T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BAZI KORUNGA TÜRLERİNDE DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİ İLE BİTKİ ÇOĞALTIMI

Hazırlayan
Duran YÜKSELGÜNGÖR

Danışman
Doç. Dr. Satı UZUN

Yüksek Lisans Tezi

Nisan 2018
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BAZI KORUNGA TÜRLERİNDE DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİ İLE BİTKİ ÇOĞALTIMI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Duran YÜKSELGÜNGÖR

Danışman
Doç. Dr. Satı UZUN

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından FYL-2013-4915 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Nisan 2018
KAYSERİ

"Bazı korunga türlerinde doku kültürü yöntemleri ile bitki çoğaltımı" adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi' ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan
Duran YÜKSELGÜNGÖR

Danışman
Doç. Dr. Satı UZUN

Tarla bitkileri ABD Başkanı

Doç. Dr. Satı UZUN

Doç. Dr. Satı UZUN danışmanlığında **Duran YÜKSELGÜNGÖR** tarafından hazırlanan **"Bazı Korunga Türlerinde Doku Kültürü Yöntemleri İle Bitki Çoğaltımı"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Tarla Bitkileri** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

23 / 03 / 2018

JÜRİ:

Danışman : Doç. Dr. Satı UZUN .....

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Ramazan BEYAZ .....

Üye : Dr. Öğretim Üyesi Erman BEYZİ .....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ..17/04/2018 tarih ve ..2018/117-06.sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..17.../09.../2018

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması boyunca gerek akademik gerekse, pratik yönden desteklerini esirgemeyen çalışmamda büyük emekleri olan değerli danışmanım Doç. Dr. Satı UZUN'a ve korunga türlerinin temini konusunda yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Süleyman AVCI'ya teşekkür ederim. Çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen tüm hocalarım başta olmak üzere, çalışanlara ve öğrenci arkadaşlarıma, bu tez çalışmasını tamamlamam da desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

Duran YÜKSELGÜNGÖR

Nisan 2018, KAYSERİ

BAZI KORUNGA TÜRLERİNDE DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİ İLE BİTKİ ÇOĞALTIMI

Duran YÜKSELGÜNGÖR

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Nisan 2018
Danışman: Doç. Dr. Satı UZUN

ÖZET

Korunga türleri Türkiye'de çok geniş bir yayılım göstermekte ve farklı çevre koşullarına adapte olmuşlardır. Biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin bitkisel üretimi son derece sınırladığı günümüzde özellikle kültürü yapılan bitkilerdeki genetik tabanın daraldığı da göz önüne alındığında, doğal flora da bulunan bitkiler genetik materyal olarak ön plana çıkmaktadırlar. Doku kültürleri günümüzde hem bitki ıslahında hem de ıslah dışı uygulamalarda geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Ancak, her bitki türü için evrensel bir rejenerasyon protokolünün bulunmaması doku kültürünün kullanımını engelleyen en önemli sorunlardan birisidir. Bu nedenle mevcut tez çalışması kapsamında endemik *Onobrychis fallax* Freyn & Sint. ex Freyn var. *longifolia* Aktoklu, *Onobrychis stenostachya* subsp. *sosnowskyi*, *Onobrychis elata* Boiss. & Balans ve dünyada yaygın olarak tarımı yapılan *Onobrychis viciifolia* Scop. korunga türlerinde doku kültürü ile bitki rejenerasyonu amaçlanmıştır. Bu amaçla steril fidelerde kotiledonların birleştiği yerin yaklaşık 3-5 mm alt kısmı ve kotiledonların yarısı kesildikten sonra geriye kalan kotiledon boğum eksplantı farklı bitki büyüme düzenleyiciler içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. En fazla eksplant başına sürgün sayısı 6-benzilaminopürin (BAP) ve α-naftalenasetik asit (NAA) uygulamalarında *O. stenostachya*'da 4 mg/L BAP, *O. fallax* ve *O. elata*'da 4 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA, *O. viciifolia*'da ise 2 mg/L BAP, thidiazuron (TDZ) ve NAA uygulamalarında *O. stenostachya, O. fallax ve O. elata'*da 1.2 mg/L TDZ, *O. viciifolia*'da 0.3 mg/L TDZ ve meta-Topolin (mT) uygulamalarında ise 2 mg/L mt içeren ortamlardan elde edilmiştir. Elde edilen sürgünler 1 veya 2 mg/L indol-3-bütirik asit (IBA), içeren MS besin ortamında köklendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Korunga, *Onobrychis*, kotiledon boğum, *in vitro* rejenerasyon

PLANT PROPAGATION WITH TISSUE CULTURE METHODS IN SOME SAINFOIN SPECIES

Duran YÜKSELGÜNGÖR

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Master Thesis, April 2018
Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Satı UZUN

ABSTRACT

Sainfoin species have an extensive spread in Turkey and adapted to various environmental conditions. Today, biotic and abiotic stressors greatly limit plant production and genetic bases are quite narrowed. Therefore, plants in natural flora have become prominent genetic materials. Tissue cultures have found a wide range of applications both in plant breeding and in non-breeding applications. However, the absence of a universal regeneration protocol for each plant species is one of the most important problems hindering the use of tissue culture. Thus, in this thesis study, it was aimed to propagate with tissue culture method in *Onobrychis viciifolia* Scop. which is widely cultivated in the world and *Onobrychis fallax* Freyn & Sint. ex Freyn var. *longifolia* Aktoklu, *Onobrychis stenostachya* subsp. *Sosnowskyi* and *Onobrychis elata* Boiss. & Balans which are endemic species. For this purpose, about 3-5 mm lower part of the place where the cotyledons were merged and half of the cotyledons were cut. Remaining cotyledon node explants were taken into culture mediums of Murashige and Skoog (MS) containing different plant growth regulators in different proportions. The greatest number of shoots per explant in 6-benzylaminopurine (BAP) and α-naphthaleneacetic acid (NAA) treatments were obtained from 4 mg/L BAP in *O. stenostachya* and from 4 mg / L BAP + 0.5 mg / L NAA in *O. fallax and O. elata*, from 2 mg / L BAP in *O. viciifolia*; the greatest values in thidiazuron (TDZ) and NAA treatments were obtained from 1.2 mg/L TDZ in *O. stenostachya, O. fallax* and *O. elata* and 0.3 mg/L TDZ in *O. viciifolia*; the greatest values in meta-Topolin (mT) treatments were obtained from 2 mg L mT containing mediums. The resultant shoots were rooted in an MS nutrient medium containing 1 or 2 mg/L Indole-3-butyric acid (IBA).

Keywords: Sainfoin, *onobrychis*, cotyledon node, *in vitro* regeneration

İÇİNDEKİLER

BAZI KORUNGA TÜRLERİNDE DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMLERİ İLE BİTKİ ÇOĞALTIMI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ii

YÖNERGEYE UYGUNLUK iii

KABUL VE ONAY iv

ÖNSÖZ v

ÖZET vi

ABSTRACT vii

İÇİNDEKİLER viii

KISALTMALAR x

TABLOLAR LİSTESİ xi

ŞEKİLLER LİSTESİ xii

GİRİŞ 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1. Genel bilgiler ve literatür çalışması 4

2. BÖLÜM

YÖNTEM VE MATERYAL

2.1. Bitki Materyali 11

2.2. Yöntem 11

2.2.1. Genel Doku Kültürü Şartları 12

2.2.2. Bitki Büyümeyi Düzenleyicileri 13

2.2.3. Tohumların Sterizasyonu, Çimlendirilmesi ve Kültüre Alınması 13

2.3.4. SürgünlerinKöklendirilmesi 16

2.3.5. Araştırmada İncelenen Özellikler 16

2.3.6. Çalışmada Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi 17

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. BAP ve NAA İçeren Ortamlarda Rejenerasyon 18

3.2. TDZ ve NAA İçeren Ortamlarda Rejenerasyon 21

3.3. Meta-Topolin İçeren Ortamlarda Rejenerasyon 25

3.4. Sürgünlerin Köklendirilmesi..... 28

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER..... 32

KAYNAKÇA 37

ÖZGEÇMİŞ..... 43

KISALTMALAR

2,4-D: Diklorofenoksiasetik Asit

B5: Gamborg medium (1968)

BAP: 6- benzilaminopurin

BBD: Bitki büyüme düzenleyicileri

DMSO: Dimetil sülfoksit

HCl: Hidroklorik Asit

F: F değeri

IBA: Indole-3-butrik asit

K.O.: Kareler Ortalaması

MS: Murashige ve Skoog temel besin ortamı

MSO: Hormonsuz Murashige ve Skoog basal besin ortamı

mT: Meta-Topolin

NAA: α-naftalenasetik asit

NaOH: Sodyum Hidroksit

S.D.: Serbestlik derecesi

TDZ: Thidiazuron

V.K.: Varyasyon kaynakları

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bitki isimleri ve toplandıkları yerler.....11

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan büyümeyi düzenleyiciler çözücüleri ve saklama koşulları.....13

Tablo 2.3. GAraştırmada kullanılan bitki büyümeyi düzenleyiciler ve konsantrasyonları…….....16

Tablo 3.1. Farklı BAP dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısı ve eksplant başına sürgün sayısı etkisine ait varyans analizi.....18

Tablo 3.2. Farklı BAP dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)……..……..19

Tablo 3.3. Farklı BAP dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde eksplant başına sürgün sayısına etkisi (Adet)…….....…20

Tablo 3.4. Farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısı ve eksplant başına sürgün sayısı etkisine ait varyans analizi.....22

Tablo 3.5. Farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)…….....….....23

Tablo 3.6 Farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde eksplant başına sürgün sayısına etkisi (adet)…….....…...24

Tablo 3.7. Farklı meta-Topolin dozlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi……..….....26

Tablo 3.8. Farklı meta-Topolin dozlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)……..….....26

Tablo 3.9. Farklı meta-Topolin dozlarının korunga türlerinde eksplant başına sürgün sayısına etkisi (adet)…….....…….....27

Tablo 3.10. Farklı IBA dozlarının korunga türlerinde kök oluşturan eksplant sayısına ve sürgün başına kök sayısına etkisine ait varyans analizi…….....29

Tablo 3.11. Farklı IBA dozlarının korunga türlerinde kök oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)…….....….....29

Tablo 3.12. Farklı IBA dozlarının korunga türlerinde sürgün başına kök sayısına etkisi…….....30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan steril kabin…….....……..12

Şekil 2.2. MSO ortamında çimlenen korungalar…….....……..14

Şekil 2.3. 10-15 günlük korunga bitkicikleri ve kotiledon boğum eksplantlarının hazırlanması…….....……..14

Şekil 2.4. Magenta kapları içerisine yerleştirilen kotiledon boğum eksplantları….....…...15

Şekil 2.5. İklim kabini içerisinde gelişmeye bırakılan Magenta kapları…….....…..….15

Şekil 3.1. *Onobrychis viciifolia* türünde kültür başlangıcından 9 hafta sonra gelişim….....21

Şekil 3.2. Korunga türlerinde 1 mg/L BAP içeren MSO besin ortamında sürgün rejenerasyonu…….....21

Şekil 3.3. Korunga türlerinde 0.3 mg/L TDZ içeren MSO besin ortamında sürgün rejenerasyonu…….....….25

Şekil 3.4. Korunga türlerinde 2 mg/L meta-Topolin içeren MSO besin ortamında sürgün rejenerasyonu…….....…28

Şekil 3.5. Korunga türlerinde 1 mg/L IBA içeren MSO besin ortamında köklenme 31

GİRİŞ

Artan dünya nüfusuyla orantılı olarak besin tüketimi de artmaktadır. Az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin hayvansal gıdalara gelişmiş ülkelere oranla daha az ulaşabildiği bilinmektedir. Türkiye'de de hayvansal protein tüketimi gelişmiş ülkelerin çok gerisinde kalmaktadır. Bunun nedenlerinden biri Türkiye'de hayvansal besin üretiminin yetersiz olmasıdır. Hayvancılıkta istenen hedeflere ulaşmanın en önemli aşamalarından birisi hayvanlara yeterli miktarda ve kalitede yem sağlanabilmesidir. Türkiye'de yaklaşık 15.948.552 hayvan birimine eşdeğer hayvan varlığı bulunmakta ve sadece yaşama payı besin ihtiyaçlarını kaba yemlerle karşılamak için yıllık ortalama 72.8 milyon ton kaliteli kaba yeme ihtiyaç duyulmaktadır, ancak tarla tarımı içerisinde yem bitkileri üretiminden ve çayır-mera alanlarından yılda toplam 21.7 milyon ton kaliteli kuru ot üretilebilmektedir (Demiroğlu-Topçu ve Özkan, 2017). Üretilen yem mevcut ihtiyacı karşılayamamaktadır. Bu yüzden çayır-mera alanlarının geliştirilmesi, yem bitkisi tarımı yapılan alanların arttırılması ile birlikte birim alandan elde edilecek verimi arttırma yönündeki çeşit ıslah çalışmaları yapılmalıdır. Bu amaçla kullanılabilecek bitkilerden bir tanesi korunga (*Onobrychis viciifolia)*'dır. Korunga, baklagiller (Fabaceae) familyasında yer alan bir yem bitkisidir. Korunganın birçok üstün özellikleri vardır. Kıraç, çakıllı ve kireçli topraklarda yetiştirilebilir. Kurak koşullarda diğer yem bitkilerine göre daha dayanıklıdır. Korunga, protein bakımından zengindir. Çiçeklenme öncesi ham protein miktarı ortalama %20'dir. Yaş ot olarak tüketildiğinde hayvanda şişkinlik yapmaz (Açıkgöz, 2001: 83-89). Toprak ıslahı ve erozyonla mücadelede önemli bir yere sahiptir. Verimsiz kıraç topraklarda bile yetiştirilebilen korunganın toprağın derinlerine inebilen güçlü kök sistemi sayesinde hem toprağı iyi bir şekilde tutar hem de topraktaki organik madde miktarını artırır. *Rhizobium* bakterileri ile köklerinde ortak yaşam kurarak havanın serbest azotunu fikse eder (İşler, 2009). Korunga aynı zamanda kendine özgü koku ve tadı olan korunga balı üretimi için de kullanılır (Elçi, 2005: 223-257). Türkiye ikliminin genellikle kurak ve

yarı kurak olması nedeniyle korunga, bu topraklarda tarımı yapılacak en uygun yem bitkilerinin başında gelmektedir.

Bütün avantajlarına rağmen, farklı çevresel koşullara adapte olabilen iyi tarımsal özelliklere sahip çeşitlerin olmaması korunga tarımının en büyük sorunlarından birisidir (Kempf vd., 2016). Korunganın fide döneminde su basması ve donmaya karşı toleransı ve diğer bitkilerle rekabet gücünün düşük olması ve özellikle ülkemizde önemli zarara neden olan korunga kök kurtlarına dayanıklı olmaması korunganın temel sorunları arasındadır (Elçi, 2005; Kempf vd., 2016). Bu özellikleri iyileştirmeye yönelik ıslah programlarının geliştirilmesi korunga tarımının yaygınlaşması açısından oldukça önemlidir.

Korunga (*Onobrychis*) cinsi yeryüzünde Akdeniz bölgesinden başlayıp Orta Asya'ya kadar yayılış gösterir, korunga türleri Kafkasya Anadolu ve İran üçgeninde yoğunlaşmış ve çeşitlenmiştir (Aktoklu, 1995). Bu nedenle Türkiye de cinsin gen merkezlerinden kabul edilmektedir. Türkiye'de 55 korunga türü olduğu bildirilmekte ve bunlardan 28 tanesi endemiktir (Hedge, 1970; Davis vd., 1988; Duman ve Vural, 1990; Aktoklu, 2001; Yıldırımlı, 2004; Aktaran Avcı ve Kaya, 2013). Bu bilgilere göre Türkiye'deki korunga tür çeşitliliğinin % 50.9'u endemiktir. Yetiştikleri bölgelerin ekolojik koşullarına yüzyıllardan beri uyum sağlamış türlerden oluşan bu gen kaynakları, gen çeşitliliği bakımından ıslah programlarında oldukça önemli bir yere sahiptir (Avcı vd., 2010). Biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin bitkisel üretimi son derece sınırladığı günümüzde özellikle kültürü yapılan bitkilerdeki genetik tabanın daraldığı da göz önüne alındığında, doğal florada bulunan bitkiler gelecekte tarımsal faaliyetlerin yapılabilmesi açısından genetik materyal olarak ön plana çıkmaktadırlar. Florada doğal olarak yaygın bulunmakla birlikte korunga türlerinin çoğunun tarımı yapılmamakta, şu ana kadar ıslah çalışmalarında yeterince kullanılmamıştır. Bu bitkilerin yem bitkisi olarak değerlendirilmesi yanında, kuraklık, tuzluluk ve besin elementi toksitesi ile ilgili çalışmalarda kullanılması bilime ve ekonomiye önemli katkılar sağlayacaktır. Ancak öncelikle bu çok önemli genetik materyalin çeşitli stres faktörleri açısından tanımlanması gerekmektedir. Son yıllarda kullanımı gün geçtikçe gelişen doku kültürü teknikleri hem bitki türlerinin vejetatif olarak kısa sürede üretilmesine hem de kontrol altında farklı stres faktörlerine tepkilerin izlenilebilmesine ve somaklonal varyasyondan

yararlanarak stres faktörlerine dayanıklı bitkilerin seçimine olanak sağlamaktadır. Ancak doku kültürü ile bitkilerden elde edilecek rejenerasyonda kullanılan genotip, besin ortamının içeriği ve kültür koşulları gibi faktörler çok önemli bir yere sahip olup her bitki için evrensel bir doku kültürü ile çoğaltım metodu bulunmamakta ve her bitki cins, tür veya çeşidi ile ilgili doku kültürü ile çoğaltım metodunun optimize edilmesi gerekmektedir (Babaoğlu vd., 2001: 55-56). Kültürü yapılan korungada (*Onobrychis viciifolia*) daha önce yapılan doku kültürü çalışmaları incelendiğinde yaprak, yaprak sapı, sap, olgunlaşmamış embriyo ve kotiledon, olgun embriyo, apikal meristem, kotiledon boğum ve kök gibi eksplantlar kullanılarak farklı yöntemlerle *in vitro* bitki rejenerasyonu elde edilmiştir (Gu, 1987; Özcan vd., 1996a; Özcan vd., 1996b; Özgen vd., 1998; Sancak, 1999; Çeliktaş vd., 2006; Sağlam, 2010; Mohajer vd., 2012; Uzun, 2012; Mohajer vd., 2014; Dadaşoğlu ve Tosun, 2017). Ancak ülkemizde yayılış gösteren endemik korunga türlerinin doku kültürü ile çoğaltması yönünde çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada ülkemizde yayılış gösteren bazı korunga türlerinin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltımı amaçlanmıştır. Böylelikle geliştirilecek *in vitro* rejenerasyon yöntemi hem bitkilerin vejetatif çoğalmasına hem de ileride yapılacak farklı stres faktörlerine korunga türlerinin tepkilerinin izlenilebilmesine olanak sağlayacaktır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

Onobrychis cinsi dünya üzerinde tek yıllık ya da çok yıllık otsu bitkiler ve çalılardan oluşan yaklaşık 170 tür ile temsil edilmektedir. Bu cinsin tür sayısı Türkiye'de 55 (28 tanesi endemik), İran'da 58 ve Kafkasya'da 39 adet olarak bildirilmektedir (Hedge, 1970; Yıldız vd., 1999; Aktoklu, 2001). Bu nedenle İran ve Türkiye cinsin gen merkezi olarak kabul edilmektedir (Hedge, 1970; Yıldız vd., 1999; Aktoklu, 2001). Bu türlerin birçoğu yüksek protein içeriği ile hayvanlar için önemli yem kaynağıdır. Bunun yanı sıra azot fiksasyonu özelliklerinden dolayı kurak alanlarda meralarda hem toprağın hem de meranın besin değerini iyileştirmede önemli yere sahiptirler (Erkovan vd., 2016). *Onobrychis* cinsinin tür zenginliğinin çok yüksek olmasına rağmen sadece *Onobrychis viciifolia*, *Onobrychis arenaria*, *Onobrychis transcaucaca*'nın tarımı yapılmaktadır (Açıkgöz, 2001: 83). Ancak korunganın sahip olduğu lezzetlilik, kurak toleransı, anthelmintik özellikler kazandıran protein kullanımını artıran ve şişmeyi engelleyen tanen ve polifenol bileşimi gibi özellikleri son yıllarda korunga cinsine olan ilgiyi artırmıştır (Hayot Carbonero vd., 2011). Türkiye korunga cinsi tür çeşitliliği bakımından oldukça önemli bir potansiyele sahiptir. Bu nedenle korunga genetik kaynaklarının korunmasına ve kullanımına yönelik yapılacak çalışmalar ülkemiz tarımında oldukça önemli yere sahiptir.

Doku kültürleri, aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretilmesine olanak sağlamaktadır. Doku kültüründen türler arası melezlemelerden sonra embriyo kültürü, haploid bitki üretiminde anter (polen) ve yumurtalık (ovül) kültürü, somaklonal varyasyon oluşturma, *in vitro* seleksiyon, *in vitro* germplazm muhafazası, somatik hücre melezlemesi (protoplast füzyonu), gen transferi, hastalıksız

bitki elde etme, mikroçoğaltım, sentetik tohum elde etme ve sekonder metabolit üretimi gibi birçok alanda yararlanılabilmektedir (Babaoğlu vd., 2001: 1-6). Çeşitli bitki kısımları, uygun besin ve hormon dengesi içeren ortamlara yerleştirildikleri zaman somatik hücrelerden yeni bitkiler rejenere edilebilmektedir. Ancak doku kültürü ile bitkilerden elde edilecek rejenerasyonda kullanılan genotip, besin ortamının içeriği ve kültür koşulları gibi faktörler çok önemli bir yere sahip olup her bitki için evrensel bir doku kültürü ile çoğaltım metodu bulunmamakta ve her bitki cins, tür veya çeşidi ile ilgili doku kültürü ile çoğaltım metodunun optimize edilmesi gerekmektedir (Babaoğlu vd., 2001). Korunga türleri üzerinde yapılmış bazı çalışmalar aşağıda özetlenmiştir.

Hiroshi ve Zhuomeng (1993), korungada (*Onobrychis viciifolia* Scop.) kotiledon, hipokotil ve kök eksplantlarını kullanarak yürüttükleri çalışma sonucunda kallus oluşturma bakımından eksplantlar arasında bir fark olmadığını ancak sürgün rejenerasyonu bakımından kök ve hipokotil eksplantlarının kotiledonlara göre daha iyi olduğunu ve sürgün rejenerasyonu bakımından en iyi ortam kombinasyonunun 10µM BAP ve 1µM NAA olduğunu bildirmişlerdir.

Özcan vd. (1996a), gen aktarımına uygun sürgün oluşumunu sağlamak amacı ile korungadan (*Onobrychis viciifolia* Scop.) aldıkları hipokotil ve kotiledon eksplantlarını farklı konsantrasyonlarda BAP ve NAA ilaveli MS büyüme ortamına almışlardır. En yüksek oranda sürgünü 0.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA içeren Murashige ve Skoog (MS) ortamında kültüre alınan hipokotil örneklerinden elde etmişler ve bu sürgünleri 1.5 mg/L IBA ya da 1 mg/L NAA ortamına aktararak köklendirdiklerini bildirmişlerdir.

Özcan vd. (1996b), korunganın (*Onobrychis viciifolia* Scop.) olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla, olgunlaşmamış embriyo ve kotiledonlar Murashige ve Skoog (MS) ortamına eklenen BAP ve NAA'in farklı konsantrasyonlarında kültüre almışlardır. En yüksek frekansta sürgün rejenerasyonu 0.5 mg/L BAP ve 2 mg/L NAA'dan elde ettiklerini ve olgunlaşmamış embriyoların rejenerasyon kapasitesinin kotiledonlardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Özgen vd. (1998), tarla koşullarında yetiştirdikleri korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) bitkilerinin yaprakçıklarından, yaprak saplarından ve saplarından sürgün

rejenerasyonu elde etmek amacıyla yürüttükleri çalışmada, en yüksek sürgün rejenerasyonunu saplardan 20µM BA ve 0.5 µM NAA konsantrasyonda elde etmişlerdir. Elde edilen sürgünleri 5 µM indole-3 butyric acid (IBA) ile köklendirmişler ve sonra dış ortam şartlarında başarılı bir şekilde aktarmışlardır.

Sancak (1999), korungada (*Onobrychis viciifolia* Scop.) in vitro koşullarda hızlı çoğaltım için bir yöntem geliştirmek amacıyla farklı konsantrasyonlardaki BAP, IBA ve NAA ilave edilen MS besin ortamlarını kullanmıştır. Araştırma sonucunda tek bir embriyodan, sekiz haftada yüksek oranda sürgün çoğaltımı tespit etmiştir. En yüksek sürgün çoğaltımını 2 mg/L BAP ile 0.05 veya 0.1 mg/L IBA içeren MS ortamlarından, en uzun sürgün boyunu ise yalnızca 2 mg/L BAP'ın bulunduğu ortamdan elde etmiştir. Ayrıca elde edilen sürgünleri 1 mg/L IBA içeren MS ortamında 4 hafta içerisinde %60 oranında köklendirmiştir.

Tamas ve Savatti (2006), korunganın (*Onobrychis viciifolia* Scop.) hızlı çoğaltımı için vejetasyonun 1. 2. ve 3. yıllarında sürgün ucu ve boğumlarından aldıkları eksplantları kullanmışlardır. Boğumlardaki rejenerasyon ve canlılık yüzdesi hormonal dengelere bağlı olarak %92 ile %95 arasında değişiklik gösterdiği, sürgün uçlarının canlılık yüzdesinin boğumlardan daha düşük fakat rejenerasyon ve çoğalma yüzdesinden daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca rejenerasyon derecesinin donör bitkinin yaşı ile de doğru orantılı olduğunu ifade etmişlerdir.

Çeliktas vd. (2006), korungada (*Onobrychis viciifolia* Scop.) somatik embriyogenesis ve kallus oluşumu elde etmek için boğum arası, genç yaprak, apikal meristem, yaprak sapı ve olgunlaşmamış çiçek durumu gibi bitki parçaları kullanmışlardır. 5.4 µM ya da 10.7 µM NAA ile kombine edilen 0, 0.9, 1.4 ya da 2.3 µm kinetin ve 0, 0.9, 1.4 ya da 2.3 µm BAP'lı B5 ortamını büyüme ortamı olarak kullanmışlar, en yüksek sürgün rejenerasyonu 10.7 µM NAA ve 2.3µm kinetin ile B5 ortamında, apikal meristemlerden elde etmişlerdir. Ve bu sürgünleri 9.8 µM IBA içeren ½ MS besin ortamında köklendirmişlerdir.

Karamian ve Ranjbar (2008), *Onobrychis subnitens* hipokotil eksplantlarından bitki rejenerasyonu elde etmek için bir yöntem geliştirmişlerdir. MS ortamına ilave edilen

2,4- D ve BAP'ın değişik konsantrasyonları ile embriyogenik ve embriyogenik olmayan iki tip kallus elde etmişlerdir. Embriyogenik kalluslar morfogenesis için 0.5 mg/L NAA ve 1 mg/L BAP ilaveli MS ortamına alınmışlar ve somatik embriyolar ya da tomurcuklar büyüme düzenleyiciler olmayan MS ortamında veya 2 mg/L NAA içeren MS ortamında gelişmeye başlamışlardır. Sonuç olarak elde edilen bütün bitkilerin normal morfoloji ve büyüme karakterine sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Sağlam (2010), değişik konsantrasyonlarda NAA ve BAP'ın *in vitro* koşullarda, korunganın (*Onobrychis viciifolia* Scop.) kotiledon boğum eksplantları üzerine etkisini belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada, en uzun sürgün boyuna (6.79cm) 1 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA konsantrasyonda elde etmiştir. Ve elde edilen sürgünleri 50 mg/L IBA içeren MS ortamında 10 dakika muamele ederek köklendirdiğini bildirmiştir.

Çelik vd. (2012), korungada verim ve kaliteyi etkileyen hastalıklardan birisinin külleme olduğunu bildirmektedirler. Bu nedenle 64 farklı korunga tür, alt tür ve varyetesi oluşan 119 genotip külleme hastalığına hassasiyetleri yönünden incelemişlerdir. Araştırma sonucunda korunga türleri üzerinde hastalık oluşturan külleme funguslarının *Erysiphe trifolii* ve *Leveillula taurica* olduğu belirlenmiştir. Kullanılan genotipleri içerisinde 21 tür, 1 varyete ve 3 alt türde her iki etmen de görülmediğini, bu genotiplerin külleme hastalığına karşı dayanıklılık kaynağı olarak değerlendirilebileceğini belirtmişlerdir.

Garshasbi vd. (2012), korunganın (*Onobrychis sativa* var. Chadegan) farklı bölgelerinden (kotiledon yaprakları, apikal meristem, sap, kök) alınan bitki parçalarının kallus oluşturması ve rejenerasyonu belirlemek amacıyla yaptıkları bu çalışmada, Murashige ve Skoog (MS) ortamında bitki büyüme düzenleyicilerinden BAP ve 2,4-D'nin farklı konsantrasyonları kullanmışlardır. En büyük kalluslar (5.46 cm) apikal meristem eksplantlarından, 2,4-D (6 mg/L) ve BAP (1 mg/L) ilave edilmiş MS ortamında, en fazla sayıda sürgün üretimi ise 4 mg/L BAP içeren ortamda elde etmişlerdir. Elde edilen sürgünler 1 mg/L IBA içeren MS ortamında köklendirilerek dış ortama transfer edilerek normal bitkileri elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Mohajer vd. (2012), korungada (*Onobrychis viciifolia* Scop.) *in vitro* hızlı rejenerasyon için değişik konsantrasyonlarda BAP, NAA ve IBA'nın yaprak, sap ve kök

eksplantlarından somatik embriyogenesisi amaçlamışlardır. Bitki parçaları olarak yaprak, sap ve kök kullanılmıştır. MS ortamında her hormon tipi için farklı bitki parçaları, değişik konsantrasyonlarda (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 ve 3 mg/L) kültüre alınmıştır. Embriyogenik kallus gelişimi için en uygun sonuç yaprak ve kök eksplantlarının MS ortamında 2.5 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA da kültüre alınması ile elde edilmiştir. 2.5 mg/L BAP ve 1.5 mg/L IBA konsantrasyonları aynı zamanda, kök ve sap eksplantlarında dikkate değer bir etkiye sahip olduğunu, sap eksplantlarından kallus üretmek için en iyi konsantrasyonun 0.5 mg/L BAP ve 1 mg/L IBA'nın kullanıldığı ortamdan elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Uzun (2012), thidiazuronun (TDZ) korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) bitkisinde hipokotil ve kotiledon ekplantlarında adventif sürgün regenerasyonuna etkisini belirlemek amacıyla yürütmüş olduğu çalışmada, korunga tohumlarını Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında çimlendirmiş ve 10 günlük fidelerden izole ettiği hipokotil ve kotiledon explantlarını farklı konsantrasyon ve kombinasyonlarda kültüre almıştır. En fazla sürgün oluşturma yüzdesini 0.5, 1 mg/L TDZ veya 0.5, 1 mg/L TDZ ve 0.5 mg/L NAA içeren ortamlardan, eksplant başına en yüksek sürgün sayısını ise 1 mg/L TDZ içeren MS besin ortamında hipokotil eksplantından elde ettiğini ve rejenere olan sürgünlerin köklendirme ortamına aktarılarak (1.5 mg/L IBA) başarılı bir şekilde köklendiğini bildirmiştir.

Kamalvand vd. (2013) *Onobrychis altissima* da hipokotil, kotiledon ve epikotil eksplantlarını BAP ve 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlarında kültüre almışlardır. Farklı konsantrasyonlarda BAP ve 2,4-D hormonları kullanarak MS ortamında *Onobrychis altissima*'nın farklı eksplantlarının kültürü sonucu, kullanılan büyümeyi düzenleyicilerin kallus oluşumu üzerinde oldukça etkili olduğunu ancak organogenez üzerinde etkisinin çok fazla olmadığını tespit etmişlerdir. Eksplantlar arasında hipokotilden embriyogenik kallus elde edilmiş ancak diğer eksplantlar sadece organogenez yeteneği olmayan basit kalluslar elde etmişlerdir.

Turgut (2014), yaptığı çalışmada thidiazuron (TDZ)'un korunganın (*Onobrychis viciifolia* Scop.) *in vitro* sürgün rejenerasyonuna etkisi araştırmıştır. Tohumdan elde edilen bitkiciklerden alınan gövde, kotiledon ve yaprak eksplantlarını farklı

konsantrasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren MS besin ortamlarında kültüre almıştır. En yüksek sürgün rejenerasyonun 2 mg/L TDZ içeren besin ortamından petri kutusu başına 107.6 adet olduğunu, yine tohumların magenta kabında farklı TDZ oranları ile kültüre alınması sonucu 0.1 mg/L TDZ içeren besin ortamında magenta kabı başına ortalama 148.6 adet sürgün elde ettiğini bildirmiştir. Elde edilen sürgünleri 1 mg/L indol-3-butrik asit (IBA) içeren ortamlarda köklendirilerek saksılara aktarmıştır.

Mohajer vd. (2014), *in vitro* hızlı rejenerasyon potansiyelini araştırmak için korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop. Syn. O*nobrychis sativa* L.)'nın üç varyetesinde (Golpaygan-181, Orumieh-1763 ve Gorgan-1601) çalışmışlardır. Yapay tohumlar oluşturmak için somatik embriyojenik kallusun torpido ve kotiledon safhalarından ilk kez bir kapsülleme protokolü oluşturmuşlardır. Farklı konsantrasyonlarda kinetin (0-2.0 mg/L) ve indol-3-asetik asit (0-2.0 mg /L) ile muameleden sonra kallus, sodyum alginat ile kapladıklarını ve daha sonra MS ortamında ve toprakta kültüre aldıklarını bildirmişlerdir. Sentetik tohumlardan elde edilen adventif sürgünleri, çeşitli konsantrasyonlarda oksin ve sitokinin takviye edildiği MS ortamında köklendirmişlerdir.

Okçu ve Şengül (2014), Erzurum doğal florasından topladıkları 10 korunga taksonu ile yürüttükleri çalışmada saptadıkları özellikleri göz önüne alarak, türler arasında *O. atropatana var. grandiflora, O. radiata, O. stenostachya, O. stenostachya subları. sosnowskyi ve O. viciifolia* genotiplerinin korunga ıslahında bitki materyalleri olarak kullanılabileceğini belirlemişlerdir.

Yıldız ve Ekiz (2014) korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) bitkisinde farklı sodyum hipoklorit konsantrasyon ve sıcaklıklarının *in vitro* tohum çimlenmesi, fide gelişimi ve hipokotil eksplantlarının rejenerasyon kapasitesi üzerine etkilerini belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada yüzey sterilizasyon işlemi sırasında kullanılan sodyum hipoklorit konsantrasyonu ve sıcaklığının tohum çimlenmesini ve fide gelişimi doğrudan etkilediği ve aynı zamanda eksplantların rejenerasyon kapasitelerini de doğrudan olmasa bile önemli ölçüde etkilendiği sonucuna varmışlardır. Sterilizasyon işlemi sırasında eksplantın sodyum hipoklorit ile doğrudan teması rejenerasyon kapasitesi üzerinde ciddi

bir etkiye sahip olabileceğinden eksplant kaynağı olarak aseptik fidelerin kullanılmasını önermişlerdir.

Honarmand vd. (2016), Shahrkord ve Khansar korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) çeşitlerinin, farklı seviyelerdeki oksin (NAA ve IBA) ve sitokinin (BAP, Zeatin ve TDZ) hormonlarına gösterdikleri büyüme tepkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla 4-7 günlük fidelerden elde edilen sürgün uçları kullanılmıştır. Araştırma sonucunda, sürgün yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısının ve sürgün uzunluğunun çeşit, bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonundan istatistiki olarak önemli ölçüde etkilendiği belirlemişlerdir. Sürgün yüzdesinin % 0-89.7 ve eksplant başına sürgün sayısının 1-5.03 adet arasında değişim gösterdiğini ve genel olarak Khansar çeşidinde kallus indüksiyonu yüzdesi, sürgün oluşturma oranı ve eksplant başına sürgün sayısının Shahrkord daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, 0.1 mgL^{-1} IBA ve 3 mgL^{-1} BAP içeren MS ortamında Khansar çeşidinde en yüksek sürgün yüzdesi (% 98.15), eksplant başına sürgün sayısı (4.3) elde ettiklerini ifade etmişlerdir.

Dadaşoğlu ve Tosun (2017) yürüttükleri çalışmada bitki hormonlarından NAA, BAP, kinetin ve TDZ'nin korunga bitkisinin bazı *in vitro* özelliklerine olan etkilerini belirlemeyi amaçlamışlardır. Bitki hormonlarının etkisine bakıldığında en fazla sayıda sürgün oluşumu kök eksplantından 29.0 adet ile 1.5 mg /L BAP'dan, kotiledonlarda 7.8 adet ile TDZ'nin 1.0 mg l-1'lik dozundan elde etmişlerdir.

Kültürü yapılan korungada (*Onobrychis viciifolia*) daha önce yapılan doku kültürü çalışmaları incelendiğinde farklı eksplantlardan organogenesis ya da somatik embryogenesis ile bitki rejenerasyonu elde edildiği görülmektedir. Ancak Türkiye'de yayılış gösteren diğer korunga türleri ile ilgili çalışmalar bulunmamaktadır.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Bitki Materyali

Endemik *Onobrychis elata, Onobrychis fallax* var. *longifolia, Onobrychis stenostachya* subsp. *sosnowskyi* ve ülkemizde yaygın olarak tarımı yapılan *Onobrychis viciifolia* korunga türleri doku kültürü çalışmalarında kullanılmıştır. Üç endemik tür TUBİTAK 106O040 projesi kapsamında toplanarak Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Araştırma Alanında yetiştirilmiş ve buradan elde edilen tohumlar çalışmada kullanılmıştır (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Çalışmada kullanılan bitki isimleri ve toplandıkları yerler

Bitki İsmi	**Lokalite**	**Koordinatlar**		
		Enlem	**Boylam**	**Yükseklik**
Onobrychis fallax Freyn & Sint. ex Freyn var. longifolia Aktoklu	Malatya, Arguvan	39°00'02"	38°12'27"	1410 m
Onobrychis stenostachya subsp. *sosnowskyi*	Erzurum, Tortum	40°13'42"	41°30'23"	1987 m
Onobrychis elata Boiss. & Balans	Kayseri, Hisarcık Hacılara doğru	38°38'17"	35°29'36"	1443 m
Onobrychis viciifolia	Sivas civarında yetiştirilen lokal ekotip			

2.2. Yöntem

Tez çalışması Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Araştırma biriminde yürütülmüştür.

2.2.1.Genel Doku Kültürü Şartları

Çalışmada Duchefa Biochemie'den temin edilen MS (Murashige ve Skoog, 1962) mineral ve vitaminleri (M0222), MS ortamında karbon kaynağı olarak % 99.7 saflıkta sukroz ve ortamı yarı katı hale getirmek için Lab M marka bitki doku kültürü için hazırlanmış agar kullanılmıştır. Ortamlar bidistile su kullanılarak hazırlanmıştır.

Steril kabinin dezenfeksiyon işlemleri %70'lik teknik etil alkol, kullanılan pens ve bisturinin sterilizasyonu %70'lik teknik etil alkol ve bunzen beki alevi ve tohumların sterilizasyonu ticari sodyum hipoklorit çözeltisi (ACE) ile yapılmıştır. Tohumların çimlendirme işlemleri cam petri kutularında, çoğaltım ve köklendirme işlemleri ise Magenta kaplarında (Sigma-Aldrich,77x77x 97) gerçekleştirilmiştir.

Saf su, besin ortamların ve çalışmada kullanılan alet ekipmanın (petri kutuları, magenta kapları, beher, santrifüj tüpü vb) sterilizasyonu otoklav (HMC marka HV-50 L model) kullanılarak 1.5 atmosfer basınç altında, 121 °C'de 20 dakika sürede, ısıya dayanıklı olmayan bitki büyüme düzenleyicilerin sterilizasyonu ise milipore filtre kullanılarak yapılmıştır. Tüm steril çalışmalar hepa filtreli steril kabin (Nüve L120) içerisinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.1.) .



Şekil 2.1. Çalışmada kullanılan steril kabin

Besin ortamı bileşenleri hazırlanırken 0.001 g hassasiyette sahip hassas terazi (Ohaus), manyetik karıştırıcı, pH'nın ayarlanmasında dijital pH metre (Hanna HI-2211), cam mezür, beher ve otomatik pipet kullanılmıştır. Tüm besin ortamlarının pH'sı 1N NaOH ve 1 N HCI kullanılarak 5.6 ile 5.8 arasında ayarlanmıştır.

Kültürler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperyotta, 24±2°C'de ve 3000 lüks ışık yoğunluğunda büyütülmüştür.

2.2.2. Bitki büyümeyi düzenleyiciler

Çalışmada oksin sınıfı bitki büyüme düzenleyicilerinden α-naftalenasetik asit (NAA) ve indol-3-bütirik asit (IBA), sitokinin sınıfı bitki büyüme düzenleyicilerinden thidiazuron (TDZ), 6-benzilaminopürin (BAP) ve meta-Topolin kullanılmıştır. Tüm büyümeyi düzenleyiciler uygun çözücülerde çözüldükten sonra hazırlanan stok solüsyonlar uygun koşullarda saklanmıştır (Tablo 2.2.). Isıdan etkilenen bitki büyümeyi düzenleyiciler filtre sterilizasyonuna tabi tutularak otoklavdan sonra besin ortamına eklenmiştir.

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan büyümeyi düzenleyiciler çözücüleri ve saklama koşulları

Büyümeyi düzenleyiciler	**Çözücü**	**Saklama Koşulları**
BAP	1 N NaOH	+4
TDZ	DMSO/filtre sterilizasyonu	-20
Meta-Topolin	1 N NaOH	+4
NAA	1 N NaOH	+4
IBA	1 N NaOH	+4

2.2.3. Tohumların sterizasyonu, çimlendirilmesi ve kültüre alınması

Çalışmada kullanılan korunga tohumları meyve kabuklarından ayrıldıktan (3 endemik türde sert kabukluluk özelliği olduğundan dolayı tohum kabuğu bisturi ile çizilmiştir) sonra %50 ticari çamaşır suyu çözeltisinde 10 dakika süreyle manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak steril edilmiştir. Steril edilen tohumlar daha sonra 3 defa steril saf su ile durulanmıştır. Steril korunga tohumları MS, 30 g/L sukroz ve % 0.7 agar ile

katılaştırılmış MSO besin ortamında 24°C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyotta çimlendirilmiştir (Şekil 2.2.). Her petri kutusuna yaklaşık 15-20 adet tohum yerleştirilmiştir.

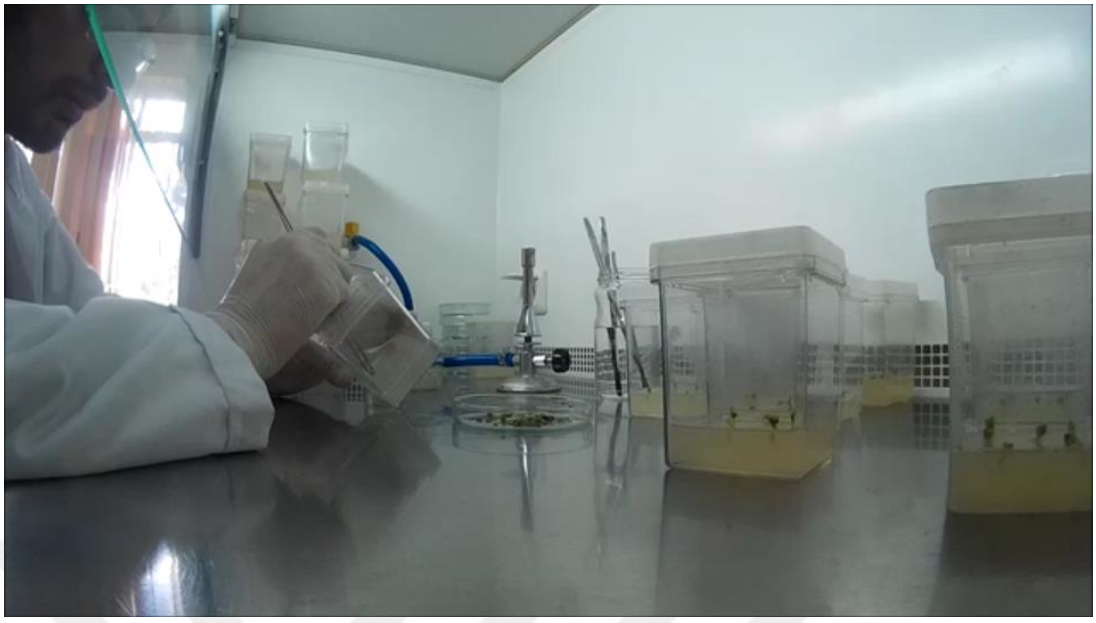
Tohumların çimlendirmeye alınmasından yaklaşık 10-15 gün sonra bitkiciklerden eksplant izolasyonu yapılmıştır. Bu amaçla petri kutuları içerisinden çıkartılan bitkiciklerde kotiledon ve hipokotil kısmı kesildikten sonra geriye kalan kotiledon boğum eksplantı farklı oranlarda büyüme düzenleyiciler içeren MSO besin ortamında, Magenta kapları içerisinde kültüre alınmıştır (Şekil 2.3, 2.4, 2.5; Tablo 2.3).



Şekil 2. 2. MSO ortamında çimlenen korungalar



Şekil 2.3. 10-15 günlük korunga bitkicikleri ve kotiledon boğum eksplantlarının hazırlanması



Şekil 2.4. Magenta kapları içerisine yerleştirilen kotiledon boğum eksplantları



Şekil 2.5. İklim kabini içerisinde gelişmeye bırakılan Magenta kapları

Tablo 2.3. Araştırmada kullanılan bitki büyümeyi düzenleyiciler ve konsantrasyonları

No	Bitki Büyümeyi Düzenleyiciler (BBD, mg/L)			
	BAP	**TDZ**	**Meta-Topolin**	**NAA**
1	--	--	--	--
2	1	--	--	--
3	2	--	--	--
4	4	--	--	--
5	1	--	--	0.5
6	2	--	--	0.5
7	4	--	--	0.5
8	--	0.3	--	--
9	--	0.6	--	--
10	--	1.2	--	--
11	--	0.3	--	0.5
12	--	0.6	--	0.5
13	--	1.2	--	0.5
14	--	--	0.5	--
15	--	--	1	--
16	--	--	2	--

2.3.4. Sürgünlerin köklendirilmesi

Gelişen sürgünlerde ölçüm işlemlerinin ardından 1 veya 2 mg/L IBA içeren yarım MS besin ortamında, her ortam için 6 eksplant ve üç tekerrür olacak şekilde köklendirilme işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.3.5. Araştırmada incelenen özellikler

Sürgün oluşturan eksplant sayısı (%): Her Magenta kabında sürgün oluşturan eksplantlar sayılarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Eksplant başına sürgün sayısı (adet): Her eksplantta gelişen sürgünler sayılmış ve sürgün veren eksplantların ortalaması alınmıştır.

Kök oluşturan sürgün sayısı (%): Her Magenta kabında köklenen sürgünler sayılarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Sürgün başına kök sayısı (adet): Her kök oluşturan sürgündeki kökler sayılarak ortalaması alınmıştır.

2.3.6. Çalışmada Elde Edilen Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Araştırma tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre kurulmuş olup, meta-Topolin ve köklendirme denemesi 3 tekerrürlü diğer denemeler ise 4 tekerrürlü olarak her magenta kabı içerisinde 6 eksplant olacak şekilde yürütülmüştür. Yüzde değerler varyans analizinden önce "arcsin" transformasyonuna tabi tutuluştur. Araştırma sonucunda elde edilen veriler bilgisayarda "SPSS for Windows" programı ile tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine göre analiz edilmiştir. Muamele ortalamaları Duncan testi ile karşılaştırılmıştır.

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1. BAP ve NAA İçeren Ortamlarda Rejenerasyon

Onobrychis stenostachya subsp. sosnowskyi, Onobrychis fallax var. longifolia, Onobrychis elata, Onobrychis viciifolia türlerinde *in vitro* rejenerasyon elde etmek amacıyla türlere ait steril tohumlardan elde edilen fidelerde kotiledonların birleştiği yerin yaklaşık 3-5 mm alt kısmı ve kotiledonların yarısı kesilerek elde edilen kotiledon boğum eksplantı farklı dozlarda BAP ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 8-9 hafta sonra farklı BAP dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısı etkisine ait varyans analizi Tablo 3.1'de verilmiştir (Şekil 3.1; Şekil 3.2. a,b,c,d).

Tablo 3.1. Farklı BAP dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	**Serbestlik Derecesi**	**Sürgün Oluşturan Eksplant Sayısı**		**Eksplant Başına Sürgün Sayısı**	
		KO	**F**	**KO**	**F**
Genel	**111**	--	--	--	--
Türler	**3**	4074.10	31.78**	21.73	56.64**
Ortam	**6**	104.60	0.82	15.37	40.06**
Tür * Ortam	**18**	175.31	1.37	1.34	3.49**
Hata	**84**	128.19		0.38	

**: %1 düzeyinde önemli

Tablo 3.1 incelendiğinde, sürgün oluşturan eksplant sayısına sadece türlerin etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunurken, eksplant başına sürgün sayısına türlerin, ortamların ve tür x ortam interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Farklılığın önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları ve deneme sonucunda elde edilen ortalamalar Tablo 3.2 ve 3.3'te verilmiştir. Tablo 3.2'de de görüldüğü gibi en yüksek sürgün oluşturan eksplant sayısı %98.21 ile *O. stenostachya'*dan elde edilmiş, bunu sırasıyla %94.64, %90.42 ve %72.62 ile *O. fallax, O. viciifolia* ve *O. elata* izlemiştir. Ortamlar arasında çıkan farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Tablo 3.2. Farklı BAP dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)

BBD (mg/L)		**Türler**				
BAP	**NAA**	***Onobrychis stenostachya***	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
-	**-**	95.83 (83.98)	95.83 (83.98)	75.00 (60.32)	83.33 (69.14)	87.50 (74.35)
1		100 (90.00)	91.67 (77.95)	66.67 (55.09)	95.83 (83.98)	88.54 (76.76)
2		100.00 (90.00)	100.00 (90.00)	66.67 (55.45)	100 (90.00)	91.66 (81.36)
4		95.83 (83.98)	100.00 (90.00)	79.17 (69.93)	83.33 (69.14)	89.58 (78.26)
1	**0.5**	95.83 (83.98)	83.33 (69.14)	70.84 (57.53)	95.84 (83.98)	86.46 (73.65)
2	**0.5**	100.00 (90.00)	95.83 (83.98)	79.17 (63.11)	83.33 (72.73)	89.58 (77.45)
4	**0.5**	100.00 (90.00)	95.83 (83.98)	70.84 (57.53)	91.67 (77.53)	89.58 (77.36)
Ortalama		**98.21 (87.41) a***	**94.64 (82.72) ab**	**72.62 (59.85) c**	**90.48 (78.13) b**	

*: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir. Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

Tablo 3.3'de türlerin ortalaması incelendiğinde en fazla eksplant başına sürgün sayısı 4.56 adet ile *O. viciifolia*'dan elde edilmiş olup bunu sırasıyla 3.11, 2.96 ve 2.54 adet ile *O. stenostachya, O. fallax* ve *O. elata* izlemiştir. Ortamların ortalama değerleri

incelendiğinde en fazla eksplant başına sürgün sayısı sırasıyla 4 mg/L BAP, 2 mg/L BAP ve 4 mg/L BAP+0.5 mg/L NAA içeren ortamlardan elde edilmiştir. Korunga türleri kendi içerisinde değerlendirildiğinde, en fazla eksplant başına sürgün sayısı *O. stenostachya*'da 4 mg/L BAP içeren ortamdan, *O. fallax* ve *O. elata*'da 4 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA içeren ortamdan, *O. viciifolia*'da ise 2 mg/L BAP içeren ortamdan elde edilmiştir. Her türde en yüksek eksplant başına sürgün veren ortamın farklı olması interaksyonun önemli çıkmasına neden olmuştur.

Tablo 3.3. Farklı BAP dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde eksplant başına sürgün sayısına etkisi (Adet)

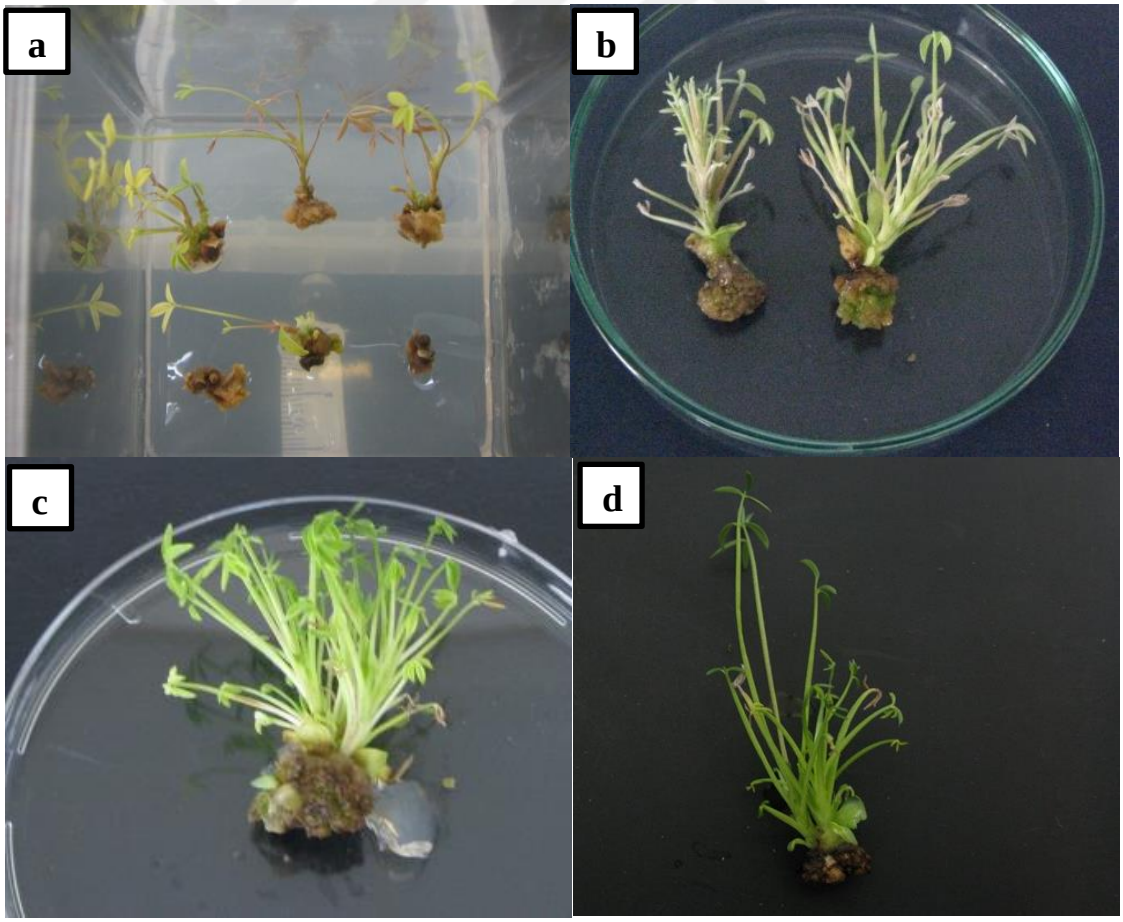
BBD (mg/L)		**Türler**				
BAP	**NAA**	***Onobrychis stenostachya***	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
-	-	1.79 D**	1.22 C**	1.05 B**	2.01 C**	**1.52 d***
1		3.13 BC	2.91 B	1.66 B	4.17 B	**2.97 c**
2		3.75 ABC	3.38 AB	2.82 A	6.25 A	**4.05 a b**
4		4.64 A	3.42 AB	3.32 A	5.62 A	**4.25 a**
1	0.5	1.64 D	2.81 B	3.35 A	3.76 B	**2.64 c**
2	0.5	2.92 C	3.04 AB	2.90 A	5.59 A	**3.61 b**
4	0.5	3.88 AB	3.92 A	3.36 A	4.53 B	**3.99 ab**
Ortalama		**3.12 b***	**2.96 b**	**2.54 c**	**4.56 a**	

*: Aynı satırda ve aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.

**Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.



Şekil 3.1 *Onobrychis viciifolia* türünde kültür başlangıcından 9 hafta sonra gelişim



Şekil 3.2. Korunga türlerinde 1 mg/L BAP içeren MSO besin ortamında sürgün rejenerasyonu a) *Onobrychis stenostachya* b) *Onobrychis falax* c) *Onobrychis elata* ve d) *Onobrychis viciifolia*

3. 2. TDZ ve NAA İçeren Ortamlarda Rejenerasyon

Onobrychis stenostachya subsp. sosnowskyi, Onobrychis fallax var. longifolia, Onobrychis elata, Onobrychis viciifolia türlerinde *in vitro* rejenerasyon elde etmek amacıyla kotiledon boğum eksplantları farklı dozlarda TDZ ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 8-9 hafta sonra farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi Tablo 3.4'de verilmiştir (Şekil 3.3.a,b,c,d).

TDZ ve NAA büyüme düzenleyicilerini içeren ortamların sürgün oluşturan eksplant sayısı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analiz tablosu incelendiğinde, sürgün oluşturan eksplant sayısı üzerine sadece türlerin, eksplant başına sürgün sayısı üzerine ise türlerin, ortamların ve tür x ortam interaksiyonunun etkisi 0.01 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Tablo 3.4. Farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısı ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	**Serbestlik Derecesi**	**Sürgün Oluşturan Eksplant Sayısı**		**Eksplant Başına Sürgün Sayısı**	
		KO	**F**	**KO**	**F**
Genel	**95**				
Türler	**3**	7020.18	51.31**	106.74	5004.02**
Ortam	**5**	238.97	1.75	3.62	120.25**
Tür * Ortam	**15**	94.60	0.69	2.79	4.08**
Hata	**72**	136.82		0.89	

**: %1 düzeyinde önemli

Tablo 3.5. incelendiğinde, en fazla sürgün oluşturan eksplant sayısı %99.31 ile *O. fallax'*dan, en düşük sürgün oluşturan ekplant sayısı ise % 56.95 ile *O. elata*'dan elde edilmiştir. Farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının türlerin sürgün oluşturma yüzdelerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bununla beraber en yüksek sürgün oluşturma oranı ortalama %88.54 ile 0.3 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA

kombinasyonundan elde edilmiştir. En düşük sürgün oluşturma oranı ise ortalama %79.17 ile 1.2 mg/L TDZ'nin kullanıldığı besin ortamından elde edilmiştir.

Büyüme düzenleyicilerinden TDZ ve NAA konsantrasyonlarının türlerin eksplant başına sürgün sayısına etkisi incelendiğinde, en fazla eksplant başına ortalama sürgün sayısı ortalama 9.01 adet ile *O. stenostachya'*dan elde edilmiş olup, *O. fallax*'da 8.20 adet, *O. viciifolia'*da 5.13 adet ve *O. elata*'da 4.87 adet sürgün elde edilmiştir. *O. viciifolia ve O. elata'*dan elde edilen ortalama sürgün sayıları istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır (Tablo 3.6).

Tablo 3.5. Farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)

BBD (mg/L)		**Türler**				
TDZ	**NAA**	***Onobrychis stenostachya***	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
0.3		95.83 (83.98)	95.83 (83.98)	66.67 (55.10)	91.67 (77.95)	**87.50 (75.25)**
0.6		95.83 (83.98)	100.00 (90.00)	54.17 (47.43)	91.67 (77.95)	**85.42 (74.84)**
1.2		79.17 (66.34)	100.00 (90.00)	54.17 (47.43)	83.33 (69.14)	**79.17 (68.23)**
0.3	**0.5**	100.00 (90.00)	100.00 (90.00)	54.17 (51.02)	100.00 (90.00)	**88.54 (80.27)**
0.6	**0.5**	95.83 (83.98)	100.00 (90.00)	54.17 (47.43)	91.67 (77.95)	**85.42 (74.93)**
1.2	**0.5**	91.67 (81.18)	100.00 (90.00)	58.33 (50.23)	87.50 (77.93)	**84.37 (73.33)**
Ortalama		**93.055 (81.58) b**	**99.305 (88.99) a**	**56.95 (49.83) c**	**90.97 (77.49) b**	

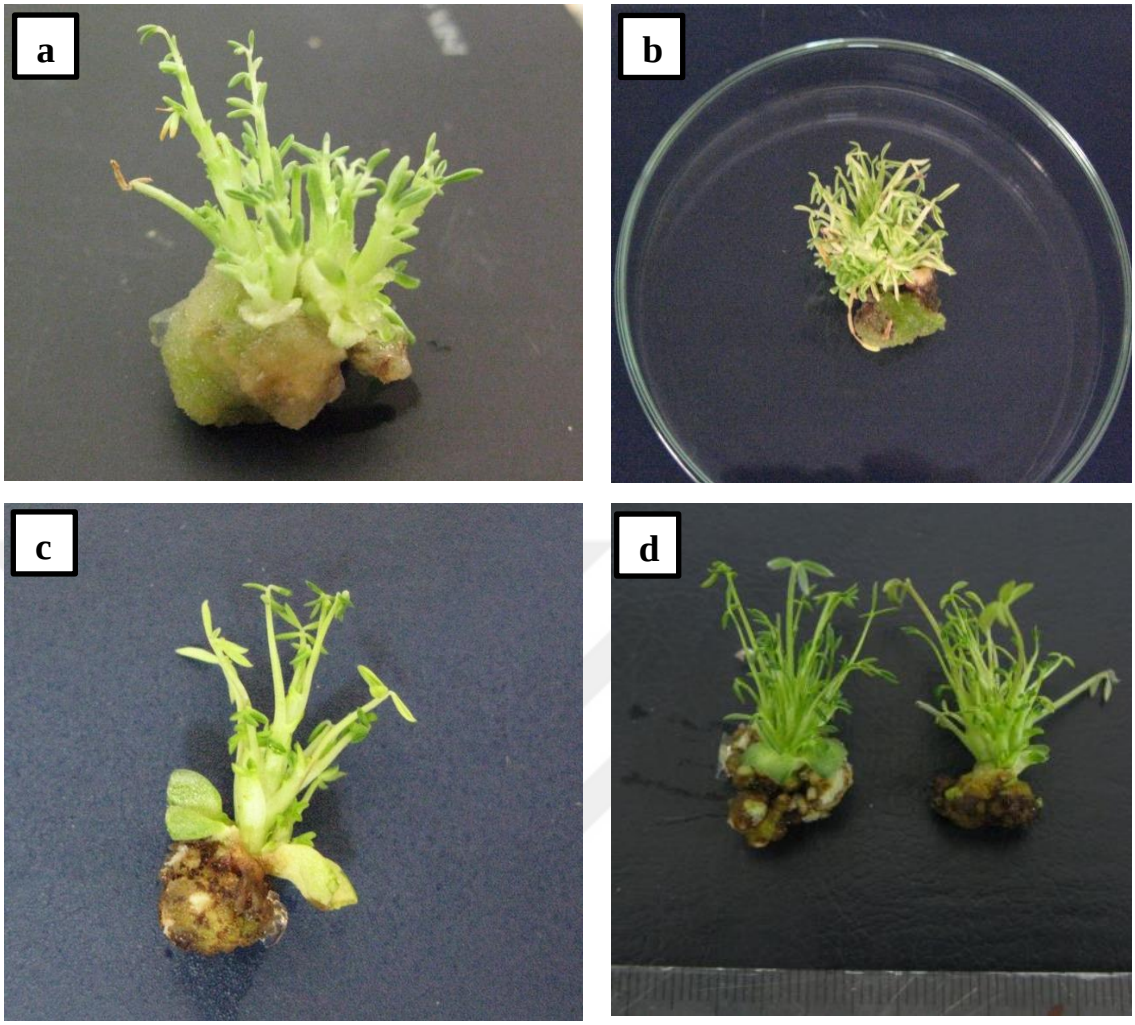
*: Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir. Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

Tablo 3.6 Farklı TDZ dozları ve NAA kombinasyonlarının korunga türlerinde eksplant başına sürgün sayısına etkisi (adet)

BBD (mg/L)		**Türler**				
TDZ	**NAA**	***Onobrychis stenostachya***	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
0.3		8.53 BCD**	7.70 BC**	5.10 A**	6.42 A**	**6.93 ab***
0.6		9.45 ABC	8.65 AB	4.77 A	5.54 AB	**7.10 ab**
1.2		10.58 A	9.50 A	5.50 A	4.61 B	**7.55 a**
0.3	0.5	7.88 D	7.85 BC	4.57 A	5.25 AB	**6.39 b**
0.6	0.5	9.53 AB	6.55 C	5.13 A	4.66 B	**6.47 b**
1.2	0.5	8.08 CD	8.95 AB	4.18 A	4.29 B	**6.38 b**
Ortalama		**9.01 a***	**8.20 b**	**4.87 c**	**5.13 c**	

*: Aynı satırda ve aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.
**Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.

Ortamların eksplant başına sürgün oluşturma etkilerine bakıldığında, en fazla sürgün 7.55 adet ile 1.2 mg/L TDZ konsantrasyonunda elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün oluşturmada, türler kendi içerisinde değerlendirildiğinde en fazla sürgün sayısı *O. stenostachya* (10.58 adet) ve *O. fallax* (9.50 adet) 1.2 mg/L TDZ, *O. viciifolia*'da 0.3 mg/L TDZ (6.42 adet) içeren ortamdan elde edilirken *O. elata*'da ortamlar arasında istatistiki bir farklılığın olmadığı görülmektedir.



Şekil 3.3. Korunga türlerinde 0.3 mg/L TDZ içeren MSO besin ortamında sürgün rejenerasyonu a) *Onobrychis stenostachya,* b) *Onobrychis falax,* c) *Onobrychis elata* ve d) *Onobrychis viciifolia*

3.3. Meta-Topolin İçeren Ortamlarda Rejenerasyon

Onobrychis stenostachya, Onobrychis fallax, Onobrychis elata, Onobrychis viciifolia türlerinde kotiledon boğum eksplantında farklı meta-Topolin dozlarının *in vitro* rejenerasyon üzerine etkisi belirlemek amacıyla kurulan denemeden elde edilen sonuçlara ait varyans analizi Tablo 3.7'de verilmiştir (Şekil 3.4.a,b,c,d). Farklı korunga türlerinin meta-Topolin bitki büyüme düzenleyicilerini içeren ortamlarda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi tablosu incelendiğinde yapılan muamelelerin istatistiksel olarak önemsiz çıktığı belirlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz incelendiğinde ise türler ve ortamların etkisi istatiksel olarak

0.01 seviyesinde önemli iken, tür x ortam interaksiyonunun etkisi 0.05 seviyesinde önemli bulunmuştur.

Tablo 3.7. Farklı meta-Topolin dozlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına ve eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	**Serbestlik Derecesi**	**Sürgün Oluşturan Eksplant Sayısı**		**Eksplant Başına Sürgün Sayısı**	
		KO	**F**	**KO**	**F**
Genel	**35**				
Türler	**3**	549.26	2.54	3.26	8.30**
Ortam	**2**	307.51	1.54	13.78	35.06**
Tür * Ortam	**6**	165.51	0.83	1.26	3.21*
Hata	**24**	199.57		0.393	

*: 0.05 düzeyinde önemli, **: 0.01 düzeyinde önemli

Tablo 3.8. Farklı meta-Topolin dozlarının korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)

Meta-Topolin mg/L	**Türler**				
	Onobrychis stenostachya	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
0.5	94.44 (81.97)*	94.44 (81.97)	94.44 (81.97)	100.00 (90.00)	**95.83 (83.98)**
1	94.44 (81.97)	88.89 (73.94)	77.78 (66.97)	94.44 (81.97)	**88.89 (76.21)**
2	94.44 (81.97)	94.44 (81.97)	61.11 (51.97)	94.44 (81.97)	**86.11 (74.47)**
Ortalama	**94.44 (81.97)**	**92.59 (79.29)**	**77.78 (66.97)**	**96.30 (84.65)**	

*: Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

Meta-Topolin ile muamele sonucunda sürgün oluşturan eksplant yüzdeleri tür bazında incelendiğinde en yüksek ortalama değer % 96.3 oran ile *O. viciifolia* türünden elde edilmiştir. Bunu sırası ile ortalama %94.44 oran ile *O. stenostachya* ve ortalama %92.59 oran ile *O. fallax* türleri takip etmiştir. En düşük sürgün oluşturan eksplant sayısı ise ortalama %77.78 oran ile *O. elata* türünden elde edilmiştir.

Meta-Topolin konsantrasyonlarının sürgün oluşturan eksplant sayısına etkisi irdelendiğinde, en yüksek oran %95.83 ile 0.5 mg/L meta-Topolin uygulamasından elde edilirken, en düşük oran %86.11 ile 2 mg/L meta-Topolin uygulamasından elde edilmiştir. Ancak türlerin ve uygulamaların etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Tablo 3.9. Farklı meta-Topolin dozlarının korunga türlerinde eksplant başına sürgün sayısına etkisi (adet)

mT mg/L	**Türler**				
	Onobrychis stenostachya	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
0.5	2.65 B**	2.91 B**	1.97 B**	2.39 B**	**2.48 c***
1	2.97 B	4.70 A	2.85 B	3.30 AB	**3.46 b**
2	5.86 A	5.023 A	4.00 A	3.60 A	**4.62 a**
Ortalama	**3.83 a***	**4.21 a**	**2.94 b**	**3.10 b**	

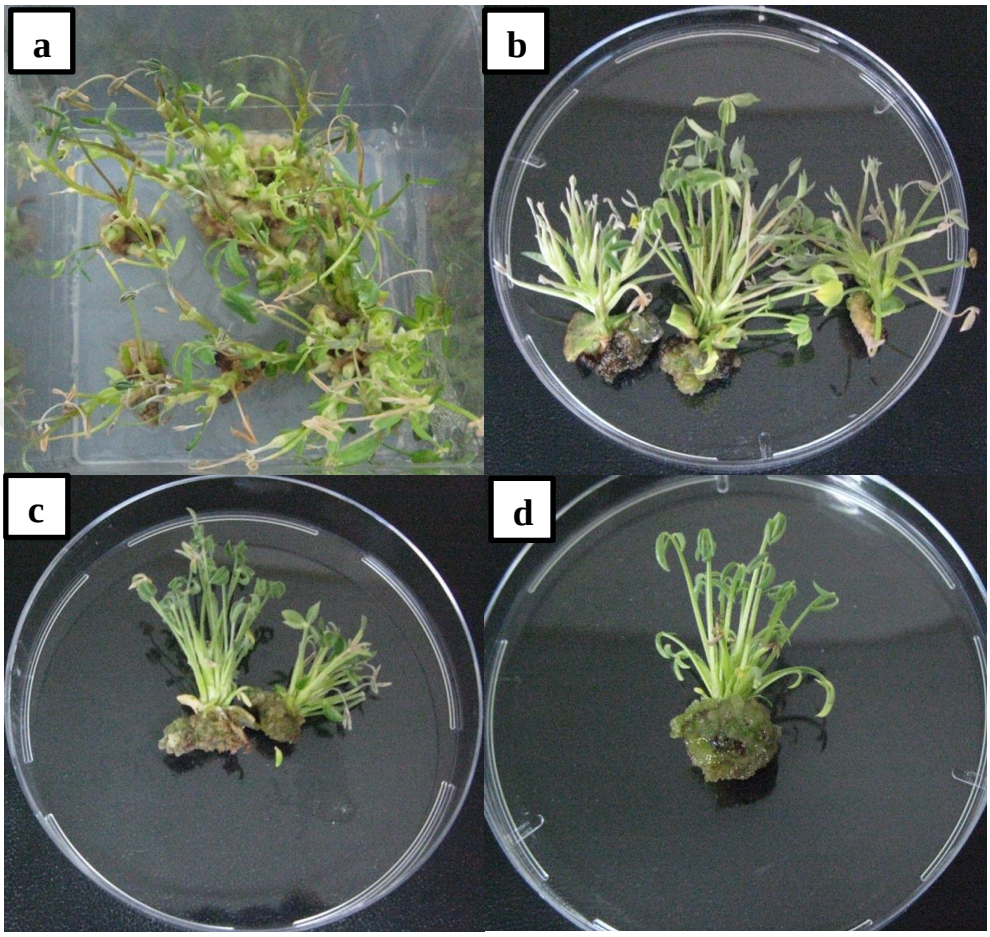
*: Aynı satırda ve aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.
**Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.

Eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde en fazla sürgün sayısı 4.21 adet ile *O. fallax*'da gerçekleşirken *O. stenostachya*'da 3.83 adet ile istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Eksplant başına en az sürgün sayısı veren tür ise ortalama 2.94 adet ile *O. elata* olmuş olup *O. viciifolia* (3.10 adet) türü ile istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır.

Meta-Topolin konsantrasyonlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisine baktığımızda konsantrasyonlar arttıkça sürgün sayısının da anlamlı bir şekilde arttığı görülmektedir. En fazla sürgün sayısı 2 mg/L meta-Topolin konsantrasyonunda ortalama 4.62 adet, en az sürgün sayısı ise 0.5 mg/L meta-Topolin konsantrasyonunda ortalama 2.48 adet olarak belirlenmiştir.

Her türün meta-Topolin uygulamasına tepkisi ayrı ayrı incelendiğinde en yüksek eksplant başına sürgün sayısı tüm türlerde 2 mg/L en düşük ise 0.5 mg/L meta-Topolin uygulamalarından elde edilmiştir. Ancak *Onobrychis fallax* ve *Onobrychis viciifolia*

türlerinde 2 mg/L meta-Topolin uygulaması ile 1 mg/L meta-Topolin uygulaması arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 3.4. Korunga türlerinde 2 mg/L meta-Topolin içeren MSO besin ortamında sürgün rejenerasyonu a) *Onobrychis stenostachya,* b) *Onobrychis falax,* c) *Onobrychis elata* ve d) *Onobrychis viciifolia*

3.4. Sürgünlerin Köklendirilmesi

Gelişen sürgünler kesilerek 1 veya 2 mg/L IBA içeren MSO besin ortamında köklendirmeye alınmıştır. Kültür başlangıcından 7-8 hafta sonra sürgün oluşturan kök sayısı ve sürgün başına kök sayısı değerleri belirlenmiştir (Şekil 3.5 a,b,c,d). Yapılan varyans analizi sonucunda kök oluşturan sürgün sayısında türler, sürgün başına kök sayısında ise ortam ve tür x ortam interaksiyonu önemli bulunmuştur (Tablo 3.10).

Tablo 3.10. Farklı IBA dozlarının korunga türlerinde kök oluşturan eksplant sayısına ve sürgün başına kök sayısına etkisine ait varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	Serbestlik Derecesi	Sürgün Oluşturan Kök Yüzdesi		Sürgün Başına Kök Sayısı	
		KO	F	KO	F
Genel	**23**				
Türler	**3**	1895.58	11.82**	0.83	0.86
Ortam	**1**	0.130	0.001	5.23	5.42*
Tür * Ortam	**3**	68.68	0.428	3.64	3.77**
Hata	**16**	160.43		0.97	

*: %1 düzeyinde önemli, **: %1 düzeyinde önemli

Tablo 3.11. incelendiğinde *Onobrychis viciifolia*' da %86.11, *Onobrychis stenostachya*'da %50, *Onobrychis fallax* ve *Onobrychis elata*'da %36 köklenme oranı elde edildiği görülmektedir. Köklenme oranı bakımından türler arasında çok önemli farklılıkların olduğu görülmüştür. En yüksek köklenme oranı *Onobrychis viciifolia'*dan elde edilmiştir. Ortamların türlerin köklenme oranı üzerine etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Tablo 3.11. Farklı IBA dozlarının korunga türlerinde kök oluşturan eksplant sayısına etkisi (%)

IBA mg/L	Türler				
	Onobrychis stenostachya	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
1	44.44 (41.75)	38.89 (38.51)	33.33 (34.79)	88.89 (78.25)	**51.38** (48.32)
2	55.55 (48.72)	33.33 (35.26)	38.89 (38.51)	83.33 (70.21)	**52.78** (48.18)
Ortalama	**50.00 (45.24) b***	**36.11 (36.89) b**	**36.11 (36.65) b**	**86.11 (74.23) a**	

*: Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir. Parantez içleri transformasyon değerlerini göstermektedir.

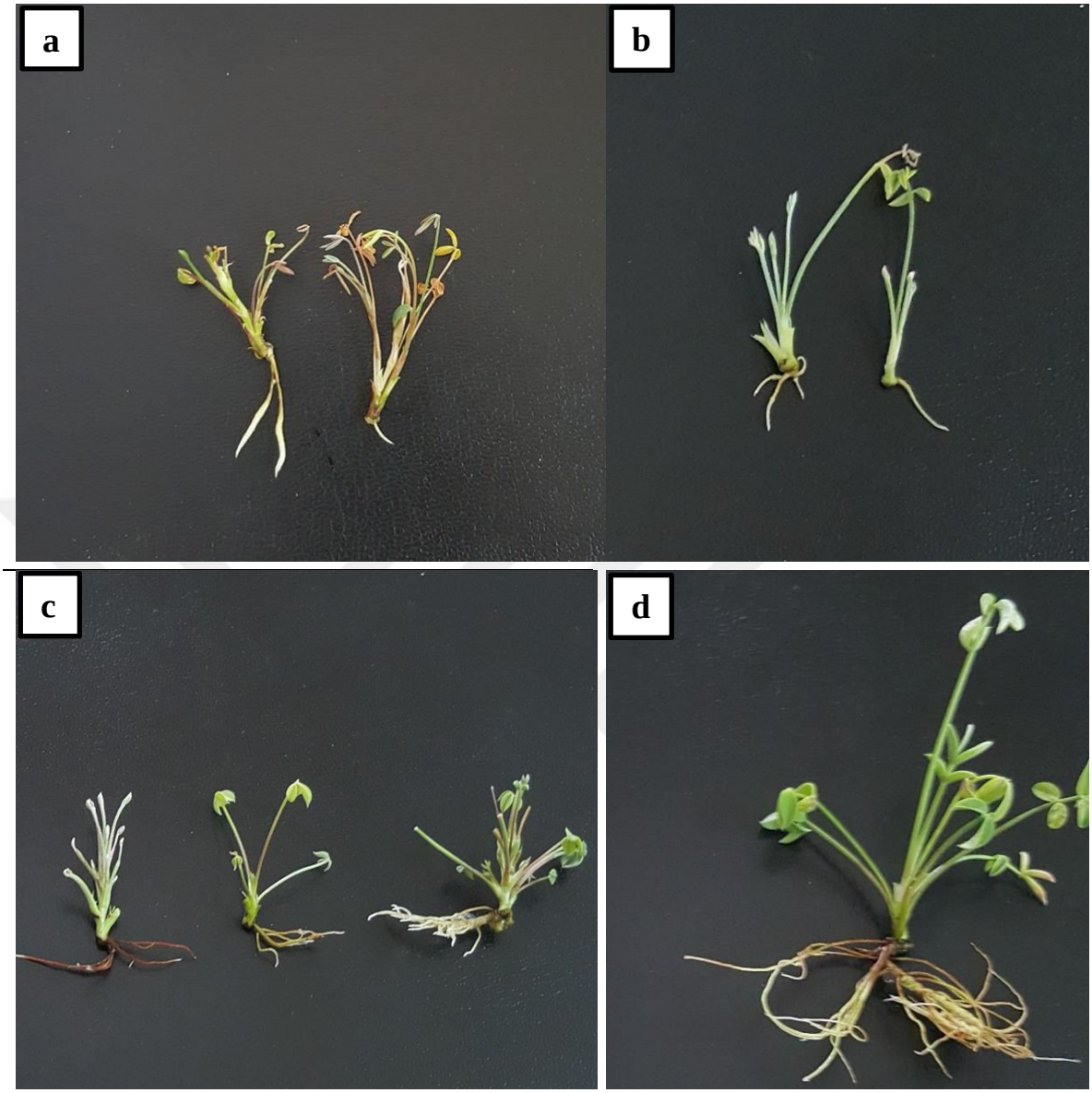
IBA dozlarının korunga türlerinde sürgün başına kök sayısına etkisi türlere göre değişim göstermiştir. En fazla eksplant başına kök sayısı *Onobrychis stenostachya* ve *Onobrychis elata'*da 2 mg/L IBA içeren ortamdan elde edilirken *Onobrychis fallax Onobrychis viciifolia*'da ortamlar arasında farklılık elde edilmemiştir.

Tablo 3.12. Farklı IBA dozlarının korunga türlerinde sürgün başına kök sayısına etkisi

IBA mg/L	**Türler**				
	Onobrychis stenostachya	***Onobrychis fallax***	***Onobrychis elata***	***Onobrychis viciifolia***	**Ortalama**
1	2.83 B**	2.89 A**	1.22 B**	3.39 A**	**2.59 b***
2	3.56 A	2.50 A	4.39 A	3.62 A	**3.52 a**
Ortalama	**3.20**	**2.70**	**2.81**	**3.51**	

*: Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.

**Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.



Şekil 3.5. Korunga türlerinde 1 mg/L IBA içeren MSO besin ortamında köklenme
a) *Onobrychis stenostachya* b) *Onobrychis elata c)Onobrychis fallax* ve d) *Onobrychis viciifolia*

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında *Onobrychis stenostachya, O. fallax, O. elata* ve *O. viciifolia* korunga türlerinin doku kültürü yöntemleriyle çoğaltımı amaçlanmıştır. Bu amaçla türlere ait steril tohumlardan elde edilen fidelerde kotiledonların birleştiği yerin yaklaşık 3-5 mm alt kısmı ve kotiledonların yarısı kesilerek elde edilen kotiledon boğum eksplantları farklı büyümeyi düzenleyici konsantrasyon ve kombinasyonlarını içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 8-9 hafta sonra korunga türlerinde sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısı özellikleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda bütün türlerde rejenerasyon frekansında kullanılan büyümeyi düzenleyici doz ve kombinasyonlarında istatistiksel olarak bir farklılık elde edilmemiştir. Ancak eksplant başına sürgün sayısı bakımından türlere göre büyümeyi düzenleyici doz ve kombinasyonları farklılık göstermiştir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı BAP ve NAA uygulamalarında *O. stenostachya*'da 4 mg/L BAP, *O. fallax* ve *O. elata*'da 4 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA, *O. viciifolia*'da ise 2 mg/L BAP, TDZ ve NAA uygulamalarında ise *O. stenostachya, O. fallax* ve *O. elata'*da 1.2 mg/L TDZ, *O. viciifolia*'da 0.3 mg/L TDZ içeren ortamlardan elde edilmiştir. Meta-Topolin uygulamalarında ise en fazla eksplant başına sürgün sayısı tüm türlerde 2 mg/L en düşük ise 0.5 mg/L meta-Topolin uygulamalarından elde edilmiştir. Ancak *O. fallax* ve *O. viciifolia* türlerinde 2 mg/L meta-Topolin uygulaması ile 1 mg/L meta-Topolin uygulaması arasında istatistiksel olarak bir farklılık gözlenmemiştir.

Sürgün rejenerasyonunun başarısında kullanılan eksplant tipi, büyümeyi düzenleyici tipi, dozu ve genotip oldukça önemli bir yere sahiptir. Çalışılan türler kendi aralarında genel olarak değerlendirilirse; türlerin sürgün oluşturma yüzdeleri ve eksplant başına elde edilen sürgün sayıları birbirinden farklılık göstermiştir, bununla birlikte genel olarak kotiledon boğum eksplantında incelenen ortamlar açısından rejenerasyon kapasitesi en düşük olan tür *O. elata* olarak belirlenmiştir. Honarmand vd. (2016),

Shahrkord ve Khansar korunga çeşitlerinde yürüttükleri çalışmada Khansar çeşidinde kallus indüksiyonu yüzdesi, sürgün oluşturma oranı ve eksplant başına sürgün sayısının Shahrkord çeşidinden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, 0.1 mg/L IBA ve 3 mg/L BAP içeren MS ortamında Khansar çeşidinde en yüksek sürgün yüzdesi (% 98.15) ve eksplant başına sürgün sayısı (4.3) elde ettiklerini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde yonca, fiğ, burçak gibi bitkilerde yürütülen çalışmalarda bitki genotipinin *in vitro* sürgün rejenerasyonunu önemli ölçüde etkilediği belirtilmiştir (Çöçü vd., 2003; Erdoğan vd., 2004; Erdoğan vd., 2005; Erişen, 2005).

Korunga ile önceki yıllarda *in vitro* rejenerasyon ile ilgili farklı araştırıcılar tarafından yürütülen çalışmalar incelendiğinde daha çok kültürü yapılan *Onobrychis viciifolia* üzerinde yapılmış çalışmalar görülmektedir. Araştırmacılar çalışmaların da farklı bitki parçaları, farklı konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri kullanarak korungada etkili bir sürgün rejenerasyonu geliştirmeyi amaçlamışlardır. Korungada farklı araştırıcıların yaptıkları çalışmalarda Özcan vd. (1996a) yüksek oranda sürgünü 0.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA içeren MS ortamında kültüre alınan hipokotil örneklerinden, Özcan vd. (1996 b) 0.5 mg/L BAP ve 2 mg/L NAA içeren MS ortamında olgunlaşmamış embriyolardan, Özgen vd. (1998) 20µM BA ve 0.5 µM NAA içeren MS besin ortamında tarla koşullarında yetiştirdikleri bitkilerden elde edilen sap eksplantından, Sancak (1999) 2 mg/L BAP ile 0.05 veya 0.1 mg/L IBA içeren MS ortamında embriyodan, Çeliktas vd. (2006) 10.7 µM NAA ve 2.3µm kinetin ile B5 ortamında, apikal meristemlerden, Garshasbi vd. (2012) 4 mg/L BAP içeren besin ortamında apikal meristemlerden, Uzun (2012) en fazla sürgün oluşturma yüzdesini 0.5, 1 mg/L TDZ veya 0.5, 1 mg/L TDZ ve 0.5 mg/L NAA içeren ortamlardan, hipokotil eksplantından elde etmişlerdir. *Onobrychis viciifolia* ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında genellikle en fazla sürgün rejenerasyonunun kullanılan eksplant tipine, büyümeyi düzenleyici tipi ve konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Nitekim Dadaşoğlu ve Tosun (2017) korungada en fazla sürgün oluşumunu kök eksplantından 29.0 adet ile 1.5 mg /L BAP'dan elde ederken kotiledonlarda 7.8 adet ile TDZ'nin 1.0 mg /L dozundan elde ettiklerini, Tamas ve Savatti (2006) ise korungada hızlı çoğaltımı için vejetasyonun 1. 2. ve 3. yıllarında sürgün ucu ve boğumlarından aldıkları eksplantları kullanmışlar, sürgün uçlarının

rejenerasyon kapasitesinin daha yüksek olduğu olduğunu ve rejenerasyon derecesinin donör bitkinin yaşı ile de doğru orantılı olduğunu ifade etmişlerdir.

BAP ve NAA içeren ortamlar genel olarak değerlendirildiğinde eksplant başına en fazla sürgün sayısının sadece 2-4 mg/L BAP ile bunların 0.5 mg/L NAA kombinasyonlarında belirlenmiştir. Özgen vd., (1998) ve Sancak (1999) *O. viciifolia*' da yürüttükleri çalışmalarda embriyonik eksen, yaprakçık, yaprak sapı ve sap eksplantlarında 2-4 mg/l BAP ve 0.05, 0.1 ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamlarda benzer şekilde başarılı sonuçlar elde etmişlerdir.

Sitokinin benzeri etkiye sahip olan TDZ son yıllarda sürgün rejenerasyon çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Guo vd., 2011). TDZ'nin *in vitro* kültürde sürgün rejenerasyonunu teşvik ettiği farklı araştırıcılar tarafından bildirilmektedir (Erdoğan vd., 2005; Erişen vd., 2011; Yorgancılar ve Erişen 2011). Genel olarak çalışılan korunga türlerinde de TDZ içeren ortamlarda eksplant başına elde edilen sürgün sayısının fazla olduğu görülmektedir. En fazla eksplant başına sürgün sayısı tek başına TDZ içeren ortamlardan elde edilmiştir. Benzer şekilde Uzun (2012) korungada hipokotil eksplantında 1 mg/l TDZ ortamda en fazla eksplant başına sürgün sayısı elde etmiştir.

Doku kültürü çalışmalarında son 15-20 yıldır yeni bir doğal aromatik sitokinin kaynağı olarak *Populus* türlerinde belirlenen topolinler araştırılmaktadır (Strnad vd., 1997; Tarkowska vd., 2003; Aremu vd., 2012; Gentile vd. 2014). Meta-Topolin aspir ve *Prunus spp*. gibi birçok türde mikroçoğaltım ve sürgün rejenerasyonu çalışmalarında kullanılmaktadır (Gentile vd. 2014; Vijayakumar vd., 2017). *O. stenostachya, O. fallax, O. elata* ve *O. viciifolia* korunga türlerinde de 2 mg/L meta-Topolin içeren ortamlarda eksplant başına sırasıyla 5.86, 5.02, 4.00 ve 3.60 adet sürgün elde edilmiştir. Artan mT dozlarına bağlı olarak eksplant başına sürgün sayısında artış gözlenmiştir. Gentile vd. (2014) meta-Topolinin *Prunus* türlerinde sürgün çoğaltım oranı üzerine etkisi olmadığını ancak sürgün gelişimini ve kalitesini artırdığını ve dokulardaki vitrifikasyonu daha iyi kontrol ettiğini ifade etmektedirler.

Elde edilen sürgünler farklı oranlarda IBA içeren MSO besin ortamında köklendirilmiştir. Sonuçta *O. viciifolia*' da ortalama %86.11, *O. stenostachya*'da %50, *O. fallax* ve *O. elata*'da %36 köklenme oranı belirlenmiştir. En yüksek köklenme oranı *O. viciifolia'*dan elde edilmiştir. Ortamların türlerin köklenme oranı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Genotipin köklenme üzerine etkili olduğu Gomes vd. (2010) ve Cezar vd. (2015) tarafından da *Arbutus unedo* ve *Pinus taeda*'da da bildirilmektedir. Daha önce farklı araştırıcılar tarafından *O. viciifolia* ile yapılan çalışmalarda sürgünlerin 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında % 50-60 oranında köklendiği bildirilmektedir (Özcan vd., 1996 a; Özcan vd, 1996b; Sancak 1999; Garshasbi vd., 2012).

Sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde *O. stenostachya'da* BAP ve NAA içeren ortamlarda ortalama sürgün oluşturma oranı %98.21, *O. fallax'*da %94.64, *O. elata'*da 72.62 ve *O. viciifolia'*da %90.48 olarak belirlenmiştir. Eksplant başına en fazla sürgün sayısı *O. stenostachya, O. fallax, O. elata ve O. viciifolia'*da sırasıyla 4.64, 3.92, 3.36 ve 6.25 adet ile *O. stenostachya*'da 4 mg/L BAP, *O. fallax* ve *O. elata* 4 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA ve *O. viciifolia'*da 2 mg/L BAP içeren ortamlardan elde edilmiştir.

TDZ ve NAA içeren ortamlarda *O. stenostachya'da* ortalama sürgün oluşturma oranı %93.06, *O. fallax*'da %99.31, *O. elata*'da %56.95 ve *O. viciifolia'*da %90.97 olarak belirlenmiştir. Eksplant başına en fazla sürgün sayısı O. *stenostachya, O. fallax, O. elata* ve *O. viciifolia*'da sırasıyla 10.58, 9.50, 5.50 ve 6.42 adet ile 1.2 mg/L TDZ (*O. stenostachya, O. fallax, O. elata*) ve 0.3 mg/L TDZ içeren ortamlarda belirlenmiştir.

Meta-Topolin içeren ortamlarda ortalama sürgün oluşturma oranı *O. stenostachya, O. fallax, O. elat*a ve *O. viciifolia*'da sırasıyla %94.44, 92.59, 77.78 ve 96.30 olarak tespit edilmiştir. Eksplant başına en fazla sürgün sayısı ise *O. stenostachya, O. fallax, O. elata* ve *O. viciifolia'*da sırasıyla 5.86, 5.02, 4 ve 3.60 adet olarak 2 mg/L meta-Topolin uygulamasında tespit edilmiştir.

O. viciifolia' da %86.11, *O. stenostachya*'da %50, *O. fallax* ve *O. elata*'da %36 ortalama köklenme oranı elde edilmiş olup, sürgün başına en fazla kök sayısı ortalama 3.52 adet ile 2 mg/L IBA uygulamasından elde edilmiştir.

Türlere göre belirlenen rejenerasyon ve köklenme oranları farklı eksplant, büyümeyi düzenleyici tip ve dozu kullanılarak artırılabilir.

Elde edilen sonuçlar çalışılan korunga türlerinin çoğaltımında kullanılabileceği gibi bu türlerin biyotik ve abiyotik stres faktörlerine toleransının belirlenmesinde, *in vitro* seleksiyon ve gen aktarımı çalışmalarında da kullanılabilir.

KAYNAKÇA

Açıkgöz, E., 2001. Yem Bitkileri (3. Baskı). Uludağ Üniversitesi, Güçlendirme Vakfı Yayın No: 182, Bursa, 584 s.

Aktoklu, E., 1995. Türkiye'de Yetişen *Onobrychis* Miller (Fabaceae) türlerinin revizyonu. Doktora Tezi (basılmamış), İnönü Üniversitesi, Malatya.

Aktoklu, E., 2001. Two new varieties and a new record in *Onobrychis* from Turkey. **Turkish Journal of Botany, 25**: 359–363.

Aremu, A. O., Bairu, M. W., Doležal, K., Finnie, J. F., Van Staden, J.. 2012. Topolins: a panacea to plant tissue culture challenges?. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 108**(1): 1-16.

Avcı, S., Çöçü, S., Sancak, C., Özcan, S., 2010. Heliobrychis seksiyonuna ait bazı korunga (*Onobrychis* sp.) türleri üzerine morfolojik araştırmalar. **Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 19**(1-2): 11-16.

Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S., 2001. Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Basımevi, 71-88,

Cézar, T. M., Higa, A. R., Koehler, H. S., Ribas, L. L. F., 2015. Influence of culture medium, explant length and genotype on micropropagation of *Pinus taeda* L. **Ciencia Florestal, *25***(1), 13-22.

Çelik, A., Karakaya A., Avcı S., Sancak C., Özcan S., 2012. Korungada külleme hastalığına potansiyel dayanıklılık kaynakları (Potential resistance sources for powdery mildew disease of sainfoin). **Bitki Koruma Bülteni 52** (2): 153-162.

Çeliktaş, N., Can, E., Hatipoğlu, R., Avci, S., 2006. Somatic embryogenesis, callus production, and plantlet growth in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). **New Zealand Journal of Agricultural Research, 49**(4), 383-388.

Çöçü, S., Uranbey, S., & Sancak, C., 2003. Bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) Çeşitlerinde Olgunlaşmamış Embriyo Eksplantlarından Adventif Sürgün Rejenerasyonu. **Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi, 9**(4), 445-449.

Dadaşoğlu E, Tosun M., 2017. Bazı bitki hormonlarının korungada (*Onobrychis sativa* L.) *in vitro* özellikler üzerine etkisi. **Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 7**(3): 267-278

Davis, P.H., Mill, R.R., Kit, T., 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Edinburgh: Edinburgh University Press.

Demiroğlu Topçu, G., Özkan S., 2017, Türkiye ve Ege Bölgesi çayır-mera alanları ile yem bitkileri tarımına genel bir bakış. **Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 5** (1), Sayfa:21-28

Duman, H., Vural, M., 1990. New taxa from south Anatolia I. **Turkish Journal of Botany, 14**: 45–48.

Elçi, Ş., 2005. Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri. T. C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, s. 223-257, Ankara.

Erkovan, H. I., Gullap, M. K., Erkovan, S., Koc, A., 2016. Horned sainfoin (*Onobrychis Cornuta* (L.) Desv.): is it an amusing or nuisance plant for steppe rangelands. **Ecology & Safety, 10,** 1314-7234.

Erdoğan, Y., Çöçü, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Arslan, O., 2005. Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) bitkisinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu ve hızlı çoğaltım. **Tarım Bilimleri Dergisi, 11**(1), 60-64.

Erdoğan, Y., Çöçü, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Arslan, O., 2004. Bazı burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) kotiledon boğum eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. **Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 10**(2), 206-210.

Erişen, S., 2005. Yonca (*Medicago sativa* L.)'da somatik embriyogenesis aracılığıyla bitki rejenerasyonu. **Tarım Bilimleri Dergisi, 11** (3): 311-315.

Erişen, S., Atalay, E., Yorgancilar, M., 2011. The effect of thidiazuron on the *in vitro* shoot development of endemic *Astragalus cariensis* in Turkey. **Turkish Journal of Botany, 35**(5), 521-526.

Garshasbi, H., Omidi M., Torabi S., and Davodi D., 2012. The study of phytohormones and explants on callus induction and regeneration of sainfoin (*Onobrychis sativa*). **Pakistan Journal of Agricultural Science, 49**:319-322.

Gentile, A., Gutiérrez, M. J., Martinez, J., Frattarelli, A., Nota, P., Caboni, E., 2014. Effect of meta-Topolin on micropropagation and adventitious shoot regeneration in *Prunus* rootstocks. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 118**(3), 373-381.

Gomes, F., Simoes, M., Lopes, M. L., Canhoto, J. M., 2010. Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L.(strawberry tree). **New Biotechnology, 27**(6), 882-892.

Gu Z., 1987. Callus culture of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and plant regeneration through somatic embriyogenesis, **Annals of Botany, 60**:3 309-313

Hayot Carbonero C., Mueller-Harvey I., Brown TA., Smith L., 2011. Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*): a beneficial forage legume. **Plant Genetic Resources, 9**: 70–85.

Hedge, I.C.,1970. Flora of Turkey and The East Aegean İslands. In: Davis PH, editor. Flora of Turkey, Vol. 3: *Onobrychis*. Edinburgh: Edinburgh University Press, pp. 560–589

Hiroshi, N., Zhumeng, Y., 1993. Tissue culture of sainfoin. Proceeding of the XVII international grassland congres, 1044-1045.

Honarmand L., Zare N., Asghari R., Sheikhzade P., 2016. *In vitro* regeneration of sainfoin (*Onobrychis sativa*) via shoot apex explant. **Iranian Journal of Filed Crop Science, 47**(2): 315-328

İşler E., 2009. Farklı Aşılama Yöntemleri İle Bakteri (*Bradyrhizobium japonicum*) Aşılamasının Soyada Azot Fiksasyonuna Ve Tane Verimine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Isparta, 54 s.

Kamalvand, A., Karamian, R., 2013. Somatic embryogenesis and organogenesis studies in tissue culture of *Onobrychis altissima* Gross. **Asian Journal of Medical and Pharmaceutical Research, 3**(4), 115-119.

Karamian R., Ranjbar M., 2008. Plant regeneration from onobrychis subnitens bornm. Hypocotyl explants via somatic embryogenesis and organogenesis. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 50**: 13-18.

Kempf, K., Mora-Ortiz, M., Smith, L., Kölliker, R., Skøt, L., 2016. Characterization of novel SSR markers in diverse sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) germplasm. **BMC Genetics 17**(1):124

Mohajer, S., Mat Taha, R., Mohajer, M., Khorasani Esmaeili, A., 2014. Micropropagation of bioencapsulation and ultrastructural features of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) grown in vivo and *in vitro*. **The Scientific World Journal, 2014**. Doi: 10.1155/2014/680356.

Mohajer, S., Taha, R. M., Khorasani, A., Yaacob, J. S., 2012. Induction of different types of callus and somatic embryogenesis in various explants of Sainfoin (*Onobrychis sativa*). **Australian Journal of Crop Science, 6**(8), 1305-1313.

Murashige, T., & Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. **Physiologia plantarum, 15**(3), 473-497.

Okcu, M., Şengül, S., 2014. A study on the determination of the morphological, yield and quality characteristics of some sainfoin species (*onobrychis spp*.) native to East Anatolia. **Pakistan Journal Botany, 46**(5): 1837-1842.

Özcan, S., Yıldız, M., Sancak, C. and Özgen, M., 1996a. Adventitious shoot rejeneration in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). **Turkish Journal of Botany**, **20**:497-501.

Özcan, S., Sevimay, C. S., Yıldız, M., Sancak, C., Özgen, M., 1996b. Prolific shoot regeneration from immature embriyo explants of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.), **Plant Cell Report, 16**:200-203.

Özgen, M., Özcan, S., Sevimay, C. S., Sancak, C. and Yıldız, M., 1998. High frequency adventitious shoot rejeneration in sainfoin. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 52**: 205-208.

Saglam, S., 2010. Growth regulators effects on *in vitro* shoot regeneration of sainfoin (*Onobrychis sativa* Lam.). **Biotechnology & Biotechnological Equipment, 24**(4), 2077-2079.

Sancak, C., 1999. *In vitro* micropropagation of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.), **Turkish Journal of Botany 23**: 133-136.

Strnad, M., Hanus, J., Vanek, T., Kaminek, M., Ballantine, J., Fussell, B., Hanke, D. 1997 Meta-Topolin, a highly active aromatic cytokinin from poplar leaves (*Populus canadensis* Moench, cv. Robusta). **Phytochemistry, 45**: 213-218.

Tamas, E. and Savatti, M., 2006. Micropropagation *in vitro* a sparcetei (*Onobrychis viciifolia* Scop.) **Agricultura - StiinNa si practica nr. 1-2**:57-58.

Tarkowská, D., Doležal, K., Tarkowski, P., Åstot, C., Holub, J., Fuksová, K., Strnad, M., 2003. Identification of new aromatic cytokinins in *Arabidopsis thaliana* and *Populus canadensis* leaves by LC-(+) ESI-MS and capillary liquid chromatography/frit–fast atom bombardment mass spectrometry. **Physiologia Plantarum, 117**(4), 579-590.

Turgut M., 2014. Korunga (*Onobrychis sativa* L.)'da Farklı TDZ (Thidiazuron) Uygulamalarının *In Vitro* Sürgün Rejenerasyonuna Etkisi. Ankara Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, s 42

Uzun S., 2012. Korunganın (*Onobrychis viciifolia* Scop.) hipokotil ve kotiledon eksplantlarından adventif sürgün rejenerastonu. **Türk Doğa ve Fen Dergisi, 1:** 126-130.

Vijayakumar, J., Ponmanickam, P., Samuel, P., Sudarmani, D. N. P., Pandiarajan, J., 2017. Influence of meta-topolin on efficient plant regeneration via micropropagation and organogenesis of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cv. NARI-H-15. **American Journal of Plant Sciences, 8**(04), 688.

Yıldırımlı, Ş., 2004. A new species and subspecies of Onobrychis, O. *cigdemae* and *O. cigdemae subsp. gorkemii* (Fabaceae) from Şırnak, Turkey. **Ot Sistematik Botanik Dergisi, 11**: 1–10.

Yıldız B., Çıplak B. and Aktoklu E., 1999. Fruit morphology of section of the genus Onobrychis Miller (Fabaceae) and its phylogenetic implications. **Israel Journal pf Plant Science, 47:** 269-282.

Yıldız, M. and Ekiz H., 2014. The effect of sodium hypochlorite solutions on ın vitro seedling growth and regeneration capacity of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) hypocotyl explants. **Canadian Journal of Plant science, 94**(7): 1161-1164.

Yorgancilar, M., & Erisen, S. (2011). The effect of thidiazuron (TDZ) on shoot regeneration of Astragalus schizopterus. **Journal of Animal and Plant Sciences, 21**(3), 519-524.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Duran YÜKSELGÜNGÖR

Uyruğu: Türkiye (T.C)

Doğum Tarihi ve Yeri: 08.04.1982 - KAYSERİ

Medeni Durum: Bekâr

e-mail: genetic10@hotmail.com

Yazışma Adresi: Selçuklu mah. Çanak sok. Yılmaz Güngör Ap. No:1 Kat:4 Melikgazi /KAYSERİ

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi, Tarla Bitkileri	Devam ediyor
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	2006
Lise	Kayseri Lisesi, Kayseri	2000

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2014-Halen	Milli Eğitim Bakanlığı	Öğretmen

YABANCI DİL

İngilizce