

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARIM BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

IN VİTRO ŞARTLARDA FARKLI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE
KÜLTÜR SÜRELERİNİN MERCİMEK (*Lens culinaris* Medik ssp. *culinaris*)
BİTKİSİNİN İLETİM DEMETLERİ İLE KÖKLENMESİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAYDAR KÜPLEMEZ

HAZİRAN 2020
UŞAK

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARIM BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

IN VİTRO ŞARTLARDA FARKLI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE
KÜLTÜR SÜRELERİNİN MERCİMEK (*Lens culinaris* Medik ssp. *culinaris*)
BİTKİSİNİN İLETİM DEMETLERİ İLE KÖKLENMESİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAYDAR KÜPLEMEZ

UŞAK 2020

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Haydar KÜPLEMEZ

**IN VİTRO ŞARTLARDA FARKLI BİTKİ BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİ VE
KÜLTÜR SÜRELERİNİN MERCİMEK (*Lens culinaris* Medik ssp. *culinaris*)
BİTKİSİNİN İLETİM DEMETLERİ İLE KÖKLENMESİNE ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Haydar KÜPLEMEZ

**UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
HAZİRAN 2020**

ÖZET

Bu çalışma; 2018-2020 yılları arasında Uşak Üniversitesi, UBATAM merkez laboratuvarında yapılmıştır. Mercimek (*Lens culinaris* Medik ssp. *culinaris*) bitkisinde sitokin ve oksinlerin bitki gelişimi ve iletim demetleri üzerindeki etkileri *in vitro* koşullarda incelenmiştir. Denemede bitki materyali olarak "Çiftçi" mercimek çeşidi kullanılmıştır. *In vitro* koşullar altında çimlendirilen sağlam mercimek fidelerinden elde edilen 2 cm uzunluğundaki sürgünler eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantlara kontrol ile birlikte farklı BAP (1 mg/L) ve NAA (0,3, 0,6, 0,9, 1,2 mg/L) konsantrasyonları uygulanmış ve 7, 14, 21, 28 ve 35 günlük kültür süreleri boyunca gelişmeleri incelenmiştir. Çalışma; tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Sürgün boyu, eksplant başına düşen sürgün sayısı, köklenme, floem ve ksilem bölgesinin genişliği ve gövde yarıçapı ölçülmüştür. 7 ve 14 günlük kültür sürelerinde bitkilerin tüm BAP ve NAA konsantrasyonlarında sağlıklı büyüme gösterdiği görülmüştür. En yüksek floem bölgesi genişliği (89,13 µm) kontrol grubunda gözlenirken, ksilem bölgesi genişliği en yüksek 1 mg/L BAP uygulamasından (196,99 µm) elde edilmiştir. Uzatılan günlük kültür süreleri ve yüksek BAP ve NAA konsantrasyonları uygulamaları floem ve ksilem bölgelerinde ve gövde yarıçapında deformasyona ve daralmaya neden olmuştur. İletim demetlerinde oluşan bu daralma kök bölgesinde de etkili olarak köklenmeyi engellemiştir.

Köklenme yalnızca kontrol gruplarında 21, 28 ve 35 günlük kültür sürelerinde gözlenmiştir. Çalışma sonucunda bitki büyüme düzenleyicisi uygulanmış bitkilerin kültürde tutma sürelerinin tam olarak optimize edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Bilim Kodu:

Anahtar Kelimeler: Doku kültürü, Benzilaminopürin, Naftalenasetik asit, floem, ksilem

Sayfa Adedi: 67

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Mehmet Uğur YILDIRIM



THE EFFECTS OF DIFFERENT PLANT GROWTH REGULATORS AND CULTURE DURATIONS ON VASCULAR BUNDLES AND ROOTING OF LENTIL (*Lens culinaris* Medik ssp. *culinaris*) UNDER IN VITRO CONDITIONS

(M.Sc. Thesis)

Haydar KÜPLEMEZ

UNIVERSITY OF UŞAK

GRADUATE SCHOOL

JUNE 2020

ABSTRACT

This experiment was conducted at Usak University, UBATAM central laboratory, between the years of 2018 and 2020. The effects of cytokinin and auxins on plant development and vascular bundles were investigated on the lentil *in vitro* conditions. Lentil cultivar of “Çiftçi” was used as plant material. 2 cm long shoots obtained from robust lentil seedlings were used as explants which germinated under *in vitro* conditions. The explants were treated with different concentrations of BAP (1 mg/L) and NAA (0,3, 0,6, 0,9, 1,2 mg/L) along with control and their development at 7, 14, 21, 28 and 35 days of culture was examined. The experiment was established in completely randomized factorial experiment design in 3 replications. Shoot length, number of shoots per explant, rooting, width of phloem and xylem regions and stem radius were measured. Using 7 and 14 day culture periods, plants showed healthy growth at all BAP and NAA concentrations. While the highest phloem region width (89.13 µm) was observed in the control group, the highest xylem region width (196.99 µm) was obtained from 1 mg / L BAP treatment. Prolonged day treatments and high doses of BAP and NAA treatments induced deformation and narrowing in phloem and xylem regions and stem radius. This narrowing in the vascular bundles effectively prevented rooting in the root zone. Rooting was observed only in the

control groups at 21, 28 and 35 days of culture. These results reveal negative effects of plant growth regulators treatments on prolonged days of culture and conclude that the time period of treatment must be optimized precisely to avoid damages to vascular and other tissues and promote desirable growth and development of tissues.

Science Code:

Keywords: Tissue culture, Benzylaminopurine, Naphthaleneacetic acid, phloem, xylem

Number of Pages: 67

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Uğur YILDIRIM



TEŐEKKÖR

Tez boyunca rehberliği, değerli tavsiyeleri, eleőtirisi, teŐviki ve anlayıŐı için sayın danıŐman hocam Doç. Dr. Mehmet Uğur YILDIRIM'a en derin Őukranlarımı sunarım.

Bitki Sistematiği ve Filogenetik Laboratuvarı'ndaki anatomik incelemelerin teknik ve teorik konularında bilimsel tecrübelerini, desteğini ve yardımlarını esirgemeyen, sayın hocam Doç. Dr. Ahmet KAHRAMAN'a, istatistiksel hesaplamalarda yardımcı olan sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Osman YÜKSEL'e ve tezimin yazım aŐamasındaki olumlu eleőtirilerinden ötürü sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Emine YURTERİ'ne teŐekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her alanında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, tüm başarılarımın ardında büyük pay sahibi olan annem, babam ve kardeŐime en içten duygularıyla sonsuz Őukran ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	viii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	10
3.1. Bitki Materyali ve Yüzey Sterilizasyonu	10
3.2. Çimlendirme Ortamı ve Kültür Koşulları	10
3.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri Ortamları ve Kültür Koşulları.....	11
3.4. Parafın Yöntemi ile Mikroskop Altında İnce Kesit Anatomik Görüntüleme	12
3.5. Ölçümler	13
3.5.1. Sürgün boyu (cm).....	13
3.5.2. Eksplant başına düşen sürgün sayısı (adet/eksplant).....	13
3.5.3. Floem ve ksilem genişliği (µm)	13
3.5.4. Yüzde floem oranı (%).....	13
3.5.5. Yüzde ksilem oranı (%).....	14
3.5.6. Gövde yarıçapı	14
3.5.7. Floem/ksilem bölgesi genişliği oranı	14
3.5.8. Ksilem/floem bölgesi genişliği oranı	14
3.5.9. Floem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı	15
3.5.10. Ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı	15
3.5.11. Floem + ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı	15
3.6. İstatiksel Analiz	15

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	16
4.1. Sürgün Boyu	16
4.2. Eksplant Başına Düşen Sürgün Sayısı (adet/eksplant)	19
4.3. Floem Bölgesinin Genişliği	22
4.3.1. Yüzde floem oranı.....	25
4.3.2. Floem/ksilem bölgesi genişliği oranı	27
4.4. Ksilem Bölgesinin Genişliği	28
4.4.1. Yüzde ksilem oranı.....	31
4.4.2. Ksilem/floem bölgesi genişliği oranı	33
4.5. Gövde Yarıçapı Ölçümleri.....	35
4.5.1. Floem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı	37
4.5.2. Ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı.....	40
4.5.3. Floem + ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı	41
4.6. Köklenme.....	43
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	53

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge		Sayfa
Çizelge 4.1.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinden elde edilen sürgün eksplantından oluşan yeni sürgünlerin boy ölçüm verilerinin varyans analizi sonuçları.....	16
Çizelge 4.2.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde sürgün eksplantından oluşan yeni sürgünlerin boy ölçüm verileri (cm).....	18
Çizelge 4.3.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde eksplant başına düşen sürgün sayısı ölçüm verilerinin varyans analizi sonuçları.....	19
Çizelge 4.4.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde eksplant başına düşen sürgün sayısına olan etkisi (adet/eksplant).....	20
Çizelge 4.5.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği ölçüm verilerinin varyans analiz sonuçları.....	22
Çizelge 4.6.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği ölçümleri (μm).....	24
Çizelge 4.7.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde yüzde floem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	25
Çizelge 4.8.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde yüzde floem bölgesi genişliği oranları (%).....	26

Çizelge 4.9.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem/ksilem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	27
Çizelge 4.10.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem/ksilem bölgesi genişliği ölçümleri oranları.....	28
Çizelge 4.11.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği ölçüm verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	29
Çizelge 4.12.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği ölçümleri (μm).....	30
Çizelge 4.13.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	32
Çizelge 4.14.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde yüzde ksilem bölgesi genişliği oranları (%).....	33
Çizelge 4.15.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde ksilem/floem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	34
Çizelge 4.16.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde ksilem/floem bölgelerinin genişliği oranları.....	35
Çizelge 4.17.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde, gövde yarıçapı ölçüm verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	36
Çizelge 4.18.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde yarıçapı ölçümleri (μm).....	37

Çizelge 4.19.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranlarının istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	38
Çizelge 4.20.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranları.....	39
Çizelge 4.21.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranlarının istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.22.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranları.....	41
Çizelge 4.23.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem bölgesi + ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranlarının istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları.....	42
Çizelge 4.24.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde floem bölgesi + ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranları.....	43
Çizelge 4.25.	Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarının ve kültürde tutma sürelerinin <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde 0,5 mg/l IBA içeren ortamda köklenmeye olan etkisi (%)......	44

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Anadal üzerinde sürgün içeren 7 günlük kültür süresinde yer alan kontrol uygulamasındaki 2 cm civarındaki <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidine ait sürgün eksplantları.....	11
Resim 3.2. Çiftçi mercimek çeşidinin gövdesinden alınan 7 günlük kültür süresindeki 1 mg/L BAP uygulamasına ait gövde örnekleri; (a) Mikrotom üzerine yerleştirilmiş kesilmeye hazır parafin kaseti, (b) 50°C sıcaklıktaki su banyosunda bekletilen sonra albümin sürülmüş lam üzerine yapıştırılan parafin filmleri.....	13
Resim 3.3. 21 günlük kültür süresi boyunca 1 mg/L BAP uygulanan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidine ait gövde yarıçapı ölçüm şekli.....	14
Resim 4.1. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonları ve kültür sürelerinin <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidinde sürgün boyu üzerine etkisi, (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 14 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 21günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (d) 28 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (e) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (1) Kontrol grubu (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP, (3) 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA, (4) 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA, (5) 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA, (6) 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA.....	17
Resim 4.2. 7 ve 21 günlük kültür sürelerinde kontrol ve 1 mg/L BAP uygulanan <i>L. culinaris</i> Çiftçi çeşidine ait eksplantlardaki yeni oluşan sürgünler; (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 21 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (1) Kontrol (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP uygulaması.....	21

- Resim 4.3. Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonları ve kültür süreleri uygulanmış, *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait floem ve ksilem dokuları; (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 14 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 21 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (d) 28 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (e) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (1) Kontrol grubu (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP, (3) 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA, (4) 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA, (5) 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA, (6) 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA, Ph; Floem bölgesi, Xy; Ksilem bölgesi, Pi; Pith bölgesi, Fc; Fasiküler kambiyum, Ic; Interfasiküler kambiyum..... 23
- Resim 4.4. 7 ve 21 günlük kültür sürelerinde kontrol ve 1 mg/L BAP uygulanan *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait floem ve ksilem dokuları; (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 21 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması. (1) Kontrol grubu (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP Ph; Floem bölgesi, Xy; Ksilem bölgesi..... 31
- Resim 4.5. Kontrol uygulamasına ait 0,5 mg/l IBA içeren ortamda, 21 ve 35 günlük kültür sürelerinde köklenen *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait sürgünler; (a) 21 günlük kültür süresi, (b) 35 günlük kültür süresi..... 44



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Simgeler	Açıklama
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
μM	Mikromolar
mM	Milimol
μ	Mikron
mg/L	Miligram/Litre
g/L	Gram/Litre
μm	Mikrometre

Kısaltmalar

Kısaltmalar	Açıklama
BAP	6-Benzylaminopurine
NAA	α-Naphthaleneacetic Acid
IBA	Indole-3-butyric Acid
IAA	Indole-3-Acetic Acid
2,4,5-T	2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid
2,4-D	2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid
TDZ	Thidiazuron

CPPU	N-(2-Chloro-4-pyridyl)-N'-phenylurea
KIN	Kinetin
MS	Murashige and Skoog medium
BA	Benzyl Adenine
ZEA	Zeatin
NaOCI	Sodyum hipoklorit
Ph	Floem bölgesi
Xy	Ksilem bölgesi
Pi	Pith bölgesi
Fc	Fasiküler kambiyum
Ic	İnterfasiküler kambiyum

1. GİRİŞ

Baklagiller familyasından olan mercimek (*Lens culinaris* Medik. ssp. *culinaris*) bitkisi protein bakımından zengin tohumlarından dolayı yaygın olarak insan beslenmesinde kullanılmaktadır. Kültüre alınışı insanoğlunun tarıma başladığı ilk dönemlere kadar dayanan; organik madde bakımından fakir topraklarda bile yetişebilme özelliği olan mercimek bitkisi; zengin besin içeriklerinden dolayı geçmişten günümüze önemli bir tarım ürünü olmayı başarmıştır [1-4]. Günümüze kadar arkeolojik kazılarda tespit edilen, en eski mercimek kalıntıları karbonlaşmış halde Yunanistan'daki Franchthi mağarasında bulunmuştur. Bu kalıntıların geçmişi, milattan 11000 yıl öncesine dayanmaktadır. Ayrıca geçmişinin milattan önce 8500-7500 yıl önceye dayandığı düşünülen; küçük tohumlu mercimek tipleri, Suriye'deki Tell Mureybit antik çağ yerleşim alanında bulunmuştur ve [5-7]. *L. culinaris*, yerel (doğal) olarak Ortadoğu ve Orta Asya'da bulunmaktadır. Kaynaklara göre; günümüzde tarımı yapılan mercimeğin atası olarak kabul edilen *L. culinaris* subsp. *orientalis* (Bioss.) türünün gen merkezi Türkiye'de bulunmaktadır. Aynı zamanda ponert olarak da adlandırılan bu eski tür Türkiye'nin yanı sıra Suriye, Lübnan, İsrail, Ürdün, Irak, İran, Afganistan, Pakistan, Yunanistan ve Özbekistan'da da bulunmaktadır [7-9].

Mercimek bitkisinin kültüre alınmasının, yabani türlerden seçilen iri baklaların seçilip tarımının yapılmasıyla başladığı düşünülmektedir. Kendine tozlandığı için nesilden nesile fazla genetik varyabilite göstermeyen mercimek bitkisinin bu özelliği kültüre alınma sürecinde kolaylık sağlamıştır. Yapılan arkeolojik çalışmalar; mercimek tarımının milattan önce 8500-600 yılları arasında; coğrafik olarak bugünkü Türkiye, Suriye ve Irak topraklarının bulunduğu bölgede, yapıldığını göstermektedir. Bu üç bölge mercimeğin kültüre alınmasında büyük rol oynamış ve bitkinin yayılış alanlarının Nil, Yunanistan, Orta Avrupa, Asya'nın doğu tarafları ve Güney Asya'ya genişlemesinde önemli rol oynamıştır. Aynı zamanda, mercimek bitkisi Etiyopya, Afganistan, Hindistan, Pakistan, Çin ve daha sonra Latin Amerika ve Yeni Dünya Ülkeleri'ne doğru bir yayılış göstermiştir. Mercimeğin kültüre alınışının yemeklik baklagiller arasında ilk olduğu vurgulamaktadır [8-12].

Botanik özellik bakımından ele alındığında mercimek bitkisi, dik ve yarı yatık olarak gelişen, tüylü yüzeyle sürgün sayısı özelliği gösteren, ince ve bazen üçgenimsi gövde özelliği gösteren, gövde rengi olarak açık yeşil ve gövde uzunluğu arazide 15-75 cm arasında türlere göre değişiklik gösteren bir yapıya sahiptir. Yaprakları alternat, birleşik ve pinnat yapıda olup sarımsı yeşil, mat yeşil ve koyu yeşil renklerindedir [4, 11]. Akropetal çiçeklenme gösterirler, en önce alttaki çiçekler açmaya başlar, tek bir daldaki tüm çiçeklerin açması yaklaşık iki hafta sürer [13]. Mercimek türleri kendine tozlanır, ışık alma ihtiyacı olarak uzun ve nötr gün bitkileridirler. Dünya'nın subtropikal ve yüksek rakımlı tropikal bölgelerinde ekim alanları yayılış gösterir [14]. Afrika ve Orta Doğu'nun yarı kurak alanlarında tarımı geniş ölçüde yapılan mercimek bitkisi, Güney Asya, Güney Amerika ve Batı Kanada'da önemli bir yemeklik tane baklagil bitkisidir. Türkiye'de rakımı 1900 metreye kadar olan alanlarda tarımı yapılabilmektedir. Üretim miktarı ve ekim alanı açısından ülkemizde en çok Güney Doğu Anadolu bölgesi ve Doğu Anadolu bölgesinde tarımı yapılmaktadır [15].

Birçok baklagil bitkisi gibi mercimek bitkisinin köklerinde de toprağa azot fikse eden simbiyotik bakteriler bulunmaktadır. Bu sayede hasattan sonra kendisinden sonra ekilecek olan bitkiye azot bakımından zengin bir toprak bırakmaktadır [16]. Kazık köklü yapısıyla 90 cm derinlikteki toprak neminden dahi yararlanabilen mercimek bitkisi, kuraklığa dayanıklı baklagillerden biridir. Kuraklığa dayanıklılığı nohut bitkisine benzemekle birlikte fasulye, bakla ve bezelyeden çok daha fazladır. Ancak aşırı kuraklık durumlarında birim alana düşen verim kaybı mercimek bitkisinde diğer baklagillere göre daha fazladır [16-18]. Kuraklığa dayanıklılık konusunda genetik varyasyon ön plana çıkmaktadır. Örneğin, küçük tohumlu mercimek varyeteleri, daha büyük tohumlu mercimek varyetelerine göre kuraklığa daha dayanıklıdır. Ayrıca yerel çeşitler ve yabani türleri kuraklığa daha dayanıklı olmakla birlikte verimleri daha düşüktür [14, 19]. Ancak, kuraklık karşısında meydana gelen verim düşüklüğünü önlemenin püf noktası bitkinin su ihtiyacını fazla duyduğu dönemleri toprak neminin yüksek olduğu dönemlere denk getirmektir. Bunun için iki yöntem mevcuttur. Bunlardan ilki, erkenci çeşitler kullanılarak, erken biyomass üretimi, erken çiçeklenme ve olgunlaşma sağlamaktır İkinci olarak tohumların ekimini erken ilkbahar dönemine bırakmaktır [20-22].

Mercimek, protein açısından yetersiz beslenmenin olduğu yerlerde protein açığını kapatmak amacıyla ekonomik olarak değerlendirilebilecek alternatif bir üründür.

Mercimeğin yüksek oranda lizin ve sülfür amino asitleri içeren protein yapısı nedeniyle besleyicilik özelliği oldukça yüksektir. Mercimek bitkisinin tohumlarındaki protein oranı %20 ile %35 arasında değişmektedir. Bunun yanı sıra tohumlarındaki yağ oranı %0,7-2 ve karbonhidrat oranı ise %54-63 aralığında da değişmektedir. Kotiledon kısımlarından ayrılan tohum kabuğunun ise %13 protein oranına sahip olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda mercimek besin değerleri bakımından niacine, thiamine, riboflavine gibi aminoasitlerle; A ve C gibi vitaminlerce de zengindir [23, 24]. Yeşil aksamı da hayvanların yem rasyonlarına karıştırılmaktadır [1, 2].

Verimi kısıtlayan önemli faktörlerin başında hastalık ve zararlılara karşı düşük tolerans, hasat öncesi çiçeklerin dökülmesi gibi zararlar gelmektedir [26]. Ürün kalitesini ve miktarını artırmak için yeni çeşitlerin geliştirilip yaygınlaştırılması gerekmektedir. Mercimek bitkisi büyük oranda kendine döllen bir bitki olduğu için kalıtsal çeşitlilik meydana getirilmesi ancak klasik ıslah metotlarından melezleme ile yapılabilir. Klasik ıslah yöntemleri ile çeşit geliştirmek, özellikle baklagiller gibi yapısal anlamda daha kompleks olan bitkilerde daha uzun süre almakta ve varyabilite oranları daha zor belirlenebilmektedir [27]. Bundan dolayı bitki ıslahında biyoteknolojik yöntemlerin uygulanması bu soruna çözüm olabilmektedir [28]. Biyoteknolojik modern ıslah yöntemlerine temel oluşturan bitki doku kültürleri; *in vitro* koşullarda, steril ortamda, bitki besin maddeleri ile hücre süspansiyonları, doku, organ gibi rejenerasyon kabiliyetine sahip bitki kısımlarının yetiştirilmesi-geliştirilmesi amacına dayanmaktadır. Uygun şartlar altında rejenerasyon sağlandığında mercimek bitkisinin ıslahına yönelik doku kültürü uygulamaları büyük potansiyel barındırmaktadır. Fakat mercimek bitkisinin doku kültür ortamında gelişiminde diğer baklagillerde de görülen bazı sorunlar meydana gelmektedir [29-34]. Bitki rejenerasyonunun amaca yönelik uyarılmasında en önemli etken bitki büyüme düzenleyicileridir. Genellikle uygun olmayan konsantrasyonlarda etki göstermeyen bitki büyüme düzenleyicileri, bir dokuda sentezlenip büyüme ve gelişmenin gerçekleşeceği dokulara doğru taşınan ve konsantrasyonları düşük olduğunda etki gösteren endojen organik bileşiklerdir. En çok kullanılan 5 tip bitki büyüme düzenleyicisi bulunmaktadır. Bunlar; oksinler, sitokininler, gibberellinler, absisik asit ve etilendir. Oksinler, köklendirme, fotoperiyodizm, apikaldormansi, hücre gelişimi ve yan sürgünlerin gelişiminin engellenmesi üzerinde etkilidirler. Bu bitki büyüme düzenleyicisi grubunun temel formu IAA (indol-3-asetik asit) olmak üzere sentetik oksinler arasında IBA, NAA,

2,4,5-T ve 2,4-D bulunmaktadır. Yaygın kullanılan sitokininler ise adenin (aminopurin) türevlerindedir. Yeniden farklılaşma, bitki rejenerasyonu, hücre bölünmesi ve sürgün çoğaltımında etkilidirler. En yaygın kullanılanı BAP olmakla birlikte TDZ ve CPPU'da diğer sitokininler arasındadır. Gibberellinler sürgün boylarının uzatılmasında, bitki rejenerasyonun uyarılmasında, embriyo ve ovül kültürlerinde kullanılmaktadır. Bir diğer bitki büyüme düzenleyicisi olan absisik asit ise somatik embriyoların olgunlaştırılmasında kullanılmaktadır. Etilen ise çoğunlukla meyve başta olmak üzere dokuları olgunlaştırıcı olarak kullanılmaktadır. Mercimek bitkisinin biyoteknolojik ıslah yöntemlerine adapte olabilmesi için daha önce birçok çalışma yapılmıştır. Mercimek doku kültürlerinde sitokinin uygulamaları sürgün rejenerasyonunu teşvik ederken, oksinler köklendirmede etkili olmuştur [30, 35-38]. Sitokinin, oksin ve sitokinin-oksine etkileşimleri genellikle bitki doku ve organ kültürlerinde bitki rejenerasyonun ve gelişiminin olgunlaşmasının sağlanması ve oluşması açısından önem arz etmektedir [39-40]. Bitki gelişim ve büyümesinde hayati önem arz eden sitokininler ve oksinler meristem hücrelerinin oluşması ve başkalaşmasında, aynı zamanda genel olarak bitki gelişim safhalarının tamamında önemli işlevlere sahiptir [41].

Sitokininler ve oksinler, vasküler dokulardan oluşan ksilem ve floem iletim demetlerinin farklılaşmasında görev almaktadır. Floem iletim demeti sürgünlerde sentezlenen ve fotoasimilasyon sonucu ortaya çıkan maddeleri taşıırken, ksilem iletim demeti ise kökten alınan su ve mineralleri yapısındaki boşluklar sayesinde bitki organlarına taşımaktadır [42, 43]. Floem ve ksilem dokularının göreceli bir kısmı oksin konsantrasyonları tarafından düzenlenmekte ve biçimlenmektedir. Ksilem farklılaşması yüksek oksin konsantrasyonlarında oluşmaktayken, floem farklılaşması düşük oksin konsantrasyonlarında oluşmaktadır. Ayrıca sitokininler, oksinlerin varlığı ile birlikte erken vasküler farklılaşma fazını başlatmaktadır. Sitokininler, oksinlerin dokuya karşı olan hassasiyetini stimüle etmektedir [43]. Çoğunlukla bitki büyüme düzenleyicilerinin vasküler dokular üzerindeki etkileri, ağaçlarda ve gül bitkisinde çalışılmıştır. [44-49, 51]. Önceki yapılan çalışmalar odunsu bitkilerde oksin olarak indol-3-asetik asitin (IAA), kambiyal aktivitede ve odun formasyonunda etkili olduğunu ortaya koymuştur [44, 50]. Yuan ve ark. [51] tarafından *Populus simonii* × *P. nigra* cins ve türlerinde yapılan bir çalışmada oksin ile muamele edilmiş fidelerde ksilem/floem oranının, kontrol grubuna göre yüksek olduğunu bulmuşlardır. Aynı zamanda, ksilem genişliği oksin uygulanan grupta en yüksek

bulunurken, aynı grupta floem genişliğinde kontrol grubuna nazaran kayda değer bir sonuç bulunamamıştır. Şimdiye kadar baklagillerde sitokinin ve oksin uygulamalarının bitki gelişimi ve vasküler doku üzerindeki etkisini gösteren bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışma; farklı konsantrasyon ve sürelerde uygulanan sitokinin ve sitokinin-oksin bitki büyüme düzenleyicilerinin mercimek (*L. culinaris* Medik. ssp. *culinaris*) bitkisi iletim demeti (floem ve ksilem) ve köklenme üzerine etkilerini belirlemek amacı ile *in vitro* şartlarda yapılmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Williams ve McHughen (1986), Mercimek (*Lens culinaris* Medik.) bitkisinde bitki rejenerasyonunu incelemişlerdir. Yalnızca 10mg/L kinetin ve 0,1 mg/L GA3 içeren ortamda sürgün rejenerasyonu gerçekleşmiştir. Rejenere edilen sürgünler yalnızca sürgün meristemlerinden elde edilen kalluslarda ve epikotilde oluşmuştur. Kotiledondan elde edilen kalluslar herhangi bir gelişme göstermemiştir [59].

Saxena ve King (1987), Mercimek bitkisinde kallus kültürlerinden morfogenez üzerine araştırma yapmıştır. Embriyolardan elde edilen kallus kültürlerinden somatik embriyogenesis yapılmıştır. MS ve B5 ortamları kullanılmıştır. B5 ortamındaki kalluslar kontrol, BA ve IBA ortamında fazla gelişim göstermemiştir [35].

Polanco ve ark. (1988), Kallus ve sürgün rejenerasyonuna etki eden faktörleri *in vitro* koşullarda belirlemişlerdir. Çalışmada İspanya'ya özgü 3 mercimek çeşidinden alınan sürgün ucu, ilk nod ve ilk yaprak çiftleri MS ve B5 ortamlarında eksplant olarak kullanılmıştır. 2,4-D ile muamele edilen bitkilerin hepsi kallus oluşumu göstermiştir fakat organ oluşumu gözlenmemiştir. Çoklu sürgün oluşumu 2,25 mg l⁻¹ benzil adenin (BA) ve 0,186 mg l⁻¹ naftalen asetik asit + 2,25 mg l⁻¹ BA konsantrasyonundan elde edilmiştir. Köklenme ise yalnızca NAA ve IBA ortamlarından elde edilmiştir. BA uygulaması köklenme oranlarını düşürmüştür. Eksplantlar arasında ise nodlardan en fazla rejenerasyon alınırken, yaprak eksplantlarından en düşük sonuçlar elde edilmiştir [36].

Polanco ve Ruiz (1997), Mercimek bitkisinde, 6-benzylaminopruine (BAP) etkisini, *in vitro* ve *in vivo* koşullarda köklenme gelişimi üzerinde test etmişlerdir. Sürgün ucu, ilk nodlar, yan dal sürgün ucu ve olgunlaşmamış tohumlar kültüre alınmıştır. 2,25 ve 0,225 mg/L BAP uygulanan bitkiler çoklu yandal artışı göstermiştir. Elde edilen sürgünler (%4,6 ile %39,9 arasında), 2 mg/L indolasetik asit (IAA) içeren köklendirme ortamına alınmıştır. Yapılan *in vivo* uygulamalar neticesinde BAP uygulamasının kök gelişimi ve kök mitotik endeks üzerinde düşüşe sebep olduğu görülmüştür [30].

Polanco ve Ruiz (2001), Bitki rejenerasyonuna etkisini belirlemek üzere 4 mercimek çeşidine ait olgunlaşmamış tohumları 10 farklı ortamda kültüre almıştır. Kinetin,

benzilaminopürin ve indol asetik asit içeren ortamların hemen hemen hepsinde sürgün rejenerasyonu gözlenmiştir. En iyi köklenme 1 µM naftalen asetik asitte Verdina çeşidinde elde edilmiştir [58].

Khawar ve Özcan (2002), Uygulanan TDZ konsantrasyonunun kallus temelli kotiledon nodlarında çoklu sürgün rejenerasyonları üzerinde olumlu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. En yüksek sürgün rejenerasyonu Akm 362 genotipinden elde edilmiştir. Alınan sürgünler 1,25 µM IBA ortamına köklendirilmek üzere alınmıştır. Ancak, alınan sürgünlerin birçoğunda köklendirme başarılı olamamıştır. Bu sorunu aşmak için öne çıkan yedi çeşitten, 3-4 gün içerisinde mikrograft gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem neticesinde yedi çeşit içerisinde Kayı 91 çeşidi köklendirilmiştir. Çimlendirildikten sonra 10 gün boyunca MS ortamında boylandırılan bitkiler 0,25, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L konsantrasyonlarındaki IBA ortamlarına köklendirilmek üzere alınmıştır. 4 hafta sonra alınan sonuçlarda 0,25 mg/L IBA içeren ortamda en fazla köklenme görülmüştür [31].

Fratini ve Ruiz (2002), Farklı sitokininlerin (6-benzyladenine (BA), Thidiazuron (TDZ), Kinetin (KIN), Zeatin (ZEA) mercimek (*L. culinaris*) bitkisindeki morfogenez üzerine olan etkilerini *in vitro* koşullarda araştırmıştır. Olgun mercimek tohumları tüm sitokinin konsantrasyonlarında iyi sonuç göstermiştir. TDZ ve BA uygulaması, KIN ve ZEA uygulamasına göre daha fazla sürgün gelişimini teşvik etmiştir. 1,25 µM'den 10 µM'e kadar olan tüm sitokinin uygulamaları sürgün gelişimini ikiye katlamıştır. TDZ ve BA uygulamalarının kök gelişimi üzerinde engelleyici etkiye sahip olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. En iyi köklenme oranı 1,25 µM ZEA uygulanan sürgünlerden elde edilmiştir. Çalışma sonucunda düşük konsantrasyonda KIN ve ZEA uygulamalarının tüm bitki rejenerasyonu için daha iyi sonuç verdiğini vurgulamıştır [55].

Frantini ve Ruiz (2003), Mercimek (*Lens culinaris*), bezelye (*Pisum sativum*), nohut (*Cicer arietinum*) ve mürdümük (*Lathyrus sativus*) bitkilerinde köklendirme protokollerini denemişlerdir. Nodal bölmeleri alınan bu baklagil bitkilerinde en iyi sonuç MS ortamında %3 sukroz ile 5 mM indol-3-asetik asit (IAA) + 1 mM kinetin (KN) içeren ortamda alınmıştır [56].

Khawar ve ark. (2004), 3 farklı mercimek (*Lens culinaris* Medik.) çeşidinde yaprak, gövde, gövde nodu ve kotiledon nodlarında thidiazuron (TDZ) etkisinin sürgün rejenerasyonunu *in vitro* koşullarda belirlemiştir. Çeşitli TDZ konsantrasyonlarında

kurulan bu çalışmada kotiledon ve gövde nodları kallus aşamasından sonra organogenesis ile adventatif sürgün oluşturmuştur. Yaprak ve gövde eksplantları sürgün oluşturamamıştır. Kotiledon nodları, gövde kotiledonlarına göre daha fazla rejenerasyon oranı göstermiştir. Tüm genotiplerde 0,25 mg/L TDZ konsantrasyonu kotiledon nodlarında en iyi sürgün rejenerasyonunu göstermiştir. 10-20 mm uzunluğundaki gelişen sürgünler 0,25 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) ortamında köklendirilmiştir [33].

Chabbra ve ark. (2008), Mercimek bitkisinde direk sürgün organogenesisi ve somatik embriyogenesis üzerinde araştırma yapmışlardır, Araştırmacılar, 2,0 µM thidiazurondan (TDZ) daha düşük konsantrasyonlarda sürgün rejenerasyonunun başladığını fakat daha yüksek konsantrasyonlarda sürgünlerin organogenesis ve somatik embriyogenesis üzerinde değişime sebep olduğunu belirtmişlerdir. Elde edilen sürgünler 2,5 mg/L IBA ortamında köklendirilmiştir [37].

Omran ve ark. (2008), Mercimek bitkisinde farklı eksplant ve BAP konsantrasyonlarında sürgün rejenerasyonu ve köklenme denemesi kurmuştur. 2 mg/L BAP ortamından elde edilen sürgünler, 3 mg/L BAP ve 4 mg/L BAP ortamında elde edilen sürgünlere göre daha yüksek köklenme göstermiştir. Bu sonuçlar BAP uygulamasının köklendirmeyi engelleyen özelliğini göstermektedir [54].

Aasim (2012), Çiftçi mercimek çeşidinin olgunlaşmamış embriyo zigotunun, olgunlaşmamış embriyo tomurcuğu tepesinden aldığı eksplantlarla etkin bir *in vitro* rejenerasyon sistemi kurmayı amaçlamıştır. En iyi sürgün rejenerasyonu 0,25 mg/L BAP + 0,1 mg/L IBA uygulamasından alınmıştır. En uzun sürgünler 0,25 mg/L BA + 0,1 mg/L IBA uygulamasından alınmıştır. Rejenere edilen sürgünler 0,25 ile 1 mg/L arasında değişen IBA konsantrasyonlarında ve 1 mg/L IAA konsantrasyonunda köklendirilmiştir [53].

Bagheri ve ark. (2012), Mercimek bitkisinde indirekt *in vitro* rejenerasyonu kapasitesini 13 farklı bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonu ve 4 farklı eksplant üzerinde denemişlerdir. En iyi kallus 1 mg/L naftalen asetik asit (NAA) ve 1 mg/L zeatin ortamından elde edilmiştir. Rejenerasyon safhasında 2,4-D içeren bitki büyüme düzenleyicisi grubu tek ve diğer bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonlu halde herhangi bir sürgün ve köklenme göstermemiştir. En yüksek sürgün ve köklenme oranı

kallus indüksiyonunda 1 mg/L naftalen asetik asit (NAA) ve 1 mg/L zeatin ortamından çeyrek kotiledonla dekapite edilmiş embriyolardan elde edilmiştir [57].

Özdemir ve Türker (2014), 16 farklı mercimek çeşidinde; sürgün ucu, gövde, hipokotil, kotiledon ve kök eksplantlarında sürgün rejenerasyonu ve köklenme üzerine bir çalışma kurmuştur. 4 mg/L BAP içeren ortam Yeşil 21 çeşidinden elde edilen sürgün ucu eksplantlarında en iyi sürgün rejenerasyonunu oluştururken, Özbek çeşidinden alınan kotiledon eksplantlarında 1 mg/L BAP ortamında en iyi sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Ayrıca IBA ile muamele edilen sürgünler 1,87 mg/L NAA ortamında daha kolay köklenmiştir [52].

Özdemir ve ark. (2015), 16 farklı mercimek çeşidinden alınan sürgün ucu, internod, hipokotil, kotiledon ve kök eksplantlarında 3 mg/L BAP + 0,5 mg/L 2,4-D ve 0,25 mg/L IBA ortamında *in vitro* kültüre alınmışlardır. En iyi sürgün rejenerasyonu Yeşil 21 çeşidinde internod eksplantlarında 3 mg/L BAP + 0,5 mg/L 2,4-D ortamında elde edilmiştir. Seyran96 çeşidinde en iyi sürgün rejenerasyonu diğer konsantrasyonlara kıyasla 0,25 mg/L IBA konsantrasyonunda elde edilmiştir. Gelişen sürgünler 0,19 mg/L NAA içeren kültür ortamlarında köklendirilmiştir [38].

Monder ve ark. (2019), IBA, NAA ve biostimulant uyguladıkları *Rosa beggeriana* türünde floem ve ksilem dokularını incelemişlerdir. Kontrol grubundaki ksilem bölgesi genişliğinin, NAA uygulanan gruplara göre daha geniş olduğunu bildirilmişlerdir [49].

Yuan ve ark. (2019), *Populus simonii* × *Pinus nigra* türünde çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri uygulamıştır. Oksin uygulanan gruplarda ksilem/floem oranı kontrollere nazaran artış göstermiştir. Ayrıca ksilem genişliği oksin uygulamasının ardından en fazla kalınlığa ulaşmıştır. Kontrollere kıyasla oksin uygulaması ve floem genişliği üzerinde herhangi bir bağlantı bulunamamıştır [51].

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma 2018-2020 yılları arasında Uşak Üniversitesi Bilimsel Analiz ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkez Laboratuvarı'nda yer alan Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Biyoteknoloji Laboratuvarı ve Bitki Sistematiği ve Filogenetiği Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1. Bitki Materyali ve Yüzey Sterilizasyonu

Çiftçi çeşidine ait mercimek tohumları Ankara Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden elde edilmiştir. Zarar görmeyen olgun mercimek tohumları seçilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Tohumlar %5 oranında NaOCI içeren %100'lük ticari çamaşır suyunda 15 dakika boyunca steril edilmiş ve 3×3 dakika steril saf suda durulanmıştır.

3.2. Çimlendirme Ortamı ve Kültür Koşulları

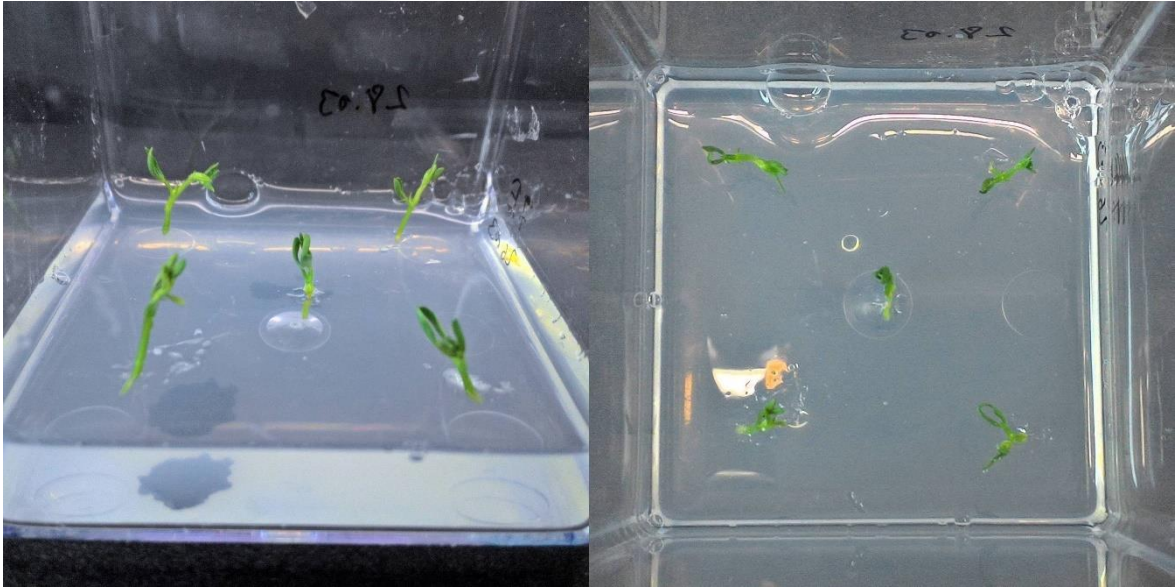
Yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar; 30 g/L sukroz (Merck) ve 6,2 g/L agar (Caisson labs) ile katılaştırılan MS ortamı içeren Magenta kapları içerisinde (boyutu 7.62 ×7.62×10.16 cm (3"×3"×4")) çimlendirilmiştir. Çimlendirme ortamındaki tohumlar 24±2°C sıcaklıkta, 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyot koşullarda inkübe edilmiştir. Tohumlar, en yüksek oranda çimlenmeyi sağlayabilmesi için MS ortamına yarı batık olacak şekilde yatay olarak kültüre alınmıştır. Çimlendirme aşamasında her magenta kabında 9 adet tohum olacak şekilde çimlendirme yapılmıştır. Çimlenme oranı tüm magentalarda ortalama %96 olarak gözlenmiştir 9 günlük çimlenme periyodundan sonra seçilen 2 cm boyuna ulaşan 450 adet sağlıklı bitkiye ait sürgünler, kotiledon nodlarının alt kısımlarından kesilerek explantlar hazırlanmıştır. Bu explantlar daha sonrasında aşağıda belirtilmiş bitki büyüme düzenleyicileri içeren ortamlara dikey olarak aktarılmıştır (Resim 3.1.).

3.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri Ortamları ve Kültür Koşulları

Kültür ortamı olarak 30 g/L sukroz (Merck) ve 6,2 g/L agar (Caisson labs) içeren MS ortamı kullanılmıştır. Her magentada 5 eksplant olacak şekilde; kontrol (MS ortamı), 1 mg/L BAP ve 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA ve 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA konsantrasyonlarında ve 7, 14, 21, 28, 35 günlük kültür süresi boyunca gelişimleri incelenmiştir. Çalışma; tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak yürütülmüştür.

Günlük kültür sürelerinin tamamlanmasının ardından eksplantlar MS ortamına alınmış (sırası ile 7, 14, 21, 28, 35 gün MS ortamında bekletilmiştir) ve ardından 35 günlük kültür süresine erişince köklendirme ortamına aktarılmıştır.

Köklendirme için kullanılan 0,5 mg/L IBA, 0,45 μ millipore filter ile steril edilerek MS ortamına eklenmiştir. Ortamın pH miktarı agar eklenmeden önce $5,7\pm 1$ olarak ayarlanmıştır. Tüm kültürler $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, 16 saat ışık ve 8 saat karanlık koşullarda inkübe edilmiştir.

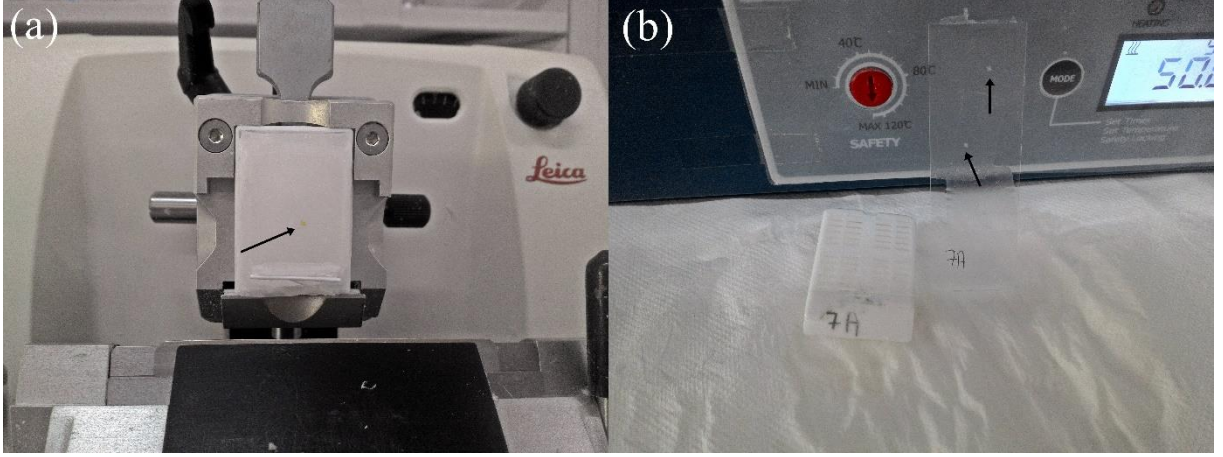


Resim 3.1. Anadal üzerinde sürgün içeren 7 günlük kültür süresinde yer alan kontrol uygulamasındaki 2 cm civarındaki *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait sürgün eksplantları

3.4. Parafin Yöntemi ile Mikroskop Altında İnce Kesit Anatomik Görüntüleme

Bitki büyüme düzenleyicileri içeren ortamlarda günlük kültür süresini tamamlayan eksplantlar MS ortamına alınmıştır. Bitki büyüme düzenleyicisi ortamına alındığı günden itibaren MS ortamındaki süre de dahil olmak üzere 35 günlük olan eksplantlar anatomik görüntüleme için kullanılmıştır.

Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonları ve periyodik gün uygulama süreleri ile muamele edilmiş “Çiftçi” mercimek çeşidine ait 0,5 cm uzunluğundaki gövde örnekleri anatomik inceleme için kullanılmıştır. Bitki örnekleri %70’lik etil alkolde 7 gün boyunca fikse edilmiştir. Gövde örnekleri küçük cam şişelere yerleştirilmiş ve alkol serilerinde (%50, 70, 85 ve 100) dehidrasyon işlemine maruz bırakılmıştır. Ardından, alkol/ksilen serilerinde (2:1, 1:1, 1:2) 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Dehidrasyon ve ksilen işlemlerinin ardından %100 ksilende 15 dakika boyunca dokuların tamamen ksilen ile yıkanması için 15 ml’lik cam kavanozlarda bekletilmiştir. Ardından cam kavanoz içindeki bitki örnekleri 60°C sıcaklıktaki inkübatöre alınmış ve 4 gün boyunca 1 metal kaşığı miktarda parafin eklenmiştir. Bu işlem, dokulardaki ksilenin bitki dokularından uçması ve tam parafin infiltrasyonu için yapılmıştır. 4 gün süren parafin eklemesi sonucunda 60°C sıcaklıktaki inkübatörde tamamen parafinle doldurulan dokular 7 gün sonra parafin kasetlerine dökülmüştür ardından -20°C’de dondurulduktan sonra bisturi ile kasetlerin kenarındaki parafinler alınmış ve Leica RM2125RTS mikrotomunda 10 µm ile 15 µm kalınlığındaki gövde örneklerinin parafin filmleri/kesitleri alınmıştır (Resim 3.2.a). Daha sonra 50°C sıcaklıktaki su banyosunda bekletilen parafin filmlerine albumin sürülmüş (yumurta akından elde edilmiş) ve lamlara yapıştırılarak kurutulmuş (Resim 3.2.b) ve ardından 60°C sıcaklıktaki inkübatörde 1 hafta bekletilmiştir.



Resim 3.2. Çiftçi mercimek çeşidinin gövdesinden alınan 7 günlük kültür süresindeki 1 mg/L BAP uygulamasına ait gövde örnekleri; (a) Mikrotom üzerine yerleştirilmiş kesilmeye hazır parafin kaseti, (b) 50°C sıcaklıktaki su banyosunda bekletilen sonra albümin sürülmüş lam üzerine yapıştırılan parafin filmleri

Bu işlemlerden sonra, bitki örneklerini üzerinde barındıran lamlar %100 ksilende ve dehidre etmek için alkol serilerinde (%100, 85, 70 ve 50) 5 dakika boyunca bekletilmiştir. Tüm preparatlar Safranin ve Fast Green boyalarında boyanmış ve Entellan ile yapıştırılarak sabit preparat haline getirilmiştir [60]. Leica DM500 mikroskobu ile fotomikrograflar elde edilmiştir.

3.5. Ölçümler

3.5.1. Sürgün boyu (cm): Kök taç bölgesinden, en uçtaki sürgüne kadar dijital kumpas ile ölçülmüştür.

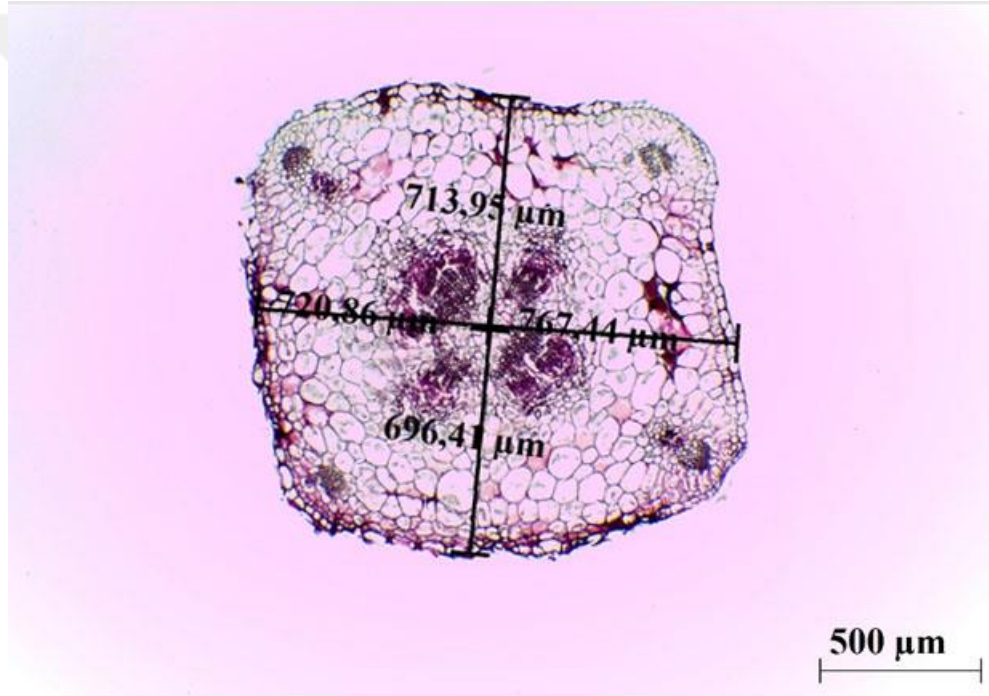
3.5.2. Eksplant başına düşen sürgün sayısı (adet/eksplant): Beş eksplant içeren her bir tekrürde; (Toplam sürgün sayısı/5) işlemiyle elde edilmiş ardından her grubun kendi tekrürlerinin ortalaması alınarak elde edilen değer eksplant başına düşen sürgün sayısı olarak belirlenmiştir.

3.5.3. Floem ve ksilem genişliği (µm): Leica Application Suite Version 3.4.0 yazılımı ile elde edilen mikrofotograflar üzerinden ölçülmüştür.

3.5.4. Yüzde floem oranı (%); [(Gövdeden alınan floem bölgesi genişliği/floem bölgesi genişliği + ksilem bölgesi genişliği) × 100] işlemi ile elde edilmiştir.

3.5.5. Yüzde ksilem oranı (%) ise $[(\text{Gövdeden alınan ksilem bölgesi genişliği}/\text{ksilem bölgesi genişliği} + \text{floem bölgesi genişliği}) \times 100]$ işlemi ile elde edilmiştir.

3.5.6. Gövde yarıçapı: Leica Application Suite Version 3.4.0 yazılımı ile elde edilen mikrofotograflar üzerinden ölçülmüştür. Önceki çalışmaların [51] aksine gövde çapı ölçümü yerine gövde yarıçapı ölçümü tercih edilmiştir. Dört taraftan yatay ve dikey olarak yapılan gövde yarıçapı ölçümleri, gövdenin yatay ve dikey eksenindeki şekil bozukluklarının, ölçüm değerlerini etkilememesi için tercih edilmiştir (Resim 3.3.). Ardından bu dört ölçüm değerinin aritmetik ortalaması gövde yarıçapı olarak kabul edilmiştir.



Resim 3.3. 21 günlük kültür süresi boyunca 1 mg/L BAP uygulanan *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait gövde yarıçapı ölçüm şekli

Bu ölçümlere ek olarak, ölçümlerin kendi arasındaki oranlar bazında;

3.5.7. Floem/ksilem bölgesi genişliği oranı: (Floem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm) / ksilem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm)) işlemi ile elde edilmiştir.

3.5.8. Ksilem/floem bölgesi genişliği oranı: (Ksilem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm) / floem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm)) işlemi ile elde edilmiştir.

3.5.9. Floem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı: (Floem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm) / gövde yarıçapı ölçüm değeri (μm)) işlemi ile elde edilmiştir.

3.5.10. Ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı: (Ksilem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm) / gövde yarıçapı ölçüm değeri (μm)) işlemi ile elde edilmiştir.

3.5.11. Floem + ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı: [(Floem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm) + Ksilem bölgesi genişliği ölçüm değeri (μm)) / gövde yarıçapı ölçüm değeri (μm)] işlemi ile elde edilmiştir.

3.6. İstatiksel Analiz

Çalışma; tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Denemede belirlenen faktörlerin (bitki büyüme düzenleyicileri ve kültür sürelerinin) ölçülen karakterlere ait ortalama değerler ile interaksiyonların varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Ölçülen karakterlere ait ortalama değerler arasındaki farklılıklar Tukey çoklu karşılaştırma post hoc testi ile belirlenmiştir. Data analiz programı olarak JMP tercih edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Sürgün Boyu

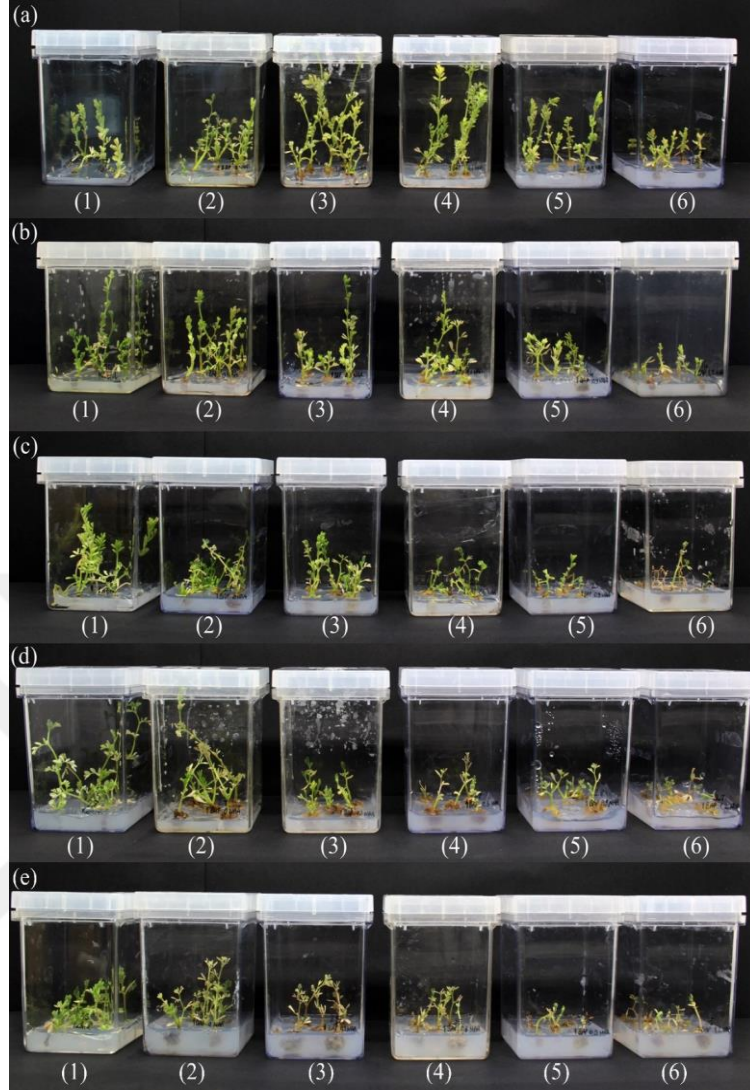
Oluşan yeni sürgünlerin boyu bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi, bitki büyüme düzenleyicisi ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksiyonuna ait ortalama değerler arasında farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinden elde edilen sürgün eksplantından oluşan yeni sürgünlerin boy ölçüm verilerinin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	48,081938	12,0204845	9,1395**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	78,279926	15,6559852	11,9036**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	59,737636	2,9868818	2,2710**
Hata	60	78,91367	1,31523	
Genel	89	265,01317		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Kültür süreleri bakımından ortalama değerler 5,46-3,33 cm arası değişim göstermiştir. İstatistiki olarak ortalama değerler iki farklı grupta toplanmıştır ve 7 günlük kültür süresi ilk grupta yer almıştır. En uzun sürgün boyu 7 günlük kültür süresinde 5,46 cm bulunurken, en kısa olarak 35 günlük kültür süresinde 3,33 cm olarak bulunmuştur. Diğer kültür süreleri (14, 21, 28 ve 35) kendi içlerinde aynı grupta yer almalarına rağmen kültür günü süresi arttıkça sürgün boyunda azalma meydana gelmiştir. (Çizelge 4.2.).



Resim 4.1. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonları ve kültür sürelerinin *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde sürgün boyu üzerine etkisi, (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 14 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 21günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (d) 28 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (e) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (1) Kontrol grubu (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP, (3) 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA, (4) 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA, (5) 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA, (6) 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA*

*Tüm eksplantlar kültür sürelerinin tamamlanmasının ardından MS ortamına aktarılmış ve 35. günde fotoğraflama yapılmıştır

Bitki büyüme düzenleyicilerine ait sürgün boyu ortalama değerleri incelendiğinde en uzun sürgün boyu (5,33 cm) kontrol ortamında tespit edilirken en kısa sürgün boyu (2,66 cm) 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA ortamında. Ölçüm verileri istatistiki olarak 4 farklı grupta yer almıştır. Ayrıca, BAP ile birlikte artan NAA konsantrasyonları bitki boylarında belirgin ve önemli azalmaya sebep olmuştur. Kontrol (MS ortamı), 1 mg/L BAP, 1 mg/L BAP + 0,3

mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA içeren ortamlarda sırasıyla sürgün boyu 4,80-5,93 cm; 5,38-4,92 cm; 6,00-2,66 cm; 7,78-2,24 cm; 5,74-2,01 cm ve 3,45-2,33 cm arasında değişmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde sürgün eksplantından oluşan yeni sürgünlerin boy ölçüm verileri (cm)

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
<u>Kültür Süresi (gün)</u>	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	4,80 a-d**	5,04 a-d	6,00 ab	7,78 a	5,74 a-c	3,45 b-d	5,46 a[‡]
14	5,56 a-d	4,92 a-d	4,50 a-d	4,04 b-d	3,47 b-d	2,69 b-d	4,19 b
21	5,93 ab	5,17 a-d	4,10 b-d	2,94 b-d	2,01 d	2,34 b-d	3,74 b
28	5,20 a-d	5,38 a-d	3,78 b-d	2,84 b-d	3,26 b-d	2,52 b-d	3,83 b
35	5,16 a-d	5,21 a-d	2,66 b-d	2,24 cd	2,38 b-d	2,33 b-d	3,33 b
Ortalama değer	5,33 a[‡]	5,14 ab	4,20 a-c	3,96 bc	3,37 cd	2,66 d	

**Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

Kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonuna göre sürgün boyu ölçümleri (cm) istatistiki olarak 4 grupta yer almış olup en uzun sürgün boyu 7,78 cm ile 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA konsantrasyonunda 7 günlük uygulama sonucunda elde edilmiştir. En kısa sürgün boyu ise 1 BAP + 0,9 NAA uygulamasının 21 günlük kültür süresinde 2,01 cm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2., Resim 4.1.).

Bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonu ve kültürde tutma süresi arttıkça, istatistiksel olarak ortalamalar aynı grupta yer almasına rağmen sürgün boyu ortalama değerlerinde azalma olmakta yani sürgünlerin boyu kısalmaktadır. Bu durumda sitokinin ve oksinlerin yüksek konsantrasyonda uygulanması ve kültürde tutma sürelerindeki artış ile sürgün boyu uzaması durmaktadır. Gelişimi yavaşlayan sürgünlerin ortamda daha fazla tutulmasıyla

dokularda ölüm meydana gelmektedir (Resim 4.1.). Elde edilen bu sonuçlar sürgün eksplantlarının sitokinin ve oksin konsantrasyonlarında 7 ve 14 günlük kültür süresinden daha fazla bekletilmemesi, bekletilecekse de konsantrasyonlarının düşük olması gerektiğini göstermektedir (Çizelge 4.2.). Aynı zamanda, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ve farklı bekleme sürelerinin etkileri yeni çalışmalarla ortaya konulmalıdır.

28 ve 35 kültür günü periyotlarında gözlemlenen sağlıklı bitki gelişimi mikroskopik incelemelerde de görülmüştür. Uzatılan kültür günü sürelerinde yüksek sitokinin ve oksin konsantrasyonlarındaki floem ve ksilem dokuları hasar görmüş olup, bitki gövde çaplarında belirgin daralma izlenmiş ve gövde yarıçapı ölçümleri, sürgün boyu ölçümlerine paralel bir şekilde azalma göstermiştir (Çizelge 4.2., Çizelge 4.18., Resim 4.3.). Aasim [53], çiftçi mercimek çeşidi üzerinde yaptığı bir çalışmada 0,50 mg/L BA + 0,1 mg/L IBA uygulamasında, yalnızca BA uygulamasına göre daha uzun sürgünler elde etmiştir. Elde edilen bu sonuçlar uygun konsantrasyonlardaki sitokinin ve oksinlerin sürgün boyuna olumlu etki yapması yönünden bu çalışmayla paralellik göstermektedir.

4.2. Eksplant Başına Düşen Sürgün Sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; bitki büyüme düzenleyicisi uygulamalarına ait ortalama değerler ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksiyonuna ait ortalama değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli (sırası ile $p < 0,01$ ve $p < 0,05$) bulunmuştur. Ancak kültür sürelerinin etkisi önemsiz ($p > 0,05$) çıkmıştır (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde eksplant başına düşen sürgün sayısı ölçüm verilerinin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	1,148444	0,287111	1,7650
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	10,771556	2,1543112	13,2437**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	6,739556	0,3369778	2,0716*
Hata	60	9,760000	0,1626666	
Genel	89	28,419556		

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

Günlük kültür süresi bazında, ortalama değer olarak en fazla sürgün sayısı (0,92 adet/eksplant) 7 gün kültür süresinde bulunmuştur. Diğer 14, 21, 28 ve 35 gün kültür süresi periyotlarında kültür süresi arttıkça, eksplant başına düşen sürgün sayısında azalma izlenmiştir (Çizelge 4.4).

Bir sitokinin olan BAP'ın bitkilerde sürgün oluşumunu uyararak sürgün sayısını artırdığı bilinmektedir [61]. Bu çalışmada bitki büyüme düzenleyici uygulamaları bakımından; 1 mg/L BAP uygulamasında en yüksek sürgün sayısı ortalama değeri (1,38 adet/eksplant) elde edilmiş ve bunu kontrol grubu (0,78 adet/eksplant) takip etmiştir. Kontrol grubunda ve NAA'nın artan konsantrasyonlarında sürgün sayısına ait ortalama değerlerin azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4.).

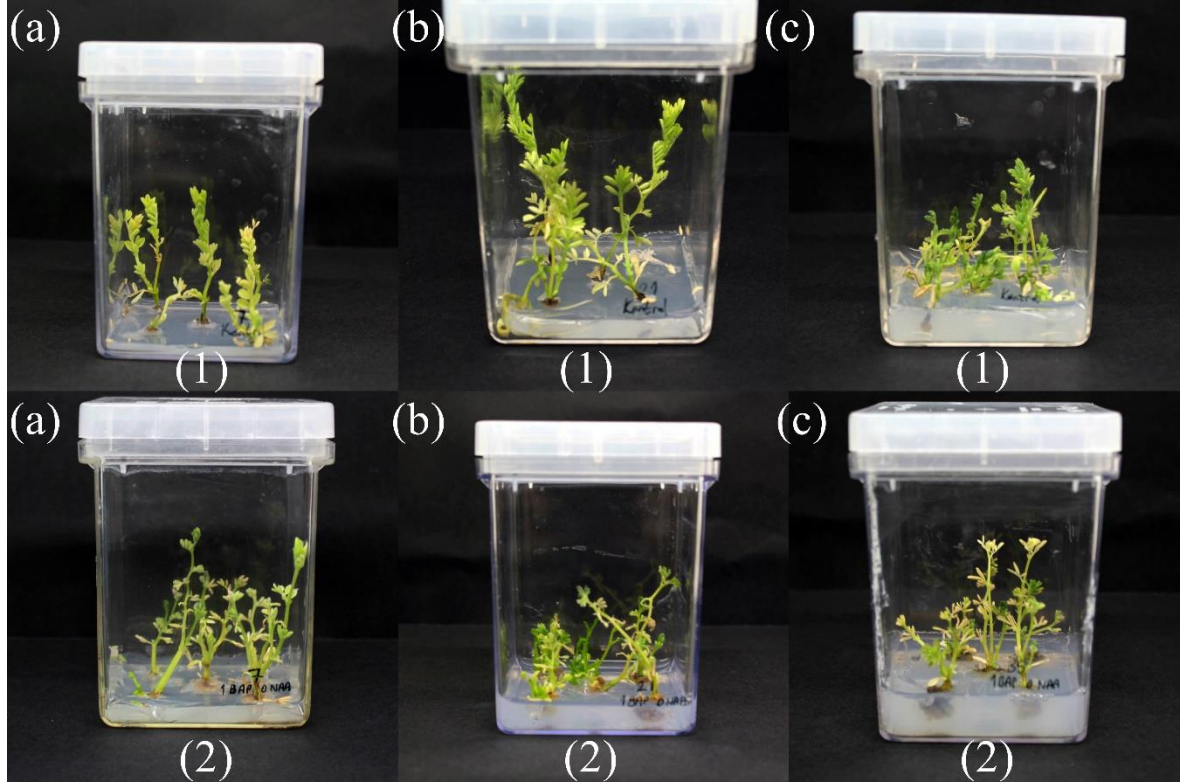
Çizelge 4.4. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde eksplant başına düşen sürgün sayısına olan etkisi (adet/eksplant)

Kültür Süresi (gün)	Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları						Ortalama değer
	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	
7	0,86 a-d**	0,86 a-d	0,93 a-d	1,06 a-d	1,06 a-d	0,80 a-d	0,92
14	0,66 b-d	1,46 a-c	1,13 a-d	0,40 b-d	0,40 b-d	0,33 b-d	0,73
21	0,60 b-d	2,06 a	1,00 a-d	0,46 b-d	0,06 d	0,20 cd	0,73
28	1,13 a-d	1,00 a-d	1,06 a-d	0,20 cd	0,60 b-d	0,40 b-d	0,731
35	0,66 b-d	1,53 ab	0,53 b-d	0,20 cd	0,33 b-d	0,20 cd	0,57
Ortalama değer	0,78 bc‡	1,38 a	0,93 b	0,46 c	0,49 c	0,38 c	

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur
 ** Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,05 düzeyinde farklılık bulunmuştur

Kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonuna göre ise, eksplant başına düşen sürgün sayısı (adet/eksplant) değerleri istatistiki olarak 4 farklı grupta yer almıştır. 21 gün uygulanan sürede 1 mg/L BAP konsantrasyonu en yüksek sürgün sayısı (2,06 adet/eksplant) elde edilmiştir. Aynı konsantrasyonun diğer uygulama günlerinde de yüksek

sürgün sayısı elde edilmiş ve aralarındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. En düşük eksplant başına düşen sürgün sayısı 0,06 adet olarak 21 günlük kültür süresindeki 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA uygulanan sürgünlerde gözlemlenmiştir. Bu düşüşü 0,20 adet/eksplant olarak 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA uygulanan bitkiler (28 ve 35 gün kültür süresinde) ve 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA uygulanan sürgünlerde izlemiştir (Çizelge 4.4).



Resim 4.2. 7 ve 21 günlük kültür sürelerinde kontrol ve 1 mg/L BAP uygulanan *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait eksplantlardaki yeni oluşan sürgünler; (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 21 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (1) Kontrol (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP uygulaması*

*Tüm eksplantlar kültür sürelerinin tamamlanmasının ardından MS ortamına aktarılmış ve 35. günde fotoğraflama yapılmıştır

Oksinde (NAA) bekleme süresi ve artan konsantrasyonlar sürgün sayısını belirgin bir şekilde azaltmıştır. Bulduğumuz sonuçlar Müller ve Leyser'in (2011) araştırmalarını doğrular niteliktedir [61].

4.3. Floem Bölgesinin Genişliği

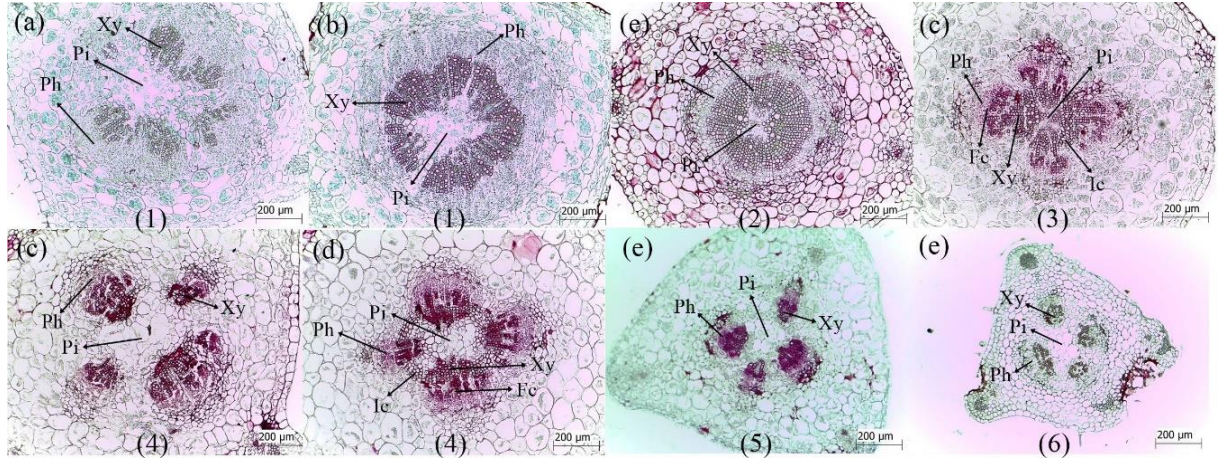
Gövdeden alınan floem bölgesi genişliği bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi, bitki büyüme düzenleyicisi ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonuna ait ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği ölçüm verilerinin varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	22980,653	5745,16325	39,4824**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	8000,079	1600,0158	10,9958**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	8929,967	446,49835	3,0685**
Hata	60	8730,716	145,5119	
Genel	89	48641,414		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Mikroskopik incelemelerde, parafin yöntemi ile anatomik inceleme yapılmadan önce gövde örnekleri jilette el kesitleri alınarak boyanma işlemi yapılmadan mikroskopta incelenmiş ve yapılan ölçümler sonucunda bitki büyüme düzenleyicileri ve periyodik gün uygulama süreleri arasında kayda değer farklılıklar gözlemlenmiştir. Ancak el kesitlerinin tamamının aynı kalınlıkta olmaması, elde edilen preparatların boyandığında iyi sonuç alınamaması ve kalıcı preparat halinde saklanamaması gibi dezavantajlardan dolayı parafin yöntemi ile mikroskop görüntüleme yöntemi tercih edilmiştir. Işık mikroskopunda yapılan incelemelerde örneklerin eşit kalınlıkta olması ışık geçirgenlikleri açısından önemlidir. Eşit ışık geçirgenliklerine sahip olmayan örneklerde yapılan ölçümlerden alınan sonuçlar güvenilir sonuçlar vermemektir. Bundan dolayı parafin yöntemi, alkol ve ksilen ile dehidre edilen bitki örneklerinin boyama işlemine daha müsait olması ve mikrotomda eşit kalınlıklarda kesilebilmesinden dolayı el kesitlerine göre daha güvenilir sonuçlar vermektedir ve elde edilen preparatlar kalıcı preparat halinde uzun süre saklanabilmektedir [60].



Resim 4.3. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonları ve kültür süreleri uygulanmış, *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait floem ve ksilem dokuları; (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 14 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 21 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (d) 28 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (e) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (1) Kontrol grubu (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP, (3) 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA, (4) 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA, (5) 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA, (6) 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA, Ph; Floem bölgesi, Xy; Ksilem bölgesi, Pi; Pith bölgesi, Fc; Fasiküler kambiyum, Ic; Interfasiküler kambiyum

Çizelge 4.6 incelendiğinde; farklı kültür sürelerinin floem genişliği üzerinde etkili olduğu görülmektedir. En geniş floem bölgesi 7 ve 14 günlük ortalamalarda sırası ile 90,46 µm ve 81,72 µm olarak ölçülmüş ve istatistiksel olarak aralarında fark bulunmamış ve aynı grupta yer almışlardır. Kültür sürenin uzaması ile floem bölgesi genişliklerinde daralma görülmüş ve en düşük değer 45,35 µm ile 35 gün uygulamasından elde edilmiştir. Uzayan kültür sürelerinde uygulanan bitki büyüme düzenleyicileri, floem bölgesindeki hücrelerde hasar oluşturarak dejenerasyon ve daralmaya neden olmuştur.

Bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri incelendiğinde; ölçüm değerleri 89,13-61,62 µm arasında değişim göstermiştir. İstatistiki olarak ortalama değerler iki farklı grupta toplanmış ve kontrol uygulaması ilk grupta yer alarak diğerlerinden ayrılmıştır. En yüksek floem bölgesi genişliği kontrol uygulamasından (89,13 µm) elde edilirken en düşük floem bölgesi genişliği 1 mg/L + 0,6 mg/L NAA (61,62 µm) ve ardından 1 mg/L BAP (63,27 µm) uygulamasında gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği ölçümleri (μm)

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
Kültür Süresi (gün)	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	100,67 ab**	69,88 a-j	94,82 a-c	84,91 a-f	88,48 a-e	104,00 a	90,46 a*
14	106,03 a	91,04 a-d	69,97 a-j	63,64 b-j	73,89 a-i	85,76 a-e	81,72 a
21	102,17 ab	55,30 d-j	67,41 a-j	57,98 c-j	46,36 f-j	56,18 c-j	64,23 b
28	61,60 c-j	57,61 c-j	50,82 e-j	54,79 d-j	79,95 a-g	57,65 c-j	60,40 b
35	75,18 a-h	42,55 g-j	35,66 i-j	46,79 f-j	38,52 h-j	33,44 j	45,35 c
Ortalama değer	89,13 a*	63,27 b	63,73 b	61,62 b	65,44 b	67,41 b	

**Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

İkili interaksiyon değerleri incelendiğinde floem bölgesi genişliği ölçüm verileri istatistiki olarak 10 ayrı grupta toplanmıştır. En yüksek floem bölgesinin genişliği kontrol uygulamasında, 14 günlük kültür süresinde 106,03 μm olarak elde edilmiştir. En düşük floem bölgesi genişliği (33,44 μm) ise 35 günlük kültür süresinde 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA uygulanan bitkilerden alınan gövde örneklerinde gözlemlenmiştir. Görüleceği üzere en yüksek ve en düşük floem bölgesi genişliği ölçümleri arasında yaklaşık üç kat fark bulunmaktadır. Artan bitki büyüme düzenleyicisi ve kültür süresi karşısında floem bölgesi çok hassas bir gelişim izlemiştir. Ayrıca yine 35 günlük kültür süresindeki ortalama ölçüm değerlerinde floem bölgesindeki en fazla dejenerasyon ve daralma gözlemlenmiştir (Çizelge 4.6., Resim 4.3.e).

Sonuç olarak floem bölgesindeki bu daralma, uzayan kültür sürelerinde uygulanan yüksek konsantrasyondaki bitki büyüme düzenleyicilerinin olumsuz etkilerini göstermektedir (Çizelge 4.6.). Bitki büyüme düzenleyicileri ve kültür süreleri uygulamaları pith bölgesine

herhangi bir etkisi olmamakla birlikte, fasiküler ve interfasiküler kambiyumun oluşmasında da etkili olmamıştır (Resim 4.3.).

Bu çalışmadaki floem bölgesi genişliğinden elde edilen sonuçlar, Yuan ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada bulunan sonuçlarla farklılık göstermiştir. Araştırmacılar, *Populus simonii* × *Pinus nigra* türünde indol-3-asetik asit (IAA) uygulanmış ve kontrol grubuna göre floem genişliğinde kayda değer bir değişim gözlemlenmemişlerdir [51]. Bu farklılığın iki çalışmada kullanılan bitki cinslerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmadan alınan sonuçlar, Monder ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada alınan sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Araştırmacılar, *Rosa beggeriana* türünde NAA uygulamış ve gövdeden örnek alıp floem bölgesini incelemişlerdir. Araştırmacılar, kontrol grubunda floem çap genişliği NAA uygulanan gruba göre daha fazla bulunmuştur [49].

4.3.1. Yüzde floem oranı

Gövdeden alınan yüzde floem oranı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi ve bitki büyüme düzenleyicileri uygulamalarına ait ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksiyonuna ait ortalama değerler arasındaki farklılıklar ise istatistiksel açıdan önemli ($p > 0,05$) bulunmamıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde yüzde floem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	291,6641	72,916025	4,6071**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	1518,8330	303,7666	19,1932**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	550,2731	27,513655	1,7384
Hata	60	949,6070	15,82678	
Genel	89	3310,3772		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Floem bölgesi genişliğinin, toplam vasküler dokuların genişliğine oranından elde edilmiş yüzde floem oranları, floem ve ksilem dokularının sitokinin ve oksin uyarımına karşı vermiş olduğu tepkileri incelemek açısından önemlidir.

Farklı kültür süreleri ortalama değer bazında incelendiğinde; en yüksek yüzde floem oranı 14 günlük kültür süresinde (%30,7), en düşük olarak da 35 günlük kültür süresinde (%25,6) bulunmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar önemli bulunmuş ve farklı gruplarda yer almışlardır.

Bitki büyüme düzenleyicisi uygulamasının ortalama değerleri istatistiki olarak 3 ayrı grupta toplanmıştır. En yüksek yüzde floem oranı kontrol grubunda (%35,7) bulunurken, en düşük olarak 1 mg/L BAP uygulamasında (%24) bulunmuştur. Ortalamalar arasındaki farklar önemli bulunmuş ve farklı gruplarda yer almışlardır.

İkili interaksiyon değerleri incelendiğinde; en yüksek yüzde floem oranı 7 günlük kültür süresindeki kontrol grubunda (%40,5) elde edilmiştir. En düşük yüzde floem oranı (%18,8) ise 35 günlük kültür süresindeki 1 mg/L BAP uygulamasında bulunmuştur (Çizelge 4.8.).

Çizelge 4.8. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde yüzde floem bölgesi genişliği oranları (%)

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
<u>Kültür Süresi (gün)</u>	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	40,5	25,1	27,8	27,3	27,0	26,7	29,1 ab [‡]
14	38,6	28,1	28,6	23,8	32,8	32,3	30,7 a
21	39,4	23,9	23,5	22,5	22,1	29,8	26,9 b
28	29,0	24,0	25,4	24,5	29,3	30,8	27,2 ab
35	31,1	18,8	22,1	22,9	27,3	31,3	25,6 b
Ortalama değer	35,7 a[‡]	24,0 c	25,5 c	24,2 c	27,7 bc	30,2 b	

[‡] Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

[‡] Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

Alınan bu sonuçlar floem bölgesinin kontrol grubunda en yüksek olduğunu doğrularken (Çizelge 4.6 ile beraber değerlendirildiğinde), ksilem bölgesinin daha çok sitokininlerin uyarımına duyarlı olduğu ve BAP uygulamasında genişleme gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.12).

4.3.2. Floem/ksilem bölgesi genişliği oranı

Gövdeden alınan floem/ksilem bölgesi genişliği oranı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi, bitki büyüme düzenleyicisi ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonuna ait ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde floem/ksilem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	0,11627380	0,02906845	4,2442**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	0,67688359	0,135376718	19,7661**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	0,25721174	0,012860587	1,8778**
Hata	60	0,4109353	0,0068489	
Genel	89	1,4613044		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Kültür süreleri ortalama değerleri incelendiğinde, en yüksek floem bölgesi/ksilem bölgesi genişliği oranı 0,44 olarak 14 günlük kültür süresinde bulunurken, en düşük olarak 0,34 olarak 35 günlük kültür süresinde bulunmuştur (Çizelge 4.10.).

Çizelge 4.10. incelendiğinde; bitki büyüme düzenleyicisi uygulamasındaki ortalama değer istatistiki olarak 3 ayrı grupta toplanmıştır. Kontrol grubundaki floem bölgesi/ksilem bölgesi genişliği oranı 0,56 olmak üzere ilk grupta yer alıp diğerlerinden farklılık göstermiştir.

İkili interaksyon incelendiğinde, Floem bölgesinin genişliğinin, ksilem bölgesinin genişliğine oranı tüm uygulamalarda istatistiksel olarak önem arz etmiştir ve istatistiki olarak 4 ayrı grupta toplanmıştır. En yüksek oran 7 kültür günü süresinde, kontrol

grubunda (0,68) bulunurken, en düşük olarak (0,23) 35 günlük kültür süresinde, 1 mg/L BAP uygulamasında bulunmuştur. İncelenen bu veriler, floem bölgesinin yalnızca sitokin uygulamasında ksilem bölgesine göre daha hassas davrandığını göstermektedir ve yüksek konsantrasyonlarda ve artan kültür günü uygulamalarında floem bölgesinin daha fazla daraldığını göstermekte ve mikroskop görüntüleriyle de örtüşmektedir (Çizelge 4.10., Resim 4.4.).

Çizelge 4.10. Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde floem/ksilem bölgesi genişliği ölçümleri oranları

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
Kültür Süresi (gün)	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	0,68 a**	0,33 d	0,39 cd	0,38 cd	0,37 cd	0,36 cd	0,41 ab*
14	0,63 a-c	0,39 b-d	0,40 b-d	0,31 d	0,49 a-d	0,47 a-d	0,44 a
21	0,65 ab	0,31 d	0,31 d	0,29 d	0,28 d	0,42 a-d	0,37 ab
28	0,40 b-d	0,31 d	0,34 d	0,32 d	0,42 a-d	0,44 a-d	0,37 ab
35	0,45 a-d	0,23 d	0,28 d	0,29 d	0,38 cd	0,46 a-d	0,34 b
Ortalama değer	0,56 a‡	0,31 c	0,34 c	0,32 c	0,38 b-c	0,43 b	

** Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

4.4. Ksilem Bölgesinin Genişliği

Gövdeden alınan ksilem bölgesi genişliği ölçümü bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi, bitki büyüme düzenleyicisi ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonuna ait ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği ölçüm verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	79122,713	19780,67825	18,6179**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	19924,089	3984,8178	3,7506**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	76742,495	3837,12475	3,6116**
Hata	60	63747,35	1062,4558	
Genel	89	239536,64		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Kültür süresi ortalama değerleri bakımından ksilem bölgesi genişliği ortalama değerleri istatistiki olarak 3 ayrı grupta toplanmıştır. En yüksek ksilem bölgesi genişliği, 7 günlük kültür süresinde (226,23 μm) bulunurken, en düşük olarak 35 günlük kültür süresinde (135,28 μm) bulunmuştur. Kültür süresi uzadıkça, ksilem bölgesi kademeli olarak daralma göstermiş ve ortalama değerler farklı 3 grupta yer almışlardır (Çizelge 4.12.).

Bitki büyüme düzenleyicisi ortalama değerleri incelendiğinde; en yüksek değer 1 mg/L BAP uygulamasından elde edilmiş (196,99 μm), onu sırasıyla 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA ve 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA uygulamaları izlemiştir ve aralarındaki fark istatistiki olarak farklı bulunmamış ve aynı grupta yer almışlardır. En düşük ksilem bölgesi genişliği (158,55 μm) kontrol grubundan elde edilmiş ve onu (159,75 μm) 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA uygulaması izlemiştir (Çizelge 4.12.).

Çizelge 4.12. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği ölçümleri (µm)

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
<u>Kültür Süresi (gün)</u>	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	146,09 c-g**	207,54 a-e	251,81 ab	225,75 a-e	244,23 a-c	281,99 a	226,23 a*
14	167,42 b-g	235,79 a-d	173,42 b-g	204,17 a-f	154,77 b-g	179,16 a-f	185,78 b
21	160,23 b-g	175,19 b-g	221,29 a-e	198,93 a-f	163,25 b-g	135,61 d-g	175,75 b
28	150,67 b-g	182,44 a-f	153,19 b-g	170,47 b-g	201,44 a-f	129,38 e-g	164,59 bc
35	168,38 b-g	184,03 a-f	125,14 e-g	158,99 b-g	102,52 f-g	72,64 g	135,28 c
Ortalama değer	158,55 b‡	196,99 a	184,97 ab	191,66 ab	173,24 ab	159,75 b	

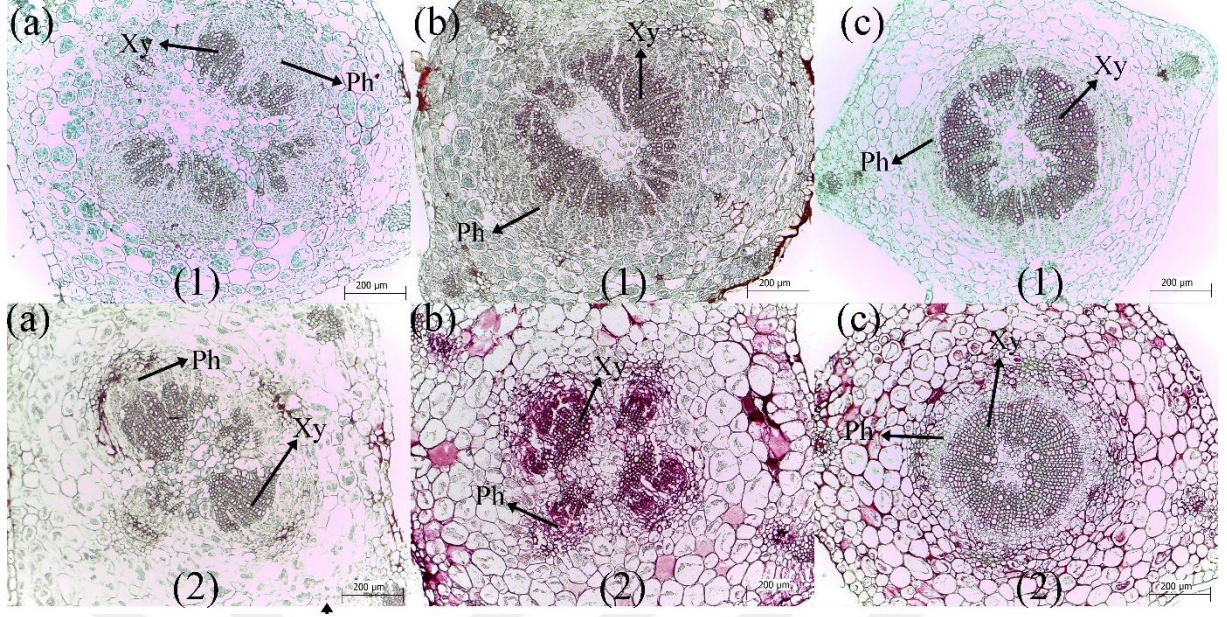
** Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

İkili interaksiyon değerlerine göre ksilem bölgesi genişliği ölçüm verileri istatistiki olarak 7 ayrı grupta toplanmıştır. En yüksek ksilem bölgesi genişliği, 7 günlük kültür süresinde 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA uygulamasında (281,99 µm) gözlemlenirken, en düşük ksilem bölgesi genişliği yine aynı bitki büyüme düzenleyicisi uygulamasının 35 günlük kültür süresinde (72,64 µm) gözlemlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, ksilem bölgesinin artan kültür günü sürelerine karşı hassas bir gelişim izlediğini göstermiştir (Çizelge 4.12.).

BAP uygulaması genel olarak ksilem bölgesi formasyonunda olumlu bir etki göstermekle birlikte uzun kültür süreleri ve artan NAA konsantrasyonu negatif etkide bulunmuştur (Çizelge 4.12; Resim 4.4.).



Resim 4.4. 7 ve 21 günlük kültür sürelerinde kontrol ve 1 mg/L BAP uygulanan *L. culinaris* Çiftçi çeşidine ait floem ve ksilem dokuları; (a) 7 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (b) 21 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması, (c) 35 günlük bitki büyüme düzenleyicisi uygulaması. (1) Kontrol grubu (MS ortamı), (2) 1 mg/L BAP Ph; Floem bölgesi, Xy; Ksilem bölgesi

Alınan bu sonuçlar Yuan ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmayla zıtlık göstermiştir. Araştırmacılar *Populus simonii* × *Pinus nigra* türünde IAA uygulamasında en yüksek değerde ksilem genişliğini gözlemlemişlerdir [51]. Sitokinin ve oksinlerin vasküler dokular üzerindeki etkilerine dair göreceli olarak çok az çalışma vardır. Monder ve ark. (2019) tarafından *Rosa beggeriana* cinsinde yapılan çalışmada araştırmacılar, kontrol gruplarında daha yüksek değerde ksilem bölgesi genişliğini belirtirken, NAA uygulanan gövde örneklerinde ksilem bölgesi genişliğini daha düşük olarak belirtmişlerdir. [49].

4.4.1. Yüzde ksilem oranı

Gövdeden alınan yüzde ksilem oranı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi ve bitki büyüme düzenleyicisi uygulamalarına ait ortalama değerler arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) olduğu, kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksiyon etkisinin istatistiki olarak önemli olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	291,6641	72,916025	4,6071**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	1518,8330	303,7666	19,1932**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	550,2731	27,513655	1,7384
Hata	60	949,6070	15,82678	
Genel	89	3310,3772		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Ksilem bölgesi genişliği ölçümlerinin, tüm vasküler doku genişliği ölçümleri oranından elde edilen yüzde ksilem oranı kültür günü süreleri bakımından değerlendirildiğinde; En yüksek yüzde ksilem oranı (% 74,3) 35 günlük kültür süresinden elde edilirken (Çizelge 4.14.), en düşük yüzde floem oranı yine 35 günlük kültür günü süresinde bulunmuştur (Çizelge 4.8).

Bitki büyüme düzenleyicisi uygulamalarında ise en yüksek yüzde ksilem oranı (% 75,9) 1 mg/L BAP uygulamasında görülmüştür. Floem bölgesinin en geniş olarak kontrol grubunda bulunması ve ksilem bölgesinin de en düşük olarak yine kontrol grubunda bulunmasının bir sonucu olarak yüzde ksilem oranı en düşük (% 64,2) ortalama değer bazında kontrol grubunda bulunmuştur (Çizelge 4.14.).

İkili interaksiyon değerleri incelendiğinde; en yüksek yüzde ksilem oranı 35 günlük kültür süresindeki 1 mg/L BAP uygulamasından (%81,1) elde edilmiştir. En düşük yüzde ksilem oranı (% 59,4) ise 7 günlük kültür süresindeki kontrol uygulamasında bulunmuştur (Çizelge 4.14.).

Elde edilen bu veriler, ksilem bölgesi formasyonunun floem bölgesine nazaran oksin ve sitokininin artan kültür sürelerinde daha iyi bir gelişme gösterdiğini ortaya çıkarmaktadır.

Çizelge 4.14. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde yüzde ksilem bölgesi genişliği oranları (%)

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
Kültür Süresi (gün)	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	59,4	74,8	72,1	72,6	72,9	73,2	70,8 ab*
14	61,3	71,8	71,3	76,1	67,1	67,6	69,2 b
21	60,5	76,0	76,4	77,4	77,8	70,1	73,0 a
28	70,9	75,9	74,5	75,4	70,6	69,1	72,7 ab
35	68,8	81,1	77,8	77,0	72,6	68,6	74,3 a
Ortalama değer	64,2 c‡	75,9 a	74,4 a	75,7 a	72,2 ab	69,7 b	

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

4.4.2. Ksilem/floem bölgesi genişliği oranı

Gövdeden alınan ksilem/floem bölgesi genişliği oranı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi ve bitki büyüme düzenleyicisi uygulamalarına ait ortalama değerler arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) olduğu, kültür süresi \times bitki büyüme düzenleyicisi interaksiyon etkisinin ise istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde ksilem/floem bölgesi genişliği oranı verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	5,692088	1,423022	5,7397**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	21,799452	4,3598904	17,5854**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	8,583575	0,42917875	1,7311
Hata	60	14,875623	0,24792705	
Genel	89	50,950738		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Kültür süresi ortalama değerleri farklı 3 ayrı grupta toplanmış olup en yüksek ksilem/floem bölgesi genişliği oranı (3,09) 35 günlük kültür süresinde bulunmuştur. Bunun nedeni artan kültür günü sürelerinde floem bölgesi, bitki büyüme düzenleyicileri karşısında daha hassas bir gelişim göstermesidir (Çizelge 4.6.) fakat ksilem bölgesi o kadar fazla etkilenmemiştir (Çizelge 4.12.).

Bitki büyüme düzenleyicisi uygulamasında ise ksilem/floem bölgesi genişliği oranı 1 mg/L BAP uygulamasında ortalama değer bazında diğer gruplara göre en yüksek (3,24) bulunurken, kontrol uygulamasından en düşük ksilem/floem bölgesi genişliği oranı (1,89) elde edilmiştir (Çizelge 4.6.).

İkili interaksiyon değerleri incelendiğinde; en yüksek yüzde ksilem/floem bölgesi genişliği oranı 35 günlük kültür süresindeki 1 mg/L BAP uygulamasından (4,31) elde edilmiştir. En düşük ksilem/floem bölgesi genişliği oranı (1,48) ise 7 günlük kültür süresindeki kontrol uygulamasında bulunmuştur (Çizelge 4.16.).

Çizelge 4.16. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde ksilem/floem bölgelerinin genişliği oranları

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
Kültür Süresi (gün)	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	1,48	2,98	2,69	2,84	2,78	2,81	2,59 bc*
14	1,58	2,60	2,53	3,19	2,08	2,10	2,34 c
21	1,56	3,19	3,28	3,44	3,51	2,38	2,89 ab
28	2,45	3,16	3,02	3,14	2,52	2,26	2,75 a-c
35	2,38	4,31	3,51	3,44	2,74	2,21	3,09 a
Ortalama değer	1,89 c*	3,24 a	3,06 a	3,21 a	2,72 ab	2,35 bc	

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

Ksilem/floem bölgesi genişliği oranlarından alınan sonuçlar; Yuan ve ark. (2019) tarafından *Populus simonii* × *Pinus nigra* türünde yapılan çalışmada belirtilen, oksin uygulamasının ksilem/floem bölgesi genişliği oranını kontrollere nazaran artırdığı bilgisiyle örtüşmemektedir [51].

4.5. Gövde Yarıçapı Ölçümleri

Gövde yarıçapı ölçümleri bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi, bitki büyüme düzenleyicisi ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksiyonuna ait ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde gövde yarıçapı ölçüm verilerinin istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	846253,7	211563,425	122,6029**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	187547,4	37509,48	21,7371**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	2216861,5	110843,075	64,2345**
Hata	60	103536	1725,6	
Genel	89	3354198,5		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Kültür sürelerindeki ortalama ölçüm verileri istatistiki olarak 4 farklı grupta toplanmıştır. 7 günlük kültür süresi ilk grupta yer alarak diğerlerinden ayrılmış ve ortalama değer bazında en geniş (915,20 µm) gövde yarıçapı bulunmuştur. Gövde yarıçapı 14, 21, 28 ve 35 günlük kültür sürelerinde düşüşe geçmiştir. En düşük gövde yarıçapı 627,10 µm olarak 35 günlük kültür süresinde bulunmuştur (Çizelge 4.18.).

Bitki büyüme düzenleyicisi uygulamalarında ise ortalama değer bazında en yüksek gövde yarıçapı 1 mg/L BAP uygulamasından (785,89 µm) elde edilmiş ve onu sırası ile 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA ve 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA uygulamaları izlemiş ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Diğer uygulamalar arasındaki istatistiksel farklar önemli bulunmuş ve farklı gruplarda yer almışlardır (Çizelge 4.18.).

İkili interaksiyon değerleri incelendiğinde; en yüksek gövde yarıçapı (1265,02 µm) 7 günlük kültür süresinde 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA uygulamasında bulunurken, en düşük gövde yarıçapı (441,99 µm) ise aynı bitki büyüme düzenleyicisi uygulamasının 35 günlük kültür süresinde tespit edilmiştir. Uzayan kültür gün süreleri gövdenin yatay genişlemesine negatif etki göstermiş ve gövde dokuları üzerinde daralmaya sebep olmuştur. (Çizelge 4.18., Resim 4.3.e).

Gövde yarıçapı ölçümlerinden elde edilen sonuçlar, bitki büyüme düzenleyicisi ve gün uygulamalarında floem ve ksilem ölçümleriyle paralellik göstermiştir (Çizelge 4.6, Çizelge 4.12, Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde gövde yarıçapı ölçümleri (μm)

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
Kültür Süresi (gün)	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	709,74 f-h**	678,48 f-i	955,31 c	984,49 c	898,19 cd	1265,02 a	915,20 a*
14	802,48 d-f	1122,08 b	782,92 d-f	552,92 i-l	467,38 k-l	781,61 d-f	751,56 b
21	696,80 f-h	746,26 e-g	810,90 d-f	754,21 e-f	579,90 h-k	532,53 j-l	686,76 c
28	530,16 j-l	685,44 f-i	578,14 h-k	877,02 c-e	1004,50 bc	616,70 g-j	715,32 bc
35	604,10 h-j	697,21 f-h	752,77 e-f	743,48 f-g	523,09 j-l	441,99 l	627,10 d
Ortalama değer	668,65 c*	785,89 a	776,08 a	782,42 a	694,61 bc	727,57 b	

**Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

Ayrıca alınan sonuçlarda gövde hücrelerindeki genişleme BAP uygulamasında kontrol uygulamasına göre daha iyi sonuçlar elde edilmiştir. Bu sonuçlar Matsumoto-Kitano ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarıyla zıtlık göstermektedir. Araştırmacılar *Arabidopsis thaliana* bitkisinde sitokininlerin gövde çapını daralttığını belirtmişlerdir [62].

4.5.1. Floem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı

Gövdeden alınan floem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde; kültür süresi, bitki büyüme düzenleyicisi ve kültür süresi \times bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonuna ait ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranlarının istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	0,01657602	0,004144005	16,4958**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	0,02979063	0,005958126	23,7172**
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	0,01593130	0,000796565	3,1708**
Hata	60	0,01507290	0,000251215	
Genel	89	0,07737086		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Günlük kültür süreleri bakımından ise ortalama değerler 0,114-0,074 arasında değişmiştir. En yüksek floem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı 14 günlük kültür süresinde (0,114), en düşük olarak ise 35 günlük kültür süresinde (0,074) tespit edilmiştir. İstatistiki olarak 7 ve 14 günlük kültür sürelerinin ortalama değerleri aynı grupta yer alırken diğer kültürde bekletme süreleri (21, 28 ve 35) daha alt grupta yer almışlardır (Çizelge 4.20.).

Uygulanan bitki gelişme düzenleyicileri bakımından; floem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı ortalama değerleri 0,132 ile 0,080 arasında değişim göstermiş en yüksek 0,132 ile kontrol uygulamasından, en düşük 0,080 olarak 1 mg/L BAP uygulamasından elde edilmiştir. İstatistiki olarak ortalama değerler üç ayrı grupta toplanmıştır. Kontrol grubu ilk grupta yer alarak diğerlerinden ayrılmıştır (Çizelge 4.20.).

Çizelge 4.20. Farklı sitokin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde floem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranları

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
Kültüre Süresi (gün)	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	0,142 a-c**	0,103 b-g	0,099 b-g	0,088 d-h	0,098 b-g	0,082 d-h	0,102 ab*
14	0,131 a-d	0,081 d-h	0,089 d-h	0,115 a-f	0,158 a	0,110 a-g	0,114 a
21	0,146 ab	0,074 e-h	0,083 d-h	0,077 e-h	0,080 e-h	0,105 b-g	0,094 b
28	0,116 a-f	0,083 d-h	0,087 d-h	0,062 g-h	0,080 e-h	0,094 c-h	0,087 bc
35	0,124 a-e	0,061 g-h	0,047 h	0,063 g-h	0,073 f-h	0,076 e-h	0,074 c
Ortalama değer	0,132 a*	0,080 c	0,081 bc	0,081 bc	0,098 b	0,093 bc	

** Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

İkili interaksiyona göre floem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranları ise istatistiki olarak 8 grupta yer almış olup, en yüksek 0,158 olarak 14 günlük kültür süresinde, 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA konsantrasyonunun uygulandığı uygulamadan elde edilmiştir. En düşük ise 0,047 ile 35 gün kültür süresi ve 1 mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiştir.

Çizelge 4.20'ye göre, bitki büyüme düzenleyicisinde bekleme süresi uzadıkça floem bölgesi genişliği/gövde çapı oranlarında azalma olmakta yani floem bölgesinin gövdedeki oranı azalmaktadır. Uygulanan bitki büyüme düzenleyici konsantrasyonlarından elde edilen ortalama değerler arasında fark görülmemiş fakat kontrol ile aralarında fark görülmüş ve farklı grupta yer almışlardır. Bu durum floem bölgesinin, sitokin ve oksin uygulamalarından ciddi bir şekilde etkilendiğini net şekilde göstermektedir. Bu durumda bitki gelişme düzenleyicisi uygulaması neticesinde floem oranının azalması bitkide besin taşınmasını azaltmakta ve dolayısıyla gelişmeyi geriletmektedir. İlerleyen sürelerde bu tarz ortamda bekletme devam ederse dokularda ölüm olmaktadır. Bu sonuçlar kültür ortamında eksplantların 14 ve 21 kültür günü süresinden fazla bekletilmemesi gerektiğini ortaya net

bir şekilde koymuştur. Ancak 14 ve 21 günlük kültür süresinden sonra bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen ya da farklı bir gruptan bitki büyüme düzenleyicisi içeren ortama alınarak, bitkilerde bir düzelmeye olup olmayacağı da yapılacak yeni çalışmalarla ortaya konulmalıdır (Çizelge 4.20.).

4.5.2. Ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı

Gövdeden alınan ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde, kültür süresi ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonuna ait ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$), bitki büyüme düzenleyicisi etkisinin ise istatistiksel olarak önemli olmadığı ($p > 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranlarının istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	0,02601748	0,00650437	3,3832**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	0,01745781	0,003491562	1,8161
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	0,14228934	0,007114467	3,7005**
Hata	60	0,11535319	0,00192255	
Genel	89	0,30111781		

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Kültür süreleri bazında en yüksek ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı (0,261) 14 günlük kültür süresinde bulunurken, en düşük ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı 35 günlük kültür süresinde (0,214) bulunmuştur (Çizelge 4.22.). Bitki büyüme düzenleyicilerinde artan kültür günü sürelerinde gövde yarıçapındaki daralma net bir şekilde değerlendirilirken (Çizelge 4.18.), ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı ortalama değerleri arasındaki değişim iki farklı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.22.). Uygulanan bitki gelişme düzenleyicileri bakımından elde edilen ortalama değerler arasındaki farklar önemli bulunmamıştır.

İkili interaksiyona göre veriler istatistiki olarak 3 farklı grupta toplanmıştır. En yüksek ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı 14 günlük kültür süresinde 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA uygulamasında (0,371) görülmüş ve istatistiki olarak ilk grupta yer almıştır. En düşük ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı 35 günlük kültür süresinde, 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA uygulamasında (0,166) bulunmuştur (Çizelge 4.22.).

Çizelge 4.22. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranları

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
<u>Kültür Süresi (gün)</u>	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	0,206 bc**	0,306 a-c	0,266 a-c	0,229 bc	0,272 a-c	0,223 bc	0,250 ab*
14	0,208 bc	0,209 bc	0,221 bc	0,371 a	0,330 ab	0,230 bc	0,261 a
21	0,228 bc	0,234 a-c	0,272 a-c	0,264 a-c	0,281 a-c	0,254 a-c	0,256 a
28	0,284 a-c	0,265 a-c	0,265 a-c	0,194 bc	0,201 bc	0,210 bc	0,237 ab
35	0,278 a-c	0,263 a-c	0,166 c	0,213 bc	0,196 bc	0,166 c	0,214 b
Ortalama değer	0,241	0,255	0,238	0,254	0,256	0,217	

** Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

4.5.3. Floem + ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı

Gövdeden alınan floem + ksilem bölgesinin genişliği/gövde yarıçapı oranı bakımından varyans analiz çizelgesi incelendiğinde, kültür süresi ve kültür süresi × bitki büyüme düzenleyicisi interaksyonu ortalama değerleri arasındaki farklar istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli ($p < 0,01$), bitki büyüme düzenleyicisi etkisi de %5 ($p < 0,05$) düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.23. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde floem bölgesi + ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranlarının istatistik analizine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı (VK)	Serbestlik Derecesi (SD)	Kareler Toplamı (KT)	Kareler Ortalaması (KO)	F Değeri
Kültür Süresi	4	0,08079989	0,0201999725	7,4967**
Bitki Büyüme Düzenleyicisi	5	0,03938946	0,007877892	2,9237*
Kültür Süresi × Bitki Büyüme Düzenleyicisi	20	0,21776139	0,0108880695	4,0408**
Hata	60	0,16167138	0,002694523	
Genel	89	0,49962213		

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

Kültür süresi ortalama değerleri arasındaki farklar istatistiki olarak 3 ayrı grupta toplanmıştır. En yüksek ortalama floem + ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı değeri 14 günlük kültür süresinde (0,376) elde edilmiş, onu 7 gün ve 21 günlük süreler izlemiş (sırası ile 0,353 ve 0,350) ve istatistiksel olarak aynı grupta yer almışlardır (Çizelge 4.24.).

Bitki büyüme düzenleyici uygulamaları bakımından ortalama floem + ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranı değerleri en yüksek olarak (0,373) kontrol uygulamasında elde edilmiştir. Ancak kontrol grubu en düşük değer olan 1 mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA uygulaması (0,310) ile farklı bir grupta yer alırken, diğer uygulamalar ile aynı grupta yer almıştır (Çizelge 4.24.).

İkili interaksiyonda değerleri ise istatistiki olarak 4 ayrı grupta toplanmıştır. En yüksek değerler 14 günlük 1 mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA ve 1 mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA uygulamalarından (sırası ile 0,489 ve 0,486) elde edilirken bu iki değer istatistiki olarak aynı grupta yer almışlardır. Diğer ortalama değerlerden 16 tanesi ile aynı grupta yer almışlar ve aralarında istatistiksel anlamda bir fark gözlenmemiştir. Ancak artan gün ve bitki büyüme düzenleyici konsantrasyonları ile birlikte floem + ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranında azalmanın olduğu görülmektedir (Çizelge 4.24.).

Çizelge 4.24. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarına ve kültürde tutma süresi uygulamalarına maruz bırakılan *L. culinaris* Çiftçi çeşidinden floem bölgesi + ksilem bölgesi genişliği/gövde yarıçapı oranları

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
<u>Kültür Süresi (gün)</u>	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	0,349 a-d**	0,409 ab	0,365 a-d	0,317 b-d	0,370 a-d	0,306 b-d	0,353 ab*
14	0,339 a-d	0,290 b-d	0,311 b-d	0,486 a	0,489 a	0,340 a-d	0,376 a
21	0,375 a-d	0,308 b-d	0,355 a-d	0,341 a-d	0,361 a-d	0,360 a-d	0,350 ab
28	0,401 a-c	0,348 a-d	0,353 a-d	0,257 b-d	0,281 b-d	0,304 b-d	0,324 bc
35	0,403 a-c	0,325 a-d	0, 213 d	0,276 b-d	0,270 b-d	0,242 cd	0,288 c
Ortalama değer	0,373 a*	0,336 ab	0,320 ab	0,335 ab	0,354 ab	0,310 b	

** Aynı blokta farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

* Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur

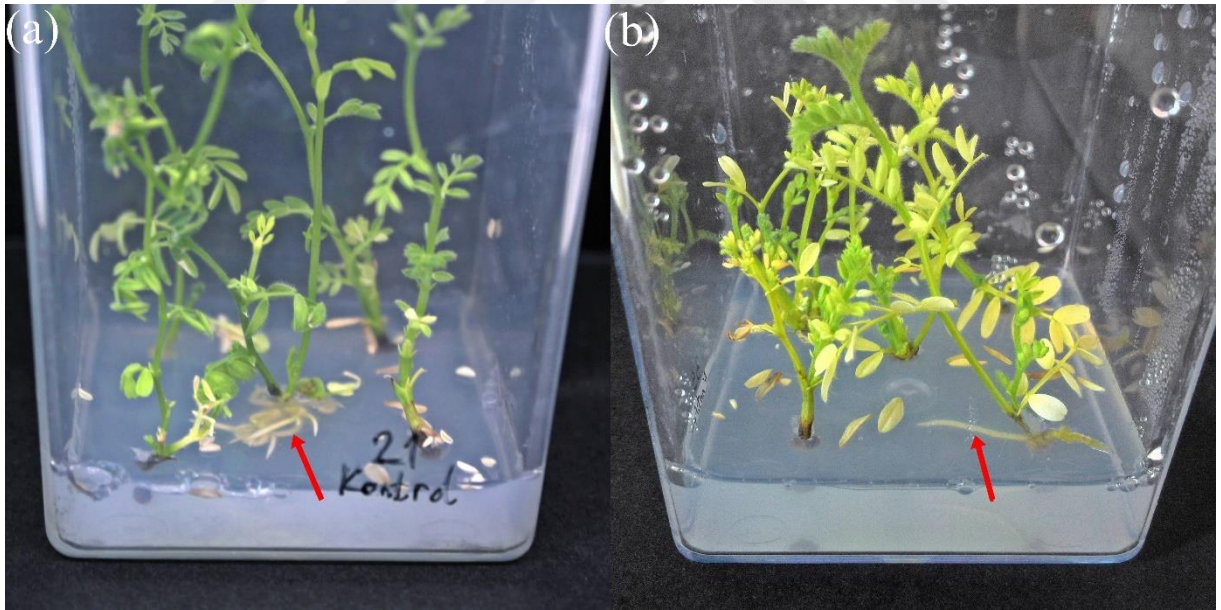
‡ Aynı satırda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasında Tukey testine göre 0,05 düzeyinde farklılık bulunmuştur

4.6. Köklenme

Farklı sürelerde BAP ve NAA içeren ortamlarda kaldıktan sonra MS ortamında 35 günlük kültür sürelerini tamamlayan bitki sürgünleri, daha sonra köklendirmek amacıyla 0,5 mg/l IBA içeren MS ortamına alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre farklı sürelerdeki BAP ile birlikte NAA uygulamaları sürgünlerin köklenmesi üzerinde negatif yönde etki göstermiştir. Yalnızca bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS (kontrol) ortamlarında 21, 28 ve 35 günlük kültür sürelerindeki sürgünler üzerinde düşük miktarda köklenme izlenmiştir. Resim 4.5.'de görüldüğü üzere elde edilen kökler kalın ve kırılkan olmuştur. 7 ve 14 günlük MS ortamda bekletilen sürgünlerde vejetatif olgunlaşma görülmemiş olup, herhangi bir kök oluşumu izlenmemiştir. BAP veya BAP + NAA içeren MS ortamlarında farklı süre bekletilip, 35 günlük kültür süresini tamamlamak amacıyla MS ortamına alınan sürgünlerde de herhangi bir kök oluşumu gözlemlenmemiştir (Çizelge 4.25.).

Çizelge 4.25. Farklı sitokinin ve oksin konsantrasyonlarının ve kültürde tutma sürelerinin *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde 0,5 mg/l IBA içeren ortamda köklenmeye olan etkisi (%)

Bitki Büyüme Düzenleyicisi Uygulamaları							
Kültür Süresi (gün)	Kontrol (MS ortamı)	1 mg/L BAP	1mg/L BAP + 0,3 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,6 mg/L NAA	1mg/L BAP + 0,9 mg/L NAA	1mg/L BAP + 1,2 mg/L NAA	Ortalama değer
7	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0
21	33,3	0	0	0	0	0	33,3
28	26,6	0	0	0	0	0	26,6
35	20,0	0	0	0	0	0	20,0
Ortalama değer	26,63	0	0	0	0	0	



Resim 4.5. Kontrol uygulamasına ait 0,5 mg/l IBA içeren ortamda, 21 ve 35 günlük kültür sürelerinde köklenen *L. culinaris* Çiftçi çeşidinde ait sürgünler; (a) 21 günlük kültür süresi, (b) 35 günlük kültür süresi

Yapılan mikroskopik incelemelerde, uygulanan BAP ve BAP + NAA konsantrasyonlarının etkisi ile kök bölgesindeki ksilem, floem ve diğer dokularda değişen oranda deformasyona

neden olduğu ve köklenmeyi engellediği gözlemlenmiştir (Çizelge 4.8., Çizelge 4.12., Çizelge 4.25). Benzer şekilde Polanco ve ark. (1988) ve Polanco ve Ruiz (1997) yaptıkları çalışmalarında, BAP içeren ortamlarda rejenerasyon sağlanmış mercimek (*L. culinaris*) sürgünlerinde BAP'ın köklenmeyi engelleyici etkisini belirtmişlerdir ve bu çalışmadan alınan sonuçları doğrular niteliktedir. Grant ve Fuller (1970) ve Scott ve Norris (1970) yaptıkları çalışmalarında, baklagil bitkilerinde perisikl hücrelerinin farklılaşmasından meydana gelen adventif köklerin ksilem ve floem dokularına yakın bir konumda bulduklarını ve bu dokulardan stimüle edildiklerini bildirmişlerdir. Köklenme olayının ise oksinlerin bu dokuları uyarması ile gerçekleştiğini belirtmişlerdir [63, 64]. Ayrıca floem gelişme ve doku onarımında rol alan kambiyum dokularına yatay olarak taşınım görevini gerçekleştirmektedir. Özellikle sitokinin etkisinde hücrelerdeki zarar, ksilem dokularına nazaran daha fazla floem bölgesinde görülmüştür. (Çizelge 4.10.) [65]. Ksilem ve floem dokularını içeren vasküler dokularda meydana gelen herhangi bir bozulma perisikl hücrelerini etkilemekte dolayısıyla köklenmeyi engellemektedir [66]. Bu tez çalışması, bu kapsamda yapılan ilk çalışma olup, daha ayrıntılı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır [67-69].

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; sitokin ve oksinlerin uzayan kültür günü sürelerinde ve artan konsantrasyonlarda uygulanmasıyla floem ve ksilem dokularında daralma ve şekil bozukluğuna yol açtığı gözlemlenmiştir. Bitkiye besin ve su taşınımını sağlayan bu vasküler dokularda meydana gelebilecek olan hasarın; sürgün boyuna, eksplant başına düşen sürgün sayısına ve köklenmeye olumsuz etki yaptığı gözlemlenmiştir.

Kültür süreleri bakımından, 7 ve 14 günlük kültür sürelerinde beklenen eksplantların gelişimlerinin genel olarak sağlıklı olduğu, 21. günden itibaren bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonlarında bitki gelişiminde zayıflama ve dokularda ölüm gerçekleştiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda BAP ile birlikte, artan NAA konsantrasyonlarının da bitki gelişimlerini olumsuz yönde etkilediği ve kullanılacak konsantrasyonlarda hassasiyet gösterilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Köklere, dallara, ana damarlara, kambiyuma, petiollere ve gövdeye çift yönlü taşıma yapan floem bölgesinin sitokin uyarımına, ksilem bölgesine göre daha hassas olduğu saptanmıştır. Artan sitokin uygulaması ve kültür süreleri, sağlıklı bitki gelişimi ve köklenme üzerinde etkili olan floem bölgesi gelişimini olumsuz etkilemiştir. Bu olumsuz etki *L. culinaris* "Çiftçi" mercimek çeşidinin vasküler dokuları üzerinde deformasyon meydana getirmiştir. Vasküler dokulardaki bu bozulma, perisikl üzerinde olumsuz etkiye neden olmuş dolayısıyla köklenmeyi de olumsuz olarak etkilemiştir.

Ksilem bölgesinin ise daha çok sitokinlerin uyarımına olumlu tepki verdiği, ancak artan oksin konsantrasyonları ile birlikte kültür süresinin uzamasının ksilem bölgesinin gelişimini olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir. Sitokinlerin genel olarak taşınımının köklerden toprak üstü organlara doğru ksilem aracılığı ile olduğu değerlendirildiğinde, ksilemdeki belirtilen daralmanın olumsuz etkisi nedeniyle elde edilen bitkilerin yeşil aksamlarındaki gelişimin de olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiştir.

Bitki gelişimi ve iletim demetleri üzerinde kültür süresi ve bitki büyüme düzenleyicileri etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada, arzu edilen sağlıklı bitki gelişimi ve rejenerasyonu

için kültür süresi ve bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonlarının optimize edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Gelecekte yapılacak olan araştırmalarda; artan kültür sürelerinde ve bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonlarının bitkilerde meydana gelebilecek bu olumsuz etkilerin eşik değerlerinin belirlenmesi ve bu eşik değerlerin aşılmamasına dikkat edilmesi gerekmektedir. Aynı zamanda, bu eşik değer öncesi bitkilerde meydana gelen zararların nasıl giderileceği ve olumsuz etkilerinin hangi uygulamalarla tersine çevrileceğinin yapılacak yeni çalışmalarla belirlenmesi doku kültürü çalışmalarını ve mercimek bitkisinin in vitro kültürü için büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışması; sitokinin ve oksinlerin uygulama sürelerinin bitki gelişimi, iletim demetleri ve köklenme üzerindeki etkilerini araştıran ilk çalışma olma özelliği ile öne çıkmaktadır. Gelecekte yapılacak olan doku kültürü ve köklendirme ile biyoteknolojik çalışmalara emek ve zaman yönünden katkı sağlayacağı ve karşılaşılan sorunlara çözüm noktasında ışık tutacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1]. Erskine, W., Sarker, A., Kumar, S., 2011, "Crops that feed the world 3. Investing in lentil improvement toward a food secure world", *Food Security*, 3 (2): 127-139.
- [2]. Kumar, S., Barpete, S., Kumar, J., Gupta, P., Sarker, A., 2013, "Global Lentil Production: Constraints and Strategies", *SATSA Mukhapatra -Annual Technical Issue*, 17: 1-13.
- [3]. Helbeck, H., 1963, "Late Cypriote vegetable diet in Apliki", *Act. Instit. Athen. Reg. Sueciae. Ser.*, 4: VIII: 171-186.
- [4]. Muehlbauer, F. J., Cubero, J. I., Summerfield, R. J., 1985, "Lentil (*Lens culinaris* Medik.)" In: *R J Summerfield and E.I.I. Roberts (eds) Grain Legume Crops. Collins*, 8 Grafton Street, London, UK., 266-311.
- [5]. Van Zeist, W., Bottema, S., 1971, "Plant husbandry in early neolithic Nea Nikomedeia, Greece", *Acta Bot Neerl.* 20: 521-538.
- [6]. Zohary, D., 1972, "The wild progenitor and place of origin of the cultivated lentil *Lens culinaris*". *Econ Bot.*, 26: 326-332.
- [7]. Hansen, J., Renfrew, J. M., 1978, "Paleolithic-Neolithic seed remains at Franchthi cave, Greece", *Nature*, 71: 349-352.
- [8]. Ladizinsky, G., 1979, "The Origin of lentil and its wild genepool". *Euphytica*, 28: 179-187.
- [9]. Cubero, J. I., 1981, "Origin, taxonomy and domestication", *Lentils. In: C. Webb and G. Hawtin (eds)*, CAB, London, UK., 15-38.
- [10]. Nene, Y. L., 2006, "Indian Pulses through the Millennia", *Asian Agri. History*, 10: 179-202.
- [11]. Duke, J. A., 1981, "Handbook of legumes of world economic importance", *Plenum Press*, NewYork, 52-57.
- [12]. Bahl, P. N., Lal, S., And Sharma, B. M., 1993, "An overview of the production and problems in southeast Asia", *W Erskine and M C Saxena (eds.) Lentil in South Asia. Proceedings of the seminar on lentils in South Asia.* ICARDA, Aleppo, Syria, 1-10.
- [13]. Nezamudhin, S., 1970, "Miscellaneous, Masour. In: Pulse Crops of India (ed. P Kachroo)", *Indian Council of Agricul. Res., Krishi Bhawan*, New Delhi, India, pp. 306-313.
- [14]. Muehlbauer, F. J., Kaiser, W. J., Clement, S. L., Summerfield, R. J., 1995, "Production and breeding of lentil", *Advances in Agronomy*, 54: 283-332.
- [15]. Sepetoğlu, H., 1996, "Yemeklik Tane Baklagiller", *Ege Üniversitesi Ofset Basımevi*, İzmir.

- [16]. Sharma, S. N., Prasad, R., 1984, "Effect of soil moisture regimes on the yield and water use of lentil (*Lens culinaris* Medik.)", *Irrigation Science*, 5: 285-293.
- [17]. McKenzie, B. A., 1987, "The growth, development and water use of lentils (*Lens culinaris* Medik.)", Ph.D. Thesis, *Lincoln University*, Canterbury, New Zealand.
- [18]. McKenzie, B. A., Hill, G. D., 2004, "Water use in grain legumes", *Proceedings of the 5th European Conference on Grain Legumes/ 2nd International Conference on Legume Genomics and Genetics, AEP, l'Association Européenne de Recherche sur les Protéagineuses*, Paris, France, 61-62.
- [19]. Erskine, W., 1996, "Seed size effects on lentil (*Lens culinaris*) yield potential and adaptation to temperature and rainfall in West Asia", *Journal of Agricultural Science*, Cambridge, 126: 335-341.
- [20]. Kusmenoglu, I., Muehlbauer, F. J., 1998, "Genetic variation for biomass and residue production in lentil (*Lens culinaris* Medik.) II. Factors determining seed and straw yield", *Crop Science*, 38: 911-915.
- [21]. Sarker, A., Aydin, N., Aydogan, A., Sabaghpour, S. H., Ketata, H., Kusmenoglu, I., Erskine, W., 2002, "Winter lentils promise improved nutrition and income in West Asian Highlands", *ICARDA Caravan*, 16: 14-16.
- [22]. Muehlbauer, F. J., Cho, S., Sarker, A., McPhee, K. E., Coyne, C. J., Rajesh, P. N., Ford, R., 2006, "Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress", *Euphytica* 147: 149-165.
- [23]. Nath, M.C., Nath, N., 1965, "Effect of methionine, Vitamin B12 and Hydrolyse Glucose Cyclo Acetoacetate on protein nutritive value of *Lens esculenta* (Lentil)", *Ind. Med. Res.*, 37 (53): 101-1013.
- [24]. Orr, M. L., Watt, B. K., 1957, "Aminoacid Content of foods", *Home Economics Res. Rpt.*, 4 (1): 1-81.
- [25]. Mital, S.H., Maathews, J.A., McKee, R.A., 1975, "Principles of Plant Biotechnology", *Blackwell Scientific Pub.*, Boston, 130-175.
- [26]. Solh, M., Erskine, W., 1984, "Genetic Resources of Lentils, Genetic Resources and Their Exploitation Chickpeas, Faba Beans and Lentils", Ed. John R. Witcombe, William Erskine. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, *The Hague, The Netherlands*, 205-221.
- [27]. Bhatta, R.S., Slinkard, A.E., Sosulski, F.W., 1976, "Chemical composition and protein characteristics of lentils", *Lent.*, 4 (28): 32-35.
- [28]. Babaoğlu, M., Gürel E., Özcan, S., 2001, "Bitki Biyoteknolojisi Doku Kültürü ve Uygulamaları", *Ankara, Türkiye*, 340-357.
- [29]. Khanam, R., Sarker, R. H., Hoque, M. I., Haque, M. M., 1995, "In vitro root morphogenesis in lentil (*Lens culinaris* Medik.)", *Plant Tissue Culture*, 5 : 35-41.
- [30]. Polanco, M. C., Ruiz, M. L., 1997, "Effect of benzylaminopurine on in vitro and in vivo root development in lentil", *Plant Cell Reports*, 44 (17): 22-26.

- [31]. Khawar, K. M., Ozcan, S., 2002, "Effect of indole-3-butyric acid on *in vitro* root development in lentil (*Lens culinaris* Medik.)", *Turkish Journal of Botany* 26 (2): 109-111.
- [32]. Sarker, R. H., Mustafa, B. M., Biswas, A., Mahbub, S., Nahar, M., Hashem, R., Hoque, M. I., 2003, "*In vitro* regeneration in lentil (*Lens culinaris* Medik.)", *Plant Tissue Culture*, 13: 155-163.
- [33]. Khawar, K. M., Sancak, C., Uranbey, C., Ozcan, S., 2004, "Effect of Thidiazuron on shoot regeneration from different explants of lentil (*Lens culinaris* Medik.) via organogenesis", *Turkish Journal of Botany*, 28: 421-426.
- [34]. Sevimay, C. S., Khawar, K. M., Yuzbasioglu, E., 2005, "Adventitious shoot regeneration from different explants of wild lentil (*Lens culinaris* subsp. *orientalis*)", *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 19 (2): 46-49.
- [35]. Saxena, P. K., King, J., 1987, "Morphogenesis in lentil: plant regeneration from callus cultures of *Lens culinaris* Medik. via somatic embryogenesis", *Plant Science*, 52: 223-227.
- [36]. Polanco, M. C., Pelaez, M. I., Ruiz, M. L., 1988, "Factor affecting callus and shoot formation from *in vitro* cultures of *Lens culinaris* Medik.", *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 15: 175-182.
- [37]. Chhabra, G., Chaudhary, D., Varma, M., Sainger, M., Jaiwal, P. K., 2008, "TDZ-induced direct shoot organogenesis and somatic embryogenesis on cotyledonary node explants of lentil (*Lens culinaris* Medik.)", *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 14: 347-353.
- [38]. Ozdemir, F. A., Turker, M., Khawar, K. M., 2015, "Effects of plant growth regulators on lentil (*Lens culinaris* Medik.) cultivars", *Bangladesh Journal of Botany*, 44 (1): 79-84.
- [39]. Evans, D. A., Sharp, W. R., Flick, C. E., 1981, "Growth and behavior of cell cultures: embryogenesis and organogenesis. In: Thorpe, T. A., ed. *Plant cell culture: methods and applications in agriculture*", *New York: Academic Press*: 45-113.
- [40]. Vasil, I. K., Thorpe, T. A., 1994, "*Plant Cell and Tissue Culture*", *Dordrecht: Kluwer Academic Publishers*.
- [41]. Su, Y. H., Liu, Y. B., Zhang, X. S., 2011, "Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development", *Molecular Plant*, 4 (4): 616-625.
- [42]. Milhinhos, A., Miguel, C. M., 2013, "Hormone interactions in xylem development: a matter of signals", *Plant Cell Report*, 32: 867-883.
- [43]. Aloni, R., 1995, "The Induction of Vascular Tissues by Auxin and Cytokinin", *Plant Hormones*, 485-518.
- [44]. Little, C. H. A., Pharis, R. P., 1995, "Hormonal control of radial and longitudinal growth in the tree stem", *Plant Stems: Physiology and Functional Morphology*; Gartner BL Ed.; *Academic Press: San Diego, CA, USA*, 281-319.

- [45]. Eriksson, M. E., Israelsson, M., Olsson, O., Moritz, T., 2000, "Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length", *Nature Biotechnology*, 18: 7847-7888.
- [46]. Björklund, S., Antti, H., Uddestrand, I., Moritz, T., Sundberg, B., 2007, "Cross-talk between gibberellin and auxin in development of *Populus* wood: Gibberellin stimulates polar auxin transport and has a common transcriptome with auxin", *The Plant Journal*, 52: 499-511.
- [47]. Guo, H., Wang, Y., Liu, H., Hu, P., Jia, Y., Zhang, C., Wang, Y., Gu, S., Yang, C., Wang, C., 2015, "Exogenous GA3 Application Enhances Xylem Development and Induces the Expression of Secondary Wall Biosynthesis Related Genes in *Betula platyphylla*", *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 22960-22975.
- [48]. Johnsson, C., Jin, X., Xue, W., Dubreuil, C., Lezhneva, L., Fischer, U., 2018, "The plant hormone auxin directs timing of xylem development by inhibition of secondary cell wall deposition through repression of secondary wall NAC-domain transcription factors", *Physiologia Plantarum*, 165 (4): 673-689.
- [49]. Monder, M. J., Kozakiewicz, P., Jankowskab, A., 2019, "Anatomical structure changes in stem cuttings of rambler roses induced with plant origin preparations", *Scientia Horticulturae*, 255: 242-254.
- [50]. Savidge, R. A., 1996, "Xylogenesis, genetic and environmental regulation", *International Association of Wood Anatomists Journal*, 17 (3): 269-310.
- [51]. Yuan, H., Zhao, L., Guo, W., Yu, Y., Tao, L. Zhang, L., Song, X., Huang, W., Cheng, L., Chen, J., Guan, F., Wu, G., Li, H., 2019, "Exogenous Application of Phytohormones Promotes Growth and Regulates Expression of Wood Formation-Related Genes in *Populus simonii* × *P. Nigra*", *International Journal of Molecular Sciences*, 20 (3): 792.
- [52]. Ozdemir, F.A., Türker, M., 2014, "In vitro Plant Regeneration Influence by BAP and IBA in Lentils (*Lens culinaris* Medik)", *Journal of Applied Biological Sciences*, 8 (1): 22-27.
- [53]. Aasim, M., 2012, "Micropropagation Of Lentil (*Lens Culinaris* Medik.) Using Pulse Treatment Of Immature Plumular Apices", *Pak. J. Agri. Sci.*, 49 (2): 149-154.
- [54]. Omran, V. G., Bagheri, A., Moshtaghi, N., 2008, "Direct in vitro regeneration of Lentil (*Lens culinaris* Medik.)", *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11 (18).
- [55]. Fratini, R., And Ruiz, M. L., 2002, "Comparative study of different cytokinins in the induction of morphogenesis in lentil (*Lens culinaris* Medik)", *In vitro Cell Dev. Biol. Plant*, 38: 46-51.
- [56]. Fratini, R., Ruiz, M. L., 2003, "A rooting procedure for lentil (*Lens culinaris* Medik.) and other hypogeous legumes (pea, chickpea and lathyrus) based on explant polarity", *Plant Cell Reports*, 21: 726-732.
- [57]. Bagheri, A., Omraan, V. G., Hatefi, S., 2012, "Indirect in vitro regeneration of lentil (*Lens culinaris* Medik.)", *Journal of Plant Molecular Breeding (JPMB)*, 43-50.

- [58]. Polanco, M.C., Ruiz, M. L., 2001, "Factors that affect plant regeneration from *in vitro* culture of immature seeds in four lentil (*Lens culinaris* Medik.) cultivars", *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 66: 133-139.
- [59]. Williams, D. J., McHughen, A., 1986, "Plant regeneration of the legume *Lens culinaris* Medik (lentil) *in vitro*", *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 7: 149.
- [60]. Johansen, D. A., 1940, "Plant Microtechnique", *McGraw-Hill*, New York, 523.
- [61]. Müller, D., Leyser, O., 2011, "Auxin, cytokinin and the control of shoot branching", *Annals of Botany*, 107: 1203-1212.
- [62]. Matsumoto-Kitano, M., Kusumoto, T., Tarkowski, P., Kinoshita-Tsujimura, K., Václavíková, K., Miyawaki K., Kakimoto, T., 2008, "Cytokinins are central regulators of cambial activity", *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 105 (50): 20027-31.
- [63]. Grant, M., Fuller, K. W., 1970, "Biochemical changes associated with the growth of root tips of *Vicia faba in vitro*, and the effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid", *Journal of Experimental Botany*, 22: 49-59.
- [64]. Scott, P. C., Norris, L. A., 1970, "Separation of auxin and ethylene in pea roots", *Nature*, 227: 1366-1367.
- [65]. De Schepper, V., De Swaef, T., Bauweraerts, I., Steppe, K. 2013, "Phloem transport: a review of mechanisms and controls", *Journal of Experimental Botany*, Nov;64(16):4839-50.
- [66]. Esau, K., 1977, "Anatomy of seed plants", 2nd edn. New York. John Wiley and Sons, 550.
- [67]. Aloni, R., Baum, S. F., Peterson, C. A. 1990, "Role of cytokinin in sieve tube regeneration and callose production in *Coleus* internodes", *Plant Physiology*, 93, 982-9.
- [68]. Baum, S. F., Aloni, R., Peterson, C. A. 1991, "The role of cytokinin in vessel regeneration in wounded *Coleus* internodes", *Annals of Botany*, 67, 543-8.
- [69]. Aloni, R. 1993, "The Role of Cytokinin in Organised Differentiation of Vascular Tissues", *Aust. J. Plant Physiol.*, 20, 601-8.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı: KÜPLEMEZ, Haydar

Uyruğu: T.C.

Doğum tarihi ve yeri: 01.06.1995 UŞAK

Medeni hali: Bekar

Telefon: 0 534 407 52 71

E-mail: haydar.kuplemez@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Uşak Üniversitesi / Tarım Bilimleri Anabilim Dalı	2020
Lisans	Uşak Üniversitesi / Tarla Bitkileri	2017
Lise	Sait Sabri Ağaoglu Anadolu Lisesi	2013

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2020 – Devam ediyor	Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil: İngilizce

Yayınlar

Küplemez, H., Yıldırım, M.U., 2020, “Effects of Cytokinin and Auxin on Plant Development and Vascular Tissues in *Lens culinaris*”, *Commagene Journal of Biology*, 4 (1), DOI: 10.31594/commagene.704271.

Hobiler

Yüzme, Hiking, Satranç