

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**OĞULOTU (*Melissa officinalis* L.) GENOTİPLERİNİN DOKU
KÜLTÜRÜNE YANITLARININ BELİRLENMESİ**

Özge TOPÇU BAYRAM

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 30/09/2010

Tez Danışmanı:

Doç. Dr. Hakan TURHAN

ÇANAKKALE

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

ÖZGE TOPÇU BAYRAM tarafından DOÇ. DR. HAKAN TURHAN yönetiminde hazırlanan “OĞULOTU (*Melissa officinalis* L.) GENOTİPLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜNE YANITLARININ BELİRLENMESİ” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hakan TURHAN

Danışman

Doç. Dr. Murat ŞEKER

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Cem EGESSEL

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 30/09/2010

Prof. Dr. İsmail TARHAN

Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Yüksek Lisans BAP tarafından 2009/36 no'lu projeden desteklenmiştir.

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Özge TOPÇU BAYRAM

TEŞEKKÜR

Öncelikle, bugünlere gelmemde büyük emeği olan, bana sabırlı, fedakar ve özverili olmayı öğreten, her koşulda yanımda olan ve her zaman kendilerine layık olmaya çalıştığım saygıdeğer **Aileme**, tez konumun belirlenmesinde ve hazırlanmasında gösterdiği yardım, emek ve ilgilerinden dolayı başta değerli danışman hocam **Doç. Dr. Hakan TURHAN**'a ve tüm Tarla Bitkileri Anabilim Dalı hocalarıma, tez konumla ilgili yaptığı yardımlarından dolayı **Arş. Gör. Onur Sinan TÜRKMEN**'e, çalışmalarım için her zaman destek veren ve imkanlar dahilinde izin veren Gelibolu Tarım İlçe Müdürüm **Cengiz CANDAN**'a, manevi desteğinden dolayı kendisini her zaman yanımda hissettiğim değerli eşim **Ali Rıza BAYRAM**'a ve emeği geçen herkese sonsuz teşekkür ediyorum.

İyi ki varsınız...

Özge TOPÇU BAYRAM

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BA	6-Benzylaminopurine
IBA	Indole Butyric Acid
IAA	Indole Acetic Acid
KİN	Kinetin
M	Molar
MS	Murashige ve Skoog
SD	Serbestlik Derecesi

ÖZET

OĞULOTU (*Melissa officinalis* L.) GENOTİPLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜNE YANITLARININ BELİRLENMESİ

Özge TOPÇU BAYRAM

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç Dr. Hakan TURHAN

30/09/2010, 67

Bu çalışma Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Doku Kültürü ve Biyoteknoloji laboratuvarlarında 2009-2010 yıllarında yürütülmüştür. Araştırmada oğulotu bitkisinin (*Melissa officinalis* L.) doku kültürüne aktarılması ve doku kültüründe bazı büyüme düzenleyicilerine olan yanıtının saptanması amaçlanmıştır. Bu çalışmada kullanılan genotiplerden birisi Kazdağı florasında yetişen oğulotu olmuştur. Bunun yanında Çanakkale yöresinde yetiştirilen bir genotip ile yurtdışı kökenli (İtalya) bir genotip kullanılmıştır. Bitkilerin doku kültürüne aktarılması için tohum sterilizasyon yöntemi uygulanmıştır. Bu steril bitkilerden elde edilen aksiller meristemler kullanılarak genotiplerin farklı büyüme düzenleyicilerine yanıtları belirlenmiştir. Ölçülen karakterler bitki boyu, boğum sayısı, kullanılabilir boğum sayısı, yeşil sürgün ağırlığı, klorofil indeksi, kök gelişim skoru ve uçucu yağ oranıdır. IBA ve IAA kullanılan besi ortamlarında daha fazla köklenme olduğu belirlenmiştir. BA ve Kinetin uygulamalarında ise sürgün gelişiminin daha fazla olduğu saptanmıştır. Genel olarak uygulamaların artan dozlarında, bitkideki etkileri artış göstermiş, daha sonra ise bir azalış meydana gelmiştir.

Anahtar sözcükler: Oğulotu, büyüme düzenleyici, *in vitro*, besi ortamı, uçucu yağ

ABSTRACT

RESPONSE OF LEMON BALM (*Melissa officinalis* L.) GENOTYPES TO TISSUE CULTURE

Özge TOPÇU BAYRAM

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Crop Science Thesis of Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Hakan TURHAN

30/09/2010, 67

This study was conducted in Tissue Culture Laboratory of Department of Field Crops and Biotechnology Laboratory of Agricultural Faculty during 2009-2010. The objectives of the study were to transfer lemon balm (*Melissa officinalis* L.) to *in vitro* conditions and determine its response to some growth regulators. In the study, a genotype grown in Kazdağı (Ida Mountain) flora was used. Besides, a genotype grown in the region of Çanakkale and an Italian genotype were used. Seed sterilization method was used for transferring the plant in *in vitro* conditions. Axillary meristems obtained from those *in vitro* plantlets were used to test their response to different growth regulators. Measured characters are plant height, number of nodes, number of useable nodes, fresh shoot weight, chlorophyll index, root scores and ratio of essential oil. IBA and IAA in the growth media used was found to be more rooting. BA and Kinetin applications were found to be more of the shoot growth. In general practices in increasing doses, the plant has increased the impact, then a decrease occurred.

Keywords: Lemon balm, growth regulators, *in vitro*, media, essential oil

İÇERİK

	<u>Sayfa</u>
TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
BÖLÜM 1 – GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 - ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	6
BÖLÜM 3 - MATERYAL VE YÖNTEM	10
3.1. Bitkilerin Steril Koşullara Aktarılması	10
3.2. Denemenin Kurulması	11
3.3. Ölçümler	13
3.4. <i>In Vitro</i> Bitkilerin <i>In Vivo</i> Koşullara Aktarılması.....	15
3.5. Uçucu Yağ Analizi.....	16
BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	17
4.1. BA (6-Benzylaminopurine).....	17
4.1.1. Bitki Boyu.....	17
4.1.2. Kök Skoru	19
4.1.3. Boğum Sayısı.....	20
4.1.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı	22
4.1.5. Yeşil Ağırlık	23
4.1.6. Klorofil İndeksi.....	24
4.1.7. BA Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar	26
4.2. KİN (Kinetin).....	27
4.2.1. Bitki Boyu.....	27
4.2.2. Kök Skoru	28
4.2.3. Boğum Sayısı.....	29
4.2.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı	30
4.2.5. Yeşil Ağırlık	32
4.2.6. Klorofil İndeksi.....	33

4.2.7. Kinetin Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar	35
4.3. IAA (Indole Acetic Acid).....	36
4.3.1. Bitki Boyu.....	36
4.3.2. Kök Skoru	37
4.3.3. Boğum Sayısı.....	38
4.3.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı	39
4.3.5. Yeşil Ağırlık	41
4.3.6. Klorofil İndeksi.....	42
4.3.7. IAA Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar	44
4.4. IBA (Indole Butyric Acid).....	45
4.4.1. Bitki Boyu.....	45
4.4.2. Kök Skoru	46
4.4.3. Boğum Sayısı.....	48
4.4.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı	49
4.4.5. Yeşil Ağırlık	50
4.4.6. Klorofil İndeksi.....	51
4.4.7. IBA Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar	53
4.5. Bitkilerin <i>In Vivo</i> Koşullara Aktarılması ve Uçucu Yağ Oranının Belirlenmesi.....	54
4.5.1. Bitkilerin <i>In Vivo</i> Koşullara Aktarılması.....	54
4.5.2. Uçucu Yağ Oranının Belirlenmesi.....	54
BÖLÜM 5 – SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	56

KAYNAKLAR	61
------------------------	-----------

Çizelgeler	I
Şekiller.....	V
Özgeçmiş.....	VI

BÖLÜM 1**GİRİŞ**

Bitkiler, binlerce yıldır ilaçların ve aromatik bileşiklerin en önemli kaynağı olarak kullanılmıştır. Geçmişte olduğu gibi günümüzde de dünyadaki nüfusun % 90'a yakını tıbbi ve aromatik bitkilerden taze veya işlenmiş şekilde yararlanmakta olup kullanılan ilaçların ise % 25'i bitkisel kökenli kaynaklardan üretilmektedir. Dünyada 20,000 tıbbi bitki türü hakkında çalışma yapıldığı belirlenmiştir (Deans ve Svoboda, 1990). Son yıllarda herbal ilaçlar daha yaygın hale gelmiştir ve Avrupa'da bitkisel ilaç pazarı her yıl artmaktadır.

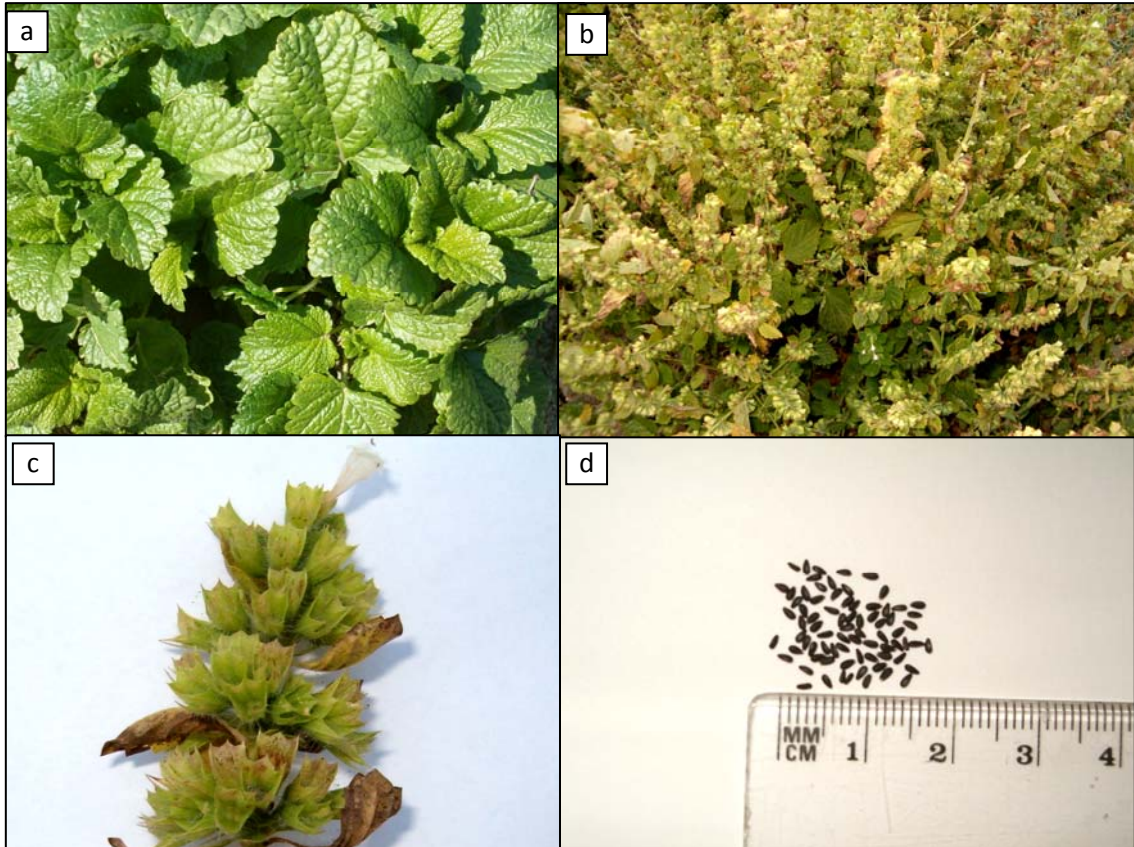
Ülkemizde yaklaşık 9000 bitki türünün bulunduğu ve bunlardan 3000 kadarının da endemik olduğu bildirilmektedir (Gümüşçü, 2001). Bunlardan yaklaşık 1000 kadarı tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır (Arslan ve ark., 2002). Halk hekimliğinde kullanılan bu bitkilerden 350 kadarının ticareti yapılmakta olup, yaklaşık 100 tür de ihraç edilmektedir (Özhatay ve ark., 1997).

Tıbbi ve aromatik bitkilerden biri olan oğulotu (melisa), ülkemizde ve Avrupa'da geniş bir şekilde yetişmekte ve yetiştirilmektedir. Bu bitkinin yabani formları tüm Akdeniz ülkeleri ve Güney Alpler'de yayılış göstermekte, Türkiye'de de Kuzey ve Batı Anadolu ile birlikte kıyı şeridinde görülmektedir (Ceylan, 1983; Baydar ve ark., 2001). Davis (1982) ve Baytop (1984)'e göre yurdumuzda doğal yayılış gösterdiği iller Amasya, Ankara, Bilecik, Bolu, Bursa, Çanakkale, İstanbul, Kütahya, Muğla, Samsun'dur. Dünyada ise Güney Avrupa, Ön Asya ve Kuzey Amerika'da doğal olarak yetişmektedir. Ekonomik öneminden dolayı Almanya, Bulgaristan, Fransa, İtalya, Kuzey Amerika ve Romanya'da tarımı yapılmaktadır (Sarı, 2001).

Oğulotu türünün yaprak, tüy ve kaliksin dış şekillerine göre yurdumuzda 3 alt türü bulunur (ssp. *officinalis*, ssp. *altissima*, ssp. *inodora*) (Mill, 1982). Bunlardan sadece ssp. *officinalis* limon kokulu olup tıbbi değere sahiptir. Bu alt tür, kovan otu, limon otu, limon nanesi olarak da bilinmektedir (Bonnier, 1924; Hegi, 1927; Baytop, 1999). Oğulotu (*Melissa officinalis*), *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyasına ait, büyük ölçüde dallanan, gövdesi dik veya yarı dik olan ve 20-150 cm arasında boylanabilen hoş kokulu, dayanıklı, çok yıllık bir bitkidir (Şekil 1.1). İyi koşullarda ömrünün 25-30 yıl olabileceği belirtilmekle beraber, normal kültürü yapıldığında faydalanma süresi 3-4 yıldır. Kökler çok lifli olup, rengi beyazımsıdan açık kahverengiye kadar değişir. Üzerinde tüyler bulunan dişli kenarlı ve saplı yaprakları ile dikkati çekmektedir. Gövdenin enine kesiti 4

köşelidir. Oğulotu yaprağı kısa veya uzun bir sapla (1,5-3,5 cm) gövdeye bağlanır. Yaprakları oval olup, yaprağın temeli kalp şeklinde olmasına karşılık uç kısmı sivrileşmiştir. Yaprak 2-8 cm uzunlukta, 1,5-5 cm genişlikte olup, üst yüzü koyu, alt yüzü daha açık yeşildir. Yaprağın kenarları dişlidir. Genel olarak yapraklar bitkinin alt kısmından üst kısmına doğru gidildikçe küçülür. Yapraklardaki damarlar çok belirgindir. Yaprağın alt yüzü ise genellikle fırça tüylerle kaplıdır. Oğulotunda çiçekler sap uçlarında küme halindedir. Renkleri mavimsi beyaz, açık lila veya sarımsı beyazdır. Oğulotunda özellikle büyüme, tüylülük ve çiçek rengi çok varyasyon göstermektedir (Karagöz ve ark., 2004).

Oğulotu tohumlarının 1000 dane ağırlığı ortalama 0,62 gramdır. Safiyetinin % 95 olması, çimlenme kabiliyetinin minimumun % 70'den aşağı olmaması istenir. Çimlenmesi 20°C'de 21-28 günde gerçekleşir. Aydınlık ve karanlığın çimlenmeye etkisi yoktur. Tohumlar çimlenme kabiliyetini 2-3 yıl devam ettirir.



Şekil 1.1. Oğulotunun bitkisel özellikleri (a. yapraklar, b. generatif sürgünler, c. çiçekler ve d. tohumlar) (Turhan, 2006).

Yaz mevsiminden sonbahara kadar açan, çok açık sarı ya da beyazımsı küçük çiçekleri iki dudaklı; koyu kahverengi, minik ve gözyaşı biçimli tohumları parlaktır. Eski çağlarda oğulotu, tıbbi bitkiden çok arıların fazla ziyareti nedeni ile arı bitkisi olarak üretilmiştir (Filiz, 2002).

Oğulotunun eczacılık, parfümeri, kozmetik, halk hekimliği, gıda sanayisi gibi birçok kullanım alanı vardır. Bitkinin uçucu yağı, drog herba ve yaprak drogları kullanılmaktadır. Birçok etkene göre değişkenlik göstermekle birlikte % 0,01-0,3 arasında değişen oranlarda uçucu yağ içermektedir (Zeybek, 1987; Akgül, 1993). Yapraklarındaki uçucu yağ miktarı, drog herbadan biraz daha fazladır. Oğulotunda biçim genel olarak çiçeklenme döneminde yapılmaktadır. Çünkü drog yapraktaki uçucu yağ oranı çok erken dönemde ve çok geç dönemde oldukça düşük bulunmaktadır. Uçucu yağ oranı bitkide çiçeklenmeye kadar artmakta, daha sonra azalmaktadır. Ayrıca biçimin yapıldığı aya göre de değişmekte, genellikle erken yaz dönemindeki (Mayıs sonu - Haziran başı) biçimde uçucu yağ oranı daha yüksek bulunmaktadır. Uçucu yağın önemli bileşenleri % 39 citronelal ve % 33 citral'dir. Bu iki bileşenin yanında daha düşük oranlarda linalool, geraniol, α -pinen, terpinen gibi bileşikler de içermektedir (Ceylan, 1983; Gürbüz, 1999; Bağdat ve Coşge, 2005). Oğulotunun ithalatı uçucu yağ olarak gerçekleşmektedir. 2001-2004 yılları arasında toplam 394,146 kg oğulotu uçucu yağı ithal edilmiş ve bunun için yaklaşık 2.700 ABD Doları ödenmiştir (Anonim, 2004).

Oğulotu, halk hekimliğinde baş ağrısı, ateşlenme, uykusuzluk ve soğuk algınlığına karşı kullanılır. Yemekler ve çeşitli içeceklere katılan yapraklarından çok eski zamanlardan beri sakinleştirici, terletici ve gaz söktürücü çaylar hazırlanmaktadır. Bunun yanında menopoz ile ilgili problemlerin giderilmesinde, depresyonda da kullanılmaktadır. Yatıştırıcıdır, endişe ve depresyonla oluşan gerginlikleri giderir. Sindirimi kolaylaştırır, sindirim sistemindeki spazmları yok eder. Terleticidir, ateşli soğuk algınlıkları, nezle ve bronşitte etkili olur. Kalp ve kan dolaşımı sistemi üzerinde tonik etkisi vardır. Tansiyonu düşürür. Kasılmalara, damar tıkanıklığına, ülser ve diş ağrısına karşı kullanılmaktadır (Baytop, 1997).

“Balm” kelimesi Latince “arı” anlamına gelmektedir. Arıların bal yapımı için tercih ettikleri bir bitki olması nedeniyle bu isim verilmiştir. “Lemon” kelimesi ise bitkinin ortama saldığı “limon kokusundan” gelmektedir. Ayrıca “balm” kelimesi “balsam” kelimesinin kısaltılmış şeklidir. Balsam ise güzel kokan yağlara verilen isimdir. Bitki güzel koktuğu için “balm” olarak nitelendirilmektedir. Oğulotu bitkisi önceleri her

türlü sinir sistemi şikayetleri için kullanılmıştır. 1696 yılında Londra Dispanseri'nden yayınlanan bildirin metni şu şekildedir: "Her sabah Kanarya şarabına Balm katarak içerseniz gençleşirsiniz, beyninizi güçlendirirsiniz, uyuşukluktan kurtulur, kel kalmaktan kurtulursunuz". Bir süre sonra John Evelyn, oğulotu hakkında aşağıdaki yazıyı yazmıştır: "Balm, beynin hükümdarıdır, hafızayı güçlendirir ve melankoliyi azaltır." 50 yıl süreyle her sabah bal katılmış oğulotu çayı içen John Hussey'in 116 yaşına kadar, Glamorgan Prensi'nin ise 108 yaşına kadar yaşadığına dair tarihi bilgiler bulunmaktadır. Plinius ve Dioscorides tarafından antienflamatuar, antiromatizmal ve nefes darlığına karşı etkili olduğu belirtilmiştir. Grek-Roma çağında değerli bir tıbbi bitki olarak da kitaplara kaydedilmiştir. Razi ve İbn-i Sina, oğulotu bitkisinin yatıştırıcı ve kalbi rahatlatıcı etkilerini belirtmişlerdir. İbn-i Sina der ki; "Oğulotunun kalbi ferahlandığı, kalbe verdiği kuvveti kırmızı yakutun fiiline muadildir". Arap tıbbında Büyük Farmakope'ye kaydedilmiş olmasından dolayı da önem kazanmış, 16. yüzyıla kadar Avrupa'da da tıp kitaplarında öğrencilere önemli bir tıbbi bitki olarak okutulmuştur (Ergun, 1988). İlaç olarak kullanılan ilk oğulotu preparatının 1611 yılında hazırlandığı bilinmektedir ve bu preparat bitkinin alkollü distilatından başka limon kabuğu ve diğer bazı drogları da taşımaktadır (Ergun, 1988).

Doku kültürü çalışmalarına 20. yüzyılın başlarında Haberlandt (1902) ile başlanmış ve günümüzde birçok bitki türünde uygulanmıştır. Tarihsel geçmişi çok eski olmasına rağmen hala güncelliğini korumaktadır. Bunun başlıca nedeni biyoteknolojik çalışmaların temelini oluşturmasıdır. Moleküler düzeydeki çalışmalar ve rekombinant DNA teknolojisinde bitkilerin doku kültüründe rejenerasyonu ve çoğaltılması gerekmektedir. Doku kültürü; hücre veya hücre topluluklarının genetik açıdan aynılarının ya da istenen değişimler sağlanarak aseptik ve kontrollü ortam şartlarında, seri ve sağlıklı olarak çoğaltılması ve muhafazası olarak tanımlanabilir. Gönülşen (1987) ise bitki doku kültürünü bitkilerin çeşitli kısımlarından alınan hücre, doku ve organların sterilize edildikten sonra çeşitli besin maddeleri içeren steril ortamlarda ve uygun çevre koşullarında kültüre alınması ve büyütülmesi olarak tanımlamıştır.

Günümüzde bitki doku kültürleri çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik çeşitliliği oluşturmak bitki doku kültürünün temel amaçları arasında sayılabilir. Bu nedenle bitki doku kültürleri genetiksel iyileştirme (ıslah) çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin

korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin üretiminde, çeşitli doku kültürü uygulamaları rutin olarak uygulanmaktadır (Babaoğlu ve ark., 2001).

Doku kültüründe bir bitkinin yetiştirilmesinde uygun besi ortamının kullanılması, olmazsa olmazlardan biridir. Bu amaçla günümüze kadar bitki türü ve kültür tipine göre çok sayıda besi ortamı geliştirilmiştir (Franklin ve Dixon, 1994; Gamborg ve Phillips, 1995). Besi ortamı olarak günümüzde dikotiledon bitki gelişimi için en uygun olanı Murashige ve Skoog tarafından 1962 yılında geliştirilen MS besi ortamıdır (Murashige ve Skoog, 1962). MS içeriğinde bitkilerin yaşamları için gerekli olan inorganik tuzlar, bitki büyüme düzenleyicileri, vitaminler, amino asitler ve aminler, karbon ve enerji kaynağı ile su bulunmaktadır.

Doku kültüründe (*in vitro* veya mikro üretim), kullanılan tıbbi ve aromatik bitki türü sayısı hızla artmaktadır. Bunun başlıca nedenleri, doğal yollar ile çoğaltılması zor olan türlerin çoğaltılması, biyoteknolojik yöntemlerin uygulanabilmesi ve bitkilerde bazı bileşiklerin doku kültürü yöntemleriyle üretilmesi olarak sayılabilir. Doku kültürü tekniklerinin tarihi geçmişi oldukça eski olmasına rağmen oğulotunda yapılan doku kültürü çalışmaları sınırlıdır. Oğulotunun önemli bir tıbbi ve aromatik bitki olması nedeniyle *in vitro* çalışmalarının yapılması yararlı olacaktır. Bu nedenle bu tezin amacı; a) araştırmada kullanılan oğulotu (*Melissa officinalis* L.) genotiplerinin doku kültürüne aktarılması, b) bu genotiplerin doku kültürüne yanıtlarının belirlenmesi, c) çoğaltılması ve muhafazası ve d) bu genotiplerin *in vitro* koşullardan *in vivo* koşullara aktarılması ve bu genotiplerin uçucu yağ içeriklerini belirlenmesi olarak saptanmıştır.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Literatürde oğulotu ile ilgili çalışmalar sınırlı olmakla birlikte bazı araştırmalar aşağıda sunulmuştur.

İnsan ve hayvan sağlığı ile ilgili yapılan çalışmalarda oğulotunun çok değişik bakteri ve virüslere karşı antibakteriyal ve antiviral aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Cohen ve ark., 1964; Cowan, 1999; Mrlanova ve ark., 2002).

Tıbbi bitki olarak oğulotunun, antibakteriyal, antivirütik, antifungal, ferahlatıcı olarak ve sinirsel kökenli mide, migren, kalp hastalıklarında yatıştırıcı ve gaz söktürücü olarak tıpta kullanıldığı da bilinmektedir (Baytop, 1984; Zeybek, 1987; Baytop, 1999).

Ayrıca ekstraktların çeşitli dozlarının Alzheimer'lı hastalar üzerine uygulanmasının zihinsel fonksiyonların idaresi üzerine olumlu etkisinin bulunduğu, anti-tümör ve fungitoksik etkileri olduğu kaydedilmiştir (Akhondzadeh ve ark., 2003).

Uçucu yağı yüksek antioksidan etkisinden dolayı sebze ve meyvelerin dondurularak muhafazasında kullanılan sentetik antioksidanların yerine doğal madde olarak tercih edilmektedir (Ponce ve ark., 2004).

Bitki, daha çok Avrupa'da tanınmakta, az miktarda fakat çok özel yemeklerde ve gıda sanayinde baharat olarak, ekstrakt veya uçucu yağı likör, alkolsüz içecekler, dondurma ve şekerleme sanayisinde kullanılmaktadır. Kurutulmuş yaprakları bitkisel çay olarak tüketilmekte, ayrıca parfüm ve konserve sanayisinde kullanılmaktadır (Akgül, 1993).

Oğulotunda % 0,01 ile 0,25 arasında uçucu yağ bulunur. Bu uçucu yağın ana bileşenleri % 39 citronellal ve % 33 citral ve geranioldür (Ceylan, 1983; Gürbüz, 1999; Bağdat ve Coşge, 2005).

Son yıllarda kullanım alanı çok geniş olan oğulotu üzerine biyoteknolojik yöntemlerin uygulanabilmesi, etken maddelerin üretilmesi amacıyla bazı doku kültürü çalışmaları da yapılmaktadır. Örneğin *in vitro* koşullarda MS besi ortamı kullanılarak bitki büyüme düzenleyicilerinin oğulotu bitkisi gelişimi üzerinde oluşturduğu etkinin incelendiği çalışmada 11,42 µmol/L IAA'nın sürgün gelişimini en etkili şekilde teşvik ettiği sonucuna ulaşılmıştır (Simon ve ark., 1984).

Benzer bir çalışmada Meszaros ve arkadaşları (1999), MS doku kültür ortamında oğulotu bitkisinde % 95 çimlenme ile en etkili sürgün ve en uçlu kök oluşumunu 7,1 µM indole-3-asetik asit ve 13,9 µM kinetin karışımıyla sağlamışlardır.

Oğulotu bitkisi üzerine yapılan diğer bir doku kültürü çalışmasında triacontanol bitki büyüme düzenleyicisinin kök miktarı ve uzunluğu üzerine olumlu etkide bulunduğu, canlı ağırlığı klorofil içeriğini ve sürgün gelişimini teşvik ettiği, ancak bitki kuru madde miktarı ve fotosentetik aktivite üzerinde bir etkide bulunmadığı belirlenmiştir (Tantos ve ark., 1999).

Bolkent ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada, oğulotu ekstraktının hipolipidemik (düşük kolestrollü) farelerde morfolojik ve biyokimyasal etkilerini araştırmışlardır. Hayvanlar 42 gün boyunca % 2 kolesterol, % 20 ayçiçek yağı ve % 0,5 kolik asit eklenmiş olan normal yemle lipogenik diyetle beslenmiş ve % 3 etanol verilmiştir. Bitki özütü verilmeden önce bu grupta serum kolesterol, total lipid, alanin transaminaz, aspartat transaminaz ve alkalın fosfataz seviyelerinde anlamlı bir artış, karaciğer dokusu glutatyonunda anlamlı bir azalış ve doku lipid peroksidasyon seviyesinde anlamlı bir artış belirlenmiştir. Diğer taraftan oğulotu ekstraktı verildiğinde total kolesterol, total lipid, alanin transaminaz, aspartat transaminaz, alkalın fosfataz ve lipid peroksidaz seviyesi düşmüş, doku glutatyon seviyesi artmıştır. Bu sonuçlar oğulotu ekstraktının hipolipidemik etkisi olduğu ve hiperlipidemik sıçanlarda karaciğeri koruyucu etkisi olduğu fikrini vermiştir.

Sadraei ve arkadaşları (2003), farelerden izole edilen spazmlı bağırsak üzerine, ana bileşeni citral olan oğulotundan elde edilen uçucu yağın gevşetici ilaç etkisini incelemişlerdir. Oğulotu uçucu yağının ileum kasılmaları üzerine rahatlatıcı etkileri üzerine çalışmışlardır. Hem oğulotu uçucu yağı, hem de onun ana bileşenlerinden olan citral, 200-250 gr ağırlığındaki erkek Wistar sıçanlardan izole edilen ileum parçalarında, KCl, asetilkolin ve serotonin ile oluşturulan kasılmalara karşı kuvvetli inhibitör etkisine sahiptir. Bu etkiyi Ca⁺² iyon kanalları üzerindeki inhibisyon ile yapmaktadırlar. Çalışmalarında oğulotunun temel yağı ve ana bileşeni citralin ince bağırsak spazmlarını azalttığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışma ile *Melissa officinalis* uçucu yağının ve citralin gastrointestinal spazmların (spazmolitik hastalıkların) tedavisinde faydalı olabileceği ortaya konmuştur.

Ivanova ve ark. (2005), aralarında oğulotunun da bulunduğu 21 bitki türünün (çiğerothu, sarı kantaron, koyunotu, keklikotu, böğürtlen, duman ağacı gibi) kaynamış su ile hazırlanmış bitkisel çayları içerisindeki toplam fenolik içeriklerini ve antioksidan

özelliklerini incelemişlerdir. Oğul otunun antioksidan gücünü 21 bitki içerisinde 5. sırada ve toplam fenolik içeriğini ise miktar olarak 2. sırada bulmuşlardır.

Gazola ve ark. (2004), oğul otu ve diğer bitki türlerinin sulu ekstraktlarının kalp hızı ve kasılma gücü üzerine etkisini değerlendirmişlerdir. Yetişkin farelerden izole edilmiş kalplerle deneyler yapmışlar ve bu ekstraktların kasılma gücüne bir etkisinin olmadığını ancak uzun süreli kalp atım sayısını azalttığını gözlemlemişlerdir. Yapılarında tanenler, flavonoidler ve alkaloidlerin olduğunu belirlemişler ve bu etkilerin bu bileşik türlerine ait olabileceği konusunda görüş bildirmişlerdir.

Meftahzade ve arkadaşları 2009 yılında, yaptığımız çalışmaya benzer bir araştırma olarak, farklı *Melissa officinalis* L. genotiplerinde mikroçoğaltım ve doku kültürü gelişimi konusunda yaptıkları çalışmada, BA, KİN, IAA, IBA ve NAA'nın bitki üzerinde farklı etkilerini incelemişlerdir. Sonuçlarına göre BAP'ın NAA ile kombinasyonunda yüksek rejenerasyon olduğunu, NAA'nın IAA ve KİN ile kombinasyonunda ise en iyi kallus oluşumu olduğunu bildirmişlerdir. Kullanılan oksinlerden 1 mg/L NAA'nın köklenmeyi arttırdığını bulmuşlardır.

Bitkilerin yaprak, meyve, kabuk veya kök kısımlarından elde edilen, 25°C'de sıvı halde olan, kolayca kristalleşebilen, genellikle renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kuvvetli kokulu, doğal ürünlere uçucu yağ adı verilmektedir. Güzel kokulu olduğunda esans ya da eterik yağ olarak da adlandırılmaktadır. Yağ olarak tanımlansalar bile su ile karışmadıklarından sabit yağlardan farklıdır (Ceylan, 1983).

Uçucu yağların kimyasal yapılarında en büyük grubu terpenler oluşturmaktadır. Az miktarda aldehitler, alkoller, azot, esterler, fenoller ve kükürt içeren bileşikler de bulunmaktadır. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen türevler koku, tat ve terapik özellikteki maddelerdir (Linskens ve Jackson, 1997a). Sudan daha hafif olan bu uçucu yağlar, ışık ve oksijenin etkisi ile reçineleştikleri için uzun süreli saklamalarda koyu renkli şişelerde ağzı kapalı olarak muhafaza edilmelidirler. Roma, Yunan ve özellikle Mısır medeniyetlerinde uçucu yağlar yaygın olarak kullanılmıştır. Son zamanlarda alternatif tıbbın bir dalı olarak varsayılan aromaterapiye karşı duyulan alaka, uçucu yağ tüketimini de artırmıştır. Eterik yağlar, terapilerde uygulanan masajlarda ve rahatlatıcı banyolarda kullanılmaktadır. Ayrıca uçucu yağlar, yaygın olarak parfüm, kozmetik, gıda ve içecek sanayilerinde, ev temizlik ürünlerinde kullanılmaktadır. Sedir ve lavanta yağları gibi bazı yağlar ise böcek kovucu özelliği ile dikkat çekmektedir (Kılıç, 2008).

Uçucu yağ elde etmek için 1300'lü yılların başında İspanya ve Fransa'da distilasyon yöntemi geliştirilmiş, 1550'li yıllara gelindiğinde farmokoloji gibi farklı dalların ihtiyacına

cevap verebilmek amacıyla yeni teknikler uygulanmaya başlanmıştır (Rangahau, 2001). Bu teknikler; distilasyon yöntemi (su distilasyonu, buhar distilasyonu, vakum distilasyonu), ekstraksiyon yöntemi (çözücü ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu, sıkılaştırılmış çözücü ekstraksiyonu, katı-faz mikroekstraksiyon), çok yönlü ekstraksiyon yöntemleri ve mekanik yöntemdir (Kılıç, 2008).

Küçük ölçekli üretimlerde Clevenger tipi bir aparatla yapılan distilasyon işlemi endüstriyel uygulamalarda büyük distilasyon kazanlarında (imbik) gerçekleştirilmektedir (Kılıç, 2008).

Clevenger tipi aparatla yapılan uçucu yağ elde etme yönteminin amacı, soğutucu ile bağlanan bir cam balon içerisinde bitki materyalinin 2-8 saat süre ile kaynatılarak, su buharı ile birlikte hareket eden yağ moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasına dayanmaktadır. Elde edilen uçucu yağ miktarı volumetrik olarak ifade edilir. Su distilasyonu en iyi toz halindeki materyallerde sonuç vermektedir (Linskens ve Jackson, 1997b).

Uçucu yağların bileşimi pH'a bağlı olarak değişse de su distilasyonu yönteminde genellikle sıvının pH değeri kontrol edilmemektedir (Fakhari ve ark., 2005).

Uçucu yağlar, genellikle bağlı bulunduğu familyaya göre, salgı tüylerinde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya parankima hücrelerinde bulunur. Uçucu yağların çoğu sudan hafiftir ve su ile karışmayarak su üzerinde toplanırlar (Tanker ve Tanker 1990).

Baydar ve ark. (2009), kekik türlerinin uçucu yağ özelliklerinin saptanması amacıyla yaptıkları çalışmada, bizim çalışmamızla benzerlik gösterdiği gibi, bitki örneklerini 35°C'de kurutma dolabında kuruttuktan sonra Clevenger tipi su distilasyonu aparatında yaklaşık 3 saat süreyle damıtarak uçucu yağ içeriklerini (v/w) belirlemişlerdir.

Biçer ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada, kurutulmuş ve ezilmiş lavanta çiçeklerinden 100 gram tartarak Clevenger cihazında yaklaşık 3 saat boyunca distile işlemini gerçekleştirmişler ve böylece su buharı ile sürüklenen uçucu yağı, cihazın soğutucusunda yoğunlaştırarak büret kısmında toplamışlardır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Doku Kültürü ve Biyoteknoloji laboratuvarlarında 2009-2010 yıllarında yürütülmüştür. Bitki materyali olarak üç oğulotu (melisa) genotipi kullanılmıştır. Bunlardan birisi Kazdağı florasından toplanan Kazdağı oğulotu (*Melissa officinalis* ssp. *altissima*), diğeri Çanakkale yöresinde yetiştirilen bir yerel hat (*Melissa officinalis* L.) ve son olarak da İtalyan kökenli oğulotudur (*Melissa officinalis* L.).

Bu bölüm, bitkilerin steril koşullara aktarılması, denemenin kurulması, ölçümler, *in vitro* bitkilerin *in vivo* koşullara aktarılması, uçucu yağ analizi ve verilerin analizi şeklinde altı alt bölüm başlığında değerlendirilmiştir.

3.1. Bitkilerin Steril Koşullara Aktarılması

Üç genotipe ait tohumlar, sıvı sabun kullanılarak yıkanmış ve saf su ile durulanmıştır. Bu işlem sonrasında tohumlar 30 saniye % 70'lik etanol içinde hafifçe çalkalanarak bekletilmiştir. Etanolü tohumlardan süzerek uzaklaştırdıktan sonra, tohumlar doğrudan 1-2 damla Tween 20 içeren % 1'lik hipoklorit (çamaşır suyu) çözeltisine aktarılmıştır. Sodyum hipoklorit (NaOHCl) olarak % 5 yoğunluktaki ticari çamaşır suyu kullanılmıştır. Bu şekilde tohumlar 20 dakika süre ile çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Bu süre itibarıyla bir yandan da içinde kültür işlemlerinin gerçekleştirileceği steril kabin etanol ve UV ışığı ile dezenfekte edilerek kullanma hazırlanmıştır. Pens, beherler, ocak, steril saf su, içinde daha önce MS ortamlarının doldurulduğu yetiştirme kapları gibi gerekli malzemeler etanol ile yüzeyi sterilize edilerek steril kabin içine alınmıştır. Tohumların yüzey sterilizasyon süresi biter bitmez sodyum hipokloritin uzaklaştırılması için tohumlar 3-4 kez steril saf suyla steril kabin altında yıkanmıştır. Böylece yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır. Çalışmada bitki tohumları sterilizasyondan sonra ½ MS (Murashige ve Skoog, 1962) içinde çimlendirilmiş ve eksplantlar bu bitkilerden alınmıştır. MS besi ortamı içeriği Çizelge 3.1'de verilmiştir. Denemede kullanılan saydam plastik kapaklı yetiştirme kaplarının hacmi 0,4 litre olup otoklavlanabilir.

3.2. Denemenin Kurulması

Denemenin kurulması için tohumlardan yetişen *in vitro* bitkilerinin aksiller meristemleri kullanılmıştır. Her bir eksplant bir boğum arası içeren yaklaşık 1 cm büyüklüğünde gövde parçalarından oluşmuştur. Meristem içeren bu eksplantlardan yapraklar kesilerek uzaklaştırılmıştır. Eksplant olarak bitkilerin en alt ve en üst kısımları kullanılmamıştır.

Bitki doku kültürlerinde kullanılan besi ortamı ve formülasyonları bitki türü, genotip, kültür tipi gibi birçok faktöre bağlı olarak değişim gösterdiği bilinmektedir. Doku kültürü çalışmalarında sıkça kullanılan bitki besi ortamları MS, B5, LS, White, SH ve NN olarak sıralanabilir (Franklin ve Dixon, 1994; Gamborg ve Phillips, 1995). Bu araştırmada da temel besi ortamı olarak bitki doku kültürlerinde çok sık kullanılan MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamı kullanılmıştır. MS içeriğinde bitkilerin yaşamları için gerekli olan su, makro ve mikro besin elementleri ve vitaminler bulunmaktadır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. MS için kullanılan kimyasallar ve miktarları (Murashige ve Skoog, 1962)

Kimyasallar	Yoğunluk (mg/l)
(NH ₄)NO ₃	1650,000
KNO ₃	1900,000
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440,000
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370,000
KH ₂ PO ₄	170,000
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,800
Na ₂ EDTA	33,600
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,300
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,600
H ₃ BO ₃	6,200
KI	0,830
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,250
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
Myo-inositol	100,000
Nicotinic acid	0,500
Pyridoxin-HCl	0,500
Thamin-HCl	0,100
Glisin	2,000
Sakkaroz	30000,000
pH	5,7

Denemede temel besi ortamı olan MS besi ortamına Benzil Adenin (BA), Kinetin (KİN), Indol Asetik Asit (IAA) ve Indol Bütirik Asit (IBA) olmak üzere toplam 4 farklı büyüme düzenleyici ilave edilmiştir (Çizelge 3.2). Besi ortamının pH değeri 5,7 olarak ayarlanmış ve katılaştırılması için 2,5 g/L katılaştırıcı jel (Gelrite-Gellan Gum) ilave edilmiştir.

Her kaba 40 ml besi ortamı koyularak sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Yetiştirme kapları 120°C sıcaklıkta ve 1,06 bar basınçlı bir otoklavda (Nüve-Steam Sterilizer-OT 032, TS 5626) 20 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan besi ortamı 2-3 gün 25°C’de bekletilmiştir. Bu işlemin yapılma sebebi petri kaplarında bakteri veya fungal kontaminasyonunun olup olmadığını anlamaktır.

Büyüme düzenleyicilerin seçiminde daha önce oğulotu ve diğer bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde yapılmış doku kültürü çalışmaları dikkate alınmıştır (Simon ve ark., 1984; Meszaros ve ark., 1999; Silva ve ark., 2005). Buna göre en yaygın olarak kullanılan büyüme düzenleyici olarak IBA, IAA, BA ve Kinetinin farklı yoğunlukları denenmiştir. Denemede Çizelge 3.2’de gösterilen besi ortamları kullanılmıştır.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan büyüme düzenleyicileri ve miktarları

Besi Ortamı No.	I.Deneme BA(mg/L)	II.Deneme Kinetin (mg/L)	III.Deneme IAA (mg/L)	IV.Deneme IBA (mg/L)
1	0,0	0,0	0,0	0,0
2	0,5	1,0	1,0	0,5
3	1,0	2,0	2,0	1,0
4	1,5	3,0	3,0	1,5
5	2,0	4,0	4,0	2,0

Deneme, laboratuvar koşullarında, steril ortamda 5 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Her bir tekerrürün ifadesi olan bir plastik yetiştirme kabı 5 eksplant içermektedir. Bu deneme sonuçların tekrarlanabilir olduğunu belirlemek amacıyla 2 kez farklı zamanlarda tekrarlanmıştır. Denemelerin kontrollü olarak aynı laboratuvar koşullarında yürütülmesi ve yapılan analiz sonucunda aralarında istatistiki anlamda önemli bir fark bulunmaması nedeniyle iki farklı zaman birleştirilerek analizler 10 tekerrür üzerinden yapılmıştır.

Deneme deseni olarak tesadüf blokları deneme deseni kullanılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiki analizi SAS programında PROC GLM’e göre yapılmıştır (SAS Institute Inc. 1989, Cary, North Carolina). Ortalamalar arasındaki farklar ise, % 5 düzeyinde LSD testine göre belirlenmiştir.

3.3. Ölçümler

Bitkiler iklim odalarında tutulmak koşulu ile bitki gelişimlerinin ve varsa kontamine olmuş kapların takibi yapılmıştır. Kontamine olmuş kaplar önce otoklavda sterilize edilmiş ve başka bir odada açılarak imha edilmiştir. Yetiştirme odası $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sabit sıcaklıkta, 16 saat fotoperiyot uygulamalı ve ısı vermeyen beyaz florasan ($90\text{ mmolm}^{-2}\text{s}^{-1}$ Photosynthetic photon flux density) ile aydınlatılmıştır.

Şekil 3.1’de oğulotunda doku kültürü çalışmalarından genel görünümüne ait fotoğraflar görülmektedir.

In vitro ölçüm ve gözlemler 50 günlük yetiştirme süresinin sonunda tüm bitkilerde yapılmıştır. Bunlar:

Klorofil İndeksi: Klorofilmetre ile yapraktaki klorofille ilişkin indeks değeri ölçülmektedir. Bu amaçla FieldScout CM 1000 klorofilmetre (FieldScout Chlorophyll Meter CM 1000 Spectrum™ Technologies, Inc.) ile 3 ışıklenme değerinde 30 cm’den ölçümler alınmıştır (Şekil 3.2).

Bitkicik boyu: Besi ortamından bitkinin en uç kısmına kadar olan kısım cm olarak ölçülmüştür.

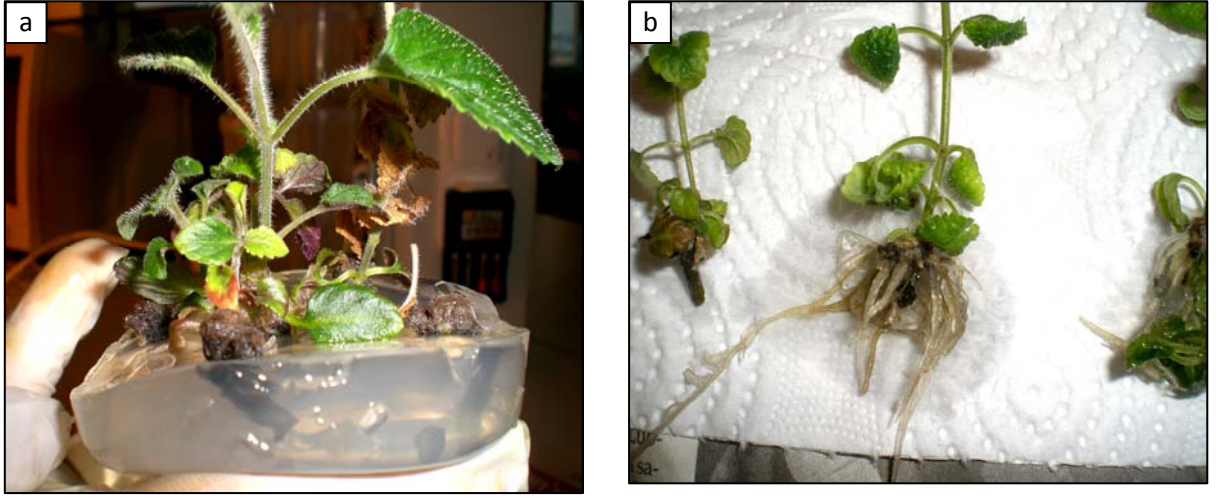
Kök gelişim skoru: Kök gelişimini kök sayısı, kök uzunluğu ve dallanması gibi özellikler temel alınarak değerlendirilmiştir. 0’dan 9’a kadar bir skala kullanılmıştır. Buna göre, 0: Kök gelişimi yok, 1-2: Çok az kök gelişimi, 3-4: Az kök gelişimi, 5-6: Orta kök gelişimi, 7-8: İyi kök gelişimi ve 9: Çok iyi kök gelişimi (Turhan, 1997).

Yeşil sürgün ağırlığı: *In vitro* bitkilerin kökleri hariç sürgünlerin ağırlığının hassas terazide tartılarak belirlenmiştir.

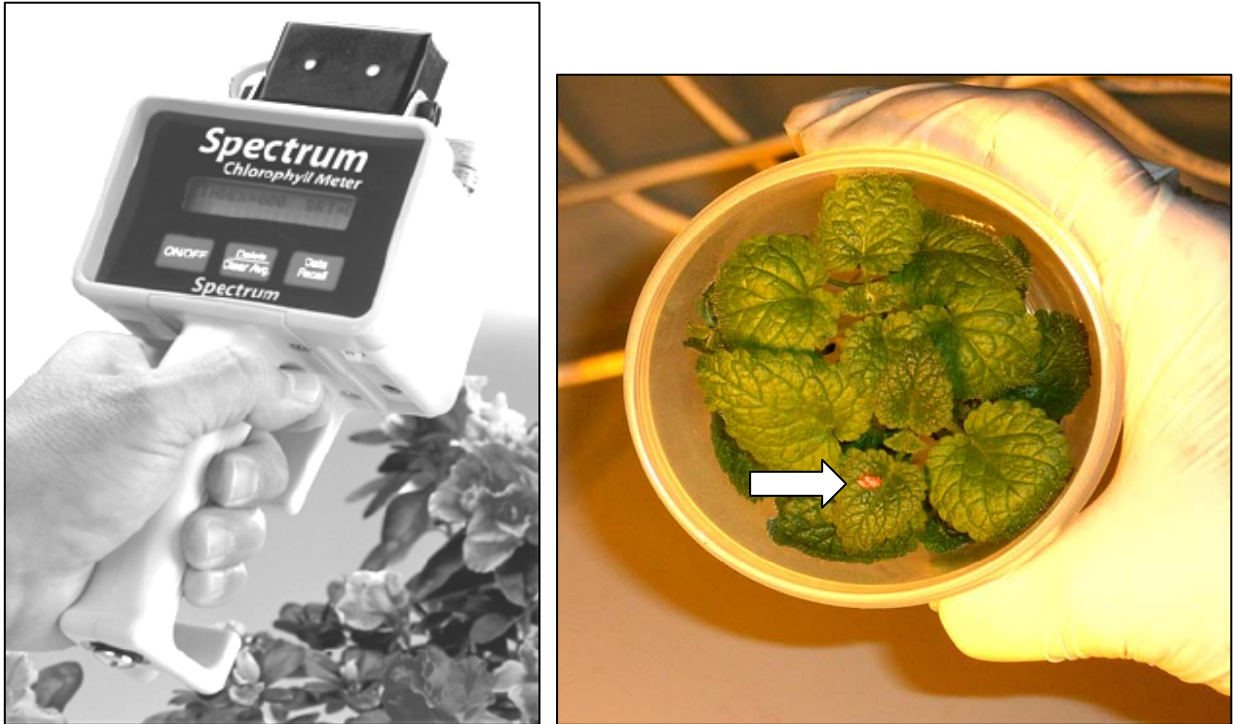
Boğum sayısı: Eksplantta bulunan boğumların (nod) sayısıdır. Adet olarak kaydedilmiştir.

Kullanılabilir boğum sayısı: Alt kültür için tekrar kullanılabilir 1 cm’den büyük boğum sayısıdır. Tane olarak kaydedilmiştir.

Uçucu yağ oranı (v/w): Drog herbada toplam uçucu yağ oranı Clevenger cihazı (Wise Therm® Laboratory Instruments, WHM 12293) kullanılarak su distilasyonu yöntemiyle belirlenmiştir (Kan ve ark., 2006).



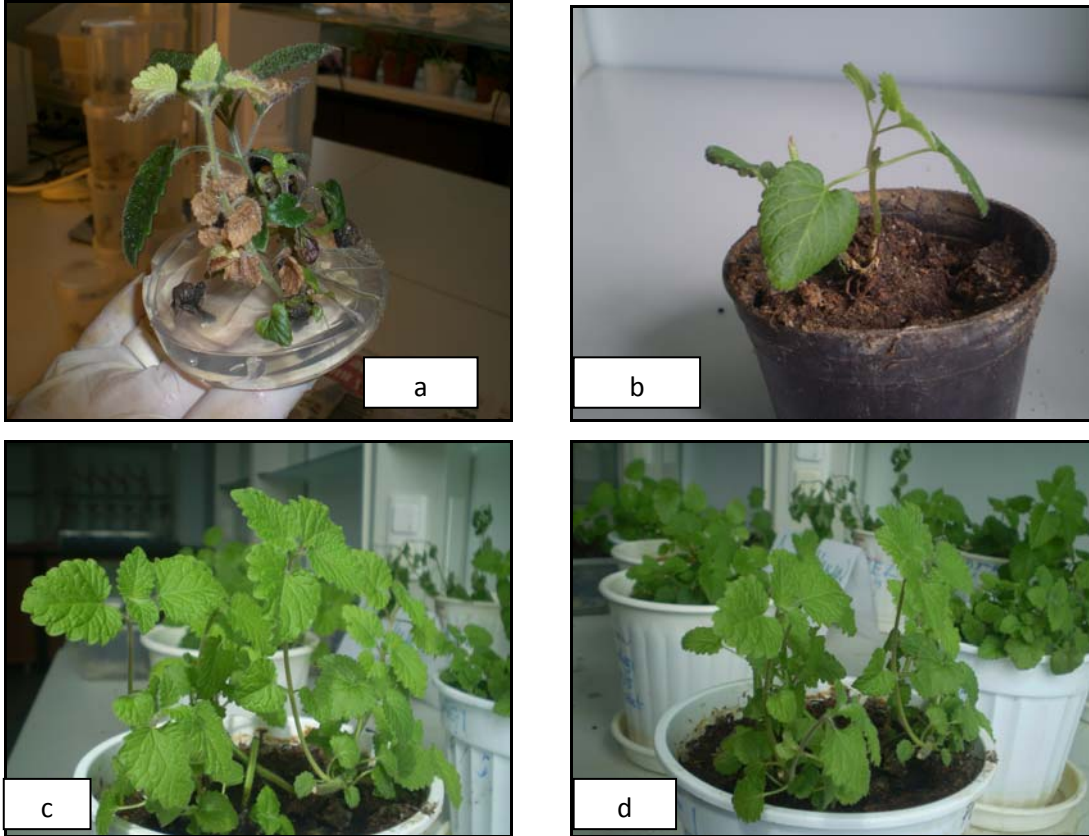
Şekil 3.1. Oğulotunda doku kültürü çalışmalarından genel görünüm (a. yetiştirme ortamından çıkan oğulotu, b. kök gelişim skoru incelenen oğulotu).



Şekil 3.2. Klorofilmetre ile ölçümlerin alınması.

3.4. *In Vitro* Bitkilerin *In Vivo* Koşullara Aktarılması

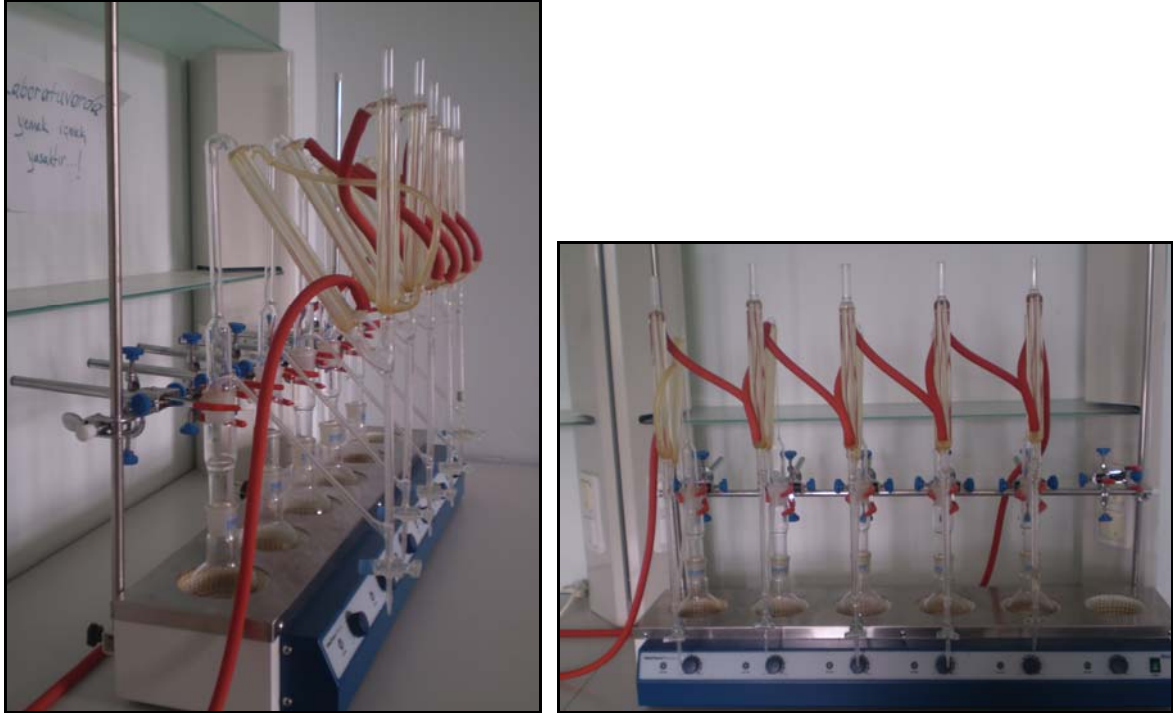
In vitro koşullarda MS besisi ortamında yetiştirilen 2 haftalık bitkilerden normal gelişim gösteren ve eşit büyüklükteki 25 bitki seçilmiştir. Bitkiler öncelikle köpük bardaklara dikilmiş, bardaklar hazır kompostla eşit miktarda doldurulmuştur. Bardakların ağzına uygun şeffaf poşet geçirilmiştir. Bunun amacı bitkilerin *in vitro* koşullardaki nemini korumasını sağlamak, kurumasını ve nem kaybetmesini önlemektir. Her bir bitki, zarar vermeden çıkarılmış ve kökleri ılık su içinde (30°C) hafifçe çalkalanarak yıkanmıştır. Bitkiler bekletilmeden hemen bardak içindeki kompostta birer birer dikilmiş ve yapraklarına su değmeyecek şekilde yıkanmıştır. Poşetlere 2 gün geçtikten sonra az miktarda hava alacak şekilde delik açılmıştır. Beşinci günün sonunda poşetlere daha büyük delikler açılmış, 7. günün sonunda ise poşetler çıkarılmıştır. Ancak bu süre boyunca bitkiler doğrudan güneş ışığına maruz bırakılmamıştır. Onuncu günün sonunda sağlam kalan bitkiler yüzde olarak belirlenmiştir. Şekil 3.3'te *in vitro* bitkiler ve *in vivo*ya aktarılan bitkilerin fotoğrafları görülmektedir.



Şekil 3.3. *In vitro* bitkilerin *in vivo* koşullara aktarılması (a. *In vitro* bitkiler, b. Başarı ile aktarılan bitki, c. ve d. Gelişen bitkiler).

3.5. Uçucu Yağ Analizi

Çalışmamızda *in vitro*dan *in vivo* koşullara aktarılan 3 farklı genotipte oğulotunun, 4 farklı büyüme düzenleyicisine ait kontrol gruplarının ve uygulama dozlarının birleştirilmesi sonucu elde edilen örneklerin uçucu yağ oranları ölçülmüştür. Genotiplere uygulanan büyüme düzenleyicilerinin farklı dozlarının birleştirilme nedeni ise toplam uçucu yağ analizi için gereken miktarda (10 gram) örneği toplayabilmek içindir. Oda sıcaklığında kurutulmuş bitki örnekleri elle küçük parçalara ayrılarak her genotipten 10 gram olacak şekilde tartılmıştır. Tartılan numuneler, 250 mililitrelik balon jodelere konulmuştur. Balon jodelerin içinde bulunan kurutulmuş bitki örneklerinin üzerlerine 100 mililitre saf su ilave edilmiştir. Clevenger Cihazı (Şekil 3.4) ile 3 saat boyunca su distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ analizi yapılmıştır (Biçer ve ark., 2003).



Şekil 3.4. Uçucu yağ analizi ve Clevenger cihazı.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Araştırmada, özet olarak oğulotunun doku kültürüne yanıtı ve çoğaltılmasında bazı büyüme düzenleyicilerin etkisi belirlenmiştir. Buna göre 4 farklı büyüme düzenleyicisinin (BA, IAA, IBA ve Kinetin) farklı dozları temel besi ortamı olan MS içine ilave edilmiştir. Deneme sonu olan 50. günün sonunda bu *in vitro* bitkiler üzerinde çeşitli ölçüm ve gözlemler alınmıştır. Her bir büyüme düzenleyicisine ait bu ölçüm ve gözlemlerin istatistiki analiz sonuçları ayrı ayrı aşağıda sunulmuştur. Ayrı ayrı değerlendirilmesinin nedeni, büyüme düzenleyicilerin bitki üzerine etkisinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Örneğin BA genellikle sürgün gelişimini teşvik ederken IBA ise kök gelişimini teşvik etmektedir. Bu nedenle birlikte değerlendirmede, bir büyüme düzenleyicisinin bir dozundan elde edilen veriler diğer büyüme düzenleyicisinin verileri tarafından istatistiki anlamda gölgelenebilir.

4.1. BA (6-Benzylaminopurine)

Araştırmanın birinci denemesinde, BA'ın farklı dozlarının (0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/L) *in vitro* koşullarda üç farklı oğulotu genotipinin gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Ölçülen ve gözlenen karakterlere ait varyans analiz sonuçları ayrı ayrı alt başlıklar şeklinde aşağıda sunulmuş ve tartışılmıştır.

4.1.1. Bitki Boyu

Bitki boyu *in vitro* denemelerde bitki gelişimini belirlemede önemli bir göstergedir. Varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda BA içeren besi ortamlarının, bitki boyu üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Genotip x BA interaksyonu önemli bulunmuş olup bu da genotiplerin BA'ın artan dozlarına göre farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.

Çizelge 4.1. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	14,57**
BA	4	144,38***
Genotip x BA	8	16,27***
Hata	126	2,76

** ve *** sırasıyla % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı BA dozlarında genotiplerin bitki boylarının karşılaştırılması amacıyla yapılan LSD testine göre Çizelge 4.2’de tüm genotiplerin ortalamasına bakıldığında en uzun bitki boyu 7,99 cm ile BA içermeyen MS ortamında elde edildiği görülmektedir. BA’nın yoğunluğu arttıkça besi ortamlarına ait ortalamalarda bir azalmanın olduğu saptanmıştır. Genotiplerin ortalamasına bakıldığında ise İtalya (5,51 cm) ve Kazdağı (5,65 cm) ile aynı grupta yer alırken Yerel hat ise bunlardan daha kısa olmuştur.

Varyans analizinde interaksiyonun önemli olması tüm genotiplerin tüm BA dozlarındaki ortalamalarının karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Buna göre Çizelge 4.2’de yapılan LSD testine göre en yüksek ortalama bitki boyu (10,21 cm) İtalyan genotipinden büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamında elde edilmiştir. Bunu yine İtalyan genotipi 0,5 BA içeren besi ortamında (7,36 cm) ve büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamında yetiştirilen Kazdağı genotipi (7,11 cm) izlemiştir. En kısa boylu bitkiler ise 1,85 cm ile 1,5 mg/L BA içeren besi ortamında yetişen İtalya genotipinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. BA’nın oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi ($LSD_{0,05}(\text{Genotip} \times \text{BA})$: 1,47)

BA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. ($LSD_{0,05}:0,85$)
0	10,21 a ¹	7,11 b	6,66 bc	7,99 a
0,5	7,36 b	6,91 b	6,27 bc	6,85 b
1,0	5,30 cd	6,25 bc	4,19 de	5,25 c
1,5	1,85 f	5,23 cd	3,38 e	3,49 d
2,0	2,83 ef	2,76 ef	2,77 ef	2,79 d
Ort. ($LSD_{0,05}:0,66$)	5,51 a	5,65 a	4,65 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Bitki boyu *in vivo* koşullarda olduğu gibi *in vitro* koşullarda da genotipik bir özellik olmakla birlikte çevre veya yetiştirme koşullarında önemli düzeyde etkilenebilmektedir. Örneğin; Dwamena ve ark. (1997), marulda *in vitro* rejenerasyon ve bitki gelişiminde genotipik yanıtın önemli olduğunu bildirmişlerdir. Buna benzer diğer bir çalışmada krizantem (*Chrysanthemum x grandiflorum* (Ramat) Kitam.) bitkisinin 13 genotipi doku

kültüründe yetiştirildiğinde genotipler arasındaki farkın çok önemli olduğu bulunmuştur (Nencheva, 2006). Ezeibekwe ve ark. (2009), beyaz yam (*Dioscorea rotundata* L.) bitkisi üzerine yaptıkları bir doku kültürü çalışmasında farklı büyüme düzenleyiciler kullanmışlardır. Sonuçlara göre en uzun bitki boyu ortalaması büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamından elde edilirken artan BA dozlarında ise bitki boyunun azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bizim bulgularımız ile benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak bitki boyunun genel değerlendirilmesi yapıldığında artan BA dozlarının bitki gelişimini BA içermeyen MS besi ortamına göre olumsuz etkilediği sonucuna varılabilir. Fakat daha detaylı bir sonuca varmak için her bir genotipin her bir besi ortamındaki performansına bakmak gerekmektedir. Özet olarak bitki boyu açısından en uygun besi ortamına karar vermede, interaksiyon var olduğu için genotip ve BA miktarını birlikte değerlendirmek gerekmektedir.

4.1.2. Kök Skoru

Kök gelişimi, laboratuvarında üretilen bitkilerin doğal koşullara aktarılmasında önemli bir karakterdir. Çünkü *in vitro* koşullarda yetişen bitkileri *in vivo* koşullara aktarmak için bitkilerin kök oluşturması gerekmektedir. Kök gelişimini belirlemek için 0-9 arasında bir skala kullanılarak kök skoru belirlenmiştir. Bu aynı zamanda kök gelişimini istatistiki olarak değerlendirme olanağı sağlamıştır. Varyans analizi sonuçlarına göre kök skoru üzerine genotip, BA ve bunların interaksiyonlarının etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	15,98***
BA	4	112,67***
Genotip x BA	8	16,27***
Hata	126	2,76

***: % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı BA düzeylerinde yetiştirilen bitkilerin ortalamalarına bakıldığında artan BA dozlarıyla kök gelişimi azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.4). En yüksek kök skoru, 5,75 ile BA içermeyen MS besi ortamında bulunmuştur. Genotiplerin karşılaştırılmasında ise 3,92

ile Kazdağı en iyi kök skoru sahip olmuştur. En düşük kök skoruna ise İtalya genotipinde 2,80 ile ulaşılmıştır.

İnteraksiyonun varyans analizinde önemli bulunması genotiplerin farklı BA düzeylerinde farklı yanıtlar verdiği göstermektedir. Buna göre LSD testine göre en iyi ortalama kök skoru 6,64 ile BA içermeyen besi ortamında Kazdağı genotipinde, en az kök skoru ise 1,5 mg/L BA içeren besi ortamında yetişen İtalya genotipinde (0,58) bulunmuştur.

Çizelge 4.4. BA'nın oğulotunda kök skoruna olan etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x BA): 1,18)

BA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. (LSD _{0,05} : 0,68)
0	5,13 bc ¹	6,64 a	5,47 ab	5,75 a
0,5	4,73 bc	4,87 bc	4,86 bc	4,82 b
1,0	2,44 efg	4,20 cd	3,32 de	3,32 c
1,5	0,58 i	2,60 ef	2,13 fgh	1,77 d
2,0	1,10 hi	1,32 ghi	1,18 hi	1,20 d
Ort.(LSD_{0,05}:0,52)	2,80 c	3,92 a	3,39 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Artan BA oranına bağlı olarak genotiplerin ortalamalarına bakıldığında kök skorunun azaldığı gözlenmiştir. Benzer bir çalışmada Pawelczak ve ark. (2004), eşek turpu (*Armoracia rusticana*) üzerine yaptıkları bir çalışmada, bizim bulgularımıza paralel olarak 0,1 mg/L BA'nın üzerindeki dozların kök gelişiminin sınırladığını bulmuşlardır. Bu sonucu BA'nın bir sitokin olması nedeniyle doku kültüründe kök gelişiminden daha çok sürgün gelişimi için kullanılması da desteklemektedir.

4.1.3. Boğum Sayısı

Boğum sayısı, bir bitkideki toplam boğumların sayısıdır. Varyans analizi sonuçları, BA'nın farklı dozlarının boğum sayısı üzerine etkisinin önemli olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.5). Genotipler arasındaki farkın önemli olduğu, aynı şekilde Genotip x BA interaksiyonunun da önemli olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	11,02*
BA	4	79,38***
Genotip x BA	8	8,25**
Hata	126	2,46

*, ** ve *** sırasıyla % 5, % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

LSD testine göre farklı BA düzeylerinde genotiplerin boğum sayılarının ortalamasına bakıldığında en fazla boğum sayısı miktarı BA içermeyen MS besi ortamı (6,49) ile 0,5 mg/L BA içeren besi ortamında (5,44) olduğu saptanmıştır. En az boğum sayısına ise 1,5 mg/L (2,73) ve 2,0 mg/L BA (2,49) içeren besi ortamlarında rastlanmıştır. LSD testine göre en fazla boğum sayısı 4,71 ile Kazdağı genotipinden elde edilmiştir. İtalya ve Yerel genotipler aynı grupta yer alıp Kazdağı genotipinden daha az sayıda boğum sayısı oluşturmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6’da en fazla boğum sayısı, BA bitki büyüme düzenleyicisiz yetiştirilen Kazdağı genotipinde (6,60) ve İtalya genotipinde (6,53) bulunmuştur. En az boğum sayısı ise 1,5 mg/L BA içeren İtalya genotipinde bulunmuştur (1,02).

Çizelge 4.6. BA’nın oğulotunda boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x BA): 1,39)

BA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. (LSD_{0,05}: 0,80)
0	6,53 a ¹	6,60 a	5,44 ab	6,49 a
0,5	5,73 ab	5,47 ab	5,12 bc	5,44 a
1,0	3,89 cde	4,88 bc	3,36 def	4,04 b
1,5	1,02 g	4,56 bcd	2,62 ef	2,73 c
2,0	2,80 ef	2,06 gf	2,62 ef	2,49 c
Ort.(LSD_{0,05}: 0,62)	3,99 b	4,71 a	3,83 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Genel bir değerlendirme yapılacak olursa; artan BA dozlarının bitki gelişimini BA bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besi ortamına göre olumsuz etkilediği sonucuna ulaşılabilir. Benzer bir çalışmada Prat ve ark. (2008), jojoba bitkisinde (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider) uygulanan BA büyüme düzenleyicisinin dozu arttıkça boğum sayısı miktarının da sınırlandığını belirtmişlerdir. Bizim denememizde de, BA dozu arttıkça bitki boyunda azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Bu da bitkideki boğum sayısını etkilemiş olabilir.

4.1.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı

Kullanılabilir boğum sayısı *in vitro* çalışmalarda bitki gelişimini belirlemede önemli bir işarettir. Ne kadar fazla ve sağlıklı kullanılabilir boğum elde edilirse daha sonraki çalışmalar için eksplant kaynağı teşkil etmesi bakımından o kadar iyi olmaktadır. Varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozda BA'nın ve genotipin kullanılabilir boğum sayısı üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7). Bunun yanı sıra Genotip x BA interaksyonu önemli olup, kullanılabilir boğum sayısı bakımından genotiplerin farklı BA dozlarına farklı yanıtlar verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetişen farklı oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	5,37**
BA	4	28,09***
Genotip x BA	8	1,90*
Hata	126	0,73

*, ** ve *** sırasıyla % 5, % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı BA dozlarında genotiplerin kullanılabilir boğum sayılarının karşılaştırılması amacıyla yapılan LSD testine göre Çizelge 4.8'de genotiplerin ortalamalarına bakıldığında en fazla kullanılabilir boğumun, 3,10 ile BA bulundurmeyen MS besi ortamında elde edildiği görülmektedir. BA'nın dozu arttıkça besi ortalamalarına ait ortalamalarda bir azalmanın olduğu saptanmıştır. Genotiplerin ortalamalarına bakıldığında ise Kazdağı (2,14) en fazla kullanılabilir boğum sayısına sahip olurken, İtalya (1,61) ve Yerel (1,54) bundan daha az sayıda kullanılabilir boğum sayısına sahiptir.

Varyans analizinde interaksyonun önemli olması tüm genotiplerin tüm BA dozlarındaki ortalamaların karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Buna göre Çizelge 4.8'de yapılan LSD testine göre en yüksek ortalama kullanılabilir boğum sayısı Kazdağı (3,34) ve İtalya (3,29) genotipinden büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamında elde edilmiştir. Bunu yine Kazdağı genotipi 1,0 mg/L BA ve İtalya genotipi 0,5 mg/L BA içeren besi ortamlarında 2,52 ve 2,47 ortalama ile izlemişlerdir. En az kullanılabilir boğum sayısına 0,18 ortalama ile 1,5 mg/L BA içeren besi ortamında İtalya genotipinde rastlanmıştır.

Çizelge 4.8. BA'nın oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x BA): 0,76)

BA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. (LSD _{0,05} :0,44)
0	3,29 a ¹	3,34 a	2,67 ab	3,10 a
0,5	2,47 b	2,42 bc	2,10 bc	2,33 b
1,0	1,27 de	2,52 b	1,22 de	1,67 c
1,5	0,18 f	1,69 cd	0,98 de	0,95 d
2,0	0,86 ef	0,74 ef	0,74 ef	0,78 d
Ort. (LSD _{0,05} :0,34)	1,61 b	2,14 a	1,54 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Sonuç olarak kullanılabilir boğum sayısının genel değerlendirmesi yapılacak olursa, artan BA dozlarının bitki gelişimini, BA içermeyen MS besi ortamına göre olumsuz etkilediği sonucuna varılabilir. Sasan ve ark. (2009), Çin greyfurdu (*Citrus grandis* L.) bitkisinin *in vitro* rejenerasyonu için kullandıkları büyüme düzenleyicilerinde, artan BA dozlarının bitkinin boğum sayısını ve uzunluğunu dolayısıyla bunun kullanılabilirliğini azalttığını belirtmişlerdir.

4.1.5. Yeşil Ağırlık

Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre, farklı miktarlarda BA bulunan besi ortamları ve genotiplerin, yeşil ağırlık üzerine etkisinin önemli olduğu görülmektedir (Çizelge 4.9). Genotip x BA interaksiyonu önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.9. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetişen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	1,27***
BA	4	0,24***
Genotip x BA	8	0,14**
Hata	126	0,04

** ve *** sırasıyla % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı BA dozlarında genotiplerin yeşil ağırlıklarının kıyaslanması amacıyla yapılan LSD testine göre çizelge 4.10'da tüm genotiplerin ortalamalarına bakıldığında en fazla yeşil ağırlığın 0,93 g ile 0,5 mg/L BA içeren besi ortamından elde edildiği görülmektedir. Diğer besi ortalamaları ise bundan daha düşük değerlerde olup hepsinin aynı düzeyde olduğu belirlenmiştir. Genotip ortalamalarına göre en fazla yeşil ağırlık 0,92 g ile Kazdağı genotipinden elde edilmiştir. Kazdağı genotipinin yapraklarının daha büyük ve kalın

olduğu gözlemler ile tespit edilmiştir. Bu nedenle İtalya genotipi daha yüksek ortalama bitki boyuna sahip olmasına rağmen yapraklarının küçük ve daha ince olması nedeniyle yeşil ağırlığı Kazdağı genotipine göre daha az olmuştur.

LSD testine göre en yüksek ortalama yeşil ağırlık 1,07 g ile 0,5 mg/L BA içeren besi ortamında tespit edilmiştir. Ez az yeşil ağırlık ise 1,0 mg/L BA besi ortamında 0,58 g ile İtalya genotipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10. BA'nın oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x BA): 0,18)

BA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. (LSD _{0,05} : 0,10)
0	0,68 ef ¹	0,89 bcd	0,67 ef	0,75 b
0,5	0,70 ef	1,07 a	1,02 ab	0,93 a
1,0	0,58 f	0,90 abc	0,80 cde	0,76 b
1,5	0,40 g	1,02 ab	0,77 cde	0,73 b
2,0	0,66 ef	0,72 def	0,75 cdef	0,71 b
Ort.(LSD_{0,05}: 0,08)	0,60 c	0,92 a	0,80 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Genel bir değerlendirme yapıldığında, artan BA dozlarının bitki gelişimini BA içermeyen MS'e göre çok fazla etkilemediği sonucuna varılabilir. Azadi ve Khosk-Khui'nin (2007) Lilyum bitkisi üzerine yaptıkları bir çalışmada (*Lilium ledebourii*) BA düzenleyicisiz yapılan uygulamada yeşil ağırlığın düşük olduğunu, BA'nın artan dozlarında yeşil ağırlığın yükseldiğini, ancak daha yüksek dozlarda ise tekrar düştüğünü belirtmişlerdir. Bu araştırmanın sonuçları bizim bulgularımız ile benzerlik göstermektedir.

4.1.6. Klorofil İndeksi

Klorofil içeriği, bir bitkinin sağlık göstergesidir. Yüksek olması, bitkinin ne kadar sağlıklı olduğunu bir işaretidir. Klorofil içeriği, doğrudan spektroskopik yöntemler ile belirlenebilir. Fakat bu ölçümlerin tahrip edici ve zaman alıcı olması nedeniyle bitkilerde klorofil içeriği hakkında bilgi edinmek için başka yöntemler de geliştirilmiştir. Bunlardan birisi de uzaktan algılama yöntemidir. Işın yansıma miktarları klorofil indeks değeri olarak ifade edilmektedir. Bu açıklamaların ışığında yapılan ölçümlere ait verilerin varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda BA içeren besi ortamları ve genotiplerin, klorofil indeksi üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11). Ayrıca Genotip x BA interaksyonu da önemli bulunmuş olup bu da genotiplerin BA'nın artan dozlarına göre farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.

Çizelge 4.11. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	15274,20***
BA	4	6164,22***
Genotip x BA	8	2887,59***
Hata	126	525,81

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı dozda BA'nın genotiplerin klorofil üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmış olan LSD testine göre Çizelge 4.12'de genotiplerin ortalamalarında klorofil indeksi en yüksek BA büyüme düzenleyici içermeyen MS besi ortamından elde edildiği görülmektedir (138,87). BA'nın yoğunluğu arttıkça besi ortamlarının ortalamalarında bir azalma meydana gelmektedir. Genotiplerin ortalamalarında ise Kazdağı (126,88) ve Yerel (123,64) ile aynı grupta yer alırken İtalya genotipi ise diğer ikisinden daha az klorofil indeksi elde edilmiştir.

Varyans analizinde interaksiyonun önemli olması genotiplerin BA doz ortalamalarının karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Çizelge 4.12.'de LSD testine göre en fazla klorofil indeksi 167,73 ile BA içermeyen besi ortamında Kazdağı genotipinde belirlenmiştir. En düşük klorofil indeksine ise İtalya genotipinde 1,5 mg/L ve 2,0 mg/L BA besi ortamlarında 73,17 ve 78,99 ile ulaşılmıştır.

Çizelge 4.12. BA'nın oğulotunda klorofil indeksine etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x BA): 14,09)

BA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. (LSD_{0,05}:11,72)
0	111,64 cdef ¹	167,73 a	137,24 b	138,87 a
0,5	118,36 bcde	125,14 bcd	106,24 def	116,58 b
1,0	93,43 gf	112,60 cdef	131,16 bc	112,40 bc
1,5	73,17 g	128,72 bc	115,55 cde	105,81 bc
2,0	78,99 g	100,23 ef	127,99 bc	102,40 c
Ort.(LSD_{0,05}:9,06)	95,12 b	126,88 a	123,64 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Bir bitkinin klorofil içeriği, o bitkinin sağlıklı olup olmaması hakkında bilgiler verebilmektedir. Örneğin, stres koşullarında bitkilerin klorofil içeriğinde azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Klorofil indeksi de bitkinin klorofil içeriği hakkında bilgi vermektedir (Sanchez ve ark., 1983).

Railton ve Reid. (1973), domateste yaptıkları bir doku kültürü çalışmasında farklı büyüme düzenleyicileri kullanmışlardır. Sonuçlara göre en fazla klorofil, büyüme

düzenleyici içermeyen MS besisi ortamından elde edilirken artan BA dozlarında ise klorofil oranının azaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar bizim bulgularımız ile benzerlik göstermektedir. Sonuç olarak klorofil parametresinin genel bir incelemesi yapıldığında yükselen BA miktarlarının bitki gelişimini BA içermeyen MS'e göre olumlu etkilemediği sonucuna varılabilir.

4.1.7. BA Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar

Çizelge 4.13'te BA denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları belirtilmiştir. Yeşil ağırlık ve klorofil indeksi ile diğer karakterler arasındaki korelasyon katsayısının düşük fakat önemli olduğu görülmektedir. Bitki boyu, kök skoru, boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı karakterlerinin birbiri ile olan ilişkisinde ise korelasyon katsayısı yüksek ve önemli bulunmuştur. Korelasyon katsayısının yüksek olması ölçülen karakterler arasındaki ilişkinin yakınlığını göstermektedir. Aralarında çok yüksek ve önemli ilişki bulunan bu karakterler, gelecekteki çalışmalarda ölçülen karakterlerin azaltılmasında fayda sağlayabilir. Diğer taraftan bu ilişkinin olması, bu karakterlerin birbirine bağlı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.13. BA denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları

Karakterler	BB	KS	BS	KBS	YA
KS	0,85***				
BS	0,88***	0,84***			
KBS	0,89***	0,86***	0,92***		
YA	0,51***	0,49***	0,52***	0,51***	
KI	0,36***	0,51***	0,47***	0,48***	0,41***

BB: Bitki boyu, KS: kök skoru, BS: Boğum sayısı, KBS: Kullanılabilir boğum sayısı, YA: Yeşil ağırlık, KI: Klorofil indeksi.

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

4.2. KİN (Kinetin)

Çalışmanın ikinci denemesinde kinetinin farklı dozlarının (0, 1,0, 2,0, 3,0 ve 4,0 mg/L) *in vitro* koşullarda üç farklı oğulotu genotipinin gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Ölçülen ve gözlenen karakterlere ait varyans analiz sonuçları ayrı ayrı alt başlıklar şeklinde aşağıda sunulmuş ve tartışılmıştır.

4.2.1. Bitki Boyu

Laboratuvar çalışmalarında bitki gelişimini saptamak için bitki boyunu belirlemek önemlidir. Varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamları ve genotiplerin bitki boyu üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	18,51*
KİN	4	23,45**
Genotip x KİN	8	4,35
Hata	126	5,34

* ve ** : Sırasıyla % 5 ve % 1 düzeyinde önemlidir.

Yapılan LSD testine göre Çizelge 4.15'te tüm genotiplerin ortalamasına bakıldığında en uzun bitki boyu 6,44 cm ile kinetin içermeyen MS ortamında ve 6,38 cm ile 1,0 mg/L kinetin içeren besi ortamından elde edildiği görülmektedir. Kinetinin yoğunluğu arttıkça besi ortamlarına ait ortalamalarda bir azalmanın olduğu saptanmıştır. Genotiplerin ortalamasına bakıldığında ise Kazdağı (6,27 cm) genotipinden en uzun bitki boyu elde edilirken İtalya genotipi ise bundan daha kısa olmuştur.

Çizelge 4.15. Kinetinin oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x KİN):2,04)

Kinetin	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :1,18)
0	6,48	6,98	5,85	6,44 a ¹
1,0	5,56	6,56	7,03	6,38 a
2,0	5,21	6,63	5,39	5,74 ab
3,0	5,39	5,88	3,81	5,03 bc
4,0	4,48	5,31	3,38	4,39 c
Ort.(LSD _{0,05} :0,91)	5,42 ab	6,27 a	5,09 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Sonuç olarak bitki boyunun genel değerlendirilmesi yapıldığında artan kinetin dozlarının bitki gelişimini kinetin içermeyen MS'e göre olumsuz etkilediği sonucuna varılabilir. Bu sonuca paralel olarak, Iftikhar ve ark. (1990) *Hyoscyamus muticus* L. bitkisinde kinetin bitki büyümesinde, çiçeklenmesinde ve alkaloid içeriğinde etkisi konulu araştırmalarında doz arttıkça bitki boy uzamasının azaldığı bildirmişlerdir.

4.2.2. Kök Skoru

*In vitro*da üretilen bitkilerin doğal koşullara aktarılmasında kök skoru önemli bir kriterdir. Çünkü laboratuvar koşullarından tarla koşullarına aktarılan bitkilerin toprağa kökleri ile tutunmaları gerekmektedir. Kök gelişimini belirlemek için 0-9 arasında belirlenen bir skala kullanılmıştır. Varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda kinetin ilavesinin kök skoru üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.16). Aynı şekilde genotipler arasındaki farkında önemli olduğu bulunmuştur. Fakat bu iki parametrenin interaksiyonu önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	68,15***
KİN	4	28,21***
Genotip x KİN	8	2,58
Hata	126	2,25

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı kinetin seviyeleri etkisinin karşılaştırılması amacıyla uygulanan LSD testine göre Çizelge 4.17'de ortalamalara bakıldığında ortalamalar arasında artan kinetin oranına bağlı kök skorunun azaldığı gözlenmiştir. En yüksek kök skoru, 4,77 ile kinetin içermeyen MS besi ortamında ve 4,74 ile 1,0 mg/L kinetin bulunan besi ortamında bulunmuştur. Genotiplerin ortalamasında ise 4,80 ile Kazdağı en iyi kök skoru sonucu olarak görülmektedir. En düşük kök skoruna ise İtalya genotipinden 2,49 ile elde edilmiştir.

Çizelge 4.17. Kinetinin oğulotunda kök skoruna olan etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x KİN): 1,33)

Kinetin	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,77)
0	3,26	5,58	5,48	4,77 a ^I
1,0	3,11	5,58	5,58	4,76 a
2,0	2,13	4,86	3,38	3,46 b
3,0	2,04	4,48	2,72	3,08 bc
4,0	1,93	3,52	2,56	2,67 c
Ort.(LSD _{0,05} :0,59)	2,49 c	4,80 a	3,94 b	

^I: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Svensson, 2006 yılında yaptığı bir çalışmada, farklı bitki büyüme düzenleyicileri kullanmış ve bunların kök gelişimde yapmış olduğu değişimleri karşılaştırmıştır. Buna göre, çalışmamızla benzer sonuçlar elde ederek, artan kinetin oranına bağlı olarak kök skorunun azaldığını gözlemlemiştir.

4.2.3. Boğum Sayısı

Boğum sayısı, bir bitkide bulunan boğumların sayısıdır. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi bitkide boğum sayısı bakımından kinetin dozları ve genotipler arasındaki farkın önemli olduğunu bulunmuştur.

Çizelge 4.18. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	31,33***
KİN	4	19,70***
Genotip x KİN	8	1,64
Hata	126	2,75

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

LSD testine göre farklı kinetin düzeylerinde boğum sayıları ortalamasına bakıldığında en fazla boğum sayısı miktarı kinetin içermeyen MS besi ortamı (5,31) ve 1,0 mg/L kinetin içeren besi ortamında (4,97) olduğu saptanmıştır. En az boğum sayısı ise 4,0 mg/L kinetin içeren besi ortamında (3,37) olduğu belirlenmiştir. LSD testine göre en fazla boğum sayısı 4,99 ile Kazdağı genotipinden ve 4,71 ile Yerel genotipten elde edilmiştir. İtalya genotipinden, Kazdağı ve Yerel genotipinden daha az sayıda boğum sayısı sağlanmıştır (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19’da en fazla boğum sayısı, kinetin bitki büyüme düzenleyicisiz yetiştirilen Kazdağı genotipinde (6,12), Yerel genotipinde (5,68) ve 1,0 mg/L kinetin

içeren büyüme düzenleyicisinde yetişen Yerel genotipinde (5,66) bulunmuştur. En az boğum sayısı ise 4,0 mg/L kinetin içeren İtalya genotipinde bulunmuştur (2,62).

Çizelge 4.19. Kinetinin oğulotunda boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x KİN): 1,47)

Kinetin	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,85)
0	4,16	6,12	5,66	5,31 a¹
1,0	3,80	5,42	5,68	4,97 a
2,0	3,44	5,04	5,22	4,57 ab
3,0	3,48	4,18	3,70	3,79 bc
4,0	2,62	4,18	3,30	3,37 c
Ort.(LSD_{0,05}:0,66)	3,50 b	4,99 a	4,71 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Wittwer ve Dedolph (1963), kinetinin, domates, salatalık ve bezelye bitkilerinde etkisini inceledikleri araştırmada, artan kinetin dozlarının bitki gelişimini kinetin bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besi ortamına göre olumsuz etkilediği sonucuna ulaşmışlardır. Bu bulgular bizim bulgularımız ile benzerlik göstermektedir.

4.2.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı

Laboratuar çalışmalarında ne kadar sağlıklı ve fazla kullanılabilir boğum sayısı elde edilirse ilerleyen çalışmalar için eksplant kaynağı teşkil etmesi bakımından bu önem taşımaktadır. Çünkü oğulotu boğumlarda bulunan aksiller meristemler ile dallanmakta ve doku kültüründe yeni sürgünler vermektedir. Bu da doku kültüründe bir bitkinin çoğaltılmasında önem arz etmektedir. Varyans analizi sonuçlarına göre kinetin ve genotipin kullanılabilir boğum sayısı üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.20. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetişen farklı oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	27,79***
KİN	4	5,38***
Genotip x KİN	8	0,96
Hata	126	0,69

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Kinetin dozlarında genotiplerin kullanılabilir boğum sayılarının karşılaştırılması için yapılan LSD testine göre Çizelge 4.21’de genotiplerin ortalamalarına bakıldığında en fazla kullanılabilir boğum sayısı, kinetin bulundurmayan MS besi ortamında (2,39) elde edildiği görülmektedir. Kinetinin dozu arttıkça besi ortalamalarına ait ortalamalarda bir azalmanın olduğu saptanmıştır. Genotiplerin ortalamalarına bakıldığında ise Kazdağı (2,48) ile en fazla kullanılabilir boğum sayısına sahip olurken, Yerel (2,08) bundan daha az sayıda kullanılabilir boğum sayısına sahiptir.

Çizelge 4.21. Kinetinin oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x KİN): 0,74)

Kinetin	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD_{0,05}:0,42)
0	1,26	3,14	2,78	2,39 a¹
1,0	1,07	2,70	2,79	2,19 ab
2,0	1,00	2,42	2,07	1,83 bc
3,0	1,04	2,06	1,44	1,51 c
4,0	0,82	2,10	1,30	1,41 c
Ort.(LSD_{0,05}:0,33)	1,04 c	2,48 a	2,08 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Demirbağ ve Kendir (2009), uzun yapraklı üçgülün (*Trifolium pannonicum* ssp. *elongatum*) hipokotil ve yaprak sapı ekplantından *in vitro* çoğaltılması konulu çalışmalarında düşük dozdaki kinetin bitki boyunu ve dolayısıyla kullanılabilir boğum sayısını arttırdığını doz arttıkça bu durumun azaldığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak kullanılabilir boğum sayısının genel değerlendirmesi yapılacak olursa, artan kinetin dozlarının bitki gelişimini, kinetin içermeyen MS besi ortamına göre olumsuz etkilediği sonucuna varılabilir.

4.2.5. Yeşil Ağırlık

Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre, farklı dozda kinetin uygulanan besi ortamları ve genotiplerin, yeşil ağırlık üzerine etkisinin önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.22. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetişen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	1,08***
KİN	4	0,10*
Genotip x KİN	8	0,07
Hata	126	0,04

* ve *** : Sırasıyla % 5 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Uygulanan farklı kinetin dozlarında genotiplerin yeşil ağırlıklarının kıyaslanması amacıyla uygulanan LSD testine göre çizelge 4.23'te tüm genotiplerin ortalamalarına bakıldığında en fazla yeşil ağırlığın 1,0 mg/L kinetin içeren besi ortamından (0,70 g) elde edildiği görülmektedir. Yine MS ve MS+2,0 mg/L kinetin içeren besi ortamları da bunu izleyerek aynı grupta yer almışlardır. Kinetinin yüksek dozlarında ise yeşil ağırlıkta önemli düzeyde azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Genotiplerin ortalaması incelendiğinde ise 0,76 g ile Kazdağı genotipinden en fazla ortalama yeşil ağırlık sağlanmıştır.

Genotip x KİN interaksiyonun önemsiz olmasına rağmen genel bir bakış açısından en yüksek ortalama yeşil ağırlık 0,86 g ile 2,0 mg/L kinetin içeren besi ortamında Kazdağı genotipinde tespit edilmiştir. Ez az yeşil ağırlık ise 2,0 mg/L ve 4,0 mg/L kinetin içeren besi ortamında 0,40'ar g ile İtalya genotipinde belirlenmiştir (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Kinetinin oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi $LSD_{0,05}(\text{Genotip} \times \text{KIN})$: 0,18

Kinetin	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. ($LSD_{0,05}:0,11$)
0	0,53	0,68	0,61	0,61 ab¹
1,0	0,52	0,76	0,83	0,70 a
2,0	0,40	0,86	0,66	0,64 ab
3,0	0,46	0,76	0,50	0,57 b
4,0	0,40	0,71	0,57	0,56 b
Ort. ($LSD_{0,05}:0,08$)	0,46 c	0,76 a	0,63 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Özet olarak, denemede kullanılan oğul otu genotiplerinin ortalama yeşil ağırlıkları artan kinetin dozlarına önemli fakat paralel bir değişim göstermemiştir. Benzer sonuçları Rijven ve Parkash (1971), çemen kotiledonlarında kinetin etkisi konulu araştırmalarında da

bulmuşlardır. Kinetin dozu artışıyla birlikte bitkinin ağırlığında dalgalı seyreden bir durum gözlemlenmiştir.

4.2.6. Klorofil İndeksi

Spektral yöntemler ile ölçülen klorofil indeks değeri bitkinin klorofil içeriği dolayısıyla fotosentez miktarı ile ilişkilidir. Kinetine dair klorofil indeks değerleri incelendiğinde genotiplerin klorofil indeksi üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.24). Ayrıca Genotip x KİN interaksiyonu da önemli bulunmuş olup bu da genotiplerin kinetin artan dozlarına göre farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir. Fakat kinetin uygulamasının klorofil indeksine etkisi önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.24. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	16697,63**
KİN	4	3185,79
Genotip x KİN	8	4655,95*
Hata	126	2412,13

* ve ** : Sırasıyla % 5 ve % 1 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.25'te genotiplerin ortalamalarında klorofil indeksi en yüksek 1,0 mg/L kinetin büyüme düzenleyici içeren besi ortamından elde edildiği görülmektedir (171,24). Genotiplerin ortalamalarında ise Kazdağı (173,61) ve Yerel (170,48) ile aynı grupta yer alırken İtalya genotipi ise diğer ikisinden daha az klorofil indeksi elde edilmiştir.

Varyans analizinde interaksiyonun önemli çıkmıştır. Bu nedenle genotiplerin farklı kinetin dozlarındaki ortalamalarının karşılaştırılması gerektirmektedir. Çizelge 4.25'te LSD testine göre en fazla klorofil indeksi 195,66 ile kinetin içermeyen besi ortamında Yerel genotipinde ve 1,0 mg/L kinetin bulunan besi ortamında yetişen Kazdağı genotipinde belirlenmiştir. En düşük klorofil indeksine ise İtalya genotipinde 4,0 mg/L kinetin içeren besi ortamında 188,01 ile ulaşılmıştır.

Çizelge 4.25. Kinetinin oğulotunda klorofil indeksine etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x KİN:43,47)

Kinetin	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD_{0,05}:25,10)
0	136,05 def ¹	179,10 abcd	195,66 a	170,27
1,0	130,80 ef	193,07 a	189,85 ab	171,24
2,0	173,41abcde	147,25bcdef	166,28 abcde	162,31
3,0	144,27 cdef	167,64abcde	161,43abcdef	157,78
4,0	188,01 f	180,98 abc	139,18 cdef	146,06
Ort.(LSD_{0,05}:19,44)	140,51 b	173,61 a	170,48 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Kaul ve Sabharwal (1971), tütün doku kültürü çalışmalarında klorofil sentezi ve bitki gelişiminde kinetin ve sukrozun etkileri konulu araştırmalarında düşük doz kinetin uygulamasının yeşil ağırlığı arttırdığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak klorofil indeksinin genel bir incelemesi yapıldığında yükselen kinetin miktarlarının bitki gelişimini kinetin içermeyen MS'e göre olumsuz etkilemediği sonucuna varılabilir.

4.2.7. Kinetin Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar

Korelasyon katsayısı ne kadar yüksek ise ölçülen karakterler arasındaki ilişkinin o kadar yakın olduğunu anlamına gelmektedir. Aralarında çok yüksek ve önemli ilişki bulunan bazı karakterler, ileriki çalışmalarda ölçülen karakterlerin azaltılmasında fayda sağlayacaktır. Üç oğulotu genotipinin farklı kinetin yoğunlukları içeren MS besi ortamlarında yetiştirilmesi sonucu ölçülen karakterlere ait korelasyon katsayısı ve önemlik durumları Çizelge 4.26’da verilmiştir. Buna göre klorofil indeksinin ölçülen diğer tüm karakterler ile düşük korelasyon katsayısına sahip olduğu bulunmuştur. Diğer karakterlerin birbiri ile ilişkileri yüksek ve önemli olmuştur.

Çizelge 4.26. Kinetin denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları

Karakterler	BB	KS	BS	KBS	YA
KS	0,80***				
BS	0,86***	0,84***			
KBS	0,75***	0,89***	0,91***		
YA	0,69***	0,73***	0,62***	0,64***	
KI	0,04	0,16*	0,04	0,11	0,24*

BB: Bitki boyu, KS: kök skoru, BS: Boğum sayısı, KBS: Kullanılabilir boğum sayısı, YA: Yeşil ağırlık, KI: Klorofil indeksi.

* ve ***: Sırasıyla % 5 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

4.3. IAA (Indole Acetic Acid)

Araştırmanın üçüncü denemesinde, IAA'nın farklı dozlarının (0, 1,0, 2,0, 3,0 ve 4,0 mg/L) laboratuvar koşullarında üç farklı oğulotu genotipinin gelişimi üzerine etkisi incelenmiştir. Aynı ayrı alt başlıklar şeklinde ölçülen ve gözlenen karakterlere ait varyans analiz sonuçları aşağıda sunulmuş ve tartışılmıştır.

4.3.1. Bitki Boyu

Denemede üç farklı oğulotu beş farklı besi ortamında yetiştirilmiş ve bu *in vitro* bitkilerde bitki boyu ölçülmüştür. Elde edilen verilerin varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda IAA içeren besi ortamları ve genotiplerin bitki boyu üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.27). Genotip x IAA interaksiyonu önemli bulunmuş olup bu da genotiplerin IAA'nın farklı dozlarında farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.

Çizelge 4.27. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	131,70***
IAA	4	56,70***
Genotip x IAA	8	15,25***
Hata	126	3,92

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

LSD testinin sonuçlarına göre Çizelge 4.28'de tüm genotiplerin ortalamasına bakıldığında en uzun bitki boyu 7,39 cm ile IAA içermeyen MS ortamında elde edildiği görülmektedir. IAA'nın yoğunluğu arttıkça besi ortamlarına ait ortalamalarda bir azalmanın olmadığı saptanmıştır. Genotiplerin ortalamasına bakıldığında ise İtalya (6,82 cm) ile en fazla bitki boyuna ulaşırken Yerel ve Kazdağı genotipleri ise bunlardan daha kısa ve aynı grupta olmuştur.

Varyans analizinde interaksiyon önemli çıkmıştır. Bu yüzden genotiplerin tüm IAA dozlarındaki ortalamaları karşılaştırılmalıdır. Çizelge 4.28'de yapılan LSD testine göre en yüksek ortalama bitki boyu (10,79 cm) İtalya genotipinden büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamında elde edilmiştir. Bunu yine İtalya genotipi 1,0 IAA içeren besi ortamında (7,71 cm) izlemiştir. En kısa boylu bitkiler ise 2,75 cm ile 3,00 mg/L ve 3,03 ile 4,0 mg/L IAA içeren besi ortamlarında yetişen Kazdağı genotipinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.28. IAA'nın oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IAA): 1,75)

IAA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :1,01)
0	10,79 a ¹	5,67 c	5,71 c	7,39 a
1,0	7,71 b	3,47 de	3,49 de	4,89 b
2,0	5,61 c	3,67 de	3,49 de	4,26 b
3,0	5,67 c	2,75 e	4,32 cde	4,24 b
4,0	4,30 cde	3,03 e	5,13 cd	4,15 b
Ort.(LSD _{0,05} :0,78)	6,82 a	3,72 b	4,43 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Sonuç olarak bitki boyunun genel değerlendirilmesi yapıldığında IAA uygulamasının bitki boyunu olumsuz etkilediği söylenebilir. Benzer sonuçlar Asaad ve arkadaşları (2006) tarafından da elde edilmiştir. Bu çalışmaya göre kenevirde (*Cannabis sativa* L.) indol asetik asitin 1 mg/L düzeyindeki doz artışının bitki boyunu arttırmadığını belirtmişlerdir. Bizim sonuçlarımızla paralellik gösteren bu durum IAA'nın bir oksin olmasından kaynaklanabilir. IAA'nın doğası gereği bitkide sürgün yerine kök gelişimini teşvik eden bir büyüme düzenleyici olmasıdır.

4.3.2. Kök Skoru

Laboratuarda yetişen bir bitki, tarla koşullarına şaşırtılabiliyorsa, bu çalışmanın başarısı açısından kök gelişimi önem arz etmektedir. Kök skoru için 0-9 arasında değişen bir skala belirlenerek kök gelişimi gözlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre IAA kök skoru üzerine genotip, IAA ve bunların interaksiyonlarının etkisi önemli bulunmuştur. (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.29. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	5,17*
IAA	4	15,65***
Genotip x IAA	8	7,28***
Hata	126	1,60

* ve *** : Sırasıyla % 5 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı IAA dozlarının etkisinin karşılaştırılması amacıyla yapılan LSD testine göre Çizelge 4.30'da ortalamalara bakıldığında en yüksek kök skoru, 5,17 ile IAA içermeyen MS besi ortamında bulunmuştur. Genotiplerin ortalamasında ise 4,19 ile Yerel genotipte en

iyi kök skoru sonucu olarak görülmektedir. En düşük kök skoruna ise Kazdağı genotipinde 3,57 ile ulaşılmıştır.

İnteraksiyonun varyans analizinde önemli bulunması genotiplerin IAA ortalamalarının karşılaştırılmasını öngörmektedir. Çizelge 4.30'da LSD testine göre en iyi ortalama kök skoru 5,62 ile IAA içermeyen besi ortamında bulunan Yerel genotipinde bulunmuştur.

Çizelge 4.30. IAA'nın oğulotunda kök skoruna olan etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IAA): 1,12)

IAA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,65)
0	5,46 ab ¹	4,42 bcd	5,62 a	5,17 a
1,0	5,18 abc	3,34 def	3,13 f	3,88 b
2,0	3,22 ef	3,73 def	3,06 f	3,34 b
3,0	3,55 def	3,28 ef	4,28 cde	3,70 b
4,0	2,69 f	3,07 f	4,86 abc	3,54 b
Ort.(LSD_{0,05}:0,50)	4,02 ab	3,57 b	4,19 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Artan IAA oranına bağlı olarak genotiplerin ortalamalarına bakıldığında kök skorunun değıştirmedığı gözlenmiştir. Chadwick ve ark. (1967), bezelye bitkisinde IAA'nın farklı konsantrasyonlarında kök gelişimlerini incelemiştir. Araştırmalarına göre, artan IAA dozlarının gözlenen kök skorlarını azalttığını tespit etmişlerdir. Kök gelişimi artan IAA dozlarına incelendiğinde IAA içermeyen MS besi ortamına göre çok fazla olmasa da nispeten olumsuz etkilendiği belirtilebilir. Bazı araştırmacılar kök oluşumu ve gelişimini oksinlerin desteklediğini fakat oksinler tarafından köklenmeyi teşvik eden etilenin köklenme durumunun ilerleyen aşamalarında etilen içeriğinin artması ile kök gelişimini durdurduğunu bildirmişlerdir (Batten ve Mullins, 1978; Geneve ve Heuser, 1982; Riov ve Yang, 1989).

4.3.3. Boğum Sayısı

Bir bitkideki boğum sayısı 50. günün sonunda ölçülmüş ve elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuştur. Bu analiz sonuçları göre Çizelge 4.31'de görüldüğü gibi genotip, IAA ve Genotip x IAA interaksiyonu önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.31. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	15,25**
IAA	4	35,33***
Genotip x IAA	8	10,87***
Hata	126	2,59

** ve *** : Sırasıyla % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

LSD testine göre farklı IAA düzeylerinde genotiplerin boğum sayılarının ortalamasına bakıldığında en fazla boğum sayısı miktarı IAA içermeyen MS besi ortamında (6,45) olduğu saptanmıştır. Genotipler karşılaştırıldığında en fazla boğum sayısı Yerel genotipinden (5,29) elde edilmiştir. İtalya ve Kazdağı genotipler aynı grupta yer alıp Yerel genotipinden daha az sayıda boğum sayısı sahip olmuştur (Çizelge 4.32).

Tüm genotiplerin tüm IAA dozlarının ortalamalarının karşılaştırılmasında, en fazla boğum sayısı, IAA bitki büyüme düzenleyicisiz yetiştirilen İtalya genotipinde (7,78) bulunmuştur (Çizelge 4.32). En az boğum sayısı ise 4,0 mg/L IAA içeren İtalya genotipinde bulunmuştur (2,64).

Çizelge 4.32. IAA'nın oğulotunda boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IAA): 1,42)

IAA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,82)
0	7,78 a ¹	5,52 bc	6,04 b	6,45 a
1,0	5,82 bc	3,92 de	5,53 bc	5,09 b
2,0	3,42 de	4,44 cd	4,40 cd	4,09 c
3,0	3,47 de	3,50 de	4,71 bcd	3,89 c
4,0	2,64 e	3,60 de	5,78 bc	4,01 c
Ort.(LSD _{0,05} :0,64)	4,63 b	4,20 b	5,29 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Özet olarak; artan IAA dozlarının bitki gelişimini IAA bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besi ortamına göre olumsuz etkilediği sonucuna ulaşılabilir. Kotov, 1996 yılında Rusya'da yapılan, artan IAA dozlarında bezelyede (*Pisum sativum*) boğum artışını inceledikleri araştırmada, doz artışının bitkideki boğum oranını azalttığını belirlemişlerdir.

4.3.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı

In vitro çalışmalarda sadece boğum sayısı elde etmek önemli değildir, bu boğum sayılarının kullanılabilir olduğu da önem taşımaktadır. Boğum sayısının kullanılabilir olması bitkiden alınan boğum aralarının en az 1 cm olmasına bağlıdır. Varyans analizi

sonuçlarına göre farklı dozda IAA'nın kullanılabilir boğum sayısı üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.33). Bunun yanı sıra Genotip x IAA interaksiyonu önemli olup, genotipler arasında farklı IAA dozlarına göre farklı yanıtlar verildiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.33. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetişen farklı oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	7,68***
IAA	4	9,01***
Genotip x IAA	8	3,61***
Hata	126	0,99

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Değişen IAA dozlarında genotiplerin kullanılabilir boğum sayılarının karşılaştırılması amacıyla yapılan LSD testine göre Çizelge 4.34'te genotiplerin ortalamalarına bakıldığında en fazla kullanılabilir boğum sayısı, 3,13 ile IAA bulundurmeyen MS besi ortamında elde edildiği görülmektedir. IAA'nın dozu arttıkça besi ortalamalarına ait ortalamalarda fazla bir azalmanın olmadığı ve değerlerin sabit kaldığı saptanmıştır. Genotiplerin ortalamalarına bakıldığında ise Yerel (2,62) ile en fazla kullanılabilir boğum sayısına sahip olurken, İtalya (2,09) ve Kazdağı (1,85) bundan daha az sayıda kullanılabilir boğum sayısına sahiptir.

Varyans analizinde interaksiyon önemli çıkmıştır, bu da tüm genotiplerin tüm IAA dozlarındaki ortalamaların karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Buna göre Çizelge 4.34'te yapılan LSD testine göre en yüksek ortalama kullanılabilir boğum sayısı genotipinden büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamında elde edilmiştir. Bunu yine Yerel genotipi bitki büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamı (3,02) ve 4,0 mg/L IAA içeren besi ortamı (2,96) izlemiştirlerdir. En az kullanılabilir boğum sayısına sahip genotip 1,09 ortalama ile 4,0 mg/L IAA içeren besi ortamında İtalya genotipinde bulunmuştur.

Çizelge 4.34. IAA'nın oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IAA): 0,88)

IAA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,51)
0	4,00 a ¹	2,36 cbd	3,02 b	3,13 a
1,0	2,42 cbd	1,68 cdef	2,53 bc	2,21 b
2,0	1,40 ef	1,89 cdef	2,06 dce	1,78 b
3,0	1,55 def	1,64 def	2,52 bc	1,90 b
4,0	1,09 f	1,69 cdef	2,96 b	1,91 b
Ort.(LSD_{0,05}:0,39)	2,09 b	1,85 b	2,62 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Sonuç olarak, artan IAA dozlarının bitki gelişimini olumsuz etkilediği bulunmuştur. Chandra ve Mishra 2007 yılında, guava (*Psidium guajava* L.) bitkisi üzerine yaptıkları çalışmada, artan IAA dozlarının bitkinin boğum sayısını ve uzunluğunu, dolayısıyla bunun kullanılabilirliğini genel olarak azalttığını belirtmişlerdir.

4.3.5. Yeşil Ağırlık

Bitki gelişimini belirlemek için yeşil ağırlık önemli bir kriter olsa da her zaman yeşil ağırlığın fazla olması bitkinin boyunun uzun olduğu anlamına gelmez, bitki dallanma da yapmış olabilir. Yapılan varyans analiz sonuçlarına göre, farklı miktarlarda IAA bulunan besi ortamları ve genotiplerin, yeşil ağırlık üzerine etkisinin önemli olduğu bulunmaktadır (Çizelge 4.35). Genotip x IAA interaksyonu önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.35. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetişen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	0,10*
IAA	4	0,40***
Genotip x IAA	8	0,07**
Hata	126	0,02

*, ** ve *** : Sırasıyla % 5, % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Uygulanan farklı IAA dozlarında genotiplerin yeşil ağırlıklarının kıyaslanması amacıyla uygulanan LSD testine göre çizelge 4.36'da tüm genotiplerin ortalamalarına bakıldığında en fazla yeşil ağırlığın 0,64 g ile IAA içermeyen besi ortamından elde edildiği görülmektedir. Diğer besi ortalamaları ise bundan daha düşük değerlerde olduğu belirlenmiştir. Genotiplerin ortalamalarına göre 0,50 g ile Yerel genotipinden en fazla yeşil

ağırlık eldesi sağlanmıştır. İtalya ve Kazdağı genotiplerinden (0,42 g, 0,43g) daha az yeşil ağırlık sağlanmış olup bu iki genotip de aynı grupta yer almaktadır.

Varyans analizinde interaksiyonun önemli olması tüm genotiplerin bütün IAA dozlarındaki ortalamalarının karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Çizelge 4.36’da yapılan LSD testine göre en yüksek ortalama yeşil ağırlık 0,71 g ile İtalya genotipinde ve 0,69 ile Yerel genotipinde IAA içermeyen besi ortamında tespit edilmiştir. Ez az yeşil ağırlık ise 140 mg/L IAA besi ortamında 0,21 g ile İtalya genotipinde belirlenmiştir.

Çizelge 4.36. IAA’nın oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi ($LSD_{0,05}(\text{Genotip} \times \text{IAA})$: 0,13)

IAA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.($LSD_{0,05}:0,08$)
0	0,71 a ¹	0,51 b	0,69 a	0,64 a
1,0	0,50 bc	0,45 cbd	0,47 bc	0,47 b
2,0	0,37 cde	0,48 bc	0,41 bcde	0,42 bc
3,0	0,31 ef	0,38 cde	0,45 cbd	0,38 cd
4,0	0,21 f	0,33 def	0,48 bc	0,34 d
Ort.($LSD_{0,05}:0,06$)	0,42 b	0,43 b	0,50 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Genel bir değerlendirmesini yapıp sonuçlandırarak olursak, artan IAA dozlarının bitki gelişimini IAA içermeyen MS’e göre olumsuz etkilediği sonucuna varılabilir. Ljung ve arkadaşları (2002), IAA büyüme düzenleyicisi eklenen *Arabidopsis*’te biyosentez, konjugasyon, katabolizma ve homeostasis konularını incelemişlerdir ve düşük dozda uygulanan IAA’nın yeşil ağırlığını arttırdığını tespit etmişlerdir.

4.3.6. Klorofil İndeksi

Klorofil indeksi değerine ait verilerin varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda IAA içeren besi ortamları ve genotiplerin, klorofil indeksi üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.37). Ayrıca Genotip x IAA interaksiyonu da önemli bulunmuş olup bu da genotiplerin IAA’nın artan dozlarına göre farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.

Çizelge 4.37. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	109741,92***
IAA	4	648,55*
Genotip x IAA	8	2286,46***
Hata	126	207,82

* ve *** : Sırasıyla % 5 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı dozda IAA'nın genotiplerin klorofil üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmış olan LSD testine göre Çizelge 4.38'de genotiplerin ortalamalarında klorofil indeksi en yüksek 1,0 mg/L IAA büyüme düzenleyici içeren MS besi ortamından elde edildiği görülmektedir (182,39). Genotiplerin ortalamalarında ise Yerel (211,05) en iyi sonucu verirken, Kazdağı genotipinden ise bundan daha az klorofil indeksi elde edilmiştir. IAA'nın genotiplere göre farklı etkide bulunduğu belirtilmiştir.

Varyans analizinde interaksiyonun önemli olması genotiplerin IAA dozlarının ortalamalarının karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Çizelge 4.38'de LSD testine göre en fazla klorofil indeksi 226,32 ile 1,0 mg/L IAA içeren besi ortamında Kazdağı genotipinde belirlenmiştir. En düşük klorofil indeksine ise İtalya genotipinde 1,0 mg/L IAA besi ortamında 111,39 ile ulaşılmıştır.

Çizelge 4.38. IAA'nın oğulotunda klorofil indeksine etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IAA: 12,76)

IAA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD_{0,05}:7,37)
0	119,18 fg ¹	190,24 c	210,88 b	173,43 b
1,0	111,39 g	226,32 a	209,46 b	182,39 a
2,0	124,30 ef	179,84 cd	215,30 ab	173,15 b
3,0	133,09 e	172,08 d	205,04 b	170,07 b
4,0	120,30 fg	184,80 cd	214,56 ab	173,22 b
Ort.(LSD_{0,05}:5,71)	121,65 c	190,66 b	211,05 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Sonuç olarak klorofil indeksinin genel bir incelemesi yapıldığında yükselen IAA miktarlarının bitki gelişiminde değişiklik yaptığı, önce arttırdığı daha sonra ise azalttığı, IAA'nın genotiplere göre ise farklı etkide bulunduğu söylenebilir. Fletcher ve arkadaşları (1971), salatalık kotiledonlarında klorofil indeksini araştırdıkları çalışmalarında düşük dozda IAA uygulamasının klorofil indeksini arttırdığını, doz arttıkça birim alandan belirlenen klorofil indeks ölçümünün azaldığını tespit etmişlerdir.

4.4.7. IAA Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar

IAA uygulamasına ilişkin aşağıda bulunan korelasyon tablosunda ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları belirtilmiştir (Çizelge 4.39). Karakterler arasındaki korelasyonlara bakıldığında klorofil indeksinin (bitki boyu hariç) diğer karakterler ile ilişkinin olmadığı görülmektedir. Buna karşılık, diğer karakterlerin kendi aralarındaki, özellikle boğum sayısı ile kullanılabilir boğum sayısı arasındaki, ilişkinin yüksek ve önemli olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4.39. IAA denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları

Karakterler	BB	KS	BS	KBS	YA
KS	0,73***				
BS	0,75***	0,77***			
KBS	0,72***	0,77***	0,89***		
YA	0,65***	0,65***	0,82***	0,70***	
KI	0,39***	0,03	0,04	0,11	0,10

BB: Bitki boyu, KS: kök skoru, BS: Boğum sayısı, KBS: Kullanılabilir boğum sayısı, YA: Yeşil ağırlık, KI: Klorofil indeksi.

***: % 0,1 düzeyinde önemlidir.

4.4. IBA (Indole Butyric Acid)

Çalışmanın son denemesinde ise IBA'nın farklı dozlarının (0, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/L) *in vitro* koşullarda üç farklı oğulotu genotipinin gelişimi üzerine etkisi araştırılmış olup ölçülen ve gözlenen karakterlere ait varyans analiz sonuçları ayrı ayrı alt başlıklar şeklinde aşağıda sunulmuş ve tartışılmıştır.

4.4.1. Bitki Boyu

Bitki gelişimini belirlemek için bitki boyu, doku kültürü çalışmalarında önemli bir göstergedir. Varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda IBA içeren besi ortamları ve genotiplerin, bitki boyu üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.40). Genotip x IBA interaksyonu önemli bulunmuş olup bu da genotiplerin IBA'nın artan dozlarına göre farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.

Çizelge 4.40. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	186,83***
IBA	4	12,00*
Genotip x IBA	8	11,54**
Hata	126	3,52

*, ** ve *** : Sırasıyla % 5, % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

LSD testi farklı IBA dozlarında genotiplerin bitki boylarının karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Çizelge 4.41'de tüm genotiplerin ortalamasına bakıldığında en uzun bitki boyu 7,84 cm ile 0,5 mg/L IBA içeren besi ortamından elde edildiği görülmektedir. IBA'nın yoğunluğu arttıkça besi ortamlarına ait ortalamalarda bir artışın olduğu saptanmıştır. Genotiplerin ortalamasına bakıldığında ise İtalya (9,34 cm) genotipi en uzun bitki boyunu sağlarken, Kazdağı (6,28 cm) ve Yerel hat (5,76 cm) ise daha kısa olmuştur.

Varyans analizinde interaksyonun önemli bulunmuştur. Buna göre Çizelge 4.41'de yapılan LSD testine göre en yüksek ortalama bitki boyu (10,46 cm, 10,39 cm ve 10,28 cm) İtalya genotipinden 0,5 mg/L, 1,0 mg/L ve 1,5 mg/L büyüme düzenleyici içeren besi ortamlarında elde edilmiştir. En kısa boylu bitkiler ise 5,29 cm ile 1,0 mg/L ve 5,28 cm ile 2,0 mg/L IBA içeren besi ortamında yetişen Yerel genotipinden elde edilmiştir.

Çizelge 4.41. IBA'nın oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IBA): 1,66)

IBA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,96)
0	7,96 b ¹	5,48 de	5,55 de	6,33 c
0,5	10,46 a	6,03 cde	7,02 bcd	7,84 a
1,0	10,39 a	5,29 e	5,42 de	7,03 abc
1,5	10,28 a	7,25 bc	5,51 de	7,68 ab
2,0	7,59 bc	7,36 bc	5,28 e	6,74 bc
Ort.(LSD_{0,05}:0,74)	9,34 a	6,28 b	5,76 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Bitki boyu tarla koşullarında olduğu gibi laboratuvar koşullarında da genotipik bir özellik olmakla birlikte çevre ve yetiştirme koşullarında önemli derecede etkilenebilmektedir. Örneğin, Shibli ve ark. (1997), ahlatta (*Pyrus syrica*) mikroçoğaltım üzerine yaptıkları çalışmalarında, denememizle benzer sonuç göstererek artan IBA dozlarında bitkinin boy uzamasının arttığını, ancak bir süre sonra tekrar azaldığını belirtmişlerdir.

Sonuç olarak bitki boyunun genel değerlendirilmesi yapıldığında artan IBA dozlarının bitki gelişimini olumlu etkilediği sonucuna varılabilir. Fakat daha detaylı bir sonuca varmak için her bir genotipin her bir besi ortamındaki performansına bakmak gerekmektedir.

4.4.2. Kök Skoru

Doku kültürü çalışmalarında geliştirilen bitkilerin kök oluşturması, bitkileri tarla koşullarına aktarmak için önemlidir. Çünkü bitkiler besi ortamından aldıkları besinleri tarla koşullarında rahatlıkla alabilmeleri için kök oluşturmaları gerekir. Kök gelişimini belirlemek için 0-9 arasında bir skala kullanılmıştır. Bu aynı zamanda kök gelişimini istatistiki olarak değerlendirme olanağı sağlamıştır. Varyans analizi sonuçlarına göre kök skoru üzerine Genotip ve IBA'nın etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.42).

Çizelge 4.42. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	26,72***
IBA	4	2,34
Genotip x IBA	8	2,33
Hata	126	1,87

*** : % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı IBA dozlarının etkisinin karşılaştırılması amacıyla yapılan LSD testine göre Çizelge 4.43'te ortalamalara bakıldığında ortalamalar arasında istatistiki açıdan artan IBA oranına bağlı kök skorunun değişmediği gözlenmiştir. Genotiplerin ortalamasında ise 6,05 ile Yerel genotipi en iyi kök skoru sonucu olarak görülmektedir. En düşük kök skoruna ise İtalya genotipinde 4,60 ile ulaşılmıştır.

Çizelge 4.43'te en iyi ortalama kök skoru 6,40 ile 0,5 mg/L IBA içeren ve 6,14 ile 2,0 mg/L IBA içeren besi ortamlarında bulunan yerel genotipinde, en az kök skoru ise 3,98 ile IBA içermeyen ve 3,78 ile 2,0 mg/L IBA içeren besi ortamlarında yetişen İtalya genotipinde bulunmuştur.

Çizelge 4.43. IBA'nın oğulotunda kök skoruna olan etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IBA): 1,21)

IBA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,70)
0	3,98	5,58	5,64	5,07
0,5	4,91	5,62	6,40	5,64
1,0	5,42	4,90	5,99	5,44
1,5	4,89	5,94	6,06	5,63
2,0	3,78	5,38	6,14	5,10
Ort.(LSD_{0,05}:0,54)	4,60 c¹	5,48 b	6,05 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Kök skoru açısından IBA dozları arasında istatistiki bir fark olmamasıyla birlikte, MS besi ortamına IBA ilavesi kök gelişimini arttırdığı görülmektedir (Çizelge 4.43). Benzer bir çalışmada Bennett ve ark. (2003), okaliptus (*Eucalyptus globulus*) üzerine yaptıkları çalışmada IBA'nın kök gelişimine fazla bir etkisinin olmadığını, düşük doz uygulamasının kök gelişiminde olumlu bir etkide bulunduğunu belirlemişlerdir. Zenginbal ve ark. (2006) ise kivi (*Actinidia deliciosa*, A. Chev.) odun çeliklerinin köklenmesi üzerine IBA uygulamalarının etkisi konulu çalışmalarında, IBA'nın 0, 50, 100, 150, 2000, 4000, 6000 ppm dozlarını uygulamışlardır. Çalışmada köklenme oranı, canlı çelik oranı, kök sayısı ile kök kalitesini belirlemişlerdir. Araştırma sonucuna göre en iyi sonucu, çeliklere 6000 ppm IBA uygulamasından elde etmişlerdir. İki araştırma arasında IBA'nın kök gelişimi üzerine farklı etkilerinin olduğu anlaşılmaktadır. Bu da bir oksin olan IBA'nın *in vitro* koşullarda kök gelişimi üzerine etkisinin bitki türüne göre değiştiğini göstermektedir.

4.4.3. Boğum Sayısı

Bitki gövdesinde yaprak koltuğunun bulunduğu yer, boğumları oluşturmaktadır ve her yaprak koltuğunda bitkileri laboratuarda alt kültüre aktarmak için kullanılan meristemler bulunmaktadır. Varyans analizi sonuçları, IBA'nın farklı dozlarının boğum sayısı üzerine etkisinin önemli olduğunu göstermektedir. Çizelge 4.44'te görüldüğü gibi Genotip x IBA interaksyonu önemli bulunmuş olup, genotiplerin IBA'nın yükselen dozlarına karşı farklılık gösterdiğini belirtmektedir.

Çizelge 4.44. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	9,98*
IBA	4	7,95*
Genotip x IBA	8	5,21*
Hata	126	2,39

* : % 5 düzeyinde önemlidir.

LSD testine göre farklı IBA düzeylerinde genotiplerin boğum sayılarının ortalamasına bakıldığında en fazla boğum sayısı miktarı 0,5 mg/L IBA içeren MS besi ortamında (6,92) olduğu saptanmıştır. En az boğum sayısı ise 2,0 mg/L IBA içeren besi ortamlarında (5,69) olduğu belirlenmiştir. LSD testine göre en fazla boğum sayısı 6,87 ile Yerel genotipinden elde edilmiştir. İtalya ve Kazdağı genotipleri aynı grupta yer alıp Kazdağı genotipinden daha az sayıda boğum sayısı sağlanmıştır (Çizelge 4.45).

Çizelge 4.45'te en fazla boğum sayısı, 0,5 mg/L IBA bitki büyüme düzenleyicisi ile yetiştirilen Yerel genotipinde (8,04) bulunmuştur. En az boğum sayısı ise 2,0 mg/L IBA içeren İtalya genotipinde bulunmuştur (4,82).

Çizelge 4.45. IBA'nın oğulotunda boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IBA): 1,37)

IBA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,79)
0	5,66 cde ¹	5,91 cde	6,30 bcd	5,96 bc
0,5	6,47 bcd	6,26 bcd	8,04 a	6,92 a
1,0	7,49 ab	5,26 de	6,84 abc	6,53 ab
1,5	6,24 bcd	6,78 abc	7,00 abc	6,67 ab
2,0	4,82 e	6,08 cde	6,16 bcde	5,69 c
Ort.(LSD_{0,05}:0,61)	6,14 b	6,06 b	6,87 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Genel bir değerlendirme yapılacak olursa; artan IBA dozlarının bitki gelişimini IBA bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besi ortamına göre önce arttırdığı daha sonra

azalttığı sonucuna varılabilir. Benzer bir çalışmada Martin (2002), İpek otugiller familyasından (*Asclepiadaceae*) *Holostemma ada-kodien* bitkisinde uygulanan IBA büyüme düzenleyicisinin dozu arttıkça boğum sayısının artıp ardından azaldığı sonucuna varmışlardır. Ayrıntılı bir sonuç için her bir genotipin her bir besi ortamındaki etkisi de değerlendirilebilir.

4.4.4. Kullanılabilir Boğum Sayısı

Kullanılabilir boğum sayısı *in vitro* çalışmalarda bitki gelişimini belirlemede önemli bir işarettir. Ne kadar fazla ve sağlıklı kullanılabilir boğum sayısı elde edilirse daha sonraki çalışmalar için kaynak teşkil etmesi bakımından bu önem taşımaktadır. Varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozda IBA'nın kullanılabilir boğum sayısı üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.46). Bunun yanı sıra Genotip x IBA interaksiyonu önemli olup, genotipler arasında farklı IBA dozlarına göre farklı yanıtlar verildiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.46. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetişen farklı oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	9,95***
IBA	4	2,60**
Genotip x IBA	8	1,30*
Hata	126	0,71

*, ** ve *** : Sırasıyla % 5, % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı IBA dozlarında genotiplerin kullanılabilir boğum sayılarının karşılaştırılması amacıyla yapılan LSD testine göre Çizelge 4.47'de genotiplerin ortalamalarına bakıldığında en fazla kullanılabilir boğum sayısı 3,30 ile 0,5 mg/L IBA bulunduran MS besi ortamında elde edildiği görülmektedir. IBA'nın dozu arttıkça besi ortalamalarına ait ortalamalarda bir dalgalanmanın olduğu saptanmıştır. Genotiplerin ortalamalarına bakıldığında ise Yerel (3,32) ile en fazla kullanılabilir boğum sayısına sahip olurken, İtalya (2,43) en az sayıda kullanılabilir boğum sayısına sahiptir.

Varyans analizinde interaksiyonun önemli olması tüm genotiplerin tüm IBA dozlarındaki ortalamaların karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Buna göre Çizelge 4.47'de yapılan LSD testine göre en yüksek ortalama kullanılabilir boğum sayısı Yerel genotipinden (4,02) 0,5 mg/L IBA içeren besi ortamında elde edilmiştir. Bunu yine Yerel genotipi 1,5 mg/L IBA ve içeren besi ortamında 3,26 ortalama ile izlemiştir. En az

kullanılabilir boğum sayısına sahip genotip 1,62 ortalama ile 2,0 mg/L IBA içeren besi ortamında İtalya genotipinde bulunmuştur.

Çizelge 4.47. IBA'nın oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi (LSD_{0,05}(Genotip x IBA): 0,75)

IBA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD _{0,05} :0,43)
0	2,28 de ¹	3,09 bc	3,34 ab	2,90 abc
0,5	2,67 bcd	3,22 bc	4,02 a	3,30 a
1,0	2,82 bcd	2,48 cd	2,87 bcd	2,72 bc
1,5	2,76 bcd	3,08 bc	3,26 b	3,03 ab
2,0	1,62 e	2,88 bcd	3,10 bc	2,53 c
Ort.(LSD_{0,05}:0,33)	2,43 c	2,95 b	3,32 a	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Sonuç olarak kullanılabilir boğum sayısının genel değerlendirmesi yapılacak olursa, artan IBA dozlarının bitki gelişimini, değişken bir sonuçta etkilediği kararlaştırılabilir. Bruno ve ark. (2007), kır çiçeğinin (*Porteranthus trifolius* L.) *in vitro* rejenerasyonu için kullandıkları büyüme düzenleyicilerinde, artan IBA dozlarının bitkinin boğum sayısını ve uzunluğunu dolayısıyla bunun kullanılabilirliğini arttırmış olsa da genel olarak azalttığını belirtmişlerdir. Aynı şekilde Kaveriappa ve ark. (1997), kızılçık çalısı (*Cornus florida*) üzerine yaptıkları bir araştırmada da benzer sonuçları bulmuşlardır. Ancak daha detaylı bilgi için her bir genotipin her bir besi ortamındaki etkisi de incelenmelidir.

4.4.5. Yeşil Ağırlık

Varyans analiz sonuçları incelenecek olursa, farklı dozda IBA bulunan besi ortamları yeşil ağırlık üzerine etkisinin önemli olduğu bulunmaktadır (Çizelge 4.48). Ayrıca Genotip x IBA interaksiyonu da önemli bulunmuştur. Buna karşılık genotiplerin yeşil ağırlığa etkisi önemli bulunmamıştır.

Çizelge 4.48. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetişen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	0,03
IBA	4	0,09**
Genotip x IBA	8	0,08**
Hata	126	0,03

** : % 1 düzeyinde önemlidir.

LSD testine göre, MS besi ortamına IBA ilavesi yeşil bitki ağırlığını artırmıştır (Çizelge 4.49). Fakat genotiplerin ortalama değerleri arasında bir fark bulunmamıştır. Genotiplerin her bir IBA dozundaki ortalamaları karşılaştırıldığında ise en yüksek ortalama yeşil ağırlık 0,79 g ile 2,0 mg/L IBA içeren besi ortamında tespit edilmiştir. Bunu 0,74 ile 1,0 mg/L IBA içeren besi ortamında yetişen İtalya genotipi takip etmiştir.

Çizelge 4.49. IBA'nın oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi ($LSD_{0,05}(\text{Genotip} \times \text{IBA}): 0,14$)

IBA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort. ($LSD_{0,05}:0,08$)
0	0,50 d ¹	0,59 cd	0,50 d	0,53 b
0,5	0,63 bcd	0,61 bcd	0,69 abc	0,64 a
1,0	0,74 ab	0,55 d	0,59 cd	0,63 a
1,5	0,71 abc	0,72 abc	0,61 bcd	0,68 a
2,0	0,52 d	0,79 a	0,60 bcd	0,63 a
Ort. ($LSD_{0,05}:0,06$)	0,62	0,65	0,60	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Yeşil ağırlığın genel bir değerlendirmesini yapıp sonuçlandırarak olursak, artan IBA dozlarının bitki gelişimini IBA içermeyen MS'e göre olumlu etkilediği sonucuna varılabilir. Gopi ve Vatsale (2006), gurmar (*Gymnema sylvestre*) bitkisinde kallus ve süspansiyon kültürlerinin biyoması üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisi isimli çalışmalarında 5 mg/L IBA'ya kadar olan yoğunluklarda artan oranda bir kuru ve yaş ağırlığa sebep olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırmanın sonuçları bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

4.4.6. Klorofil İndeksi

Besi ortamında bitkilerin yaşayıp gelişmeleri için mikro ve makro besin elementleri, hormonlar, su ve şeker bulunmaktadır. Bitkiler karbon ihtiyaçlarını buradan karşılayabilmektedirler. Ancak bunun yanında klorofil içeriği de bitki gelişimi için ayrıntılı bilgi verebilmektedir. Klorofil indeks değerini tayin etmek için klorofilmetre adı verilen

alet kullanılmaktadır. Işın yansıma miktarları klorofil indeks değeri olarak ifade edilmektedir. Bu açıklamaların ışığında yapılan ölçümlere ait verilerin varyans analizi sonuçlarına göre farklı dozlarda IBA içeren besi ortamları ve genotiplerin, klorofil indeksi üzerine etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.50). Ayrıca Genotip x IBA interaksyonu da önemli bulunmuş olup bu da genotiplerin IBA'nın artan dozlarına göre farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.

Çizelge 4.50. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetişen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları

Kaynaklar	SD	Kareler Ortalaması
Genotip	2	268089,61***
IBA	4	37678,54*
Genotip x IBA	8	68230,40***
Hata	126	14937,44

* ve *** : Sırasıyla % 5 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

Farklı dozda IBA'nın genotiplerin klorofil üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılmış olan LSD testine göre Çizelge 4.51'de genotiplerin ortalamalarında klorofil indeksi en yüksek 0,5 mg/L IBA büyüme düzenleyici içeren MS besi ortamından elde edildiği görülmektedir (253,88). IBA'nın yoğunluğu arttıkça besi ortamlarının ortalamalarında önce bir artma sonra bir azalma medyana gelmektedir. Genotiplerin ortalamalarında ise Kazdağı (275,98) en iyi klorofil indeksini verirken, İtalya genotipinden (129,54) daha az klorofil indeksi elde edilmiştir.

Varyans analizinde interaksyonun önemli olması genotiplerin IBA dozlarının ortalamalarının karşılaştırılmasını gerektirmektedir. Çizelge 4.51'de LSD testine göre en fazla klorofil indeksi 474,80 ile 0,5 mg/L IBA içeren besi ortamında Kazdağı genotipinde belirlenmiştir. İtalya genotipi stabil değerlere sahip olup en düşük klorofil indekslerine bu genotipte ulaşmıştır.

Çizelge 4.51. IBA'nın oğulotunda klorofil indeksine etkisi (LSD_{0,05}Genotip x IBA):108,17)

IBA	İtalya	Kazdağı	Yerel	Ort.(LSD_{0,05}:62,45)
0	140,40 cd ¹	183,96 cd	180,08 cd	168,15 b
0,5	127,00 d	474,80 a	159,84 cd	253,88 a
1,0	126,04 d	333,76 b	216,10 cd	225,30 ab
1,5	122,76 d	197,76 cd	244,32 bc	188,28 b
2,0	131,52 d	189,64 cd	220,32 cd	180,49 b
Ort.(LSD_{0,05}:48,37)	129,54 c	275,98 a	204,13 b	

¹: Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasında % 5 düzeyinde önemli fark yoktur.

Marino ve Bertazza (1990), kivide (*Actinidia deliciosa*) mikroçoğaltım üzerine yaptıkları çalışmalarında, denememizle benzer sonuç göstererek artan IBA dozlarında bitkinin boy uzamasının arttığını, ancak bir süre sonra tekrar azaldığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak klorofil indeksinin genel bir incelemesi yapıldığında yükselen IBA miktarlarının bitki gelişimini genotipleri olumlu etkilediği, ortalamalar arasında önce bir artış daha sonrasında azalış meydana getirdiği gözlemlenmiştir.

4.4.7. IBA Denemesinde Ölçülen Karakterler Arasındaki Korelasyonlar

Ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayısı ne kadar yüksekse, bu karakterler arasındaki ilişkinin yakın olduğunu gösterir. Aralarında çok yüksek ve önemli ilişki bulunan bazı karakterler, gelecekteki araştırmalar için ölçülen karakterlerin azaltılmasında yarar sağlayacaktır. Aynı zamanda bu ilişkinin olması, karakterlerin birbiriyle bağlantılı olduğunu gösterir. Üç oğulotu genotipinin farklı IBA yoğunlukları içeren MS besi ortamlarında yetiştirilmesi sonucu ölçülen karakterlere ait korelasyon katsayısı ve önemlik durumları Çizelge 4.52’de görülmektedir. Buna göre klorofil indeksinin bitki boyu ve kullanılabilir boğum sayısı hariç ölçülen diğer tüm karakterlerle düşük korelasyon katsayısına sahip olduğu bulunmuştur. Diğer karakterlerin birbiri ile ilişkileri yüksek ve önemli olmuştur.

Çizelge 4.52. IBA denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları

Karakterler	BB	KS	BS	KBS	YA
KS	0,25**				
BS	0,48***	0,70***			
KBS	0,32***	0,76***	0,82***		
YA	0,58***	0,63***	0,64***	0,55***	
KI	0,28***	0,02	0,09	0,05***	0,06

BB: Bitki boyu, KS: kök skoru, BS: Boğum sayısı, KBS: Kullanılabilir boğum sayısı, YA: Yeşil ağırlık, KI: Klorofil indeksi.

** ve ***: Sırasıyla % 1 ve % 0,1 düzeyinde önemlidir.

4.5. Bitkilerin *In Vivo* Koşullara Aktarılması ve Uçucu Yağ Oranının Belirlenmesi**4.5.1. Bitkilerin *In Vivo* Koşullara Aktarılması**

In vitro koşullardan *in vivo* koşullara aktarılan farklı oğulotu genotipleri arasında, *in vivo* koşullarına uyum sağlama bakımından farklılıklar bulunmaktadır. Çizelge 4.53'te bitkilerin *in vivo* şartlara aktarılmadaki % başarı oranları görülmektedir. İtalya genotipinin, Yerel ve Kazdağı genotiplerine göre *in vivo* koşullara uyum sağlama yüzdesi daha düşük olmuştur. Bunun nedeni de İtalya genotipinin gelişim düzeyinin daha düşük olmasından kaynaklanabilir. İtalya genotipi diğer genotiplere oranla daha uzun bitki boyuna sahip olsa da *in vitro* kök gelişimi bakımından daha düşük düzeyde olduğundan *in vivo* koşullarına adaptasyonu daha zor olmuştur.

Çizelge 4.53. Bitkilerin *in vivo* koşullara aktarılmada başarı oranı

Genotip	Toplam Bitki Sayısı	% Başarı oranı
İtalya	25	% 8
Yerel	25	%24
Kazdağı	25	%24

4.5.2. Uçucu Yağ Oranının Belirlenmesi

In vitro bitkilerden yeterli örnek miktarının elde edilememesi nedeniyle uygulamalar birleştirilmiştir. Bu nedenle istatistiki analiz yapılması için uygun veri elde edilememiştir. Fakat bu değerler, bize genel anlamda bir fikir oluşturması açısından önemli olabilir. Uçucu yağ miktarı ağırlık/hacim şeklinde % olarak ifade edilmiştir. Çizelge 4.54'te denemede kullanılan genotiplerin *in vitro* ve *in vivo* koşullardaki uçucu yağ oranları belirtilmektedir.

Tıbbi ve aromatik bitkilerde uçucu yağ miktarları ve bileşenleri, bitkilerin yetiştirildiği ekolojiye, uygulanan kültürel yöntemlere, hasat zamanına ve genotipe bağlı olarak değişiklik gösterdiği Putievsky ve Basker (1977) ile Cabo ve ark. (1982) tarafından da belirtilmiştir. Buna göre çalışmamızdan elde edilen uçucu yağ oranları % 0,038 ile % 0,4 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.54). Sağlam ve ark. (2004), Trakya koşullarında oğulotunda yürüttükleri denemede, uçucu yağ oranının % 0,20 ile % 0,28 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Yine çalışmamızdan elde edilen uçucu yağ oranları,

Baytop (1984) (% 0,015-0,1) ve Adzet ve ark. (1992)'nin (% 0,06-0,33) belirttikleri sınırlar ile benzerlik göstermektedir.

Gelecek çalışma olarak konu üzerine daha fazla bitki materyali kullanılarak ayrıntılı bir denemenin yapılması daha uygun olacaktır.

Çizelge 4.54. Denemede kullanılan genotiplerin *in vitro* ve *in vivo* koşullardaki uçucu yağ içerikleri

UYGULAMALAR	GENOTİP	Uçucu Yağ Oranı (%)
MS+BA Uygulaması	Kazdağı	0,098
	Yerel	0,100
	İtalya	0,113
MS+KİNETİN Uygulaması	Kazdağı	0,085
	Yerel	0,073
	İtalya	0,056
MS+IAA Uygulaması	Kazdağı	0,054
	Yerel	0,068
	İtalya	0,089
MS+IBA Uygulaması	Kazdağı	0,076
	Yerel	0,038
	İtalya	0,182
MS (Kontrol)	Kazdağı	0,102
	Yerel	0,400
	İtalya	0,081
IN VIVO	Kazdağı	0,099
	Yerel	0,149
	İtalya	0,113

BÖLÜM 5

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ülkemizde tıbbi ve aromatik bitkilerde ihtiyaç duyulan drogluk materyal doğal alanlardan toplanmaktadır. Bu durum bazı endemik bitki türlerinin neslinin tükenmesine ve yanlış bitkilerin toplanmasına da neden olabilmektedir. Oğulotunun iç pazarda pazarlaması sağlanmakta ve dış alımı yapılmaktadır. Ayrıca oğulotu doğal alanlardan toplanarak değerlendirilmekte olan önemli tıbbi ve aromatik bir bitkidir. Bu nedenle oğulotunun tarımının yapılabilmesi için yüksek verimli ve kaliteli yeni çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

Bitki ıslahı programlarına biyoteknolojik yöntemlerin entegre edilmesi hem iş gücü hem de zaman kazanma bakımından önemlidir. Bitki ıslahında biyoteknolojik çalışmaların kullanılabilmesi için söz konusu bitkinin doku kültüründe muhafaza ve üretimi probleminin aşılması gerekmektedir. Ayrıca tıbbi ve aromatik bitkilerin etken maddelerini hücre kültürü ve biyoreaktörler gibi doku kültürü tekniklerinin kullanılması ile üretilmesi önemli alanlardan birisidir.

Doku kültürü, uygulama alanını ülkemizde yakın zamandır bulmuş bir konu olup ülkemizde gen kaynaklarının doku kültür yöntemiyle korunması ve üretimi yok denecek kadar azdır. Bu tezde üç oğulotu genotipinin (Kazdağı, Yerel ve İtalya) doku kültürüne alınması ve farklı büyüme düzenleyicilerine yanıtlarının belirlenmesine çalışılmıştır. Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

BA denemesinde;

- 1- Kullanılan dozlardan bitki boyu gelişimi için en uygun olanı büyüme düzenleyici içermeyen MS olarak bulunmuştur. Yüksek BA dozlarında (1,5 ve 2,0 mg/L BA) bitki boyunun önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. En uzun boylu bitkiler MS besi ortamında İtalya genotipinden elde edilmiştir.
- 2- Kök skoru bakımından bitki boyunda olduğu gibi en uygun doz 0 mg/L BA olmuş, en düşük değerler 1,5 ve 2,0 mg/L BA'da gözlenmiştir. En iyi kök gelişimi Kazdağı genotipinde olmuştur.
- 3- *In vitro* koşullarda bitki çoğaltmada önemli bir kriter olan boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı uygulamalar ile önemli bir değişim göstermiştir. Uygulama dozu arttıkça boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı oranlarında

da bir azalma belirlenmiştir. Kazdağı genotipi bu iki özelliğe de en iyi sonucu vermiştir.

- 4- Boğum sayısı bakımından en uygun BA dozları 0 ve 0,5 mg/L BA olarak tespit edilmiştir. En yüksek kullanılabilir boğum sayısı ise MS besi ortamında elde edilmiştir. En düşük değerler ise iki karakterde de 1,5 ve 2,0 mg/L BA ortamlarında belirlenmiştir.
- 5- Bitki gelişimini belirleyen diğer bir karakter olan yeşil ağırlık, uygulamalar ile önemli bir değişim göstermemiştir. Ancak farklı doz uygulamalarında en yüksek yeşil ağırlık miktarı 0,5 mg/L BA dozunda elde edilmiştir. Yeşil ağırlık bakımından en iyi sonuç Kazdağı genotipindedir.
- 6- Klorofil indeksinde ise BA dozu arttıkça indeks değerinin düştüğü belirlenmiştir. En yüksek indeks okuması BA bitki büyüme düzenleyicisiz ortamda saptanmıştır. En düşük değer ise 2,0 mg/L BA dozunda belirlenmiştir. En yüksek klorofil indeksi değeri Kazdağı ve Yerel genotiplerinde tespit edilmiştir.
- 7- Korelasyon katsayıları incelendiğinde ise tüm ölçülen karakterler arasında çok yüksek ve önemli bir ilişki olduğu anlaşılmıştır.

Son olarak, tüm karakterler açısından, Genotip x BA interaksyonu önemli olduğundan dolayı, yeni bir genotip için en uygun dozun belirlenmesinde bu denemenin tekrarlanması gerekir.

Kinetin denemesinde;

- 1- Kullanılan dozlardan bitki boyu gelişimi için en uygun olanı sadece MS bulunan besi ortamı ve 1,0 mg/L kinetin olarak bulunmuştur. En düşük değer ise 4,0 mg/L kinetin dozunda bulunmuştur. Kazdağı genotipi en uzun bitki boyuna sahip genotip olmuştur.
- 2- Kök skoru bakımından bitki boyunda olduğu gibi en uygun dozlar 0 ve 1,0 mg/L kinetin, en düşük değer ise 4,0 mg/L kinetin ve Kazdağı genotipi olarak belirlenmiştir.
- 3- Laboratuvar çalışmalarında bitki geliştirmede önemli bir özellik olan boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı uygulamalar ile önemli bir değişim göstermiştir. Uygulama dozu arttıkça boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı oranlarında da bir azalma belirlenmiştir.
- 4- En yüksek boğum sayısı 0 ve 1,0 mg/L kinetin dozlarında Kazdağı ve Yerel genotiplerinde elde edilirken, en yüksek kullanılabilir boğum sayısı 0 mg/L

kinetin dozunda Kazdağı genotipinden elde edilmiştir. En düşük ortalama boğum sayısı 4,0 mg/L kinetin, kullanılabilir boğum sayısı ise 3,0 ve 4,0 mg/L kinetin ortamlarında belirlenmiştir.

- 5- Bitki gelişimini belirleyen diğer bir karakter olan yeşil ağırlık, uygulamalar ile önemli değişim göstermemiştir. En yüksek yeşil ağırlık miktarı 1,0 mg/L kinetin dozunda ve Kazdağı genotipinde elde edilmiştir. En düşük değerler ise 3,0 ve 4,0 mg/L kinetin dozlarında belirlenmiştir.
- 6- Klorofil indeksinde ise kinetin dozu arttıkça indeks değeri önemli bir değişim göstermemiştir. En yüksek indeks okuması 1,0 mg/L kinetin ortamında saptanmıştır. En düşük değer ise 4,0 mg/L kinetin dozunda belirlenmiştir. Kazdağı ve Yerel genotipler en iyi klorofil indeksi değerini vermiştir.
- 7- Korelasyon katsayıları incelendiğinde ise kinetin uygulamasına ait korelasyon tablosunda bitki boyu, boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı değerlerinin klorofil indeksi ile yüksek ve önemli bir ilişki durumu olmadığı görülmektedir. Ancak gözlenen diğer karakterler arasında çok yüksek ve önemli bir ilişki olduğu anlaşılmıştır.

Genotip x KİN interaksyonu denemede tüm karakterler bakımından önemsiz bulunmuştur.

IAA denemesinde;

- 1- Kullanılan doz bitki boyu gelişimini fazla etkilememiş olup için en uygun doz sadece MS bulunan besi ortamı olarak ve İtalya genotipinde bulunmuştur.
- 2- Kök skoru bakımından bitki boyunda olduğu gibi en uygun doz 0 mg/L IAA olarak belirlenmiştir. Bitki boyundan farklı olarak en iyi kök skoru Yerel genotipinden sağlanmıştır.
- 3- Boğum sayısı uygulama dozları ile değişiklik göstermişken, kullanılabilir boğum sayısı uygulamalar ile önemli bir değişim göstermiştir.
- 4- Boğum sayısı bakımından en uygun IAA dozu 0 mg/L olurken, kullanılabilir boğum sayısı bakımından da en uygun IAA dozu 0 mg/L olarak tespit edilmiştir. Boğum sayısı en düşük 2,0; 3,0 ve 4,0 mg/L IAA ortamlarında belirlenmiştir. Her iki özellik için en iyi değer Yerel genotipinden elde edilmiştir.
- 5- Bitki gelişimini belirleyen diğer bir karakter olan yeşil ağırlık, uygulamalar ile önemli değişim göstermiştir. En iyi yeşil ağırlık miktarı 0 mg/L IAA dozunda ve

Yerel genotipinden elde edilmiştir. En düşük değer ise 4,0 mg/L IAA dozunda belirlenmiştir.

- 6- Klorofil indeksinde ise IAA dozu arttıkça indeks değeri önemli bir değişim göstermemiştir. En yüksek indeks okuması kinetinde olduğu gibi 1,0 mg/L IAA ortamında saptanmıştır. En yüksek değer de Yerel genotipinden elde edilmiştir.
- 7- Korelasyon katsayıları incelendiğinde ise kök skorunun, boğum sayısının, kullanılabilir boğum sayısı ve yeşil ağırlığın klorofil indeksi ile önemli sayılabilecek bir konumun olmadığı anlaşılmaktadır.

Genotip x IAA interaksyonu genel olarak bakıldığında önemli bulunduğundan dolayı, gelecekteki çalışmalarda farklı bir genotip kullanılacaksa en uygun dozun belirlenmesinde bu denemenin tekrarlanması gerekir.

IBA denemesinde;

- 1- Kullanılan dozlardan bitki boyu gelişimi için en uygun olanı 0,5 mg/L IBA olarak bulunmuştur. En düşük değer ise 2,0 mg/L IBA dozunda bulunmuştur. En uzun bitki boyuna sahip genotip ise İtalya genotipi olmuştur.
- 2- Kök skoru bakımından dozlar arasında istatistiki bakımdan bir farklılık olmadığı bulunmuştur. Kök skoru açısından en yüksek değer Yerel genotipinde belirlenmiştir.
- 3- *In vitro* koşullarda bitki çoğaltmada önemli bir kriter olan boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı uygulamalar ile önemli bir değişim göstermiştir. Uygulama dozu arttıkça boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı oranlarında da bir azalma belirlenmiştir.
- 4- Boğum sayısı en fazla 0,5 mg/L IBA dozunda uygun olurken, kullanılabilir boğum sayısı da en yüksek 0,5 mg/L IBA besi ortamında elde edilmiştir. Bu iki özellikte de en iyi değer Yerel genotipinde bulunmuştur.
- 5- Bitki gelişimini belirleyen diğer bir karakter olan yeşil ağırlık, uygulamalar ile önemli değişim göstermemiştir. Yine de en az yeşil ağırlık miktarı 0 mg/L IBA dozunda elde edilmiştir. Genotipler arasında bir fark bulunmamıştır.
- 6- En yüksek klorofil indeksi okuması 0,5 mg/L IBA bitki büyüme düzenleyicili ortamda saptanmıştır. En yüksek değer Kazdağı genotipinde belirlenmiştir.
- 7- Korelasyon katsayıları incelendiğinde ise kök skoru, boğum sayısı ve yeşil ağırlığın klorofil indeksi ile aralarında bir korelasyon olmadığı anlaşılmaktadır.

Genotip x IBA interaksiyonunun önemlilik durumu, özelliklere göre değişmektedir. Bu yüzden ilerleyen araştırmalarda farklı bir genotip kullanılırsa, incelenecek özelliğe bağlı olarak denemeyi tekrarlamakta fayda vardır.

Çalışmada farklı karakterler için farklı dozlarda büyüme düzenleyicilerinin kullanılabilmesi belirlenmiştir. Son yıllarda çeşit geliştirmede biyoteknolojik metotlar çok sıklıkla kullanılmaktadır. Bu biyoteknolojik metotların uygulanabilmesi için oğulotunun doku kültürü çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Ek olarak, sürgün ve kök gelişimi için temel besi ortamı olarak MS kullanılabilmesi saptanmıştır. Boğum sayısı ve kullanılabilir boğum sayısı için Kazdağı genotipi başarılı sonuç vermiştir. Bitki boyu bakımından ise İtalya genotipi denenmelidir.

Sonuç olarak, bu araştırma ile kullanılan oğulotu (*Melissa officinalis* L.) genotipleri, doku kültürüne başarı ile aktarılmış ve kullanılan büyüme düzenleyicilerinin oğulotu gelişimi üzerine etkileri açıkça belirlenmiştir. Genotiplerin, kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri açısından doku kültürüne yanıtları açıklanmış ve muhafazası sağlanmış, *in vitro* çalışmalarında başarılı bir çoğaltma yapılmıştır. En az 4-5 kez alt kültüre alınan oğulotunun doku kültüründe başarı ile üretildiği ispatlanmıştır. Daha sonra ise bu genotiplerin laboratuvar koşullarından doğal koşullara aktarılması gerçekleştirilmiştir. Aktarmada başarı oranı % 8-24 arasında değişmesine rağmen bu başarı oranı *in vitro* bitkilerin daha güçlü kök sistemi geliştirmesinin teşviki ile arttırılabilir.

In vitro koşullardan *in vivo* koşullara aktarılan farklı oğulotu genotipleri arasında köklenme ve *in vivo* koşullarına uyum sağlama bakımından farklılıklar bulunmuştur. Ölçülen genotipler arasında, Yerel ve Kazdağı genotiplerinin, İtalya genotipine göre *in vivo* koşullara uyum sağlama yüzdeleri daha yüksek olmuştur. Bunun nedeni de İtalya genotipinin gelişim düzeyinin daha düşük olmasından kaynaklanabilir. İtalya genotipi diğer genotiplere oranla daha uzun bitki boyuna sahip olsa da *in vitro* kök gelişimi bakımından daha düşük düzeyde olduğundan tarla koşullarına adaptasyonu daha zor olmuştur.

Sonuç olarak farklı oğulotu genotipleri doku kültürüne başarı ile aktarılmış, çoğaltılmış ve bu *in vitro* bitkiler *in vivo* koşullara aktarılmıştır.

KAYNAKLAR

- Adzet T., Ponz R., Wolf E. ve Schulte E., 1992. Content and Composition of *Melissa officinalis* Oil in Relation to Leaf Position and Harvest Time. *Planta Med.*, 58: 562-565.
- Akgül A., 1993. Baharat Bilim ve Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Dergisi Yayınları*, No:15.
- Akhondzadeh S., Nooroonzian M., Mohammadi M., Ohadinia S., Jamshidi A.H. ve Khani M., 2003. *Melissa officinalis* Extract in The Treatment of Patient With Mild to Moderate Alzheimer's Disease: A Double Blind, Randomised, Placebo Controlled Trial. *Food Prot.*, 66 (4): 625-32.
- Anonim, 2004. Türkiye Ormanlarında Odun Dışı Ürünler. *Çevre ve Orman Bakanlığı*.
- Arslan N., Gürbüz B. ve Gümüşçü A., 2002. Tıbbi Bitkiler İsim Kılavuzu. *Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları*, No. 1530, 180.
- Asaad N.M., Norman J.D. ve Maynard W.Q., 2006. Mississippi-grown *Cannabis sativa* L.: Effect of Gibberellic Acid and Indole Acetic Acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62 (2): 316-318.
- Azadi P. ve Khosk-Khui M., 2007. Micropropagation of *Lilium ledebourii* (Baker) Boiss as Affected by Plant Growth Regulator, Sucrose Concentration, Harvesting Season and Cold Treatments. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10 (4): 582-591.
- Babaoğlu M., Gürel E. ve Özcan S., 2001. Bitki Biyoteknolojisi 1. Cilt, *S.Ü. Vakfı*, 2-17.
- Bağdat R.B. ve Coşge B., 2005. The Essential Oil Of Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.), Its Components and Using Fields. *O.M.Ü. Zir. Fak. Dergisi*, 21 (1): 116-121.
- Batten D.J. ve Mullins M.G., 1978. Ethylene and Adventitious Root Formation in Hypocotyl Segments of Etiolated Mung Bean (*Vigna radiata* L) Seedlings. *Planta*, 138: 193-197.
- Baydar H., Karadoğan T. ve Çarkçı K., 2001. Isparta Bölgesinde Kültüre Alınan Aromatik Bitkilerin Drog ve Uçucu Yağ Verimlerinin Belirlenmesi. *S.D.Ü. Fen Bil. Enst. Dergisi*, 5 (1): 60-71.
- Baydar H., Karadoğan T. ve Özçelik H., 2009. Göller Yöresinde Yayılış Gösteren Kekik (*Origanum*, *Thymus*, *Satureja* ve *Thymbra* sp.) Türlerinin Belirlenmesi ve Uçucu Yağ Özelliklerinin Saptanması. *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi*, Cilt 1, Sunulu Bildiriler, 91-95.

- Baytop T., 1984. Türkiye’de Bitkilerle Tedavi. *İstanbul Üniv. Yayınları*, No: 3255, Eczacılık Fakültesi No: 40, İstanbul.
- Baytop T., 1997. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. *Türk Dil Kurumu*, 88, 153, 217.
- Baytop T., 1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, Geçmişte ve Bugün. *Nobel Tıp Kitapevleri*, İstanbul.
- Bennett J.J., McDavid D.A.J. ve McComb J.A., 2003. The Influence of Ammonium Nitrate, pH and Indole Butyric Acid on Root Induction and Survival in Soil of Micropropagated *Eucalyptus globulus*. *Biologia Plantarum*, 47 (3): 355-360.
- Biçer A. ve Özkan G., 2003. Lavanta Bitkisi Çiçeklerinden Süperkritik CO₂ İle Uçucu Yağların Ekstraksiyonuna Basıncın Etkisi. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 16 (4): 717-723.
- Bolkent S., Yanardağ R., Karabulut-Bulan O. ve Yeşilyaprak B., 2005. Protective Role of *Melissa officinalis* L. Extract on Liver of Hyperlipidemic Rats: A Morphological and Biochemical Study. *Journal of Ethnopharmacology*, 14; 99 (3): 391-398.
- Bonnier G., 1924. Flore Complete Illustree En Couleurs de France Suisse et Belgique. Tome VIII. Paris. *Botanique*, 135.
- Bruno A., Marcotrigiano M. ve Horton N.J., 2007. A Three-Stage Micropropagation System For a Novel Color Morph of the Wildflower, *Porteranthus trifoliatu* (L.) Britt. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90 (1) : 9-13.
- Cabo J., Crespo M.E., Jimenez J., Navarro C. ve Risco S., 1982. Seasonal Variation of Essential Oil Yield and Composition of *Thymus hyemalis*. *Planta Medica*, 380-382.
- Ceylan A., 1983. Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ Bitkileri). *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi*, Yayın No: 481. Bornova, İzmir.
- Chadwick A.V. ve Burg S.P., 1967. An Explanation of the Inhibition of Root Growth Caused by Indole-3-Acetic Acid. *Plant Physiology*, 42: 415-420.
- Chandra R. ve Mishra M., 2007. Biotechnological Interventions for Improvement of Guava (*Psidium guajava* L.). Proc. Ist IS on Guava. *Acta Hort.*, 735.
- Cohen R.A., Kucera L.S. ve Hermann E.C.Jr., 1964. Antiviral Activity of *Melissa officinalis* Extract. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 117: 431-434.
- Cowan M.M., 1999. Plant Product as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564-582.
- Davis P.H., 1982. Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol.7, *University of Edinburgh, England*.

- Deans S.G. ve Svoboda K.P., 1990. The Antimicrobial Properties of Marjoram (*Origanum majorana* L.) Volatile Oil. *Flavaour Fragrance Journal*, 5: 187-190.
- Demirbağ N.Ş. ve Kendir H., 2009. Uzun Yapraklı Üçgülün (*Trifolium pannonicum* ssp. *elongatum*) Hipokotil ve Yaprak Sapı Eksplantından *In Vitro* Çoğaltılması. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15 (4): 319-323.
- Dwamena C.A., Conner A.J. ve Fautrier A.G., 1997. Genotypic Response of Lettuce Cotyledons to Regeneration *In Vitro*. *Scientia Horticulture*, 71: 137-145.
- Ergun F. 1988. Oğulotu - Eski Bir Droğa Yeni Etkiler. *Yeni Tıp Dergisi*, 5 (5): 77-83.
- Ezeibekwe I.O., Ezenwaka C.L., Mbagwu F.N. ve Unamba C.I.N., 2009. Effects of Combination Different Levels of Auxin (NAA) and Cytokinin (BAP) on *in vitro* Propagation of *Dioscorea rotundata* L. (White Yam). *Journal of Molecular Genetics*, 1 (2-4): 18-22.
- Fakhari A.R., Salehi P., Heydari R., Ebrahimi S.N. ve Haddad P.R., 2005. Hydrodistillation-Headspace Solvent Microextracti on, A New Method for Analysis of The Essential Oil Components of *Lavandula angustifolia* Mill. *J. of Chromatography A.*, (1098): 14-18.
- Filiz S., 2002. Batı Akdeniz Bölgesi'nde Agroforestry (Tarımsal Ormancılık) Uygulamalarında Kullanılabilecek Uygun Türler. *Yüksek Lisans Tezi, S.D.Ü. Fen Bil. Ens. Orman Müh. A.B.D. Isparta*.
- Fletcher R.A. ve McCullagh D., 1971. Cytokinin-Induced Chlorophyll Formation in Cucumber Cotyledons. *Springer Berlin/Heidelberg*, 101 (1): 88-90.
- Franklin C.I. ve Dixon R.A., 1994. Initiation and Maintenance of Callus and Cell Suspencion Culture. *Oxford University*, 1-25.
- Gamborg O.L. ve Phillips G.C., 1995. Sterile Techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 3: 35-42.
- Gazola R., Machado D. ve Ruggiero C., 2004. *Lipia alba*, *Melissa officinalis* and *Cymbopogon citratus*: Effects of the Aqueous Extracts on the Isolated Hearts of Rats. *Pharmacological Research*, 50: 477-480.
- Geneve R.L. ve Heuzer C.V., 1982. The Effect of IAA, IBA, NAA and 2,4-D on Root Promotion and Ethylene Evolution in *Vigna radiata* Cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 107: 202-205.
- Gopi C. ve Vatsala T.M., 2006. *In vitro* Studies on Effects of Plant Regulators on Callus and Suspension Culture Biomass Yield From *Gymnema sylvestre*. *African Journal of Biotechnology*, 5 (12): 1215-1219.

- Gönülşen N., 1987. Bitki Doku Kùltürleri ve Uygulama Alanları. *Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, 78: 137.
- Gümüşçü U.G., 2001. Yünlük Yüksükotu (*Digitalis lanata* Ehrh.)'nun *In Vitro* Koşullarda Hızlı Çoğaltımı. *A.Ü. Fen Bilimleri Enst. Tarla Bitkileri ABD. Yüksek Lisans Tezi*.
- Gürbüz B., 1999. Çok Yıllık Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Yetiştirme Çalışmaları. *I. Ekin Dergisi*, 7: 83-87.
- Haberlandt G., 1902. Cultuversuche mit isolierten Pflanzenzellen. *Sitz-Ber Math-Nat Kl Kais Akad Wiss Wien.*, 111: 69-92.
- Hegi G., 1927. Illustrierte Flora von Mittel-Europa. Band V 4 J.F. *Lehmanns Verlag. München*, 1926: 957-959.
- Iftikhar S., Shah H. ve Miana G.A., 1990. Influence of Kinetin on Growth, Flowering and Alkaloidal Contents of *Hyoscyamus muticus* L. U.S. National Library of Medicine. *National Institutes of Health. Pak J Pharm Sci.*, 2: 39-48.
- Ivanova D., Gerova D., Chervenkov T. ve Yankova T., 2005. Polyphenols and Antioxidant Capacity of Bulgarian Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 96: 145-150.
- Kan Y., Kartal M., Aslan S. ve Yıldırım N., 2006. Farklı Koşullarda Yetiştirilen Rezene Meyvelerinin Uçucu Yağ Bileşenleri. *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 35 (2): 95-101.
- Karagöz A., Yazgan M., Kuş S. ve Cevahir G., 2004. *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis* Bitkisinden Hazırlanan Ekstrelerin Antiviral Aktivite Potansiyellerinin Değerlendirilmesi. *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler*.
- Kaul K. ve Sabharwal P.S., 1971. Effects of Sucrose and Kinetin on Growth and Chlorophyll Synthesis in Tobacco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, 47: 691-695.
- Kaveriappa K.M., Phillips L.M. ve Trigiano R.N., 1997. Micropropagation of Flowering Dogwood (*Cornus florida*) From Seedlings. *Plant Cell Reports*, 16: 485-489.
- Kılıç A., 2008. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10 (13): 37-45.
- Kotov A.A., 1996. Indole-3-Acetic Acid Transport in Apical Dominance: A Quantitative Approach. Influence of Endogenous and Exogenous IAA Apical Source on Inhibitory Power of IAA Transport. *Plant Growth Regulation*, 19 (1):1-5.

- Linskens H.F. ve Jackson J.F., 1997a. Plant Volatile Analysis. *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 19.
- Linskens H.F. ve Jackson J.F., 1997b. Essential Oils and Waxes. *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 12.
- Ljung K., Hull A.K., Kowalczyk M., Marchant A., Celenza J., Cohen J.D. ve Sandberg G., 2002. Biosynthesis, Conjugation, Catabolism and Homeostasis of Indole-3-Acetic Acid in *Arabidopsis thaliana*. *Springer Netherlands*, 49 (3-4): 249-272.
- Marino G. ve Bertazza G., 1990. Micropropagation of *Actinidia deliciosa* cvs. 'Hayward' and 'Tomuri'. *Scientia Horticulture*, 45 (1-2): 65-74.
- Martin K.P., 2002. Rapid Propagation of *Holostemma ada-kodien* Schult., A Rare Medicinal Plant, Through Axillary Bud Multiplication and Indirect Organogenesis. *Plant Cell Rep.*, 21: 112-117.
- Meftahizade H., Moradkhani H., Naseri B., Lofti M. ve Naseri A., 2009. Improved *In Vitro* Culture and Micropropagation of Different *Melissa officinalis* L. Genotypes. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (3): 240-246.
- Meszaros A., Bellon A., Pinter E. ve Horvath G., 1999. Micropropagation of Lemon Balm. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 57 (2): 149-152.
- Mill R.R., 1982. *Melissa* L. In: Davis, P. H. Ed. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, *Edinburgh University Pres*, Vol. 7.
- Mrljanova M., Tekel'ova D., Felklova M., Reinohl V. ve Toth J., 2002. The Influence of the Harvest Cut Height on the Quality of the Herbal Drugs *Melissa Folium* and *Melissa Herba*. *Planta Med.*, 68 (2): 178-180.
- Murashige T. ve Skoog T.F., 1962. Arevised Medium For Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiolgia Plantarum*, 15: 473-479.
- Nencheva D., 2006. *In Vitro* Prediction of Plant Height for *Chrysanthemum x grandiflorum* (Ramat.) Kitam. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14: 223-232.
- Özhatay N., Koyuncu M., Atay S. ve Byfield A., 1997. Türkiye'nin Doğal Tıbbi Bitkilerinin Ticareti Hakkında Bir Çalışma. *Doğal Hayatı Koruma Derneği Yayınları*, 9-11.
- Pawelczak A., Majewska A., Geszprych A. ve Dabrowska B., 2004. Micropropagation of Horseradish (*Armoracia rusticana*). International Society for Horticultural Science, Leuven, Belgique. *Acta Horticulture*, 725.

- Prat L., Botti C. ve Fichet T., 2008. Effect of Plant Growth Regulators on Floral Differentiation and Seed Production in Jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) Schneider). *Industrial Crops and Products*, 27: 44-49.
- Ponce A.G., Valle C.E. ve Roura S.I., 2004. Natural Essential Oils as Reducing Agents of Peroxidase Activity in Leafy Vegetables. *Lebensmitte Wissenschaft und Technologic*, 37 (2): 199-204.
- Putievsky E. ve Basker D., 1977. Experimental Cultivation of Marjoram Oregano and Basil. *Journal of Horticultural Science*, 52: 181-188.
- Railton I.D. ve Reid D.M., 1973. Effects of Benzyladenine on the Growth of Waterlogged Tomato Plants. *Planta*, 111: 261-266.
- Rangahau M.K., 2001. Essential Oils and Their Production. *Crop and Food Research*, 39.
- Rijven A.H. ve Parkash G.C., 1971. Action of Kinetin on Cotyledons of Fenugreek. *Plant Physiol.*, 47: 59-64.
- Riov J. ve Yang S.F., 1989. Ethylene and Auxin-Ethylene Interaction in Adventitious Root Formation in Mung Bean Cuttings. *Journal Of Plant Growth Regulation*, 8 (2): 131-141.
- Sadraei H., Ghannadi A. ve Malekshahi K., 2003. Relaxant Effect of Essential Oil of *Melissa officinalis* and Citral on Rat Ileum Contractions. *Fitoterapia*, 74: 445-452.
- Sağlam C., Atakişi İ., Turhan H., Kaba S., Arslanoğlu F. ve Önemli F., 2004. Effect of Propagation Method, Plant Density, and Age on Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.) Herb and Oil Yield. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 32: 419-423.
- Sanchez R.A., Hall A.J., Trapani N. ve Hunau R.C., 1983. Effects of Water Stress On The Chlorophyll Content, Nitrogen Level and Photosynthesis of Leaves of Two Maize Genotypes. *Photosynthesis Research*, 4: 35-47.
- Sarı A.O., 2001. Farklı Kökenli Oğulotlarının (*Melissa officinalis* L.) Menemen ve Bozdağ Ekolojik Koşullarında Bazı Agronomik ve Kalite Özellikleri Üzerine Araştırma. *Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora tezi*, İzmir.
- SAS Institute., 1998. Statistical Analysis System User's Guide: Statistics. *SAS Inst., Cary, NC*.
- Sasan R., Raju B. ve Sathiyararayana B.N., 2009. Optimization of Growth Regulator and Culture Medium for *In Vitro* Regeneration of Pummelo. *Indian Journal of Horticulture*, Vol. 66, Issue: 4.

- Shibli R.A., Ajlouni M.M., Jaradat A., Aljanabi S. ve Shatnawi M., 1997. Micropropagation in Wild Pear (*Pyrus syriaca*). *Scientia Horticulture*, 68 (1-4): 237-242.
- Silva S.A., Sato C.L.S., Lage R.A., Gil S.S., Azevedo D.A. ve Esquibel M.A., 2005. A Essential Oil Composition of *Melissa officinalis* L. *In Vitro* Produced Under The Influence of Growth Regulators. *J. Braz. Chem. Soc.*, 16: 1387-1390.
- Simon J.E., Chadwick A.F. ve Craker L.E., 1984. Herbs: An Indexed Bibliography 1971-1980. The Scientific Literature on Selected Herbs, and Aromatic and Medicinal Plants of the Temperate Zone. *Archon Boks*, 770.
- Svensson S-B., 2006. A Comparative Study of the Changes in Root Growth, Induced by Coumarin, Auxin, Ethylene, Kinetin and Gibberellic Acid. *Physiologia Plantarum*, 26 (1): 115-135.
- Tanker M. ve Tanker N., 1990. Farmokognozi, Ankara Üniv., *Eczacılık Fak. Yayınları*, 65 (2): 269.
- Tantos A., Meszaros A., Kissimon J., Horvath G. ve Farkas T., 1999. The Effect of Triacntanol on Micropropagation of Balm, *Melisa officinalis* L. *Plant cell reports*, 19 (1): 88-91.
- Turhan H. 1997. Salinity Studies in Potato (*Solanum tuberosum* L.), (Ph. D. Thesis), *The University of Reading, England*.
- Turhan H., 2006. Lemon Balm. In: Peter K.V., Ed. *Handbook of Herbs and Spices*, Woodhead Publishing Limited, Cambridge. Vol. 3, 390-399.
- Wittwer S.H. ve Dedolph R.R., 1963. Some Effects of Kinetin on the Growth and Flowering of Intact Green Plants. *American Journal of Botany*, 50 (4): 330-336.
- Zenginbal H., Özcan M. ve Haznedar A., 2006. Kivi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.) Odun Çeliklerinin Köklenmesi Üzerine İBA Uygulamalarının Etkisi. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 21 (1): 40-43.
- Zeybek N., 1987. İzmir'den İhraç Edilen Droglar. *İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı*, s: 59-64.

ÇİZELGELER LİSTESİ

Sayfa No

Çizelge 3.1. MS için kullanılan kimyasallar ve miktarları	11
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan büyüme düzenleyicileri ve miktarları	12
Çizelge 4.1. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları.....	18
Çizelge 4.2. BA'nın oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi	18
Çizelge 4.3. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları.....	19
Çizelge 4.4. BA'nın oğulotunda kök skoruna olan etkisi	20
Çizelge 4.5. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	21
Çizelge 4.6. BA'nın oğulotunda boğum sayısına etkisi.....	21
Çizelge 4.7. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	22
Çizelge 4.8. BA'nın oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi	23
Çizelge 4.9. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları	23
Çizelge 4.10. BA'nın oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi	24
Çizelge 4.11. Farklı dozlarda BA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları.....	25
Çizelge 4.12. BA'nın oğulotunda klorofil indeksine etkisi	25
Çizelge 4.13. BA denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları.....	26
Çizelge 4.14. Farklı dozlarda Kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları.....	27
Çizelge 4.15. Kinetin'nin oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi.....	27
Çizelge 4.16. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları.....	28
Çizelge 4.17. Kinetinin oğulotunda kök skoruna olan etkisi	29

Çizelge 4.18. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	29
Çizelge 4.19. Kinetinin oğulotunda boğum sayısına etkisi.....	30
Çizelge 4.20. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	31
Çizelge 4.21. Kinetinin oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi.....	31
Çizelge 4.22. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları.....	32
Çizelge 4.23. Kinetinin oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi.....	32
Çizelge 4.24. Farklı dozlarda kinetin içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları.....	33
Çizelge 4.25. Kinetinin oğulotunda klorofil indeksine etkisi.....	34
Çizelge 4.26. Kinetin denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları.....	35
Çizelge 4.27. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları.....	36
Çizelge 4.28. IAA'nın oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi.....	37
Çizelge 4.29. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları.....	37
Çizelge 4.30. IAA'nın oğulotunda kök skoruna olan etkisi.....	38
Çizelge 4.31. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	39
Çizelge 4.32. IAA'nın oğulotunda boğum sayısına etkisi.....	39
Çizelge 4.33. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	40
Çizelge 4.34. IAA'nın oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi.....	41
Çizelge 4.35. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları.....	41
Çizelge 4.36. IAA'nın oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi.....	42

Çizelge 4.37. Farklı dozlarda IAA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları.....	43
Çizelge 4.38. IAA'nın oğulotunda klorofil indeksine etkisi.....	43
Çizelge 4.39. IAA denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları.....	44
Çizelge 4.40. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen bitki boyuna ait varyans analizi sonuçları.....	45
Çizelge 4.41. IBA'nın oğulotunda bitki boyuna (cm) etkisi.....	46
Çizelge 4.42. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde gözlenen kök skoruna ait varyans analizi sonuçları.....	46
Çizelge 4.43. IBA'nın oğulotunda kök skoruna olan etkisi.....	47
Çizelge 4.44. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	48
Çizelge 4.45. IBA'nın oğulotunda boğum sayısına etkisi	48
Çizelge 4.46. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen kullanılabilir boğum sayısına ait varyans analizi sonuçları.....	49
Çizelge 4.47. IBA'nın oğulotunda kullanılabilir boğum sayısına etkisi.....	50
Çizelge 4.48. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen yeşil ağırlığa ait varyans analizi sonuçları	51
Çizelge 4.49. IBA'nın oğulotunda yeşil ağırlığa (g) etkisi.....	51
Çizelge 4.50. Farklı dozlarda IBA içeren besi ortamında yetiştirilen oğulotu genotiplerinde ölçülen klorofil indeksine ait varyans analizi sonuçları.....	52
Çizelge 4.51. IBA'nın oğulotunda klorofil indeksine etkisi.....	52
Çizelge 4.52. IBA denemesinde ölçülen karakterler arasındaki korelasyon katsayıları.....	53
Çizelge 4.53. Bitkilerin <i>in vitro</i> koşullara aktarılmada başarı oranı	54
Çizelge 4.54. Denemede kullanılan genotiplerin <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> koşullardaki uçucu yağ oranları.....	55

ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Oğulotunun bitkisel özellikleri	2
Şekil 3.1. Oğulotunda doku kültürü çalışmalarından genel görünüm	14
Şekil 3.2. Klorofilmetre ile ölçümlerin alınması	14
Şekil 3.3. <i>In vitro</i> bitkilerin <i>in vivo</i> koşullara aktarılması.....	15
Şekil 3.4. Uçucu yağ analizi ve Clevenger cihazı.....	16

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Özge TOPÇU BAYRAM

Doğum Yeri: Kartal/İSTANBUL

Doğum Tarihi: 02.01.1984

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tarla Bitkileri A.B.D. (2003-2007)

Lisans Öğrenimi: Anadolu Üniversitesi İşletme Bölümü (2006-devam etmektedir)

Yüksek Lisans Öğrenimi: Ç.O.M.Ü. Tarla Bitkileri A.B.D. (2007-2010)

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce (Orta), İspanyolca (Başlangıç)

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar-SCI-Diğer

b) Bildiriler-Uluslar arası-Ulusal

Topçu Ö., Turhan H. ve Türkmen O.S., 2009. Bazı Büyüme Düzenleyicilerinin *In Vitro* Koşullarda Çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) Gelişimine Etkisi. *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi*, 19-22 Ekim 2009, Hatay, 382-385.

Turhan H., Ünal G., Türkmen O.S. ve Topçu Ö., 2009. Yerelmasında (*Helianthus tuberosus* L.) Bazı Büyüme Düzenleyicilerinin Kallus Gelişimi Üzerine Etkisi. *Türkiye VIII. Tarla Bitkileri Kongresi*, 19-22 Ekim 2009, Hatay, 196-199.

c) Katıldığı Projeler

Oğulotu (*Melissa officinalis* L.) Genotiplerinin Doku Kültürüne Yanıtlarının Belirlenmesi,
BAP Proje No: 2009/36

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Tarım ve Köyişleri Bakanlığı - Gelibolu Tarım İlçe Müdürlüğü
(Nisan 2010-devam etmektedir)

İLETİŞİM

E-posta Adresi: ozgetopcu83@gmail.com