



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇİLEK ÜÇGÜLÜ (*Trifolium fragiferum* L.) BİTKİSİNİN BAZI
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ, SOMATİK
KROMOZOM SAYILARININ TESPİTİ VE *İN VİTRO* KÜLTÜR
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

BUSE TAGAY

**TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**HATAY
OCAK-2016**



T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇİLEK ÜÇGÜLÜ (*Trifolium fragiferum* L.) BİTKİSİNİN BAZI
MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ, SOMATİK
KROMOZOM SAYILARININ TESPİTİ VE *İN VİTRO* KÜLTÜR
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

BUSE TAGAY

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
OCAK-2016**

T.C.
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇİLEK ÜÇGÜLÜ (*Trifolium fragiferum* L.) BİTKİSİNİN BAZI MORFOLOJİK
ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ, SOMATİK KROMOZOM
SAYILARININ TESPİTİ ve *İN VİTRO* KÜLTÜR OLANAKLARININ
ARAŞTIRILMASI**

BUSE TAGAY

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ersin CAN danışmanlığında hazırlanan bu tez **26/01/2016** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ersin CAN
Başkan

Prof. Dr. Nafiz ÇELİKTAŞ
Üye

Prof. Dr. Gülşen SERTKAYA
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Okan ŞENER
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

26.01.2016

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını ve tez üzerinde Yükseköğretim Kurulu tarafından hiçbir değişiklik yapılamayacağı için tezin bilgisayar ekranında görüntülendiğinde asıl nüsha ile aynı olması sorumluluğunun tarafıma ait olduğunu beyan ederim.

Buse TAGAY

ÖZET

ÇİLEK ÜÇGÜLÜ (*Trifolium fragiferum* L.) BİTKİSİNİN BAZI MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ, SOMATİK KROMOZOM SAYILARININ TESPİTİ VE *İN VİTRO* KÜLTÜR OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Bu araştırma, Hatay bölgesi doğal meralarında yaygın olarak bulunan çilek üçgülü'nün somatik kromozom sayıları, morfolojik ve *In Vitro* kültür özelliklerinin saptanması amacıyla yapılmıştır.

Araştırma sonuçları, incelenen ekotiplerin $2n=2x=16$ kromozomlu olduğunu göstermiştir.

Morfolojik araştırma sonuçları, morfolojik özellikler açısından önemli varyasyon olduğunu ortaya koymuştur.

Araştırma sonuçları, sürgün oluşum oranı ve rejenerasyon oranının 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur.

In vitro kültürde sürgün ucu ve nod olarak kullanılan eksplantatların sürgün oluşum oranı 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak % 43 ile % 52.5, rejenerasyon oranı (rejenerant/petri) 1.1 ile 4.0 arasında değiştiğini göstermiştir. Sürgün oluşum oranı ve rejenerasyon oranı eksplantat ve 2,4-D konsantrasyonlarından önemli derecede etkilenmiştir.

En yüksek sürgün oluşum oranı ve rejenerasyon oranı sürgün ucu eksplantatından ve MS besi ortamında, 2 mg L^{-1} 2,4-D konsantrasyonunda gerçekleşmiştir.

2016, 47 sayfa

Anahtar Kelimeler: Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.), Kromozom, Morfolojik özellikler, *In Vitro* kültürü, Sürgün ucu-nod

ABSTRACT

INVESTIGATIONS ON DETERMINATION OF SOME MORPHOLOGICAL FEATURES, SOMATIC CHROMOSOME NUMBERS AND IN VITRO REGENERATION CAPABILITIES OF STRAWBERRY CLOVER (*Trifolium fragiferum* L.) DOMINATED IN NATURAL RANGELANDS OF ÇUKUROVA REGIONS

This study was conducted to determine the number of somatic chromosomes, morphological features and *In Vitro* culture capabilities of strawberry clover dominated in naturel rangelands of Hatay region.

The results showed that ecotypes had $2n=2x=16$ chromosomes.

The results of the morphological studies showed that there were significant variations in terms of morphological features.

The results of the study showed that shoot induction rate and regenerate number per dish were significantly influenced by 2,4-D concentrations.

Depending on the 2,4-D concentrations, shoot induction rate, and regenerate number per petri varied from 43% and %52.5, 1.1-4.0 regenerate, respectively.

The shoot induction rate regenerate rate were significantly influenced by the explants and concentrations of 2,4-D.

The highest frequency of shoot induction rate and regenerate rate were recorded from shoot explants on MS medium containing 2 mg L^{-1} 2,4-D concentrations.

2016, 47 pages

Key Words: Strawberry clover (*Trifolium fragiferum* L.), Chromosome, Morphological features, *In Vitro*, Shoot-node

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında yardımını esirgemeyen ve tez çalışmam süresince bana yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ersin CAN'a en içten duylarımla teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım esnasında desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Nafiz ÇELİKTAŞ'a candan teşekkür ederim.

Maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan Canım Babam Süleyman Mahmut TAGAY ve Annem Fetiye TAGAY'a; Sevgili Kardeşlerim Mustafa ve Ela Eren TAGAY'a; Birtanecik Halam Anış Gülgün TAGAY ve Amcam Ali Nuri TAGAY'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca her zaman yanımda olarak desteğini esirgemeyen değerli arkadaşım Nazan Özcan'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal	14
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Sitolojik Araştırmalarda Kullanılan Yöntemler	14
3.2.1.1. Sitolojik Araştırmalarda Kullanılan Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi.....	14
3.2.1.2. Sitolojik Araştırmalar İçin Kök Ucu Örneklerinin Alınması, Preparatların Hazırlanması ve Kromozom Sayımlarının Yapılması	15
3.2.2. <i>İn Vitro</i> Kültür Araştırmalarında Kullanılan Yöntemler.....	17
3.2.2.1. <i>İn Vitro</i> Kültür Araştırmalarında Kullanılan Donor Bitkilerin yetiştirilmesi	17
3.2.2.2. <i>İn Vitro</i> Araştırmalarında Ele Alınan Varyantlar ve Deneme Planı	17
3.2.2.3. Kullanılan Besi Ortamının Hazırlanması	18
3.2.2.3.1. Makro ve Mikro Elementlerin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması.....	18
3.2.2.3.2. Jelat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve Na_2EDTA) Hazırlanması.....	19
3.2.2.3.3. Vitamin ve Oksin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması	20
3.2.2.3.4. Stok Solüsyonlardan Yararlanarak Besi Ortamının Hazırlanması.....	20
3.2.2.4. Ekplantatların Sterilizasyonu ve Kültüre Alınmaları.....	21
3.2.2.5. Sürgün İndüksiyonu	21
3.2.2.6. Bitki Rejenerasyonu.....	21
3.2.2.7. Rejeneratların geliştirilmesi	22
3.2.3. Morfolojik Araştırmalarda Kullanılan Yöntemler	22
3.2.3.1. Yaprak.....	22
3.2.3.1. Çiçek	23
3.2.4. Araştırmada Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	25
4.1. Sitolojik Araştırma Bulguları.....	25
4.2. Morfolojik Araştırma Bulguları	25
4.2.1. Çiçeklenme öncesi araştırma bulguları	25
4.2.1.1. Yaprak.....	25
4.2.2. Çiçeklenme Sonrası Araştırma Bulguları.....	28
4.2.2.1. Yaprak.....	28

4.2.2.2. Kömeç	30
4.2.2.3. Meyvedeki Tohum Sayısı	31
4.2.2.4. Bitki Boyu ve Kök Uzunluğu.....	32
4.3. <i>İn Vitro</i> Kültür Araştırma Bulguları.....	33
4.3.1. Sürgün İndüksiyon Oranı	35
4.3.1.1. 2,4-D Konsantrasyonların Sürgün Oluşumuna Etkisi.....	35
4.3.1.2. Konsantrasyon x Eksplantatın Sürgün Oluşumuna Etkisi	36
4.3.2. Rejenerasyon Oranı.....	37
4.3.2.1. Eksplantatın Etkisi	37
4.3.2.2. 2,4-D konsantrasyonların Rejenerasyon Oranına Etkisi	38
4.3.2.2. Konsantrasyon x Eksplantatın Rejenerasyon Oranına Etkisi.....	39
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Kullanılan MS besi ortamlarının bileşimi	19
Çizelge 4.1.	Çiçeklenme öncesi incelenen yaprak özellikleri	26
Çizelge 4.2.	Çiçeklenme sonrası incelenen yaprak özellikleri	29
Çizelge 4.3.	Çiçeklenme sonrası incelenen özellikler	30
Çizelge 4.4.	Farklı çilek üçgülü eksplantlarının, farklı 2,4-D konsantrasyonlarının sürgün oluşumuna etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları.....	35
Çizelge 4.5.	Oksin konsantrasyonlarının ortalama sürgün oluşum oranına (%) etkisi	36
Çizelge 4.6.	Farklı konsantrasyonların farklı eksplantlarda ortalama sürgün oluşum oranına (%) etkisi	36
Çizelge 4.7.	Farklı çilek üçgülü eksplantlarının, farklı 2,4-D konsantrasyonlarının rejenerasyon oranına etkisi ile varyans analiz sonuçları	37
Çizelge 4.8.	Farklı eksplantatların ortalama rejenerasyon oranına (Rejenerat/petri) etkisi	38
Çizelge 4.9.	Oksin konsantrasyonlarının ortalama rejenerasyon oranına (Rejenerat/petri) etkisi.....	38
Çizelge 4.10.	Farklı konsantrasyonların farklı eksplantatlarda ortalama rejenerasyon oranına (Rejenerat/petri) etkisi	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Çilek üçgülü bitkisinin yetiştirilmesi	14
Şekil 3.2. Çilek üçgülü bitkisinin <i>İn Vitro</i> kültürde yetiştirilmesi	18
Şekil 3.3. Çilek üçgülü bitkisinde yaprak ölçümleri	22
Şekil 3.4. Çilek üçgülü bitkisinde çiçek ölçümleri.....	23
Şekil 4.1. $2n=2x=16$ kromozomlu çilek üçgülü ekotipinde mitoz kromozomları.....	25
Şekil 4.2. Çenek yapraklar uzunluk ve genişlik dağılımı	26
Şekil 4.3. Tekli yapraklar uzunluk ve genişlik dağılımı	27
Şekil 4.4. İlk üç yaprağın bir yan yaprakçıkta uzunluk ve genişlik dağılımı	27
Şekil 4.5. İlk üç yaprağın orta yaprakçığında uzunluk ve genişlik dağılımı	28
Şekil 4.6. Üst orta yaprakçığında uzunluk ve genişlik dağılımı	29
Şekil 4.7. Taç yaprakçığında uzunluk genişlik dağılımı	29
Şekil 4.8. Kömeç çapı uzunluk ölçümü dağılımı	30
Şekil 4.9. Kömeçteki çiçek sayısı dağılımı	31
Şekil 4.10. Meyve tohum sayısı dağılımı	31
Şekil 4.11. Bitki boyu dağılımı	32
Şekil 4.12. Kök uzunluğu dağılımı	32
Şekil 4.13. Kültür başlangıcından üç hafta sonra sürgün ucu ekplantatında oluşan sürgün	33
Şekil 4.14. Kültür başlangıcından üç hafta sonra nod ekplantatında oluşan sürgün Kök uzunluğu dağılımı	33
Şekil 4.15. Kültür başlangıcından beş hafta sonra sürgün ucu-nod ekplantatlarında oluşan sürgünler	34
Şekil 4.16. Kültür başlangıcından sekiz hafta sonra gelişme ortamına aktarılan Bitkicikler.....	34

1. GİRİŞ

Yeryüzünde var olan ve bilinen tüm doğal kaynaklar, insanlar ve ulusların yaşama ve var oluşları ile yakından ilgili çok değerli hazineleri oluştururlar (Tükel, 1992).

Çağdaş düzeyde yeterli ve dengeli beslenmemizin temeli olması gereken hayvansal gıda maddeleri üretimimize ilişkin sorunlar esas olarak ülke hayvancılığının karşı karşıya kaldığı sorunlardan kaynaklanmaktadır. Ülkemiz hayvancılığının en önemli sorunlarından birisini yem üretimi sorunu oluşturmaktadır. Doğal çayır meralarımız ve yem bitkileri yetiştiriciliği hayvan yemi üretim kaynakları içinde çok önemli yer tutmasına rağmen, özellikle çayır meralarımız yıllardan beri süregelen bilinçsiz bir kullanım sonucu bozulmuş ve verimsiz alanlar haline gelmişlerdir. Bugün Türkiye mera alanı 14,6 milyon ha (TUİK, 2014), Türkiye’de toplam ekilen tarım arazisi içerisinde yem bitkileri ekim alanı %9,5 payla 1,6 milyon ha civarındadır (Kuşvuran ve ark., 2011). Doğal çayır-meralarımızın bugünkü genel durumunu yansıtan bu görünüm, bitki büyüme ve gelişmesi açısından ekolojik koşulların en uygun olduğu bölgelerimizden birisi olan Çukurova Bölge’sinde yer alan meralar için de farklılık göstermemektedir. Ancak ülke genelinde olduğu gibi bölgedeki meralarda da yıllardan beri süren zamansız ve aşırı otlatma bugün bu bitkilerin mera üzerinde yalnızca hayvanların ulaşamadığı yerlerde kalmasına ve sonuç olarak ta bu alanların tamamen çalı ile kaplı ve hatta çalılarında tahrip edilmesi ile taşlık, kayalık verimsiz alanlar haline gelmesine neden olmuştur. Ülkemiz çayır-meralarının içinde bulunduğu bu durum, sadece hayvancılığımızı değil aynı zamanda toprak ve su kaynaklarımızın da olumsuz yönde etkileyerek bu ülkemizin en önemli sorunlarından birisi olan erozyon sorununu da beraberinde getirmektedir. Ülkemizdeki bu sorununun çözümlenebilmesi için, en önemli yenilenebilir doğal kaynaklarımız olan çayır-meralarımızın uygun ıslah yöntemleri ile ıslah edilerek yeniden bol ve kaliteli yem üretir duruma getirilmeleri gerekmektedir.

Bugüne kadar ülkemiz meraları üzerinde sürdürülen mera ıslahı araştırmalarında dinlendirme veya gübreleme ile kısa sürede sonuç verecek yöntemlerin başarılı olmadığı (Altın, 1975; Alınoğlu, 1984; Alınoğlu ve Mülâyim,

1984; Tükel ve Hatipoğlu, 1987), buna karşılık topoğrafik ve toprak özellikleri toprak işlemeye elverişli olan meralarda doğal mera örtüsünün sürülerek yerine bölgenin ekolojik koşullarına uyum göstermiş bitkilerden oluşan yembitkileri karışımlarının ekilmesi yönteminin başarılı olduğu ortaya çıkmıştır (Tosun ve ark., 1975).

Ancak bu tip meraların ıslah çalışmalarında yapılacak ıslah işleminin başarısını vejetasyonunun zenginleştirilmesinde kullanılan yembitkileri önemli ölçüde etkilemektedir. Her şeyden önce bu türlerin ıslah işleminin sürdürüldüğü bölgenin ekolojik koşullarına çok iyi adapte olmuş, mevcut mera koşullarında bol ve kaliteli yem üretecek türler olması gerekmektedir. Diğer taraftan, ülkemizde yeniden tohumlama yöntemi ile mera ıslahı işlemine girişebilmek için öncelikle halen tarım alanlarının yalnızca %9'nu kaplayan tarla yembitkileri yetiştiriciliğinin genişletilmesi gerekir. Aksi halde yapılacak mera ıslahı çalışmalarının ülkemiz meralarının sorunlarına çözüm getirmesi imkânsızdır.

Yukarıda belirtilen yeniden tohumlama yöntemi ile mera ıslahı ve tarla yem bitkileri yetiştirme alanlarının genişletilebilmesi için muhtelif ekolojik bölgelerimiz için adapte olduğu saptanmış bol ve kaliteli yem üreten yembitkisi tür ve çeşitlerinin yeterli miktarlarda tohumlarının üretilmesi gerekmektedir. Ülkemizde yıllardır sürdürülen yembitkisi araştırmalarına rağmen, ekolojik koşullar açısından büyük farklılıklar gösteren bölgelerimizin her biri için adapte olduğu saptanmış yembitkisi türleri ve bunların tohumlarını bulmak oldukça güçtür. Bu nedenle, öncelikle muhtelif ekolojik bölgelerimizde mera ıslahı ve tarla yembitkileri yetiştirilicliğinde kullanılabilecek yembitkisi tür ve çeşitlerinin ortaya konması ve bunların yeterli miktarda tohumlarının üretilmesi gerekmektedir.

Ülkemizin değişik bölgeleri için uygun yembitkisi tür ve çeşitlerinin ortaya konulmasında, doğal vejetasyonda bulunan yabani türler, mevcut çeşitler ve dış kaynaklı materyalden yararlanmak mümkündür. Birçok yembitkisinin anavatanı olan ülkemiz, yembitkisi ıslahında kullanılabilecek yabani yembitkisi popülasyonları açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Yüksek verimli yembitkisi popülasyonlarından yararlanma, bu bitkilerin söz konusu bölgenin ekolojik koşullarına çok iyi adapte olması nedeni ile çok iyi bir avantaj sağlar.

Bölgemizde yembitkisi ıslahında kullanılabilecek bitkilerden birisini de, çilek

üçgülü oluşturmaktadır. Uzun süre su altında kalan alanlarda su çekilince gelişmesine devam eden bir bitkidir. (Elçi ve Açıkgöz, 1993). Çilek üçgülü tuzlu ve alkali topraklar için çok elverişli olup, bozuk drenajlı, sulanan bölgelerde ve su baskını olan yerlerde yüksek adaptasyon yeteneği bakımından son derece önemli bir bitkidir (Gençkan, 1983). Ayrıca, çilek üçgülü başta çayır meralar olmak üzere ot ve silaj karışımlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Petrova ve Kozuharov, 1982). Doğal vejetasyonlarda bulunan yabancı yembikisi populasyonlarının çayır-mera tesisi veya tarla yembitkisi olarak kullanılabilmesi için üzerinde ıslah işlemleri yapılarak uygun olan bireylerin seçilmesi gerekir. Ancak bu bitkilerin karmaşık sitolojileri, bu bitkiler hakkında bilgilerin yetersizliği ve karmaşık yetiştirme yöntemleri nedenleriyle bu bitkiler üzerinde ıslah işlemlerinin sürdürülmesi oldukça güç ve zaman alıcıdır. Özellikle yabancı türlerin ıslah programlarında kullanılmasında bunların sitolojik özelliklerinin bilinmesi büyük bir öneme sahiptir (Mc William, 1964). Kromozom sayısı, genom derecesi, mayotik özellikler ve üreme biyolojisi ıslah programlarını doğrudan etkileyen faktörlerdir (Hatipoğlu ve ark., 1992). Doğal vejetasyonda bulunan yabancı yembitkisi populasyonlarının mera ıslahı ve tarla yembitkisi yetiştiriciliğinde kullanılabilmesi ve ıslah işlemlerinin sürdürülebilmesi için sitolojik özelliklerinin saptanması gerekir.

Son yıllarda bu bitkilerde *in vitro* kültür tekniklerinin uygulanması ile ıslah sürecinin kısaltılabilmesi için uluslararası alanda büyük çabalar harcanmaktadır. Ancak, bir türün farklı genotipleri *in vitro* kültürde farklı sonuçlar vermekte, bir genotip için uygun olduğu saptanan kültür koşulları diğer bir genotipte aynı derecede başarılı olamamaktadır (Dale, 1980; Brettel ve ark. 1980; Dale ve Dalton, 1983, Hatipoğlu, 1991).

Bu araştırmada, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Selam Çiftliği içerisindeki doğal alanlardan toplanan çilek üçgülü tohumları materyal olarak kullanılmıştır. Tohumlardan çimlenen bitkilerin bazı morfolojik özelliklerin saptanması, somatik kromozom sayılarının tespiti ve *in vitro* kültürde eksplantat olarak kullanılma olanaklarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Myer (1945), bezelye ve diğer bazı bitkilerin kök uçlarını % 10 HCl de 10-30 dakika, 60 °C' da hidroliz etmiştir.

O' Mara (1948), da alfa-monobromonaftalin ve alfa-monobromobenzeni ilk işlem için kullanmış ve bu kimyasal maddelerin paradiklorobenzen ve asetonaftenden daha kolay bir şekilde kullanıldıklarını ortaya koymuştur. Araştırmacı bu maddelerin kromozomların kısalması ve düzleşmesi suretiyle onların emniyetle sayımına ve büyüklüklerinin mukayesesine imkan vermek bakımından en az diğer maddeler kadar etkili olduğunu tesbit etmiştir. Yine, alfa-monobromonaftalin'in paradiklorobenzen ve asetonafte'nden daha kolay bir şekilde kullanıldığını ve iğ ipliklerinin oluşumunu durdurduğunu, kromozomların kısalmasına ve düzelmesine etki ettiğini bildiriyor.

Sass (1951), asetokarmin ile kromozomların boyama tekniğini, asetokarmin hazırlanması usulünü bildirmekte ve kromozom sayımı ile metafaz kromozomlarının morfolojilerini tesbit etmede kök uçlarından preparat hazırlanması konusunda bilgiler vermiştir.

Lesins ve Lesins (1972), kromozom morfolojilerini, temelde mitotik dokular üzerinde incelemişlerdir.

Chen ve ark. (1982), domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) bitkisinin genç salkımları ile sürdürdükleri araştırmalarda, genç salkımlardan doğrudan sürgün oluşumunun ortaya çıktığını, ortamdaki 2,4-D konsantrasyonları arttıkça sürgün oluşumu yanında çiçek sapı salkım ekseninden kallus oluşumunun ortaya çıktığını, genellikle düşük 2,4-D konsantrasyonlarında kallustan çok, doğrudan sürgün oluşumunun gözlemlendiğini, kallustan bitki rejenerasyonunun gerçekleşmediğini bildirmektedirler.

Conger ve ark. (1983), domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) bitkisinin genç yaprak segmentlerini SH (Schenk ve Hildebrand) ortamında kültüre alarak yaprak segmentlerinden herhangi bir kallus oluşumu olmaksızın doğrudan embriyoid oluşumu ve bu embriyoidlerden bitki rejenerasyonunu gerçekleştirmişlerdir.

Gençkan (1983), çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.), üçgül benzerleri oymağı (*Trifolieae*)'ndan olup, Üçgül (*Trifolium* L.), cinsinin *Trifolium* altcinsinden bir türü teşkil ettiğini, çok yıllık nadiren iki yıllık bir bitki olduğunu, ana kök, kuvvetli

ve dayanıklı olup, taca yakın köklere sahip ve eğik durumlu olduğunu, sap, 20-40 cm kadar uzunlukta, yatık ve sürünücü olup, çok dallanmakta ve çim teşkil ettiğini belirtmektedir. Ayrıca, sap stolonlar oluşturarak, kökler saldıgını ve sürgünler verdiğini, Çilek üçgülü bitkisinin ılıman bölgelerin bir bitkisi olduğunu, buna karşılık sıcak ve hatta oldukça kurak bölgelere de uyabildiğini, ancak serin, nemli ve yayla iklimi olan yörelerde yoğun bir gelişme gösterdiğini, kışa dayanımının oldukça yüksek olduğunu bildirmektedir. Nemli tuzlu ve alkali topraklar için çok elverişli olduğunu, bozuk drenajlı, sulanan bölgelerde ve bu gibi topraklarda sık sık ortaya çıktığı yerler için çilek üçgülü'nün çok önemli bir bitki olduğunu, su baskınlarına iki aya kadar dayanabildiğini belirtmektedir.

Thomas ve Scott (1985), arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisinin genç başaklarının *in vitro* kültüründe; besi ortamındaki 2,4-D konsantrasyonun 10 µM kadar artırıldığında kallus oluşturma oranının da artış gösterdiğini, daha yüksek konsantrasyonlarda kallus oluşturma oranının azaldığını saptamışlardır.

Pederson (1986), 4 farklı üçgül türünde steril hipokotil segmentlerini değişik besi ortamı kombinasyonlarında kültüre alındığını, türlerin kallus oluşum oranlarının değişik ortam kombinasyonlarında oldukça farklı olduğunu, sadece iki türe ait segmentler somatik embriyolar oluştururken, olgun bitkilerin *Trifolium incarnatum* türünde elde edilebildiğini ve rejeneratların normal kromozom sayılı olduklarını bildirmiştir.

Wernice ve ark. (1986), 2,4-D gibi auxinlerin yüksek dozlarda uygulandıklarında mevcut meristem hücrelerinin bölünmesini engellediğini bildirmektedirler.

Less (1988), *in vitro* koşullarda çimlendirdiği korunga (*Onobrychis viciifolia*) fidelerinden kotiledon eksplantlarını izole ederek, 2,4-D içeren mB5 ortamında kültür ettiğini ve oluşan kallusları 21. gün sonunda farklı konsantrasyonlarda BAP bitki büyüme düzenleyicisi ile muamele ettiğini, artan konsantrasyonlarla birlikte kalluslarda tanin içeriğinde de bir artış olduğunu tespit etmiştir.

Jia ve ark. (1989), korunga protoplastlarının oluşturduğu kalluslardan BA, NAA veya IAA içeren MS ortamında çok sayıda sürgün oluştuğunu bildirmektedirler.

Pupilli ve ark.(1989), kontrollü koşullarda ve kompost toprakta yetiştirdikleri 3-5 aylık korunga fidelerinin son boğumlarından alınan petiol ve yapraklardan farklı besi

ortamı ve bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonlarında kallus indüksiyonu gerçekleştirdiklerini, her iki haftada bir kallusları alt kültüre aldıklarını ve 3 aylık kalluslarda protoplast izolasyonu gerçekleştirdiklerini, en yüksek bitki rejenerasyonunun 2-İP veya 6-BAP bitki büyüme düzenleyicisi ilave edilmiş MS ortamında sağlandığını, 1 mg/L 2-İP ve 200 mg/L myo-inositol ve 0.5 mg/L thiamin kombinasyonunun bitki rejenerasyonu açısından en iyi sonucu oluşturduğunu saptamışlardır.

Barakat (1990), iskenderiye üçgülü (*Trifolium alexandrinum* L.)'nün farklı çeşitlerine ait tohumlarını yüzey sterilizasyonu sonrasında MS besisi ortamına ektiğini, 7 günlük fidelerden kotiledon ve hipokotil segmentlerini ve 4 günlük sürgünlerden kök uçlarını izole ederek farklı bitki büyüme düzenleyicisi kombinasyonlarına sahip MS besisi ortamında kültür ettiğini, 2 mg/L NAA ve 0.5 mg/L BAP bitki büyüme düzenleyicisi kombinasyonunda farklı eksplantlarda gevrek kırılğan yapıllı kallusların indüksiyonunun gerçekleştiğini ve daha sonra bunlar üzerinde yeşil nodülasyonların oluştuğunu, bunların iki kez alt kültür edilmeleri sonrasında sadece hipokotil segmentlerinden elde edilen kalluslarda sürgün oluşumlarının başladığını saptamıştır.

Hatipoğlu (1991), buğdaygil yembitkileri ıslahında biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılabilmesi için öncelikle incelenen buğdaygil türü için entansif bir explantat-kallus -rejenerasyon sisteminin ortaya konulması gerektiğini bildirmektedir.

Özcan ve ark. (1992), bezelye (*Pisum sativum* L.)'de olgunlaşmamış kotiledonların farklı bölgelerini eksplant olarak kullandıklarını ve 0,5 mg/L BAP ve 4 mg/L NAA içeren MS besisi ortamında kültür ettiklerini, kallus oluşumu sonrasında sürgün oluşumunun başladığını, kotiledonların embriyonik uç kısımları ile, bu kısmı ve hemen altındaki kotiledon bölgesini içeren eksplantların en fazla sürgün oluşturduğunu, embriyonik ucun alınmaması durumunda sürgün oluşumunun gerçekleşmediğini, ortama ilave edilen gümüş nitrat (AgNO₃)'ın sürgün sayısında değil, fakat sürgün kalitesinde etkili olduğunu, rejenere olan sürgünlerin 1 mg/L IBA içeren ½ MS ortamında %80-90 oranında köklendiklerini saptamışlardır.

Özcan ve ark. (1993), bezelye (*Pisum sativum*)'de olgunlaşmamış kotiledon eksplantlarından bitki rejenerasyonu ve somatik embriyogenesis gerçekleştirmenin hızlı bir yöntemini tarif ettikleri çalışmalarında, kotiledon boyutları ve ortama yerleştirilme şekillerinin direk rejenerasyonda oldukça önemli olduğunu, en yüksek bitki

rejenerasyonunun 7-8 mm boyutundaki yeşil kotiledonların kesim bölgelerinden besi ortamına yerleştirilmeleri durumunda sağlandığını ve elde edilen sürgünlerin %80-90 oranında köklendiğini, somatik embriyoların modifiye edilmiş MS ortamında, 27-215 μM α -naftalasetik asit ve 23-181 μM oranlarında 2,4-D ilavesi ile gerçekleştiğini, ancak en yüksek ve normal morfolojili somatik embriyo frekansının α -naftalasetik asit kullanılması ile gerçekleştiğini saptamışlardır.

Özcan (1995), sera koşullarında ve saksı içerisinde yetiştirdiği iki bezelye (*Pisum sativum* L.) çeşidine ait bitkilerden, döllenmenin 15. gününde hasat ettiği baklaları yüzey sterilizasyonu sonrasında açıp, olgunlaşmamış tohumlardan embriyoları izole ettiğini, 2/3 oranında kestiği kotiledon parçalarını farklı konsantrasyonlardaki MS besi ortamında kültür ettiğini, 4 mg/L BAP ve 0.02 mg/L NAA kombinasyonu ile hazırlanmış olan ortamda her iki genotipte de yüksek oranda sürgün oluştuğunu ve oluşan sürgünleri 1 mg/L IBA içeren MS ortamında köklendirerek fertil bitkiler elde ettiğini bildirmiştir.

Özcan ve ark. (1996), korunga (*Onobrychis viciifolia*)’da döllenmeden yaklaşık 15 gün sonra hasat edilen tohumlardan olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo parçalarını MS besi ortamında kültüre aldıklarını ve farklı konsantrasyonlardaki BAP ve NAA’nın direk sürgün oluşumuna yol açtığını, en yüksek sürgün oluşumunun 0.5 mg/L BAP ve 2 mg/L NAA içeren ortamda öncelikle bir kallus aşaması sonrasında oluştuğunu, olgunlaşmamış embriyo parçalarının, kotiledon eksplantlarına oranla daha yüksek sürgün oluşturma kapasitesine sahip olduğunu, rejenere olan sürgünlerin 1 mg/L IBA (%54) veya 1 mg/L NAA(%60) içeren $\frac{1}{2}$ MS ortamına aktarılarak köklendirildiklerini, IBA içeren ortamda köklenme direk oluşurken, NAA içeren ortamda köklenmenin bir kallus fazı sonrasında gerçekleştiğini saptamışlardır.

Karadağ (1994), Sürdürdüğü araştırmada, Çukurova Bölgesi doğal vejetasyonlarında yaygın olarak bulunan üç tekyıllık yonca türünün (*Medicago scutellata*, *Medicago orbicularis* ve *Medicago polymorpha*) *Medicago scutellata*’da somatik kromozom sayısının $2n=30$, *Medicago orbicularis*’de $2n=16$ ve *Medicago polymorpha* türünde ise $2n=14$ olduğunu göstermiştir. İncelenen bu türler içerisinde *Medicago scutellata*’nın 1. ve *Medicago polymorpha*’nın 2. kromozomlarında Sat-kromozomlara ve ikincil yapılara (secondary constriction) rastlandığını, morfolojik araştırma sonuçları, incelenen türlerin özellikle tarımsal olarak önem taşıyan morfolojik

özelikler açısından büyük varyasyon gösterdiğini ortaya koyduğunu, incelenen türlerden *M. scutellata* türünün tohumlarının yüksek oranda çimlenme gösterdiği, diğer iki türde ise yüksek oranda sert tohumluluğa rastlandığını saptamıştır.

Özgen ve ark. (1997), *in vitro* koşullarda çimlendirdikleri farklı yonca çeşitlerinden sürgün uçlarını izole ederek, farklı konsantrasyonlarda BAP ve NAA büyüme düzenleyicileri ilave edilmiş MS ortamında kütür ettiklerini, en yüksek sürgün oluşumunun 2 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA kombinasyonunda sağlanırken, en yüksek köklenme oranının 2 mg/L IBA içeren MS ortamında elde edildiğini, rejeneratlara ait kök uçlarında yapılan kromozom sayımlarında orijinal bitkilerden sapmalar gözlenmediğini bildirmişlerdir.

Pilarska ve ark. (1997), yaptıkları çalışmada, zigotik embriyo safhasında (Cotyledonary-stage zygotic embryo) olgunlaşmamış kotiledonların düzenleyici olmayan ve embriyo genetiğinde *Trifolium nigrescens* (somatik embriyogenesis receptor-kinaz benzeri) den somatik embriyogenez reseptör benzeri kinaz geninin ortologunun sentezleme modeli belirlenmiş ve incelenmişlerdir. 1-naftalenasetik asit varlığında ve N6- [2-izopentenil] -adenin, Cotyledonary-stage zygotic embriyoları doğrudan embriyoid ve uzun kültüründe üretilen kallus (embriyogrenik olan ya da yenilenme olamayan) ürettiğini bildirmişlerdir. Yarı-kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) gözlendiği gibi, somatik embriyogenesis receptor-kinaz benzeri embriyojenik ve rejeneratif olmayan kültürlerde ifade etmişler, ancak bu ifadenin embriyonik olanlarında daha önemli olduğunu bildirmişlerdir. In situ hibridizasyon RNA deneyinde, somatik embriyogenesis receptor-kinaz benzeri, sentezlenmesi eksplantlarında hücre bölünmesinin indüksiyonundan önce olduğunu, ve daha sonra bu üretilen aktif olarak bölünen embriyoid olan hücreler, embriyo benzeri yapıların kallus veya trakeid elemanları özel olarak muhafaza edildiğini ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte hücrelerde, embriyogenetik hücrelerin çok fazla olduğu hibridizasyon sinyalinin yoğunluğunda değişik morfogenetik olaylara yol açtığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca, farklılaşma / transdiferansiyasyonun ve hücrenin (lerin) totipotent durumuna ilişkin çeşitli gelişim programlarının indüksiyonunda somatik embriyogenesis receptor-kinaz benzeri katıldığını öne sürmüşlerdir.

Rybczynski (1997), tarafından *Trifolium fragiferum* L. (2n=16) için çeşitli besi ortamları kullanılarak doku ve protoplast kültürlerinde bitki rejenerasyon sistemleri

geliştirilmiştir. Embriyo kültürüne başlamak için en iyi ortam olan Kao (1977) ya da Kao ve Michayluk (1975) baz alınmıştır. Somatik embriyogenesis bitki dallarının yeşil yaprak mezofilinden alınan kültürlerden olduğu ayrıca somatik embriyo protoplastları ve hücre süspansiyon protoplastlarının olgunlaşmamış zigotik embriyoların yaprakları ve çeşitli explantları gözlemlenmiştir. Somatik embriyogenes süreci Murashige ve Skoog (1962) 0.5mg/L benziladenin ve 0.05 mg/L naftalenasetik asitleri verilerek, ortamları üzerinde iki yıldan fazla kullanılmıştır. Bu uzun dönemli kültürler fertil ve tohum üretebilen bitkileri rejenere etme kapasitesindedir. Bu sonuçlar protoplast kültürü ile *Trifolium*'un diğer türlerinin doku ve organ kültürleriyle karşılaştırılmıştır.

Chandra ve ark. (1997), bazı türlerin *in vitro* kültürlerinde, çimlenme ve gelişmeyi, *in vitro* morfoloji ve dönüşümü düzenleyen etilen ve diğer gazların, *in vitro* tepkimeyi azaltabildiğini, ortama etilen inhibitörlerinin ilave edilmesi ile bazı türlerde rejenerasyonun sağlanabildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, *in vitro*da çimlendirdikleri nohut tohumlarından oluşan sürgün uçları, kotiledon ve hipokotil segmentlerini üç farklı ortamda kültür ettiklerini, hipokotil segmentlerinde yüksek oranda etilen gazı oluşumu ortaya çıkarken, sürgün uçlarındaki oluşumun ihmal edilebilir oranda gerçekleştiğini, kotiledon eksplantlarında ise etilen gazının embrioidlerin sürgüne dönüşümünü engellediğini, hipokotil segmentlerinde arttırılan gaz oranının gelişme ve morfolojik dönüşümü azalttığını saptarken, oksin içeren ortamlarda etilen, sitokinin içerenlerde ise metan konsantrasyonunda bir artış gözlemişlerdir.

Can ve ark. (2000), Yaptıkları araştırmada 6 farklı adi yalancıcı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipinden alınan genç salkım segmentlerinin farklı konsantrasyonlarda (2, 4, 6, 8, ve 10 mg/L) 2,4-D içeren MS ortamında kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyon potansiyellerini incelemişler. Kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonunun ekotiplere ve 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur. Ekotiplere bağlı olarak kallus indüksiyon oranı % 17.5 ile % 65.0, petri kutusu başına kallus ağırlığı 75.25 ile 365.1 mg ve salkım segmenti başına gerçekleşen rejenerat sayısı 0.263 ile 1.612 arasında değişmiştir. En yüksek kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonu 6 mg/L 2,4-D konsantrasyonundan elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Can ve Hatipoğlu (2000), besi ortamı, oksin çeşidi ve konsantrasyonunun 15 Sarı Sakalotu (*Bothriocloa ischaemum* (L.) Keng) ekopitinin genç salkımlarından kallus

oluşumu ve bitki rejenerasyonuna etkisini saptamak amacıyla yaptıkları araştırmada; *In vitro* kültürde eksplant olarak kullanılan genç salkımların kallus oluşturma oranı ekotiplere bağlı olarak % 9.7 ile % 51.6 arasında, petri kutusu başına kallus ağırlığı 96.6 ile 414.6 mg arasında ve salkım segmenti başına rejenere olan bitkicik sayısı 0.0 ile 2.2 arasında değişmiştir. Kallus oluşturma, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyon oranı açısından LS temel besi ortamının SH temel besi ortamından daha üstün olduğu, 2,4-D içeren ortamda kültür edilen salkımlardan dicamba içeren ortamda kültür edilenlere oranla daha yüksek kallus oluşturma oranı ve kallus ağırlığı gerçekleşirken, dicamba içeren ortamda daha yüksek bitki rejenerasyon oranı gerçekleştiği saptanmıştır. En yüksek kallus oluşturma oranı ve kallus ağırlığı 4 mg/L 2-4-D konsantrasyonunda gerçekleşirken, en yüksek bitki rejenerasyon oranı 8 mg/L'lik dicamba konsantrasyonundan sağlandığını bildirmişlerdir.

Mulin ve Spataru (2000), steril koşullarda çimlendirilen 5 günlük *Lupinus albus* ve *L. mutabilis* fidelerinin farklı bölgelerinden, epidermis ve alt epidermal parankim hücrelerini içerecek şekilde ince hücre tabakaları izole ettiklerini, yapılan histolojik inceleme neticesi inokulasyon döneminde meristematik hücreler içeren tabakalarda direk organogenesis gözlemlendiğini, meristematik hücreler içermeyen eksplantlarda ise öncelikle nodüler yapılar oluştuğunu ve daha sonra bunlardan organ teşekküllerinin başladığını saptamışlardır.

Sancak ve ark.(2000), macar fiğinde (*Vicia pannonica* Crantz) döllemeden yaklaşık 15 gün sonra izole ettikleri olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo taslaklarını, farklı konsantrasyonlarda BA ve NAA içeren MS besi ortamında kültür ettiklerini, olgunlaşmamış kotiledon eksplantlarından 20 µM BA ve 2.5 µM NAA içeren ortamda yüksek oranda direk rejenerasyon gerçekleşirken, olgunlaşmamış embriyo taslakları için 5 µM BA ve 5 µM NAA konsantrasyonlarının bu açıdan en iyi kombinasyon olduğunu, tüm kombinasyonlarda embriyo taslaklarının daha yüksek rejenerasyon oranı gösterdiğini, köklenmenin ise 5 µM IBA ilave edilen ½ MS ortamında %50 oranında gerçekleştiğini, köklenen sürgünlerin %45'nin fenotipik olarak normal görünümlü bitkiler meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Çeliktaş (2001), korunga (*Onobrychis sativa* L.) bitkisinde genotip, eksplantat, oksin çeşit ve konsantrasyonu ile sitokinin çeşit ve konsantrasyonunun *in vitro* rejenerasyon üzerine etkilerinin saptanması amacıyla yaptığı çalışmada, kallus

indüksiyonu ve bitki rejenerasyonunun genotip, eksplantat, oksin çeşidi ve konsantrasyonu ve sitokinin çeşit ve konsantrasyonundan önemli derecede etkilendiğini bildirmiştir.

Uranbey ve ark. (2005), *Trifolium resupinatum* L. farklı eksplantat ve besi ortamı kullanarak yaptıkları mikro çoğaltma çalışmasında; nod, hipokotil ve kotiledon nod eksplantlarını Murashige ve Skoog (MS) ortamına ilave edilen altı benziladenin (BA) ve indol-3-bütirik asit (IBA) veya BA, Kinetin (KIN) ve IBA. kombinasyonları test edilmiştir. En iyi sürgün oluşumunun 7.1 µM BA ve 1 µM IBA veya 14.1 µM BA ve 1 µM IBA içeren kotiledon nod eksplantlarından edildiğini bildirmişlerdir.

Şahin-Demirbağ ve ark. (2008), Türkiye’de endemik olan ve Anadolu halkı tarafından geleneksel olarak yem ve saman amacıyla yaygın kullanılan *Trifolium pannonicum* JACQ. subsp. *elongatum* (Willd) ile yaptıkları çalışmada in vitro koşullarda öncelikle etkili bir mikro çoğaltım yöntemini geliştirilmesini desteklemeyi bununla birlikte hipokotil, kotiledon boğumu ve kotiledon temelli eksplantları kullanarak ıslaha destek olmayı amaçlamışlardır. 1 mg/L BAP-0,4 mg/L a-naftalenasetik asit (NAA) içeren MS ortamında hipokotil eksplantlarından sürgün rejenerasyonun (% 100) en yüksek frekansı ve her eksplantadaki 3.50 cm uzunluğa sahip sürgünlerin sayısı (20.33) kaydedilmiştir. İndol-3-butirik asit (IBA) nin farklı konsantrasyonlarını içeren MS ortamı üzerinde kültürlenmiş filizler tarafından başarıyla köklendirildiğini bildirmişlerdir. 0.5 veya 0.75 mg/L IBA içeren MS ortamında çimlenmenin maksimum frekansı kaydedilmiştir. Bu bitkilerin saksılara transfer edildiği ve (çiçeklendikleri ve tohum tuttukları) seraya adaptasyonları sağlandığı bildirilmiştir.

Şahin-Demirbağ ve Kendir (2009), kinetin ve α-naftalin asetik asitin (NAA)’ın farklı konsantrasyonlarının (kinetin ve 0.1+0.1, 0.2, 0.4 NAA mg/L), uzun yapraklı üçgül (*Trifolium pannonicum* ssp. *elongatum*) bitkisinin hipokotil ve kotiledon yaprak sapı eksplantlarından gelişen sürgün yüzdesi, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine olan etkilerini saptamak için yaptıkları çalışmada, sürgün oluşturan eksplant yüzdesinin en yüksek oranda (% 91.7) hipokotil eksplantından ve Murashige and Skoog (MS) içinde 1 mg/L Kinetin + 0.4 mg/L NAA içeren ortamdan; en düşük sürgün yüzdesinin (% 25.0) hipokotil ve kotiledon yaprak sapı eksplantlarının her ikisinde de 1 mg/L Kinetin +0.1 NAA içeren rejenerasyon ortamında geliştiğini, eksplant başına en fazla sürgün sayısı 11.2±1.3 adet ile 1 mg/L Kinetin+0.4 mg/L NAA içeren ortamdan, en

düşük sürgün sayısı 2.5 ± 0.6 adet ile 1 mg/L kinetin +0.1 NAA uygulamasından elde edildiğini bildirmişlerdir.

Kuşvuran ve ark. (2011), Türkiye çayır-mera alanları toplam 14,6 milyon ha'dır. Batı Karadeniz Bölgesi'nde ise bu miktar 782 bin ha olup, ülkemiz çayır-mera alanlarının %5.35'ini oluşturduğunu bildirmiştir. Türkiye'de toplam ekilen tarım arazisi içerisinde yem bitkileri ekim alanı %9,5 payla 1,6 milyon ha olup, Batı Karadeniz Bölgesi için ise yem bitkileri ekim alanı içinde bu oran %12,1'lik payla yaklaşık 200 bin hektardır. Bununla birlikte ülkemizde yaklaşık 11 milyon, Batı Karadeniz Bölgesi'nde ise 1,1 milyon (%9,8) BBHB'ye eşdeğer hayvan sayısı vardır. Bu hayvanların beslenmesi için gerekli kuru kaba yem miktarı yıllık 50 milyon ton, Batı Karadeniz Bölgesi içinse yıllık 5 milyon tondur. Oysa çayır-mera alanları ve yem bitkileri yetiştiriciliklerinden elde edilen yem miktarı ihtiyacın yarısından daha az olduğunu, bu nedenle, uygun amenajman teknikleri ve ıslah çalışmaları ile mevcut mera alanlarında üretim ve devamlılığın sağlanması gerektiğini bildirmişlerdir. Ayrıca yem bitkileri ekim alanları artırılmalı, özellikle nadasa bırakılan alanlarda ekim nöbeti uygulamasına gidilerek yem bitkileri tarımına öncelik verilmelidir. Ülke genelinde ve Batı Karadeniz Bölgesi'nde her yöreye uygun yem bitkileri tür ve çeşitleri üzerine çalışmalar yapılmalı, elde edilen sonuçlar üreticiler ile paylaşıldığı belirtilmiştir. Yem bitkilerinde uygulanan desteklemeler artırılarak devam edilmesini ve tohumluk sorunu mutlaka çözülmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Konieczny. ve ark. (2012), *Trifolium nigrescens* bitkisinin zigotik embriyolarından mikroskopi ve flow sitometri yöntemiyle somatik embriyolar (morfoloji , anatomi , genom büyüklüğü) ile rejenerasyon arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; embrioidler, Murashige ve Skoog (MS) besi ortamına ilave edilen 4 mg/l 2,4 -diklorofenoksiasetik it (2,4 -D) ve 2 mg/l N⁶ (2-izopentenil) adenin (2IP) kültürlerde direk hipokotil ve kallus yoluyla elde ettiklerini ve zigotik embriyo benzeri kültürlerden bitkilerin elde edildiğini bildirmişlerdir

Taş ve Aykas (2013), yaptıkları araştırmada, materyal olarak 70 adet çilek üçgülü tohum örneği ile 3 adet kontrol çeşidi (Palestine, Salina ve Princep. Park) kullanılmıştır. Populasyonlarda taç yaprak rengi, bitki büyüme şekli, yaprakçık şekli, yaprakçık ucu şekli, büyüme oranı, yaprak rengi, stolon sayısı, stolon kalınlığı, örtü derecesi, çiçekçik sayısı, çiçekçik çapı, yaz verimi, ilk ekim yılı çiçeklenme eğilimi, ilk

Çiçeklenme ve tohum olgunlaştırma tarihi gözlemleri yapılmıştır. ilek gl doğal populasyonlarında ölçüm ile belirlenen bitki boyu, uç yaprakçık genişliği, uç yaprakçık uzunluğu, uç yaprakçık uzunluk/genişlik oranı, iek sapı uzunluğu, iek sapı kalınlığı, bitki başına tohum verimi ve bin dane ağırlığı özellikleri ana bileşenler analizi ile değerlendirilmiştir. İncelenen özelliklere ait toplam varyansın %82,20'lik bölümü üç temel bileşende yoğunlaştığı, ilk temel bileşen için en önemli değişkenler sırasıyla bitki boyu, uç yaprakçık genişlik ve uzunluğu, iek sapı uzunluğu, bitki başına tohum verimi pozitif, yaprakçık uzunluk/genişlik oranına negatif yönde etkili olmuştur. İkinici temel bileşende bin tane ağırlığı ve iek sapı kalınlığı değerleri en fazla etkili olmuştur. nc ana bileşen bitki boyu, uç yaprakçık uzunluğu, yaprakçık uzunluk/genişlik oranı ile pozitif, iek sap kalınlığı ile negatif ilişkili bulunduğunu saptamışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak; Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Selam Çiftliği (36°12'53" K, 36°25'46" D) içerisindeki doğal alanlardan toplanan çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) tohumları kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sitolojik Araştırmalarda Kullanılan Yöntemler

3.2.1.1. Sitolojik Araştırmalarda Kullanılan Bitki Materyalinin Yetiştirilmesi

Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Selam Çiftliği içerisindeki doğal alanlardan toplanan çilek üçgülü tohumları, sitolojik araştırmalar için; içine 2 kısım tarla toprağı + 1 kısım kum + 1 kısım çiftlik gübresi karışım oranı ile hazırlanmış toprakla doldurulmuş 7x7x8 cm boyutlarındaki saksılara ekilmiştir. Yeterince büyüyen bitkiler, haftada bir kez %8 N+ %8 P₂O₅ içeren sıvı gübre solusyonununun %1' lik çözeltisi ile gübrelenmiş ve yeterince sulanarak sera koşullarında yetiştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Çilek üçgülü bitkisinin yetiştirilmesi

3.2.1.2. Sitolojik Araştırmalar İçin Kök Ucu rneklerinin Alınması, Preparatların Hazırlanması ve Kromozom Sayımlarının Yapılması

Saksılara (7x7x8 cm) şaşırtılmış olan bitkilerin, saksı tabanına kadar uzayan kök uçları sabah 09.³⁰ da bir makas yardımı ile 1-1,5 cm uzunluğunda kesilerek içinde bir miktar su bulunan petri kabı içinde temizlenmiştir. İlk işlem olarak; kromozomların mitoz bölünmenin metafaz devresinde ekvatorial tablada toplanmasını engelleyip hücre içinde dağılmasını, iğ iplikçiklerinin yapısını bozarak iğ oluşumunu engellemek için yapılmıştır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995). İlk işlemde, kök uçlarına doymuş alfa-monobromonaftalin çözeltisi uygulanmıştır. Alfa-monobromonaftalin'in iğ ipliklerinin oluşumunu durdurduğu, kromozomların kısalmasına ve düzelmesine etki ettiğ i bildirilmektedir (Elçi 1982). Bu zelti; 100 ml musluk suyuna 3-4 damla alfa-monobromonaftalin damlatılarak hazırlanmıştır. 4-5 cm boyunda ve 1.5 cm çapındaki cam tüplere bu çözeltiden 2,0-2,5 cm yksekl iğ inde doldurulmuştur. Tüplerin içine 1x5 cm boyutlarındaki kâğıtlara kurşun kalem ile bitki numaraları, kök ucunun alındığı tarih, saat ve başka gerek duyulan bilgiler yazılarak konulmuştur.

Kesilen kök uçları, içinde çözelti bulunan tüplere konulmuş, ağızları mantar tıpa ile kapatılmıştır. Materyal, 4 saat oda koşullarında, karanlık bir dolap içinde bekletilmiştir. İlk işlem den sonra tüpün mantar tıpası çıkarılmış ve içindeki alfa-monobromonaftalin çözeltisi szlmüştür. Süzme işlemi tamamlandıktan sonra, tüpler 2 defa eşme suyu, 2 defa da destile su ile yıkanmıştır. Tüplere bu kez glasial asetik asit konulmuş ve oda sıcaklığ ında 30 dakika bekletilmiştir. Tespit işlemi ile; hücrelerin hayat seyrinin birdenbire sona erdirilmesi ve mümkün olduğ unca hayattaki durumunu bozmadan gözlenmesi amaçlanmıştır. Tespit işleminden hemen sonra glasial asetik asit tp içerisinden boşaltılmıştır. Tp içerisindeki köklerden hemen kullanılmayacak olanlar % 70' lik etil alkol içerisinde buzdolabında +4°C' de depolanmıştır. Böylece, kökleri uzun süre muhafaza etmek mümkün olmuştur. Daha sonra tespit işlemi yapılmış köklere hidroliz işlemi uygulanmıştır. Hidroliz, dokuların hücrelerini birbirinden ayırıp, onların daha iyi gözlenmesini sağ lamak amacıyla yapılmıştır. Bu ayırma işleminden sonra artık dokular, aralarında birleştirici bir kuvvet bulunmayan yalnız bir hücre yığı nı durumunu getirilmiştir. Böylece, her bir hücre kendi içerisindeki kısımları ile birlikte mikroskop altında st üste gelmeden tek bir tabaka halinde gözlenmesi

amaçlanmıştır. Hidroliz ile ayrıca sitoplazmanın renksiz hale gelmesi ve yalnızca çekirdekteki kromatinin boyanması sağlanmaktadır.

Kök uçları hidroliz yapılmadan önce, 3 defa 5' er dakika süre ile damıtık su ile yıkanarak glacial asetik asitten temizlenmiştir. Ayrıca, daha sonra incelenmek amacıyla % 70' lik alkol içinde stoklanmış olan kök uçları da hidroliz yapılmadan önce 3 defa 5' er dakika süre ile damıtık su ile yıkanmıştır. Temizlenen kök uçları su banyosunda 1 N HCL içerisinde 60 °C' de 13 dakika süre ile hidroliz edilmiştir. Hidroliz süresi, daha önce yapılan ön çalışmalarla kök uçlarının en iyi boyandığı süre olarak alınmıştır. Daha sonra kromozomların boyama işlemine geçilmiştir. Araştırmada kullanılan Feulgen boyası Hatipoğlu (1991)'na göre hazırlanmıştır.

Hidroliz edilen kök uçları, 1 N HCL' den çıkarılarak 3 defa 5'er dakika aralıklarla damıtık su ile yıkandıktan sonra içerisinde Feulgen bulunan tüplerde oda sıcaklığında 2.5 saat bekletilmiştir. Feulgen' den çıkartılan kök uçları 10-15 dakika çeşme suyunda bekletilmiştir. Kök uçlarının 1-2 mm' lik koyu mor renk alan uç kısımlarından preparatlar yapılmıştır.

Boyanmış olan kök uçlarından biri, bir pens ile lam üzerine konulmuştur. Bir jilet ile, kökün 2-3 mm' lik uç kısmı kesilerek, hücrelerin preparatta düzgün dağılmasını sağlamak amacıyla mümkün olduğunca çok küçük parçalara bölünmüştür. Kökün parçalanması sırasında parçalanın kısımların kurumasını önlemek amacıyla ve preparatları daha iyi görünür bir duruma getirmek için, lam üzerindeki kök parçacıklarına bir damla %1'lik asetokarmin eriyiği ilave edilmiştir.

Bu şekilde lam üzerine konulan kök ucu parçacıkları üzerine bir lamel gelecek şekilde kapatılmıştır. Bir elin başparmağı ile lamel üzerinden oynatmadan tutarak diğer ele alınan kurşun kalemin arkası ile lamele hafif hafif vurulmuştur. Daha sonra kromozomları bir düzlem içerisinde bulundurmak için de preparat, çok düzgün bir masanın üzerinde iki kuru kurutma kâğıdı arasına konularak, başparmağın ucu ile lamele bastırılmıştır. Lamele fazla bastırmadan dolayı preparat içinde meydana gelen hava kabarcıkları, lamelin kenarına % 1'lik asetokarmin ilavesi ile alınmıştır. Mikroskopta incelenen ve hücrelerde amaca uygun kromozomların bulunduğu gözlenen preparatlar devamlı hale getirilmiştir. Devamlı preparatları yapmak için, alkol buharı değiş tokuşu yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle lam ile lamel birbirinden ayrılmadan, bunların arasında alkol buharı kanada balzamu değiş tokuşu sağlanmıştır. Lamın uygun

bir kenarına preparatla ilgili gerekli bilgiler yazılı etiket yapıştırıldıktan sonra, preparat, bir şale içine konulmuştur. Kabin ve kapağının iç tarafı kurutma kâğıdı ile kaplanmıştır. Cam kaba, 4-5 mm yüksekliğe kadar alkol konularak, kabin içindeki kurutma kâğıdı alkol ile nemlendirilmiştir. Ayrıca, cam kabin etrafına parafilm sarılarak, alkol buharlarının kapaktan uçuşması önlenmiştir.

Böylece, hazırlanan kaplara, preparatlar konularak buzdolabında +4 °C' de bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün, preparatlar bu cam kaptan çıkarılarak lam ve lamel bir jilet yardımıyla ayrılarak arasına iki damla kanada balsamı damlatılarak tekrar aynı şekilde kapatılıp, hafifçe bastırılarak lam ve lamel arasındaki hava kabarcıkları alınmıştır. Daha sonra, içinde kurutma kâğıdı bulunan petri kapları alkol ile nemlendirilmiş, içlerine preparatlar yerleştirilmiştir. Petri kapları düz bir masa üzerinde oda sıcaklığında bir hafta süre ile kurutularak preparatların daimi hale getirilmesi sağlanmıştır. Kromozomları metafaz safhasında bulunan en iyi bir şekilde dağılma gösteren, fazla büzülmemiş, morfolojileri iyi görülebilen ve bir düzlem üzerinde bulunan en iyi kök ucu somatik hücreleri belirlenmiştir. Bu hücrelerin fotoğrafları dijital olarak çekilmiştir. Kromozom sayımları bitkinin 25 hücresinde yapılmıştır.

3.2.2. *İn Vitro* Kültür Araştırmalarında Kullanılan Yöntemler

3.2.2.1. *İn Vitro* Kültür Araştırmalarında Kullanılan Donor Bitkilerin Yetiştirilmesi

Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Selam Çiftliği içerisindeki doğal alanlardan toplanan çilek üçgülü tohumları, ilk olarak suyla yıkanmış, ardından %96'lık alkol ile 2 dakika ve son olarak % 40'lık sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 dakika steril edilmiştir. Steril edilen bu tohumlar *in vitro* koşullarda yetiştirilmek üzere, 30 ml besi ortamı içeren Magenta (GA-7)' de ve MS (Murashige and Skoog, 1962) besi ortamında çimlendirilmiştir (Şekil 3.2).

3.2.2.2. *İn Vitro* Kültür Araştırmalarında Ele Alınan Varyantlar ve Deneme Planı

Araştırmada besi ortamı olarak MS (Murashige and Skoog, 1962) ile 2,4-D oksinin 4 farklı konsantrasyonu (2 mg L⁻¹, 4 mg L⁻¹, 6 mg L⁻¹ ve 8 mg L⁻¹) ve eksplantat olarak ta sürgün ucu ve nodlar kullanılmıştır. Araştırma tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre düzenlenmiş ana parselleri eksplantatlar alt parselleri

oksin konsantrasyonları oluşturmuştur. Her uygulama kombinasyonu 4 kez tekrarlanmıştır.



şekil 3.2. ilek ul bitkisinin *n Vitro* kültürde yetiştirilmesi

3.2.2.3. Kullanılan Besi Ortamlarının Hazırlanması

Araştırmada temel besi ortamı olarak MS (Murashige and Skoog, 1962) besi ortamı kullanılmıştır. Bu ortamın bileşimi izelge 3.1.'de gösterilmiştir.

Araştırmada kullanılan temel besi ortamının birim hacimde bulunması gerekli birçok maddenin miktarlarının düşük olmasından dolayı, bu maddelerin teker teker tartılarak hazırlanması büyük zaman kaybına neden olacağından besi ortamını oluşturan ögelerin stok solüsyonları hazırlanmıştır (Hatipoğlu, 1995).

3.2.2.3.1. Makro ve Mikro Elementlerin Stok Solyonlarının Hazırlanması

Besi ortamında bulunması gerekli olan KI, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ gibi mikro elementler ve jelat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve Na_2EDTA) dışındaki makro ve mikro elementlerin her bir besi ortamında litrede bulunması gerekli olan miktarlarının 10 katı hassas terazide tartıldıktan sonra, içerisinde 200 cc bidestile su bulunan ve bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 2 litrelik bir erlenmayer kabına sırasıyla ilave edilmişlerdir. Karışımı oluşturan elementler iyice çözündükten sonra, karışımın hacmi 1 litreye tamamlanmış ve herbiri 150 ml olan, 10 ayrı plastik

kaplara 100'er ml paylaştırılmıştır. Kapların üzerine yapıştırılan etiketlere besi ortamının adı, içerdiği makro-mikro elementler ve ortamın yapılış tarihi yazılarak, buzdolabının derin dondurucusunda muhafaza edilmiştir. KI, $\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bileşenlerinin ise ayrı ayrı stok solüsyonları hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1. Kullanılan MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamı bileşimi

Bileşik	MS Besi Ortamı
Makro elementler	Konsantrasyon (mg L^{-1})
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
KNO_3	1900
NH_4NO_3	1650
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
Mikro elementler	
H_3BO_3	6,8
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	16,9
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	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
KI	0,83
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27,8
Na_2EDTA	37,3
Organik Bileşikler	
Thiamin. HCl	0,1
Pyridoxin. HCl	0,5
Nikotinik asit	0,5
Myo- inositol	100
Sakkaroz (g)	30
Agar (g)	8
pH	5,8

3.2.2.3.2. Jelat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve Na_2EDTA) Hazırlanması

7,45 gr Na_2EDTA bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş 1 litrelik erlen kabında 200 cc bidestile su içinde eritilmiş ve eriyik 90°C ' ye kadar ısıtılmıştır. Sıcaklık belirtilen düzeye eriştiğinde çözeltiliye 5,57 gr FeSO_4 ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır. Daha sonra karışımın sıcaklığı oda sıcaklığına erişinceye kadar

soğutulmuş ve karışım hacmi 1 litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan jelat koyu renkli pyrex şişe içinde muhafaza edilmiştir.

3.2.2.3.3. Vitamin ve Oksin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

Besi ortamlarında bulunan Thiamin HCL, Pyridoxin. HCL, Nikotinik asit gibi vitaminlerin 100 mg'ı hassas terazide tartılarak 20-30 ml bidestile suda çözüldükten sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve pyrex cam şişe içinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Besi ortamı için gerekli olan 2,4-D oksininin stok solüsyonu, vitaminlerin stok çözeltisi gibi hazırlanmıştır.

3.2.2.3.4. Stok Solüsyonlardan Yararlanarak Besi Ortamının Hazırlanması

Araştırmada kullanılan besi ortamının hazırlanması için aşağıdaki yöntem izlenmiştir.

Karışım I

Her bir besi ortamı için daha önceden hazırlanmış olan 100 ml'lik makro ve mikro element stok solüsyonları magnetik karıştırıcı üzerinde bulunan 1 litrelik pyrex erlenmayer kaplarına boşaltılarak, iyice karıştırılmış ve karışıma stok solüsyonunda bulunmayan mikro elementlerin gerekli miktarları stok solüsyonlarından ilave edilmiştir. Karışımların hacmi bidestile su ile 800 ml'ye tamamlanmıştır. 800 ml'ye tamamlanan karışımın pH'sı 1N KOH ve HCL çözeltilerinin yardımıyla besi ortamları için gerekli olan pH ölçüsüne getirilmiştir. Her bir karışım dört eşit parçaya ayrılmış ve her parça 250 ml'lik pyrex şişeye doldurulmuştur. MS besi ortamı için her bir şişeye 2 g agar ilave edilmiş ve şişelerin ağızları kapatıldıktan sonra alüminyum kağıtla sarılmıştır. Şişeler içindeki karışım I Otoklavda 121 °C de ve 2 bar basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

Karışım II

İçerisinde 50 ml bidestile su bulunan ve bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 250 ml'lik iki pyrex erlenmayer kabı içine MS besi ortamında bulunması gerekli olan 30 g sakkaroz ilave edilip iyice karıştırıldıktan sonra 100 mg Myo-İnositol ve 0,1 mg L⁻¹ Thiamin. HCL ve SH besi ortamı için 1000 mg Myo-İnositol, 0,1 mg L⁻¹ Thiamin HCL, 0,5 mg L⁻¹ Pyridoxin ve 0,5 mg L⁻¹ Nikotinik asit ve 1 mg L⁻¹ BAP (Benzil Amino Purin) ilave edilmiştir. Karışımların hacimleri bidestile su

ile 160 ml'ye tamamlandıktan sonra, her bir karışım 4 eşit parçaya ayrılmıştır. Her parçaya gerekli 2,4-D (2 mg L^{-1} , 4 mg L^{-1} , 6 mg L^{-1} ve 8 mg L^{-1}) konsantrasyonları ilave edildikten sonra, karışımların hacimleri bidestile su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Karışım II varyantlarının pH' ları ayrı ayrı her bir besi ortamı için gerekli pH ölçülerine ayarlanmıştır. Daha sonra Karışım II varyantları steril kabin içinde ucuna steril filtre takılmış emme-basma pompası vasıtasıyla steril pyrex cam şişe içerisine filtre edilmiştir.

Otoklavdan çıkarılan karışım I steril kabin içinde bulunan bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Karışımın sıcaklığı $60-70^{\circ}\text{C}$ ye düştüğünde karışım II karışım I in üzerine ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Hazır hale gelen besi ortamı varyantları steril kabin içinde her bir steril petri kabına ($60 \times 15 \text{ mm}$) 7 ml olacak şekilde steril pipet yardımıyla doldurulmuştur. Kültür kapları içindeki besi ortamının sıcaklığı oda sıcaklığına düştüğünde, kültür kapları plastik kaplar içine konulmuş ve kullanılıncaya kadar 10°C de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.4. Ekplantatların Sterilizasyonu ve Kültüre Alınmaları

Magenta (GA-7) boyutlarındaki kültür kaplarında 30 gün süre ile çimlendirilen 5-10 cm boyundaki bitkilerden izole edilen 2-5 mm uzunluğundaki nod ve genç sürgün ucu skalpel yardımıyla segmentlere ayrılmıştır. Her kültür kabına ($60 \times 15 \text{ mm}$) 4 segment yerleştirilmiştir.

3.2.2.5. Sürgün İndüksiyonu

Besi ortamına yerleştirilen kültürler iklim dolabında $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, %70 nem ve 16-8 saat fotoperiyot süresinin sağlandığı iklim odasına aktarılmışlardır. Eksplantat başına oluşan sürgünler sayılarak sürgün indüksiyon oranı olarak kaydedilmiştir.

3.2.2.6. Bitki Rejenerasyonu

Sürgün indüksiyon oranları saptanan eksplantatlar büyüme düzenleyicisi içermeyen rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Rejenerasyon ortamına aktarılan ekplantatlar $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, %70 nem ve 16-8 saat fotoperiyot süresinin sağlandığı iklim odasına muhafaza edilmiştir. Rejenerasyon ortamında yeterince büyüyen bitkiciklerin

her uygulama için sayımı yapılmış ve ortama konan petri kutusu başına rejenerasyon oranı hesaplanmıştır.

3.2.2.7. Rejeneratların Geliştirilmesi

Rejenerasyondan sonra bu bitkiciklerin her biri ayrı ayrı içerisinde 30 ml gelişme ortamı bulunan küçük cam tüplere aktarılmıştır. Gelişme ortamı; MS besi ortamlarının içerdiği makro ve mikro element konsantrasyonlarının yarısını içeren bir ortam olup, ayrıca 20 g L⁻¹ sakkaroz ve 8 g L⁻¹ agar içermektedir. Rejenere olan bitkicikler gelişme ortamında bir ay süre ile 25 °C' de ışıklı ortamda muhafaza edilmiştir. Daha sonra bu tüplerden çıkartılan bitkiler saksılara şaşırtılmıştır. Saksılara şaşırtılan bitkiler bir hafta süre ile plastik örtü altında muhafaza edilmiş ve ortama adaptasyonları sağlanmıştır.



Şekil 3.3. Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) bitkisinde yaprak ölçümleri

3.2.3. Morfolojik Araştırmalarda Kullanılan Yöntemler

3.2.3.1. Yaprak

Morfolojik araştırmaları için 13x13x13 cm boyutlarındaki saksılara ekilen 20 bitkinin çenek yaprağında, ilk tekli yaprağında, üçlü yaprağın bir yan yaprakçığında ve orta yaprakçığında verniyer bölmeli kompasla uzunluk/genişlik ölçümleri yapılmıştır.

Çiçeklenme devresinde 20 bitkide, her birinin üst yarısından 20 olgun üçlü yaprağın orta yaprakçığında, taç yaprağında uzunluk/genişlik ölçmeleri yapılmıştır (Şekil 3.3.).

3.2.3.1. Çiçek

Çiçeklenme döneminde 20 bitkinin üçlü yaprağın orta yaprakçığında verniyer bölmeli kumpasla uzunluk/genişlik ölçümleri yapılmıştır. 20 kömeçte; kömeç çapı, bir kömeçteki çiçek sayısı, meyvedeki tohum sayısı, bitki boyu, kök uzunluğu saptanmıştır (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Çiçek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) bitkisinde çiçek ölçümleri

3.2.4. Araştırmada Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

Araştırmada *in vitro* yöntemlerden elde edilen veriler tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre düzenlenmiş ana parselleri eksplantatlar alt parselleri oksin konsantrasyonları oluşturmuştur. Her uygulama kombinasyonu 4 kez tekrarlanmıştır. MSTAT-C istatistik programından yararlanılarak varyans analizi uygulanmıştır. Varyans analizi uygulanmadan önce, sürgün indüksiyon oranı değerlerine Arcsin $\bar{x}$ transformasyonu, rejenerasyon oranı değerlerine $\bar{x}+0,5$ transformasyonu uygulanmıştır. Varyans analizi sonucu önemli çıkan ekotip ortalamaları LSD testine göre gruplandırılmıştır.

Morfolojik yöntemlerden elde edilen verilerden; ortalama değerler, standart sapma, ortalamanın standart hatası ve varyasyon katsayısı Düzgüneş ve ark. (1987)'na göre değerlendirilmiştir.

Ortalama değer: $\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$

Standart sapma: $S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$

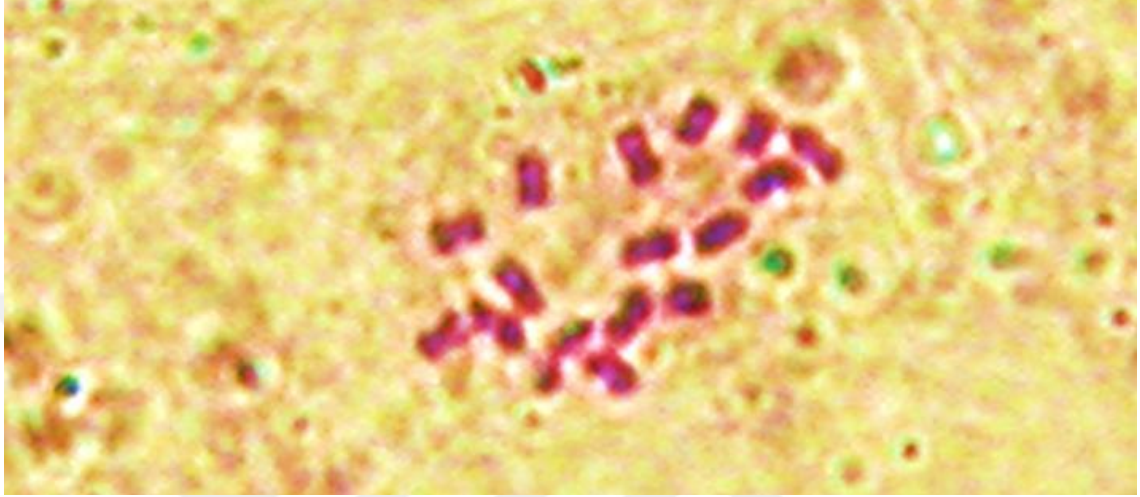
Ortalamanın standart hatası: $SE_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$

Varyasyon katsayısı: $V = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100$

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Sitolojik Araştırma Bulguları

Araştırmada incelenen çilek üçgülü ekotipinde yapılan somatik kromozom sayımları; ekotipin $2n=2x=16$ kromozomlu olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4. 1).



Şekil 4.1. $2n=2x=16$ kromozomlu çilek üçgülü ekotipinde mitoz kromozomları

Bu sonuçlar; incelenen çilek üçgülü populasyonunun $2n=2x=16$ kromozomlu sitotipten oluştuğunu göstermiştir.

Çilek üçgülü için saptanan bu kromozom sayıları Sheidai ve ark. (1998), Frame (2005), Alimardini ve ark. (2014) tarafından da bildirilmiştir. Ayrıca, Radomska (2000), $2n=4x=32$ kromozomlu populasyonunda olduğunu bildirmektedir.

Bölgemizdeki çilek üçgülü populasyonunun diploid formda olduğunu ve $2n=2x=16$ kromozom sayısına sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla farklı ploidi seviyesine ait bitkilerin de bulunabileceğini söyleyebiliriz.

4.2. Morfolojik Araştırma Bulguları

4.2.1. Çiçeklenme Öncesi Araştırma Bulguları

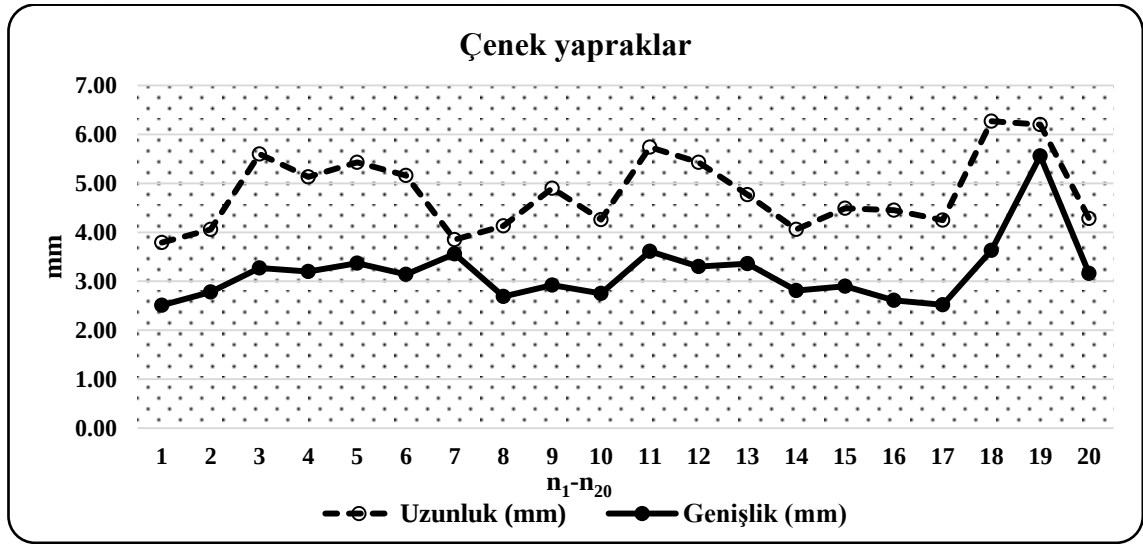
4.2.1.1. Yaprak

Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) bitkisinde yapılan çenek yaprağı uzunluk ve genişlik ölçmeleri Çizelge 4.1' de verilmiştir. En uzun çenek yaprak uzunluğu 6,27 mm, en kısa çenek yaprak uzunluğu 3,79 mm bulunmuştur. Çenek yaprak genişlik ölçümlerinde ise en geniş çenek yaprak uzunluğu 5,56 mm, en kısa çenek yaprak

genişliği 2,51 mm bulunmuştur. lm yapılan çenek yaprak uzunluklarının ortalaması 4,81 mm, genişliklerinin ortalaması ise 3,18 olarak saptanmıştır. Uzunluk/genişlik oranı minimum 1,08 maksimum 1,73 olurken, ortalama uzunluk/genişlik oranı 1,53 olarak belirlenmiştir (şekil 4.2).

Çizelge 4.1. Çiçeklenme ncesi incelenen yaprak özellikleri

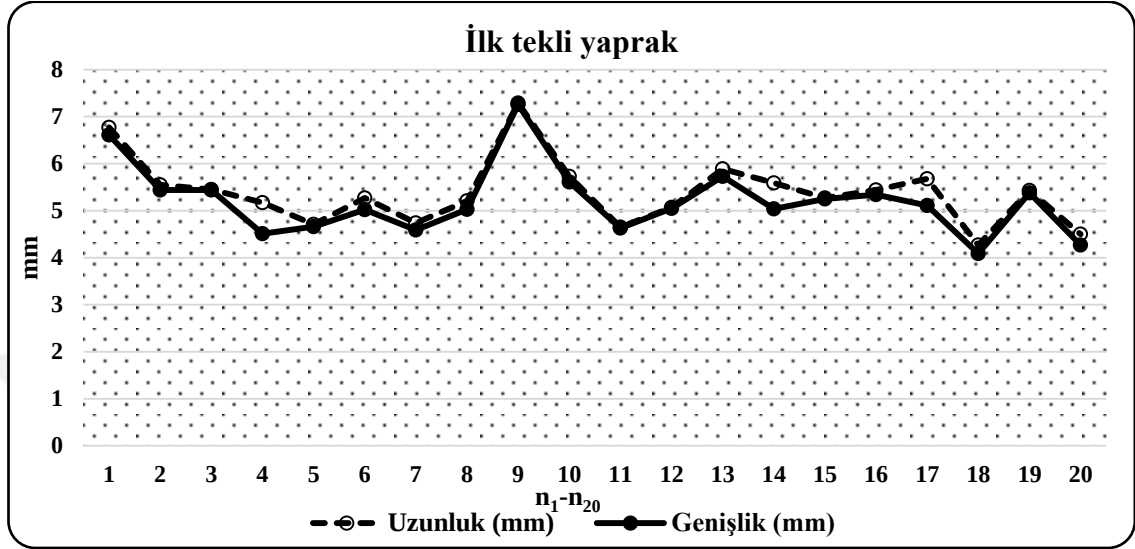
İncelenen özellikler		n	Min-Mak. (mm)	$\bar{X} \pm SE_{\bar{X}}$ (mm)	S	V
Çenek yaprak	Uzunluk	20	3,79-6,27	4,81±0,19	0,77	15,98
	Genişlik	20	2,51-5,56	3,18±0,17	0,66	20,85
	U/G	20	1,08-1,73	1,53±0,05	0,18	11,80
İlk tekli yaprak	Uzunluk	20	4,27-7,29	5,38±0,18	0,71	13,28
	Genişlik	20	4,09-7,26	5,20±0,19	0,74	14,30
	U/G	20	1,00-1,15	1,04±0,01	0,04	3,91
İlk üçlü yaprağın bir yan yaprakçığı	Uzunluk	20	3,35-5,99	4,60±0,18	0,71	15,23
	Genişlik	20	3,07-5,92	4,27±0,19	0,75	17,59
	U/G	20	0,88-1,29	1,01±0,02	0,09	8,62
İlk üçlü yaprağın orta yaprakçığı	Uzunluk	20	3,37-6,44	4,44±0,19	0,74	17,59
	Genişlik	20	3,27-5,84	4,16±0,19	0,73	16,6
	U/G	20	1,00-1,33	1,07±0,02	0,08	7,67



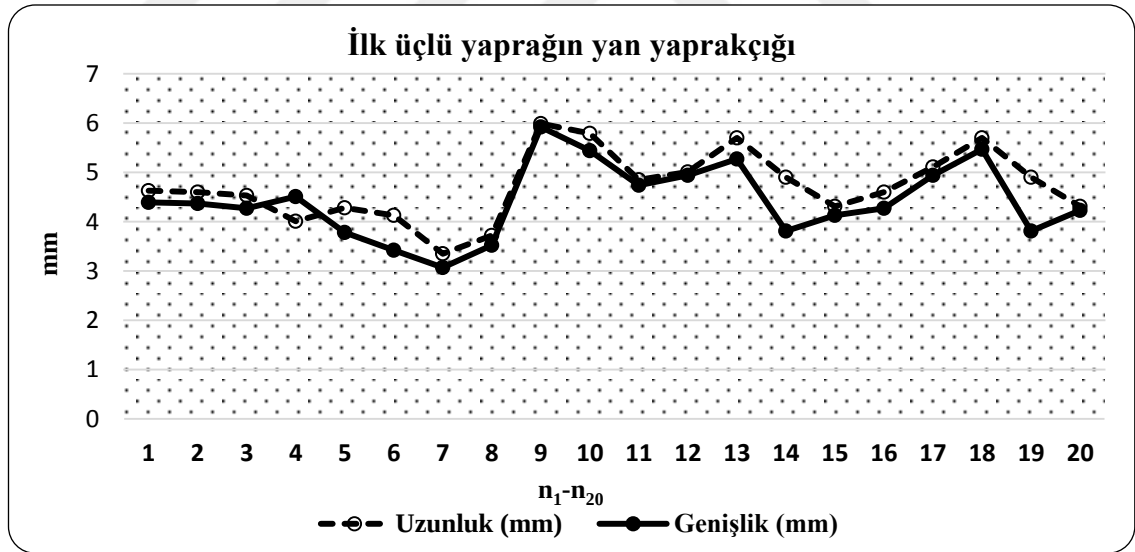
şekil 4.2. enek yapraklar uzunluk ve genişlik dağılımı

İlk tekli yaprağın uzunluk, genişlik ve ortalamaları incelendiğinde (izelge 4.1), en uzun tekli yaprak uzunluğu 7,29 mm, en kısa tekli yaprak uzunluğu 4,27 mm olarak llmştur. lm yapılan tekli yaprak uzunlukların ortalaması 5,38 mm olarak saptanmıştır. Genişlik ölçümlerinde ise en geniş tekli yaprak uzunluğu 7,26 mm, en kısa

tekli yaprak genişliği 4,09 mm bulunmuştur. Genişliklerinin ortalaması ise 5,20 mm olarak saptanmıştır. Uzunluk/genişlik oranı minimum 1,00 maksimum 1,15 olurken, ortalama uzunluk/genişlik oranı 1,04 olarak saptanmıştır (Şekil 4.3).



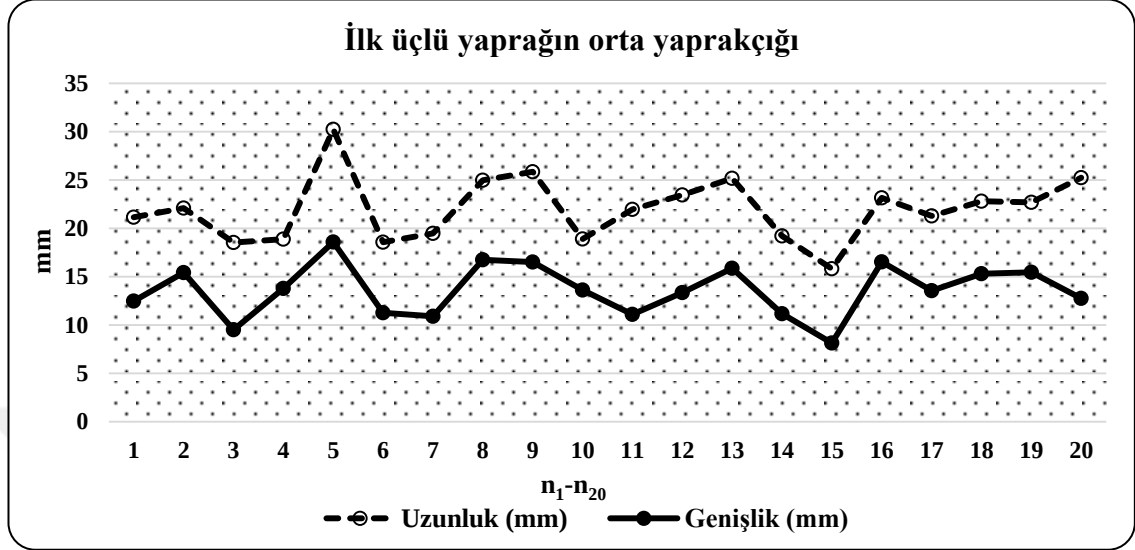
Şekil 4.3. Tekli yapraklar uzunluk ve genişlik dağılımı



Şekil 4.4. İlk üçlü yaprağın bir yan yaprakçığında uzunluk ve genişlik dağılımı

İlk üçlü yaprağın bir yan yaprakçığında yapılan ölçümler Çizelge 4.1’de verilmiştir. En uzun yan yaprakçık 5,99 mm, en kısa 3,35 mm ve uzunluk ortalaması 4,60 mm olarak saptanmıştır. Yan yaprakçığın genişlik ölçümlerinde ise maksimum 5,92 mm, minimum 3,07 mm ve ortalama 4,27 mm olarak ölçülmüştür. Uzunluk/genişlik oranları

minimum 0,88, maksimum 1,29 ve ortalama uzunluk/genişlik oranı 1,01 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. İlk üçlü yaprağın orta yaprakçığında uzunluk ve genişlik dağılımı

Aynı ilk üçlü yaprağın bir orta yaprakçığında yapılan ölçümler de Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. En kısa orta yaprakçık 3,37 mm, en uzun 6,44 mm ve uzunluk ortalaması 4,44 mm olarak ölçülmüştür. Orta yaprakçığın genişlik ölçümlerinde ise minimum 3,27 mm, maksimum 5,84 mm ve ortalama 4,16 mm olarak ölçülmüştür. Uzunluk/genişlik oranları minimum 1,00, maksimum 1,33 ve ortalama uzunluk/genişlik oranı 1,07 mm olarak belirlenmiştir (Şekil 4.5).

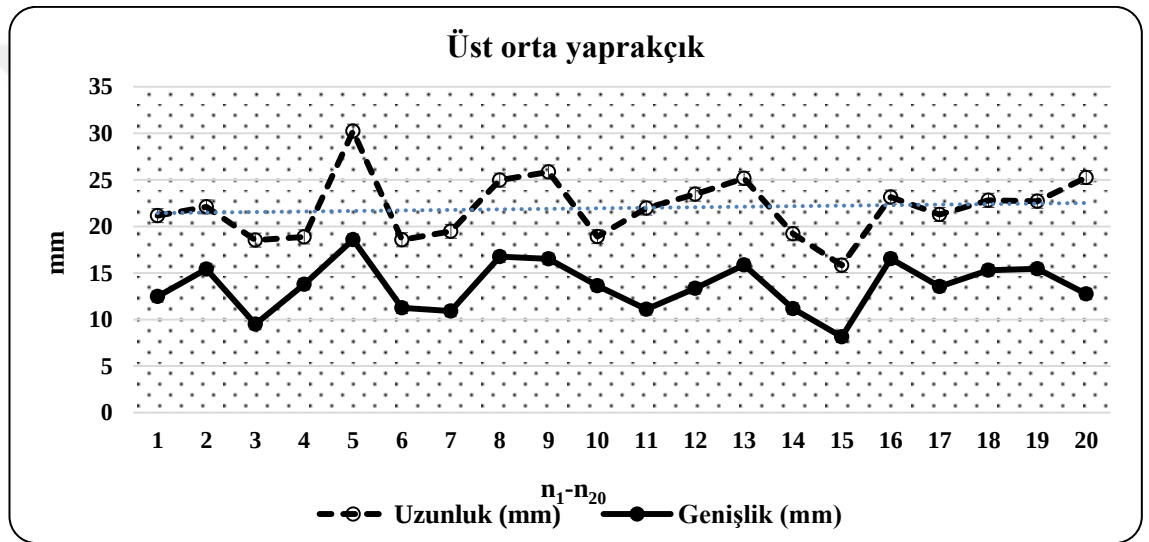
4.2.2. Çiçeklenme Sonrası Araştırma Bulguları

4.2.2.1. Yaprak

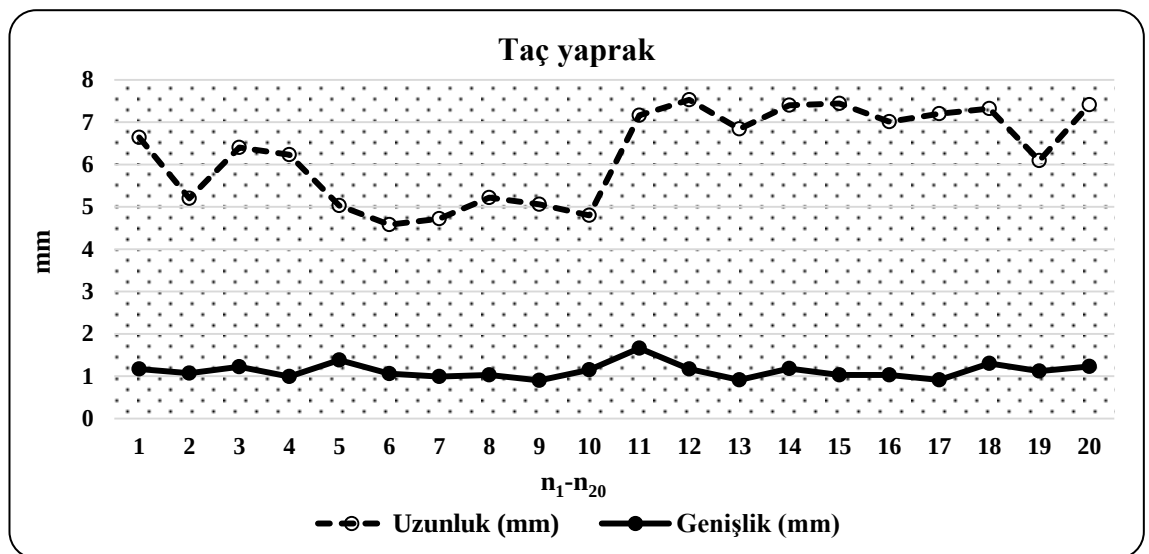
Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) bitkisinde çiçeklenme sonrası yapılan üst orta yaprakçık uzunluk ve genişlik ölçmeleri Çizelge 4.2’ de verilmiştir. En uzun orta yaprakçık uzunluğu 30,24 mm, en kısa orta yaprakçık uzunluğu 15,82 mm bulunmuştur. Orta yaprakçık genişlik ölçümlerinde ise en geniş orta yaprakçık uzunluğu 15,58 mm, en kısa orta yaprakçık genişliği 8,14 mm bulunmuştur. Ölçümü yapılan orta yaprakçık uzunluklarının ortalaması 21,97 mm, genişliklerinin ortalaması ise 13,60 olarak saptanmıştır. Uzunluk/genişlik oranı minimum 1,36, maksimum 1,98 olurken, ortalama uzunluk/genişlik oranı 1,64 olarak bulunmuştur (Şekil 4.6).

Çizelge 4.2. Çiçeklenme sonrası incelenen yaprak özellikleri

İncelenen özellikler		n	Min-Mak. (mm)	$\bar{X} \pm SE_{\bar{x}}$ (mm)	S	V
Üst orta yaprakçık (mm)	Uzunluk	20	15,82-30,24	21,97±0,86	3,35	15,25
	Genişlik	20	8,14-15,58	13,60±0,70	2,71	19,96
	U/G	20	1,36-1,98	1,64±0,05	0,20	12,39
Taç yaprak	Uzunluk	20	4,58-7,53	6,26±0,27	0,07	12,18
	Genişlik	20	0,90-1,66	1,12±0,05	1,18	16,10
	U/G	20	3,64-7,91	5,66±0,30	1,16	20,52



Şekil 4.6. Üst orta yaprakçığında uzunluk ve genişlik dağılımı



Şekil 4.7. Taç yaprakçığında uzunluk ve genişlik dağılımı

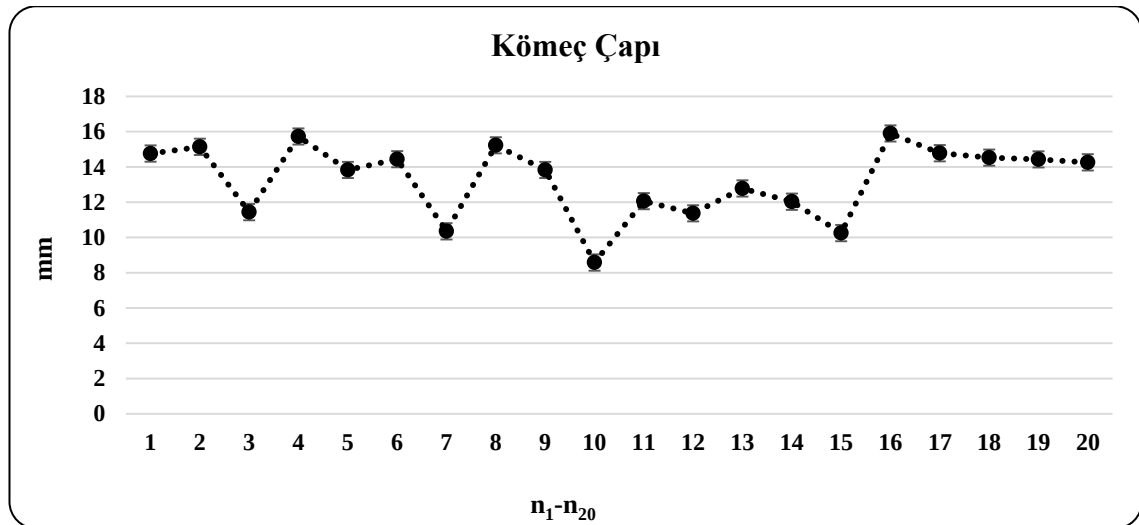
Taç yaprağın uzunluk, genişlik ve ortalamaları incelendiğinde (Çizelge 4.2), en uzun taç yaprak uzunluğu 7,53 mm, en kısa taçyaprak uzunluğu 4,58 mm olarak ölçülmüştür. Ölçümü yapılan taç yaprak uzunlukların ortalaması 6,26 mm olarak saptanmıştır. Genişlik ölçümlerinde ise en geniş taç yaprak uzunluğu 1,66 mm, en kısa tekli yaprak genişliği 0,90 mm bulunmuştur. Genişliklerinin ortalaması ise 1,12 mm olarak saptanmıştır. Uzunluk/genişlik oranı minimum 3,64, maksimum 7,91 olurken, ortalama uzunluk/genişlik oranı 5,66 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.7).

4.2.2.2. Kömeç

Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) bitkisinde çiçeklenme sonrası kömeç çapı ve kömeçteki çiçek sayısı ile ilgili ölçümler Çizelge 4.3’de verilmiştir. En uzun kömeç çapı 15,90 mm, en kısa kömeç çapı 8,58 mm olarak bulunmuştur. Ortalama kömeç çapı 13,28 mm olarak saptanmıştır (Şekil 4.8).

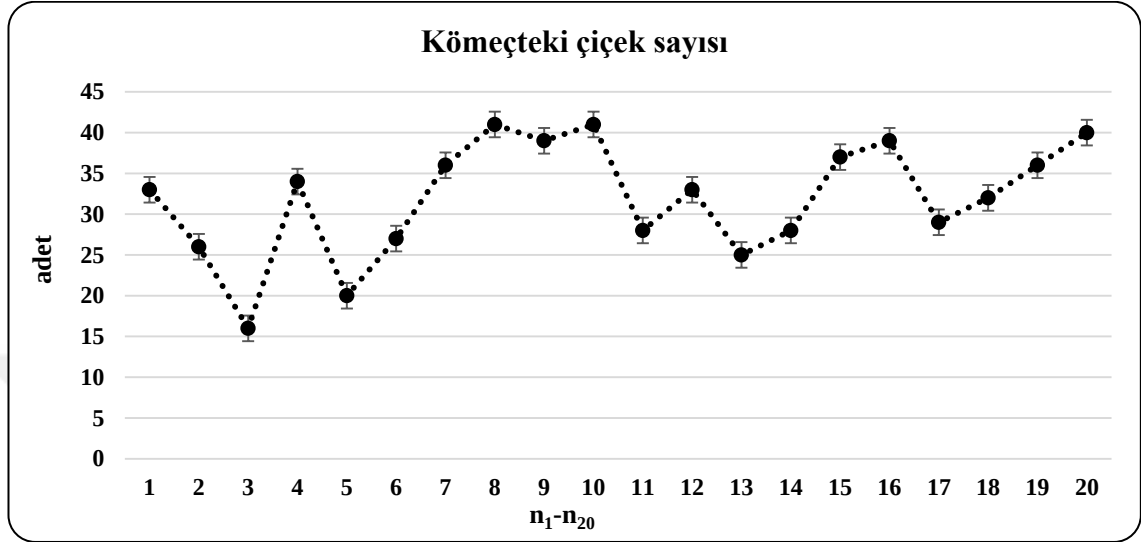
Çizelge 4.3 Çiçeklenme sonrası incelenen özellikler

İncelenen özellik	n	Min-Mak.	$\bar{X} \pm SE_{\bar{X}}$	S	V
Kömeç çapı (mm)	20	8,58-15,90	13,28±0.53	2,05	15,49
Kömeçteki çiçek sayısı (adet)	20	16-41	32,00±1.81	7,02	21,95
Meyvedeki tohum sayısı (meyve/adet)	20	19-60	35,65±2.86-	11,08	31,106
Bitki boyu (cm)	20	38-88	64,85±3.85	3,96	23,62
Kök uzunluğu (cm)	20	19-60	35,65±2.86	11,08	31,10



Şekil 4.8. Kömeç çapı uzunluk ölçümü dağılımı

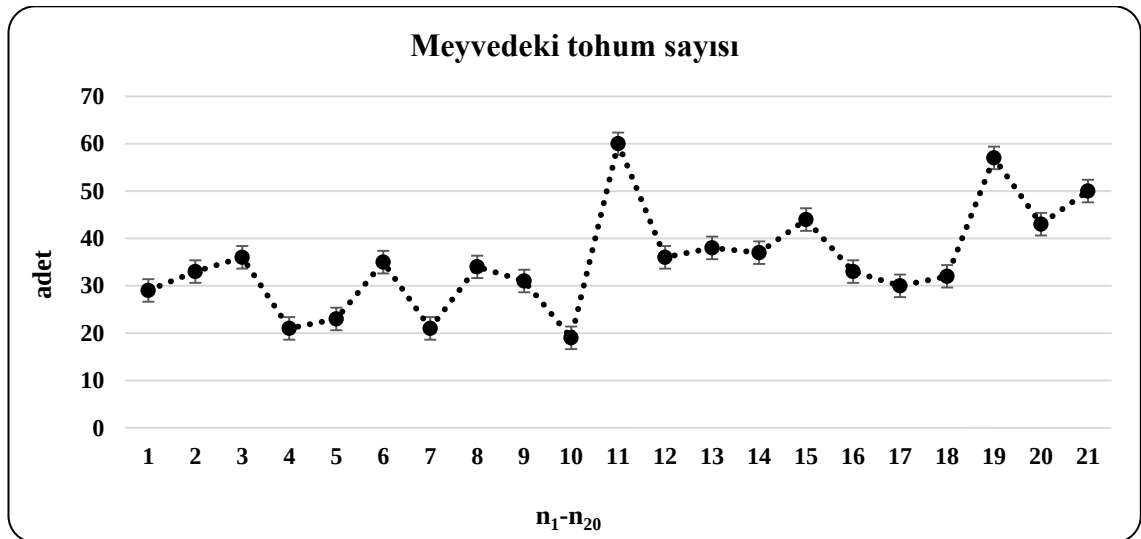
Kömeçteki çiçek sayısı ölçümlerinde maksimum kömeç başına 41 adet, minimum 16 adet olarak çiçek sayısı bulunmuştur. Ortalama kömeçteki çiçek sayısı 32 adet olarak saptanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Kömeçteki çiçek sayısı dağılımı

4.2.2.3. Meyvedeki Tohum Sayısı

Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) bitkisinde çiçeklenme sonrası meyvedeki tohum sayısı ile ilgili ölçümler Çizelge 4.3’de verilmiştir. Meyve başına en fazla tohum sayısı 60 adet olurken, En düşük tohum sayısı 19 adet olarak bulunmuştur. Meyvedeki ortalama tohum sayısı 35,65 adet olarak saptanmıştır (Şekil 4.10).

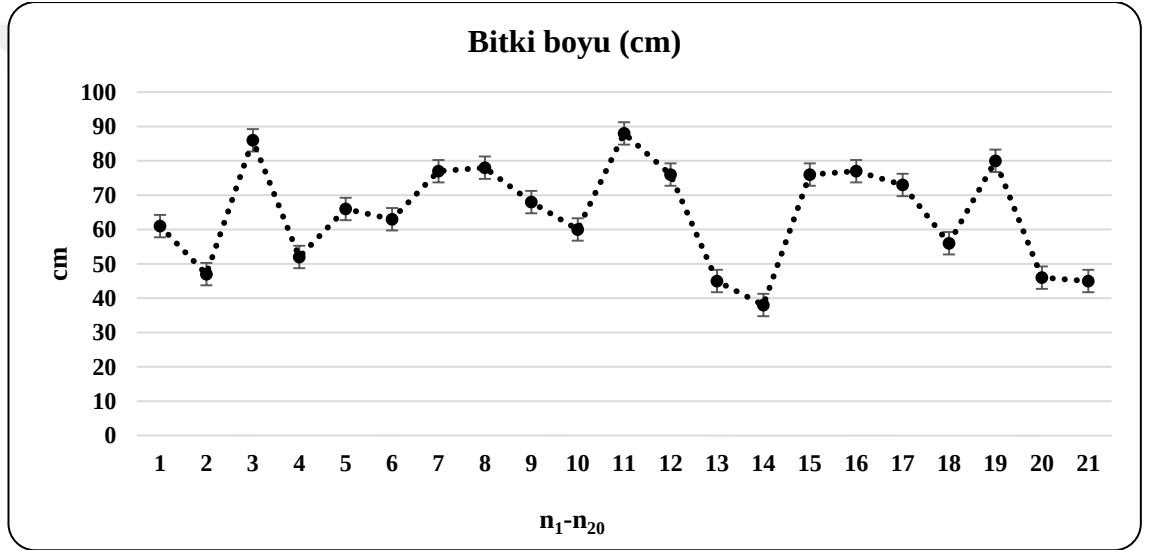


Şekil 4.10. Meyvedeki tohum sayısı dağılımı

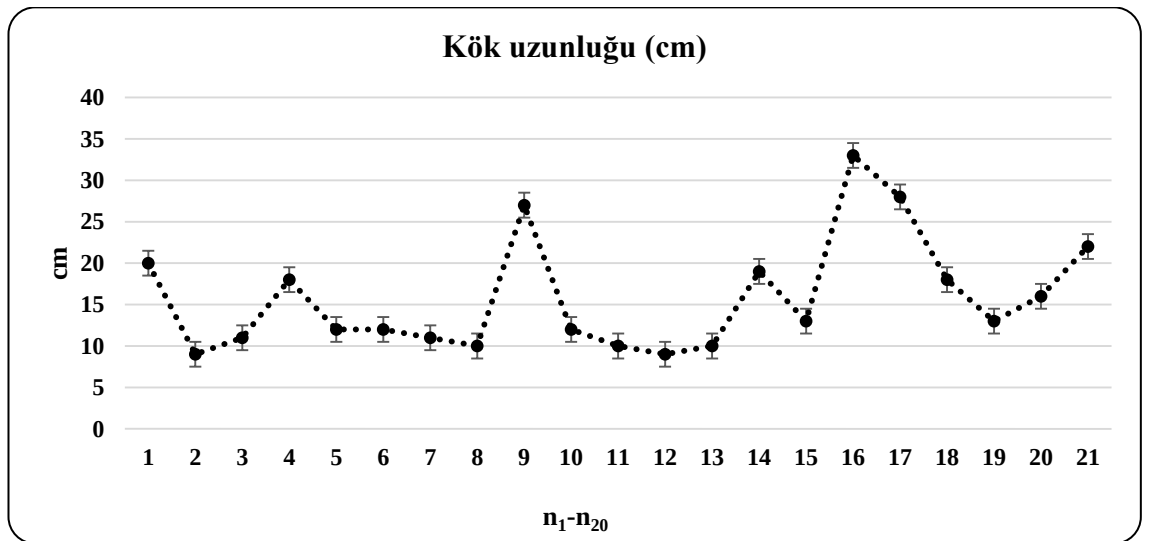
4.2.2.4. Bitki Boyu ve Kök Uzunluğu

Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) bitkisinde çiçeklenme sonrası bitki boyu ve kök uzunluğu ilgili ölçümler Çizelge 4.3’de verilmiştir. En uzun bitki boyu 88 cm ve kısa bitki boyu 38 cm olarak ölçülmüştür. Ölçümü yapılan bitkilerin ortalama bitki boyu 65,85 cm olarak saptanmıştır (Şekil 4.11).

Bitki kök uzunluğu ile ilgili ölçümlerimizde en uzun kök uzunluğu 60 cm, en kısa kök uzunluğu 19 cm olarak saptanmıştır. Ortalama kök uzunluğu 35,65 cm bulunmuştur (Şekil 4.12).



Şekil 4.11. Bitki boyu dağılımı



Şekil 4.12. Kök uzunluğu dağılımı

4.3. *İn Vitro* Kùltür Araştırma Bulguları

Kùltür başlangıcından bir hafta sonra kùltùrlerde yapılan gözlemlerde; sürgün ucu ve nod segmentlerinin kesilme yerlerinde ve tüm eksplantatta bir şişme olduğu gözlenmiştir

15. günde yapılan gözlemlerde; sürgün ucu ve nod segmentlerinin kesilme yerlerinde doğrudan sürgün rejenerasyonunun olduğu gözlenmiştir.

Kùltür başlangıcından üç hafta sonra oluşan sürgün ucu (şekil 4.13.) ve nod eksplantatlarının kesim yerlerinde oluşan sürgünlerde belirgin bir büyümenin olduğu görölmüştür (şekil 4.14.).

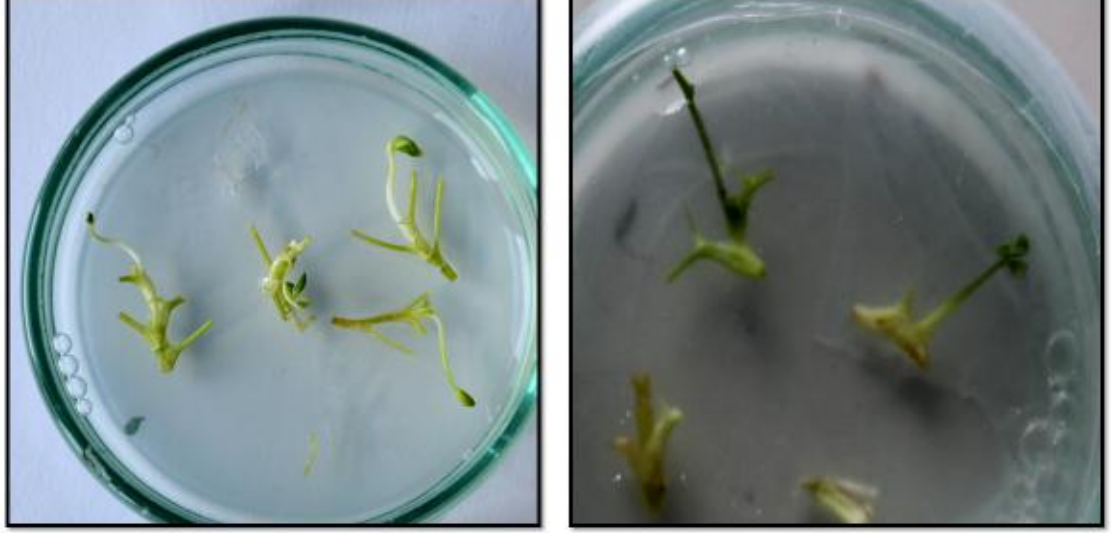


şekil 4.13. Kùltür başlangıcından üç hafta sonra sürgün ucu eksplantatında oluşan sürgün



şekil 4.14. Kùltür başlangıcından üç hafta sonra nod eksplantatında oluşan sürgün

Kültürler, kültür başlangıcından 5 hafta sonra indüksiyon ortamından rejenerasyon ortamına aktarılacak hale gelmiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Kültür başlangıcından beş hafta sonra sürgün ucu-nod ekplantatlarında oluşan sürgünler

Gelişme ortamına aktarılan bitkicikler sekiz haftalık kültür sonunda saksıya şaşırtılabilecek büyüklüğe erişmiştir (Şekil 4.16.).



Şekil 4.16. Kültür başlangıcından sekiz hafta sonra gelişme ortamına aktarılan bitkicikler

4.3.1. Sürgün İndüksiyon Oranı

İki farklı eksplantat (sürgün ucu ve nod) ile dört farklı 2,4-D (2 mg L^{-1} , 4 mg L^{-1} , 6 mg L^{-1} ve 8 mg L^{-1}) oksin konsantrasyonunu içeren MS besisi ortamında kültüre alınan çilek üçgülü bitkisinin sürgün oluşturma oranlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.4’ de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Farklı çilek üçgülü eksplantatlarının, farklı 2,4-D konsantrasyonlarının sürgün oluşum oranına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması	F Değeri
Eksplantat (A)	1	0.03	0.24
Hata-1	4	0.11	
2,4-D konsantrasyonlar (B)	3	0.34	6.42**
EkplantatxKonsantrasyon (AxB)	2	0.35	6.57**
Hata-2	24	0.05	
Genel	39		

** $p \leq 0.01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli
DK: % 45.86, SD: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.4’de izlendiği gibi çilek üçgülü eksplantatların sürgün oluşturma oranı; oksin konsantrasyonları ve eksplantat x oksin konsantrasyonu interaksiyonlarından önemli derecede etkilenmiştir.

4.3.1.1. 2,4-D Konsantrasyonların Sürgün Oluşumuna Etkisi

Araştırma bulguları, kullanılan oksin konsantrasyonlarının sürgün oluşum oranına etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.4).

4 mg L^{-1} ’lik oksin konsantrasyonu ortalama % 75 sürgün oluşum oranı ile en yüksek sürgün oluşum oranı sağlamıştır. Ancak, 2 mg L^{-1} ‘lik oksin konsantrasyonundan istatistiksel olarak farksız olmuştur (Çizelge 4.5).

Oksin konsantrasyonu 4 mg L^{-1} ’ den itibaren arttıkça, ortalama sürgün oluşum oranında da bir azalma eğiliminin ortaya çıktığı saptanmıştır. Araştırmamızda oksin konsantrasyonlarının sürgün oluşum oranlarını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemesi ile ilgili bulgularımız, Rybczynski (1997)’ nin aynı bitki ile Karadotchevaa ve ark. (1995) Uranbey ve ark. (2005) ve Konieczny (2010)’nin farklı türdeki bulgularını desteklemektedir.

Çizelge 4.5. Oksin konsantrasyonlarının ortalama sürgün oluşum oranına etkisi

Konsantrasyonlar	Sürgün oluşum oranı (%)
2 mg L ⁻¹	52,5 + (49,38) AB**
4 mg L ⁻¹	75,0 (64,33) A
6 mg L ⁻¹	35,0 (34,58) B
8 mg L ⁻¹	43,0 (37,5) B
Ortalama	51,3 (46,44)

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar LSD testine göre $p \leq 0,01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

+ Açı değerleri

4.3.1.2. Konsantrasyon x Eksplantatın Sürgün Oluşumuna Etkisi

Konsantrasyonların sürgün oluşum oranı üzerindeki etkisi kullanılan eksplantatlara bağlı olarak etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonların Farklı eksplantatlarda ortalama sürgün oluşum oranına (%) etkisi

Konsantrasyonlar	Eksplantatlar	
	Sürgün	Nod
2 mg L ⁻¹	66,0 (71,66) A	14,0 + (27,15) C*
4 mg L ⁻¹	46,0 (62,88) AB	38,0 (65,77) AB
6 mg L ⁻¹	16,0 (33,12) BC	16,0 (36,00) BC
8 mg L ⁻¹	8,0 (24,12) C	14,0 (48,00) ABC
Ortalama	34,0 (47,94)	20,5 (44,23)

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar LSD testine göre $p \leq 0,01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

+ Açı değerleri

Nitekim, 2 mg L⁻¹, oksin konsantrasyonunda kültüre alınan sürgün ucu eksplantatları ortalama % 66 sürgün oluşum oranı ile en yüksek olurken, 4 mg L⁻¹'lik oksin konsantrasyonunda kültüre alınan sürgün ucu ve nod eksplantatlarının ortalama

sürgün oluşum oranları ile istatistiki açıdan farklı bulunmamıştır. Sürgün ucu eksplantatlarında konsantrasyonun 2 mg L⁻¹'den itibaren yükseltilmesi ile ortalama sürgün oluşum oranlarında da bir düşüşün olduğu gözlemlenmiştir. Nod eksplantatlarında konsantrasyonun 4 mg L⁻¹'den itibaren azalması ve yükselmesi ile ortalama sürgün oluşum oranlarında da bir düşüşün olduğunu ortaya çıkarmıştır (Çizelge 4.6).

Araştırmada oksin konsantrasyonu eksplantat interaksiyonunun sürgün oluşum oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemesi ile ilgili bulgularımız, Uranbey ve ark. (2005) ve Çölgeçen ve Toker (2008)' in bulgularını desteklemektedir.

4.3.2. Rejenerasyon Oranı

İki farklı eksplantat (sürgün ucu ve nod) ve dört farklı 2,4-D (2 mg L⁻¹, 4 mg L⁻¹, 6 mg L⁻¹ ve 8 mg L⁻¹) konsantrasyonunu içeren MS besisi ortamında kültüre alınan çilek üçgülü bitkisinin rejenerasyon oranına uygulanan varyans analiz sonuçları çizelge 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı çilek üçgülü eksplantatlarının, farklı 2,4-D konsantrasyonlarının rejenerasyon oranına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Eksplantat (A)	1	18,23	12,90*
Hata-1	4	1,41	
2,4-D konsantrasyonlar (B)	3	25,69	7,36**
EkplantatxKonsantrasyon (AxB)	2	17,29	4,95**
Hata-2	24	3,49	
Genel	39		

* p ≤ 0.05 hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

**p ≤ 0.01 hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

DK: % 68.57

Çizelge 4.7'de izlendiği gibi çilek üçgülü eksplantatların rejenerasyon oranı; eksplantat, oksin konsantrasyonları ve eksplantat x oksin konsantrasyonu interaksiyonlarından önemli derecede etkilenmiştir.

4.3.2.1. Eksplantatın Etkisi

Araştırma bulguları kullanılan çilek üçgülü bitkisinin rejenerasyon oranına

eksplantatların etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.7).

Sürgün ucu eksplantatının ortalama rejenerasyon oranı bakımından, nod eksplantatından istatistiki olarak daha üstün olduğu görülmüştür (Çizelge 4.8). Nitekim, petri kutusu ortalama rejenerat sayısı sürgün ucu ekplantatında 3,4 (Rejenerat/petri) olurken, nod ekplantatında 2,0 olarak (Rejenerat/petri) bulunmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Farklı eksplantatların ortalama rejenerasyon oranına etkisi

Eksplantat	Rejenerasyon Oranı (Rejenerat/petri)
Sürgün	3,4 +(1,80) A*
Nod	2,0 (1,53) B

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar t- testine göre $p \leq 0,05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

+ Açı değerleri

Araştırmada farklı eksplantatların rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemesi ile ilgili bulgularımız, Özcan ve ark.(1992), Chandra ve ark. (1997), Sancak ve ark.(2000), Çeliktaş (2001), Şahin-Demirbağ ve ark. (2008) 'nın farklı türlerde yaptıkları çalışma bulgularını desteklemektedir.

4.3.2.2. 2,4-D konsantrasyonların Rejenerasyon Oranına Etkisi

Araştırma bulguları kullanılan çilek üçgülü bitkisinin rejenerasyon oranına 2,4-D konsantrasyonlarının etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.9. Oksin konsantrasyonlarının ortalama rejenerasyon oranına etkisi

Konsantrasyonlar	Rejenerasyon Oranı (Rejenerat/petri)
2 mg L ⁻¹	4,0 +(1,91) AB**
4 mg L ⁻¹	4,2 (2,14) A
6 mg L ⁻¹	1,6 (1,42) BC
8 mg L ⁻¹	1,1 (1,19) C
Ortalama	2,7 (1,66)

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar LSD testine göre $p \leq 0,01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

+ Açı değerleri

4 mg L⁻¹'lik oksin konsantrasyonu ortalama 4,2 adet (Rejenerat/petri) rejenerat sayısı ile en yüksek olurken, 2 mg L⁻¹ 'lik oksin konsantrasyonundan istatistiksel olarak farklı olmayan ortalama rejenerasyon oranına sahip olmuştur. (Çizelge 4.9).

4 mg L⁻¹'lik oksin konsantrasyonundan itibaren konsantrasyon oranı yükseltikçe petri başına rejenerat sayısında bir azalma olmuştur. Nitekim, 6 mg L⁻¹ 'lik oksin konsantrasyonunda petri başına ortalama 1,6 adet rejenerat elde edilirken 8 mg L⁻¹ oksin konsantrasyonunda 1,1 rejenerat elde edilmiştir.

Araştırmada farklı 2,4- D konsantrasyonlarının rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemesi ile ilgili bulgularımız, Thomas ve Scott (1985), Özcan ve ark.(1992), Özcan (1995), Chandra ve ark. (1997), Özgen ve ark. (1997), , Sancak ve ark.(2000), Çeliktaş (2001), Şahin-Demirbağ ve ark. (2008)'nın bulgularını desteklemektedir.

4.3.2.2. Konsantrasyon x Eksplantatın Rejenerasyon Oranına Etkisi

Oksin konsantrasyonlarının rejenerasyon oranı üzerindeki etkisi kullanılan eksplantatlara bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonların farklı eksplantatlarda ortalama rejenerasyon oranına (Rejenerat/petri) etkisi

Konsantrasyonlar	Eksplantatlar	
	Sürgün	Nod
2 mg L ⁻¹	6,6 (2,50) A	1,4 ⁺ (1,34)BCD*
4 mg L ⁻¹	4,6 (2,24) AB	3,8 (2,04) ABC
6 mg L ⁻¹	1,6 (1,40) BCD	1,6 (1,44) BCD
8 mg L ⁻¹	0,8 (1,06) D	1,4 (1,32) CD
Ortalama	3,4 (1,74)	2,05 (1,54)

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar LSD testine göre p≤0,01 hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

⁺ Açı değerleri

Nitekim, 2 mg L⁻¹ oksin konsantrasyonunda kültüre alınan sürgün ucu eksplantatları ortalama 6,6 adet (Rejenerat/petri) rejenerat sayısı ile en yüksek olurken, 4 mg L⁻¹ lik oksin konsantrasyonunda kültüre alınan sürgün ucu ve nod

eksplantatlarının ortalama rejenerat oranları ile istatistiki açıdan farklı bulunmamıştır. Sürgün ucu eksplantatlarında konsantrasyonun 2 mg L⁻¹’ den itibaren yükseltilmesi ile ortalama rejenerasyon oranında bir azalma olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.10).

Araştırmada farklı 2,4- D konsantrasyonları x eksplantat interaksyonu, rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemesi ile ilgili bulgularımız, Özcan ve ark.(1992), Özcan (1995), Chandra ve ark. (1997), Özgen ve ark. (1997), Sancak ve ark.(2000), Çeliktaş (2001), Uranbey ve ark. (2005) ve Çölgeçen ve Toker (2008) ve Şahin-Demirbağ ve Kendir (2009)’ in bulgularını desteklemektedir.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmada, Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Selam Çiftliği içerisindeki doğal alanlardan toplanan çilek üçgülü tohumları materyal olarak kullanılmıştır. Tohumlardan çimlenen bitkilerin bazı morfolojik özelliklerin saptanması, somatik kromozom sayılarının tespiti ve *in vitro* kültürde eksplantat olarak kullanılması olanaklarının ortaya konması amaçlanmıştır.

Araştırmadan elde edilen bulgular; çilek üçgülü ekotipinde yapılan somatik kromozom sayımları; ekotipin $2n=2x=16$ kromozomlu olduğunu ortaya koymuştur. Bölgedeki çilek üçgülü populasyonunun diploid formda olduğunu ve $2n=2x=16$ kromozom sayısına sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla farklı ploidi seviyesine ait bitkilerin de bulunabileceğini söyleyebiliriz.

Morfolojik araştırmaları için 13x13x13 cm boyutlarındaki saksılara ekilen 20 bitkinin çenek yaprağında, ilk tekli yaprağında, üçlü yaprağın bir yan yaprakçığında ve orta yaprakçığında verniyer bölmeli kompasla uzunluk/genişlik ölçümleri yapılmıştır. Çiçeklenme devresinde de 20 bitkide bunların da her birinin üst yarısından 20 olgun üçlü yaprağın orta yaprakçığında, taç yaprağında uzunluk/genişlik ölçümleri yapılmıştır. Çiçeklenme döneminde 20 bitkinin üçlü yaprağın orta yaprakçığında verniyer bölmeli kompasla uzunluk/genişlik ölçümleri yapılmıştır. 20 kömeçte; kömeç çapı, kömeçte çapı, bir kömeçteki çiçek sayısı, meyvedeki tohum sayısı, bitki boyu, kök uzunluğu ağırlığı saptanmıştır.

Morfolojik araştırma sonuçları, morfolojik özellikler açısından önemli varyasyon olduğunu ortaya koymuştur.

İki farklı eksplantat (sürgün ucu ve nod) ile dört farklı 2,4-D (2 mg L^{-1} , 4 mg L^{-1} , 6 mg L^{-1} ve 8 mg L^{-1}) oksin konsantrasyonunu içeren MS besi ortamında kültüre alınan çilek üçgülü bitkisinin sürgün oluşturma özelliklerinin saptanması amaçlanmıştır.

Araştırma sonuçları, sürgün oluşum oranı ve rejenerasyon oranının 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur.

In vitro kültürde sürgün ucu ve nod olarak kullanılan eksplantatların sürgün oluşum oranı 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak % 43 ile % 52,5 arasında, rejenerasyon oranı (rejenerant/petri) ise 1,1 ile 4,0 arasında değişim göstermiştir. En yüksek sürgün oluşum oranı ve rejenerasyon oranı sürgün ucu eksplantatından ve MS

besi ortamında, 2 mg L⁻¹ 2,4-D konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. En yüksek sürgün oluşum ve rejenerasyon oranı sürgün ucu eksplantatlarından sağlamıştır.

Araştırma sonuçlarına dayanarak, ilek üçgülü bitkisinde sürgün ucu *in vitro* kültüründe doğrudan sürgün oluşumu yoluyla rejenerasyon için 2 mg L⁻¹ 2,4-D ilave edilmiş MS ortamının kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

.



KAYNAKLAR

- Alinoğlu, N. 1984 Investigations on The Effect of Grazing and Complete Rest Treatments on Range Vegetation. In: Grassland and Animal Husbandry Research Institute Research Activities, Edited By Karabulut, A. and Munzur, M. Ministry of Agriculture Forestry and Village Affairs Grassland and Animal Husbandry **Research Institute Pub.** 97, pp. 13-16.
- Alinoğlu, N. and Mülâyim, M. 1984. Investigations on Effects of Some Fertilizers on Green Grass Yields of Natural Pasture and Meadow in Ankara Conditions. In: Grassland and Animal Husbandry Research Institute Research Activities, Edited By Karabulut, A. and Munzur, M. Ministry of Agriculture Forestry and Village Affairs Grassland and Animal Husbandry **Research Institute Pub.** 97, pp.17-18.
- Altın, M. 1975. Erzurum Şartlarında Azot, Fosfor ve Potasyumlu Gübrelerin Tabii Çayır ve Mer'anın Ot Verimine, Otun Ham Protein ve Ham Kül Oranına ve Bitki Kompozisyonuna Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. **A.Ü: Basım Evi** Araştırma Serisi No: 95 Erzurum.
- Alimardani, F., Torabi, S., Naghavi, M. R. and Ebrahimi, A. 2014. Study of Cytological Among Some Trifolium Species of Iran. **Journal Interciencia** Vol:39 No:04, 147-151.
- Barakat, M. N. 1990. *In Vitro* Culture of Tissues, Cells and Protoplasts of *Trifolium alexandrinum* L.(Egyptian clover). **Euphytica**, 48(2), 103-110.
- Brettel, R.I.S., Wernicke, W. and Thomas, E. 1980. Embryogenesis from Cultured Immature Inflorescence of *Sorghum bicolor*. **Protoplasma** 104: 141-148.
- Can, E., and Hatipoğlu, R. 2000. Besi Ortamı, Oksin Çeşidi ve Konsantrasyonunun Sarı Sakal Otu (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng) Bitkisinin Genç Salkımlarından Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Etkisi." **Türk J Agric For** 24 (2000): 221-230.
- Can, E., Çeliktas, N. and Hatipoğlu, R. 2000. Adi Yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) Bitkisinin Genç Salkımlarından Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Genotip ve 2, 4-D Konsantrasyonunun Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. **Türk J Agric For**, 24: 113-119.
- Chandra, R., Khetarpal, S. And Polisetty, R. 1997 Effect of Plant Growth Regulators on Evolution of Ethylene and Methane by Different Explants of Chickpea **Biol. Plant.**, 40 (3); 337-343.
- Chen, C.H., Songstad, D.D. ve Boe, A.A., 1985. Direct Plant Regeneration from Inflorescence Cultures of Orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). **Proc. S.D. Acad. Sci.** 64:77-81.
- Conger, B.V., Hanning, G.E., Gray, D.J. ve Mcdaniel, J.K., 1983. Embryogenesis from Mesophyll Cells of Orchardgrass. **Science** 221: 850-851.
- Çeliktas, N. 2001. Korunga (*Onobrychis sativa* L.) Islahında *In vitro* Kültür Tekniklerinden Yararlanma Olanakları Üzerine Bir Araştırma Doktora Tezi **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana.
- Cölgeçen, H. and Toker, M.C. 2008. Plant Regeneration of Natural Tetraploid *Trifolium Hum Pratense* L. **Biol. Res.**, 41: 25-31.

- Dale, P.J. 1980. Emryoids from Cultured Immature Embryos of *Lolium multiflorum*. **Z. Pflanzenphysiol.** 100: 73-77.
- Dale,P.J. and Dalton, S.J. 1983. Immature Inflorescence Culture in *Lolium*, *Festuca*, *Phleum* and *Dactylis*. **Z.Pflanzenphysiol.** 111:39-45.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu O. ve Gürbüz F. 1987. Araştırma ve Deneme Metodları, **Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları**, No: 295, Ankara.
- Elçi Ş., 1982. Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri, **Fırat Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi**, Biyoloji No. 3, Elazığ.
- Frame, J. 2005. *Trifolium fragiferum* L. [Online]. Available at <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/gbase/data/pf000500.htm> (accessed 26July 2010).
- Gençkan, M.S. 1983. Yembitkileri Tarımı. **E.Ü.Z.F. Yayınları** No:467.
- Hatipoğlu, R. 1991. Untersuchungen über die Zytologischen Eigenschaften und In-Vitro-Kulturmöglichkeiten von Zwei Wild Vokommeenden Grasarten, *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf und *Dactylis glomerata* L., aus dem Çukurova Gebiet, Südtürei. Dissertation an der Universitaet Hohenheim.
- Hatipoğlu, R., Hesemann, C.U. ve Gland, A., 1992. Çukurova Üniversitesi Kampüsü İçindeki Doğal Mer'alardan Toplanan domuz Ayırığı (*Dactylis glomerata* L.) Populasyonunuda Sitolojik Araştırmalar. **Ç.Ü.Z.F.dergisi** 7, (4): 141-156.
- Hatipoğlu, R., 1995. Biyoteknolojiye Giriş Ç.Ü.Z.F. Ders Kitabı No: 129.
- Jia, J. F., Wu, N. F., Shi, Y. J. and Zhang, Q. 1989. Plant Regeneration From Callus Protoplasts of Sainfoin (*Onobrychis viciaefolia*). **Acta Biol. Exp. Sinica.** 22 (1989): 353-357.
- Karadağ, Y. 1994. Çukurova Bölgesi Doğal Vejetasyonlarında Yaygın Olarak Bulunan Bazı Tek Yıllık Yonca Türünün (*Medicago scutellata*, *Medicago orbicularis* ve *Medicago polymorpha*) Sitolojik, Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana.
- Karadotchevaa, D., Vlahovabc, M., Mihovskya, Z., Alexandrovaa, B. and Stoevskaa, T. 1995. In Vitro Culture and Somatic Embryogenesis of White Clover (*Trifolium Repens* L.) . **Biotechnol. & Biotechnol. Eq.** 9:1.
- Konieczny, R., Pilarska, M., Tuleja, M., Salaj, T. and Ilnicki, T. 2010. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Zygotic Embryos of *Trifolium nigrescens* (Viv.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 100, n. 2, p. 123-130.
- Kuşvuran, A., Nazlı, R. İrfan ve Tansı, V. 2011. Türkiye’de ve Batı Karadeniz Bölgesi’nde Çayır-Mera Alanları, Hayvan Varlığı ve Yem Bitkileri Tarımının Bugünkü Durumu. **Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi** (2).
- Lesins, K. and Lesins, I., 1972. Taxonomy and Cytogenetics of *Medicago*. In C.H. Hanson (ed.) Alfalfa Science and Technology. **Agronomy** 15 : 53-86.
- Lees, G. L. 1988. Influence of benzyladenine on condensed tannin formation and callus growth in cultures from sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) cotyledons. **Plant cell reports**, 7(3), 166-169.
- McWilliam, J.R.,1964. Cytogenetic. In: Grasses and grasland, pp: 154-167, Barnand, C.(Eds.) , McMillan and Co. Ltd., London.

- Mulin, M., & Bellio-Spataru, A. 2000. Organogenesis from hypocotyl thin cell layers of *Lupinus mutabilis* and *Lupinus albus*. *Plant growth regulation*, 30(2), 177-183.
- Murashige, T., Skoog S., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Culture , **Physiol. Plants**, 15, 473-497.
- Myer, J.R., 1945. Prefixing With Paradichlorobenzene to Facilitate Chromosome Study, *Stain Techn.*, Vol. 20, No : 4, 121-125.
- O' Mara, J.G. 1948. Acetic Acid Methods for Chromosome Studies at Prophase and Metaphase in Meristems, **Stain Techn.**, 23: 201-204.
- Özcan, S., Barghchi, M., Firek, S. and Draper, J. 1992. High Frequency Adventitious Shoot Regeneration from Immature Cotyledons of Pea (*Pisum sativum* L.). *Plant cell reports*, 11(1), 44-47.
- Özcan, S., Barghchi, M., Firek, S. And Draper, J. 1993. Efficient Adventitious Shoot Regeneration and Somatic Embryogenesis in Pea. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 34(3), 271-277.
- Özcan, S. 1995 In vitro Micropropagation of Pea (*Pisum sativum* L.) from Immature embryos. *Tr. J. of Botany*, 19:427-429.
- Özcan, S. 1995 In Vitro Micropropagation of Pea (*Pisum sativum* L.) from Immature Embryos. **Tr. J. of Botany**, 19:427-429.
- Ozcan S, Yıldız M, Sancak C, Ozgen, M. 1996. Adventitious Shoot Regeneration in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). **Turkish Journal of Botany** 20:497-501.
- Özgen, M., Özcan, S., Sevimay, C. S., Sancak, C. and Yildiz, M. 1998. High Frequency Adventitious Shoot Regeneration in Sainfoin. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 52(3), 205-208.
- Pederson, G. A. 1986. In Vitro Culture and Somatic Embryogenesis of Four *Trifolium* Species. **Plant Science**, 45(2), 101-104.
- Petrova, A. V. and Kozuharov. S. I. 1982. Cytotaxonomic Study of *Trifolium* L. in Bulgaria: I. **Fitologija** 19: 3–23.
- Pilarska M., Malec P., Salaj J., Bartnicki F., Konieczny R., 1997. High Expression of Somatic Embryogenesis Receptor-Like Kinase Coincides with Initiation of Various Developmental Pathways in In Vitro Culture of *Trifolium nigrescens* **Protoplasma**, Pages: 1-11.
- Pupilli, FD, Amiani F, Pezzotti M, Arcioni S 1989. Plant Regeneration from Callus Protoplasts of *Onobrychis viciifolia* Scop. (sainfoin). **Plant Science** (Limerick) 63(1): 87-94.
- Radomska. ZB (2000). Morphological Relationships among 15 Species of *Trifolium* Occurring in Poland. **Genetic Resource and Crop Evolution**, 47:267-272.
- Rybczynski, J.J. 1997 . Plant Regeneration from Highly Embryogenic Callus, Cell Suspension and Protoplast Cultures of *Trifolium fragiferum*. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.**, 51: 159-170.
- Sancak, C., Mirici, S. and Özcan, S. 2000. High frequency shoot regeneration from immature embryo explants of Hungarian vetch. *Plant cell, tissue and organ culture*, 61(3), 231-235.
- Sass, J.E., 1951. Botanical Microtechnique, The Iowa, State College Press, Press Building, Ames, Iowa. U. S. A. 106-107.

- Sheidai, M., Hamata, A., Jaffari-Mofidabadi, A. and Noori-Dalooi M.R. 1998. Karyotypic Study of *Trifolium* Species and Cultivars in Iran **J.Sci.** I.R. Iran, Vol.9, No.3, 1998,Page:215-222.
- Şahin-Demirbağ N., Kendir H.,Khawar M.,Aasim M. 2008. In Vitro Regeneration of Turkish Endemic *Trifolium pannonicum* Jacq ssp.*elongatum* (willd) Pages: 921-924, **Biotechnol & Biotechnol. EQ.22** (4).
- Şahin-Demirbağ, N. A. and Kendir, H. (2009). Uzun Yapraklı Üçgülün (*Trifolium pannonicum* ssp. *elongatum*) Hipokotil ve Yaprak Sapı Eksplantından in Vitro Çoğaltılması. **Tarım Bilimleri Dergisi**, 15(4), 319-323.
- Taş, N. ve Aykas L.,2013. Çilek üçgülü (*Trifolium fragiferum* L.) Doğal Populasyonlarının Karakterizasyonu ve Ön Değerlendirilmesi. **Türkiye 10. Tarla Bitkileri Kongresi** 10-13 Eylül, Konya, 306--310.
- Thomas, M.R. ve Scott, K.J., 1985. Plant Regeneration by Somatic Embryogenesis from Callus Initiated from Immature Inflorescences of *Hordeum vulgare* .**J. Plant Physiol.** 121: 159-169
- Topaktaş, M. ve Rencüzoğulları, E. 1995. Sitogenetik Ders Kitabı **Ç.Ü.Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji** ISBN 975-487-026-8.
- Tosun, F., Manga, İ., Altın, M. ve Serin, Y. 1975. Erzurum Şartlarında Kıraç Mer'a Islahı Üzerinde Bir Araştırma. **Tübitak v. Bilim Kong.** TOAG.
- Tuik, 2014. [https:// www.google.com.tr/ webhp?sourceid= chrome-instant&ion=1&espv= 2&ie=UTF-8#q=tuik%20mera%20alan%C4%B1](https://www.google.com.tr/webhp?sourceid=chrome-instant&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=tuik%20mera%20alan%C4%B1).
- Tükel, T. ve Hatippoğlu, R., 1987. Çukurova Koşullarında Farklı Azot Dozlarının Tüylü Sakalotu (*Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf)'nın Baskın Olduğu Doğal Bir Mer'anın Verim ve Botanik Kompozisyonuna Etkisi Üzerinde Bir Arştırma. **Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi** Cilt 2 (1): 10-24.
- Tükel, T. 1992. Çayır Mer'a Amenajmanı. **Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Ders Kitabı** No:17
- Uranbey, S., Sevimay, C.S., Özcan, S. (2005) Development of high frequency multiple shoot formation in Persian clover (*Trifolium resupinatum* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 80: 229-232.
- Wernicke W, Grost J, Molkovits L 1986. The Ambiguous Role of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Wheat Tissue Culture. **Physiologia Plantarum** 68:597-602.

ÖZGEÇMİŞ

1988 yılında Mersin’de doğdu. İlk, Orta ve Lise eğitimini Mersin’de tamamladı. Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü’nü 2007 yılında kazandı. 2012 yılında mezun oldu. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı.

