5 \times 10^{-2}$		0.00 c	0.000 a	0.000 a	0.000 a	
<b>Ortalama</b>	11.63 C	0.000 B	0.000 B	.750 AB		
Ortalama	Hipokotil	0.00	100.00 a	0.000 a	0.000 a	2.188 ab
		$5 \times 10^{-5}$	20.63 b	4.688 a	1.250 a	2.500 a
		$5 \times 10^{-4}$	26.56 b	1.563 a	.938 a	1.563 ab
		$5 \times 10^{-3}$	20.31 b	.625 a	1.250 a	.313 ab
		$5 \times 10^{-2}$	18.13 b	3.125 a	.625 a	0.000 b
	<b>Ortalama</b>	37.13	2.000	.813	1.313	
	Kotiledon	0.00	0.00 b	0.000 a	0.000 b	0.000 a
		$5 \times 10^{-5}$	6.56 a	0.000 a	1.250 a	0.000 a
		$5 \times 10^{-4}$	6.56 a	0.000 a	.625 ab	0.000 a
		$5 \times 10^{-3}$	5.63 a	0.000 a	.938 ab	0.000 a
$5 \times 10^{-2}$		0.00 a	0.000 a	0.000 b	0.000 a	
<b>Ortalama</b>	3.75	0.000	.563	0.000		
Ortalama	0.00	50.00 a	0.000 a	0.000 b	1.094 ab	
	$5 \times 10^{-5}$	13.59 bc	2.344 a	1.250 a	1.250 a	
	$5 \times 10^{-4}$	16.56 b	.781 a	.781 ab	.781 ab	
	$5 \times 10^{-3}$	12.97 bc	.313 a	1.094 a	.156 ab	
	$5 \times 10^{-2}$	9.06 c	1.563 a	.313 ab	0.000 b	



**Şekil 4.9.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının hipokotil eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında karanlık (24 saat karanlık) büyütme şartlarında 30. günlerdeki görünümü;

1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.



**Şekil 4.10.** Memeli cinsiyet hormonlarının farklı konsantrasyonlarının kotiledon eksplantlarının 0.025 mg/l TDZ içeren MS ortamında karanlık (24 saat ışık ve karanlık) büyütme şartlarında 30. günlerdeki görünümü;

1) kontrol (hormon içermeyen), 2) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 3) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 4) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 5) 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 6) progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 7) progesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 8) progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 9) progesteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 10) östrojen +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 11) östrojen +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 12) östrojen +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 13) östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM, 14) testosteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 15) testosteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 16) testosteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17) testosteron +  $5 \times 10^{-5}$  mM.



## 2) Embryogenik Kallus oluşum (EKO) oranı (%):

Embryogenik kallus oluşumu (EKO) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonları uygulamasının etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ), eksplant tipi önemli ve konsantrasyonlarının etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.13).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre analiz edildiğinde, en yüksek EKO oranı %4.00 ile östrojen hormonunda, en düşük EKO oranı ise %0.00 ile 17  $\beta$ -östradiol, progesteron, testesteron hormonlarında belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre analiz edildiğinde, en yüksek EKO oranı %2.00 ile hipokoti eksplantında, en düşük EKO oranı ise %0.00 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre analiz edildiğinde ise, en yüksek EKO oranı  $5 \times 10^{-5}$  mM konsantrasyon grubunda %1.25 iken, bunu azalan sırada %1.56 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık, %0.78 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, %0.03 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir. Ayrıca 0.00 mM'lık (0.25 mg/l TDZ içermeyen MS ortamı) konsantrasyonda embryogenik kallus oluşmamıştır. Ancak konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ve tüm konsantrasyonlar aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.14).

EKO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). Çizelge 4.14'de görüldüğü gibi en yüksek EKO oranı %8.00 ile östrojen + hipokotil uygulamalarında tespit edilmiş ve en düşük EKO oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, progesteron + hipokotil, progesteron + kotiledon, östrojen + kotiledon, testesteron + hipokotil ve testesteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 10).

EKO oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi

önemsiz olmuştur (Çizelge 4.13). Ancak en yüksek EKO oranı %9.37 ile östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük EKO oranı 17  $\beta$ -östradiol + tüm konsantrasyonlar, progesteron + tüm konsantrasyonlar, östrojen + 0.00 mM, testesteron tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

EKO oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyon etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek EKO oranı %4.68 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük EKO oranı hipokotil + 0.00 mM, kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

EKO oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek EKO oranı %18.75 ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük EKO oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + hipokotil + 0.00 mM, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, testesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

### **3) Sürgün oluşturan eksplant (SOE) yüzdesi (%):**

Sürgün oluşturan eksplant (SOE) oranı üzerine memeli cinsiyet hormonlarının etkisi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuş, konsantrasyonlar ve eksplant tipi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.13).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre analiz yapıldığında, en yüksek SOE oranı %2.12 ile östrojen hormonunda, en düşük SOE oranı ise %0.00 ile 17  $\beta$ -östradiol ve testosteron hormonunda belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre analiz yapıldığında, en yüksek SOE oranı %0.81 ile hipokoti eksplantında, en düşük SOE oranı ise %0.56 ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir. Ancak eksplant tipi arasında istatikselsel olarak bir fark görülmemiştir ve aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.14).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre analiz yapıldığında ise, en yüksek SOE oranı  $5 \times 10^{-5}$  Mm'luk grupta %1.25 bulunurken, bunu azalan sırada %1.09 ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'luk, %0.78 ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'luk, %0.13 ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'luk konsantrasyonlar izlemiştir ve 0.00 mM'luk konsantrasyonda SOE oluşmamıştır. Ancak konsantrasyonlar arasında istatikselsel olarak bir fark görülmemiştir ve aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.14).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.13). Çizelge 4.14'de görüldüğü gibi en yüksek SOE oranı %2.25 ile östrojen + kotiledon uygulamasında tespit edilmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, progesteron + kotiledon, testosteron + hipokotil ve testosteron + kotiledon uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

SOE oranı üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek SOE oranı %3.75 ile östrojen +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + tüm konsantrasyonlar, progesteron + 0.00 mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + 0.00 mM'luk, testosteron + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

SOE oranı üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle uygulama eksplant  $\times$  konsantrasyonun etkisi çok önemsiz olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek SOE oranı %1.25 ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM, hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, hipokotil + 0.00 mM, hipokotil + 0.00 mM, kotiledon + 0.00 mM ve kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM uygulamalarında %0.00 olarak belirlenmiştir. Ancak aralarında istatistiksel olarak bir fark oluşmamış ve aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

SOE oranı, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmemiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek SOE oranı %5.00 ile östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük SOE oranı, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + kotiledon + 0.00 mM, progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + hipokotil + 0.00 mM, östrojen + kotiledon + 0.00 mM, östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-2}$  mM, testesteron + hipokotil + tüm konsantrasyonlar, testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında %0.00 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

##### **5) Bitkicik Sayısı (BS):**

Bitkicik sayısı (BS) üzerine memeli cinsiyet hormonları önemsiz, eksplant tipi çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) ve konsantrasyonun etkisi ise önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.13).

Ortalamalar esas alınarak memeli cinsiyet hormonlarına göre analiz yapıldığında, en yüksek BS 1.25 adet ile progesteron hormonunda, en düşük BS ise 0.00 adet ile östrojen hormonunda belirlenmiştir. Ancak hormonlar arasında istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ve aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.14).

Ortalamalar esas alınarak eksplant tipine göre analiz yapıldığında, en yüksek BS, 1.31 adet ile hipokotil eksplantında, en düşük BS ise 0.00 adet ile kotiledon eksplant tipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Konsantrasyonların ortalamalarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek BS  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık grupta 1.250 adet bulunurken, bunu azalan sırada 1.09 adet ile 0.00 mM'lık, 0.78 adet ile  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık, 0.15 adet ile  $5 \times 10^{-3}$  mM'lık ve 0.00 adet ile  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık konsantrasyonlar izlemiştir (Çizelge 4.14).

BS üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan eksplant tipine göre farklılık göstermemiştir. Bu nedenle hormon  $\times$  eksplant tipi etkisi önemsiz olmuştur (Çizelge 4.13). Çizelge 4.14'de görüldüğü gibi en yüksek BS'ise 2.50 adet ile progesteron + hipokotil uygulamasında tespit edilmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon, progesteron + kotiledon, östrojen + hipokotil, östrojen + kotiledon ve testesteron + kotiledon uygulamalarında 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

BS üzerine farklı MCH uygulamalarının etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyonun etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek BS, 3.51 adet ile progesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + 0.00 mM, progesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM, östrojen + tüm konsantrasyonlar, testesteron +  $5 \times 10^{-4}$  mM, testesteron +  $5 \times 10^{-3}$  mM ve testesteron +  $5 \times 10^{-2}$  mM'lık uygulamalarda 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

BS üzerine eksplantların etkisi kullanılan konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. Bu nedenle eksplant  $\times$  konsantrasyon etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.11). En yüksek BS, 2.50 adet ile hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamalarda gözlenmiştir. En düşük BS, hipokotil  $5 \times 10^{-2}$  mM ve kotiledon + tüm konsantrasyon uygulamalarında 0.00 adet olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

BS bakımından, iki farklı eksplant üzerine farklı MCH ve konsantrasyonlarının uygulaması ile alınan veriler sonucunda farklılık gözlenmiştir. Bu nedenle uygulama hormonu  $\times$  konsantrasyon  $\times$  eksplant etkisi önemli ( $P \leq 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 4.13). En yüksek BS, 6.25 adet ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamalarında gözlenmiştir. En düşük BS, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, 17  $\beta$ -östradiol + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, progesteron + hipokotil + 0.00 mM, progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM, progesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, östrojen + kotiledon + tüm konsantrasyonlar, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-3}$  mM, testesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-2}$  mM ve testesteron + kotiledon + tüm konsantrasyonlar uygulamalarında 0.00 adet olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.14, Şekil 4.9 ve 4.10).

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

### 5.1. Tartışma

Dünyada özellikle bitkisel yağ olarak kullanımını son derece yaygın olan kolza bitkisinin tarımsal uygulamalar, yetiştiricilik bakımından ekonomik değerinin yüksek olduğu kabul gören bir gerçektir. Aynı zamanda Türkiye’de de sahip olduğu avantajlı özellikleri dolayısıyla var olan bitkisel yağ açığının kapatılması noktasında kolza bitkisinin önemi tartışılmaz niteliktedir (Öztürk 2000). Bu bitkinin yalnızca bitkisel yağ eldesinde değil, aynı zamanda küspe şeklinde hayvan yetiştiriciliğinde de kullanımını son derece yaygındır. Hem besinsel anlamda bitkisel yağ olarak hem de hayvan yetiştiriciliğinde yüksek protein içerikli ve zahmetsiz küspe olarak kullanımını bakımından kolza bitkisinden elde edilen verimin geliştirilmesi, bu doğrultuda bilimsel çalışmaların artırılması son derece kıymetlidir (Toker vd 1998; Aytaç 2007).

Kolza bitkisinden elde edilen yağ; içeriğinde insan sağlığı için faydalı olan omega-3, oleik asit gibi yağ asitlerini ihtiva etmesi, içerdiği doymamış yağ asitlerinin insan tüketimine uygun aralıklar kapsamında bulunması, doymuş yağ asit içeriğinin ise diğer bitkisel yağlara kıyasla daha düşük nitelikler sergiliyor olması ile dünya üzerinde yer alan en sağlıklı bitkisel yağlardan biri olarak gösterilmektedir (Carvalho *et al.* 2006, Aytaç 2007, Kolsarıcı 2006).

MCH’lerin 1900’lü yılların başlarında keşfedildiklerinden bu yana eksojen olarak bitki büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri araştırılmaya ve incelenmeye devam edilmektedir. Ancak yapılan çalışmaların bu doğrultuda yeterli bilgi birikimi sağladığını ifade etmek oldukça zordur. Bu kapsamda yapılan bu tez çalışmasıyla MCH’lerin kolza bitkisinin büyüme ve gelişmesine ne düzeyde etki ettiğinin, sitogenetik bakımdan oluşturabileceği etkilerin, aynı zamanda doku kültürü uygulamalarında bitkinin rejenerasyon kabiliyetinde ne gibi değişiklikler oluşturacağını araştırılması, incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla dört farklı memeli cinsiyet hormonunun kontrol hariç dört farklı dozu kullanılmak

suretiyle etki değerlendirilmesi yapılmıştır. Bu çalışmada aynı zamanda ana hedef, literatürde pek çok çalışmaya konu olan memeli cinsiyet hormonlarının, henüz kabul edilmemiş olsa da bitki büyüme düzenleyicileri olarak pratikte değerlendirilebilir olup olmadığını belirlemektir.

MCH'lerin kullanıldığı çalışmalar, çoğunlukla bitkilerin morfolojik niteliklerine olan etkilerini saptama amacıyla yapılmıştır. Bu morfolojik parametrelerin çimlenme oranı, fide uzunluğu, kök ve sürgün uzunluğu ve ağırlıkları şeklinde olduğu ve bu parametrelere MCH'lerin önemli düzeyde etkiler gösterdiği literatürde karşılaşılmakta olan bilgiler arasındadır. Yapılan bu tez çalışmasında da literatürdeki verilere paralel nitelikte sonuçlar elde edilmiştir. MCH'lerin çimlenme oranı üzerine olan etkilerinin konsantrasyona bağlı olarak değişiklik gösterdiği tespit edilirken, özellikle hormonxkonsantrasyon interaksyonunun istatistiksel olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olduğu anlaşılmıştır. Östrojen ( $5 \times 10^{-5}$  mM,  $5 \times 10^{-4}$  mM,  $5 \times 10^{-3}$  mM,  $5 \times 10^{-2}$  mM), testesteron ( $5 \times 10^{-5}$  mM ve  $5 \times 10^{-4}$  mM), progesteron ( $5 \times 10^{-5}$  mM,  $5 \times 10^{-4}$  mM,  $5 \times 10^{-3}$  mM) ve 17  $\beta$ -östradiol ( $5 \times 10^{-5}$  mM,  $5 \times 10^{-4}$  mM) hormonlarının hepsi farklı dozlarda çimlenme oranını kontrol bitkilerinin gelişimi kadar etkin şekilde etkilemiştir. Çimlenme oranını en kötü şekilde etkileyen hormonlar arasında östrojenin olmaması dikkat çekmektedir. Elde edilen bu veri literatürdeki verilerle örtüşmektedir (Kögl 1936, Löve and Löve 1945, Bonner and Axtman 1937). Testesteron ( $5 \times 10^{-3}$  mM,  $5 \times 10^{-2}$  mM), 17  $\beta$ -östradiol ( $5 \times 10^{-3}$  mM  $5 \times 10^{-2}$  mM) ve progesteron ( $5 \times 10^{-2}$  mM) hormonlarının belirtilen dozlarının çimlenmeye efektif bir katkısı olmadığı açıktır. Genellikle uygulaması yapılan hormonların büyük çoğunluğunun doz bakımından çimlenme oranını etkilediği görülmekte, bu verilerin literatürle uyduğu dikkat çekmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da memeli cinsiyet hormonlarının düşük dozlarda çimlenmeyi etkin bir şekilde uyardığına rastlamak mümkündür. Dolayısıyla MCH'lerin bitki büyümesini destekleyecek ürün olarak kullanımında düşük dozlarının kullanımı daha mantıklı olacaktır (Gioelli 1942; Shore *et al.* 1992; Janeczko 2000).

Çimlenme hızı katsayısı üzerinde de konsantrasyon farklılıklarının hormonlarla ortaya koyduğu interaksyonun çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olduğu kaydedilmiştir (Çizelge 4.1).



Çimlenme hızı katsayısını dikkat çekici bir şekilde artıran hormon östrojen olmuştur.  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonunda 34.89 olmuştur. Diğer taraftan çimlenme hızı katsayısını testesteron ( $5 \times 10^{-3}$  mM,  $5 \times 10^{-2}$  mM), progesteron ( $5 \times 10^{-2}$  mM) ve 17  $\beta$ -östradiol ( $5 \times 10^{-3}$  mM,  $5 \times 10^{-2}$  mM) hormonlarının belirtilen konsantrasyonlarını etkilemediği görülmüştür. Bu yapıların etki derecelerinin konsantrasyon bağımlı bir şekilde çimlenme hızı üzerinde kimi zaman inhibisyon kimi zaman da aktivasyon etkisinin olması, belirli dozlarda çimlenme sürecini teşvik eden modülatör madde olarak etki gösterdiğini kanıtlamaktadır (Shore *et al.* 1992; Gioelli 1942).

Ortalama çimlenme zamanı üzerine MCH'lerin etkisine bakıldığında, pek çok parametre bakımından olumlu sonuçlar sergileyen östrojen hormonunun ( $5 \times 10^{-2}$  mM ) en uzun çimlenme zamanına neden olduğu (4.39 gün) sonucu göze çarpmaktadır. Her ne kadar östrojenin büyüme ve gelişmeye pozitif katkıları biliniyor olsa da, çimlenme zamanını kısaltma noktasında bu başarıyı ortaya koyamıyor oluşu şaşırtıcıdır. Konsantrasyon farklılıklarının hormonlarla olan interaksiyonunun çok önemli olduğu çalışmada, en kısa çimlenme zamanı testesteronun  $5 \times 10^{-4}$  konsantrasyonunda tespit edilmiştir.

En yüksek çimlenme gücü indeksi (1757.67) ulaşmayı sağlayan östrojen hormonunun  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonundan tespit edilmiş olup, östrojen hormonunun çimlenmeye olan etkinliğinin standart başarısından taviz vermediği görülmektedir. Diğer uygulanan hormonların bazı doz gruplarının etkinlik sergilemediği durumlarda dahi östrojenin tüm dozlarında vigor indeksine bir etki görebilmek mümkün olmuştur. Güç indeksinde yüksek sonuçlar veren uygulamalar arasındaki başarısına paralel bir şekilde çimlenme hızı en yüksek olan uygulamanın progesteron hormonunun  $5 \times 10^{-5}$  mM konsantrasyonu (11.34) olduğu dikkat çekmektedir. Elde edilen bu sonuçlara göre özellikle hızlı bir şekilde çimlenmeyi sağlayabilmek için progesteron uygulamasının faydalı olabileceği düşünülmektedir (Dogra and Thukral 1989; Iino *et al.* 2007).

Östrojen hormonunun çimlenme gücü indeksi bakımından en yüksek değeri (1757.67) veren uygulama ( $5 \times 10^{-4}$  mM) olması, çimlenme hızına olmasa da çimlenme gücüne pozitif katkı sağladığını kanıtlar niteliktedir. Özellikle  $5 \times 10^{-2}$  mM,  $5 \times 10^{-3}$  mM

konsantrasyonlarında testosteron, progesteron ve 17  $\beta$ -östradiol hormon uygulamalarının çimlenme gücü indeksinin 0.00 olması, bu hormonların doz ayarlamasının çimlenme çıkışını teşvik etmede dikkatli bir biçimde yapılması gerektiğini vurgulamaktadır. Östrojen hormonunun bitkilerin çim gelişimini güçlü bir şekilde uyarması, her ne kadar bu süreci hızlandıramıyorsa da, daha sağlıklı, toprağa daha güçlü bir şekilde bağlanmış bitkilerin yetiştirilmesi amacı doğrultusunda oldukça umut verici bir gelişmedir (Thukral and Sharma 1992; Erdal *et al.* 2010a,b).

Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere kök uzunluğu üzerine çeşitli konsantrasyonlarda hormon uygulamasının istatistiksel açıdan çok önemli olduğu anlaşılmıştır. En yüksek kök uzunluğu verisini sağlayan hormon  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyon ile östrojen hormonu (11.57 cm) olmuştur. En düşük etkinin ise  $5 \times 10^{-3}$  mM’lık konsantrasyon ile 17  $\beta$ -östradiole (5.17 cm) ait olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Elde edilen verilerin uygulanan hormon konsantrasyonlarındaki farklılıklar dolayısıyla literatüre katkı sağladığı, bazı bitki türlerinde elde edilen verilerle örtüştüğü (Shore *et al.* 1992; Bhattacharya *et al.* 2000), bazı bitki türlerinde yapılan çalışmalardan ise farklı veriler sergilediği (Guan *et al.* 1988; Bhattacharya *et al.* 2000) görülmüştür. Elde edilen veriler; yapılan bir çalışmada östrojen, 17- $\beta$ -östradiol, testosteron ve 17- $\alpha$  hidroksi progesteron hormonlarının  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$  ve  $10^{-8}$  M konsantrasyonlarda 10 günlük buğday tohumlarının kök uzamasını kontrol bitkilere oranla önemli derecede artırması ile ilgili veriyle örtüşmektedir (Dogra and Thukral 1991a).

Uygulanan hormonların konsantrasyonlarla ilişkisinin çok önemli olduğu çalışmada, östrojen hormonu ( $5 \times 10^{-4}$  mM) kök uzunluğu parametresinde olduğu gibi sürgün uzunluğu parametresinde de en yüksek veriyi (6.01 cm) sağlamayı başarmıştır. Kök uzunluğu verisine paralel bir şekilde sürgün uzunluğunda en düşük veri (3.68 cm) ise yine 17  $\beta$ -östradiol hormonunun  $5 \times 10^{-3}$  mM konsantrasyonundan elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Östrojen homonunun belirtilen konsantrasyonda kök ve sürgün uzuluğunun kontrol gruptan daha yüksek bir değerde olmasını sağlaması, standart uygulamalara östrojen ilavesinin yapılabilirliğine dair çarpıcı bir kanıt olma niteliğindedir (Shore *et al.* 1992). Östrojen hormonunun bitki büyüme düzenleyicisi olarak kullanılabilirliğini destekler

nitelikte diğerk bir veri ise ortalama çim uzunluğunda en yüksek değeri (14.47 cm) vermesidir.

MCH'lerin kök ve gövde büyümesini ve gelişmesini teşvik ettiğine dair pek çok çalışmaya rastlamak mümkündür (Fiedler 1936; Bonner and Axtman 1937; Löve and Löve 1945; Geuns 1978; Janeczko and Skoczowski 2005). Ulaşılan veriler doğrultusunda; çimlenme ve ilişkili parametreler üzerine MCH'lerin daha çok düşük konsantrasyonlarda etkin bir aktivite sergilediğı, gelişmeyi dikkat çekici nitelikte uyardığı ifade edilebilmektedir.

Östrojen hormonunun  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonunun hem kök yaş ağırlığı (0.0577 g) hem de kök kuru ağırlığı (0.0037 g) üzerinde etkin bir üstünlüğünün olduğı Çizelge 4.4'te görülmektedir. Kök yaş ve kuru ağırlığı bakımından en düşük değerleri veren hormonun testesteron ( $5 \times 10^{-4}$  mM) olması da dikkat çekici bir veridir. Elde edilen verilerin aksine Thukral and Sharma (1992) östron ve 17- $\beta$ -östradiolün  $10^{-6}$  -  $10^{-8}$  M konsantrasyonlarda *Brassica campestris* fidelerinin gövde kuru ağırlıklarını artırdığını,  $10^{-4}$  M konsantrasyonda ise azalttığını bildirmişlerdir. Yine eldeki verilerle paralel olarak östrojen uygulamalarının kuru ve yaş ağırlıkları belirli oranda artırdığını bildiren çalışmaların varlığından da söz etmek mümkündür (Kögl and Haagen-Smit 1936; Dogra and Thukral 1989).

Östrojen hormonunun kolza bitkisinin sürgün kuru (0.0113 g) ve yaş ağırlığı (0.4667 g) üzerine en dikkat çekici etkiyi yaptığı fark edilmektedir.  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonundaki östrojenin diğerk hormonların pek çok konsantrasyonuna kıyasla başarılı bir etki sunduğı, ancak kontrolle karşılaştırıldığında ise gözle görünür biçimde kontrol seviyesinin üzerine çıkamadığı saptanmıştır. Elde edilen verilerin Shore *et al.* (1992) tarafından yapılan çalışmayla örtüşmekte, ancak 17- $\beta$ -östradiolün de benzer etkiyi yaptığı sonucuna ulaşan çalışma ile bu tez çalışması çakışmaktadır. Çünkü yapılan bu tez çalışmasında 17- $\beta$ -östradiolün  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonunun sürgün yaş ağırlığını en düşük seviyede geliştiren hormon uygulaması olduğı bulunmuştur.

Hücre bölünmesi canlılığın devamı için gerekli olan fizyolojik bir süreçtir. Büyüme ve gelişmenin temel parametresi olan mitoz bölünme, aynı zamanda genetik bilginin doğru ve eksiksiz biçimde aktarılmasının da anahtarı olarak görülmektedir. Bu çalışmanın diğer bir amacı MCH'lerin kromozom anomalilerine neden olup olmadığı, mitotik indeksi ne derecede etkilediği, mitoz bölünme aşamalarına hangi şekilde etki ettiğine dair veri elde etmektir. Bu çalışmada MCH'lerin hem normal hem de farklı konsantrasyonlarda çimlendirilen kolza tohumlarının kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve kromozom davranışları üzerine etkileri karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Literatürde eksikliği görülen MCH yapılarının sitogenetik süreçlere etki derecesinin tespiti de bu çalışma sayesinde ortaya koyulmuştur. Mitoz bölünmenin hazırlık aşaması olarak kabul gören interfaz safhasının ardından gelen profaz safhasının oranını östrojen hormonunun  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulama dozu ile %85.8 oranına çıkardığı tespit edilmiştir. Çizelge 4.6'da verilen bilgiler doğrultusunda, kontrol grubunun sahip olduğu %68.13'lük profaz oranını östrojen uygulamasının %17.6 oranında artırdığı, ancak aynı konsantrasyondaki testosteron (%65.4) ile  $17\text{-}\beta$  östradiol (%66.73) hormonlarının bu oranı kontrol grubunun sahip olduğu oranın altına düşürdüğü görülmüştür.

Uygulanan tüm hormonlar ve konsantrasyonlarının tamamında kontrol grubundan daha yüksek etki gösterebilen bir gruba rastlanmamıştır. Metafaz oranları genelde kontrol grubunun alt değerlerinde olan uygulamalar arasında en düşük etkiyi sergileyen uygulama testosteronun  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonundaki uygulaması olarak görülmektedir (Çizelge 4.6).

Anafaz oranında da metafaz oranına benzer şekilde kontrol grubunun üzerinde bir aktivite sergileyen uygulama konsantrasyonunun varlığına rastlanmamıştır. Hormonlarla uygulama konsantrasyonlarının ilişkisi diğer bölünme aşamalarında olduğu gibi istatistiksel olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.5). Aynı şekilde telofaz oranında da memeli cinsiyet hormonlarının uygulanan farklı konsantrasyonlarının hiçbirinde kontrol grubundan üstün bir aktivite gözlenmemiştir. Tüm memeli cinsiyet hormonlarının uygulamaları sonucunda, mitoz bölünmelerin tüm aşamalarında en düşük

etkiyi ortaya koyan hormon uygulamasının testesteronun  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık konsantrasyon uygulaması olması da dikkat çekici bir veri olarak göze çarpmaktadır. Eksojen olarak diğer hormonlarda da olduğu gibi testesteron hormonunun bitkilere uygulamasının meristematik hücrelerde mitoz bölünmeye yönelik uyarımı standartın da altında kalmasına neden olduğu sonucu; bu hormonun pratikte uygulamalarının kısıtlı olacağını ifade eder niteliktedir.

Mitoz bölünme sürecinde ortaya çıkabilen kromozom anomalileri, genellikle bölünme sürecine dışarıdan bir müdahale sonucunda ortaya çıkan, devamında hücre bölünmesinde gecikmeye, dolayısıyla büyüme ve gelişmede inhibisyona neden olmaktadır. Bu çalışmada uygulanan hormonlar ve bu hormonların konsantrasyonları arasındaki interaksyonun istatistiki açıdan çok önemli olduğu Çizelge 4.5'te görülmektedir. Bölünme safhalarının oranlarında azalmaya sebep olarak negatif etkinlik ortaya koyan testesteron hormonunun  $5 \times 10^{-4}$  mM'lık konsantrasyonunun en yüksek derecede kromozom anomalilerine neden olan uygulama olması sonucuyla birlikte çalışmanın kendi içerisinde tutarlı veriler ortaya koyduğu gösterilmektedir. Bitkilere uygulanan stres koşullarının bitki büyüme ve gelişiminde inhibitör nitelik sergileyebileceği bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda tuz stresinin kromozomların davranışlarını olumsuz etkilediği ve çeşitli anormalliklere neden olduğu bildirilmiştir (Huiland and Zili 2001; Tajbakhsh *et al.* 2006; Tabur vd 2015) Bitkinin doğal ortamına dışarıdan yapılan bir müdahalenin bitkiler tarafından stres olarak algılanabilme ihtimali dolayısıyla MCH'lerin de stres kaynağı gibi etki gösterip kromozom anormalliklerine neden olmuş olabileceği tahmin edilmektedir. Bu çalışmada değerlendirilen diğer parametrelerde oldukça pozitif veriler ortaya koyan östrojen hormonunun ise kontrol grubu ile kıyaslanmaksızın  $5 \times 10^{-4}$  mM ve  $5 \times 10^{-5}$  mM'lık uygulamalarıyla kromozom anormalliklerine en az neden olan uygulama olduğu Çizelge 4.6'da görülmektedir.

Mitotik indeks, mitoz bölünmenin aktivitesiyle ilişkili bir parametredir. Bu tez çalışmasında uygulanan memeli cinsiyet hormonlarının hiçbiri kontrol grubunun sahip olduğu mitotik indeks değerine erişememiştir. Pek çok parametre üzerinde pozitif nitelikler sergileyen östrojen hormonu ise bu parametre üzerinde en düşük etkiyi

göstermiştir (Çizelge 4.6). Elde edilen verilerin MCH'lerin bitki tarafından stres ortamı olarak kabul görür nitelik sergilemesi neticesinde alındığı düşünülmektedir. Mitotik indeksin stres koşullarında azaldığına dair literatürde pek çok veriye rastlamak mümkündür. Bu doğrultuda elde edilen verilerin literatürle örtüştüğü kabul edilebilir nitelik arz etmektedir (Huang and Van Steveninck 1990; Katsuhara and Kawasaki 1996; Lutsenko *et al.* 2005; Tabur ve Demir 2008; Cesur ve Tabur 2011).

Bitkilerin rejenerasyonunu uyarmak, tek bir hücreden bütün bir bitki elde etmek, genetik değişiklikler için uygun şartların sağlanmasını sağlayabilmek adına *in vitro* rejenerasyon tekniklerinin son derece önemli olduğu bilinmektedir. Özellikle genetik mühendisliği ile ilgili çalışmalar ve bunun yanında klonal çoğaltımın sağlanması için sıklıkla bu yöntemlere başvurulmaktadır (Ahmadabadi *et al.* 2007). Bu yöntemlerin başarılı olmasında pek çok faktör rol oynamaktadır. Bu faktörlerin bir kısmı çevresel olduğu gibi, bir kısmı da bitkinin genetik durumunu ifade eden genotipiyle, *in vitro* tekniklerde kullanılan eksplant türüyle ilişkilidir (Niizeki and Saito 1987). Bu çalışmada transgenik denemelere uygun olan, yılın her döneminde elde edilerek çalışılabilen, büyük oranlarda çabuk bir üretim sağlayan kotiledon ve hipokotil yapraklarından eksplant olarak faydalanılmıştır.

Çalışmada *in vitro* doku kültürü deneyleri 2 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Okapi çeşidine ait kolza bitkisinin hipokotil ve kotiledon yapraklarının eksplant olarak kullanıldığı bu çalışmanın ilk aşamasında; 4 farklı memeli cinsiyet hormonu (17 $\beta$ -Estradiol, Östrojen, Progesteron, Testosteron) ve bunların 5 farklı konsantrasyonunu (0.00, 5 $\times 10^{-5}$  mM, 5 $\times 10^{-4}$  mM, 5 $\times 10^{-3}$  ve 5 $\times 10^{-2}$  mM) içeren toplam 20 farklı kültür ortamında karanlık ve ışık yetiştirme şartlarında bazı *in vitro* parametreleri üzerine etkileri belirlenmiştir. İkinci aşamasında ise; sitokinin hormonunun (0.25 mg/l'lik TDZ hormonu) bitki rejenerasyonu üzerine olan etkisinin belirlenmesi amacıyla; 30 gün süren birinci aşamanın sonunda elde edilen bitkilerin rejenerasyonuna daha önceden kullanılmış olan farklı MCH ve konsantrasyonlarının ne derece etki ettiği araştırılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında ışıklı ortamda MCH yapılarının kolza bitkisi eksplantlarına etkisinin araştırılması noktasında incelenen ilk parametre morfolojik değişim oranıdır. Morfolojik değişim oranı üzerine özellikle hormon x eksplant x konsantrasyon interaksiyonunun çok önemli olduğu, en yüksek morfolojik değişim oranını sergileyen uygulamanın ise progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulaması olduğu saptanmıştır. Elde edilen bu verilerin çimlenme parametrelerinden farklılık arz etmesi dikkat çekicidir.

Işıklı ortamda, MCH'lerin etkilerinin incelendiği kültür koşullarında kallus oluşum oranı, *in vitro* rejenerasyon bakımından uygulamaların ne derecede etkin olacağına dair temel verileri sağlamaktadır. MCH x eksplant x konsantrasyon interaksiyonlarının çok önemli istatistiki bilgi sunduğu bu çalışmada progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamasının (%80.0) sağladığı kallus oluşum oranının kontrol grubunda (%43.75) elde edilen verinin yaklaşık iki katı olduğu dikkat çekmektedir. Progesteron hormonunun eşliğinde elde edilen bu veriye diğer uygulama gruplarından yaklaşık bir değer de dahi sonuç ileten bir uygulamanın olmayışı, akıllara progesteron hormonunun belirli konsantrasyon ve belirli eksplantlarla ilişkili olarak *in vitro* kültürlerde pratik bir kullanımının olabileceğini getirmektedir. Literatürde de progesteronun kallus gelişimini uyardığına dair verilerin varlığına rastlamak mümkündür (Dohrn *et al.* 1926; Butenandt *et al.* 1930; Janeczko and Skoczowski 2005).

Kök oluşturan eksplant yüzdesi parametresi bakımından en başarılı kombinasyonun %87.5 oranla 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM kombinasyonu olmuştur. Bu üç değişkenin birbiriyle interaksiyonun kök oluşturma yüzdesi bakımından çok önemli olduğu tespit edilen (Çizelge 4.7) bu çalışmada; elde edilen sonuçların çoğunlukla hipokotil eksplantlarından elde edildiği önemli bir ayrıntıdır. Janeczko *et. al* (2002) tarafından yapılan bir çalışmada her ne kadar 17  $\beta$ -östradiolün çimlenmeyi, kök gelişimini etkilemediği saptanmışsa da, uygun konsantrasyon, uygun eksplant seçimi ile birlikte 17  $\beta$ -östradiol hormonunun etkin bir *in vitro* kök oluşturma ajanı olabileceği bu çalışma ile gösterilmektedir.

Sürgün oluşturma oranında hormon, eksplant ve konsantrasyondan oluşan 3'lü kombinasyonun interaksiyonlarının istatistiksel olarak önem arz etmediği tespit edilmiştir. Ancak en yüksek SOE oranına sahip kombinasyonun %8.75 ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulaması olmuştur. Literatürde benzer verilerin varlığına rastlamak mümkündür (Zayed *et al.* 2011).

Bitki sayısı üzerine eksplant, hormon tipi ve hormon dozundan oluşan kombinasyonların birbirleriyle interaksiyonlarının çok önemli olduğu belirlenmiştir. En çok bitki oluşturan kombinasyonun östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulaması olması çarpıcı bir sonuçtur. *In vitro* rejenerasyon parametrelerinde yüksek başarı katsayısı sergileyemeyen östrojenin, bitki sayısı parametresinde kontrol grubunda elde edilen 3.75 adet bitki sayısının neredeyse 4 katı (11.25 adet) bir başarı ortaya koyduğu aşikardır. Bu durum östrojenin yapılacak çalışmalarla belirlenmesi gereken koşullarla, optimum ortamın sağlanması ile birlikte elde edilecek bitki sayısını artırmak suretiyle verime katkı sağlayabileceğini göstermektedir.

Bu tez çalışmasının *in vitro* rejenerasyon bölümünün ilk aşamasında, MCH yapılarının eksplantlar üzerinde karanlık ortam koşullarında test edilmesi de söz konusudur. Yapılan bu çalışmaların sonucunda pek çok parametre değerlendirilmiştir. Bu doğrultuda ilk incelenen parametre morfolojik değişim oranıdır. Elde edilen verilerin istatistiki olarak farklılık arz etmediği anlaşılmıştır. En yüksek morfolik değişim oranı %28.75 ile progesteron + kotiledon +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasına ait olarak bulunmuştur.

İncelenen parametrelerden bir diğeri kallus oluşum oranıdır. Kallus oluşum oranı karanlık koşullarda hormon, eksplant, konsantrasyon 3'lü kombinasyonun interaksiyonunun istatistiksel olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olduğu bir parametre olarak görülmektedir (Çizelge 4.9). Işıklı ortamda elde edilen verileriyle örtüşmeyen bir şekilde bu koşullarda en iyi kallus oluşum oranı gösteren kombinasyonun %31.25 ile östrojen + kotiledon + 0.00 mM uygulaması olduğu görülmektedir. Işıklı ortam koşullarında hipokotil eksplantlarının gelişim gösterdiği görülürken, karanlık ortam koşullarında kotiledon eksplantının dikkat çeken bir aktivasyonunun olduğu görülmektedir. Karanlık ortam



koşullarında özellikle yüksek memeli cinsiyet hormonu konsantrasyonlarının büyüme ve gelişmeyi inhibe edici etkiler sergilediği yapılan çalışmalarla ortaya koyulmuştur (Lino *et al.* 2007).

Karanlık ortamda en yüksek kök oluşturan eksplanta sahip kombinasyonun %78.75 ile 17  $\beta$ -östradiol + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulaması olduğu tespit edilmiştir. Testesteron hormonunun da hipokotil eksplantlarının belirli konsantrasyonlarda elde edilen yüksek veriyi yakalamayı başardığı, bu doğrultuda yalnızca 17  $\beta$ -östradiolün değil testesteronun da karanlık koşullarda kök oluşumunu artırdığı sonucuna varılabildiği ifade edilebilmektedir.

Sürgün oluşturan eksplant oranı bakımından en başarılı hormonun progesteron, eksplantının hipokotil olduğu görülmektedir (Çizelge 4.10). Ancak elde edilen verilerin interaksiyon açısından istatistiki bir önemi olmadığı ifade edilmelidir.

Karanlık büyütme şartlarında, iki farklı eksplant tipinde (hipokotil ve kotiledon) farklı MCH ve konsantrasyonları kombinasyonu sonucunda bitki gelişimi gözlenmemiştir. Bu durumun karanlık ortam koşulları ile birebir ilişkili olduğunu söyleyebilmek mümkündür.

Bu tez çalışmasında gerçekleştirilen *in vitro* doku kültürü çalışmasının ikinci aşamasında, ilk aşamanın ışıklı ve karanlık koşullarında 30 gün boyunca kültüre edilen ve bu süre sonunda sağ kalan bitkiler kullanılmıştır. Canlı kalmayı başarmış çok az sayıdaki eksplantların rejenerasyonunu sağlamak için 30. günün sonunda 0.25 mg/l TDZ içeren standart MS ortamında 30 gün süre (ışık/karanlık koşullarda) ile kültüre alınmışlardır. Bu basamak ikinci aşamayı oluşturmaktadır. Bu basamağın sonunda bazı parametrelerin değerlendirilmesi yapılmıştır.

İkinci aşamanın ışıklı ortam koşullarında elde edilen kallus yapılarının oluşum oranının hesaplanması, incelenen ilk parametredir. Bu doğrultuda en yüksek kallus oluşum oranının kontrol gruplarında hipokotil eksplantlarında %100'lük bir oranla ortaya çıktığı

görülmektedir. Tüm MCH yapılarının bütün konsantrasyonlarının denendiği kotiledon eksplantlarının hiçbirinde kallus oluşumu gözlenmemiştir (Çizelge 4.12).

Embriyogenik kallus oluşumları, bitkilerin tek bir hücreden bütün bir bitki oluşturabilecek nitelikteki yapılarıdır. Rejenerasyon kabiliyetleri son derece yüksek olan bu yapılar, genellikle amaca yönelik olarak doku kültürü ortamlarında elde edilmek istenen oluşumlar arasında yer almaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında da bu yapıların oluşum oranları üzerine 3'lü kombinasyonun (hormon x eksplant x konsantrasyon) etkisinin çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.11). En yüksek EKO oranının %70.00 ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasında olduğu dikkat çekmektedir. Embriyogenik kallus oluşturabilen tek hormon uygulamasının östrojen hormonu ve konsantrasyonları olması da östrojenin başarısının ne derecede çarpıcı olduğunu kanıtlar niteliktedir (Çizelge 4.12).

Sürgün oluşturan eksplant oranı bakımından en başarılı kombinasyonun %23.75 ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulaması olduğu dikkat çekmektedir. SOE oranı üzerine 3'lü kombinasyon etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu bu çalışmanın kendi içerisinde ve literatürle örtüşür nitelikte olduğu görülmektedir (Zayed *et al.* 2011).

EKO parametresinde çarpıcı verisiyle dikkat çeken östrojen, oluşan embriyogenik kallusların bitkiye çevrilmesi noktasında da başarılı sonuçlar sergilemektedir (Çizelge 4.12). En yüksek BS, 23.75 adet ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulamasına aittir. Shore *et al.* (1992) tarafından yapılan bir çalışmada östrojenin  $17\beta$ -estradiol'den çok daha etkin bir şekilde bitki büyüme ve gelişmesini uyardığı, belirli konsantrasyon aralığında gelişimi daha etkin bir şekilde aktive ettiği ifade edilmiştir. Sunulan bu verilerin yapılan tez çalışmasıyla da örtüştüğü görülebilmektedir.

İkinci aşamanın karanlık ortamda gelişimi kapsayan kısmında ilk incelenen parametre yine kallus oluşum oranıdır. Karanlık ortam koşullarında en başarılı sonucu veren uygulamalar hipokotil eksplantlarının tüm MCH hormonlarındaki kontrol (%100)

gruplarıdır. Diğer uygulamaların bazı konsantrasyonlarında aktivite gözlene de kontrol grubuna yakın değerlerde etkinlik sergileyen bir uygulamanın varlığından bahsetmek son derece zor görünmektedir. Bu durumda MCH'ların ışıkla daha aktif bir etki sergileyebildiği sonucu çıkarılabilmektedir.

Karanlık ortam koşullarında EKO parametresinin istatistiksel olarak çok önemli ( $P \leq 0.01$ ) olduğu, en yüksek EKO oranının %18.75 ile östrojen + hipokotil +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulamasında görüldüğü bilgisine rastlamak mümkündür (Çizelge 4.13, Çizelge 4.14). Diğer hormonların tüm konsantrasyonlarında ve tüm eksplant tiplerinde EKO gelişimine rastlanmamıştır. Ancak yalnızca östrojenin hipokotil eksplantında gerçekleştirilen uygulamalarda az da olsa bir EKO aktivitesi görülebilmektedir.

Sürgün oluşturan eksplant oranına 3'lü kombinasyon etkisinin istatistiksel olarak önemi olmadığı bu tez çalışmasında, en yüksek SOE oranı %5.00 ile östrojen + kotiledon +  $5 \times 10^{-5}$  mM uygulaması olmuştur. Östrojen pek çok bakımdan gelişimi teşvik eden bir steroid yapısı olması dolayısıyla bu verilerin literatürle örtüşür nitelikte olması şaşırtıcı olmamaktadır (Shemesh and Shore 2012).

Bitki sayısı üzerine hormon x eksplant x konsantrasyon interaksiyonlarının etkisi önemli düzeyde ( $P \leq 0.05$ ) nitelik arz etmektedir. En yüksek bitki sayısı ortaya koyan uygulama ise 6.25 adet ile progesteron + hipokotil +  $5 \times 10^{-4}$  mM uygulaması olarak görülmektedir. Karanlık ortam koşullarında rejenerasyonu tamamlayamadan canlılığını kaybeden bitki sayısının artışıyla, sonuçlar her bir parametrede farklı nitelikler sergilemektedir. Bu durumun karanlık ortam koşullarından ileri geldiği aşıkardır.

## 5.2. Sonuç ve Öneriler

Memeli cinsiyet hormonları hem bitkilerin kendileri tarafından üretilen hem de dışarıdan yapılan uygulamalarla bilimsel çalışmalarda kendilerine yer edinebilen steroid yapılı bileşiklerdir (Janeczko and Skoczowski, 2005). Güncel bilim dünyasında sıklıkla çalışmalara konu olan MCH'lerin, kolza bitkisinde sitogenetik, çimlenme ve doku kültürü

parametreleri konularında yapılan ilk çalışma bu tez çalışmasıdır. Bu tez çalışmasından elde edilen verilerin ışığında MCH'lerin çimlenme ve doku kültürü basamakları bakımından umut verici nitelikler sergilediği söylenebilir.

Çimlenmeye dair parametrelerde, özellikle östrojenin  $5 \times 10^{-4}$  mM konsantrasyonunda aktif bir etki sergilediği açıkça görülmektedir. Elde edilen veriler doğrultusunda östrojenin bu konsantrasyonunun çimlenmeye katkı sağlayabilmek adına eksojen olarak uygulanabilir preparatlarının hazırlanabileceği düşünülmektedir. Aynı şekilde *in vitro* doku kültürü ortam şartlarında da progesteron, östrojen,  $17\beta$ -östradiolün farklı parametrelere farklı etkilerde bulunduğu aşıkardır. Özellikle embriyogenik kallus gelişiminin östrojen hormonunca uyarımının daha kolay sağlandığı, kültür koşullarında bu veriden faydalanılabileceği düşünülmektedir.

Sitogenetik verileri bakımından MCH yapılarının özellikle kromozom anormallikleri oluşturması ihtimallerinin olduğu, çok yüksek oranlar olmasa dahi, bu durumun olumsuz bir nitelik sergilediği aşıkardır. Mitotik indeks oranını kontrol grubunda elde edilenin dahi altına düşüren MCH yapılarının, bu etkilerini kök ucunda yer alan meristematik hücrelerde ortaya koyduğu unutulmamalıdır. Gamet oluşumundan sorumlu hücrelerin büyümesi, bölünmesi ve kromozom eşlemesinin bitkilerin genetik bilgilerini nesilden nesile taşımaları için gerekli olduğu düşünüldüğünde; bu steroid yapılarının gamet oluşumundan sorumlu hücrelere ne gibi etkilerde bulunacağı sorusu bir başka bilimsel çalışmanın konusu olmaya adaydır.

Nitekim elde edilen verilerin MCH'lerin çimlenme, doku kültürü veya sitogenetik gibi alanların herhangi biri için pratikte kullanımını sağlamak adına optimum konsantrasyon ayarlamasını gerekli kıldığı son derece açıktır. Bu doğrultuda bu çalışmanın yegane önerisi MCH'lerin pratikte kullanımı için etkili olan konsantrasyonun uygulamaları için daha geniş çaplı denemelerin yapılması ve uygun kullanım preparatlarının geliştirilmesi için bilimsel temelli projelerin geliştirilmesi olacaktır.

**KAYNAKLAR**

- Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D., 1970. Viability and leaching of sugars from germinating barley. *Crop Science* 10(1):31-34.
- Acemi, A., 2011. Farklı Konsantrasyonlardaki Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin *Amsonia orientalis* Decne. (Apocynaceae)'nin Doku Kültürü ile Çoğaltılmasına Olan Etkilrinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli.
- Adams, N.R., 1995. Detection of the effects of phytoestrogens on sheep and cattle. *J Anim Sci* 73, 1509-1515.
- Ahmadabadi, M., Ruf, S., Bock, R., 2007. A leaf \_based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.). *Transgenic Res.*, 16:437-448.
- Anonymous., 2007. FAO verileri.
- Anonymous., 2016. TÜİK, Tarım istatistikleri verileri.
- Aşkın, H., 2009. Bazı Bitkisel Östrojenlerin *Drosophila Melanogaster*'de Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi ve Folik Asit Kullanılarak Bu Etkilerin İyileştirilmesi Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
- Aydoğdu, M., Boyraz N., 2005. Bitki büyüme düzenleyicileri (Hormon) ve hastalıklara dayanıklılık. *Bitkisel Araştırma Dergisi*, 1, 35-40.
- Aytaç, Z., 2007, Bazı kışlık kanola (*Brassica napus* ssp.oleifera L.) çeşitlerinin tarımsal özellikleri ve Eskişehir koşullarına adaptasyonu, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.112 s.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S., 2001. Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü Uygulamaları. Ders Kitabı, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya.
- Baran, M.F., 2010. Kanola'nin Hasat Mekanizasyonu Ve Hasat Kayıplarının Saptanması Üzerine Bir Araştırma. Doktora Tezi, Namik Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarım Makineleri Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Baran, M.S.,Kocabağlı, N., 2000. Yemlerdeki Östrojenik Etkili Maddeler Ve Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 26, 113-128.
- Bhattacharya, B. and Gupta, K., 1981. Steroid hormone effects on growth and apical dominance of sunflower. *Phytochemistry*, (20), 989-991.
- Bishop, G.J., Koncz, C., 2002. Brassinosteroids and Plant Steroid Hormone Signaling, *The Plant Cell*, 14 (Suppl. S) S97–S110, Supplement,
- Blair, G. 1993. Nutrient efficiency-what do we really mean. *Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition*. pp. 205-213. In: P. J. Randall, E. Delhaize, R. A. Richards, and R. Munns. (eds.), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Bonner, J. and Axtman, G., 1937. The growth of plant embryos *in vitro*. Preliminary experiments on the role of accessory substances. *Proc Natl Acad Sci.*, (23), 453-457.
- Butenandt, A., Jacobi, H., 1933. Über die Darstellung eines krystallisierten pflanzlichen Tokokinins (Thelykinins) und seine Identifizierung mit dem  $\alpha$ -Follikelhormon. Untersuchungenüber das weibliche Sexualhormon. *Hoppe Seyler's Z Physiol. Chem.*, (218), 104-112.

- Carvalho, I.S., Miranda, I., Pereira, H., 2006, Evaluation of oil composition of some crops suitable for human nutrition, *Industrial Crops and Products*, 24, 75-78.
- Chi, G. L., D. G. Barfield, G.-E. Sim, and E.-C. Pua, 1990: Effect of AgNO<sub>3</sub> and aminoethoxyvinylglycine on *in vitro* shoot and root organogenesis from seedling explants of recalcitrant Brassica genotypes. *Plant Cell Reports* 9, 195—198.
- Dogra R. and Thukral A.K., 1989. Effect of steroid and plant hormones on growth of maize cv. Canga 5. *Crop. Res.*, 2(1), 42-47.
- Dogra, R. and Thukral, A., 1991. Effect of steroid and plant hormones on some germination aspects of *Triticum aestivum* L. In: *New trends in plant physiology Physiology* (Eds. K. K. Dhir, I. S. Dua and K. S. Chark), Today and Tomorrow's Printers and Publishers, New Delhi, 65-70.
- Doğru, A., 2006. Kolza (*Brassica Napus* L. Ssp. *Oleiferayn*nin Bazı Kışlık Çeşitlerinde Düşük Sicaklık Toleransi ile İlgili Fizyolojik Ve Biyokimyasal Parametrelerin Araştırılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Dohrn, M., Faure, W., Poll, H., Blotevogel, W., 1926. Tokokinine, Stoff mit sexual hormonartiger Wirkung aus Pflanzenzellen. *Med Klin.*, (22), 1417-1419.
- Dönbak, L., Rencüzoğulları, E., Topaktaş, M., 2002. The Cytogenic Effects of the Food Additive Boric Acid in *Allium cepa* L. the Japan Mendel Society. *Cytologia*, 67, 153-157.
- Dumlupınar, R., Genisel, M., Erdal, S., Korkut, T., Taspınar, M.S., Taskın, M., 2011. Effects of progesterone,  $\beta$ -estradiol and androsterone on the changes of inorganic element content in barley leaves. *Biol. Trace Elem. Res.*, 143, 1740-1745.
- Elçi, Ş., 1982. Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, 165 s, Elazığ.
- Erdal, S., 2012. Alleviation of salt stress in wheat seedlings by mammalian sex hormones..*J Sci. Food Agriculture*,92, 1411-1416.
- Erdal, S., 2012. Exogenous mammalian sex hormones mitigate inhibition in growth by enhancing antioxidant activity and synthesis reactions in germinating maize seeds under salt stress. *J. Sci. Food Agric*, 92, 839-843.
- Erdal, S., Dumlupınar, R., 2011. Exogenously treated mammalian sex hormones affect inorganic constituents of plants. *Biol. Trace Elem Res.*, 143, 500-506.
- Erdal, S., Dumlupınar, R., 2011. Mammalian sex hormones stimulate antioxidant system and enhance growth of chickpea plants. *Acta Physiol Plant*, 33, 1011-1017.
- Erdal, S., Dumlupınar, R., Cakmak, T., Genisel, M., 2010a. Mammalian sex hormones influence germination velocity and enzyme activities in germinating maize seeds. *Fresenius Environmental Bulletin.*, 19 (8), 1458-1465.
- Erdal, S., Dumlupınar, R., Cakmak, T., Taskin, M., 2010b. Determination of some inorganic element concentration changes in germinating chickpea seeds exposed to progesterone and  $\beta$ -estradiol by using wdxrf spectroscopic technique. *Fresenius Environmental Bulletin.*, 19 (3), 507-515.
- Erdal, S., Genisel M., Turk H., Gorcek Z., 2012. Effects of progesterone application on antioxidant enzyme activities and K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio in bean seeds exposed to salt stress. *Toxicology and Industrial Health*, 28(10), 942-946.
- Erdem, Ç. 1993. Türkiye’de yağ bitkileri tarımının bugünkü durumu ve geliştirme imkanları. Selçuk Üniv. Fen Bilimleri Enst. Yüksek Lisans Semineri.
- Fiedler, H., 1936. Kulturen isolierter Wurzelspitzen. *Zeitschr. Botan.*, (30), 385-436.

- Fox, D.P., 1969. Some Characteristic of the Cold Hydrolysis Technique for Staining Plant Tissues by the Feulgen Reaction. *Journal of Histochemistry Cytochemistry*, 17, 266-272.
- Genisel, M., Turk, H., Erdal, S., 2012. Exogenous progesterone application protects chickpea seedlings against chilling-induced oxidative stress. *Acta Physiol Plant*, DOI 10.1007/s11738-012-1070-3.
- Geuns, J.M.C., 1978. Steroid hormones and plant growth and development. *Phytochemistry*, (17), 1-14.
- Gibbs, M.J., 1992. Genetic engineering of the forage legume *Lotus Corniculatus* using *Agrobacterium*: mediated transformation systems. Doctoral thesis, Durham University Department of Biological Sciences, UK.
- Gioelli, F., 1942. Die wirkung des Follikelhormons (Ostradiol, Dihydrofollikulin) auf Kulturen pflanzlicher Gewebe *in vitro*. *Arch Sci Biol.*, (28), 311.
- Glimelius, K., 1984: High growth rate and regeneration capacity of hypocotyl protoplasts in some Brassicaceae. *Physiol. Plantarum* 61, 38-44.
- Guan, M., Roddick, J.G., 1988. Epibrassinolide-inhibition of development of excised, adventitious and intact roots of tomato (*Lycopersicon esculentum*): Comparison with the effects of steroidal estrogens. *Physiologia Plantarum*. 74(4), 720-726.
- Guidetta Roti-Michelozzi, G., 1986. Biosystematic studies on the *Vicia villosa* complex in Europe. *Candollea*, 41, 399-411.
- Hachey, J. E., K. K. Sharma, and M. M. Moloney, 1991: Efficient shoot regeneration of *Brassica campestris* using cotyledon explants cultured *in vitro*. *Plant Cell Reports* 9, 549—554.
- Hacibektaşoğlu Y. E., 2011. Memeli cinsiyet hormonları (östron ve testesteron)'nın farklı hıyar (*Cucumis sativus* L.) genotiplerinde çimlenme karakterleri, bitki gelişimi, cinsiyet oluşumu ve antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkisi, Y.Lisans, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum.
- Huang, C.X., Van Steveninck, R.F.M., 1990. Salinity Induced Structural Changes in Meristematic Cells of Barley Roots. *New Phytologist*, 115, 17-22.
- Huilan, Y., Zili, Z., 2001. Cell Division and Chromosome Behavior of *Hordeum vulgare* Seedlings under Salt Stress. *Hereditas*, 23(1), 29-32.
- Iino, M., Nomura, T., Tamaki, Y., Yamada, Y., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., Mori, M., Asami, T., Nakano, T., Yokota, T., 2007. Progesterone: its occurrence in plants and involvement in plant growth. *Phytochemistry*, (68), 1664–1673.
- Jain, R. K., J. B. Chowdhury, D. R. Sharma, and W. Friedt, 1988: Genotypic and media effects on plant regeneration from cotyledon explant cultures of some *Brassica* species. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 14, 197—206.
- Janeczko A., Filek Wł., Skoczowski A. 2002. Influence of human sex hormones on the growth response of winter wheat immature embryos and callus. *Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych*, 488, 667-673.
- Janeczko, A. And Skoczowski, A., 2005. Mammalian sex Hormones in plants. *Folia Histochemica Et Cytobiologica*, 43(2), 71-79.
- Janeczko, A., 2000. Influence of selected steroids on plant physiological processes - especially flowering induction (in Polish). PhD Dissertation, Agricultural University, Krakow, Poland.
- Janeczko, A., 2012. The presence and activity of progesterone in the plant kingdom. *Steroids*, 77, 169-173.

- Janeczko, A., Budziszewska B., Skoczowski A. Dybala M., 2008. Specific binding sites for progesterone and 17 $\beta$ -estradiol in cells of *triticum aestivum* L. *Acta Biochimica Polonica*, 55 (4), 707–711.
- Janeczko, A., Filek W., 2002. Stimulation of generative development in partly vernalized winter wheat by animal sex hormones. *Acta Physiologiae Plantarum*, 24 (3), 291-295.
- Janeczko, A., Filek, W., Biesaga-Ko\_cielniak J., Marci\_ ska, Janeczko, Z., 2003. The influence of animal sex hormones on the induction of flowering in *Arabidopsis thaliana*: comparison with the effect of 24-epibrassinolide. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 72, 147–151.
- Janeczko, A., Kocurek, M., Marcińska, I., 2012. Mammalian androgen stimulates photosynthesis in drought-stressed soybean. *Cent. Eur. J. Biol.*, 7(5), 902-909.
- Janeczko, A., Oklešťková J., Simerský R., Novák O., 2011. Presence of progesterone in leaves of spring wheat. The 5th Conference of the Polish Society of Experimental Plant Biology, 6-9 September 2011, Wrocław, Poland.
- Katsuhara, M., Kawasaki, T., 1996. Salt Stress Induced Nuclear and DNA Degradation in Meristematic Cells of Barley Roots. *Plant and Cell Physiology*, 37, 169-173.
- Keller, W. A., and K. C. Armstrong, 1977: Embryogenesis and plant regeneration in *Brassica napus* anther cultures. *Can. J. Bot.* 55, 1383— 1388.
- Khehra, G. S., and R. J. Mathias, 1992: The interaction of genotype, explant and media on the regeneration of shoots from complex explants of *Brassica napus* L. *J. Experimental Botany* 43, 1413— 1418.
- Khripach, V., Zhabinskii, V., Groot, A 2000. Twenty years of brassinosteroids: Steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Annals Of Botany* 86, 441-447, Doi:10.1006/Anbo.2000.1227, Available Online At <http://www.idealibrary.com>
- Kılıç, Y., 2007. Fitohormonların Saplı Meşe (*quercus robur* L.) 1+0 Yaşlı Fidan Morfolojik Karakterler Üzerine Etkisi. Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara
- Kiasalari, Z., Khalili, M. and Aghaei, M., 2009. Effect of *withania somnifera* on levels of sex hormones in the diabetic male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 7 (4), 163-168.
- Kolsarıcı, Ö., 2006, Hammadde olarak biyodizel üretiminde kullanılacak yağlı tohumlu bitkilerin potansiyeli ve biyodizel uygulamaları, Enerji Bitkileri ve Yeşil Yakıtlar Sempozyumu, 14-15 Aralık 2006, İzmir. 15-32.
- Konuk, M., Liman, R., Ciğerci, İ.H., 2007. Determination of Genotoxic Effect of Boron on *Allium cepa* Root Meristematic Cells. *Pakistan Journal of Botany*, 39(1), 73-79.
- Kopcewicz, J., 1972. Oestrogens in the long-day plants *Hyoscamus niger* and *Salvia splendens* grown under inductive and non-inductive light conditions. *New Phytol.*, (71), 129-134.
- Kopcewicz, J., Porazinski Z., 1974. Effects of growth regulators, steroids and estrogen fraction from sage plants on flowering of a long day plant, *Salvia splendens*, Grown under non-inductive light conditions. *Biologia Plantarum (Praha)*, 16 (2), 132-135.
- Kögl, F., Haagen-Smit, A.J., 1936. Biotin und Aneurin als Phytohormone. *Z Physiol Chem.*, (243), 209-227.



- Kuiper, G.G. J. M., Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Häggblad, J., Nilsson, S., Gustafsson, J., 1997. Comparison of the Ligand Binding Specificity and Transcript Tissue Distribution of Estrogen Receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *Endocrinology*, 138(3), 863–870.
- Kumar, G., Srivastava, N., 2011. Genotoxic Effects of Two Commonly Used Food Additives of Boric Acid and Sunset Yellow in Root Meristems of *Trigonella foenum-Graecum*. *Iranian Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 4(8), 361-366.
- Kumlay, A.M., Eryiğit, T., 2011. Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyici maddeler: Bitki hormonları. *İğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / İğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.*, 1(2), 47-56.
- Kuta, E., 1980. Karyological Studies on the Genus *Vicia* L. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 22, 81-89.
- Ladizinsky, G., Hadassa, V.O., 1984. Genetic Relationships between Wild and Cultivated *Vicia ervilia* (L.) Willd. *Botanical Journal of The Linnean Society*, 89, 97-100.
- Lichter, R., 1982: Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 105.
- Lino, M., Nomura, T., Tamaki, Y., Yamada, Y., Yoneyama, K., Takeuchi, Y., Mori, M., Asami, T., Nakano, T., Yokota, T., 2007. Progesterone: its occurrence in plants and involvement in plant growth. *Phytochemistry*. 68(12), 1664-73.
- Löve, A., Löve, D., 1945. Experiments on the effects of animal sex hormones on dioecious plants. *Ark Botanik*, (32), 1-60.
- Lutsenko, E.K., Marushko, E.A., Kononenko, N.V., Leonova, T.G., 2005. Effects of Fusicoccin on the Early Stages of Sorghum Growth at High NaCl Concentrations. *Russian Journal of Plant Physiology*, 52, 332-337.
- Maguire, J.D., 1962. Speed of germination—aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. *Crop science* 2(2):176-177.
- Maxted, N., Callimassia, M.A., Bennett, M.D., 1991. Cytotaxonomic Studies of Eastern Mediterranean *Vicia* Species (Leguminosae). *Plant Systematics and Evolution*, 177, 221-234.
- Milanesi, L., Boland, R., 2004. Presence of estrogen receptor (ER)-like proteins and endogenous ligands for ER in solanaceae. *Plant Science*, 166, 397-404.
- Milanesi, L., Monje, P., Boland, R., 2001. Presence of estrogens and estrogen Receptor-like proteins in *solanum glaucophyllum*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 289, 1175–1179.
- Moradi Dezfuli, P., F. Sharif-zadeh and M. Janmohammadi. 2008. Influence of priming techniques on seed germination behavior of maize inbred lines (*Zea mays* L.). *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 3(3): 22-25.
- Murata, M., and T. J. Orton, 1987: Callus initiation and regeneration capacities in *Brassica* species. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 11, 111—123.
- Murkies, A.L., Frydenberg, M., 2000. Phytoestrogens. *Encyclopedia of hormones*, 3:192–201.
- Narasimhulu, S. B., and V. L. Chopra, 1988: Species specific shoot regeneration response of cotyledonary explants of *Brassicaceae*. *Plant Cell Reports* 7, 104—106.
- Niizeki, M., Saito, K., 1987. *Plant tissue culture letters*. 4(1), 27-31.
- Özen, H.Ç. ve Onay, A., 2007. *Bitki Fizyolojisi*. Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti., 332, Ankara, Türkiye.

- Özer, Ö., 2006. Menopoz Ve Fitoöstrojenler. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı fitoterapi Drogları Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi S: 1
- Özgüven, M. 1995. Yağ bitkileri, Cilt II, G.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:47, Adana.
- Öztürk, Ö., 2000, Bazı kışlık kolza çeşitlerinde farklı ekim zamanı ve sıra arası uygulamalarının verim, verim unsurları ve kalite üzerine etkileri, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı,, Konya.
- Palmer, C. E., 1992: Enhanced shoot regeneration from *Brassica campestris* by silver nitrate. *Plant Cell Reports* 11, 541—545.
- Pandey, R.M., Santosh, U., 2007. Impact of Food Additives on Mitotic Chromosomes of *Vicia faba* L. *Caryologia*, 60( 4), 309-314.
- Pekşen, A., 2011. Memeli cinsiyet hormonları (östron ve testosteron)’nın domateste (*Lycopersicon esculentum* mill.) tohum çimlenmesi, fide gelişimi, çiçeklenme, cinsiyet oluşumu ve antioksidan enzim aktivitesi üzerine etkisi, Y.Lisans, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum.
- Piironen, V., Lindsay, D.G., Miettinen, T.A., Toivo, J., Lampi, A.M, 2000. Plant sterols: Biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 939-966.
- Pua, E. C, and G. L. Chi, 1993: De novo shoot morphogenesis and plant growth of mustard (*Brassica juncea*) *in vitro* in relation to ethylene. *Physiol. Plantarum* 88, 467—474.
- Radke, S. E., B. M. Andrews, M. M. Moloney, M. L. Crouch, J. C.Krid, and V. C. Knauf, 1988: Transformation of *Brassica napus* L.using *Agrobacterium tumefaciens*: developmentally regulated expression of a reintroduced napin gene. *Theor. Appl. Genet.* 75, 685—694.
- Raman, D.R., A.C. Layton, L.B. Moody, J.P. Easter, G.S. Saylor, R.T. Burns, and M.D. Mullen. 2001. Degradation of estrogens in dairy waste solids: Effects of acidification and temperature. *Trans. ASAE* 44:1881–1888.
- Rousi, A., 1961. Cutotaxonomic Studies on *Vicia cracca* L. and *V. tenuifolia* Roth. I. Chromosome Number and Karyotype Evolution. *Hereditas*, 47, 81-110.
- Sarin, R., 2005. Useful metabolites from plant tissue cultures. *Biotechnology*, 4(2), 79-93.
- Sethi, U., A. Basu, and S. G. Mukherjee, 1990: Role of inhibitors in the induction of differentiation in callus cultures of *Brassica*, *Datura* and *Nicotiana*. *Plant Cell Reports* 8, 598—600.
- Sharma, P.C., Gupta, P.K., 1982. Karyotypes in some Pulse Crops. *The Nucleus*, 25, 181-185.
- Shemesh, M., Shore, L.S., 2012. Effects of Environmental Estrogens on Reproductive Parameters in Domestic Animals. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, 67(1), 6-10.
- Shore, L.S., Y. Kapulnik, B. Ben-Dov, Y. Fridman, S. Weninger, and M. Shemesh. 1992. Effects of estrogen and 17 $\beta$ -estradiol on vegetative growth of *Medicago sativa*. *Physiol. Plant.* 84:217–297.
- Sláma, K., 1980. Animal hormones and antihormones in plants. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 175(3), 177-193.
- Snochowski, M., Romanowicz, K., 2003. The use of estrogen receptors for evaluation of phytoestrogens activities in mammals. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*,12(53), 175-187.

- Snowdon R, Lühs W, Friedt W. 2007. Oilseed rape. E. Kole (Ed.), Series Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Volume 2, Oilseeds. Springer, Berlin, pp. 55–114.
- Sobutay, T. 2004. Sektör Araştırması. İstanbul Dış Ticaret Odası, Dış Ticaret Şubesi Araştırma Servisi. İstanbul.
- Spangenberg, G., H. U. Koop, R. Lichter, and H. G. Schweiger, 1986: Microculture of single protoplasts of *Brassica napus*. *Physiol. Plantarum* 66, 1—8.
- Speranza, A., 2010. Into the world of steroids: A biochemical “keep in touch” in plants and animals. *Plant Signaling and Behavior*, 5(8), 940-943.
- Steinmetz KA, Potter JD. 1996. Vegetable, fruit and cancer epidemiology. *Cancer Causes Control*. 2: 325-351.
- Tabur, S., Civelek, Ş., Bağcı, E., 2002. Cytotaxonomic Studies on some *Vicia L.* Species Growing in Eastern Mediterranean Region of Turkey. *Acta Botanica Hungarica*, 44(1-2), 185-204.
- Tabur, S., Demir, K., 2008. Tuz Stresi (NaCl) Altında Çimlendirilen Arpa Tohumlarının Mitotik İndeks ve Kromozom Anormallikleri Üzerine Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicisi Kombinasyonlarının Etkileri. *SDÜ Fen Edebiyat Fakültesi Fen Dergisi*, 3(2), 162-173.
- Tabur, S., Demir, K., 2009. Cytogenetic Response of 24-Epibrassinolide on the Root Meristem Cells of Barley Seeds under Salinity. *Plant Growth Regulation*, 58, 119–123.
- Tajbakhsh, M., Zhou, M.X., Chen, Z.H., Mendham, N.J., 2006. Physiological and Cytological Response of Salt-Tolerant and Non-Tolerant Barley to Salinity during Germination and Early Growth. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(4), 555-562.
- Tanino, M., Betsuyaku, T., Takeyabu, K., Tanino, Y., Yamaguchi, E., Miyamoto, K., *et al.* (2002). Increased levels of interleukin-8 in BAL fluid from smokers susceptible to pulmonary emphysema. *Thorax* 57, 405–411. doi: 10.1136/thorax.57.5.405
- Terziiskii, D., Dimitrov, B., 1983. Karyotype Analyses in *Vicia hirsuta* (L.) S:F:Gray and *Vicia Meyeri* Boiss. *Caryologia*, 36, 345-354.
- Thukral, A.K. and Sharma, D., 1992. Effect of estrogens on the growth of *Brassica campestris L.* *Bionature*, (12), 43-46.
- Toker, E., Zincirlioğlu, M., Alarşlan, Ö.F., 1998, Hayvan yetiştirme, yemler ve hayvan besleme, Baran ofset, 2. baskı, Ankara, 212 s.
- Toprak, R., 2002. Bakla (*Vicia faba L.*) Kökü Meristem Hücrelerinde Mitotik Aktivite Üzerine Bor'un Etkileri. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 31 s, Afyon.
- Tosun, M., Bitki Sitogenetiği, Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, 2015.
- Williams, J., D. A. C. Pink, and N. L. Biddington, 1990: Effect of silver nitrate of long-term culture and regeneration of callus from *Brassica oleracea var. gemmifera*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 21, 61—66.
- Xu, Z. H., M. R. Davey, and E. C. Cocking, 1982: Plant regeneration from root protoplasts of *Brassica*. *Plant Science Letters* 24, 117— 121.

- Yang, M. Z., S. R. Jia, and E. C. Pua, 1991: High frequency of plant regeneration from hypocotyl explants of *Brassica carinata* A.Br. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 24, 79—82.
- Ylstra, B., Touraev, A., Brinkmann, A.O., Heberle- Bors, E., Van Tunen, A.J., 1995. Steroid hormones stimulate germination and tube growth of *in vitro* matured tobacco pollen. *Plant Physiol*, 107, 639-643.
- Yoo, HH., Kim, T., Ahn, S., Kim, Y.J., Kim, H.Y., Piao, X.L., Park, J.H., 2005. Evaluation of the estrogenic activity of Leguminosae plants. *Biol Pharm Bull*, 28, 538—540.
- Zayed, R., El-Shamy, H., Berkov, S., Bastida, J., Codina, C., 2011. In vitro micropropagation and alkaloids of *Hippeastrum vittatum*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 47, 695-701



## ÖZGEÇMİŞ

Gholamreza JANNATİ, 1977 yılında İran'ın Khoy şehrinde doğdu. 1998 yılında Khoy Madani Lisesi'ni bitirdi. 1999 yılında kazandığı Khoy Azad Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden 2004 yılında mezun oldu. Aynı yılda kazandığı aynı Üniversitenin Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümün'de 2006 yılında yüksek lisansını bitirdi. 2010 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim dalında doktora programına başladı.

