

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***LATHYRUS CHRYSANTHUS* BOISS. BİTKİSİNDE *IN VITRO* SÜRGÜN
REJENERASYONU ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR**

CANSU TELCİ KAHRAMANOĞULLARI

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2012**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Cansu TELCİ KAHRAMANOĞULLARI tarafından hazırlanan "***Lathyrus chrysanthus* Boiss. Bitkisinde *In Vitro* Sürgün Rejenerasyonu Üzerine Araştırmalar**" adlı tez çalışması 28/05/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Hayrettin KENDİR

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Hayrettin KENDİR
Ankara Üniversitesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Mustafa YILDIZ
Ankara Üniversitesi, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Üye : Yrd. Doç. Dr. Gölge SARIKAMIŞ
Ankara Üniversitesi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özer KOLSARICI
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

LATHYRUS CHRYSANTHUS BOISS. BİTKİSİNDE *IN VITRO* SÜRGÜN REJENERASYONU ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

Cansu TELCİ KAHRAMANOĞULLARI

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hayrettin KENDİR

Bu çalışma, *Lathyrus chrysanthus* Boiss.'te etkili bir rejenerasyon sisteminin geliştirilmesi için yapılmıştır. Sodyum hipoklorit çözeltileri kullanılarak tohumun yüzey sterilizasyonu gerçekleştirilmiş ve fiziksel dormansi ortadan kaldırılarak *in vitro* şartlar altında yüksek miktarda sağlıklı steril fide elde edilmiştir. Sürgün rejenerasyonu için kotiledon boğum ve sürgün ucu meristem eksplantları, farklı konsantrasyonlarda BAP (0.25, 0.50, 1.00 ve 2.00 mg/l) ve NAA (0.05 ve 0.10 mg/l) içeren MS bPESİN ortamında 4 hafta boyunca kültüre alınmıştır. Eksplant başına sürgün sayısı ve petride gelişen toplam sürgün sayısı bakımından en yüksek değerler, 0.25 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren MS ortamında kültüre alınan kotiledon boğum eksplantlarından elde edilmiştir. Sürgün ucu meristem eksplantında ise en yüksek sonuçlar, 0.50 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren ortamda kaydedilmiştir.

Mayıs 2012, 54 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Lathyrus chrysanthus*, *in vitro*, sürgün rejenerasyonu

ABSTRACT

Master Thesis

STUDIES ON *IN VITRO* SHOOT REGENERATION IN *LATHYRUS* *CHRYSANTHUS* BOISS. PLANT

Cansu TELCİ KAHRAMANOĞULLARI

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

Supervisor: Prof. Dr. Hayrettin KENDİR

This study was carried out to develop an efficient regeneration system in *Lathyrus chrysanthus* Boiss. Surface-sterilization of seeds was achieved and healthy uninfected seedlings in large quantities under *in vitro* conditions were obtained by overcoming physical dormancy by using sodium hypochlorite solutions. Cotyledon node and shoot tip meristem explants were cultured for 4 weeks on MS medium containing different concentrations of BAP (0.25, 0.50, 1.00 ve 2.00 mg/l) and NAA (0.05 ve 0.10 mg/l) for shoot regeneration. The highest values with respect to shoot number per explant and total shoot number per petri dish were obtained from cotyledon node explants cultured on MS medium containing 0.25 mg/l BAP and 0.05 mg/l NAA. The highest results in shoot tip meristem explants were recorded in medium containing 0.50 mg/l BAP and 0.05 mg/l NAA.

May 2012, 54 pages

Key Words: *Lathyrus chrysanthus*, *in vitro*, shoot regeneration

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının yürütülmesinde yardımcı olan ve beni her aşamada destekleyen değerli danışman hocam Prof.Dr. Hayrettin KENDİR'e (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü); araştırma çalışmalarımın yürütülmesi, verilerin istatistiki analizi, yorumlanması, tezde yer alan fotoğrafların çekilmesi ve düzenlenmesi, sonuçların yorumlanması ve yayına gönderilmesi, tezin yazılması konularında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof.Dr. Mustafa YILDIZ'a (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü); bitki materyaline ait tohumları sağlayan Prof.Dr. Khalid Mahmood Khawar BHATTI'ye (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü); sitolojik gözlemlerin gerçekleştirilmesinde laboratuvar imkanlarını kullanmamızı sağlayan Prof. Dr. Cafer Sırrı SEVİMAY'a (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü); tüm pratik çalışmaların yapılmasında her türlü olanağı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Sebahattin ÖZCAN (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü) ve Prof. Dr. Cengiz SANCAK'a (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü); tez çalışmalarım sırasında benden anlayışını ve desteğini esirgemeyen Bölüm başkanımız Prof.Dr. Nilgün BAYRAKTAR'a (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü) ve tüm bölüm hocalarıma; araştırmamızda kullanılan bitkimize ait tohumların deneme tarlasında çoğaltılması aşamasında yardımcı olan Arslan ÖKSEL ve tüm tarla personeline; laboratuvardaki çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim. Tüm hayatım boyunca her an yanımda olan sevgili annem, babam, ağabeyim, yengem, anneannem, dedem, yeğenim Deniz ve eşim Kerem'e sonsuz teşekkür ederim.

Cansu TELCİ KAHRAMANOĞULLARI
Ankara, Mayıs 2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	7
3. MATERYAL VE METOT	15
3.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	15
3.2 Bitki Materyali	15
3.3 Metot	15
3.3.1 Büyüme ortamı ve kültür koşulları	15
3.3.2 Tohum yüzey sterilizasyonu	16
3.3.3 Tohumların <i>in vitro</i> şartlarda çimlendirilmesi, eksplant izolasyonu ve sürgün rejenerasyonu	17
3.3.4 Gelişen sürgünlerin <i>in vitro</i> şartlarda köklendirilmesi	17
3.3.5 Yapılan gözlemler	19
3.3.6 Mikroskop gözlemleri	19
3.4 İstatistiksel Değerlendirmeler	19
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	20
4.1 Tohum Yüzey Sterilizasyonu ve Steril Fide Gelişimi	20
4.1.1 Farklı dezenfektan doz ve uygulama sürelerinin tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkisi	20
4.1.2 Farklı dezenfektan sıcaklıklarının tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkisi	26
4.1.3 Farklı dezenfektan sıcaklıklarının gelişen fidelerin hücre iskeleti üzerine etkisi	30
4.2 Kotiledon Boğum ve Sürgün Ucu Meristem Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu	34
4.3 Kotiledon Boğum Eksplantlarından Rejenere Olan Sürgünlerin <i>In Vitro</i> Köklendirilmesi	40
5. SONUÇ	43
KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	52

KISALTMALAR

2,4-D	2,4-Diklorofenoksiasetik asit
BAP	6-benzylaminopurine
IBA	Indole-3-butyric acid
IAA	Indole-3-acetic acid
NAA	Naphthalene acetic acid
MS	Murashige ve Skoog

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	<i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. bitkisinin çiçeklenmesi (a) ve bakla oluşturma (b)	4
Şekil 3.1	<i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss.'in Türkiye'de doğal yetişme alanları	15
Şekil 3.2	28 günlük fidelerden izole edilen kotiledon boğum eksplantları	18
Şekil 3.3	28 günlük fidelerden izole edilen sürgün ucu meristem eksplantları	18
Şekil 4.1	Çamaşır suyunun farklı dozları (a. %50, b. %75 ve c. %100) ile 15 dak. steril edilen <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. tohumlarından <i>in vitro</i> şartlarda gelişen fideler	22
Şekil 4.2	%75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıkları (a. 25°C, b. 35°C ve c. 45°C) ile 15 dakika steril edilen <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. tohumlarından <i>in vitro</i> şartlarda gelişen fideler	29
Şekil 4.3	%75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıkları (a. 25°C, b. 35°C ve c. 45°C) ile 15 dakika steril edilen <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. tohumlarından <i>in vitro</i> şartlarda gelişen fidelerin yaprak üst yüzeyinde mikroskop görüş alanında hücre iskeleti.	35
Şekil 4.4	Steril <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. fidelerinden izole edilen kotiledon boğum eksplantlarından 0.25 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün rejenerasyonu ..	39
Şekil 4.5	Steril <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. fidelerinden izole edilen sürgün ucu meristem eksplantlarından 0.50 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün rejenerasyonu ..	39
Şekil 4.6	0.50 mg/l IBA içeren köklendirme ortamında köklenen sürgün (solda – bar= 4.0 cm) ve saksıda gelişen bitkicik (sağda)	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	MS (Murashige ve Skoog) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları	16
Çizelge 4.1	Tohum yüzey sterilizasyonunda kullanılan farklı çamaşır suyu dozu ve uygulama sürelerinin <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss.'de <i>in vitro</i> tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile gelişen fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamları üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	23
Çizelge 4.2	Tohum yüzey sterilizasyonunda kullanılan çamaşır suyu dozu ve uygulama süresinin <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss.'de <i>in vitro</i> tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamları üzerine etkisi	24
Çizelge 4.3	Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss.'de <i>in vitro</i> tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile gelişen fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamları üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	27
Çizelge 4.4	Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss.'de <i>in vitro</i> tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile gelişen fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamları üzerine etkisi	28
Çizelge 4.5	Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss.'de <i>in vitro</i> gelişen fidelerin yapraklarında mikroskop görüş alanındaki hücre iskeleti üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	32
Çizelge 4.6	Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss.'de <i>in vitro</i> gelişen fidelerin yapraklarında mikroskop görüş alanındaki hücre iskeleti üzerine etkisi	33
Çizelge 4.7	Farklı rejenerasyon ortamlarının steril <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. fidelerinden izole edilen kotiledon boğum ve sürgün ucu meristem eksplantlarından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve petride gelişen toplam sürgün sayısı üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	36

Çizelge 4.8	Farklı rejenerasyon ortamlarının steril <i>Lathyrus chrysanthus</i> Boiss. fidelerinden izole edilen kotiledon boğum ve sürgün ucu meristem eksplantlarından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve petride gelişen toplam sürgün sayısı üzerine etkisi	37
Çizelge 4.9	Farklı köklendirme ortamlarının kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök uzunluğu ve bitkicik uzunluğu üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları	40
Çizelge 4.10	Farklı köklendirme ortamlarının kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök uzunluğu ve bitkicik uzunluğu üzerine etkisi	41

1. GİRİŞ

Lathyrus (mürdümük) cinsi, baklagiller (*Fabaceae/Leguminosea*) familyasının *Vicieae* takımında yer alan 15 bölüme dağılmış 187 tür veya alt tür ile geniş bir cinstir (Allchin vd. 1969). *Lathyrus* cinsi içinde yer alan tek veya çok yıllık tür sayısı ise 160'tır (Plitmann vd. 1995). *Lathyrus* cinsinin tür ve çeşit zenginliği gösterdiği alanlar olarak Akdeniz havzası, Orta Asya, Kuzey Amerika ve Güney Amerika'nın sıcak bölgeleri gösterilmektedir (Jackson ve Yunus 1984). Avrupa florasında 54 (Tutin 1981), Türkiye florasında ise 18'i endemik olmak üzere 58 mürdümük türü bulunmaktadır. (Davis 1970). Uzun ve Genç (2001), son yıllarda eklenen kayıtlarla Türkiye florasında 61 mürdümük türü ve bu türlere ait 71 taksonun bulunduğunu bildirmektedirler. *L. sativus* (yaygın mürdümük), *L. cicera* (nohut mürdümüğü) ve *L. ochrus* (Kıbrıs mürdümüğü), *Lathyrus* cinsinin tarımda kullanılan en önemli türleridir (Jackson ve Yunus 1984).

Lathyrus türleri Türkiye'nin hemen her bölgesinde yetişmekte ve daha çok *Fabaceae* üyelerinin gen merkezi olarak bilinen Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde yayılış göstermektedirler. Ülkemizde çok dar alanlarda ve sınırlı miktarlarda sadece yaygın mürdümük (*L. sativus*) ve nohut mürdümüğü (*L. cicera*)'nın tarımı yapılmaktadır.

Sitolojik araştırmalar *Lathyrus* cinsinin genel olarak $2n=14$ diploid kromozom sayısına sahip olduğunu göstermiştir. Yapılan sitolojik araştırmalar sonucu 60 *Lathyrus* türünün kromozom sayısı $2n=14$ olarak bulunmuştur. Bunların dışında farklı olarak iki türün (*L. pratensis* ve *L. venosus*) $2n=28$ tetraploid ve bir türün (*L. palustris*) $2n=42$ hekzaploid kromozom sayısına sahip olduğu ve bunların autopolyploid oldukları bildirilmektedir. Ayrıca bu autopolyploid türlerin diploid varyetelerine doğada rastlamak mümkündür (Campbell 1997).

Lathyrus türlerine ait en eski bulgular Hindistan'da M.Ö. 4000 - 3500 ve Batı Asya'da M.Ö. 3800 - 3200 yıllarına kadar uzanmaktadır (Allchin 1969, Saraswat 1980). *Lathyrus* türlerinin Kanarya Adaları, Almanya, Rusya, Batı Asya, Çin, Orta Doğu (Irak, İran, Suriye, Filistin, Lübnan, Afganistan) ve Kuzey Afrika'da (Etiyopya, Mısır, Cezayir, Libya, Fas) yaygın, buna karşın, Avrupa (Fransa, İspanya, İtalya, Portekiz ve

Kıbrıs) ve Güney Amerika’da ise daha az miktarda tarımı yapılmaktadır (Kislev 1989, Campbell vd. 1994). *Lathyrus* türleri dünya genelinde yeşil ot, kuru ot ve tane yem olarak hayvan beslemesinde, yeşil gübre bitkisi olarak toprak yapısının iyileştirilmesinde ve yemeklik tane baklagil veya sebze olarak insan beslenmesinde kullanılmak üzere yetiştirilmektedir. Ayrıca bu türler belirli dönemlerinde otlatılmakta ve otlatmaya ara verildikten sonra gelişen bitkiler tohum için hasat edilmektedir. *Lathyrus* türlerinin insan beslenmesinde kullanımı ülkelere ve yörelere göre değişiklikler ve özel tüketim tarzları içermekle birlikte genellikle kuru taneleri çorba yapılarak ve öğütülerek belirli oranlarda buğday ununa katılarak ekmek yapımında kullanılmakta; taze yaprakları, olgunlaşmamış bakla ve taneleri ise salata, sebze yemeği ve çerez olarak değerlendirilmektedir (Kumar 1997).

Dünyada en fazla kültürü yapılan *Lathyrus* türü, birçok biyolojik ve tarımsal üstünlüklere sahip olan *L. sativus*’tur. Kislev (1989), *L. sativus*’un erken neolitik çağdan beri insan beslenmesinde kullanıldığını ve tarımının ilk defa M.Ö. 6000’li yıllarda Balkanlar’da yapılmaya başlandığını bildirmektedir. *L. sativus*, yıllık yağışın 250 mm’ye kadar düştüğü anlarda yetişebilmekte ve bu özelliği ile kuraklığa en fazla dayanabilen kültür bitkilerinin başında gelmektedir (Tekele-Haimanot vd. 1990). Ayrıca, bu tür kuraklığa dayanıklılığı yanında yıllık yağışın yüksek olduğu veya su altında kalan alanlarda da başarıyla yetişebilmektedir. *L. sativus*, erken dönemde su altında kalmaya ve geç dönemde kuraklığa dayanıklılığı sebebiyle çeltik tarımının yapıldığı bölgelere çok iyi uyum göstermektedir (Kumar 1997). Bu özelliği ile çeltik tarımının yaygın olduğu alanlarda hem ekim nöbetinin, hem de çeltikle tek yönlü beslenmek zorunda olan insanların diyetlerinin düzenlenmesinde önemli katkılar sağlamaktadır (Haqqani ve Arshad 1995). *L. sativus*, Hindistan, Bangladeş, Nepal ve Pakistan’da toprak işleme yapmaksızın çeltik tarlalarına doğrudan ekilerek de yetiştirilir. Genelde yazlık olarak yetiştirilen *L. sativus*, genellikle Akdeniz çevresinde ekilmekte ve kışı rozet biçiminde geçiren bitkiler ilkbaharda sıcaklığın artmasıyla hızlı bir şekilde gelişmektedir (Campbell 1997). *L. sativus* çok farklı toprak ve iklim koşullarında rahatlıkla yetişebilmesi ve bu koşullarda gübreleme ve pestisit uygulamasına ihtiyaç duymaksızın ekonomik düzeyde verim verebilmesi nedeniyle, ekim nöbeti ve sürdürülebilir tarım adına önemli bir bitkidir. Ayrıca, *L. sativus* biyotik

ve abiyotik stres faktörlerine karşı gösterdiği dayanıklılık nedeniyle baklagil ıslahı açısından önemli bir genetik kaynak olarak gösterilmektedir (Clulow vd. 1991). Bu türün tohumları nohut, bezelye, bakla ve lüpen gibi tane baklagillerin yetişemediği kuraklık derecelerine dayanabilmekte ve kuraklığa bağlı kıtlığın olduğu dönemlerde insanların en önemli protein ve karbonhidrat kaynağını oluşturmaktadır (Spencer 1989). Genel olarak aminoasit içeriği diğer baklagillerle benzer (Duke 1981, Williams vd. 1994) fakat 'lysine' içeriği diğer baklagillerden daha yüksek; 'methionine', 'cysteine' ve 'triptophan' içeriği ise daha düşüktür (Gatel 1994). Protein oranı tohumlarında %25.60 - 35.90, yeşil aksamında ise %17.00 - 22.27 arasında değişmektedir (Rosa vd. 2000, Karadağ ve Büyükburç 2003).

Diğer önemli türlerden *L. cicera*, Yunanistan, İran, Irak, Ürdün, Suriye ve İspanya'da; *L. ochrus* ise Kıbrıs ve Yunanistan'da yaygındır. *L. cicera* soğuklara, *L. ochrus* ise bir parazit olan orabanş (*Orobanche crenata* Forsk.)'a karşı dayanıklıdır (Saxena vd. 1993). *L. cicera*'nın tanelerinde %21.70 - 27.60 (Abreu ve Bruno-Soares 1998, Hanbury ve Hughes 2003); *L. ochrus*'un tanelerinde ise %20.90 (Abreu ve Bruno-Soares 1998) oranında protein bulunmaktadır. *L. ochrus* güçlü gelişme yeteneği, su basmalarına ve kuraklığa dayanma gücü ile yem bitkisi ve özellikle yeşil gübre bitkisi olarak değerli bir türdür. Dünyada en fazla tarımı yapılan bu üç tür arasında yetiştirme süreleri ve verimler açısından farklar bulunmaktadır.

L. odoratus, *L. tingitanus*, *L. articulatus*, *L. annuus* ve *L. chrysanthus* (Şekil 1.1) süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir.

Lathyrus türlerinde, diğer birçok baklagil bitkisinde olduğu gibi beslenme üzerine olumsuz etkileri olan bazı maddeler bulunmaktadır (Urga vd. 1995). *Lathyrus* türlerinde 3 adet, protein yapısında olmayan (NPAA) toksik amino asit tespit edilmiştir.



Şekil 1.1 a. *Lathyrus chrysanthus* Boiss. bitkisinin çiçeklenmesi, b. bakla oluşturması

Bunlardan β - N-oxalyl-L- α,β diaminopropionic acid (ODAP) *L. sativus*, *L. cicera*, *L. ochrus*, *L. clymenum* başta olmak üzere 21 *Lathyrus* türünde; L-2, 4 Diamino-butyric acid (DABA) *L. sylvestris* ve *L. latifolius*'da; beta-aminopropionitrile (BAPN) *L. odoratus*, *L. hirsutus*, *L. pusillus* ve *L. roseus* türlerinde belirlenmiştir (Roy ve Spencer 1989). *Lathyrus* türlerini tüketen insan ve hayvanlarda bu kimyasal maddelere bağlı hastalıklar görülmekte ve bu hastalıklara genel olarak "Lathyrism" adı verilmektedir.

Lathyrus türlerinde belirlenen toksik maddelerin en önemlisi ODAP'tır. ODAP, *Lathyrus* türlerinin yanı sıra diğer bazı baklagil cinslerinde de bulunmaktadır (Quarrie vd. 1977). *Lathyrus* türlerinin ODAP içerdiği belirlendikten sonra (Bell 1962) ıslah çalışmaları düşük ODAP içerikli hatların geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır (Hanbury vd. 2000). Ancak, bugüne kadar hayvan ve insan beslenmesinde güvenle kullanılabilecek bir hat geliştirilememiştir (Hanbury ve Hughes 2003). Aslında birçok çalışmada düşük toksik içerikli hatlar geliştirilmiş, ancak bu hatlar değişik toprak ve çevre koşullarında kararlılıklarını koruyamamıştır. Güvenli tüketim için tohumların ODAP içeklerinin %0.22'den az olması gerektiği bildirilmektedir (Abd El Moneim vd. 1999). Aletor vd. (1994), ortalama ODAP içeriğini *L. sativus* türünde %0.48, *L. cicera*'da % 0.16 ve *L. ochrus*'ta % 0.57 olarak belirlemişlerdir.

Ülkemizde şu an mürdümük tarımı çok yaygın olarak yapılmamaktadır. Sınırlı miktarda da olsa, tarımı yapılan yerlerde yerel popülasyonlar kullanılmaktadır. Bu yerel popülasyonların verim, kalite ve toksik madde düzeyleri hakkında detaylı bilgiler ortaya konmuş değildir. Bu çerçevede, hem yerli ve hem de yabancı materyaller kullanılarak ülkemizin değişik ekolojilerine uygun ve düşük toksik madde düzeyi ile güvenli kullanım şansı sunan materyallerin belirlenmesi gelecek için büyük faydalar sağlayacaktır. Dünyada ciddi bir iklim değişikliği yaşanmakta ve iklim bilimciler ülkemizin de içinde bulunduğu geniş alanlarda kuraklık tehlikesine işaret etmektedir. Bu sebeple, kuraklığa dayanıklılığı çok iyi olan türleriyle, mürdümük cinsinin önemi gelecekte daha da artacaktır. Türkiye'de 4.5 - 5 milyon ha tarım arazisine yıllık 400 mm'nin altında yağış düşmektedir. Kurak bölgeler başta olmak üzere, çok farklı ekolojilere uyum sağlayan *Lathyrus* türleri, özellikle bu alanlar için verim ve besleme kalitesi ile uygun bir tane baklagil, yem veya yeşil gübre bitkisi olabilir. Mürdümük

türleri kuraklığa dayanıklılığı yanında özellikle erken dönemde su basmalarına karşı gösterdikleri dirençle farklı alanlarda da kullanım olanağı sunmaktadır. Bu alanların başında çeltik ekim bölgeleri gelmektedir. Mürdümük türlerinin çeltik alanlarında ana, ara veya yeşil gübre bitkisi olarak ekim nöbetine girme olanaklarının araştırılması, çeltik tarımına önemli katkılar sağlayabilir.

Doku kültürü ve gen aktarım teknolojileri henüz *Lathyrus* türleri için yaygın olarak kullanılmamaktadır. ODAP üretiminin engellendiği ve beslenmeyi olumsuz etkileyen faktörlerin ortadan kaldırıldığı yeni genotiplerin geliştirilebilmesi için doku kültürü ve gen aktarımında etkin protokollerin geliştirilmesi ve uygulanması gerekmektedir. Bu yüksek lisans çalışmasının amacı; gen aktarım çalışmalarına temel oluşturacak doku kültürü tekniklerinin *Lathyrus chrysanthus* Boiss. türünde başarıyla uygulanabilmesi için etkili bir rejenerasyon sisteminin geliştirilmesidir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Mukhopadhyaya ve Bhojwani (1978), *L. sativus*'un kallus kültürlerinden sürgün rejenerasyonu elde etmişlerdir.

Gharyal ve Maheshwari (1983), *L. sativus*'un sürgün ucu kültürlerindeki kallus başlangıcı ve sonrasındaki organogenesis ve somatik embriyogenesisin yalnızca çeşitler arasında değil, aynı zamanda aynı çeşitten meydana gelmiş genotipler arasında da genetik kontrol altında olduğunu bildirmişlerdir. Yüksek sürgün rejenerasyonu için fizyolojik olarak değiştirilmiş bitkicikler önermişlerdir. Ayrıca tepe sürgünlerinin kesilmesinin uyku halindeki yan sürgünlerin aktifleşmesi sonucunu doğurduğunu bunun da tüm genotiplerin dokularında organogenesisine neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Malik vd. (1992), değişik oranlarda BAP ile hazırlanmış ortamlarda tohumlardan üretilmiş epikotil eksplantları kullanılan *Lathyrus* bitkiciklerinin 2-5 sürgünündeki doğrudan farklılaşmayı rapor etmiştir. Malik ve ark. değişik oranlarda BAP kinetin ve TDZ içeren MS ortamlarında kültüre alınmış *L. cicera*, *L. ochrus*, *L. sativus* ve *L. tingitanus* bitkilerinin kotiledon boğumlarından sürgünler üretmiştir. Üretilen sürgünler değişik oranlarda NAA ile muamele edilerek MS ortamlarında köklendirilmiş ve sağ kalan bitkicikler dış koşullara alıştırılarak toprağa aktarılmıştır.

Karadimova ve Djambova (1993), 1 ekmeklik ve 3 makarnalık buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarını eksplant olarak kullandıkları *in vitro* tuzluluk çalışmasında, kallusları farklı dozlarda tuz içeren ortamlara aktarmışlardır. İki alt kültür yaptıkları çalışmada, kallusların gelişme oranını kallus ağırlığını karşılaştırarak belirlemişlerdir. Tüm dozlarda elde ettikleri rejenere bitkileri yetiştirerek bunların tohum bağlamasını sağlamışlardır. R₁ generasyonunda *in vivo* 'da tekrar kullandıkları en yüksek dozlar olan %0.5 ve %0.7 NaCl içeren sularla sulama yapmışlar ve bu dozlara dayanıklı çeşitlerin yeni kuşaklarının da dayanıklı olduğunu gözlemişlerdir. Çalışmada ekmeklik buğday, makarnalıklara oranla daha dayanıklı bulunmuştur.

Barna ve Metha (1995), *Agrobacterium* ve partikül bombardımanı yöntemi ile *L. sativus* 'ta transformasyon çalışması yapmışlar, kallus ve embriyoların transformasyon frekansının oldukça düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Kintzios vd. (1997), 'Vergina' ekmeklik buğday çeşidinin olgun embriyolarını 0, 3, 6 ve 9 g/l dozlarında NaCl ve değişik yoğunluklarda büyüme düzenleyiciler içeren ortamlarda kültüre almışlar, tuz dozlarını ortamlara kallus gelişimi sağlandıktan sonra eklemişlerdir. Oluşturulan kalluslarda kallus çoğaltımı, kök oluşumu ve sürgün gelişiminin incelenmesi amacıyla üç ayrı yöntem uygulanmıştır. Tuzun kallusların morfolojik görünümünde önemli bir etkiye neden olmadığı ancak yüksek tuz dozlarında kallus büyümesinin yavaşladığı, kök oluşumu ve sürgün gelişiminin azaldığı gözlenmiştir. Araştırmacılar tuza toleranslı bitki seçimi için 3-5 g/l dozlarının uygun olduğunu ve bu uygulamanın bitki rejenerasyonu aşamasında yapılmasını önerdiklerini belirtmişlerdir.

Özgen vd. (1998), 12 ekmeklik buğday çeşidinde kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna eksplant türünün etkisini (olgunlaşmamış embriyo ve endospermdestekli olgun embriyo) araştırmışlar; her iki embriyo kültüründe de rejenere bitki elde edildiğini ve kültür tepkilerinin genotiplere bağlı olduğunu, kallus oluşumu, rejenerasyon kapasitesi ve rejenere bitki sayısının birbirinden bağımsız olduğunu, olgun embriyolarda kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunun yüksek olduğunu ve yılın her döneminde kolay bulunabileceği için buğday doku kültürü çalışmalarında başarıyla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Sayar vd. (1999), diploid, tetraploid ve hekzaploid buğday çeşitlerinde endospermdestekli olgun embriyo tekniğini kullanarak, tane iriliğinin kallus oluşumuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında; buğday çeşitlerine ait tohumları küçük ve büyük olarak ikiye ayırmışlar, yüzey sterilizasyonu uygulanan bu tohumların embriyoları steril kabin içerisinde endospermden hafifçe ayrılıp 8 mg/l 2,4-D içeren sıvı ortamda kallus oluşturmaları sağlanmış, içinde oksin bulunmayan MS ortamına rejenerasyon için aktarılmıştır. Araştırmacılar, tüm genotiplerde büyük tanelerin, küçük tanelere göre kallus oluşturma frekansı, kallus net ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi ve kültür oluşturma

yeteneğinin önemli derecede yüksek değerler gösterdiğini; tohum ağırlığı ile kallus ağırlığı ($r = 0.86$) ve kallus ağırlığı ile rejenerasyon kapasitesi ($r = 0.85$) arasında önemli ilişki olduğunu, büyük taneli buğdaylarda endosperm destekli embriyo tekniği kullanılarak yüksek düzeyde rejeneratif kallus oluşumu elde edildiğini, bu nedenle bu tekniğin olgunlaşmamış embriyolara alternatif olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Roy vd. (1993), *L. sativus*'un ara boğumlarından oluşan klonlarında indirgenmiş ODAP (%0.1 ya da daha az) içeriği bulgusunu rapor etmiştir. Elde edilen bitkicikler başarılı bir şekilde köklendirilmiş, dış koşullara alıştırılmış ve toprağa aktarılmıştır.

Debnath vd. (2001) değişik oranlarda NAA ve BAP kullanarak mürdümüğün sap, gövde ve yaprak kallusundan birden çok boğum oluşturmuştur. En iyi rejenerasyon yaprak eksplantından elde edilmiştir.

Ochatt vd. (2002), üç mürdümük türünün hipokotillerinden sürgün boğumları rejenere etmiştir ve bunların DNA içeriklerini flow-sitometri yöntemiyle belirlemişlerdir. Bitki rejenerasyonunun genotipe bağlı olmakla birlikte DNA içeriğiyle oldukça ilişkili olduğunu belirlemişlerdir. Anormal DNA içeriğinin varlığı köklenmiş verimli bitkilerin rejenerasyonunu engelleyen şiddetli vitrifikasyon semptomlarıyla sistematik olarak ilişkilendirilmiştir.

Zambre vd. (2002), NAA veya IAA ve Hindistan cevizi sütü kombinasyonları içerisinde TDZ içeren B5 bazal ortam üzerinde iki elit *L. sativus* genotipinin tepe ve yan sürgünlerini sürgün rejenerasyonu için kullanmıştır. Sürgün uzaması IAA ve Hindistan cevizi sütü içeren ortamda daha yüksek olmuştur. Rejenere edilen sürgünler hormonsuz B5 bazal ortamında ya da kök gövdelerine aşılama yoluyla köklendirilmiştir.

Yıldız ve Er (2002), yaptıkları çalışmada sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltilerinin konsantrasyon (%40, %60 ve %80) ve sıcaklıklarının (0, 10, 20, and 30°C) tohum çimlenmesi, *in vitro* canlılık, keten fidelerinin gelişimi ve hipokotil eksplantlarının rejenerasyon kapasitesi üzerine etkisini belirlemişlerdir. Sonuçlar, tohum çimlenmesi, fide gelişimi ve sürgün rejenerasyonunun dezenfektanın artan konsantrasyon ve

sıcaklığından olumsuz etkilendiğini göstermiştir. Fide gelişimi ve sürgün rejenerasyonunda en iyi sonuçlar, %40'lık konsantrasyondaki dezenfektanın 10°C sıcaklıkta kullanılmasıyla elde edilmiştir.

Yıldız vd. (2003), yurt dışından getirilen üç keten çeşidini kullanarak yaptıkları çalışmada, steril edilen tohumlardan gelişen farklı yaşlardaki (7, 12, 17 gün) fidelerden elde edilen hipokotil parçaları agar ve phytigel ile katılaştırılan MS ve B-5 ortamlarında sürgün rejenerasyonuna almışlardır. Sonuçta, en yüksek sürgün rejenerasyon yüzdesi her üç çeşitte ve tüm ortamlarda 12 günlük fidelerden alınan hipokotil eksplantlarından elde edilirken; eksplant başına sürgün sayısı ve petride gelişen toplam sürgün sayısı bakımından en yüksek değerler denemeye alınan üç çeşitte de ortam olarak MS ve katılaştırıcı olarak agarın kullanıldığı 7 günlük fidelerden alınan hipokotil eksplantlarından elde edilmiştir.

Barik vd. (2004), BAP, kinetin ya da TDZ içeren MS ortamında *in vitro* 'da tohumlardan üretilen *L. sativus* kotiledon boğumlarından birden çok sürgün oluşturmuştur. 2.85 mMIAA içeren MS ortamına aktarılan sürgünlerde %81.80'e varan oranlarda kök gelişmiştir. Bitkiler başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırılmış ve toprağa aktarılmıştır.

Yıldız ve Özgen (2004), üç keten çeşidinde, 1 mg/l BAP and 0.02 mg/l NAA içeren MS ortamında, hipokotil parçalarının su içerisine geçici olarak daldırılmasının *in vitro* eksplant gelişimi ve sürgün rejenerasyonu üzerine etkisini belirlemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Su ile muamele edilen hipokotil eksplantlarının sürgün rejenerasyon yüzdesi, hipokotil başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, petri başına sürgün sayısı, başarılı köklenme ve bitkicik oluşumu bakımından en yüksek değerleri verdiği gözlenmiştir. Bu yöntemin, *in vitro* kültüre alınan diğer türler için de uygulanabileceği vurgulanmıştır.

Yıldız vd. (2005), son yıllarda sürgün rejenerasyonunu artırmada yaygın olarak kullanılan TDZ'nin (thidiazuron) keten hipokotil eksplantlarından sürgün gelişimi üzerine olan etkisini BAP ve NAA ile karşılaştırmışlardır. Özellikle gen aktarımı yapıldıktan sonra, gen aktarılmış dokulardan transgenik sürgünlerin rejenerasyonu son

derece önemlidir. Başarılı bir gen aktarımı için adventif sürgün rejenerasyonunun ve özellikle de eksplant başına rejenere olan sürgün sayısının yüksek olması gerekmektedir. Keten hipokotil eksplantlarından yüksek adventif sürgün elde etmek için rejenerasyon ortamında yaygın olarak BAP ve NAA kullanılmaktadır. Farklı TDZ dozları (1, 2, 4 ve 8 mg/l) arasında; sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve petri başına toplam sürgün sayısı bakımından en uygun dozun 2 mg/l olduğu belirlenmiş ve TDZ dozları BAP ve NAA ile karşılaştırılmıştır.

Barik vd. (2005), *Agrobacterium tumefaciens*'in neomycin phosphotransferase II (npt II) geni ve β glucuronidase (gus)-intron ile birlikte ikili plasmid p35S GUS INT taşıyan EHA 105 ve LBA 4404 hatları ile mürdümüğün epikotil eksplantını kullanarak transformasyon için yeni bir yöntem geliştirmişlerdir. LBA 4404 hattının daha yüksek transformasyon yeteneğine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Elde edilen sürgünler 0.5 mg/l IAA içeren MS ortamında köklendirilmiş, organik gübre ile dış koşullara alıştırılmış ve deneysel ekim alanına dikilmiştir. Soy analizi sayesinde gen dizilimi belirlenmiştir. T1 tohumlarından elde edilen transgenik bitkilerden, kanamycin'e dirençli ve duyarlı bitkiler 3:1 oranına yakın bir oranda ayrıştırılmıştır.

Barik vd. (2005), 17.76 μ M BA ve 10.74 μ M α -naftalin asetik asit ile çoğaltılmış MS ortamında epikotil eksplantlarında, yüksek sürgün rejenerasyonu başlatmıştır. Rejenere olan sürgünlerin yaklaşık %78'i 2.85 μ M indole-3-asetik asit içeren MS ortamında köklendirilmiştir. Daha sonra fideler dış koşullara alıştırılıp toprağa aktarılmıştır. Fidelerin %75'i hayatta kalmıştır.

Yıldız vd. (2005), son yıllarda sürgün rejenerasyonunu artırmada yaygın olarak kullanılan TDZ'nin (thidiazuron) keten hipokotil eksplantlarından sürgün gelişimi üzerine olan etkisini BAP ve NAA ile karşılaştırmışlardır. Özellikle gen aktarımı yapıldıktan sonra, gen aktarılmış dokulardan transgenik sürgünlerin rejenerasyonu son derece önemlidir. Başarılı bir gen aktarımı için adventif sürgün rejenerasyonunun ve özellikle de eksplant başına rejenere olan sürgün sayısının yüksek olması gerekmektedir. Keten hipokotil eksplantlarından yüksek adventif sürgün elde etmek için rejenerasyon ortamında yaygın olarak BAP ve NAA kullanılmaktadır. Farklı TDZ

dozları (1, 2, 4 ve 8 mg/l) arasında; sürgün rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı ve petri başına toplam sürgün sayısı bakımından en uygun dozun 2 mg/l olduğu belirlenmiş ve TDZ dozları BAP ve NAA ile karşılaştırılmıştır.

Yıldız ve Özgen (2006), benzylaminopurine (BAP), naphtalene acetic acid (NAA) ve thidiazuron (TDZ)'un farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarının üç keten çeşidinin hipokotil eksplantlarından sürgün rejenerasyonu üzerine olan etkisi araştırmışlardır. Bitki rejenerasyonu, biyoteknolojide transgenik bitkilerin elde edilmesinde sınırlayıcı önemli bir faktördür. Keten (*Linum usitatissimum* L.), yüksek kaliteli kuruyan yağı ve lifi nedeniyle önemli bitkilerden biridir. Keten bitkileri, *in vitro* teknikler kullanılarak hipokotil kısımlarından kolaylıkla rejenere olmaktadır. En iyi sonuçlar, 1 mg/l BAP ve 0.02 mg/l NAA içeren MS ortamından; Madaras, 1886 Sel. ve Clarck çeşitlerinde sırasıyla eksplant ağırlığında 1054, 944 ve 800 mg, sürgün rejenerasyonunda %100.0, %96.7 ve %70.0, eksplant başına sürgün sayısında 9.8, 9.8 ve 15.4, petri başına toplam sürgün sayısında 98.0, 96.0 ve 108.0 olarak elde edilmiştir. 1 mg/l'nin üzerinde artan TDZ dozları, eksplant üzerinde toksik etki göstermiş ve sürgün rejenerasyon frekansı önemli derecede düşmüştür. TDZ'nin ketenin *in vitro* kültüründe yalnız başına kullanılması önerilmemiştir.

Özgen vd. (2007), tuza toleranslı buğday ıslahında *in vitro* mutagenesis aracılığı ile kallus ve rejeneratif bitkilerden yararlanılarak, tuza toleranslı çeşit geliştirmede başlangıç materyali ya da gen kaynağı olarak kullanılabilecek rejenerantların elde edilmesi amacıyla yürüttükleri çalışmada, bitki materyali olarak tescilli 1 adet ekmeklik (*Triticum aestivum* L., Bezostaja 1) ve 1 adet makarnalık (*Triticum durum* Desf., Çakmak 79) buğday çeşidi kullanmışlardır. Araştırmada, tuz kaynağı olarak toprakta en çok bulunan NaCl kullanılmış, 0 dozu kontrol olarak değerlendirilmiş ve 4, 8, 12, 16, 20 g/l olmak üzere toplam 6 tuz dozunda tepkiler belirlenmiştir. Gama radyasyonu kullanılarak yapılan muamelelerde ise dozlar, embriyolar için 100, 200, 300, 400 ve 500 Gy; kalluslar için 30, 60, 90, 120 ve 150 Gy olarak belirlenmiştir. Çalışma sonunda 12, 16 ve 20 g/l'lik tuz dozları arasında her iki çeşitte de rejenere olan bitki sayısı bakımından en yüksek değerler 12 g/l tuz dozundan elde edilmiştir. Radyasyon dozlarında ise, en yüksek rejenere olan bitki sayısı Bezostaja 1 çeşidinde, tohuma 100

Gy ve kallusa 30 Gy radyasyon dozu uygulamasından alınırken; Çakmak 79 çeşidinde tohumu 400 Gy ve kallusa 30 Gy radyasyon dozu uygulamasından elde edilmiştir.

Şahin Demirbağ vd. (2008), askorbik asit eklenmiş TDZ, 6-benzylaminopurine ve naftalin asetik asit içeren MS ortamında nohut mürdümüğü (*L.cicera* L.)'nın olgunlaşmamış embriyo eksplantlarını kullanmıştır. Bir bitkide görülen en yüksek sürgün sayısı 0.45 mg/l TDZ ve 0.4 mg/l askorbik asit eklenmiş MS ortamında gözlenmiştir. Sürgünler 7 dk boyunca 50 mg/l IBA ile muamele edilerek köklendirilmiştir. Bitkicikler sera ortamında başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırmıştır.

Şahin Demirbağ vd. (2008), *in vitro*'da tohumlardan gelişen *L.cicera* L.'dan alınan kotiledon eksplantlarını kullanmış ve 0.2 mg/l TDZ içeren MS ortamında %100 sürgün rejenerasyonu rapor etmiştir. 0.2 mg/l TDZ ve 300 mg/l Casein hydrolsate içeren MS ortamında kaydedilen bitki başına en yüksek sürgün rejenerasyonu sırasıyla 11.83 ve 10.56'dır. %60 köklenme oranı 5 ve 7.5 dk boyunca 100 mg/l IBA ile muamele edilerek elde edilmiştir.

Kendir vd. (2009), TDZ ve BAP-NAA'nın çeşitli konsantrasyonlarını askorbik asitli ve askorbik asitsiz şekilde kullanarak mürdümüğün olgunlaşmamış zigotik embriyolarından sürgün rejenerasyonu elde etmiştir. Araştırmalar askorbik asit olmaksızın hem TDZ hem de BAP-NAA'nın fenolik bileşiklerin salımına bağlı olarak bitkide sürgün rejenerasyonuna etki yapmadığını göstermiştir. 0.45 mg/l TDZ (askorbik asitli) içeren MS ortamında yan sürgün rejenerasyonu, BAP-NAA (askorbik asitli)'ya göre çok daha yüksektir. Gelişen sürgünler en iyi 0.90 mg/l NAA eklenmiş MS ortamında köklendirilmiştir. Köklenen bitkicikler sera ortamında dış koşullara alıştırmıştır.

Yıldız (2009), gama radyasyonundan yararlanılarak hücre ve dokularda fiziksel ve biyolojik değişikliklerin oluşturulması ve bu şekilde partikül bombardımanı yöntemi kullanılarak yapılan gen geçişlerinin ve bitki rejenerasyonunun artırılmasını hedeflediği çalışmada, öncelikle farklı gama kaynaklarının (Kobalt 60 ve Sezyum 137) ve

bunlara ilişkin dozların bitki rejenerasyonuna olan etkisi belirlenmiş; uygun radyasyon kaynağı ve dozlar belirlendikten sonra partikül bombardımanı ve bitki rejenerasyonu çalışmalarına başlamıştır. Olgun embriyolardan kallus kültürü aracılığıyla bitki rejenerasyonu üzerine yapılan çalışmalarda kullanılan her iki buğday çeşidinde (Bezostaja-1 ve Çakmak 79) de incelenen tüm karakterlerde en yüksek sonuçlar kontrol (0 Gy) uygulamasından alınmış, bunu 15 Gy'lik gama radyasyon dozu uygulaması izlemiştir. Gama radyasyon dozlarındaki artışa paralel olarak elde edilen sonuçlarda önemli düşüşler gözlenmiştir. 15 Gy'in üzerindeki gama radyasyon dozlarında sürgün rejenerasyonu görülse de herhangi bir bitkicik gelişimi olmamıştır. Araştırmada kullanılan her iki çeşitte de en yüksek sonuçların Kobalt 60 gama kaynağının kullanıldığı uygulamalardan elde edilmiştir. Sezyum 137 gama kaynağı kullanıldığında, incelenen tüm karakterlerden elde edilen sonuçlarda önemli düşüşler gözlenmiştir. 15 Gy'lik gama radyasyonu uygulamasında kallus ve embriyo eksplantları karşılaştırıldığında, tüm karakterlerde en yüksek sonuçların kallustan alındığı belirlenmiştir.

Yıldız vd. (2011), *in vitro* rekabet ve stresin *Linum usitatissimum* hipokotil eksplantlarının doku kültürü tepkisine olan etkilerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, eksplantlar arasındaki rekabeti, eksplantların kültüre alındığı mesafeleri değiştirerek sağlamışlardır. 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 cm olarak dört farklı kültür mesafesinin kullanıldığı araştırmada, kültür başlangıcından 6 hafta sonra hipokotil yaş ve kuru ağırlıkları, sürgün rejenerasyon yüzdesi, hipokotil başına sürgün sayısı, rejenere sürgün uzunluğu, petride gelişen toplam sürgün sayısı ve toplam klorofil kapsamı belirlenmiştir. Sonuçlar, eksplantlar arasındaki kültür mesafesinin 2.0 cm'den 1.0 cm'ye düşürülerek onların rekabete teşvik edilmesinin hipokotil başına sürgün sayısını, rejenere olan sürgün uzunluğunu ve petrideki toplam sürgün sayısını önemli derecede artırdığını göstermiştir. Eksplantlar, 0.5 cm mesafede kültüre alındığında, stres başlamış ve bütün parametrelerde belirgin düşüşler gözlenmiştir. Bu araştırma, doku kültürü çalışmalarının başarısının yalnızca büyüme ortamındaki oksin ve sitokininlerin doğru konsantrasyon ve kombinasyonlarının belirlenmesiyle değil, aynı zamanda kültüre alınan eksplantlar arasındaki rekabetten yararlanılarak da artırılabilceğini göstermiştir.

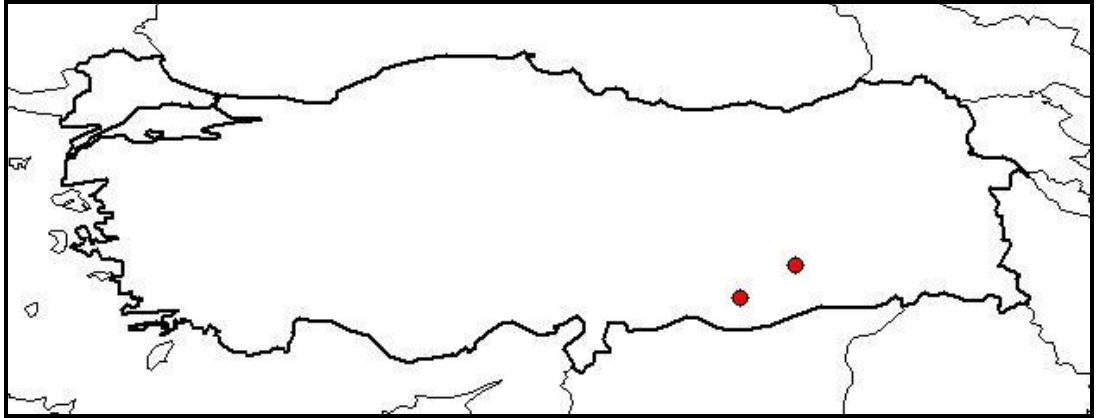
3. MATERYAL VE METOT

3.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler Sigma Chemical Co., Merck ya da Duchefa'dan temin edilmiştir.

3.2 Bitki Materyali

Çalışmada bitki materyali olarak Türkiye'de Diyarbakır ve Urfa illeri civarında kendiliğinden yetişen *Lathyrus chrysanthus* Boiss. türüne ait tohumlar kullanılmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 *Lathyrus chrysanthus* Boiss.'in Türkiye'de doğal yetiştirme alanları

3.3 Metot

3.3.1 Büyüme ortamı ve kültür koşulları

Denemelerde MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog 1962, Çizelge 3.1) ile %3 sukroz içeren ve %0.7'lik agar (Type A) ile katılaştırılan temel besin ortamı (MS) kullanılmıştır. Ortam hazırlığında distile saf su kullanılmış, gerektiğinde besin ortamına farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri ilâve edilmiştir. Besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.8'e ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer

basınç altında ve 120°C’de 20 dakika tutularak sterilizasyon sağlanmıştır. Tüm kültürler beyaz floresan ışığı ($27 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) altında 16 saat ışık ve 8 saatlik karanlık fotoperiyotta $24\pm 1^\circ\text{C}$ ’de tutulmuştur. Her muamele, içerisinde 10 adet eksplantın bulunduğu 3 tekerrürlü 100x10 mm’lik petri kutularından oluşmuştur.

Çizelge 3.1 MS (Murashige ve Skoog) ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları

Ortamda Bulunan Maddeler		Konsantrasyonu (mg/l)
Makro Elementler	NH_4NO_3	1650
	KNO_3	1900
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
	KH_2PO_4	170
Mikro Elementler	KI	0.83
	H_3BO_3	6.2
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3
Vitaminler	Inisitol	100
	Nicotinic Acid	0.5
	Pyridoxine-HCl	0.5
	Thiamine-HCl	0.1
	Glycine	2

3.3.2 Tohum yüzey sterilizasyonu

Tohumlar, manyetik karıştırıcı üzerinde farklı sıcaklık (25, 35 ve 45°C) ve dozlardaki (50, 75 ve %100) ticari çamaşır suyu içerisinde, değişik sürelerde (10, 15 ve 20 dk) çalkalanarak steril edilmiş, daha sonra steril saf su ile 3-4 defa durulanmıştır. Böylece fazla sayıda steril sağlıklı fide elde etmek için gerekli sterilizasyon uygulaması belirlenmiştir.

3.3.3 Tohumların *in vitro* şartlarda çimlendirilmesi, eksplant izolasyonu ve sürgün rejenerasyonu

Steril edilen tohumlar bistüri yardımıyla çizildikten sonra 1 mM GA₃ çözeltisinde 6 saat çalkalanmış, steril petriler içerisinde sıvı MS ile ıslatılan kurutma kağıtları arasında 10 gün bekletildikten sonra Magenta kapları içerisinde 3% sukroz içeren ve 0.7% agar ile katılaştırılan MS besin ortamında ekilmiş, 24±1°C'de 16 saat ışık/8 saat karanlık fotoperiyotta çimlendirilmiştir. Tohumlarda 5 gün sonra çimlenme yüzdesi, 14 gün sonra da fide gelişim yüzdesi belirlenmiştir. Fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları, fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları, fidelerin yaprak üst yüzeyinde mikroskop görüş alanındaki stoma sayısı, stoma eni ve boyu, hücre sayısı ile hücre eni ve boyu karakterlerinde ölçümler steril tohumların ekiminden 28 gün sonra alınmıştır.

Sürgün rejenerasyonu için 28 gün sonunda gelişen fidelerden kotiledon boğum (Şekil 3.2) ve sürgün ucu (Şekil 3.3) meristem eksplantları kullanılmıştır. İzole edilen eksplantlar, içerisinde farklı dozlarda BAP (0.25, 0.50, 1.00 ve 2.00 mg/l) ve NAA (0.05 ve 0.10 mg/l) içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Eksplantlar, rejenerasyon ortamına konulduktan 4 hafta sonra sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve petride gelişen toplam sürgün sayısı belirlenmiştir.

3.3.4 Gelişen sürgünlerin *in vitro* şartlarda köklendirilmesi

Gelişen sürgünler köklendirmek amacıyla farklı oranlarda IAA (indole-3 acetic acid) (0.50 ve 1.0 mg/l) ve IBA (indole-3 butyric acid) (0.5 ve 1.0 mg/l) içeren ½ MS ortamına aktarılmıştır. Rejenere sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla aynı zamanda Şahin Demirbağ vd. (2008) tarafından belirtilen protokole uygun olarak 50 mg/l IBA içeren solüsyonda 7 dk. bekletildikten sonra ½ MS ortamında kültüre alınmıştır. Gelişen sürgünler köklendirme ortamına konulduktan 4 hafta sonra köklenen sürgün yüzdesi ve sürgün başına kök uzunluğu belirlenmiştir. Köklenen sürgünler 160°C'de 3 saat



Şekil 3.2 28 günlük fidelerden izole edilen kotiledon boğum eksplantları



Şekil 3.3 28 günlük fidelerden izole edilen sürgün ucu meristem eksplantları

tutularak steril edilmiş topraklı saksılara şaşırtılıp dış koşullara adaptasyonları sağlanmıştır.

3.3.5 Klorofil kapsamının belirlenmesi

Steril fidelerin yapraklarındaki klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil içerikleri Curtis ve Shetty (1996) protokolüne göre belirlenmiştir. Bunun için, 50 mg yeşil materyal, 3 ml metanol içine konularak 23°C'lik sıcaklıktaki karanlık ortamda 2 saat süreyle tutulmuş ve yeşil materyalde bulunan klorofilin metanol içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Bu süre sonunda sıvı kısımdan (klorofil içeren metanol) 1.5 ml alınarak 650 ve 665 nm'de spektrofotometre aracılığıyla optik yoğunluğu (OD) ölçülmüş ve klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil miktarları "µg klorofil/g taze doku" cinsinden belirlenmiştir.

3.3.6 Mikroskop gözlemleri

Steril fide yapraklarının üst yüzey birim alanındaki stoma ve epidermis hücre sayısı şeffaf tırnak cilası, temiz spatula, pens, bisturi, lam ve lamel kullanılarak ve mikroskopta 60X büyütülerek gözlemlenmiştir. Gözlemler sonucu yaprak üst epidermisinin stomal indeksi belirlenmiştir. Stomal indeks (I) = $[S / (E+S)] \times 100$, birim alandaki stoma sayısı (S) ve epidermis hücre sayısı (E) kullanılarak hesaplanmıştır.

3.4 İstatistiksel değerlendirmeler

Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş, her muamele içerisinde 10 adet eksplantın bulunduğu 3 tekerrürlü 100x10 mm'lik petri kutularından oluşmuştur. Elde edilen veriler "SPSS for Windows" programı yardımıyla varyans analizine tabi tutularak, muamele ortalamaları MSTAT-C bilgisayar programı kullanılarak Duncan testi ile karşılaştırılmıştır. Yüzde değerler, istatistik analizinden önce "arcsin" değerlerine çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran 1967).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1 Tohum Yüzey Sterilizasyonu ve Steril Fide Gelişimi

Tohumda yüzey sterilizasyonu bitki doku kültürü çalışmalarının ilk adımını oluşturmaktadır. Nitekim, doku kültürü çalışmalarında kullanılacak olan eksplantlar genellikle tohumdan gelişen steril fidelerden elde edilir. Yapılan araştırmalar tohumların steril edilmesi yoluyla elde edilen steril fidelerden alınan eksplantlarda rejenerasyon kapasitesinin çok yüksek olduğunu göstermiştir (Yıldız vd. 2002). Bununla birlikte, tohum yüzey sterilizasyonunda kullanılan dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresi, tohumdan gelişen fidelerin ve dolayısıyla eksplantın canlılığını ve rejenerasyon kapasitesini önemli derecede etkilemektedir (Allan 1991, Yıldız ve Er 2002). Bu nedenle doku kültürü çalışmalarında en düşük dezenfektan dozunun, en kısa süre uygulanmasıyla en iyi sterilizasyonun sağlanması hedeflenmektedir. Tohum yüzey sterilizasyonunda hidrojen peroksit, civa, gümüş nitrat ve antibiyotikler kullanılabilirse de, sodyum hipoklorit (ticari çamaşır suyu) en yaygın kullanıma sahiptir (Yıldız ve Er 2002, Yıldız vd. 2012). Her bitki tohumunun bakteri, mantar ve benzeri organizmalardan temizlenebilmesi için gerekli dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresi farklıdır. Bu nedenle öncelikle doku kültürü çalışmasına konu olan bitkiye ait en uygun dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresinin belirlenmesi gereklidir.

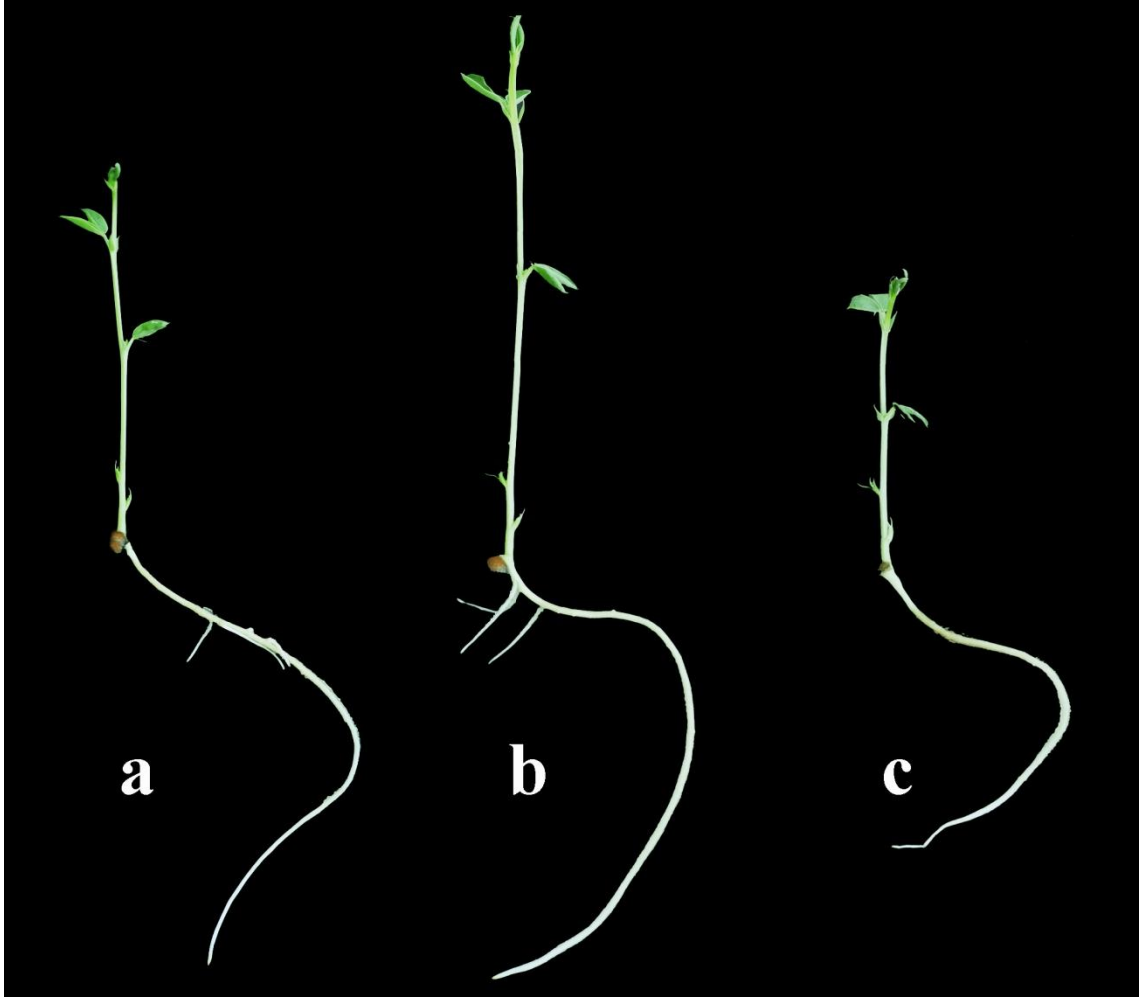
4.1.1 Farklı dezenfektan doz ve uygulama sürelerinin tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkisi

Yüzey sterilizasyonunda kullanılan dezenfektanın dozu ve uygulama süresi yanında sıcaklığının da *in vitro* tohum çimlenmesini ve fide gelişimini etkileyen önemli faktörlerden biri olduğu ilk kez Yıldız ve Er (2002) tarafından bildirilmiştir. Bu nedenle araştırmamızın ilk aşamasında, çamaşır suyu dozu ve uygulama süresinin tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkisini doğru bir şekilde belirleyebilmek için çamaşır suyu ve durulamada kullanılan steril saf su sıcaklığı 25°C olarak kullanılmıştır. Çamaşır suyu dozları (%50, %75 ve %100) ve uygulama süreleri (10, 15 ve 20 dak.) arasında önemli bir ilişki belirlenemediğinden, bu iki faktörün tohum çimlenme ve fide gelişim yüzdeleri, fide ve kök uzunlukları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile gelişen

fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları üzerine olan etkileri ayrı olarak analiz edilmiştir. *Lathyrus chrysanthus* Boiss. tohumlarına uygulanan farklı çamaşır suyu dozlarının çimlenme ve fide gelişim yüzdeleri üzerine etkisi önemsiz bulunurken; fide kuru ağırlığı, klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları üzerine etkisi 0.01 düzeyinde; fide ve kök boyları ile fide yaş ağırlığı üzerine etkisi de 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklı sterilizasyon sürelerinin çimlenme ve fide gelişim yüzdeleri, fide ve kök boyları ile fide yaş ağırlığı üzerine etkisi 0.01 düzeyinde; fide kuru ağırlığı, klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları üzerine etkisi de 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Varyans analizi sonuçları çizelge 4.1’de, Duncan gruplandırması çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çimlenme yüzdesi bakımından en yüksek değer, %75’lik çamaşır suyu dozunun 20 dak. uygulaması sonucu elde edilirken, fide gelişim yüzdesinde en yüksek değer %50’lik çamaşır suyunun 15 dak. uygulamasından alınmıştır. Diğer tüm karakterlerde (fide ve kök boyu, fide yaş ve kuru ağırlığı, klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları) en yüksek sonuçlar, yüzey sterilizasyonunda kullanılan %75’lik çamaşır suyu dozunun 15 dak. uygulaması sonucu elde edilmiştir. Çamaşır suyu dozu %100 olarak kullanıldığında, tüm karakterlerde önemli düşüşler gözlenmiştir. Çamaşır suyunun 15 dakikalık uygulama süresinde, dozun %75’den %100’e çıkması, tohum çimlenmesini %69.17’den %65.18’e düşürmüştür. Tohumların sterilizasyonunda kullanılan %75’lik çamaşır suyu dozunun 15 dak. uygulanması sonucu çimlenen %69.17’lik tohumların %53.05’i fide oluşturmuştur. Benzer şekilde, 15 dak. uygulama süresinde çamaşır suyu dozu %75’ten %100’e çıkarıldığında fide boyu 3.90 cm’den 3.45 cm’ye düşmüştür. Çamaşır suyunun olumsuz etkileri, artan uygulama süresiyle birlikte artış göstermiştir (Çizelge 4.2).

%75’lik çamaşır suyunun 15 dak. uygulamasıyla steril edilen tohumlardan gelişen fidelerin diğer doz ve uygulama sürelerine göre daha hızlı büyüdüğü gözlenmiştir (Şekil 4.1). Fide yaş ve kuru ağırlıklarında en yüksek değerler, 0.218 g ve 0.037 g ile %75’lik çamaşır suyunun 15 dak. uygulamasından elde edilmiştir.



Şekil 4.1 Çamaşır suyunun farklı dozları (a. %50, b. %75 ve c. %100) ile 15 dak. steril edilen *Lathyrus chrysanthus* Boiss. tohumlarından *in vitro* şartlarda gelişen fideler

Çizelge 4.1 Tohum yüzey sterilizasyonunda kullanılan farklı çamaşır suyu dozu ve uygulama sürelerinin *Lathyrus chrysanthus* Boiss.'de *in vitro* tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile gelişen fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Çimlenme (%)		Fide Gelişimi (%)		Fide Boyu (cm)		Kök Boyu (cm)		Fide Yaş Ağırlığı (g)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Doz	2	14.191	3.356	7.627	0.937	0.570	3.849*	1.719	5.735*	0.001	4.930*
Süre	2	42.912	10.148**	103.148	12.673**	1.428	9.651**	2.327	7.764**	0.001	8.556**
Doz x Süre	4	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	3.70	0.000	3.70	1.000
Hata	18	4.229		8.139		0.148		0.300		0.000	
Toplam	27										

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Fide Kuru Ağırlığı (g)		Klorofil a (µg klorofil/g taze doku)		Klorofil b (µg klorofil/g taze doku)		Toplam Klorofil ((µg klorofil/g taze doku)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Doz	2	2.69	7.653**	58926.830	7.135**	16641.718	9.054**	44736.502	8.234**
Süre	2	1.96	5.568*	46708.493	5.655*	9319.759	5.070*	29760.602	5.477*
Doz x Süre	4	3.70	0.011	77.075	0.009	68.519	0.037	15.567	0.003
Hata	18	3.520		8259.272		1838.081		5433.366	
Toplam	27								

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.2 Tohum yüzey sterilizasyonunda kullanılan çamaşır suyu dozu ve uygulama süresinin *Lathyrus chrysanthus* Boiss.'de *in vitro* tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları üzerine etkisi

Doz ² (%)	Uyg. Süresi (dak.)	Çimlenme (%)			Fide Gelişimi ¹ (%)			Fide Boyu (cm)				Kök Boyu (cm)				Fide Yaş Ağırlığı (g)			
		10	15	20	10	15	20	10	15	20	Ort.	10	15	20	Ort.	10	15	20	Ort.
50		61.31	66.27	68.38	45.24	56.20	47.14	3.18	3.87	3.87	3.64a	4.89	5.88	5.60	5.46a	0.182	0.204	0.198	0.195b
75		64.22	69.17	71.28	42.09	53.05	43.99	3.21	3.90	3.90	3.67a	5.21	6.20	5.92	5.78a	0.195	0.218	0.212	0.208a
100		60.23	65.18	67.29	43.42	54.38	45.32	2.76	3.45	3.45	3.22b	4.35	5.33	5.06	4.91b	0.179	0.201	0.195	0.192b
Ort.		61.92b	66.87a	68.98a	43.58b	54.54a	45.48b	3.05b	3.74a	3.74a		4.82b	5.80a	5.53a		0.185b	0.208a	0.202a	

Doz ² (%)	Uyg. Süresi (dak.)	Fide Kuru Ağırlığı (g)				Klorofil a (µg klorofil/g taze doku)				Klorofil b (µg klorofil/g taze doku)				Toplam Klorofil (µg klorofil/g taze doku)			
		10	15	20	Ort.	10	15	20	Ort.	10	15	20	Ort.	10	15	20	Ort.
50		0.031	0.034	0.034	0.033b	1122.05	1263.96	1172.24	1186.08a	484.30	552.87	521.66	519.61a	881.70	999.54	934.71	938.65a
75		0.035	0.037	0.037	0.036a	1154.48	1297.89	1205.83	1219.40a	498.80	561.28	530.33	530.14a	907.62	1020.81	956.07	961.50a
100		0.033	0.036	0.036	0.035a	995.61	1139.07	1061.98	1065.59b	423.82	485.63	443.42	450.95b	777.24	889.92	821.57	829.57b
Ort.		0.033b	0.036a	0.036a		1090.71b	1233.67a	1146.68ab		468.97b	533.26a	498.47ab		855.52b	970.09a	904.12ab	

¹ Fide gelişimi: Gelişen toplam fide sayısının toplam çimlenen tohum sayısına oranı.

² %5 NaOCl içeren ticari çamaşır suyu dozu

Diğer taraftan, %50'lik çamaşır suyu 10 dak. uygulandığında, tohum kabuğunun sertliği ve kalınlığından kaynaklanan fiziksel dormansi nedeniyle fidelerin iyi gelişemedikleri gözlenmiştir. Bir başka deyişle, %50'lik çamaşır suyunun 10 dak. süreyle uygulanması, tohum kabuğunda gerekli yumuşamayı sağlamamış, kabuktan su girişinin sınırlı olması nedeniyle de çimlenme ve fide gelişiminde istenen başarı sağlanamamıştır. Metabolik aktivitenin bir göstergesi olan doku su kapsamı, %75'lik çamaşır suyunun 15 dak. uygulaması ile steril edilen tohumlardan gelişen fidelerde 0.181 g ile en yüksek değerine ulaşmıştır.

Klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamında en yüksek değerler %75'lik çamaşır suyunun 15 dak. uygulamasından 1297.89, 561.28 ve 1020.81 µg klorofil/g taze doku olarak ölçülmüştür. Diğer taraftan, çamaşır suyu dozu %100'e ve uygulama süresi de 20 dak. çıkarıldığında, tüm klorofil kapsamalarında belirgin düşüşler gözlenmiştir.

Bitki doku kültürü çalışmalarında, yüzey sterilizasyonunda kullanılan çamaşır suyunun yüksek dozları, çimlenme, fide gelişimi ve dokuların canlılığını olumsuz olarak etkilerken (Hsiao ve Hans 1981, Hsiao ve Quick 1984, Yıldız ve Er 2002), düşük dozları dokunun sterilizasyonunda etkisiz kalmaktadır (Yıldız ve Er 2002). Çamaşır suyunun olumsuz etkileri, artan uygulama süresiyle daha şiddetli olmaktadır. *In vitro* şartlar altında uygulanan sterilizasyon işlemi, dokuya zarar vermemek için çamaşır suyunun en düşük dozunun en kısa süre kullanılmasını amaçlamaktadır. Dokunun rejenerasyon kapasitesi, çamaşır suyunun yüksek dozu ve uzun uygulama süresinden olumsuz yönde etkilenmektedir (Allan 1991, Pierik 1987). Yıldız ve Er (2002), yüksek çamaşır suyu dozlarının ketende (*Linum usitatissimum* L.) çimlenme ve fide gelişim yüzdeleri ile hipokotil ve kök boylarını önemli derecede düşürdüğünü bildirmişlerdir.

Dale (1988), dokuda yaş ağırlık artışının su alımı ile hücre büyümesi ve hücre duvarlarındaki genişleme sonucu ortaya çıktığını bildirmiştir. Kuru ağırlık artışı, hücre bölünmesi ve yeni madde sentezi ile yakından ilgilidir (Sunderland 1960). Araştırmamızda %75'lik çamaşır suyunun 15 dak. süreyle uygulanması sonucu fide yaş ve kuru ağırlıklarında en yüksek sonuçların alınması, yüksek metabolik aktivite nedeniyle su ve suda çözünmüş maddelerin besin ortamından alımındaki artışa

bağlanabilir. %75'lik çamaşır suyunun 15 dak. süreyle uygulanması sonucu fide gelişiminde elde edilen yüksek sonuçlar, dokudaki yüksek su kapsamına bağlanabilir. Nitekim, Yıldız ve Özgen (2004) *in vitro* eksplant gelişimi ve fide oluşumu üzerine doku su kapsamının önemli derecede etkili bulunduğunu bildirmişlerdir.

4.1.2 Farklı dezenfektan sıcaklıklarının tohum çimlenmesi ve fide gelişimi üzerine etkisi

Tohum yüzey sterilizasyonunda en uygun çamaşır suyu dozu %75 ve uygulama süresi de 15 dak. olarak belirlendikten sonra farklı çamaşır suyu sıcaklıklarının çimlenme ve fide gelişim yüzdeleri, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları, gelişen fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamı üzerine etkisi belirlenmiştir. 15 dak. uygulama süresinde %75'lik çamaşır suyu dozunun farklı sıcaklıklarının (25, 35 ve 45°C) *Lathyrus chrysanthus* Boiss. tohumlarında *in vitro* şartlarda çimlenme yüzdesi, kök boyu, fide yaş ve fide kuru ağırlıkları ile klorofil a kapsamı üzerine etkisi 0.01 düzeyinde; fide gelişim yüzdesi, fide boyu, klorofil b ve toplam klorofil kapsamı üzerine etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuş ve Varyans analizi sonuçları çizelge 4.3'te, Duncan gruplandırması çizelge 4.4'te verilmiştir.

45°C sıcaklığa sahip çamaşır suyu ile yapılan tohum yüzey sterilizasyonu sonucu incelenen tüm karakterlerde önemli düşüşler gözlenmiştir. Çimlenme ve fide gelişim yüzdeleri, fide ve kök uzunlukları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamı bakımından en iyi sonuçlar 35°C sıcaklığa sahip çamaşır suyu uygulamasından alınmıştır (Çizelge 4.4, Şekil 4.2). Çimlenme ve fide gelişim yüzdeleri, çamaşır suyu sıcaklığı 45°C'ye çıkarıldığında, 67.76 ve 53.53 olarak gerçekleşmiştir. Halbuki, 35°C'lik sıcaklığa sahip çamaşır suyu uygulamasında çimlenme yüzdesi 88.74 ve fide gelişim yüzdesi ise 77.74 olarak belirlenmiştir. 35°C sıcaklığa sahip çamaşır suyu ile steril edilen tohumlardan gelişen fidelerin daha canlı ve büyük oldukları görülmüştür (Şekil 4.2). 35°C sıcaklığa sahip çamaşır suyu uygulamasında ortalama 6.77 cm olan fide boyu, 45°C'lik çamaşır suyu uygulamasında 4.87 cm'ye gerilemiştir (Çizelge 4.4). Bu durum embriyonun yüksek çamaşır suyu sıcaklığından olumsuz etkilendiğini göstermektedir.

Çizelge 4.3 Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75’lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının *Lathyrus chrysanthus* Boiss.’de *in vitro* tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile gelişen fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Çimlenme (%)		Fide Gelişimi (%)		Fide Boyu (cm)		Kök Boyu (cm)		Fide Yaş Ağırlığı (g)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Sıcaklık	2	216.076	31.859**	224.505	8.943*	6.378	6.958*	7.403	20.706**	0.018	1279.589**
Hata	6	6.782		25.103		0.917		0.358		0.000	
Toplam	8										

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Fide Kuru Ağırlığı (g)		Klorofil a (µg klorofil/g taze doku)		Klorofil b (µg klorofil/g taze doku)		Toplam Klorofil ((µg klorofil/g taze doku)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Sıcaklık	2	0.000	14.000**	133857.768	10.893**	54270.203	4.248*	123433.035	6.097*
Hata	6	0.000		12288.962		12774.487		20244.430	
Toplam	8								

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

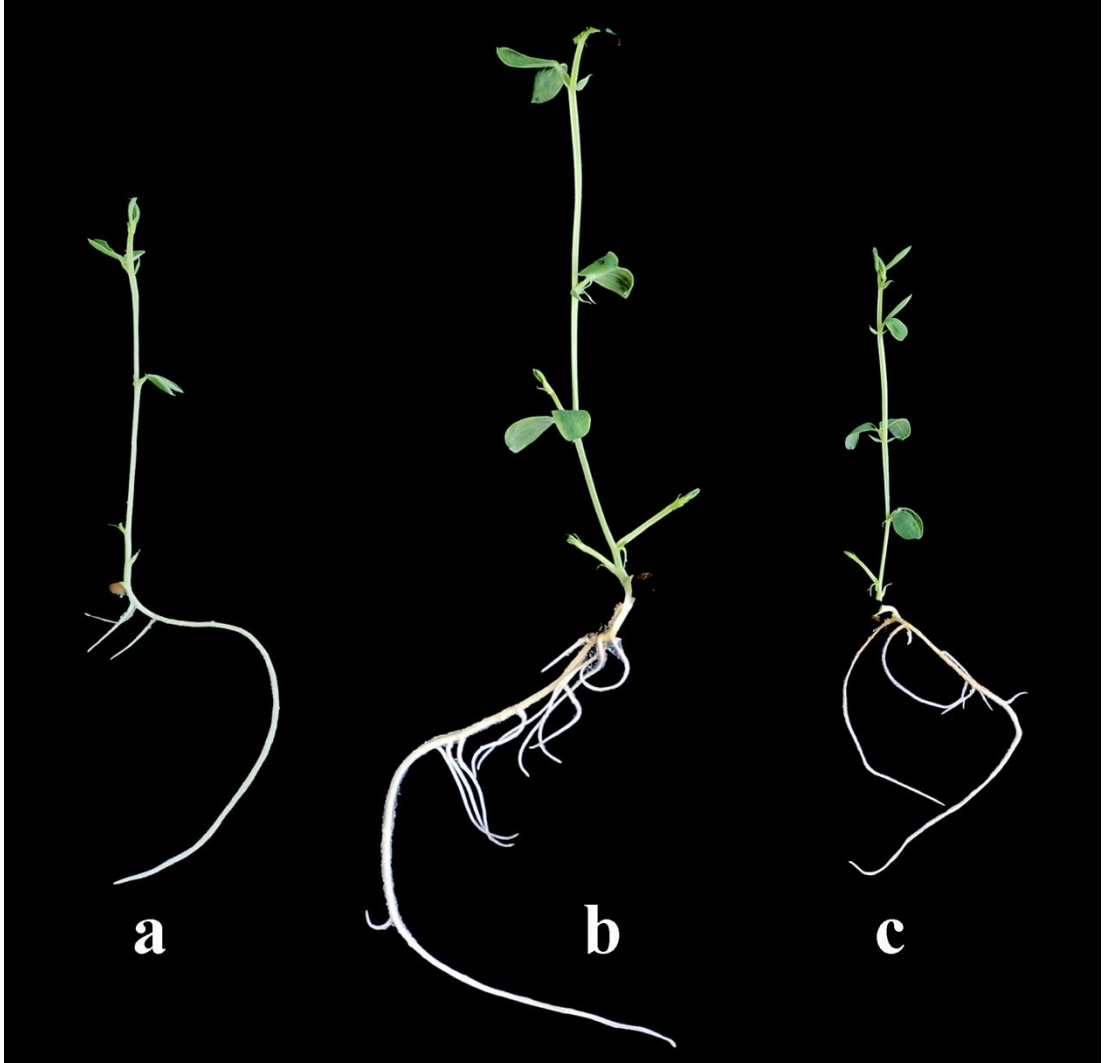
Çizelge 4.4 Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75’lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının *Lathyrus chrysanthus* Boiss.’de *in vitro* tohum çimlenmesi, fide gelişimi, fide ve kök boyları, fide yaş ve kuru ağırlıkları ile gelişen fidelerin yapraklarında klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamaları üzerine etkisi

Sıcaklık ² (°C)	Çimlenme (%)	Fide Gelişimi ¹ (%)	Fide Boyu (cm)	Kök Boyu (cm)	Fide Yaş Ağırlığı (g)
25	69.17 b	53.05 b	3.90 b	6.20 b	0.218 c
35	88.74 a	77.74 a	6.77 a	9.26 a	0.370 a
45	67.76 b	53.53 b	4.87 b	7.11 b	0.323 b

Sıcaklık ² (°C)	Fide Kuru Ağırlığı (g)	Klorofil a (µg klorofil/g taze doku)	Klorofil b (µg klorofil/g taze doku)	Toplam Klorofil (µg klorofil/g taze doku)
25	0.037 b	1297.89 b	561.28 ab	1020.81 ab
35	0.043 a	1546.14 a	760.61 a	1296.42 a
45	0.039 b	1125.98 b	504.52 b	900.81 b

¹ Fide gelişimi: Gelişen toplam fide sayısının toplam çimlenen tohum sayısına oranı

² %5 NaOCl içeren ticari çamaşır suyunun sıcaklığı



Şekil 4.2 %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıkları (a. 25°C, b. 35°C ve c. 45°C) ile 15 dakika steril edilen *Lathyrus chrysanthus* Boiss. tohumlarından *in vitro* şartlarda gelişen fideler

Yıldız ve Er (2002), keten (*Linum usitatissimum* L.) tohumlarının yüzey sterilizasyonunda kullanılan %40'lık çamaşır suyu sıcaklığının 10°C'nin altında olması durumunda, kültürde tohumdan kaynaklanan bakteriyel ve mantari bulaşıklığın gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan, çamaşır suyu sıcaklığının 10°C'nin üzerine çıkmasının, tohum çimlenmesi, fide gelişimi, hipokotil ve kök uzunluklarında belirgin düşümlere neden olduğu, eksplantın rejenerasyon kapasitesini önemli derecede azalttığı gözlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı, 30°C sıcaklığa sahip %40'lık çamaşır suyunda 7.38 iken, 10°C sıcaklıktaki %40'lık çamaşır suyunda 23.40 olarak gerçekleşmiştir. 10°C'nin üzerindeki çamaşır suyu sıcaklıklarında incelenen tüm karakterlerde ortaya çıkan düşüşün nedeni, NaOCl'in aktivitesindeki artış (Racoppi 1990) ve dezenfektanın tohum kabuğundan daha kolay geçişi (Schull 1920) olarak açıklanabilir.

Yaprak klorofil kapsamı, bitki büyüme ve gelişmesinde önemli rol oynayan (Yang vd. 2010) fotosentetik kapasitesinin bir göstergesi (Emerson 1929, Pal ve Laloraya 1972, Wright vd. 1994, Nageswara vd. 2001) olup, dokudaki miktarı stress şartları altında değişmektedir (Rensburg ve Kruger 1994, Kyparissis vd. 1995, Jagtap vd. 1998). Klorofil a, klorofil b ve toplam klorofil kapsamı bakımından en yüksek değerler, 35°C sıcaklıktaki %75'lik çamaşır suyu ile 15 dakika steril edilen tohumlardan gelişen fidelerden elde edilmiştir. Ancak, aynı dozadaki çamaşır suyu sıcaklığı 45°C'ye çıktığında, tüm klorofil kapsamlarında belirgin düşüşler gözlenmiştir.

4.1.3 Farklı dezenfektan sıcaklıklarının gelişen fidelerin hücre iskeleti üzerine etkisi

Tohum yüzey sterilizasyonunda 15 dak. kullanılan %75'lik çamaşır suyu dozunun farklı sıcaklıklarının gelişen fidelerin yapraklarında mikroskop görüş alanında hücre iskeleti üzerine etkileri incelenmiştir. 15 dak. uygulama süresinde %75'lik çamaşır suyu dozunun farklı sıcaklıklarının (25, 35 ve 45°C) *Lathyrus chrysanthus* Boiss. tohumlarından *in vitro* şartlarda gelişen fidelerin yapraklarında stoma eni, stoma boyu, hücre sayısı ve hücre boyu üzerine etkisi 0.01 düzeyinde; stoma sayısı ve hücre

eni üzerine etkisi de 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Varyans analiz sonuçları çizelge 4.5'te, Duncan gruplandırması çizelge 4.6'da verilmiştir.

Araştırma sonucunda stoma ve hücreye ait en yüksek sonuçlar, 35°C sıcaklığa sahip %75'lik çamaşır suyu dozu ile 15 dak. steril edilen tohumlardan gelişen fidelerin yapraklarından elde edilmiştir. 35°C'lik çamaşır suyunda elde edilen yüksek hücre sayısı, yüksek hücre bölünmesine bağlanabilir. Diğer taraftan, 45°C'lik çamaşır suyu sıcaklığının kullanıldığı uygulamalardan elde edilen düşük hücre sayısı (24.92), stres şartları altında hücre bölünmesinin engellendiğini göstermektedir (Doonan 2000) (Çizelge 4.6).

Foard ve Haber (1961), gama radyasyonuna maruz bırakılan buğday tohumlarından gelişen fidelerin DNA sentezi, mitoz ve hücre bölünmesi olmaksızın büyüdüklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar göre, hücre bölünmesinin olmadığı durumlarda, araştırmamızda 45°C'lik çamaşır suyu sıcaklığında gözlemlendiği gibi, hücre boyunda artışlar belirlenmiştir (Çizelge 4.6, Şekil 4.3). Araştırmamızda elde edilen hücre boyunda, en yüksek değerin 90.83 μm ile 45°C'lik çamaşır suyu sıcaklığında elde edildiği görülmektedir. Aynı şekilde en yüksek hücre alanı 2263.48 μm^2 ile 45°C'lik çamaşır suyu sıcaklığında ölçülmüştür. Diğer taraftan aynı sıcaklıkta hücre sayısında ise 67.67 ile en düşük değer elde edilmiştir. Bu durum, bitkinin organ büyüklüğünü koruyabilmek için hücre boyutlarında artışa giderek, hücre sayısındaki azalmayı telafi etmeye çalıştığını göstermektedir.

Çizelge 4.5 Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının *Lathyrus chrysanthus* Boiss.'de *in vitro* gelişen fidelerin yapraklarında mikroskop görüş alanındaki hücre iskeleti üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Stoma Sayısı		Stoma Eni (µm)		Stoma Boyu (µm)		Hücre Sayısı		Hücre Eni (µm)		Hücre Boyu (µm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Sıcaklık	2	45.778	6.754*	53.424	15.764**	59.299	49.645**	272.333	25.010**	6.771	6.414*	145.924	27.576**
Hata	6	6.778		3.389		1.194		10.889		1.056		5.292	
Toplam	8												

** 0.01 düzeyinde önemli

* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.6 Tohum yüzey sterilizasyonu için 15 dakika uygulanan %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıklarının *Lathyrus chrysanthus* Boiss.'de *in vitro* gelişen fidelerin yapraklarında mikroskop görüş alanındaki hücre iskeleti üzerine etkisi

Sıcaklık ¹	Stoma Sayısı	Stoma Eni (µm)	Stoma Boyu (µm)	Stoma Alanı (µm ²)	Stoma İndeksi [S/(S+E)] * 100	Hücre Sayısı	Hücre Eni (µm)	Hücre Boyu (µm)	Hücre Alanı (µm ²)
25	27.00 a	12.50 a	19.50 a	243.75	24.32	84.00 a	26.83 a	77.17 b	2070.47
35	28.33 a	15.08 a	20.33 a	306.58	25.14	84.33 a	27.67 a	81.58 b	2257.32
45	21.00 b	6.83 b	12.25 b	83.67	23.68	67.67 b	24.92 b	90.83 a	2263.48

¹ %5 NaOCl içeren ticari çamaşır suyunun sıcaklığı

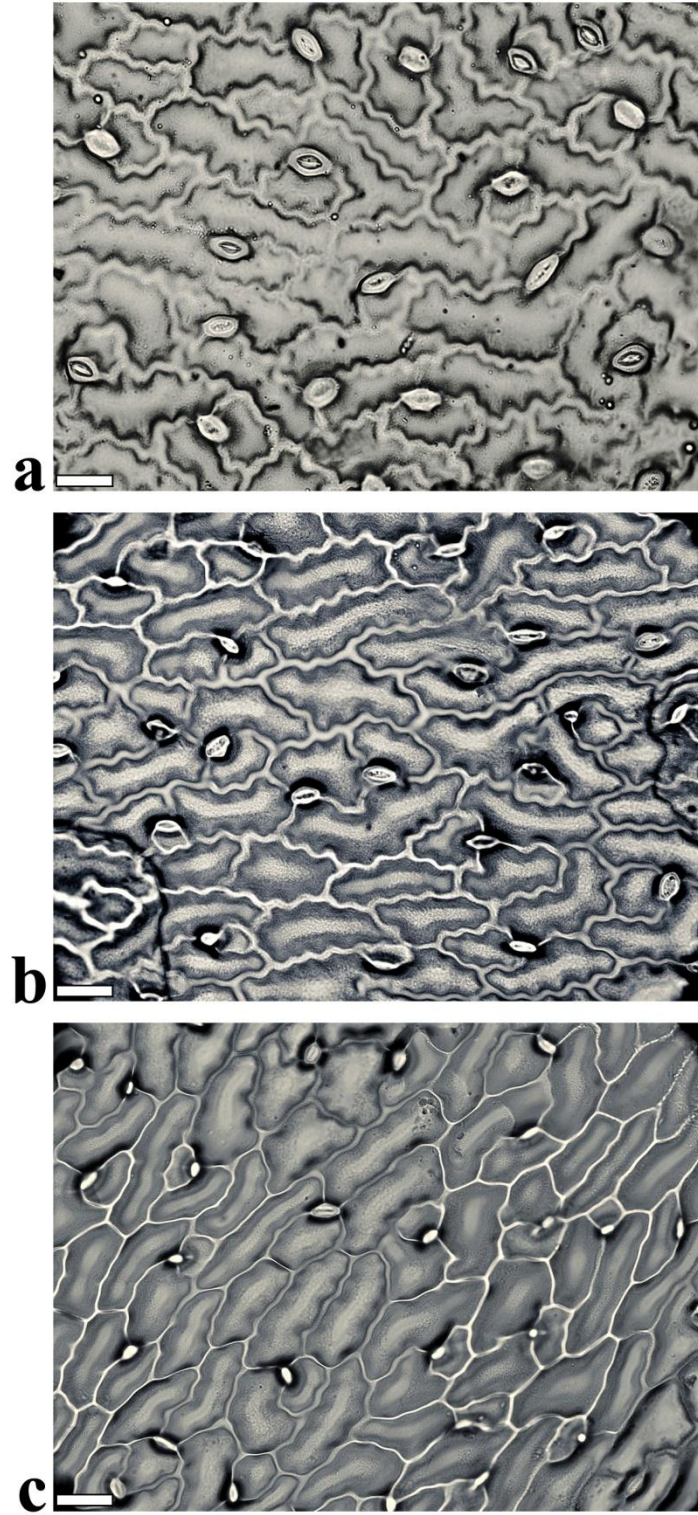
S, Birim görüş alanındaki stoma sayısı; E, Birim görüş alanındaki epidermis hücre sayısı

Araştırmamızda bulunan sonuçlar, stres altındaki bitkilerin yapraklarında stoma ve hücre sayısının daha az olduğunu bildiren Quarrie ve Jones (1977) ve Cutler vd. (1977) ile benzerlik göstermektedir.

45°C sıcaklıkta, NaOCl tohumun amino asitleriyle kolayca reaksiyona girmekte ve sonuçta Kantouch ve Ardel-Fattah (1971) tarafından bildirildiği gibi açığa yüksek miktarda CO₂ çıkmaktadır. Artan CO₂, yapraklardaki düşük stoma sayısının temel nedenidir (Woodward ve Bazzaz 1988) (Çizelge 4.6). Stoma yoğunluğu ve sayısı ile ilgili sonuçlarımız, artan CO₂ konsantrasyonunun stoma yoğunluğu ve stoma indeksinde düşüşe neden olduğunu bildiren McElwain ve Chaloner (1995) tarafından da desteklenmektedir. 45°C sıcaklıkta gözlenen düşük stoma eni, artan CO₂ konsantrasyonu ve düşük su içeriği nedeniyle kapanan stomalardan kaynaklanmıştır (Solomon vd. 1993). Diğer taraftan, 35°C sıcaklıkta ortaya çıkan yüksek stoma eni, düşük CO₂ konsantrasyonu ve yüksek su kapsamı nedeniyle stomaların açık olmasından ileri gelmiştir.

4.2 Kotiledon Boğum ve Sürgün Ucu Meristem Eksplantlarından Sürgün Rejenerasyonu

Sürgün rejenerasyonu için 28 gün sonunda gelişen fidelerden kotiledon boğum ve sürgün ucu meristem eksplantları izole edilmiş, içerisinde farklı dozlarda BAP (0.25, 0.50, 1.00 ve 2.00 mg/l) ve NAA (0.05 ve 0.10 mg/l) içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Farklı rejenerasyon ortamlarının steril *Lathyrus chrysanthus* Boiss. fidelerinden izole edilen kotiledon boğum eksplantlarının sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi 0.05 düzeyinde; eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve petride gelişen toplam sürgün sayısı üzerine etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Farklı rejenerasyon ortamlarının steril *Lathyrus chrysanthus* Boiss. fidelerinden izole edilen sürgün ucu meristem eksplantlarının, sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve petride gelişen toplam sürgün sayısı üzerine etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Varyans analiz sonuçları çizelge 4.7’de, Duncan gruplandırması çizelge 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.3 %75'lik çamaşır suyunun farklı sıcaklıkları (a. 25°C, b. 35°C ve c. 45°C) ile 15 dakika steril edilen *Lathyrus chrysanthus* Boiss. tohumlarından *in vitro* şartlarda gelişen fidelerin yaprak üst yüzeyinde mikroskop görüş alanında hücre iskeleti. Bar = 30 µm

Çizelge 4.7 Farklı rejenerasyon ortamlarının steril *Lathyrus chrysanthus* Boiss. fidelerinden izole edilen kotiledon boğum ve sürgün ucu meristem eksplantlarından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve petride gelişen toplam sürgün sayısı üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Kotiledon Boğum							
		Sürgün Rejenerasyonu (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı		Sürgün Uzunluğu (cm)		Petride Gelişen Toplam Sürgün Sayısı	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Ortam	7	398.725	2.815*	1.424	10.984**	1.005	5.802**	193.137	16.264**
Hata	16	141.639		0.130		0.173		11.875	
Toplam	23								

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Ucu Meristem							
		Sürgün Rejenerasyonu (%)		Eksplant Başına Sürgün Sayısı		Sürgün Uzunluğu (cm)		Petride Gelişen Toplam Sürgün Sayısı	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Ortam	7	142.093	5.635**	0.452	5.529**	0.688	15.660**	13.786	5.805**
Hata	16	25.217		0.082		0.044		2.375	
Toplam	23								

** 0.01 düzeyinde önemli

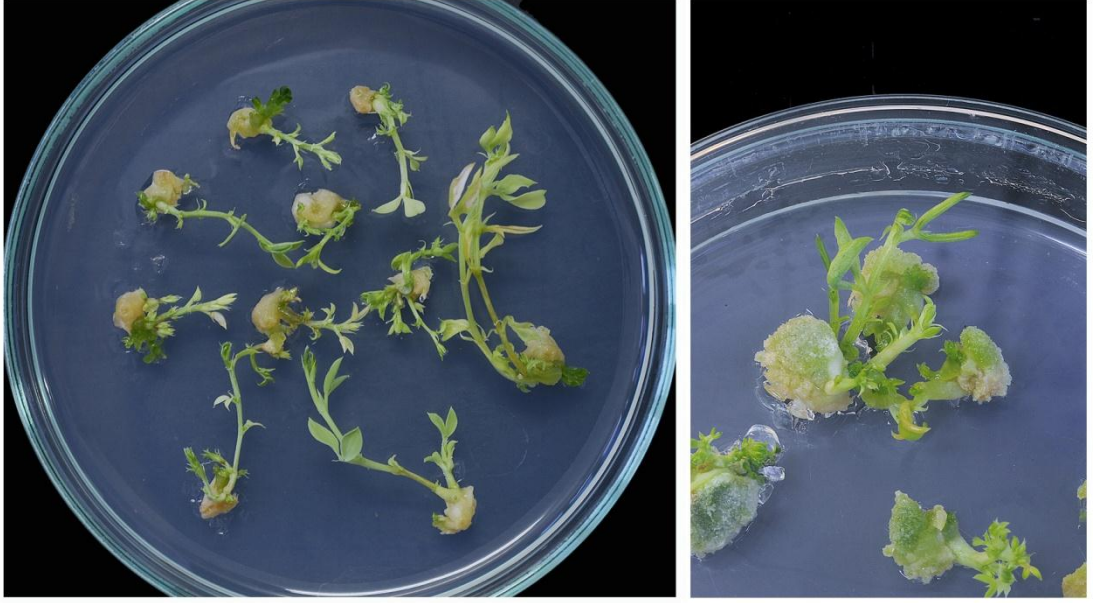
* 0.05 düzeyinde önemli

Çizelge 4.8 Farklı rejenerasyon ortamlarının steril *Lathyrus chrysanthus* Boiss. fidelerinden izole edilen kotiledon boğum ve sürgün ucu meristem eksplantlarından sürgün rejenerasyonu, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve petride gelişen toplam sürgün sayısı üzerine etkisi

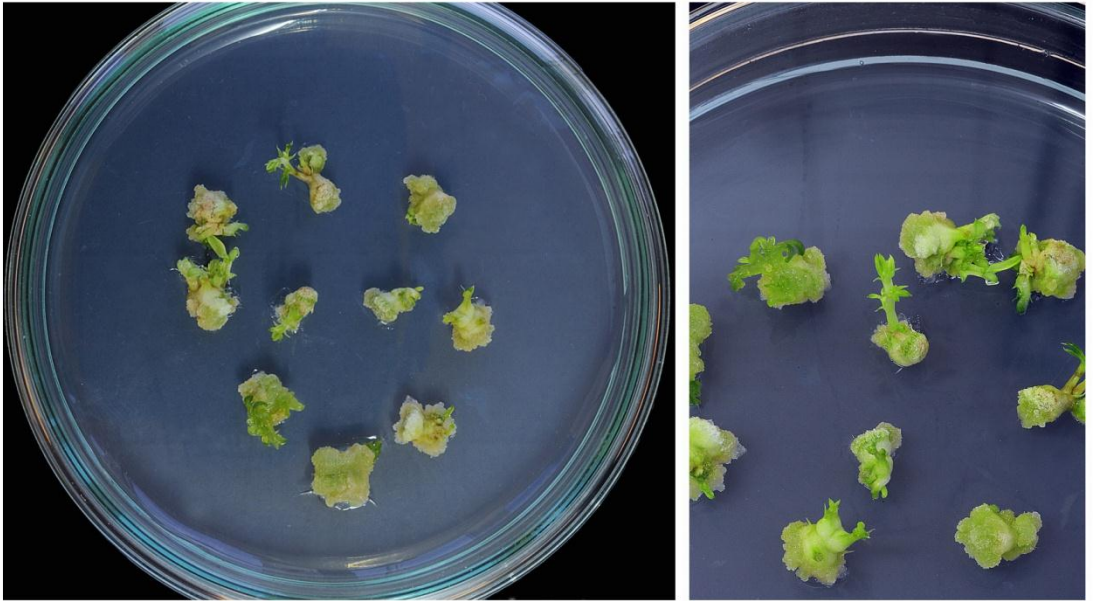
Büyüme Düzenleyicileri (mg/l)		Kotiledon Boğum				Sürgün Ucu Meristemi			
BAP	NAA	Sürgün Rejenerasyonu (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu (cm)	Petride Gelişen Toplam Sürgün Sayısı	Sürgün Rejenerasyonu (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı	Sürgün Uzunluğu (cm)	Petride Gelişen Toplam Sürgün Sayısı
0.25	0.05	86.67 ab	3.01 a	3.00 a	31.00 a	43.33 ab	1.87 ab	0.97 bc	7.67 abc
0.25	0.10	86.67 ab	2.93 ab	2.30 ab	25.33 ab	16.67 d	1.50 bc	0.60 cd	2.33 d
0.50	0.05	93.33 a	2.83 b	2.07 bc	25.33 ab	43.33 ab	2.22 a	1.93 a	9.00 a
0.50	0.10	80.00 ab	3.00 ab	2.06 bc	24.00 b	40.00 abc	1.75 ab	0.50 d	6.67 abc
1.00	0.05	83.33 ab	2.89 ab	1.90 bcd	24.00 b	40.00 abc	2.16 a	0.55 d	8.33 ab
1.00	0.10	60.00 bc	1.69 c	1.65 bcd	10.67 d	30.00 bc	2.00 ab	0.50 d	5.33 c
2.00	0.05	43.33 c	1.63 c	1.33 cd	7.67 d	26.67 cd	2.17 a	0.75 bcd	5.00 cd
2.00	0.10	80.00 ab	2.10 c	1.16 d	16.67 c	50.00 a	1.10 c	1.00 b	5.67 bc

Kotiledon boğum eksplantlarında en yüksek değerler eksplant başına sürgün sayısında 3.01 ve petride gelişen toplam sürgün sayısında 31.00 ile 0.25 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren besin ortamından alınmıştır (Şekil 4.4). Eksplant başına sürgün sayısı ve petride gelişen toplam sürgün sayısı bakımından en düşük değerler, 1.63 ve 7.67 adet ile 2.00 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren MS ortamından elde edilmiştir. En yüksek ve en düşük sonuçların alındığı besin ortamında bulunan büyüme düzenleyicileri konsantrasyonlarına bakıldığında, NAA'nın her iki ortamda da 0.05 mg/l dozunda kullanıldığı görülmektedir. BAP ise, en yüksek sonuçların alındığı ortamda 0.25 mg/l dozunda kullanılırken, en düşük sonuçların alındığı ortamda 2.00 mg/l dozunda kullanılmıştır. Bu sonuçlardan, sürgün rejenerasyon frekansında belirleyici büyüme düzenleyicisinin BAP olduğu görülmektedir. BAP'nin 0.25 mg/l'nin üzerindeki dozları, eksplant başına sürgün sayısı ve petride gelişen toplam sürgün sayısında önemli düşüslere neden olmuştur. Şahin Demirbağ vd. (2008), yaygın mürdümükte (*Lathyrus sativus* L.) yaptıkları çalışmalarında, kotiledon boğum eksplantlarından sürgün rejenerasyonu üzerine TDZ'nin etkilerini araştırmışlardır. Barik vd. (2004), kotiledon boğum eksplantlarını kullanarak yaygın mürdümükte sürgün rejenerasyonu üzerine farklı sitokininlerin etkisini araştırmışlardır.

Sürgün ucu meristem eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ve petride gelişen toplam sürgün sayısı bakımından en yüksek sonuçlar, 0.50 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren MS besin ortamından 2.22 ve 9.00 olarak alınmıştır (Şekil 4.5). Eksplant başına sürgün sayısında en düşük değer, 1.10 ile 2.00 mg/l BAP ve 0.10 mg/l NAA içeren besin ortamından alınmıştır. Bu ortamda petride gelişen toplam sürgün sayısı 5.67 olarak gerçekleşmiştir. Petride gelişen toplam sürgün sayısı bakımından en düşük değer ise 2.33 ile 0.25 mg/l BAP ve 0.10 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Bu ortamda eksplant başına sürgün sayısı 1.50 adet olmasına rağmen, sürgün rejenerasyonu %16.67 olarak gerçekleştiğinden, petride gelişen toplam sürgün sayısı düşük çıkmıştır. En düşük sonuçların alındığı besin ortamlarında NAA'nın 0.10 mg/l dozunda kullanıldığı görülmektedir.



Şekil 4.4 Steril *Lathyrus chrysanthus* Boiss. fidelerinden izole edilen kotiledon boğum eksplantlarından 0.25 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün rejenerasyonu



Şekil 4.5 Steril *Lathyrus chrysanthus* Boiss. fidelerinden izole edilen sürgün ucu meristem eksplantlarından 0.50 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren MS besin ortamında sürgün rejenerasyonu

4.3 Kotiledon Boğum Eksplantlarından Rejenere Olan Sürgünlerin *In Vitro* Köklendirilmesi

Kotiledon boğum eksplantlarından rejenere olan sürgünler, ½ MS içeren 5 farklı ortamda köklendirmeye alınmış, 4 hafta sonunda gelişen bitkiciklerde köklenen sürgün yüzdesi, kök uzunluğu ve bitkicik uzunlukları tespit edilmiştir.

Kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünler, farklı dozlarda IAA (0.50 ve 1.00 mg/l) ve IBA (0.50 ve 1.00 mg/l) içeren ortamlarda köklendirmeye alınmıştır. Son muamelede sürgünler, 50 mg/l IBA solüsyonunda 7 dak. bekletildikten sonra köklendirmeye konulmuştur.

Farklı köklendirme ortamlarının kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerde köklenen sürgün yüzdesi, kök uzunluğu ve bitkicik uzunluğu üzerine etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur. Varyans analiz sonuçları çizelge 4.9’da, Duncan gruplandırması çizelge 4.10’da verilmiştir.

Çizelge 4.9 Farklı köklendirme ortamlarının kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök uzunluğu ve bitkicik uzunluğu üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Köklenen Sürgün (%)		Kök Uzunluğu (cm)		Bitkicik Uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Ortam	4	266.549	6.218**	103.067	18.188*	30.167	14.597**
Hata	10	42.864		5.667		2.067	
Toplam	14						

** 0.01 düzeyinde önemli

Tüm köklendirme ortamlarında kültüre alınan sürgünlerde köklenen sürgün yüzdesi, kök uzunluğu ve sürgün uzunluğu bakımından en yüksek değerler, 0.50 mg/l IBA içeren ½ MS ortamından alınmıştır. Bu ortamda köklendirmeye konulan sürgünlerin tamamı kök oluştururken, kök uzunluğu 19.00 cm ve bitkicik uzunluğu da 12.00 cm olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.6).

Çizelge 4.10 Farklı köklendirme ortamlarının kotiledon boğum eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök uzunluğu ve bitkicik uzunluğu üzerine etkisi

Köklendirme Ortamı	Köklenen Sürgün (%)	Kök Uzunluğu (cm)	Bitkicik Uzunluğu (cm)
50 mg/l IBA içeren solüsyonda 7 dak. bekletme	95.00 ab	5.00 c	5.00 cd
0.50 mg/l IAA	81.67 c	9.00 bc	7.00 bc
1.00 mg/l IAA	95.00 ab	13.00 b	8.67 b
0.50 mg/l IBA	100.00 a	19.00 a	12.00 a
1.00 mg/l IBA	90.00 bc	5.33 c	4.00 e



Şekil 4.6 0.50 mg/l IBA içeren köklendirme ortamında köklenen sürgün (solda – bar= 4.0 cm) ve saksıda gelişen bitkicik (sağda)

5. SONUÇ

Bitki doku kültürü tekniklerinin bitki ıslahında kullanılabilmesi için etkili bir rejenerasyon sisteminin geliştirilmesi gerekir. Sonunda sürgün elde edilemeyen bir doku kültürü çalışmasının pratikte hiçbir önemi yoktur. Bitki doku kültürü çalışmalarında yüksek sürgün rejenerasyonu ilk hedeftir. Çalışılan bitkiye ait eksplanttan alınacak sürgün sayısı, başarıyı doğrudan etkilemektedir. Yüksek sürgün rejenerasyonu için öncelikle çalışılan bitkide en iyi tepkiyi veren eksplantın, daha sonra da rejenerasyon ortamına konulacak bitki büyüme düzenleyicilerinin en uygun konsantrasyon ve kombinasyonunun belirlenmesi gerekir. Gerek sürgün rejenerasyon yüzdesi ve gerekse eksplant başına sürgün sayısı tek başlarına doku kültürü başarısını belirlemede yeterli değildir. Nitekim, bu iki parametreden birinin yüksek, diğerinin düşük olabilmeye ihtimali her zaman mevcuttur. Bu durumda her iki parametreyi de bünyesinde barındıran farklı bir parametreye ihtiyaç vardır ki, bu da petride gelişen toplam sürgün sayısıdır. Bu parametre, sürgün rejenerasyon yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısı parametrelerinin bir bileşkesidir. Petride gelişen toplam sürgün sayısı arttıkça, doku kültürü başarısı da aynı oranda artar (Yıldız vd. 2011).

Araştırmamızda, *Lathyrus chrysanthus* Boiss. bitkisine ait tohumların gösterdiği fiziksel dormansi sodyum hipoklorit çözeltileri ile ortadan kaldırılarak *in vitro* şartlarda yüksek miktarda sağlıklı steril fide elde edilmesi başarılmıştır. Gelişen fidelerden izole edilen kotiledon boğum ve sürgün ucu meristem eksplantları, farklı konsantrasyonlarda BAP ve NAA içeren MS besin ortamlarında 4 hafta boyunca kültüre alınmıştır. Eksplant başına sürgün sayısı ve petride gelişen toplam sürgün sayısı bakımından en yüksek sonuçlar, kotiledon boğum eksplantlarının 0.25 mg/l BAP ve 0.05 mg/l NAA içeren besin ortamında kültüre alınmasıyla elde edilmiştir.

Bu tez çalışmasıyla bir mürdümük türü olan *Lathyrus chrysanthus* Boiss.'te sürgün rejenerasyon protokolü optimize edilmiştir. Bu ise, bundan sonraki aşama olan *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla gen aktarımının ilk şartıdır. Bundan sonraki gen aktarım çalışmaları için gerekli yöntemlerin geliştirilerek önce markör ve sonra da agronomik genlerin aktarılmasına çalışılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- Abd El Moneim, A.M., Van Dorrestein B., Baum, M. and Mulugeta W. 1999. Role of ICARDA in improving the nutritional quality and yield potential of grass pea (*Lathyrus sativus*) for subsistence farmers in developing countries. CGIAR-wide conference on Agriculture-Nutrition, pp. 5–6.
- Abreu, J.M.F. and Bruno-Soares, A.M. 1998. Chemical composition, organic matter digestibility and gas production of nine legume grains. *Animal Feed Science Technology*. Vol. 70: pp. 49-57.
- Allan, A. 1991. In: *Plant Cell Culture*; Stafford, A.; Warren, G., Eds.; Open University Press, Milton Keynes, pp. 1-24.
- Aletor, V.A., Abd EI Moneim, A. M. and Goodchild, A.V. 1994. Evaluation of the seeds of the selected lines of three *Lathyrus* spp. for BOAA, tannins, trypsin inhibitor activity and certain in vitro characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture* Vol. 65: pp. 143-151.
- Allchin, F.R. 1969. Early cultivated plants in India and Pakistan. In: *The Domestication and Exploitation of Plants and Animals*. Ucho, P.J. and Dimbleby, G.W. (Eds.). Duckworth, London, pp. 323-330.
- Barna, K.S. and Mehta, S.L. 1995. Genetic transformation and somatic embryogenesis in *Lathyrus sativus*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* Vol. 4: pp. 67-71.
- Barik, D.P., Naik, S.K, Mohapatra, U. and Chand, P.K. 2004. High-frequency plant regeneration by *in vitro* shoot proliferation in cotyledonary node explants of grasspea (*Lathyrus zativus* L.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* Vol. 40: pp. 467-470.
- Barik, D.P., Mohapatra, U. and Chand, P.K., 2005. High frequency *in vitro* regeneration of *Lathyrus sativus* L. *Biologia Plantarum* Vol. 49 (4): pp. 637-639.
- Bell, E.A. 1962. Associations of ninhydrin-reacting compounds in the seeds of 49 species of *Lathyrus*. *Biochemical Journal* Vol. 83: pp. 225-229.
- Campbell, C.G., Mehra, R.B., Agrawal, S.K., Chen, Y.Z., Abd El Moneim, A.M., Khawaja, H.I.T., Yadov, C.R., Tay, J.U. and Araya, W.A. 1994. Current

- status and future research strategy in breeding grasspea (*Lathyrus sativus*). Euphytica Vol. 73: pp. 167–175.
- Campbell, C.G. 1997. Grass pea. *Lathyrus sativus* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 18. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Clulow, S. A., Matthews, P. and Lewis, B.G. 1991. Genetical analysis of resistance to *Mycosphaerella pinodes* in pea seedlings. Euphytica Vol. 58: pp. 183–189.
- Curtis, O.F. and Shetty, K. 1996. Growth medium effects on vitrification, total phenolics, chlorophyll, and water content of *in vitro* propagated oregano clones. Acta Horticulture Vol. 426: pp. 498-503.
- Cutler, J.M., Rains, D.W. and Loomis, R.S. 1977. The importance of cell size in the water relations of plants. Physiologia Plantarum Vol. 40: pp. 255-260.
- Dale, J.E. 1988. The control of leaf expansion. Annual Review of Plant Physiology Vol. 39: pp. 267-295.
- Davis, P. H. 1970. Flora of Turkey and East Aegean Islands. Edinburgh, pp. 328-369.
- Debnath, S.C., McKenzie, D. B. and McRae, K.B. 2001. Callus induction and shoot regeneration from stem, rachis and leaf explants in beach pea (*Lathyrus japonicus* Willd) Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology Vol. 10(1): pp. 57-60.
- Doonan, J. 2000. Social controls on cell proliferation in plants. Current Opinion in Plant Biotechnology Vol. 3: pp. 482-487.
- Duke, J.A. 1981. Handbook of Legumes of World Economic Importance. Plenum Press, New York, pp. 199–265.
- Emerson, R. 1929. Chlorophyll content and the rate of photosynthesis. Proceedings of the National Academy of Science of the USA Vol. 15(3), pp. 281-284.
- Foard, D.E. and Haber, A.H. 1961. Anatomic studies of gamma-irradiated wheat growing without cell division. American Journal of Botany Vol. 48: pp. 438-446.
- Gatel, F. 1994. Protein quality of legume seeds for nonruminant animals: a literature review. Animal Feed Science and Technology Vol. 45: pp. 317–348.

- Gharyal, P.K. and Maheshwari, S.C. 1983. Genetic and physiological influences on differentiation in tissue cultures of a legume, *Lathyrus sativus*. Theoretical and Applied Genetics Vol. 66: pp. 123-126.
- Hanbury, C.D., White, C.L., Mullan, B.P. and Siddique, K.H.M. 2000. A review of the potential of *Lathyrus sativus* L. and *L. cicera* L. grain for use as animal feed. Animal Feed Science and Technology Vol. 87: pp. 1–27.
- Hanbury, C. and Hughes, B. 2003. *Lathyrus cicera* as quality feed for laying hens. *Lathyrus* Lathyrism Newsletter Vol. 3: pp. 44-46.
- Haqqani, A. M. and Arshad, M. 1995. Crop status and genetic diversity of grasspea in Pakistan. Pp. 59-65 in *Lathyrus* Genetic Resources in Asia. Proceedings of a Regional Workshop, 27-29 December 1995.
- Hsiao, A.I. and Hans, J.A. 1981. Application of sodium hypochlorite seed viability test to wild oat populations with different dormancy characteristics. Canadian Journal of Plant Science Vol. 61: pp. 115-122.
- Hsiao, A.I. and Quick, A.W. 1984. Action of sodium hypochlorite and hydrogen peroxide on seed dormancy and germination of wild oats, *Avena fatua* L. Weed Research Vol. 24: pp. 411-419.
- Jackson, M. T. and Yunus, A. G. 1984. Variation in the grass pea (*Lathyrus sativus* L.) and wild species. Euphytica Vol. 33: pp. 549-559.
- Jagtap, V., Bhargava, S., Sterb, P. and Feierabend, J. 1998. Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Journal of Experimental Botany Vol. 49, pp. 1715-1721.
- Kantouch, A. and Ardel-Fattah, S.H. 1971. Action of sodium hypochlorite on amino acids. Chemicke Zvesti Vol. 25: pp. 222-230.
- Karadağ, Y. ve Büyükburç, U. 2003. Tokat ekolojik koşullarında bazı mürdümük (*Lathyrus sativus* L.) hatlarının verim ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. GOÜ. Ziraat Fak. Dergisi Vol. 20: 1.
- Karadimova, M. and Djambova, G. 1993. Increased NaCl-tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf.) through *in vitro* selection, In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant Vol. 29: pp. 180-182.
- Kendir, H., Sahin-Demirbag, N., Khawar, K.M. and Ozcan, S. 2009. *In vitro* plant regeneration from Turkish grasspea (*Lathyrus sativus* L.) using immature

- zygotic embryo explant. *Biotechnology and Biotechnological Equipment* Vol. 23 (2): pp. 177-1180.
- Kintzios, S.E., Barberaki, M., Aivalakis, G., Drossopoulus, J. and Holevas, C.D. 1997. *In vitro* morphogenetic responses of mature wheat embryos to different NaCl concentrations and growth regulator treatments. *Plant Breeding* Vol. 116, pp. 113-118.
- Kislev, M.E. 1989. Origins of the cultivation of *Lathyrus sativus* and *L. cicera* (Fabaceae). *Economic Botany* Vol. 43: pp. 262- 270.
- Kumar, U. 1997. Utilization of *Lathyrus*. *Lathyrus Genetic Resources Network*. 8-10 December. New Delhi/India, pp. 57-59.
- Kyparissis, A., Petropoulou, Y. and Manetas, Y. 1995. Summer survival of leaves in a soft-leaved shrub (*Phlomis fruticosa* L., Labiatae) under Mediterranean field conditions: Avoidance of photoinhibitory damage through decreased chlorophyll contents. *Journal of Experimental Botany* Vol. 46, pp. 1825-1831.
- Malik, K.A., Ali, Khan S.T. and Saxena, P.K., 1992. Direct organogenesis and plant regeneration in preconditioned tissue cultures of *Lathyrus cicera* L., *L. ochrus* (L.) DC and *L. sativus* L. *Annals of Botany* Vol. 70: pp. 301-304.
- McElwain, J.C. and Chaloner, W.G. 1995. Stomatal density and index of fossil plants track atmospheric carbon dioxide in the palaeozoic. *Annals of Botany* Vol. 76: pp. 389-395.
- Mukhopadhyaya, A. and Bhojwani, S.S., 1978. Shoot bud differentiation in tissue cultures of leguminous plants. *Zeitschrift fuer Pflanzen Physiologies* Vol. 88: pp. 263-268.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* Vol. 15: pp. 473-497.
- Nageswara, R.R.C., Talwar, H.S. and Wright, G.C. 2001. Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using chlorophyll meter. *Journal of Agronomy and Crop Science* Vol. 189, pp. 175-182.
- Ochatt, S.J., Muneaux, E., Machado, C., Jacas, L. and Pontécaille, C. 2002. The hyperhydricity of *in vitro* regenerants is linked with an abnormal DNA content in grass pea (*Lathyrus sativus* L.). *Journal of Plant Physiology* 159:1021-1028.

- Özgen, M., Türet, M., Altınok, S. and Sancak, C. 1998. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Plant Cell Reports* Vol. 18, pp. 331-335.
- Özgen, M., Yıldız, M. ve Yıldız, Ç. 2007. Kışlık Buğdayda (*Triticum* sp.) *In vitro* Mutagenesiz Aracılığıyla Tuza Toleranslı Rejenerantların Seçimi, TÜBİTAK, Proje No: 104O494.
- Pal, R.N. and Laloraya, M.M. 1972. Effect of calcium levels on chlorophyll synthesis in peanut and linseed plants. *Biochemie und Physiologie der Pflanze* Vol. 163: pp. 443-449.
- Plitmann, U., Gabay, R. and Cohen, O. 1995. Innovations in the tribe Viciaeae (Fabaceae) from Israel. *Israel Journal of Plant Sciences* Vol. 43: pp. 249–258.
- Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* Culture of Higher Plants, Martinus Nijhoff, Dordrecht, The Netherlands.
- Quarrie, S.A. and Jones, H.G. 1977. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *Journal of Experimental Botany* Vol. 28: pp. 192-203.
- Racoppi, F. 1990. Domestic Bleaches Containing Sodium Hypochlorite, Procter and Gamble, Italia SPA, Product Development Department, Rome.
- Rensburg, L.V. and Kruger, G.H.J. 1994. Evaluation of components of oxidative stress metabolism for use in selection of drought tolerant cultivars of *Nicotiana tabacum* L. *Journal of Plant Physiology* Vol. 143: pp. 730-737.
- Rosa, M.J.S., Ferreira, R.B. and Teixeira, A.R. 2000. Storage proteins from *Lathyrus sativus* seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol. 48: pp. 5432–5439.
- Roy, D.N. and Spencer, P.S. 1989. Lathrogens. In: *Toxicants of Plant Origin*. In: Cheeke, P.R. (Ed.), *Proteins and Amino Acids*, vol. III. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 170– 201.
- Roy P.K., Ali K., Gupta A, Barat G.K. and Mehta S.L., 1993. b-N-oxalyl-L-a, b-diaminopropionic acid in somaclones derived from internode explants of *Lathyrus sativus*. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology* Vol. 2: pp. 9-13.

- Saraswat, K.S. 1980. The ancient remains of the crop plants at Atranjikera. *Journal of the Indian Botanical Society* 59: 306-319.
- Saxena M.C., Abd El Moneim A.M. and Raninam M. 1993. Vetches (*Vicia* spp.) and chicklings (*Lathyrus* spp.) in the farming systems in West Asia and North Africa and improvement of these crops at ICARDA. pp. 2-9, In: Potential for *Vicia* and *Lathyrus* Species as New Grain and Fodder Legumes for Southern Australia. Garlinge J.R. and Perry M. W. (eds.). CLIMA, Nedlands, Western Australia.
- Sayar, M., Birsin, M.A., Ulukan, H. and Özgen, M. 1999. Effect of seed size on the tissue culture response of callus from mature embryos of wheat species. *Wheat Information Service* Vol. 89: pp. 1-6.
- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. 1967. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Solomon, E.P., Berg, L.R., Martin, D.W., Villee, C. 1993. *Biology*. 3rd edition, Saunders College Publishing, Fort Worth, 1196 p.
- Spencer, P.S. 1989. *The Grass Pea: Threat and Promise*. Third World Medical Research Foundation, New York, 244 p.
- Sahin-Demirbag, N., Kendir, H., Khawar, K.M. and Çiftçi, C.Y. 2008. *In vitro* regeneration of Turkish dwarf chuckling (*Lathyrus cicera* L) using immature zygotic embryo explant. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (12): pp. 2030-2033.
- Schull, W. 1920. Temperature and rate of moisture intake in seeds. *Botanical Gazette* Vol. 69: pp. 361-390.
- Sunderland, N. 1960. Cell division and expansion in the growth of the leaf. *Journal of Experimental Botany* Vol. 11: pp. 68-80.
- Woodward, F.I., Bazzaz, F.A. 1988. The responses of stomatal density to CO₂ partial pressure. *Journal of Experimental Botany* Vol. 39: pp. 1771-1781.
- Tekele-Haimanot, R., Kidane, Y., Wuhib, E., Kalissa, A., Alemu, T., Zein, Z.A. and Spencer, P.S. 1990. Lathyrism in rural Northwestern Ethiopia: a highly prevalent neurotoxic disorder. *International Journal of Epidemiology* Vol. 19: pp. 664-672.
- Tutin. T. G. 1981. *Flora of Europea*. Vol.2, Cambridge Univ. Pres, pp. 136-145.

- Uzun, B., Genç, H. 2001. Bazı *Lathyrus* L. türlerinin dış morfolojik ve karyolojik özellikleri. S.D.Ü. Fen Bil. Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Williams P.C., Bhatta R.S., Deshpande S.S., Hussein L.A. and Savage G.P. 1994. Improving nutritional quality of cool season food legumes. In: Muehlbauer, F.J. and Kaiser, W.J. (Eds), *Expanding the Production and Use of Cool Season Food Legumes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp. 113-129.
- Wright, G.C., Nageswara, R.R.C. and Farquhar, G.D. 1994. Water use efficiency and carbon isotope discrimination in peanut under water deficit conditions. *Crop Science* Vol. 34: pp. 92-97.
- Urga, K., Fite, A. and Kebede, B. 1995. Nutritional and antinutritional factors of grasspea (*Lathyrus sativus*) germplasms. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* Vol. 9: pp. 9-16.
- Yang, X., Wang, X. and Wei, M. 2010. Response of photosynthesis in the leaves of cucumber seedlings to light intensity and CO₂ concentration under nitrate stress. *Turkish Journal of Botany* Vol. 34: pp. 303-310.
- Yıldız, M. and Er, C. 2002. The effect of sodium hypochlorite solutions on *in vitro* seedling growth and shoot regeneration of flax (*Linum usitatissimum*). *Naturwissenschaften* Vol. 89: pp. 259-261.
- Yıldız, M., Özcan, S. and Er, C. 2002. The effect of different explant sources on adventitious shoot regeneration in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Turkish Journal of Biology* Vol. 26: pp. 37-40.
- Yıldız, M. and Özgen, M. 2006. A comparison of growth regulators for adventitious shoot regeneration from hypocotyls of flax (*Linum usitatissimum* L.). *Journal of Food, Agriculture and Environment* Vol. 4: pp. 171-174.
- Yıldız, M., Ulukan, H. ve Özbay, A. 2003. Ketende (*Linum usitatissimum* L.) farklı ortam, katılaştırıcı ve eksplant yaşının hipokotil eksplantlarından sürgün rejenerasyonu üzerine etkisi. XIII. Biyoteknoloji Kongresi, Çanakkale. Pp. 137-144.
- Yıldız, M. and Özgen, M. 2004. The effect of a submersion pretreatment on *in vitro* explant growth and shoot regeneration from hypocotyls of flax (*Linum usitatissimum*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* Vol. 77: pp. 111-115.

- Yıldız, M., Koyuncu, N. ve Özgen, M. 2005. Adventitious shoot regeneration from hypocoty explants of flax (*Linum usitatissimum* L.). Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, Antalya. pp. 369-373.
- Yıldız, Ç. 2009. Gamma radyasyonunun buğdayda (*Triticum* sp.) partikül bombardımanı tekniği ile gen aktarımına ve bitki rejenerasyonuna etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı.
- Yıldız, M., Sağlık, Ç., Telci, C. and Erkılıç, E.G. 2011. The effect of *in vitro* competition on shoot regeneration from hypocotyl explants of *Linum usitatissimum*. Turkish Journal of Botany Vol. 35: pp. 211-218.
- Yıldız, M., Özcan, F.S., Telci Kahramanoğulları, C. and Tuna, E. 2012. The effect of sodium hypochlorite solutions on the viability and *in vitro* regeneration capacity of the tissue. The Natural Products Journal (Baskıda).
- Zambre, M., Chowdhury, B., Kuo, Y., Montagu, M.V., Angenon, G. and Lambein, F. 2002. Prolific regeneration of fertile plants from green nodular callus induced from meristematic tissues in *Lathyrus sativus* L. (grass pea). Plant Science Vol. 163(6): pp. 1107-1112.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Cansu TELCİ KAHRAMANOĞULLARI

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 21/04/1985

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Etimesgut Anadolu Lisesi (2003)

Lisans : Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü
(2008)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri
Anabilim Dalı, (Şubat 2009 – Haziran 2012)

Yayınları:

Telci, C., Yıldız, M., Pelit, S., Önel, B., Erkiş, E.G. and Kendir, H. 2011. The effect of surface-disinfection process on dormancy-breaking, seed germination, and seedling growth of *Lathyrus chrysanthus* Boiss. under *in vitro* conditions. Propagation of Ornamental Plants 11: 10-16. (**SCI-Expanded**)

Yıldız, M., Erkiş, E.G., **Telci, C.** and Özcan, S. 2011. Effects of NaOCl solutions as an anti-infective agent using for sterilization of the tissue. 3rd International Conference on Drug Discovery and Therapy, Current Medicinal Chemistry Special Issue, 7-10 February, Dubai, UAE.

Pelit, S., Yıldız, M., **Telci, C.** and Önel, B. 2011. The effect of *in vitro* competition on callus formation and shoot regeneration from mature embryos of wheat (*Triticum* sp.). European Biotechnology Congress, Current Opinion in Biotechnology 22: 45-46, İstanbul.

Yıldız, M., Korkmaz, N., Kurumlu, S., Önel, B. and **Telci, C.** 2011. Germination and growth patterns of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) lines and cultivars at different ploidy levels. European Biotechnology Congress, Current Opinion in Biotechnology 22: 131-132, İstanbul.

Yıldız, M., **Telci, C.**, Önel, B. and Kurumlu, S. 2011. *In vitro* explant growth and shoot regeneration from petiole explants of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) lines at

different ploidy levels. European Biotechnology Congress, Current Opinion in Biotechnology 22: 132, İstanbul.

Yıldız, M., Özcan, S., **Telci, C.**, Day, S. and Özat, H. 2010. The effect of drying and submersion pretreatment on adventitious shoot Regeneration from hypocotyl explants of flax (*Linum usitatissimum* L.). Turkish J. Botany 34: 323-328 (**SCI-Expanded**)

Yıldız, M., Sağlık, Ç., **Telci, C.** and Erkıılıç, E.G. 2011. The effect of *in vitro* competition on shoot regeneration from hypocotyl explants of *Linum usitatissimum*. Turkish J. Botany 35: 211-218. (**SCI-Expanded**)

Yıldız, M., **Telci, C.**, Önoł, B. and Özcan, S. 2011. Oxidative stress in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) *in vitro* culture. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 4(2): 113-117.

Pelit, S., **Telci, C.** and Yıldız, M. 2010. *In vitro* shoot regeneration of two sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) lines in different ploidy levels. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi-Uluslararası Katılımlı, 504-505, Denizli.

Yıldız, M., Yıldız, Ç., **Telci, C.**, Sağlam, S. ve Özcan, S. 2011. Gama ile ışınlanmış *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla fasulyeye (*Phaseolus vulgaris* L.) gen aktarımı. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı, Nisan 27-30, Eskişehir.

Yıldız, M., Erkıılıç, E.G., Koçak, N., **Telci, C.**, Kurumlu, S. ve Özcan, S. 2011. Farklı ploidi seviyelerindeki şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) Hat ve Çeşitlerinin *in vitro* tuz stresine tepkileri. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı, Nisan 27-30, Eskişehir.

Yıldız, M., Pelit, S., **Telci, C.**, Koçak, N., Önoł, B. ve Erkıılıç, E.G. 2011. *In vitro* şartlar altında kültüre alınan eksplant yoğunluğunun doku kültürü tepkisi üzerine etkisi. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı, Nisan 27-30, Eskişehir.

Yıldız, M., **Telci, C.** ve Önoł, B. 2011. Yüzey sterilizasyonu işleminin eksplantın sürgün rejenerasyon kapasitesi üzerine etkisi. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı, Nisan 27-30, Eskişehir.

Yıldız, M., Erkıılıç, E.G., **Telci, C.**, Pelit, S., Doğan, M. ve Özcan, S. 2011. *In vitro* tuz stresinin ketende (*Linum usitatissimum* L.) çimlenme, fide gelişimi ve klorofil kapsamı üzerine etkileri. Uluslararası Katılımlı 1. Ali Numan Kırac Tarım Kongresi ve Fuarı, Nisan 27-30, Eskişehir.

Yıldız, M. ve **Telci, C.** 2011. *Lathyrus chrysanthus* Boiss. bitkisinde gama radyasyonunun dormansinin giderilmesi üzerine etkisi. Türkiye IV. Tohumculuk Kongresi, 14-17 Haziran, Sansun.

- Yıldız, M., Darçın, S., **Telci, C.** ve Önel, B. 2011. Yeni geliştirilen besin ortamında olgun buğday embriyolarından kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu. IX. Tarla Bitkileri Kongresi, Bursa.
- Yıldız, M., Özcan S.F., **Kahramanoğulları Telci C.** ve Tuna E. 2012. The effect of sodium hypochlorite solutions on the viability and regeneration capacity of the tissue. The Natural Products Journal (Baskıda).
- Özcan, F., **Kahramanoğulları Telci, C.**, Koçak, N., Yıldız, M., Haspolat, I. ve Tuna, E. 2012. Use of genetically modified organisms in the remediation of soil and water resources (Baskıda) (**SCI-Expanded**).