

**FESLEĞEN (*Ocimum basilicum* L.) BİTKİSİNDE
In vitro DOKU KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI**

Halis EKMEKÇİ

Yüksek Lisans Tezi

Biyoloji Anabilim Dalı

Genel Biyoloji

Yrd. Doç. Dr. Muhammad AASIM

Mart-2013

**T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FESLEĞEN (*Ocimum Basilicum* L.) BİTKİSİNDE *In vitro* DOKU KÜLTÜRÜ
ÇALIŞMALARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Halis EKMEKÇİ**

**Biyoloji Anabilim Dalı
Programı: Genel Biyoloji**

Yrd. Doç. Dr. Muhammad AASIM

KARAMAN Mart - 2013

TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Halis EKMEKÇİ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinde *In vitro* Doku Kültürü Çalışmaları

Halis EKMEKÇİ

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yar. Doç. Muhammad AASIM

Mart, 2013, 53 sayfa

Fesleğen (*O. bacilium* L.) türü morfolojik özellikleri ve kimyasal içerikleri bakımından geniş varyasyon gösteren önemli tıbbi ve aromatik bitkidir. Bu çalışmada fesleğen bitkisinin *O. basilicum* Manavgat, Dark Opel ve Antalya Geniş Yaprak çeşitlerinin 5-12 günlük *in vitro* koşullarda çimlenen fideciklerinden elde edilen yaprak, hipokotil, epikotil, sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplanları *in vitro* koşullarda farklı sitokin (BAP, TDZ) ile oksin (NAA, IBA) içeren MS ortamında sürgün rejenerasyonu için kültüre alınmıştır. Ortamlarda ilave olarak 1,0 mg/l PVP ve 3,0 g/l aktif kömür de kullanılmıştır. Tüm eksplantlarda kallus oluşumu ile kararma da gözlenmiştir. Her üç çeşitte sürgün oluşumu yalnız , hipokotil eksplantından elde edilmiştir. Manavgat ve Dark Opel çeşitlerinde eksplant başına en fazla sürgün 2,66 ve 6,58 adet sürgün 1,0 mg/l BAP içeren MS ortamında kaydedilirken, Antalya Geniş Yaprak çeşidinde eksplant başına en fazla sürgün 5,17 adet 2,0 mg/l TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Antalya Geniş Yaprak ve Dark Opel çeşitlerinde sırasıyla 8,71 cm ve 6,51cmlik en uzun sürgünler kotiledon boğum eksplantından 0,10 mg/l TDZ ve 0,20 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren MS ortamlarında kaydedilmiştir. Bazı sürgünlerde adventif kök oluşumu gözlenmiş olup, toprağa aktarılmıştır. Elde edilen köksüz sürgünler 0,25-1,00 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmiştir. Her iki türden köklenmiş bitkilerin adaptasyonu iklim odasında başarıyla sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doku Kültürü, Fesleğen, *in vitro*, Oksin, Sitokin

ABSTRACT

Ms. Thesis

Tissue Culture Studies in Basil (*Ocimum basilicum* L.)

Halis EKMEKCI

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Asstt. Prof. Dr. Muhammad AASIM

March, 2013, 53 pages

Sweet Basil (*O. bacilium* L.) is an important medicinal and aromatic plant that shows wide variation in morphological characteristics and chemical contents. In this study, leaf, hypocotyl, epicotyl, cotyledonary nodes and shoot meristem explants of Manavgat, Dark opel and Antalya broad leaf cultivars of Basil were taken from 5-12 days old *in vitro* grown seedlings and were cultured on MS medium supplemented with various concentrations of cytokinins (BAP, TDZ) and auxins (NAA, IBA) for *in vitro* shoot regeneration. Medium was also supplemented with 1,0 mg/l PVP ve 3,0 g/l active carbon. Callus induction was recorded on all explant with necrosis. Maximum number of shoots per explants were induced on hypocotyl explants in three cultivars. Maximum number of shoots per expalnts of cv. Mavavgat (2,66) and Dark opel (6,58) Cv's. were recorded on MS medium supplemented with 1,0 mg/l BAP; and 5,17 shoots per expalnt of Antalya broad leaf Cv were obtained on MS medium containing 2,0 mg/l TDZ. Maximum shoot length of 8,71 cm from leaf explant of Antalya broad leaf and Dark opel (6,51cm) were recorded on cotyledonary node expalnts cultuered on MS medium containing 0,10 mg/l TDZ and 0,20 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA respectively. Adventitious roots were observed on some shoots and directly transferred to soil. Unrooted shoots were rooted on culture medium containing 0,25-1,00 mg/l IBA. Both types of rooted plants were successfully acclimatised under growth room conditions.

Keywords: Auxins, Basil, Cytokinins, *In vitro*, Tissue Culture

ÖN SÖZ

Tez konusunun belirlenmesi, çalışmanın yürütülmesi ve tez yazımı aşamasında beni yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam sayın Yar. Doç. Dr. Muhammad AASIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Aasım hocam bana hayatım boyunca hiç unutamayacağım birkaç şey öğretti. Bunlardan en önemlisi; fedakarlık. Ailesine ayırması gereken en önemli zamanları, benim için harcaması unutulmayacak bir değerdir. Diğer bir şeyden bahsedecek olursam; o da hiç kuşkusuz sabır olacaktır. Aasım hocam bana inanılmaz bir sabır gösterdi. Zaten daha önce bilimsel çalışmanın en önemli şartının sabır olduğunu söylemişti. Kişisel ilişkilerini işlerine yansıtması da bu çalışmayı sürdürürken profesyonel bilimsellik adına öğrendiğim bir diğer değer yargısı oldu. Son olarak Aasım hocama minnettarlığımın bir başka nedenini de şöyle söyleyebilirim; benim akademik dünyaya doğmama vesile oldu, her ne kadar doğumum zor olsa da.

Prof. Dr. Ahmet YILDIRIM hocamın yüksek liansa başlamam sırasında meşguliyetine rağmen danışmanlığımı kabul etmesi de büyük bir incelikdi. Ayrıca Doç. Dr. Abdullah KAYA hocamın benim bitki konusunda çalışmama dair tavsiyelerinden dolayı teşekkürlerimi sunuyorum. Sevgili eşim Sebil Yaşar EKMEKÇİ'ye, benim bu zor sürecime katlandığı için ve kızlarım; Halime Sena ve Esmâ Reyyan'a da bir yıl boyunca babalarını haftada ancak bir defa görme sıkıntısına katlandıkları için teşekkür ederim. Ayrıca gerçek bir arkadaş olarak en sıkıntılı zamanlarımda yanımda olan Davut BOZAN'a çok teşekkür ediyorum.

Umarım gelecekte Aasım hocamın benim için yaptıklarına değecek bilimsel başarılarım olur."Fedakarlık topraktır, tohumları ağaca çeviren ve sabır sudur, meyvenin ruhuna yürüyen."

Halis EKMEKÇİ

Mart, 2013

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖN SÖZ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1.GİRİŞ	1
2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
3.MATERYAL VE METOT	11
3.1. Materyal	11
3.1.1. Bitki Materyali	11
3.1.2. Rejenerasyon İçin Kullanılan Eksplantlar	11
3.1.3. Büyüme Düzenleyicilerinin Çözücüleri ve Saklama Koşulları	11
3.2. Yöntem	12
3.2.1. Besin Ortamları ve Kültür Koşulları	12
3.2.2. Fesleğen Tohumlarının Yüzey Sterilizasyonu	12
3.2.3. Fesleğen Tohumlarının <i>In vitro</i>'da Koşullarda Çimlendirilmesi	12
3.2.4. Eksplant İzolasyonu ve Kültüre Alınması	13
3.2.5. Sürgünlerin Köklendirilmesi ve Dış Şartlara Alıştırılması	13
3.2.6 Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi	13
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	14
4.1. <i>In vitro</i> Sterilizasyon ve Çimlenme Çalışmaları	14
4.1.1. H₂O₂ ile Yüzey Sterilizasyon	14
4.1.2. Çamaşır Suyu (%5 NaOCl) ile Yüzey Sterilizasyon	15
4.1.3. <i>In vitro</i> Çimlenme	15

4.2. Fesleğen'in Manavgat Çeşidinin Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları.....	16
4.2.1. Farklı BAP-NAA Dozlarının Manavgat Çeşidinin Farklı Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu.....	16
4.3. Fesleğen'in Dark Opel Çeşidinin Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları.....	20
4.3.1. Farklı BAP-NAA Dozlarının Dark Opel Çeşidinin Epikotil Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu.....	20
4.3.2. Farklı BAP-NAA Dozlarının Dark Opel Çeşidinin Hipokotil Eksplantından Sürgün rejenerasyonu	21
4.3.3. Farklı BAP-NAA Dozlarının Dark Opel Çeşidinin Yaprak eksplantından Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi.....	23
4.3.4. Farklı TDZ dozlarının Dark Opel Çeşidinin Farklı Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu.....	25
4.3.5. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Fesleğen'in Dark Opel Çeşidinin Kotiledon Boğum Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu.....	27
4.4. Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları.....	29
4.4.1. Farklı BAP-NAA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Tohum Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu.....	29
4.4.2. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Epikotil Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu.....	31
4.4.3. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Kotiledon Boğum Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu.....	33
4.4.4. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Farklı Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu.....	36
4.5. <i>In vitro</i> Köklendirilmesi.....	40
4.6. <i>In vitro</i> Köklendirilen Sürgünlerin Adaptasyonu.....	41
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	42
6. KAYNAKLAR.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	53

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1:	Kullanılan büyüme düzenleyici, antioksidant ve antibiyotik çözücüleri, stok konsantrasyonu ve saklama koşulları.....	11
Çizelge 4.1:	Fesleğen bitkisinde H ₂ O ₂ ile yapılan yüzey sterilizasyonunun çimlenme ve bulaşık oranlarına etkisi.....	14
Çizelge 4.2:	Fesleğen bitkisinde H ₂ O ₂ ile yapılan yüzey sterilizasyonunun çimlenme ve bulaşık oranlarına etkisi.....	15
Çizelge 4.3:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Manavgat çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	18
Çizelge 4.4:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Manavgat çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	18
Çizelge 4.5:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Manavgat çeşidinin farklı eksplantlarından sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	19
Çizelge 4.6:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	20
Çizelge 4.7:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	21
Çizelge 4.8:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	22
Çizelge 4.9:	Farklı BAP+IBA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	22
Çizelge 4.10:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	23
Çizelge 4.11:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	24
Çizelge 4.12:	<i>In vitro</i> koşullarda çoğaltılmış Fesleğen bitkilerinin dış şartlarda adaptasyonu.....	25
Çizelge 4.13:	Farklı TDZ dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin sürgün ucu ve hipokotil eksplantlarından rejenerasyonuna etkisi.....	26
Çizelge 4.14:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	27
Çizelge 4.15:	Farklı TDZ-NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonuna	

	etkisi.....	28
Çizelge 4.16:	Farklı BAP-NAA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	30
Çizelge 4.17:	Farklı BAP-NAA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	31
Çizelge 4.18:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	32
Çizelge 4.19:	Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	33
Çizelge 4.20:	Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin kotiledon boğum eksplantında sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	34
Çizelge 4.21:	Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi.....	35
Çizelge 4.22:	Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidini epikotil, hipokotil ve sürgün ucu eksplantlarından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi.....	37
Çizelge 4.23:	Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin sürgün ucu eksplantından rejenerasyonuna etkisi.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1	: Fesleğen (<i>O. basilicum</i>) bitkisinin bir görünüşü.....	1
Şekil 4.1	: Fesleğen'in Manavgat çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyon.....	16
Şekil 4.2	: Fesleğen'in Manavgat çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	17
Şekil 4.3	: Fesleğen'in Manavgat çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	17
Şekil 4.4	: Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	29
Şekil 4.5	: Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	32
Şekil 4.6	: Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonu.....	34
Şekil 4.7	: Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin beş hafta sonra sürgün rejenerasyonu.....	37
Şekil 4.8	: Fesleğen bitkisinde <i>in vitro</i> kök oluşumu.....	40
Şekil 4.9	: <i>In vitro</i> koşullarda çoğaltılmış Fesleğen bitkilerinin dış şartlarda adaptasyonu.....	41

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
2,4 D	Diklorofenoksi Asetik Asit
BAP/ BA	6 Benzil Amino Pürin/6 benziladenine
dSu	Distile su
GA₃	Giberellik Asit
IAA	İndol 3 Asetik Asit
IBA	İndol 3 Bütirik Asit
mg	Miligram
MSO	Murashige ve Skoog Besi Ortamı
NAA	Naftelen Asetik Asit
ppm	Parts per million(Milyonda Bir)
PVP	Polyvinpyrolidine
TDZ	Thidiazuron
μM	Mikro Mol

1. GİRİŞ

Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Hindistan kökenli bir bitki olup, Güney Asya'da tropik ve ılıman bölgelerde yayılmaktadır. *Ocimum* cinsi, Asya, Afrika ve Orta Amerika'da doğal yayılış göstermekte olup (Darrah, 1998), daha çok Fransa, İtalya ve İspanya'da kültür bitkisi olarak bulunmaktadır (Ceylan, 1997).

Fesleğen (Şekil 1) tek yıllık, otsu, 20-60 cm boylu, beyaz-mor çiçekli bir bitkidir. Olgunlaşmış fesleğenlerin boyları genellikle 20 ile 60 cm arasında değişmektedir. Renkleri açık yeşilden koyu yeşile kadar değişen yaprakları yumuşak olup, 1-5 cm arasında uzunlukta ve 1-3 cm arasında genişlikte olmaktadır. Soğuğa karşı çok duyarlı olan fesleğen bitkisi, en çok sıcak ve kuru ortamları sevmektedir.



Şekil. 1 Fesleğen (*O. basilicum*.) bitkisinin bir görünüşü

O. bacilium türü morfolojik özellikleri (Simon ve ark., 1999; Labra ve ark., 2004) ve kimyasal içerikleri (Marotti ve ark., 1996, Vieira ve Simon, 2000) bakımından geniş varyasyon göstermektedir. Bazı yörelerde özellikle Türkiye'nin doğu illerinde mor renkli tipler yaygındır ve reyhan olarak da isimlendirilmektedir. Batı illerinde daha yaygın olan yabancı literatürde 'sweet basil' olarak bilinen yeşil renkli varyeteler, fesleğen olarak adlandırılmaktadır (Telci ve ark., 2005).

Fesleğen değerli bir uçucu yağ ve baharat bitkisidir. Ekonomik olarak değerlendirilen kısmı yapraklarıdır. Fesleğen, uçucu yağının başta parfümeri, kozmetik, aromaterapi, geleneksel tıp ve gıda ürünleri olmak üzere yaygın bir şekilde kullanılmaktadır.

Fesleğen bitkisinin yağında antimikrobiyal, insektisidal, nematisidal, fungistatik ve antioksidan etkileri bulunmaktadır (Baydar, 2009). Fesleğen gıda sanayiinde baharat ve uçucu yağı, alkolsüz içecekler, fırın ürünleri, şekerlemeler, dondurmalar, sirkeler, et ve çeşni ürünlerde ve ayrıca parfümeri alanında kullanılmaktadır. Fesleğende uçucu yağ oranı %,3-1 arasında değişmektedir (Akgül, 1993). Uçucu yağ % 0,3-1,0 verimle, su buharı damıtmayla, sarımsı renkte bir sıvı olarak elde edilmekte olup, başlıca bileşenleri; % 40 linalol, % metil kavikol, % 5-10 öjenol, % 2-10 limonen, cis-osimen, geraniol, sitronellol, 1,8-sineol, terpineol asetat ve kafur içermektedir. İran'da kültüre alınan, yeşil yapraklı *O. basilicum* uçucu yağında, (%40,5) metil kavikol, geraniol (%27,6), neral (%18,5) ve karyofillen asit (%5,4) tespit edilmiştir (Sajjadi, 2006). Tada ve ark. (1996), *O. basilicum* 'dan kök kültürleri yoluyla, doğal bir fenolik antioksidan olan rozmarinik asidi elde etmişlerdir. *O. basilicum*. ekstraktında antibakteriyal etkisinin bulunduğu belirlenmiştir (Adıgüzel ve ark., 2005).

Fesleğen, antifungal (Zallo ve ark.,1998), insektisit (Deshpande ve Tipnis, 1997) antioksidant (Bassiouny ve ark.,1990) gibi biyolojik etkilerinden dolayı, giderek artan bir öneme sahiptir. Ayrıca, fesleğen'in mor renkli çeşitleri gıda sanayisinde antosiyan zengin salatalık olarak da kullanılmaktadır (Simon ve ark., 1999).

Zengin bir kimyasal varyasyon gösteren fesleğenin, değişik alanlarda kullanılan bileşenlerin elde edilmesinde önemli bir potansiyele sahip olduğu saptanmış olup bu maddelerin Türkiye'de ticari amaçlı üretimi söz konusu olduğundan dolayı (Telci ve ark., 2005), Tezin amacı daha sonra sekonder metabolit üretimi için doku kültürü ve yukarda belirtilmiş alkaloidlerin artış amacıyla yapılan fesleğen Islah çalışmalarında kullanmak üzere uygun bir adventif sürgün regenerasyonu sisteminin geliştirilmesi olmuştur.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

Son 20 yılda mikroçoğaltım ve diğer *in vitro* teknikler yabancı türlerin korunmasında ve çoğaltılmasında yaygın olarak tercih edilmektedir. Bitki doku kültürleri, bitkilerin doku, organ, hücre ya da hücre kısımlarının bitkiden izole edilerek kapalı ve cam kaplarda '*in vitro*' suni besin ortamında ve steril şartlar altında yetiştirilerek bütün eksplantlarından tam bitkilerin elde edilmesidir. Bu tez kapsamında *O. basilicum* ve ilgili tıbbi bitkilerin vejetatif üretimin esası doku kültürü teknikleri ile ilgili bulunan önemli doku kültürü çalışmaları aşağıda verilmiştir.

Han ve Xi (1989), *Lettuce* bitkisinde embriyodan hızlı çoğaltımarıştırmışlardır. Araştırmada, 2,0 mg/l NAA veya 0,5 mg/l KİN yada 0,2 mg/NAA ve 2,0 mg/l BAP içeren MS ortamında kotiledonlardan %76-79 oranında embriyogenezis elde edilmiştir. Ortalama 0,35 g kalluslardan 40 gününsonunda 80 embriyo elde edildiği bildirilmiştir.

Jeanin and Hahne (1991), *Heliantus annuus* Ha300 hattında zigotik embriyogenezis üzerine çalışmışlardır. En iyi sonuçların BAP ve yüksek oranda sukroz içeren MS ortamından elde edildiğini ve bitkilerin fertil olduğunu bildirmişlerdir.

Krogstrup ve Norgaard (1991), *Psiada coronopus* bitkisinin 5 µM BAP ile diğer bitki büyüme düzenleyicileri ile birlikte MS ortamında hızlı çoğaltım başarısına bakmışlardır. Oluşan sürgünlerin NAA ve IBA içeren MS besin ortamında köklendikleri tespit edilmiştir.

Sakr ve ark. (1991), *Chamomilla recutita* bitkisinin yaprak, gövde, meristematik uç, kök, çiçek ve tohum eksplantlarının rejenerasyon kabiliyetlerine bakmışlardır. Kinetin, BAP, Kinetin + BAP veya BAP + NAA içeren MS besin ortamında rejenerasyon kabiliyeti araştırılmıştır. 4 haftalık kültürde en fazla sürgün sırasıyla tohum, meristematik uç ve yaprak sapından elde edilen kallustan elde edilmiştir. Köklenme ise MS ortamında gerçekleştirilmiştir.

Antonova ve ark. (1992), *Peredovik uluchshennyi* bitkisinde olgunlaşmamışembriyolarda çalışmışlardır. Olgunlaşmamış embriyolar üzerinde 1 mg/l 2,4D içeren MS ortamında 4-7 gün sonra embriyolar oluştuğu bildirmişlerdirOluşan embriyoların GA içeren MS ortamında hipokotil ve ilk gerçek yaprakçiftinin oluşturduğu gözlenmiştir.

Lauzer ve Vieth (1990), Kuzey Amerika'da yetiştirilen *Cynara scolymus* bitkisinin Green Globe çeşidinde hızlı çoğaltım ve vitrifikasyon üzerine çalışmışlardır. Araştırmada *in vitro*'da tohumdan elde edilen sürgün uçlarından 0,5 mg/l NAA ve farklı konsantrasyonlarda BAP içeren, MS ortamında sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Hızlı çoğaltım aşamasında meristematik yaprakların besin ortamına değmesinin vitrifikasyona yol açtığı belirtilmiş, besin ortamına değmeleri engellenerek vitrifikasyondan kurtuldukları ve 1 mg/l NAA içeren MS besi ortamında 2 ay sonra % 65 oranında köklendikleri bildirilmiştir.

Whipkey ve ark. (1992), *Artemisia annua*, bitkisinin tarladan alınan P1, P2, P3 hatlarında sürgün rejenerasyon kabiliyetini araştırmışlardır. En iyi kallus oluşumu 1 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında en fazla sürgün sayısı ise 10 mg/l BAP içeren MS besin ortamında gözlenmiştir. P2 hatında elde edilen sürgünler 5 ay sonra hızlı çoğaltım ortamına alınmıştır. 0, 2, 4, 6, 8 ve 10 mg/l BAP, 0 ve %10 CW içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. En yüksek oranda sürgün 6 mg/l BAP %10 CW içeren ortamdan elde edilmiştir. Sürgünler IBA içeren ortamlarda köklendirilmiş ve seraya aktararak büyüme bırakılmıştır.

Xiaoli ve ark. (1992), *Lettuce (Lactuca sativa L.)* da somatik embriyogenezisi araştırılmışlardır. Çalışmada 2,0 mg/l NAA veya 0,2 mg/l BAP ve 2,0 mg/l NAA içeren MS ortamında kotiledonlardan %70'ten fazla somatik embriyogenezis olduğu tespit edilmiştir. 2,4-D içeren MS ortamında ise herhangi bir sonuç elde edilemediği bildirilmiştir.

Encheva ve ark. (1993), *Heliantus annuus*'un 3 hattını mutagen olan gama ışınına (7-10 Gy) maruz bırakılarak ve gama ışınına maruz bırakılmadan olgunlaşmamış embriyo ve somatik embriyogeneziste meydana gelen varyasyonlar üzerindeki etkisine bakmışlardır. Yağ asidi, tohumlardaki yağ miktarı, tohum ağırlıkları çiçek tabla çapı, bitki uzunluğunda genetik varyasyonlar meydana geldiği belirtilmiştir.

Sarvesh ve ark. (1993), *Guizotia abyssinica* bitkisinin Ootacamund çeşidinde kotiledon eksplantından adventif sürgün rejenerasyonu çalışılmıştır. Fide eksplantlarından kallus oluşumu için 1,4 µM KİN 9,0 µM 2,4-D içeren LS ortamı kullanılmıştır. 2,4,5-T ve oluşan kalluslar LS ortamında alt kültüre alındığında somatik embriyoların olduğu gözlenmiştir. 4,4 µM BAP ve 11,4 µM IAA içeren MS ortamında kotiledon eksplantlarından çoklu sürgünler elde edildiği bildirilmiştir. Rejenere olan bitkilerin

saksılara aktarıldığında tohum tuttuğu morfojilerinin normal ve fertil olduğunu tespit edilmiştir.

Estrella ve Lazerte (1994), *Polymnia sonchifolia* bitkisinin koltuk altı meristemlerinin BAP ve IBA içeren MS besin ortamında hızlı çoğaltımını çalışmışlardır. BAP + IBA içeren MS ortamında 10,1 gün sonra %90 sürgün oluşmuştur ve eksplant başına 12,4 adet sürgün elde etmişlerdir. Arelló et al. (1991), *Gerbera jamesonii* bitkisinin Apelplozen Marleen, Clementine ve Pimpernel çeşitlerinde kapitulüm eksplantı BAP, IAA ve kinetin içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. En iyi kallus oluşumunun BAP ve 0,5 mg/l IAA içeren MS besin ortamında Appel Bloesen ve Marleen çeşitlerinden elde edildiği bildirilmiştir.

Mesa ve ark. (1995), *Helianthus tuberosus* bitkisinde hızlı çoğaltım çalışmışlardır. En iyi sürgün oluşumu 2 mg/l BAP ve 20 g/l sukroz içeren Murashige ve Skoog besin ortamında elde edilmiştir. *In vitro* ortamda en iyi köklenme 0,1 mg/l IAA ve 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında elde edilmiştir. Köklenen bitkilerin sera koşullarına adapte edilip kırmızı toprak kum ve organik madde içeren saksılara aktarıldıktan sonra %100 canlılığını koruduğu gözlenmiştir. Tüm bitkiler normal olup tohum elde edilmiştir.

Pevalek-Kozlina (1998), tehdit altındaki endemik bitki *Centaurea ragusina* için klonal çoğaltım metodu geliştirmek için yürüttükleri araştırmalarında tohumlardan çimlendirerek elde ettikleri 20 günlük fidelerin gövde koltuk altı meristemlerden mikroçoğaltım yapmışlardır. En iyi sürgün oluşumunun 1,0 µM BA ve 2,9 µM GA₃ içeren MS ortamında olduğunu bildirmişlerdir. Elde edilen sürgünler 2,5 µM IBA içeren MS ortamında köklendirildikten sonra saksılara aktarılmış olup, dış koşullarına adaptasyon sağlanmıştır.

Cuenca ve ark. (1999) *Centaurea paui*'nin mikroçoğaltımı amacıyla yürüttükleri çalışmalarında eksplant olarak infloresans gövdeleri kullanmışlar, en fazla sürgün oluşumunun 0,5 mg/l BA ya da 2 mg/l KIN içeren MS ortamında olduğunu, en uygun köklenmenin 2 mg/l IAA ve 2 mg/l IBA destekli MS ortamında olduğunu kaydetmişler ve köklenen sürgünlerin %40'ını başarılı bir şekilde saksılara aktarmışlardır.

Cuence ve Marco (2000) tehdit altında olan endemik *Centaurea spacchii*'nin çiçekli meristemlerinde hızlı çoğaltım yöntemi geliştirmişlerdir. Çalışmada %15 kontaminasyon gözlenmiştir. 1 mg/l BAP içeren MS besin ortamında yüksek oranda sürgün oluşumu gözlenmiştir. Fakat oluşan sürgünlerin boyunun uzamadığı

bildirilmiştir. Tek çeşit oksin kullanımı ile 6 hafta sonunda köklenme oranı düşük olduğu gözlenmiştir. İki çeşit oksin kullanımında ise en iyi sonuçların 2 mg/l IAA ve 2 mg/l IBA içeren MS besin ortamında %60 köklenme elde edildiği gözlenmiştir. Sürgünlerin %50'sinde 3 hafta içinde kök oluşumu gözlenmiş olup, tir. serada %80 bitkilerinde adaptasyon sağlanmıştır.

Çölgeçen (2005) poliploidi nedeniyle tohum tutma ve sert tohum sorunlarını aşmak amacıyla *T. pratense* bitkisinin mikroçoğaltım yolu ile üretimi için farklı oranda BAP ve NAA içeren PC-L2 ve MS ortamları kullanılmıştır. Doğal tetraploid *T. pratense* bitkisinde PC-L2 ortamında daha iyi sonuç alınmıştır. En iyi kallus ve sürgün oluşumu apikal meristem eksplantında 2 mg/l BAP - 1 mg/l NAA içeren PC-L2 ortamından elde edilmiştir. 1 mg/l NAA içeren PC-L2 ortamında sürgünlü kalluslarda %94,4 oranında köklenme görülmüş ve *in vitro* olarak doğal tetraploid *T. pratense*'de organogenez gerçekleştirilmiştir. Bitkilerin tarlaya aktarımı yapılmıştır.

Daneshvar Royandazag (2005) adventif sürgün rejenerasyonu amacıyla *Papaver bracteatum*' in 7 ve 18 nolu hatlarından alınan, hipokotil-kotilodon eksplantlarda sırasıyla 7. hatta en iyi sonuç 1 mg/l Kinetin, 0,5mg/l NAA ve 0,1 mg/l GA₃ içeren MS ortamda ve 18. hattında 1 mg/l Kinetin, 2,00 mg/l NAA ve 0.1 mg/l GA₃, 2,00 mg/l Kinetin, 2,00 mg/l NAA ve 0,1 mg/l GA₃ içeren ortamlardan elde etmiştir. *P. pseudo-orientale* de ise en iyi rejenerasyonu hipokotil-kotilodon eksplantında 15 mg/l BA ve 2,4-D ile ön muameleden sonra 0,24 mg/l 2,4-D ve 0,19 mg/l NAA içeren 2mg/l glisine, 0,5 mg/l nikotinik asit, 0,5mg/l piridoxine, 2,00mg/l miyoinositol, 0,5mg/l thiamine ile modifiye edilmiş MS ortamından elde edilmiştir. Köklenme sağlamak için, rejenere olan sürgünler 0,25, 0,50 ve 1,00 mg/l BA içeren MS besin ortamına alınmış olup, en iyi sonuç 0,5 mg/l BA içeren ortamlardan elde edilmiştir.

Gopi ve Ponmurugan (2006) *O. basilicum* bitkisinde juvenil bitkinin yaprak eksplantından Kallus, 1,0 mg/l 2,4-D), 3 % sükröz ve 0,9% agar ile desteklenmiş MS ortamında başlatılmıştır. Kalluslar 0,5 mg/l 2,4-D ve 1,0/mg1 BAP içeren MS ortamına aktarıldığında embriyo farklılaşması gözlenmiştir. Maksimum embriyolar 1,0 mg/l BAP + 1,0 mg/l NAA + 0,5 mg/l KIN ile takviye edilen MS ortamında görülmüştür. Daha sonra elde edilen bitkicikler özel yapılmış plastik bardak içeren soilrite üzerine transfer edilmesinin ardından bahçe toprağına transfer edilmiştir. *Ex vitro* koşullarda bitkilerin yaşama oranı % 80 olmuştur.

Purohit ve Kothari (2007) *Trachyspermum ammi*' nin kotiledon ve kotiledon boğum eksplantlardan direkt somatik emriyogenez geliştirmiştir. Üç aşamalı direkt embriyogenez prosedürü 0,2 mg/l 2,4 D içeren sıvı Murashige ve Skoog (MS) ortamda gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada 4 hafta içinde kallus oluşmadan globuler somatik embriyolar geliştirilmiştir. İkinci aşamada kalp ve torpedo şeklindeki embriyolar sıvı ortamında dūřürülmüř 2,4 D oranı ile gerçekleştirilmiştir. Üçüncü aşamada eksplantlar hormonsuz sıvı ortamında kazein hidrolizat ilave edilerek kültüre alınmıştır. Daha sonra eksplantlardan bitkiler elde etmek için 1 mg/l GA₃ içeren ortamında kültüre alınarak gerçekleştirilmiştir.

Sayılır ve ark., (2007) doğa da derin kök yapısı nedeniyle elverişsiz koşullarda yetişen kaparinin doku kültüründe ise tuz içeriği daha fazla olan MS ve ½ MS ortamında bitkilerin iyi geliştiğini belirlemiştir. Gamborg-White ortamlarında yeterli gelişme ve çoğalma olmamıştır. 3,0 mg/l BAP +0,1 mg/l GA₃ + 0,05 mg/l IAA içeren ortamda, 750 sürgün/100 eksplant görülmüştür. BAP konsantrasyonunun artmasıyla küçük sürgün sayısında artma meydana gelmiştir. 0,1-0,3 mg/l GA₃ içeren ortamın sürgün uzunluğu üzerine bir etkisi bulunmamıştır. Tek başına 1,5 mg/l BAP 'ın kullanılması daha etkin bulunmuş olup, 800 adet sürgün/100 explant değerine ulaşılmıştır. Köklendirme aşamasında ise, 3,0 mg/l IBA içeren ½ konsantrasyon içeren Makro, mikro ve vitaminler içeren MS ortamında % 75' lik bir köklenme sağlanmış olup, NAA içeren ortamın IBA içeren ortamına göre daha etkisiz olduğunu görülmüştür.

Siddique ve Anis (2007) *Ocimum basilicum*'un hızlı çoğaltımı için olgun bitkiden elde edilen sürgün ucu eksplantı farklı süre (4, 8, 12 ve 16 d) ve 5-100µ M Thidiazuron (TZD) içeren sıvı MS ortamda geliştirmiştir. 50 µM TDZ'in 8 günlük indüksiyon ve daha sonra TDZ olmayan MS ortamına alt kültürü sürgün oluşumu için uyumlu bulunmuş olup, en fazla %78 sürgün rejenerasyonu, eksplant başına 11,6 adet sürgün ve 4,8 cm uzun sürgün kaydedilmiştir. Elde edilen sürgünler 1,0 µM IBA içeren ortamda köklendirildikten sonra, başarıyla toprağa aktarılmıştır.

Najaf (2008) kebere tohumlarının çimlenmesinde etkili, aynı zamanda mikro çoğaltımda kullanılabilecek olan bir yöntem geliştirmeye çalışmıştır. Tohumlar farklı oranlarda BAP, NAA ve GA₃ içeren MS ortamında başarılı bir şekilde (% 100) imlendirilmiştir. Daha sonra *in vitro* koşullarda gelişen bitkiciklerden alınan gövde, yaprak ve koltukaltı meristem eksplantları değişik oranlarda BAP ve NAA içeren MS

ortamlarda rejenerasyona alınmıştır. En fazla sürgün rejenerasyonu 0,4 mg/l BAP ve 0,1 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler 50 mg/l IBA ile 5 dk muamele edilip, MS ortamında köklendirilmiştir.

Siddique ve Anis (2008) *Ocimum basilicum*'un *in vitro* kültürü yoluyla olgunlaşmış bitkinin koltuk altı meristemleri BA, TDZ, Kin ve 2-iP kullanılarak MS ortamda sürgünler üretilmiştir. Koltuk altı meristemlerin uyarması için 5,0 µM BA optimum bulunmuştur. En fazla sürgünler 2,5 µM BA ve 0,5 µM IAA içeren yarı MS ortamda elde edilmiştir. TDZ içermeyen ortamda kültüre alındığında sürgün oluşumu ve uzunluğunda artış görülmüştür. Elde edilen bitkilerin 1,0 µM IBA ortamda, köklenme için IAA ve NAA'a göre daha iyi olduğu kanıtlanmıştır. *In vitro* koşullarda üretilen bitkiler toprağa aktarılarak % 90 bitkilerde adaptasyon sağlanmıştır.

Uçar ve Turgut (2009) bu çalışmada doku kültürü tekniğinden yararlanarak *Sideritis perfoliata*, *Sideritis stricta* ve *Sideritis erythrantha* türlerinin *in vitro* rejenerasyon yeteneğini araştırmıştır. Rejenerasyon çalışmalarında tohum, yaprak, yaprak sapı, boğum, boğum arası ve sürgün ucu gibi değişik eksplantlar denenmiştir. Üç farklı türün tohumları chloramine-T ve sodyum hipoklorit ile sterilizasyon yapıldıktan sonra farklı dozlarda GA₃ içeren çimlendirme ortamlarına ekilmişlerdir. *S. stricta* türünün tohumlarında hiç çimlenme görülmezken, diğer türlerin tohumlarında ise çimlenme oranı çok düşük kalmıştır. Yaprak, yaprak sapı, boğum ve boğum arası eksplantları ise farklı BAP ve NAA konsantrasyon ve kombinasyonları içeren %0,7 agar, %3 sükröz ve aktif kömür ilave edilmiş MS ortamında kültüre alınmışlardır. Kültür sırasında eksplantlardan kaynaklanan kontaminasyonlar görülürken, kontaminasyon oluşmayan eksplantlarda ise kararma gözlenmiştir. İlbaharda yeni oluşan *Sideritis stricta* türüne ait bitkilerden alınan sürgün uçları farklı oranlarda TDZ içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Bu eksplantlardan sürgün oluşumu başarılıdır.

Verma ve ark. (2011) Türkiye'nin endemik tıbbi türlerinden biri olan *Digitalis lamarckii* Ivan (bodur yüksükotu)'nın *in vitro* koşullarda çimlendirilmiş üç haftalık fidelerinden izole edilen kotiledon yaprağı segmentlerinden elde edilen kallustan, *in vitro* somatik embriyo ve sürgün oluşumu protokolü ilk defa bu çalışmada tanımlamıştır. Embriyonik kallus, 0,54 µM NAA ile 2,22 µM BAP içeren MS ortamında elde edilmiş ve 4,44 veya 8,87 µM BAP'in () tek başına veya 1,34, 2,69 veya 5,37 µM NAA ile farklı kombinasyonları içeren MS ortamında kültüre alındığında,

somatik embriyolar kolaylıkla gelişmişlerdir. Embriyo rejenerasyonu için en 1,34 µM NAA ile 8,87 µM BAP içeren MS'da kotiledon yaprak eksplantı başına ortalama 37,0 embriyo elde edilmiştir. Organogenik kallus, 2,69 µM NAA ve 2,22 µM BAP içeren MS ortamında elde edilmiş ve BAP'yi (2,22, 4,44 veya 8,87 µM) tek başına veya NAA (1,34 veya 2,69 µM) ile kombinasyon halinde içeren MS ortamında kültüre alındığında, sürgün oluşumu gözlenmiştir. En yüksek ortalama sürgün verimi (eksplant başına 5,67 sürgün), 8,87 µM BAP ve 2,69 µM NAA içeren ortamda elde edilmiştir. Sürgünler, indol-3-asetik asit (IAA) veya NAA (1,0, 2,5 veya 5,0 µM) içeren MS ortamında kolaylıkla köklendirilmiştir. Rejenere edilen bitkiler, saksılara aktarılarak, büyümeye ve olgunlaşmaya bırakılmışlardır. Rejenere edilen bitkilerin tamamına yakını, dış koşullara alıştırmaya sürecini ve canlılıklarını koruyarak tamamlamışlardır. Tanımlanan bu protokol, *D. lamarckii*'nin germplasm depolanması, ticari üretim, genetik iyileştirme ve kardenolit üretimi çalışmalarına katkı sağlayabilecektir.

Yücesan (2011) *Digitalis* L. türleri içeriğindeki kalp glikozitlerinin kalp kası kasılma ve kalp ritmini düzenlemesinden ötürü tıbbi ve ekonomik değeri yüksek olan bitkileri bu çalışmada yapılan birçok doku kültürü uygulaması, çoklu sürgün üretme maksadıyla farklı besi ortamları, büyüme düzenleyicileri ve *in vitro* koşullarda çimlendirilen fidelerden izole edilen çeşitli eksplantlar ile yapmıştır. Sürgün rejenerasyonu, farklı besi ortamları arasından 0,5 mg/l thidiazuron (TDZ) ve 0,25 mg/l indol-3-asetik asit (IAA) içeren Linsmaier and Skoog (1965) besi ortamı, *Digitalis davisina* Heywood, *D. cariensis* Jaub. Et Spach em. Werner ve *D. trojana* Ivan türlerinde başarıyla optimize edilmiştir. *D. lamarckii* Ivan.'da ise büyüme düzenleyicilerinden benzil-amino-pürin (BA) ve naftalen-asetik-asit (NAA)'nın daha başarılı olduğu gözlenmiştir.

Kara ve ark. (2011) bu çalışma, biberiye (*Rosemary officinalis*), çördükotu (*Hyssopus officinalis*) ve adaçayı (*Salvia officinalis*) bitkilerinin çelikle çoğaltımı üzerine, farklı çelik alma dönemleri (mart, haziran, eylül) ve IBA dozlarının (kontrol-0, 1000, 2000, 3000 ve 4000 ppm) etkisini belirlemek amacıyla yürütmüştür. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tıbbi ve Aromatik Bitkiler deneme alanından 2010 yılında alınan çelikler, Tarla Bitkileri Araştırma ve Uygulama Serasında farklı IBA dozları ile muamele edilerek, içinde perlit-torf (1:1) karışımından oluşan köklendirme ortamına dikilmişlerdir. Ortalama 60 gün boyunca köklendirilmeye bırakılan çeliklerin köklenme oranları, kök sayıları ve kök uzunlukları belirlenmiştir. Araştırmada çelik alma

dönemleri ve IBA dozlarının çördük otu, biberiye ve adaçayının köklenmesi üzerine etkisi istatistiksel olarak $P \leq 0.05$ düzeyinde önemli olmuştur. Biberiye, çördükotu ve adaçayında en yüksek köklenme oranı (sırasıyla % 85,0, 82,3 ve 81,0), kök sayısı (sırasıyla 28,8, 21,6 ve 10,6 adet bitki) ve kök uzunluğu (7,1, 6,1 ve 5,1 cm) mart döneminde 4000 ppm IBA dozunda tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Çalışmada kullanılan bitki materyali Türkiye’de yaygın olarak yetiştirilen Fesleğen’in Manavgat, Dark Opel ve Antalya Geniş Yaprak çeşitleri Tarımsal Araştırma Genel Müdürlüğü’ Ankara’dan temin edilmiştir.

3.1.2. Rejenerasyon İçin Kullanılan Eksplantlar

Çalışmalarda sürgün ucu, epikotil, yaprak, kotiledon boğum ve hipokotil eksplantları tohumların *in vitro*’da MSO besin ortamında çimlenmeye konulmasından 7-12 gün sonra gelişen fidelerden alınmıştır.

3.1.3. Büyüme Düzenleyicilerinin Çözücüleri ve Saklama Koşulları

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Duchefa, Merck ve Sigma Aldrich Chemical Co. tarafından temin edilmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan büyüme düzenleyici, antioksidant ve antibiyotik çözücüleri, stok konsantrasyonu ve saklama koşulları

Bitki büyüme düzenleyicileri	Çözücü	Stok konsantrasyonu (mg/ml)	Saklama koşulları (°C)
Oksinler			
NAA	1N NaOH	1/1	4
IBA	1N NaOH	1/1	- 20
Sitokinler			
TDZ	Etanol	1/1	4
BAP	1N NaOH	1/1	4
Anti Oksidantlar			
PVP	dSu	1/1	4

Bitki büyüme düzenleyicilerinin stok solüsyonları uygun çözücülerle çözüldükten (Çizelge 3.1) sonra standart şekilde istenilen miktarda ve oranda hazırlanmıştır. Büyüme düzenleyici dozları, ortamlar otoklavda steril edilmeden önce veya gerekirse sonra ilave edilmiştir. Hazırlanan stok solüsyonlar uygun sıcaklıkta 6-12 ay saklanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Besin Ortamları ve Kültür Koşulları

Denemelerde %3 sükröz içeren ve %0,65'lik agar ile katılaştırılmış (Duchefa Biochemie B.V. The Netherlands) MS ortamı (Murashige ve Skoog 1962) kullanılmıştır. Ortam hazırlığında distile saf su kullanılmıştır. Besin ortamına farklı konstrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri ile beraber antioksidant ve aktif kömür ilave edilmiştir. Tüm denemelerde farklı oranda bitki hormonunu besin ortamına ilave ettikten sonra pH'sı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak 5,8'e ayarlanmıştır. Ortamlar 104 KPa basınç altında ve 120°C'de 20 dakika tutularak otoklavlanmıştır. Tüm kültürler gün ışığı floresan (6000 lüks) altında 16 saat ışık fotoperiyodunda $24 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta tutulmuşlardır.

3.2.2. Fesleğen Tohumlarının Yüzey Sterilizasyonu

Her üç çeşitte yüzey sterilizasyonu için ticari çamaşır suyu (%50, 75 ve 100) ve H₂O₂ (%10, 20 ve 30) farklı süre ile uygulanmıştır. Sterilizasyonundan sonra tohumlar steril saf su ile 3 kez durulanmıştır.

3.2.3. Fesleğen Tohumlarının *In vitro* koşullarda Çimlendirilmesi

Yüzey sterilizasyonu sağlanmış tohumları steril petri kapları veya GA₇[®] Magenta vessel içerisinde %3 sükröz içeren ve %0,65 agar ile katılaştırılan MS besin ortamında $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de 16 saat ışık fotoperiyodunda çimlendirilmiştir.

3.2.4. Eksplant İzolasyonu ve Kültüre Alınması

Denemede kullanılan kotiledon boğum, hipokotil ve yaprak eksplantları *in vitro* koşullarda çimlenen 5-7 günlük fideciklerden elde edilirken, epikotil ve sürgün ucu eksplantları 8-12 günlük fideciklerden elde edilmiştir. Daha sonra, eksplantlar farklı oran ve kombinasyonlarda BAP, TDZ ve IBA, NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır.

3.2.5. Sürgünlerin Köklendirilmesi ve Dış Şartlara Alıştırılması

Rejenere olan 0,5 cm'den uzun sürgünler kesilerek 0,5 mg/l IBA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Dört hafta sonra köklenen bitkiciklerden ilk olarak agar, çeşme suyuyla yıkanarak uzaklaştırılmıştır. Ardından elde edilen bitkicikleri 10-15 dk. çeşme suyu içinde bekletilmiş olup, iklim odasında çiçek toprağı içeren saksılara aktarılmıştır. Her saksı üzerine plastik poşet geçirip, $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ de 10 gün tutularak yeni bitkiciklerin dış şartlara uyumu sağlanmıştır.

3.2.6. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Rejenerasyon denemeleri 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Her tekerrürde 4-6 adet eksplant bulunmuştur. Çalışmadan elde edilen veriler bilgisayarda "SPSS 16 for Windows" programı ile tesadüf parselleri deneme desenine göre analiz edilmiştir. Yüzde değerleri istatistik analizi yapılmadan önce "arcsin transformasyon"una tabi tutulmuştur (Snedecor ve Cochran 1967). Post hoc testlerinden LSD veya Duncan testleri uygulanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. *In vitro* Sterilizasyon ve Çimlenme Çalışmaları

Denemede kullanılan Fesleğen'in Manavgat, Dark Opel ve Antalya Geniş Yaprak çeşitlerinin yüzey sterilizasyonu amacıyla H₂O₂ ve ticari çamaşır suyu (%5 NaOCl) farklı oranlarda ve süre ile denemiştir.

4.1.1. H₂O₂ ile Yüzey Sterilizasyon

H₂O₂ ile yapılan çalışmalarda her üç çeşitlerinin tohumları %10, %20 ve %30 oranı ve 10 dk. süreyle muamele edilmiştir. 7 gün sonra elde edilen verilerin varyans analizi sonuçlarına (Çizelge 4.1) göre %30 H₂O₂ kullanıldığında, tüm çeşitlerin tohumlarda çimlenme gözlenmemiştir. Manavgat, Dark opel ve Antalya Geniş Yaprak çeşitlerinde en fazla çimlenme sırasıyla %33,33, %23,33 ve %23,33 olarak, %10 H₂O₂ muamelesiyle elde edilmiştir. %10 H₂O₂ kullanıldığında yüksek oranda bulaşık görülmüştür. H₂O₂ oranı artışı ile bulaşık oranında azalma kaydedilirken diğer yana H₂O₂'in toksik etkisinden dolayı çimlenmede olumsuz şekilde azalma görülmüştür. Benzer şekilde Doğan (2013) *Ceratophyllum* bitkisinin sterilizasyon sağlamak amacıyla hidrojen peroksit kullanmıştır.

Çizelge 4.1 Fesleğen bitkisinde H₂O₂ ile yapılan yüzey sterilizasyonun çimlenme ve bulaşık oranlarına etkisi

H ₂ O ₂	Çimlenme oranı (%)			Bulaşık oranı (%)		
	Manavgat	Dark Opel	AGY	Manavgat	Dark Opel	AGY
%10	33,33 ^{a**}	23,33 ^{a**}	23,33 ^{a**}	73,33 ^{ös}	63,33 ^{ös}	50,00 ^{ös}
%20	16,67 ^b	16,67 ^a	16,67 ^a	56,67	73,33	36,67
%30	0,00 ^c	0,00 ^b	0,00 ^b	46,67	86,67	36,67

** Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

^{ös} önemsiz

4.1.2. Çamaşır Suyu (%5 NaOCl) ile Yüzey Sterilizasyonu

Sterilizasyon çalışmasında %50, 75 ve 100 oranlarda ticari çamaşır suyu (%5 NaOCl) ile yapılan çalışmalarda (izelge 4.2). Manavgat, Dark opel ve Antalya Geniş Yaprak eşidinde çimlenme oranı %66,67-100 arasında kaydedilmiştir. Her üç çeşidinde, %100 çamaşır suyu ve 20 dk. muamele ile elde edilen yüzey sterilizasyonu sonucunda herhangi bir bulaşık görülmemiştir. Benzer şekilde *Trigonella* (Aasim ve ark., 2009a, 2010) ve nohut (Aasim ve ark., 2013) bitklerinde tohum sterilizasyon için %100 çamaşır suyu kullanılmıştır.

Çizelge 4.2 Fesleğen bitkisinde H₂O₂ ile yapılan yüzey sterilizasyonun çimlenme ve bulaşık oranlarına etkisi

. Suyu (%)	Süre (dk)	imlenme (%)			Bulaşık oranı (%)		
		Manavgat	Dark Opel	AGY	Manavgat	Dark Opel	AGY
50	10	73,33 ^b	80,00 ^b	80,00 ^{bc}	36,67 ^a	20,00 ^a	23,33 ^a
75	10	76,67 ^b	86,67 ^b	83,33 ^b	23,33 ^b	16,67 ^b	16,67 ^a
100	10	66,67 ^b	66,67 ^c	66,67 ^c	23,33 ^b	16,67 ^b	16,67 ^a
100	15	83,33 ^{ab}	83,33 ^b	83,33 ^b	13,33 ^c	10,00 ^b	6,67 ^b
100	20	100,00 ^a	100,00 ^a	100,00 ^a	0,00 ^d	0,00 ^c	0,00 ^b

** Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testi ile istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli farklılığı görülmüştür.

4.1.3. *In vitro* imlenme

Yüzey sterilizasyondan sonra, tohumlar 0,65 g/l agar ile katılaştırılmış MS0 içeren ortamında kültüre alınmıştır. 3-5 gün içinde tüm çeşitlerde çimlenme başlamış olup, 7-9 gün içinde %100 çimlenme kaydedilmiştir.

4.2. Fesleğen'in Manavgat Çeşidinin Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları

4.2.1. Farklı BAP-NAA Dozlarının Manavgat Çeşidinin Farklı Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu

Yapılan bu çalışmada Fesleğen'in Manavgat çeşidinin *in vitro* koşullarda çimlenme sağlayan iki haftalık fidecikerden elde edilen epikotil, hipokotil ve yaprak eksplantları farklı BAP-NAA içeren ortamlarına kültüre alınmıştır.

Epikotil eksplantlarda iki hafta içinde kallus oluşumu gözlenmiş olup, dört hafta sonra sürgün oluşumu görülmeye başlamıştır. Fakat, fenolik bileşiklerden dolayı bir çok eksplant üzerinde yoğun kararma ve ölüm görülmüştür (Şekil 4.1a). Geri kalan az sayıda zarar görmüş eksplant üzerinde, çoklu sürgün oluşumu (Şekil 4.1b) kaydedilmiş olup, sürgünlerde gelişmeler devam etmiştir (Şekil 4.1c).

Hipokotil eksplantlarda dört hafta sonra hem kallus oluşumu, hem de sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Bazı eksplantlarda kallus üzerinde kök oluşumu da görülürken (Şekil 4.2a), çoğu eksplantta kararamadan dolayı (Şekil 4.2b) her hangi bir sürügün oluşumu görülmemiştir.

Benzer şekilde yaprak eksplantlarında hem kallus oluşumu hemde sürgün oluşumu (Şekil 4.3a) ile kallus üzerinde çok sayıda kökler gözlenmiştir (Şekil 4.3b).



Şekil 4.1 Fesleğen'in Manavgat çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonu, (a) fenolik bileşiklerden ölmüş eksplantlar, (b) sürgün oluşumu, (c) boy almış çoklu sürgünler



Şekil 4.2 Fesleĝen'in Manavgat çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonu (a) sürgün ve kök oluşumu, (b) fenolik bileşiklerden ölmüş eksplantlar üzerinde sürgün oluşumu, (c) boy almış sürgün



Şekil 4.3 Fesleĝen'in Manavgat çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonu, (a) sürgün ve kök oluşumu, (b) boy almış ve köklenmiş sürgün

Her üç eksplantta sürgün oluşum kaydedilmiştir ((Şekil 4.1c, 4.2c, 4.3c,). Epikotil eksplantında sadece tek oranda (2,00 mg/l) sürgünler elde edildiği için istatistik analizi yapılmamıştır. Sekiz hafta sonra hipokotil (Çizelge 4.3) ve yaprak (Çizelge 4.4) eksplantlarının kallus oluşumu yüzdesi, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur.

Çizelge 4.3 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Manavgat çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
Ortam	7	2,167	7,429**	0,49	33,20**
Hata	16	0,92	-	0,02	-
Genel toplam	23	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda BAP+NAA dozlarının 0,01 düzeyinde farklılığı bulunmuştur. Bu farklılığını önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Manavgat çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortam	7	28,83	2.214**	0,868	83,286**	0,96	15,12**
Hata	16	13,21	-	0,010	-	0,06	-
Genel toplam	23	-	-	-	-	-	-

** 0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi BAP+NAA'nın farklı dozlar ve kombinasyonları sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde farklı şekilde etkilemiş olup farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi epikotil eksplant kullanıldığında, sadece 2,0 mg/l BAP içeren ortamda sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Ayrıca, hipokotil ve yaprak eksplant epikotile göre daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Sürgün rejenerasyon yüzdesi, hipokotil ve yaprak eksplantta sırasıyla 0,0-37,00 adet olarak kaydedilmiştir. 2,0 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren MS ortamda hipokotil eksplantta sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 0,0-2,66 ve 0,0-2,0 adet sırasıyla

hipokotil ve yaprak eksplanttan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu bakımında hipokotil eksplanttan 0,0-1,1 cm ve yaprak eksplantta 1,03-2,87 cm uzun sürgün elde edilmiştir.

Çizelge 4.5 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Manavgat çeşidinin farklı eksplantlarından sürgün rejenerasyonuna etkisi

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)			Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)			Sürgün Uzunluğu (cm)		
		Epi-kotil	Hipo-kotil	Yaprak	Epi-kotil	Hipo-kotil	Yaprak	Epi-kotil	Hipo-kotil	Yaprak
0,25	-	0,00 ^{ns}	37,00 ^{ns}	12,5 ^b	0,00 ^{ns}	2,00 ^a	1,00 ^b	0,00 ^{ns}	1,10 ^b	2,43 ^b
0,50	-	0,00	25,00	16,67 ^{ab}	0,00	2,33 ^a	0,83 ^b	0,00	0,93 ^{bc}	1,87 ^b
1,00	-	0,00	25,00	2083 ^a	0,00	2,66 ^a	1,00 ^b	0,00	0,77 ^{cd}	1,60 ^b
2,00	-	12,50	12,50	125 ^b	3,00	2,66 ^a	1,00 ^b	1,70	0,57 ^d	1,03 ^d
0,25	0,25	0,00	25,00	12,5 ^b	0,00	2,00 ^a	1,00 ^b	0,00	1,33 ^a	2,87 ^a
0,50	0,25	0,00	25,00	12,5 ^b	0,00	1,66 ^a	1,00 ^b	0,00	1,07 ^b	1,93 ^b
1,00	0,25	0,00	25,00	12,5 ^b	0,00	2,00 ^a	2,00 ^a	0,00	0,73 ^{cd}	1,80 ^c
2,00	0,25	0,00	0,00	12,5 ^b	0,00	0,00 ^b	1,00 ^b	0,00	0,00 ^e	1,53 ^c

**Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

Denemede BAP+NAA kullandığında epikotil eksplantında her hangi gelişme kaydedilmemiştir?????. Buna karşı, Dejam ve ark., (2006) bakrai bitkisinde 1,0-4,0 mg/l BAP ile 0, 0,5 ve 1,0 mg/l NAA içeren ortamında ve Siddique ve ark., (2012) *Cassia angustifolia* bitkisinde 0,5–10,0 µM B içeren ortamlarında epikotil eksplantından başarıyla sürgün oluşumu elde etmiştir. Denemelerdeki sonuçların farklılığı, farklı eksplantların ve farklı bitkilerin kullanılmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Hipokotil eksplantında 2,00mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren ortam dışında diğer ortamlarda çok düşük oranda sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Aasim ve ark., (2010) *Trigonella* bitkisinde hipokotil eksplantında kallus oluşumu ile somatik embriyogenez gözlenmiş olup, sürgün oluşumu gözlenmemiştir.

Buna karşı, yaprakta eksplant kullanıldığında, tüm BAP-NAA içeren ortamlarda sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Benzer şekilde Echeverrigaray ve ark., (2000) *Anthemis nobilis* bitkisinde 1,0-18,0 µM BA-1,0-2,5 µM içeren ortamlarda yaprak eksplantından %4,0-84 sürgün rejenerasyonu, 1,0-9,6 adet eksplant başına sürgün elde edilmiştir. Mahesh ve ark., (2012) *Launaea sarmentosa* bitksinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonu için 0,5 mg/l BA+0,2 mg/l NAA içeren ortamın uygun olduğu kaydetmişlerdir.

4.3. Fesleğen'in Dark Opel Çeşidinin Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları

4.3.1. Farklı BAP-NAA Dozlarının Dark Opel Çeşidinin Epikotil Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Bu denemede Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin epikotil eksplantları farklı BAP (0,25, 0,50, 1,00, 1,50 ve 2,00 mg/l) ile 0,25 mg/l NAA içeren veya içermeyen MS besin ortamına kültüre alınmıştır. Denemede BAP dozlarında epikotil eksplantların karardığı ve her hangi bir gelişme olmadığı görülmezken, BAP+0,25 mg/l NAA içeren ortamlarda tüm eksplantlar üzerinde kallus oluşumu ile köklenme de gözlenmiştir. Sekiz hafta sonra BAP+NAA içeren ortamlarda elde edilen sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortam	4	166,67	16,00**	3,27	49,00**	0,62	61,00**
Hata	10	10,42	-	0,07	-	0,01	-
Genel toplam	14	-	-	-	-	-	-

** 0,01 düzeyinde önemli

Çizelgede görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu istatistik olarak 0,01 düzeyinde önemli bulunmamıştır. Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelgede görüldüğü gibi epikotil eksplantı içerdiği fenolik bileşiklerden dolayı ve 0,50 mg/l BAP içeren MS ortamlarda inhibasyon görmüş olup hiç bir sürgün rejenerasyonu gözlenmemiş olup, sadece 0,25 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren ortamda sürgün oluşumu gözlenmiştir. Sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu sırasıyla %16,67, 2,33 adet ve 1,02 cm. olarak kaydedilmiştir.

Çizelge 4.7 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait Duncan testi sonuçları

Büyüme Düzenleyicileri		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,25	0,25	16,67 ^{a**}	2,33 ^{b**}	1,02 ^{a**}
0,50	0,25	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
1,00	0,25	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
1,50	0,25	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b
2,00	0,25	0,00 ^b	0,00 ^b	0,00 ^b

**Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir. Aasim ve ark., (2008) börülce bitkisinde BAP ile NAA karışımın sürgün rejenerasyonunda olumsuz etki yaptığını bildirmiştir. Buna karşı, Dejam ve ark., (2006) bakrai bitkisinde 1,0-4,0 mg/l BAP ile 0,5 -1,0 mg/l NAA içeren ortamında ve Siddique ve ark., (2012) *Cassia angustifolia* Vahl bitkisinde 0,5–10,0 µM BA, içeren ortamında epikotil eksplantından başarıyla sürgün oluşumu elde etmiştir. Denemelerdeki sonuçların farklılığı, farklı eksplantların ve farklı bitkilerin kullanılmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

4.3.2. Farklı BAP-NAA Dozlarının Dark Opel Çeşidinin Hipokotil Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Bu denemede Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin hipokotil eksplantları farklı BAP (0,25, 0,50, 1,00, 1,50 ve 2,00 mg/l) ile 0 veya 0,25 mg/l NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. İki hafta sonra, eksplantlarda kallus oluşumu başlanırken dört hafta sonra sürgün uçları gözlenmeye başlamıştır. Fakat, eksplantlar üzerinde bulunan aşırı miktarda fenolik bileşiklerden dolayı kararma meydana gelmiş ve bu kararmadan dolayı sürgünlerin uzamadığı gözlenmiştir. 8 hafta sonra sürgün rejenerasyon yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısı verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi sonucu

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	
		KO	F	KO	F
Ortam	9	298,61	3,82**	8,57	37,38**
Hata	20	78,16	-	0,23	-
Genel toplam	29	-	-	-	-

** 0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısında, BAP-NAA dozlarının istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde etkisinden dolayı farklılık bulunmuştur. Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.9'de verilmiştir.

Çizelge 4.9 Farklı BAP+IBA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait Duncan testi sonuçları

Büyüme Düzenleyicileri		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
TDZ (mg/l)	IBA (mg/l)		
0,25	—	29,17 ^{abc**}	3,33 ^{c**}
0,50	—	29,17 ^{abc}	4,55 ^b
1,00	—	41,67 ^{ab}	6,58 ^a
1,50	—	16,67 ^c	4,67 ^b
2,00	—	20,83 ^c	4,33 ^b
0,25	0,25	20,83 ^c	2,00 ^{de}
0,50	0,25	29,17 ^{abc}	1,89 ^{de}
1,00	0,25	25,00 ^{bc}	2,33 ^d
1,50	0,25	41,67 ^{ab}	1,80 ^{de}
2,00	0,25	45,83 ^a	1,42 ^e

** Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon yüzdesi 16,67-45,83 arasında değişmiştir. En az %16,67 ve en fazla %45,83 olarak not edilen sürgün rejenerasyon oranı sırasıyla 1,50 mg/l BAP ve 2,00 mg/l BAP+ 0,25 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.. Eksplant başına sürgün sayısı ise 1,42-6,58 adet arasında değişirken en fazla 6,58 adet sürgün 1,00 mg/l BAP içeren ortamda elde edilmiştir. Sonuçların genel olarak değerlendirilmesi sonucunda, BAP ile NAA içeren MS ortamlarında, yalnız BAP içeren MS ortamlarına göre 1-3 kat daha az sürgün oluşumu

kaydedilmiştir. Benzer şekilde Aasim ve ark., (2008) tarafından bürülce bitkisinde BAP ile NAA karışımının sürgün rejenerasyonunda olumsuz etki yaptığı bildirilmiştir.

Elde edilen sürgünlerin çoğu hiperhidrik olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, bitkinin içerdiği fenolik bileşiklerden dolayı eksplantlar üzerinde kararma kaydedilirken, fenolik bileşikler elde edilen sürgünler üzerinde olumsuz etki yapıp; büyümesine engel olmuş ve sürgünlerin ölümüne yol açmışlardır.

4.3.3. Farklı BAP-NAA Dozlarının Dark Opel Çeşidinin Yaprak Eksplantından Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi

Bu denemede Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin yaprak eksplantları farklı BAP (0,25, 0,50, 1,00, 1,50 ve 2,00 mg/l) ile 0 veya 0,25 mg/l NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. 8 hafta sonra kallus oluşumu yüzdesi, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.10 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortam	9	1271,94	4,07**	0,70	6,52**	8,42	8,65**
Hata	20	312,89	-	0,70	-	0,97	-
Genel toplam	29	-	-	-	-	-	-

** 0,01 düzeyinde önemli

Tüm eksplantlarda kallus oluşumu gözlemlendiği için istatistik analizi yapılmamıştır. Ayrıca, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu oluşumunda BAP-NAA dozlarının 0.01 düzeyinde etkileşimi bulunmuştur (Çizelge 4.10). Bu etkileşimin önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	NAA (mg/l)			
0,25	–	33,33 ^{b**}	2,60 ^{ab**}	2,37 ^{de**}
0,50	–	23,80 ^b	1,33 ^e	3,66 ^{bcd}
1,00	–	33,33 ^b	2,33 ^{abc}	3,12 ^{cd}
1,50	–	57,13 ^{ab}	2,58 ^{ab}	2,06 ^{de}
2,00	–	42,80 ^b	2,00 ^{bcd}	0,97 ^e
0,25	0,25	80,93 ^a	1,66 ^{de}	5,22 ^{ab}
0,50	0,25	80,93 ^a	1,62 ^{de}	6,51 ^a
1,00	0,25	38,06 ^b	1,76 ^{cde}	4,58 ^{bc}
1,50	0,25	38,10 ^b	1,66 ^{de}	3,79 ^{bcd}
2,00	0,25	28,60 ^b	2,66 ^a	2,05 ^{de}

**Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.11'de görüldüğü gibi sürgün rejenerasyonu %23,80-80,93 arasında değişmiştir. En az %23,80 sürgün rejenerasyonu 0,50 mg/l BAP ve en fazla %80,93 sürgün rejenerasyon yüzdesi 0,25 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA ile 0,25 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı ise 1,33-2,66 (adet) arasında kaydedilirken en fazla 2,66 adet sürgün 2,00 mg/l BAP+ 0,25 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. BAP dozunun oranı arttıkça, sürgün oluşumunda azalma görülmüştür. Benzer şekilde ortamlara NAA eklendiğinde de sadece BAP içeren ortamlara göre daha az sürgün kaydedilmiştir. Benzer sonuçlar börülce (Aasim ve ark., 2008, 2009b) ve nohut (Aasim ve ark., 2011) bitkisinde de kaydedilmiştir. Sürgün uzunluğu ise 0,97-6,51cm arasında kaydedilirken, ortalama 6,51 cm. olan en uzun sürgünler 0,20 mg/l BAP+0,10 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Echeverrigaray ve ark., (2000) *Anthemis nobilis* bitkisinde 1,0-18,0 µM BA-1,0-2,5 µM içeren ortamlarda yaprak eksplantından %4,0-84 sürgün rejenerasyonu, 1,0-9,6 adet de eksplant başına sürgün elde etmiştir. Mahesh ve ark., (2012) *Launaea sarmentosa* bitkisinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyon için 0,5 mg/l BA+0,2 mg/l NAA içeren ortamın olması gerektiğini kaydetmişlerdir.

4.3.4. Farklı TDZ Dozlarının Dark Opel Çeşidinin Farklı Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu

Bu denemede Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin sürgün ucu ve hipokotil eksplantları farklı TDZ (0,10, 0,20, 0,40 ve 0,80 mg/l) içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Her iki eksplantta da %100 kallus oluşumu gözlemlendiği için kallus oluşumu yüzdesi verileri istatistik analizine tabi tutulmamıştır. Tüm eksplantlarda dört hafta sonra fenolik bileşiklerden dolayı kararma görülmüştür. Dört hafta sonra, eksplantlar 1,0 mg/l PVP ilave edilen ortamda kültüre alınmıştır. 8 hafta sonra kallus oluşumu, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12 Farklı TDZ dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Sürgün ucu							
Ortam	3	329,86	0,792 ^{ös}	3,22	5,14**	0,27	28,07**
Hata	8	416,667	-	0,63	-	0,01	-
Genel toplam	11	-	-	-	-	-	-
Hipokotil							
VK	SD	KO	F	KO	F	KO	F
Ortam	3	2968,75	57,00**	8,67	38,95**	1,48	17,10**
Hata	8	52,08	-	0,22	-	0,09	-
Genel toplam	11	-	-	-	-	-	-

ös Önemli, ** 0,01 düzeyinde önemli

Çizelgede görüldüğü gibi sürgün ucu eksplantında sürgün rejenerasyon yüzdesi istatistiki olarak önemli bulunmazken, hipokotil eksplantından 0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Her iki eksplantta eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda farklı TDZ dozlarının etkilerinden dolayı istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur. Bu etkileşimin önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları çizelge 4.13'te verilmiştir.

Çizelge 4.13: Farklı TDZ dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin sürgün ucu ve hipokotil eksplantlarından rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri TDZ (mg/l)	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
	Sürgün ucu	Hipokotil	Sürgün ucu	Hipokotil	Sürgün ucu	Hipokotil
0,10	50,00 ^{ös}	33,33 ^{c**}	2,00 ^{b**}	2,33 ^{c**}	1,58 ^{a**}	2,33 ^{a**}
0,20	75,00 ^{ös}	75,00 ^b	2,67 ^{ab}	4,67 ^b	1,27 ^b	1,13 ^b
0,40	66,66 ^{ös}	100,00 ^a	4,44 ^a	6,11 ^a	1,07 ^{bc}	1,01 ^b
0,80	66,66 ^{ös}	100,00 ^a	2,83 ^{ab}	3,00 ^c	0,89 ^c	0,75 ^b

**Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

Çizelgede 4.13'te görüldüğü gibi sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyon yüzdesi 50,00-66,66 arasında kaydedilirken, hipokotil eksplantından %33,33-100 arasında kaydedilmiştir. Her iki eksplanta en az sürgün rejenerasyonu 0,10 mg/l TDZ içeren MS ortamında elde edilmiş olup, TDZ oranı artışı ile sürgün rejenerasyonunda da artışı gözlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı bakımında sürgün ucu ve hipokotil eksplantından sırasıyla 2,00-4,43 ve 2,33-6,11 adet sürgün elde edilmiştir. Her iki eksplanttan en fazla eksplant başına sürgün sayısı 0,40 mg/l TDZ içeren ortamda elde edilmiştir. Genel olarak, TDZ'nin her oranında hipokotil eksplanttan, sürgün ucu ekaplanta göre daha fazla sürgün elde edilmişti. Aasim ve ark., (2009a) Trigonella bitkisinde sürgün ucu eksplantından 0,40 mg/l TDZ içeren ortamda 27,75 adet sürgün elde edilmiştir. Benzer şekilde börülcenin Akkız ve Karagöz çeşitlerinde gelrit ile katılaştırılmış 0,25 mg/l TDZ içeren ortamda en fazla sürgün elde edilmiştir (Aasim ve ark., 2009c). Sürgün uzunluğu ise sürgün ucu eksplantından 0,89-1,58cm arasında kaydedilirken, hipokotil eksplantından 0,75-2,33 cm. arasında değişmiştir. Her iki eksplanttan sırasıyla 1,58cm. ve 2,33 cm. olan en uzun sürgün 0,10 mg/l TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Denemede TDZ oranının arttırılmasına bağlı olarak sürgün uzunluğunda da azalma gözlenmiştir. Aasim ve ark., (2009c) börülcenin Akkız ve Karagöz çeşitlerinde en uzun sürgünü 0,15 mg/l TDZ içeren ortamdan elde etmiştir. TDZ oranının arttırılması sürgün uzunluğunda olumsuz etkisi göstermiştir. Benzer sonuçlar Trigonella bitkisinde de Aasim ve ark., (2009a, 2010) tarafından rapor edilmiştir.

4.3.5. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Fesleğen'in Dark Opel Çeşidinin Kotiledon Boğum Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu

Bu denemede Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin kotiledon boğum eksplantları farklı BAP (0,25, 0,50, 1,00, 1,50 ve 2,00 mg/l) ile 0 veya 0,25 mg/l NAA ve 1,00 mg/l PVP içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. 8 hafta sonra kallus oluşumu yüzdesi, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortam	9	1271,94	4,07**	0,70	6,52**	8,42	8,65**
Hata	20	312,89	-	0,70	-	0,97	-
Genel toplam	29	-	-	-	-	-	-

** 0,01 düzeyinde önemli

Tüm eksplantlarda kallus oluşumu gözlemlendiği için istatistik analizi yapılmamıştır. Ayrıca, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu oluşumunda istatistiksel olarak 0,01 düzeyinde farklı BAP-NAA dozları ve kombinasyonların etkilerinden dolayı önemli farklılık görülmüştür (Çizelge 4.14). Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15'te görüldüğü gibi sürgün rejenerasyonu %23,80-80,93 arasında kaydedilmiştir. En az %23,80 sürgün rejenerasyonu 0,20 mg/l TDZ'de ve en fazla %80,93 sürgün rejenerasyonu 0,10 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA ile 0,20 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren MS ortamlarından elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre farklı TDZ oranları ile 0,10 mg/l IBA içeren ortamlarda sürgün rejenerasyonunda olumsuz etki kaydedilirken belirgin bir düşüş gözlenmiştir. *Trigonella* bitkisinde benzer şekildeki ortamlarda 0,10 mg/l IBA eklendiğinde sürgün rejenerasyonunda azalma kaydedilmiştir (Aasim ve ark., 2010). Benzer şekilde TDZ içeren ortamda yüksek oranda sürgün rejenerasyon Malik ve Saxena, (1992), Khawar ve Özcan, (2002),

Khawar ve ark., (2004) ve Sevimay ve ark., (2005) tarafından da diğer bitkilerde rapor edilmiştir.

Çizelge 4.15 Farklı TDZ-NAA dozlarının Fesleğen'in Dark Opel çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait Duncan testi sonuçları

Büyüme Düzenleyicileri		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
TDZ (mg/l)	IBA (mg/l)			
0,10	—	33,33 ^{b**}	2,60 ^{ab**}	2,37 ^{de**}
0,20	—	23,80 ^b	1,33 ^e	3,66 ^{bcd}
0,40	—	33,33 ^b	2,33 ^{abc}	3,12 ^{cd}
0,80	—	57,13 ^{ab}	2,58 ^{ab}	2,06 ^{de}
1,60	—	42,80 ^b	2,00 ^{bcd}	0,97 ^e
0,10	0,10	80,93 ^a	1,66 ^{de}	5,22 ^{ab}
0,20	0,10	80,93 ^a	1,62 ^{de}	6,51 ^a
0,40	0,10	38,06 ^b	1,76 ^{cde}	4,58 ^{bc}
0,80	0,10	38,10 ^b	1,66 ^{de}	3,79 ^{bcd}
1,60	0,10	28,60 ^b	2,66 ^a	2,05 ^{de}

**Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

Eksplant başına sürgün sayısı ise 1,33-2,66 (adet) arasında değişirken en fazla 2,66 adet sürgün 1,60 mg/l TDZ+ 0,10 mg/l IBA içeren ortamdan elde edilmiştir. BAP dozunun oranı arttıkça sürgün oluşumunda azalma görülmüştür. Benzer şekilde TDZ ile NAA içeren ortamlarda, TDZ içeren ortamlara göre daha az sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Sürgün uzunluğu 0,97-6,51cm arasında kaydedilirken, en uzun (6,51 cm) sürgünler 0,20 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. TDZ+IBA ve TDZ içerdiği MS ortam arasında kıyaslama sonucunda sürgün uzunluğu bakımından TDZ içeren ortamlarda %100 artış görülmüştür. Benzer şekilde 0,1 mg/l IBA eklendiğinde sürgün uzunluğundaki artışının *Trigonella* (Aasim ve ark., 2010) ve tüglü fiğ bitkisinde olduğu Aasim ve ark., (2011) tarafından rapor edilmiştir.

4.4. Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Sürgün Rejenerasyon Çalışmaları

4.4.1. Farklı BAP-NAA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Tohum Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Bu denemede Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantları farklı BAP (0,25, 0,50, 1,00, 1,50 ve 2,00 mg/l) ile 0 veya 0,25 mg/l IBA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Tohum eksplantı nohut (Polisetty ve ark., 1997), maş fasulyesi (Harisaranraj ve ark., 2008), yerfistik (Li ve ark., 1994; Cucco ve Juame, 2000; Gagliardi ve ark., 2000; Palanivel ve Jayabalan 2002; Pacheco ve ark., 2007), narbon fiğ (Kendir ve ark., 2009) gibi bir çok baklagillerde, çeltik (Masaaki ve ark., 2004; Bano ve ark., 2005), buğday (Malik ve ark., 2004) gibi tahıllarda ve *Epimedium alpinum* L. (Mihaljević ve Vršek, 2008), soğan (Khar ve ark., 2005) ve ıspanak gibi (Al-Khayri ve ark., 1992) bitkilerde diğer çoklu sürgün oluşumu için başarıyla kullanılmıştır. İki hafta sonra eksplantların kök kısmında kallus oluşumu (Şekil 4.4a) gözlenmiş olup, dört hafta sonra, bazı eksplantlarda çoklu sürgün oluşumu (Şekil 4.4b) gözlenmiştir. Sekiz hafta sonra (Şekil 4.4c) deneme sonuçlandırılmış olup, kallus oluşum yüzdesi, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.16).



Şekil 4.4 Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantından sürgün rejenerasyonu, (a) ik hafta (b) dört hafta sonra çoklu sürgün oluşumu ve (c) sekiz hafta sonra normal büyümüş çoklu sürgünler

Çizelge 4.16'da görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından farklı BAP-IBA içeren ortamların sürgün oluşumunda istatistik olarak farklılık bulunmamıştır. Buna karşılık kallus oluşumu

bakımından farklı BAP-IBA içeren ortamlar arasında istatistik olarak 0,05 düzeyinde farklılık bulunmuştur. Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.16 Farklı BAP-NAA dozlarının Fesleğen’in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Kallus oluşumu Yüzdesi (%)		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	
		KO	F	KO	F
Ortam	9	771,85	1,119*	573,70	0,81 ^{ös}
Hata	20	690,00	-	706,67	-
Genel toplam	29	-	-	-	-
VK	SD	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
Ortam	9	0,10	0,69 ^{ös}	1,361	0,843 ^{ös}
Hata	29	0,15	-	1,615	-
Genel toplam	20	-	-	-	-

* 0,05 düzeyinde önemli, ^{ös} önemsiz

Çizelge 4.17’de görüldüğü gibi kallus oluşumu yüzdesi 66,66-100 arasında kaydedilmiştir. En düşük kallus oluşumu yüzdesi (%66,66) 1,00 mg/l BAP içeren ortam ile 1,50 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilmişti. Benzer şekilde BAP+IBA dozlarının etkisindeki kallus oluşumları sadece BAP dozları kullanılan kallus oluşumlarından daha büyük olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık, Aasim ve ark., (2011) tüylü fiğ bitkisinde, sadece radikula kısmından rapor etmiştir. Kendir ve ark., (2009), narbon fiğ bitkisinde BAP içeren ortamlarda kallus oluşumu gözlememiştir.

Sürgün rejenerasyon yüzdesi 63,33-100 arasında kaydedilmiştir. En düşük sürgün rejenerasyon yüzdesi (%63,33) 1,00 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA ile 1,50 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren ortamlarda elde edilmiştir. En yüksek sürgün rejenerasyon yüzdesi (%100) 0,25 mg/l ile 0,50 mg/l BAP içeren ortamlar ve 0,50 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA ile 2,00 mg/l BAP+ 0,25 mg/l NAA içeren ortamlarda elde edilmiştir. Sürgün rejenerasyon sadece embriyo kısmında gerçekleşmiştir. Benzer şekilde Kendir ve ark., (2009) narbon fiğ ve Aasim ve ark., (2011) tüylü fiğ bitkisinde de embriyonik eksenden gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.17 Farklı BAP-NAA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait Duncan testi sonuçları

Büyüme Düzenleyicileri		Kallus Oluşum Yüzdesi (%)	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
BAP (mg/l)	IBA (mg/l)				
0,25	—	100,00 ^{a*}	100,00 ^{ös}	1,00 ^{ös}	3,00 ^{ös}
0,50	—	100,00 ^a	100,00	0,70	2,15
1,00	—	66,66 ^b	66,66	0,70	2,46
1,50	—	96,66 ^a	96,66	1,13	2,26
2,00	—	96,66 ^a	96,66	1,06	1,73
0,25	0,25	96,66 ^a	96,66	1,00	1,44
0,50	0,25	100,00 ^a	100,00	0,66	3,10
1,00	0,25	80,00 ^a	63,33	0,71	2,90
1,50	0,25	66,66 ^b	63,33	1,00	1,13
2,00	0,25	100,00 ^a	100,00	1,06	1,83

*Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0,05 düzeyinde önemlidir.

Eksplant başına sürgün sayısı 0,71-1,06 arasında kaydedilirken en fazla sürgünler 2,00 mg/l BAP ile 2,00 mg/l BAP+ 0,25 mg/l NAA içeren ortamlarda elde edilmiştir. Denemede çoğu ortamlarda çoklu sürgün oluşumu kaydedilmemiştir. Buna karşılık Kendir ve ark., (2009) narbon fiğ bitkisinde BAP içeren ve Aasim ve ark., (2011) tüylü fiğ bitkisinde TDZ-IBA içeren ortamlarda çoklu sürgün oluşumu elde edilmiştir.

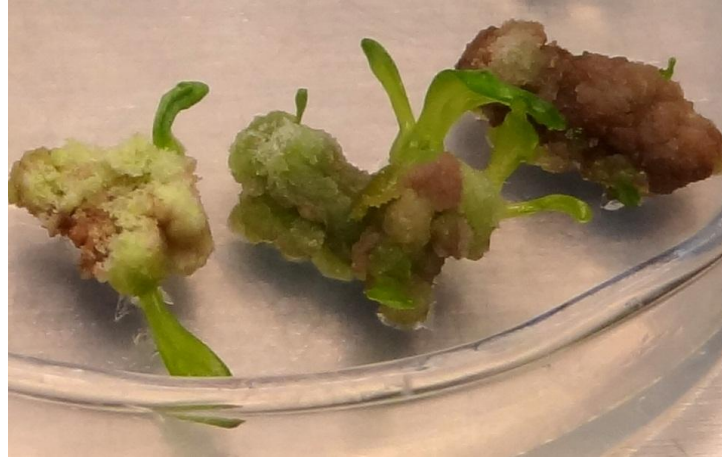
Sürgün uzunluğu 1,13-3,10 cm arasında kaydedilirken, en uzun (3,10cm) sürgünler 0,50 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Benzer şekilde Kendir ve ark., (2009) narbon fiğ bitkisinde BAP oranı artmasıyla sürgün uzunluğunda azalma kaydetmiştir.

Bazı sürgünlerde adventif kök oluşumu da kaydedilmiş ve köklenmiş bitkileri toprağa aktarılıp adaptasyon sağlanmıştır, Köklenmemiş bitkiler 0,5 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmiştir.

4.4.2. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Epikotil Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil eksplantları farklı TDZ (0,10, 0,20, 0,40, 0,80 ve 1,60 mg/l) ile 0 veya 0,10 mg/l IBA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. 8 hafta sonra (Şekil 4.5) %100 kallus oluşumu olduğu için istatistik analizi

yapılmamıştır. Ancak, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.18).



Şekil 4.5 Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonu

Çizelge 4.18 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortam	9	1368,89	16,43**	4,11	24,64**	2,38	159,40**
Hata	20	83,33	-	0,17	-	0,02	-
Genel toplam	29	-	-	-	-	-	-

** 0,01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.18'de görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon yüzdesi eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda TDZ-IBA dozlarının etkilerinden 0,01 düzeyinde farklılık bulunmuştur. Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.19'da verilmiştir.

Çizelgede 4.19'da görüldüğü gibi epikotil eksplantı TDZ-IBA oranlarında sonuç vermiştir. Sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu 0,80 mg/l TDZ, 1,60 mg/l TDZ ve 0,10 mg/l TDZ + 0,10 mg/l IBA içeren ortamlarda kaydedilmiştir. En fazla sürgün rejenerasyon yüzdesi (%66,66) ve eksplant başına (2,33 adet) sürgün sayısı 1,60 mg/l TDZ içeren ortamda elde edilmiştir. Buna karşı 2,36 cmlik

en uzun sürgünler ise 0,10 mg/l TDZ + 0,10 mg/l IBA içeren MS ortamda kaydedilmiştir.

Çizelge 4.19 Farklı BAP+NAA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
TDZ (mg/l)	IBA (mg/l)			
0,10	—	0,00 ^{c**}	0,00 ^{c**}	0,00 ^{c**}
0,20	—	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
0,40	—	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
0,80	—	20,00 ^b	3,00 ^c	1,58 ^b
1,60	—	66,67 ^a	2,33 ^{ab}	1,38 ^b
0,10	0,10	20,00 ^b	1,67 ^b	2,36 ^a
0,20	0,10	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
0,40	0,10	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
0,80	0,10	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c
1,60	0,10	0,00 ^c	0,00 ^c	0,00 ^c

**Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

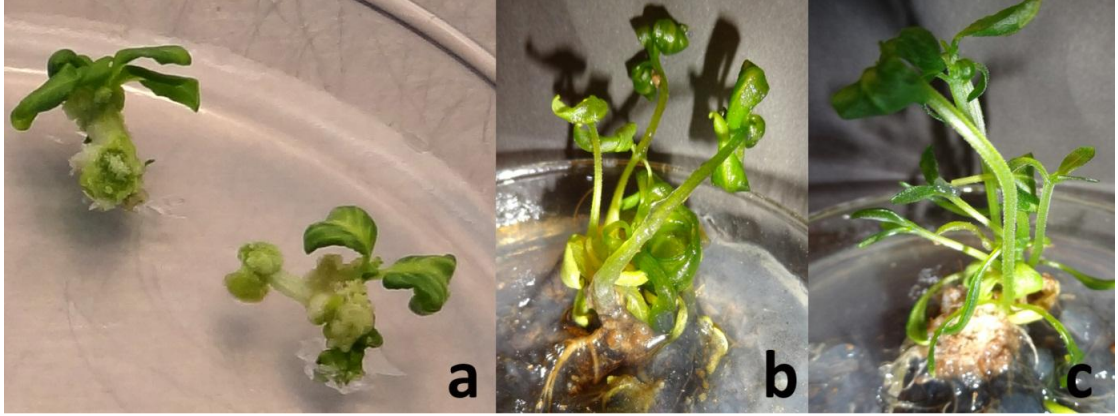
Epikotil eksplantı bazı bitkilerde başarıyla kullanılmıştır. Dejam ve ark., (2006) Bakrai (*Citrus reticulata* Blancox, *limetta* Swing.); Cheruvathur ve ark., (2010) *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb; bitkilerinde başarıyla kullanmıştır. Diğer tüm ortamlarda kallus oluşumu dışında her hangi bir gelişme kaydedilmemiştir.

Elde edilen sürgünler köklenme amacıyla farklı IBA içeren ortamında kültüre alınıp daha sonra saksılarda bulunan çiçek toprağa aktarılıp, dış koşullara adaptasyon sağlanmıştır.

4.4.3. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Kotiledon Boğum Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Bu denemede Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin kotiledon boğum eksplantları farklı TDZ (0,10, 0,20, 0,40, 0,80 ve 1,60 mg/l) ile 0 veya 0,10 mg/l IBA ve 1,0 mg/l PVP içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır, Dört hafta sonra eksplantlar üzerinde çoklu sürgün oluşumu ile kallus oluşumu (Şekil 4.6a) da kaydedilmiştir, Fakat, bitkinin içerdiği fenolik bileşiklerden dolayı kararma görüldüğü için, kararmayı ortadan

kaldırmak amacıyla 3,0 g/l aktif kömür içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. İki hafta sonra, sürgünler büyüme başlamış (Şekil 4.6b) ve sekiz hafta sonra (Şekil 4.6c) sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.20).



Şekil 4.6 Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonu, (a) iki hafta (b) dört hafta sonra çoklu sürgün oluşumu ve (c) sekiz hafta sonra normal büyümüş çoklu sürgünler

Elde edilen sonuçlar Uçar ve Turgut, (2009)'un sonuçlarına uyum sağlamaktadır. Araştırmacılar, *Sideritis stricta* bitkisinde içerdiği fenolik bileşikler önlemek amacıyla ortamlarda aktif kömürün faydalı olduğunu tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.20 Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
Ortam	9	155,56	0,47 ^{ös}	0,61	2,03**	12,09	5,78**
Hata	20	333,33	-	0,30	-	2,09	-
Genel toplam	29	-	-	-	-	-	-

** 0,01 düzeyinde önemli, ^{ös} önemsiz

Çizelge 4.20'de görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon yüzdesi istatistik olarak önemsiz bulunmuştur. Buna karşılık farklı kombinasyonlarda TDZ+IBA dozlarının eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından 0,01 düzeyinde önemli farklılık

bulunmuştur. Bu farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.21’de verilmiştir.

Çizelge 4.21 Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen’in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin kotiledon boğum eksplantından sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme Düzenleyicileri		Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)
TDZ (mg/l)	IBA (mg/l)			
0,10	—	100,00 ^{ös}	1,00 ^{b***}	8,71 ^{a***}
0,20	—	80,00 ^{ös}	1,67 ^{ab}	3,71 ^b
0,40	—	80,00 ^{ös}	2,67 ^a	3,89 ^b
0,80	—	80,00 ^{ös}	2,00 ^{ab}	4,43 ^b
1,60	—	80,00 ^{ös}	2,33 ^a	2,86 ^b
0,10	0,10	80,00 ^{ös}	1,67 ^{ab}	8,28 ^a
0,20	0,10	73,33 ^{ös}	1,67 ^{ab}	4,59 ^b
0,40	0,10	86,67 ^{ös}	2,67 ^a	4,87 ^b
0,80	0,10	80,00 ^{ös}	2,00 ^{ab}	4,53 ^b
1,60	0,10	86,67 ^{ös}	2,00 ^{ab}	3,08 ^b

***Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

Çizelgede 4.21’de görüldüğü gibi sürgün rejenerasyon yüzdesi önemsiz bulurken %73,33-100 arasında kaydedilmiştir. Benzer şekilde Aasim ve ark., (2010) *Trigonella foenumgraceum* bitkisinde TDZ-IBA içeren ortamında sürgün rejerasyonu %54,17-100,00 olarak kaydedilmiştir. Kendir ve ark., (2008) narbon fiğ bitkisinde farklı kinetin içeren ortamda %46,66-93,33 sürgün rejenerasyonu elde etmiştir.

Eksplant başına sürgün sayısı ise 1,00-2,67 adet arasında kaydedilirken en fazla (2,67 adet) sürgünler 0,40 mg/l TDZ ve 0,40 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren ortamda elde edilmiştir. Benzer şekilde Kendir ve ark., (2008) narbon fiğ bitkisinde farklı kinetin içeren ortamda 2,11-3,58(Adet) arasında elde etmiştir. Denemede TDZ oranı arttıkça sürgün sayıları da artmıştır. Buna karşı TDZ oranı arttıkça sürgünlerde uzama kaydedilmiştir. Aasim ve ark., (2010) ise *Trigonella foenumgraceum* bitkisinde kotiledon boğum eksplantında TDZ oranı artışı ile sürgün sayısında da artış kaydetmiştir.

En fazla 22,21 adet sürgün 0,80 mg/l TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu 2,86-8,87 cm. arasında değişirken, istatistiksel olarak benzerlik gösterip, en uzun sürgün (8,71cm ve 8,28 cm) sırasıyla 0,10 mg/l TDZ ve 0,10 mg/l TDZ + 0,10 mg/l IBA içeren MS ortamdan elde edilmiştir. Benzer şekilde, Aasim ve ark., (2010)

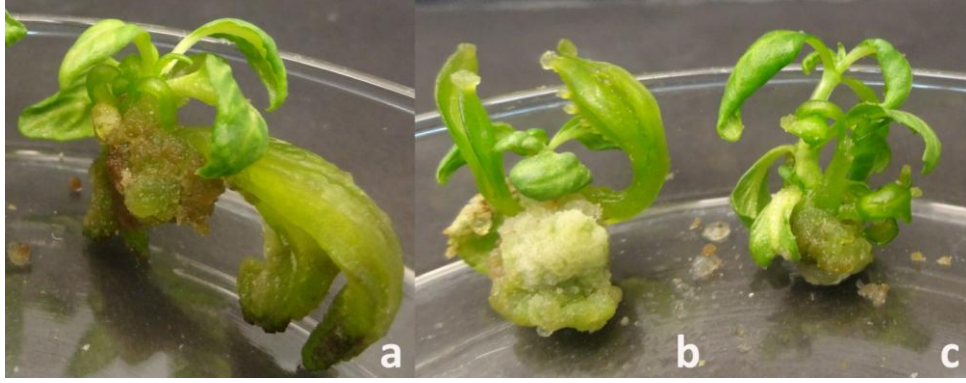
Trigonella foenumgraceum bitkisinde en uzun sürgünleri, 0,05 mg/l TDZ ve 0,05 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren ortamdan elde etmiştir.

Bazı sürgünlerde adventif kök oluşumu kaydedilmiş olup, adaptasyon sağlamak için direkt toprağa aktarılmıştır. Ayrıca, köklenmemiş bitkiler 0,50 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilmiştir ve daha sonra dış koşullara adaptasyon sağlamak amacıyla çiçek toprağı içeren saksılara aktarılmıştır.

Son yıllarda, kotiledon boğum eksplantı rekalsitrant (recalcitrant) bitkilerde bir çok araştırmacı tarafından tercih edilen eksplantlar olarak bulunmaktadır. Bu eksplantta *Vigna radiata* (Gulati ve Jaiwal, 1994), börülce (Obembe ve ark., 2000; Van Le ve ark., 2002; Diallo ve ark., 2008; Aasim ve ark., 2012), *Vicia narbonensis* (Kendir et al., 2008; Kendir ve ark., 2009), Macar fiğ (Sahin-Demirbag ve ark., 2008a), *Trifolium pannonicum* (Sahin-Demirbag ve ark., 2008b) kullanmışlardır. Ayrıca, kotiledon boğumu için mercimek (Khawar ve ark., 2004, Dogan ve ark., 2005), yabancı mercimek (Sevimay ve ark., 2005), börülce (Popelkave ark., 2006, Chaudhary ve ark., 2007), nohut (Sanyal ve ark., 2003) ve *Pisum sativum* (Svabova ve ark., 2005) gibi bitkileri de gen aktarım çalışmalarında kullanılmıştır.

4.4.4. Farklı TDZ-IBA Dozlarının Antalya Geniş Yaprak Çeşidinin Farklı Eksplantından Sürgün Rejenerasyonu

Bu denemede Fesleğen'in Antalya Geniş yaprak çeşidinin *in vitro* koşullarda çimlenen 8-10 günlük fidelerden elde edilen epikotil, hipokotil ve sürgün ucu eksplantları yüksek oranda TDZ (0,80, 1,20, 1,60, 2,00 ve 2,40 mg/l) ve 1,0 mg/l PVP içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Yüksek miktarda TDZ içeren ortamlardan dolayı iki hafta sonra tüm eksplantlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Beş hafta sonra tüm eksplantlarda belirgin şekilde sürgün oluşumu (Şekil 4.7 a,b,c) gözlenmiştir. Sekiz hafta sonra kallus oluşumu, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri varyans analizine tabi tutulmuştur (Çizelge 4.22).



Şekil 4.7 Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin beş hafta sonra (a) epikotil, (b) hipokotil ve (c) sürgün ucu eksplantından sürgün rejenerasyonu

Çizelge 4.22'de görüldüğü gibi epikotil eksplantında sürgün rejenerasyon yüzdesi bakımından ortamlar ve eksplantlar arasında farklılığı istatistiki olarak önemsiz bulunurken, hipokotil ve sürgün ucu eksplantında bu farklılık ortamlar arasında 0,01 düzeyinde önemli olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.22 Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin epikotil, hipokotil ve sürgün ucu eksplantlarından sürgün rejenerasyonuna ait varyans analizi

VK	SD	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)		Sürgün Uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F	KO	F
EPIKOTİL							
Ortam	9	252,32	0,87 ^{ns}	0,77	2,08**	0,10	2,54**
Hata	20	291,67		0,39		0,40	
Genel toplam	29	-	-	-	-	-	-
HIPOKOTİL							
Ortam	3	937,50	2,37**	5,09	3,39**	0,13	3,02**
Hata	8	395,83		1,50		0,04	
Genel toplam	11						
SÜRGÜN UCU							
Ortam	3	462,96	3,70**	1,01	1,39*	0,13	1,83*
Hata	8	125,00		0,73		0,07	
Genel toplam	11						

** 0,01 düzeyinde önemli, ^{ns} önemsiz

Eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerinde farklı TDZ dozlarının epikotil ve hipokotil eksplantlarının etkileşimi 0,01 düzeyinde ve sürgün ucu ise 0,05

düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu etkileşimin önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.23'te verilmiştir.

Çizelgede 4.23'te görüldüğü gibi epikotil eksplantında sürgün rejenerasyon yüzdesi arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz olup, 75,00-100,00 arasında kaydedilmiştir. Buna karşılı, hipokotil ve sürgün ucu eksplantlarından sürgün rejenerasyon yüzdesi sırasıyla %25,00-83,33 ve 66,67-100,00 olarak kaydedilmiştir. Tüm eksplantlarda genel olarak en fazla sürgün rejenerasyonu 2,00 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren ortamlarda elde edilmiştir. Deneme sonuçlarına göre farklı oranlarda TDZ ile 0,10 mg/l IBA içeren ortamlarda, 0,10 mg/l IBA içermeyen ortamlara göre daha fazla sürgün rejenerasyonu görülmüştür.

Çizelge 4.23 Farklı TDZ-IBA dozlarının Fesleğen'in Antalya Geniş Yaprak çeşidinin sürgün ucu eksplantı rejenerasyonuna etkisi

TDZ (mg/l)	IBA (mg/l)	Sürgün Rejenerasyon Yüzdesi (%)			Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)			Sürgün Uzunluğu (cm)		
		Epi-kotil	Hipo-kotil	Sürgün ucu	Epi-kotil	Hipo-kotil	Sürgün ucu	Epi-kotil	Hipo-kotil	Sürgün ucu
0,80	—	91,67	58,33 ^{abc}	75,00 ^{bc}	2,89 ^{ab}	3,39 ^{ab}	2,03 ^{ab}	0,85 ^a	0,65 ^a	0,94 ^a
1,20	—	100,00	58,33 ^{abc}	100,00	2,25 ^{ab}	2,55 ^b	2,17 ^{ab}	0,56 ^{abc}	0,79 ^a	0,93 ^a
1,60	—	75,00	41,67 ^{bc}	66,67 ^c	1,83 ^b	1,33 ^b	1,55 ^c	0,48 ^{abc}	0,18 ^b	0,41 ^b
2,00	—	91,67	41,67 ^{bc}	100,00	2,33 ^{ab}	5,17 ^a	3,17 ^{ab}	0,33 ^c	0,22 ^b	0,65 ^{ab}
2,40	—	83,33	41,67 ^{bc}	91,67 ^{ab}	2,33 ^{ab}	1,67 ^b	2,28 ^{ab}	0,27 ^c	0,22 ^b	0,39 ^b
0,80	0,10	100,00	25,00 ^c	83,33 ^{abc}	1,83 ^b	1,00 ^b	2,39 ^{ab}	0,42 ^{abc}	0,63 ^a	0,40 ^b
1,20	0,10	83,33	50,00 ^{abc}	100,00 ^a	2,92 ^{ab}	1,00 ^b	2,67 ^{ab}	0,80 ^{ab}	0,50 ^{ab}	0,60 ^{ab}
1,60	0,10	100,00	66,67 ^{ab}	100,00 ^a	2,17 ^{ab}	1,42 ^b	2,67 ^{ab}	0,55 ^{abc}	0,50 ^{ab}	0,50 ^{ab}
2,00	0,10	100,00	83,33 ^a	100,00 ^a	3,08 ^{ab}	1,53 ^b	2,77 ^{ab}	0,51 ^{abc}	0,49 ^{ab}	0,43 ^{ab}
2,40	0,10	83,33	75,00 ^{ab}	100,00 ^a	3,22 ^{ab}	1,95 ^b	3,58 ^a	0,59 ^{abc}	0,58 ^{ab}	0,58 ^{ab}

** Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,01 düzeyinde önemlidir.

* Aynı sütunda küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında fark 0,05 düzeyinde önemlidir.

^{os} önemsiz

Epikotil, hipokotil ve sürgün ucu eksplantlarından, eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 1,83-3,08, 1,00-5,17 ve 1,55-3,58 adet arasında kaydedilmiştir. Epikotil (3,22) ve sürgün ucu (3,58) eksplantlarında; eksplant başına en fazla sürgünler 2,40 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren ortamlarda elde edilirken, hipokotil (5,17) eksplantında 2,00 mg/l TDZ içeren MS ortamında elde edilmiştir. Genel olarak, ortamda IBA varlığının epikotil ve sürgün ucu eksplantında olumlu, hipokotil eksplantında ise olumsuz şekilde etkisinin olduğunu göstermiştir.

Sürgün uzunluğu bakımında epikotilden 0,27-0,85 cm., hipokotilden 0,18-0,79 cm. ve sürgün ucu eksplantından 0,39-0,94 cm. olan sürgünler kaydedilmiştir. Tüm

eksplantlarda en uzun sürgünler 0,80 mg/l TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Denemede TDZ oranının arttırılmasıyla tüm eksplantlarda sürgün uzunluğunda da azalma gözlenmiştir. Üzerine IBA ilave edilen, 1,20 mg/l TDZ içeren ortamlarda sürgün uzunluğunda olumlu etkiler kaydedilmiştir.

Denemede yüksek oranda TDZ veya TDZ-IBA kullanıldığında her üç eksplantta da yüksek oranda gelişme kaydedilmiştir. Dejam ve ark., (2006) bakrai bitkisinde 1,0-4,0 mg/l BAP ile 0, 0,5 ve 1,0 mg/l NAA içeren ortamda ve Siddique ve ark., (2012) *Cassia angustifolia* Vahl bitkisinde 0,5–10,0 µM BA, içeren ortamda epikotil eksplantından başarıyla sürgün oluşumu elde etmiştir.

Yüksek oranda tek TDZ veya TDZ-IBA'nin sürgün oluşumunda olumlu etkisi gözlenmiştir. Aasim ve ark., (2010) *Trigonella* ve Aasim ve ark., (2011) tüğlü fiğ bitkisinde farklı eksplantlar kullanarak yüksek TDZ-IBA konsantrasyonlarda sürgün oluşumu kaydetmiştir. Buna karşı, Aasim ve ark., (2010) *Trigonella* bitkisinde hipokotil eksplantında sadece kallus oluşumu ile somatik embriyogenez gözlendiği rapor edilmiştir. Deneme arasındaki bu fark bitkinin farklı olduğunu ispatlamıştır.

Buna karşı, yaprak eksplantı kullanıldığında, tüm BAP-NAA içeren ortamlarda sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Benzer şekilde Echeverrigaray ve ark., (2000) *Anthemis nobilis* bitkisinde 1,0-18,0 µM BA-1,0-2,5 µM içeren ortamda yaprak eksplantından %4,0-84 sürgün rejenerasyonu, 1,0-9,6 adet eksplant başına sürgün elde etmiştir. Mahesh ve ark. (2012) *Launaea sarmentosa* bitksinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonu için 0,5 mg/l BA+0,2 mg/l NAA içeren ortamın olduğunu kaydetmişlerdir.

Benzer sonuçlar TDZ içeren ortamdan sürgün ucu eksplantı kullanılarak çoklu sürgün oluşumu Aasim ve ark., (2009) tarafından *Trigonella*'da ve börülce (Aasim ve ark., 2009c) bitkisinde de rapor edilmiştir. Yüksek oranda TDZ-IBA kullanan Aasim ve ark., (2009a, 2010) *Trigonella* ve tüğlü fiğ (Aasim ve ark., 2011) bitkisinde farklı eksplantlardan sürgün oluşumunu elde etmiştir.

4.5. *In vitro* Köklendirilmesi

Tez kapsamında yapılan tüm çoğaltım denemelerinde farklı oranlarda köklü bitkicikler de kaydedilmiştir. Ancak, köklenmemiş sürgünler köklendirme amacıyla farklı oranlarda 0,25, 0,50, 0,75 ve 1,00 mg/l IBA içeren ortamlarda kültüre alınmış olup, 10 gün içerisinde kök oluşumu gözlenmeye başlamıştır. Üç hafta sonra, tüm bitkilerde adventif kök oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca, sürgünlerin gövdelerinde de, koltuk altı meristemlerden uzanan kök oluşumu da kaydedilmiştir (Şekil 4.8a). Hiperhidrik olan sürgünlerde de kök oluşumu kaydedilmiştir. Dört hafta sonra, köklendirilmiş bitkicikler dış koşullara adaptasyon sağlanmak amacıyla (Şekil 4.8b) toprağa aktarılmıştır.

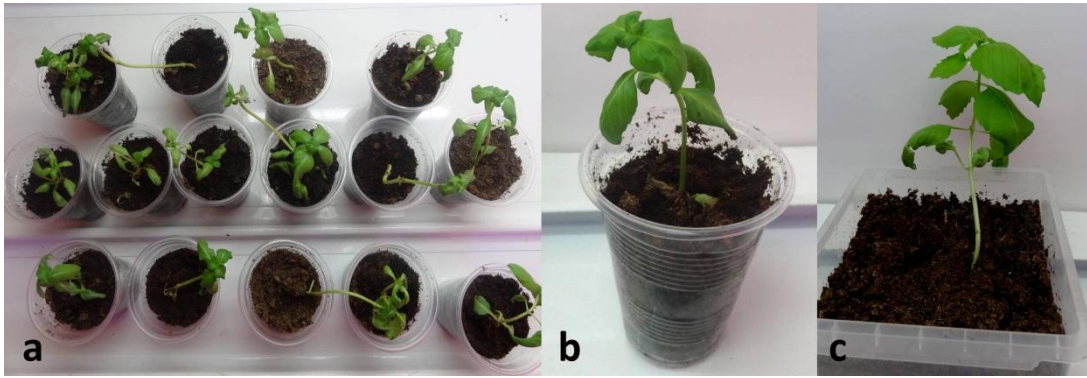


Şekil 4.8 Fesleğen bitkisinde *in vitro* kök oluşumu (a) gövde üzerinde adventif kökler (b) köklendirilmiş bitkiler

In vitro koşullarda elde edilen sürgünlerde köklendirme için IBA, çoğu birçok bitkide başarıyla kullanılmıştır. Söyler ve ark., (2007) keperi bitkisinde 3,0 mg/l IBA içeren ½ MS ortamında % 75' lik bir köklenme oranı elde etmiştir. Kara ve ark., (2011) çördük otu ve adaçayında en yüksek köklenme oranı sırasıyla; % 85,0, 82,3 ve 81,0, kök sayısı sırasıyla; 28,8, 21,6 ve 10,6 adet ve bitki ve kök uzunluğu 7,1, 6,1 ve 5,1 cm. olarak mart döneminde 4000 ppm IBA dozunda tespit etmiştir. Buna karşı, Aasim ve ark., (2009a, 2010) Trigonella bitkisinde IBA kullanıldığında kök oluşumu elde edilmemiştir.

4.6. *In Vitro* Köklendirilen Sürgünlerin Adaptasyonu

Köklendirilmiş bitkilerin köklerindeki agar ilk olarak köklere zarar vermeden çeşme suyu ile uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, börülce bitkisinde kullanılan protokol, Aasim Ve ark., (2008, 2009, 2010) tarafından kullanılarak bitkiler ilk olarak çeşme suyu içinde 10-15 dk bekletilmiştir. Bitkiler toprağa aktarılmadan önce, saksılara bol miktarda su verilmiştir. Bitkiler toprağa şaşırtıldıktan sonra bitkilerin nem dengesini koruyabilmek için saksılar üzerinde şeffaf poşetler geçirmişlerdir. 1 hafta sonra, poşetlerde delikler açılmıştır ve 11 gün sonra poşetler tamamen çıkarılıp, saksılar iklim odasında büyümeye bırakılmıştır (Şekil 4.9ab). Hiperhidrik olan bitkiler saksılarda adaptasyon sağlamazken, %50 civarında bitkilerde başarıyla adaptasyon sağlanmış olup, büyüme devam etmiştir (Şekil 4.9c).



Şekil 4.9 *In vitro* koşullarda çoğaltılmış Fesleğen bitkilerinin dış şartlarda adaptasyonu (a,b) toprağa aktarıldıktan iki hafta ve (c) beş hafta sonra bitki gelişimi

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Denemelerde kullanılan Fesleğen'in Manavgat, Dark Opel ve Antalya Geniş Yaprak çeşidinin yüzey sterilizasyonu için % 100 çamaşır suyu ve 20 dk. Muamele sonucunda %100 çimlenme kaydedilirken, her hangi bir bulaşık görülmemiştir.
2. Yüzey sterilizasyonundan sonra, tohumlar, 0,65 g/l agar ile katılaştırılmış MS0 içeren ortamda kültüre alınmıştır. 3-5 gün içinde tüm çeşitlerde (Manavgat, Dark Opel ve Antalya Geniş Yaprak) çimlenme başlamış olup, 7-9 gün içinde %100 çimlenme kaydedilmiştir. Çeşitler kıyaslandığında en erken çimlenme sırasıyla Antalya Geniş Yaprak, Manavgat ve Dark Opel olarak kaydedilmiştir.
3. Denemede kullanılan kotiledon boğum, hipokotil ve yaprak eksplantları *in vitro* da çimlenen 5-7 günlük fidelerden elde edilirken, epikotil ve sürgün ucu eksplantları 8-12 günlük fidelerden elde edilmiştir.
4. Denemede kullanılan tüm eksplantlarda ve hormon içeren ortamda çok yüksek oranda fenolik bileşikler görülmüştür. Denemede aktif karbon+ 1,0 mg/l PVP eklendiğinde fenolik bileşiklerde azalma kaydedilmiştir.
5. Denemede kullanılan tüm eksplantlarda kallus oluşumu kaydedilmiştir.
6. Fesleğenin Manavgat çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyon yüzdesi sadece 2,00 mg/l BAP içeren MS ortamında, %12,50 olarak kaydedilirken, Dark Opel çeşidinde 0,25 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren MS ortamda % 16,67 ve Antalya Geniş Yaprak çeşidinde ise 1,60 mg/l TDZ içeren MS ortamında % 66,67 olarak kaydedilmiştir. Antalya Geniş yaprak çeşidinde yüksek oranda TDZ kullanılmasıyla sürgün rejenerasyonunda da artış görülmüştür. Manavgat ve Antalya Geniş Yaprak çeşidinde yüksek oranda hormonlar kullanılması sürgün rejenerasyon yüzdesini de arttırmaktadır. Buna karşı Dark Opel çeşidinin epikotil eksplantından sürgün rejenerasyon yüzdesi 0,25 mg/l BAP+0,25 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir.
7. Fesleğenin Manavgat çeşidinin hipokotil eksplantından sürgün rejenerasyon yüzdesi sadece 0,25 mg/l BAP içeren MS ortamda %37,00 olarak

kaydedilmiştir. Buna karşılık, Dark Opel çeşidinde BAP-NAA içeren tüm ortamlarda sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Ayrıca yine Dark Opel çeşidinin hipokotil eksplantından tüm TDZ (0,40-0,80 mg/l) içeren MS ortamlarda sürgün oluşumu kaydedilmiştir. Antalya Geniş Yaprak çeşidinde kullanılan TDZ-IBA içeren tüm ortamlarda sürgün oluşumu kaydedilmiştir. En fazla sürgün oluşumu 2,40 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren MS ortamında elde edilmiştir.

8. Fesleğe'nin Manavgat ve Dark Opel çeşidinin yaprak eksplantından tüm BAP-NAA içeren MS ortamlarında sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Sürgün rejenerasyonu yüzdesi Dark Opel çeşidinde, Manavgat çeşidine göre daha fazla bulunmuştur. Dark Opel çeşidinin yaprak eksplantından sürgün rejenerasyon yüzdesi en fazla (% 80,93) oranda olarak kaydedilmiştir.
9. Dark Opel ve Antalya Geniş Yaprak çeşidinde sürgün ucu eksplantı TDZ-IBA içeren ortamda kültüre alındığında her iki çeşitte yüksek oranda sürgün oluşumu gözlenmiştir. Denemede IBA eklendiğinde sürgün rejenerasyonu ve eksplant başına sürgün sayısında artış görülmüştür. Buna karşılık, sürgün uzunluğunda azalma gözlenmiştir.
10. Dark Opel ve Antalya Geniş Yaprak çeşidinde kotiledon boğum eksplantı TDZ-IBA içeren ortamda kültüre alındığında her iki çeşitte de çok yüksek oranda sürgün oluşumu gözlenmiştir. Bu oranı, Antalya Geniş Yaprak çeşidinde, Dark Opel çeşidine göre daha fazla kaydedilmiştir. Denemede IBA eklendiğinde, Antalya Geniş Yaprak çeşidinde sürgün rejenerasyonuna herhangi bir etkisi bulunmazken, Dark Opel çeşidinde TDZ'nin düşük oranlarında olumlu ve yüksek oranlarında olumsuz etki bulunmuştur. Antalya Geniş Yaprak çeşidinin boğum eksplantının sürgün uzunluğu 0,10 mg/l TDZ içeren MS ortamında 8,71 cm. olarak kaydedilmiştir. 0,20 mg/l TDZ+0,10 mg/l IBA içeren MS ortamında Dark Opel çeşidinin boğum eksplantının sürgün uzunluğu 6,51cm olarak kaydedilmiştir.
11. Antalya Geniş Yaprak çeşidinin tohum eksplantı kullanıldığında çok az oranda, çoklu sürgün oluşumu kaydedilmiştir.

12. Elde edilen sürgünler başarıyla IBA içeren ortamlarda köklendirilmiştir. Fakat sürgünlerin gövdelerinde de adventif kök oluşumu gözlenmiştir. Daha sonra, bitkilerde iklim odasında başarıyla adaptasyon sağlanmıştır.

13. Denemelerde oluşan bazı sürgünlerde kök oluşumu da gözlenmiştir. Bu tip bitkicikler başarıyla toprağa aktarılıp adaptasyon sağlanmıştır.

Tez kapsamında kullanılan eksplantlarda kallus oluşumu gözlenmiştir. Farklı yoğunlukta farklı hormonlar kullanılarak kalluslardan sürgün elde edilebileceği düşünülmektedir. Ayrıca, *in vitro* koşullarda fesleğen için geliştirilmiş doku kültürü protokolleri kullanılarak sekonder metabolit üretimi de sağlamaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Aasim, M., Khawar, K., M. ve Özcan, S., 2008. *In Vitro* Micro Propagation From Shoot Meristems Of Turkish Cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Cultivar Akkiz. *Bangladesh Journal of Botany*, 37(2), 149-154.
- Aasim, M., Khawar, K., M., Sancak, C. ve Özcan, S., 2009a. *In vitro* shoot regeneration of Fenugreek (*Trigonella foenumgraceum* L.). *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3(2), 135-138.
- Aasim, M., Khawar, K.,M. ve Özcan, S., 2009b. *In vitro* micropropagation from plumular apices of Turkish cowpea (*Vigna unguiculata* L.) cultivar Akkiz. *Scientia Horticulturae*, 122 (3), 468-471.
- Aasim, M., Hussain, N., Umer, E., M., Zubair, M., Hussain, S., B., Saeed, S., Rafique, T., S. ve Sancak, C., 2010. *In vitro* shoot regeneration of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) using different cytokinins. *African Journal of Biotechnology*, 9, 7174-7179.
- Aasim, M., Khawar, K.M. ve Özcan, S., 2010. Efficient *in vitro* propagation from preconditioned embryonic axes of Turkish cowpea (*Vigna unguiculata* L.) Cultivar akkiz. *Archives of Biological Sciences*, Belgrade, 62, 1047-1052.
- Aasim, M., Şahin-Demirbağ, N., Khawar, K., M., Kendir, H. ve Özcan, S., 2011. Direct Axillary Shoot Rejuvenation From The Mature Seed Explant of The Hairy Vetch (*Vicia villosa* rooth). *Archives of Biological Sciences*, Belgrade, 63 (3), 757-762.
- Aasim, M., day, S., Rezai, F., Hajyzadeh, M., Mahmud, S.T. ve Ozcan, S., 2011. *In Vitro* Shoot Regeneration From Preconditioned Explants Of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) cv. Gokce. *African Journal of Biotechnology*, 10, 2020-2023.
- Aasim, M., Özcan S.F., Khawar, K.M. ve Özcan, S., 2012. Comparative studies on the competence of axillary shoot regeneration on unsliced and longitudinally sliced cotyledon nodes of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Turkish Journal of Botany*, 36, 281-287.
- Aasim, M., Day, S., Rezaei, F. ve Hajyzadeh, M., 2013. Multiple shoot regeneration of plumular apices of chickpea. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37, 33-39.
- Adıgüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Ögütçü, H., Şahin, F. ve Karaman, I., 2005. Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (*Labiatae*) extract. *Turkish journal of Biolgy*, 29, 155-160.

- Akgül, A., 1993. Baharat Bilimi ve Teknolojisi. *Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları*, No:15, 451.
- Al-Khayri, J.M., Huang, F.H., Morelock, T.E. ve Busharar T., A., 1992. *In vitro* plant regeneration of Spinach from mature seed-derived callus. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*, 28P, 64-66.
- Antonova, T.S., Borovkov, A.Y., Zezul, T.G. ve Krasnyanskii, S.F., 1992. Somatic embryogenesis in callus from immature embryos of sunflower. *El'skokhozyaistvennaya- Biologiya*, 1, 36-42.
- Bassiouny, S., S., Hassanien, F., R., Ali, F., R. ve Kayati, S., M., E., 1990. Efficiency of antioxidants from natural sources in bakery products. *Food Chemistry*, 37, 297-305.
- Baydar, H., 2009. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bilimi ve Teknolojisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Yayın no:51*, s.347.
- Ceylan, A., 1997. Tıbbi Bitkiler-II (Uçucu Yağ Bitkileri). *Erzurum Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, No:481, Bornova, İzmir, s.306.
- Chaudhary. D., Madanpotra, S., Jaiwal, R., Saini, A., Kumar, P. ve Pawan, J., K., 2007. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated high frequency genetic transformation of an Indian Cowpea (*Vigna unguiculata* L.Walp) cultivar and transmission of transgene into progeny. *Plant Sci.* 172, 692-700.
- Cheruvathur, M., K., Britto, J. ve Thomas, T., D., 2010. Callus induction and shoot regeneration from epicotyl explants of ethnomedicinally important *Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb. *Iranian Journal of Biotchnology*, 8, 263-268.
- Cucco, M., F. ve Jaume, A., D., R., 2000. Protocol for regeneration *in vitro* of *Arachis hypogaea* L. *Electronic Journal of Biotechnology*, 3, 154-160.
- Cuenca, S., Amo-Marco, J.B. ve Parra, R., 1999. Micropropagation from inflorescence stems of the Spanish endemic plant *Centaurea paui* Loscos ex. Willk Compositae, *Plant Cell Reports*, 18, 674.
- Cuenca, S. ve Amo-Marco, J.,B., 2000. *In vitro* propagation of *Centaurea spachii* from inflorescence stems. *Plant Growth Regulation*, 30(2), 99-103.
- Çölgeçen, H., 2005. Doğal tetraploid *Trifolium pratense* L.' de *in vitro* organogenez. Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.

- Daneshvar Royandazag, S., 2005. *Papaver Bracteatum* Lindl ve *Papaver Pseudo-Orientalis* (Fedde) Medw.' de Adventif Sürgün Rejenerasyonu. Yüksek Lisans Tezi. *Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara.
- Darrah, H., H., 1998. The cultivated Basil Buckeye Printing. *Independence*.
- Dejam, M., Khosh-Khui, M. ve Shekafandeh , A., 2006. Adventitious Bud Induction and Plant Regeneration in Epicotyl Segments of Bakrai (*Citrus reticulata* Blancox *C. limetta* Swing.). *International Journal of Agricultural Research*, 1, 14-19.
- Deshpande, R., S. ve Tipnis, H., P., 1997. Insecticidal activity of *Ocimum basilicum* L. *Pesticide*, 11, 11-12.
- Diallo, M., S., Ndiaye, A., Sagna, M. ve Gassama-Dia, Y., K., 2008. Plants regeneration from African cowpea variety (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *African Journal of Biotechnology*, 7: 2828-2833.
- Doğan, D., Khawar, K., M. ve Özcan, S., 2005. *Agrobacterium* Mediated tumor and hairy root formation from different explants of lentils derived from young seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 7, 1019-1025.
- Echeverrigaray, S., Fracaro, F., Andrade, L., B., Biasio, S. ve Atti-Serafini, L., 2000. *In vitro* shoot regeneration from leaf explants of *Roman Chamomile*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 60, 1-4.
- Encheva, J., Ivanov, P., Tsvetkova, F. ve Nikolova, V., 1993. Development of a new initial breeding material in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using direct organogenesis and somatic embryogenesis, *Euphytica*, 68 (3), 181-185.
- Estrella, J., E. ve Lazarte, L., 1994. *In vitro* propagation of jicama (*Polymnia sonhifolia* Poeppig & Endlicher): a neglected Andean crop, *HortScience*, 29, 331.
- Gagliardi, R., F., Pacheco, G., P., Coculilo, S., P., Valls, J., F., M. ve Mansur E., (2000). *In vitro* plant regeneration from seed explants of wild groundnut species (Genus *Arachis*, Section *Extranervosae*). *Biodiversity and Conservation*, 9, 943-951.
- Gopi, C. ve Ponmurugan, P., 2006. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus of *Ocimum basilicum* L. *Department of Biotechnology, K.S. Rangasamy College of Technology, Tiruchengode 637 209, Namakkal District, Tamilnadu, India*.

- Gulati, A. ve Jaiwal, P., K., 1994. Plant regeneration from cotyledonary node explants of mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). *Plant Cell Reports*, 13:523-527.
- Han, Y., Xi, T., 1989, Rapid propagation of lettuce by embryos, *Plant Physiology Communications*, 2, 17-20.
- Harisaranraj, R., Babu, S., S. ve Suresh, K., 2008. Callus induction and plant regeneration of *Vigna mungo* (L.) Hepper via half seed explant. *Ethnobotanical Leaflets*, 12, 577-85.
- Jeanin, G. ve Hahnen, G., 1991. Donor plant growth conditions and regeneration of fertile plants somatic embryos induced on immature zygotic embryos of sunflower (*Helianthus annuus* L.), *Plant Breeding*, 107 (4), 280-287.
- Kara, N., Baydar, H. ve Erbaş, S., 2011. Farklı Çelik Alma Dönemleri ve IBA Dozlarının Bazı Tıbbi Bitkilerinin Köklenmesi Üzerine Etkileri. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, *Isparta Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi*, 28 (2), 71-81.
- Karataş, M., Aasim, M., Doğan, M. ve Khawar, K., M., 2013. Adventitious shoot regeneration of the medicinal aquatic plant water hyssop (*Bacopa monnieri* L. PENNELL) using different internodes. *Archives of Biological Sciences*, Belgrade, 65 (1), 297-303.
- Kendir, H., Şahin-Demirbağ, N., Khawar, K., M. ve Aasim, M., 2008. *In vitro* plant regeneration from Narbon Vetch (*Vicia narbonensis* L.) using cotyledonary node explants. *African Journal of Biotechnology*, 7(12), 2030-2033.
- Kendir, H., Şahin-Demirbağ, N., Aasim, M. ve Khawar, K., M., 2009. *In vitro* plant regeneration from Turkish Narbon Bean (*Vicia narbonensis* L.). *African Journal of Biotechnology*, 8, 614-618.
- Khar, A., Bhutani, R., D., Yadav, N. ve Chowdhury, V., K., 2005. Effect of explant and genotype on callus culture and regeneration in onion (*Allium cepa* L.) *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18, 397-404.
- Khawar, K., M. ve Özcan, S., 2002. High frequency shoot regeneration from cotyledonary node explants of different lentil (*Lens culinaris* Medik) genotypes and *in vitro* micrografting. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 16: 12-17.
- Khawar, K., M., Sancak, C., Uranbey, S. ve Özcan, 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.

- Krogstrup, P. ve Norgaard, J.V., 1992. Micropropagation of *Psiada coronopus* (Lam) Benth, a threatened endemic species from the island of Rodrigues.. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*., 7 (2), 227-230.
- Labra, M., Miele, M., Ledda, B., Grassi, F., Mazzei, M. ve Sala, M., 2004. Morphological characterization, essential oil composition and DNA genotyping of *Ocimum basilicum* L. Cultivars. *Plant Science*, 167: 725-731.
- Lauzer, D. ve Vieth, J., 1990. Micropropagation of seed-derived plants of *Cynara scolymus* L., cv. 'Green Globe. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 21,237-244.
- Li, Z., Jarret, R., L., Pittman, R., N., James, A. ve Demski, W., 1994. Shoot organogenesis from cultured seed explants of Peanut (*Arachis hypogea* L.) using Thidiazuron. *In Vitro Cellular and Developmental Biology*, 30P, 187-191.
- Mahesh, A., Thangadurai, D. ve Melchia, G., 2012 . Rapid *in vitro* plant regeneration from leaf explants of *Launaea sarmentosa* (Willd.) Sch. Bip. ex Kuntze. *Biological Research*, 45, 131-136.
- Malik, K., A. ve Saxena, P., K., 1992. Regeneration in *Phaseolus vulgare* L., high frequency induction of direct shoot formation in intact seedlings by N6-benzylaminopurine and thidiazuron. *Planta*, 186, 384-389.
- Malik, S.I., Rashid, H., Yasin, T. ve Minhas, N., M., 2004. Plant regeneration by somatic embryogenesis from callus of mature seed explants of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) *Pakistan Journal of Botany*, 36, 629-634.
- Marotti, M., Piccaglia, R. ve Giovanelli, E., 1996. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L.) Italian cultivars related to morphological characteristic. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3926-3929.
- Masaaki, D., Noriaki, H., ve M. Mari M., 2004. Callus formation from seed explant, growth in suspension culture and plant regeneration of the Japonica rice cultivar Koshiibuki. *Journal of the Niigata Agricultural Research*, 6, 1-5.
- Mesa, A.R., Lajonchere, G. ve Prieto, M., 1995. Rapid micropropagation of *Helianthus tuberosus* L. (Jerusalem artichoke), *Pastos- y- Forrajes*, 18 (1), 103-105.
- Mihaljević, S. ve Vršek, I., 2008. *In vitro* shoot regeneration from immature seeds of *Epimedium alpinum* induced by thidiazuron and CPPU. *Scientia Horticulturae*, 120, 406-410.
- Murashige, T. ve Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.

- Najaf, S., 2008. Kebere (capparis spp.)'nin *in vitro* çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Enstitüsü, Ankara.
- Obembe, O., O., Kadiri, M. ve Machuka, J., 2000. Induction of multiple shoots and regeneration from cotyledonary nodes and epicotyls. (Abstracts) *African Journal of Plant Sciences*, 108: p. 20.
- Pacheco, G., Gagliardi, R., Carneiro, L., Callado, C., Valls, J. ve Mansur, E., 2007. The role of BAP in somatic embryogenesis induction from seed explants of *Arachis species* from Sections Erectoides and Procumbentes. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 88, 121-126.
- Palanivel, S. ve Jayabalan, N., 2002. Direct Multiple shoot induction from different mature seed explants of groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Philippine Journal of Science*, 131, 127.
- Pevalek- Kozlma, B., 1998. *In vitro* propagation of *Centaurea ragusina* L., a Croatian endemic species. *Acta Biologica Cracoviensia*, 40,21-24.
- Polisetty, R., Paul, V., Deveshwar, J., J., Khetarpal, S., Suresh, K. ve Chandra, R., 1997. Multiple shoot induction by benzyladenine and complete plant regeneration from seed explants of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Cell Reports*, 16, 565-571.
- Popelka, J., C., Gollasch, S., Moore, A., Molvig, L. ve Huggins, T., J., V., 2006. Genetic transformation of cowpea and stable transmission of the transgenes to progeny. *Plant Cell Reports*, 25: 304-312.
- Purohit, S. ve Kothari, S., L., 2007. Direct somatic embryogenesis from cotyledon and cotyledonary node explants in bishop's weed *Trachyspermum ammi* (L.) sprague, *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 43, 154-158.
- Sajjadi, S., E., 2006. Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran. *Daru*, 14(3), 128-129.
- Sakr, S.,S., Badawy, E.,M, Morsi, H., A., El-Bahr, M.,K. and Taha, H.,S., 1991. Regeneration of chamomile plant (*Chamomilla recutita*, L.), *Bulletin Faculty of Agriculture, University of Cairo*, 42 (2), 1461-1483.
- Sanyal, I., Singh, A., K. ve Amla, D., V., 2003. *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) using mature embryogenic axis and cotyledonary nodes. *Indian Journal of Biotechnology*, 2: 524-532.
- Sarvesh, A., Reddy, T., P. ve Kishor, P., B., 1993. Plant regeneration from cotylodons of niger, *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*, 32 (2), 131-135.

- Sayılır, A., Özzambak, E., Özen, Ş. ve Eşi Yok, D., 2007. Kapari Türlerinin (*Capparis* L.) Tohumla ve Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü. C.B.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 3, 71-80.
- Sevimay, C., S., Khawar, K., M. ve Yüzbaşıoğlu, E., 2005. Adventitious shoot regeneration from different explants of wild lentil (*Lens culinaris* subsp. *orientalis*) *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 19, 46-49.
- Siddique, I. ve Anis, M., 2007. Rapid micropropagation of *Ocimum basilicum* using shoot tip explants pre-cultured in thidiazuron supplemented liquid medium. *Biologia Plantarum* 51, 787-790
- Siddique, I. ve Anis M., 2008. An improved plant regeneration system and ex vitro acclimatization of *Ocimum basilicum*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 493-499.
- Siddique, I., Bin Javed., S., Al-Othman, M., R. ve Anis, M., 2012. Stimulation of *in vitro* organogenesis from epicotyl explants and successive micropropagation round in *Cassia angustifolia* Vahl.: an important source of sennosides. *Agroforest System*, DOI 10.1007/s10457-012-9.
- Simon, J., E., Morales, M., R., Phippen, W., B., Vieira, R., F. ve Hao, Z., 1999. Basil: A Source of Aroma Compounds and a Popular Culinary and Ornamental Herb. *Perspectives on new crops and new uses* (Ed: J. Janick ASHS press, alexandriaV.A.).
- Snedecor, G., W. ve Cochran, W., G., 1967. Statistical Methods. *The Iowa State University Press*, USA .
- Söyler, D., ve Khawar, K., M., 2007. Seed Germination of Caper (*Capparis ovata* var. *Herbacea*) Using α Naphthalene Acetic Acid and Gibberellic Acid . *International Journal of Agriculture & Biology*, 9, 35-37.
- Svabova, L., Smykal, P., Griga, M. ve Ondrej, V., 2005. *Agrobacterium* mediated transformation of *Pisum sativum* *in vitro* and *in vivo*. *Biologia Plantarum*, 49, 361-370.
- Şahin-Demirbağ, N., Kendir, H., Khawar, K., M. ve Aasim, M., 2008b. *In vitro* regeneration of Turkish endemic *Trifolium pannonicum* JACQ. Subsp. *elongatum* (WILLD). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 22 (4), 921-924.

- Tada, H., Ikeda, Y., Omoto, T., Shimomura, K. ve Isimaru, K., 1996. Rosmarinic acid and related phenolics in adventitious root cultures of *Ocimum basilicum* L. *Plant Tissue Culture Letters*, 13 (1), 69-71.
- Telci, İ., Bayram, E., Yılmaz, G. ve Avcı, A., B., 2005. Türkiye’de kültürü yapılan yerel fesleğen (*Ocimum* spp) genotiplerinin morfolojik, agronomik ve teknolojik özelliklerinin karakterizasyonu ve üstün bitkilerin seleksiyonu (Sonuç Raporu). Togat-3102 No’lu *Proje*, Tübitak.
- Uçar, E. ve Turgut, K., 2009. Bazı Dağ Çayı (*Sideritis*) Türlerinin *In Vitro* Çoğaltımı. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 22(1), 51–57.
- Van Lee, B., U., I., De Carvalho, M., H., C., Zuily-Fodil, Y., Thi, A.,T.,P. ve Van, K.,T., 2002. Direct whole plant regeneration of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) from cotyledonary node thin cell layer explants. *Journal of Plant Physiology*, 159: 1255-1258.
- Verma, S., K., Yücesan, B.,B., Gürel, S. ve Gürel, E., 2011. Indirect somatic embryogenesis and shoot organogenesis from cotyledonary leaf segments of *Digitalis lamarckii* Ivan., an endemic medicinal species. *Turkish Journal of Botany*, 35, 743-750.
- Whipkey, A., Simon, J.E., Charles, D.J. ve Janick, J., 1992. *In vitro* production of artemisinin from *Artemisia annua* L. *Journal of Herbs Spices Medicinal Plants*, 1, 1-2.
- Xiaoli, Z., Yang, H., Wenjie, Y. ve Ti, X., 1992. Somatic embryogenesis and analysis of peroxidase in cultured lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Annals of Botany*, 69 (2), 97-100.
- Yücesan, B., B., 2011. Anadolu Endemik *Digitalis* L. Türlerinin *InVitro* Çoğaltımı ve Kardiyak Glikozitlerinin Üretilmesi. Doktora Tezi. *Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen, Bilimleri Enstitüsü*, Bolu.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Halis EKMEKÇİ
Doğum Tarihi ve Yer : 01.06.1971/Mecitözü
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0506 705 52 89
e-mail : halis_ekmekci@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Fen Fakültesi Biyoloji Böl.	2011-Devam etmektedir.
Lisans	Fen Fakültesi Biyoloji Böl.	2001
Lise	Genel Lise	1989

İş Deneyimi

Yıl	Görev Yeri	Görev
2011-2012	Karaman Final Ders. Karaman	Öğretmen
2010-2011	Konya Zinde Ders. Konya	Öğretmen
2009-2010	Antalya Mezun Ders. Antalya	Müdür
2006-2009	Ankara Çözüm Ders. Ankara	Öğretmen
2003-2006	Konya Bil I Q Ders. Konya	Öğretmen
2002-2003	Seydişehir Final Ders. Konya	Öğretmen
2001-2002	Seydişehir Sınav Ders. Konya	Öğretmen

Bilimsel Yayınlar

Ekmekci, H., Koca, A., Çınar, M. ve Aasim, M., 2012. *In vitro* koşullarda Fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) Bitkisinin mikroçoğaltım çalışmaları. 2. Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi, 15-18 Kasım, 2012, Antalya, Türkiye.

Ekmekci, H., Koca, A., Çınar, A., Aasim, M. ve Khawar K.M., 2013. *In vitro* shoot regeneration potential of different explants of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). 1st Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants. April 17-20, 2013, Gazimagosa (Famagusta), The Northern Cyprus.