

Bazı Bitki Hormonlarının Korungada (*Onobrychis sativa* L.) *In Vitro* Özellikler Üzerine Etkisi

Esin DADAŞOĞLU¹, Metin TOSUN²

ÖZET: Bu çalışma, bitki hormonlarından (BH) naftalen asetik asit (NAA), 6-benzil amino pürin (BAP), kinetin (KIN) ve thidiazuron (TDZ)'un korunga (*Onobrychis sativa* L.) bitkisinin bazı *in vitro* özelliklerine olan etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Toplam 42 farklı yöntemin denendiği bu çalışma iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada tohumlar hormonsuz ortamda çimlendirilmiş, ikinci aşamada ise hormonsuz ortamda çimlendirilmiş tohumlardan meydana gelen bitkiciklerden eksplantlar (kotiledon, kök ve hipokotil) alınarak farklı hormon, doz ve hormon-doz kombinasyonlarını içeren ortamlara aktarılmıştır. Bitki hormonlarının etkisine bakıldığında en fazla sayıda sürgün oluşumu kök eksplantından 29.0 adet ile 1.5 mg l⁻¹ BAP'dan doksanıncı gün sonunda elde edilmiştir. Kotiledonlarda kültür süresindeki artışa bağlı olarak sürgün sayısı artmış ve en fazla sürgün 7.8 adet ile TDZ'nin 1.0 mg l⁻¹'lik dozundan doksanıncı günün sonunda elde edilmiştir. Kök oluşumu bakımından en iyi sonuç ise 14.8 adet ile 0.4 mg l⁻¹ NAA'dan hipokotilden elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitki hormonları, doku kültürü, korunga, *Onobrychis sativa* L.

The Effect of Some Plant Hormones on *In Vitro* Properties of Sainfoin (*Onobrychis sativa* L.)

ABSTRACT: This study prepared was carried out determining plant hormones (PH) (NAA, BAP, KIN and TDZ) on formation of tissue culture on the sainfoin plants (*Onobrychis sativa* L.) grown in *in-vitro* conditions. This study which is applied 42 different methods was performed. In the first stage, the seeds were sprouted in hormone-free environment. In the second stage, the explants (cotyledon, root and hypocotyl) obtained from the plantlets were transferred to the mediums including different hormone, dose and hormone-dose combinations. For the effect of plant growth hormones, the highest number of shoots (29.0 nr) was obtained from root explant the dose 1.5 mg l⁻¹ of BAP in the end of 90th day. Shoot number on cotyledones increased depending on increasing number of treatment/day and the highest number of shoot (7.8 nr) was obtained from the dose 1.0 mg l⁻¹ of TDZ in the end of 90th day. The best result in terms of rooting (14.8 nr) was obtained from the dose 0.4 mg l⁻¹ of NAA from hypocotyl.

Key words: *Onobrychis sativa* L., plant growth hormones, sainfoin, tissue culture.

¹ Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ağrı, Türkiye

² Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Erzurum, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Esin DADAŞOĞU, esinsahin81@hotmail.com

* Bu makale: 'Bazı bitki ve memeli cinsiyet hormonlarının korungada (*Onobrychis sativa* L.) *in vitro* özellikler üzerine etkisi' başlıklı doktora tezinin bir bölümünden hazırlanmıştır.

GİRİŞ

Baklagil yem bitkilerinin ülkemizin tarımında bu günkü üretim alanından çok daha geniş alanlarda üretilmesi tarımımızın gelişmesi ve teknolojinin gösterdiği yolda başarıya ulaşması için zorunludur (Elçi, 2005). Bu nedenle ülkemize hem tarımsal hem de ekonomik açıdan büyük faydalar sağlayacak yem bitkileri yetiştiriciliğine gereken önem verilmeli ve bu amaçla yapılacak olan çalışmalar her yönden desteklenmelidir. Korunga geniş bir uyum kabiliyetine sahip, yüksek kalitede ot hasıl eden, kışa ve kurağa çok dayanıklı olduğundan geniş bir adaptasyon kabiliyetine sahip, kullanım alanı çok fazla olan çok yıllık bir yem bitkisidir (Tan ve Serin, 2013). Bilindiği gibi klasik bitki ıslahı teknikleri kullanılarak hastalık ve zararlılara dayanıklılık başta olmak üzere, çeşitlerin diğer birçok tarımsal özelliklerini iyileştirmede önemli sınırlamalarla karşılaşmaktadır (Özcan ve Özgen 1996). Bununla beraber, son yıllarda geliştirilen doku kültürü ve bitki genetik mühendisliği teknikleriyle hastalık ve zararlılara dayanıklı bitki çeşitleri kolaylıkla üretildiği gibi; yüksek verim kalite ve erkencilik yönünden de önemli adımlar atılmıştır (Erdoğan ve ark., 2004).

Korunga üzerine daha önce yapılmış çalışmalarda *In vitro* koşullarda korunga bitkisinin hızlı çoğaltımı için farklı konsantrasyonlardaki BAP, IBA ve NAA ilave edilen Murashige and Skoog (MS) ortamında, tek bir embriyodan, 8 hafta içerisinde yüksek oranda sürgün elde edilmiştir. En yüksek sürgün çoğaltımı, 2 mg l⁻¹ BAP ile IBA'nın 0.05 ve 0.1 mg l⁻¹lik ortamlarında ve 2 mg l⁻¹ BAP ile NAA'nın 0.05, 0.1 ve 0.5 mg l⁻¹lik ortamlarında veya 8 mg l⁻¹ BAP ile 0.05 mg l⁻¹ NAA ortamında başarılmıştır (Sancak, 1999). Korunga kotiledon nod eksplantları kullanılarak yapılan bir çalışmada ise, bitki büyüme hormonlarının (NAA ve BAP) farklı konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonu üzerine olan etkileri araştırılmıştır. NAA ve BAP'a ait 6 farklı kombinasyondan (0.5 mg l⁻¹ BAP + 0.00 mg l⁻¹ NAA. 0.5 mg l⁻¹ BAP + 0.01 mg l⁻¹ NAA. 0.5 mg l⁻¹ BAP + 0.02 mg l⁻¹ NAA. 1.0 mg l⁻¹ BAP + 0.00 mg l⁻¹ NAA. 1.0 mg l⁻¹ BAP + 0.01 mg l⁻¹ NAA ve 1.0 mg l⁻¹ BAP + 0.02 mg l⁻¹ NAA) oluşan ortamların tamamından sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. Eksplant başına sürgün sayısı en fazla (16.55 adet) 0.5 BAP + 0.00 NAA içeren ortamdan elde edilmiştir (Sağlam, 2010).

Bu çalışmanın amacı, korungada olgun embriyo kullanılarak elde edilen eksplantların farklı hormon-doza kombinasyonu içeren ortamlarda tepkilerini belirlemek

ve bunlar arasından en iyisini seçerek etkin bir rejenerasyon sistemi oluşturmaktır. Bu sayede ülkemiz tarımı için önemli bir yem bitkisi olan korungada biyoteknolojik yöntemler kullanılarak, üretimi önemli ölçüde azalan korunga bitkisinin çoğaltımını sağlamaktır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırmamızda, Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilen Lütfibey korunga (*Onobrychis sativa* L.) çeşidine ait tohumlar kullanılmıştır. Tohum kabukları ayrıldıktan sonra tohumlar önce saf su ile yıkanmış, daha sonra %70'lik etil alkolde 15 dakika ve %1'lik sodyum hipokloritte (%20'lik ticari çamaşır suyu) 30 dakika süre ile karıştırıcı da karıştırılarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Bu işlemin ardından tohumlar, steril kabin içinde üç kez otoklavlanmış saf sudan geçirildikten sonra içerisinde MS temel besi ortamı ve vitaminleri bulunan petriyer içerisinde aseptik şartlar altında 25°C'de, 16 saat gün/8 saat karanlık gün periyodunda çimlendirmeye alınmıştır. Meydana gelen bitkiciklerden kotiledon yaprağı, kök ve hipokotil eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantlar çizelge 1'de verilen kültür ortamında kültüre alınmıştır. Eksplantlar ve/veya sürgünler canlı kalma durumlarına göre 30 ve 60. günlerin sonunda 0.5 mg l⁻¹ NAA içeren MS ortamına aktarılmış gözlemler 30. 60 ve 90. gün sonunda alınmıştır. Besi ortamı olarak, MS tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog, 1962), karbonhidrat kaynağı olarak 20 gr l⁻¹ sakkaroz, 100 mg l⁻¹ askorbik asit, 7 g l⁻¹ agar, 1.95 gr l⁻¹ MES kullanılmıştır. Ortamın pH'sı 5,8 olarak ayarlanmıştır. Eksplantlar 25±1°C'de 16 saat gün/8 saat karanlık şartlarda kültüre alınmıştır. Aydınlatma kaynağı olarak floresan lambası kullanılmış ve yoğunluğu 1500 lüks olarak ayarlanmıştır. Her petri bir tekerrür olarak kabul edilip, her petri kutusuna 16 adet eksplant bırakılmış ve çalışma tam şansa bağlı deneme planına göre 4 tekrarlı olarak yürütülmüştür.

Deneme 4 farklı hormon tipi (1 oksin ve 3 sitokinin) ve her bir hormon tipine ait 5 farklı doz kullanılarak toplam 42 farklı kombinasyondan (Çizelge 1) elde edilmiştir. Bu kombinasyonların her biri bir yöntem olarak ele alınmış ve istatistiksel analizler buna göre yapılmıştır. Elde edilen bulgular SAS GLM (SAS Inst. Cary. NC) bilgisayar programı kullanılarak varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve DUNCAN çoklu karşılaştırma testine göre 0.05 ihtimal seviyesinde değerlendirilmiştir.

Çizelge 1. Denemede kullanılan kimyasallar ve miktarları

KİMYASALLAR	YÖNTEMLER													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
MS Tuzları ¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹
MS Vitamin (1000x) ²	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹
Sakkaroz ¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹
NAA	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹
BAP	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹	0.0 mg l ⁻¹	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹	0.0 mg l ⁻¹	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹
MES ¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹
Askorbik Asit (50 mg l ⁻¹) ²	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agar ¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
MS Tuzları ¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹
MS Vitamin (1000x) ²	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹
Sakkaroz ¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹
NAA	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹
TDZ	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹	0.0 mg l ⁻¹	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹	0.0 mg l ⁻¹	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹
MES ¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹
Askorbik Asit (50 mg l ⁻¹) ²	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agar ¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹
	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
MS Tuzları ¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹	4.43 g l ⁻¹
MS Vitamin (1000x) ²	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹	1 ml l ⁻¹
Sakkaroz ¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹	20 g l ⁻¹
NAA	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.2 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹	0.4 mg l ⁻¹
KİN	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹	0.0 mg l ⁻¹	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹	0.0 mg l ⁻¹	0.5 mg l ⁻¹	1.0 mg l ⁻¹	1.5 mg l ⁻¹	2.0 mg l ⁻¹
MES ¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹	1.95 g l ⁻¹
Askorbik Asit (50 mg l ⁻¹) ²	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml	2 ml
Agar ¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹	7 g l ⁻¹

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kotiledonların sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Otuzuncu ve altmışıncı günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısına ait varyans analizi sonuçlarına göre, uygulamaların (muamele) etkisi çok önemli ($p < 0.01$) olmuştur. Hormon kombinasyonlarına ait veriler incelendiğinde, otuzuncu günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 2.0 adet sürgün ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 0.5 mg l⁻¹ BAP ve 0.2 mg l⁻¹ NAA + 1.5 mg l⁻¹ BAP almıştır.

Diğer taraftan hiç hormon uygulanmadığı kontrol grupta ve 18 kombinasyonda sürgün elde edilememiştir. Ayrıca, sürgün oluşumu üzerine en az etkili hormonun NAA + KIN kombinasyonu olduğu belirlenmiştir. Altmışıncı günün sonunda ilk sırayı ortalama 3.5 adet sürgün ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 1.5 mg l⁻¹ TDZ almış, bunu 3.3 adet sürgün ile 0.4 mg l⁻¹ NAA + 1.5 mg l⁻¹ TDZ, 0.2 mg l⁻¹ NAA + 0.5 mg l⁻¹ BAP, 0.2 NAA mg l⁻¹ + 1.0 mg l⁻¹ BAP kombinasyonları izlemiştir. Diğer taraftan, kontrolde (hiç hormon uygulanmamış) ve 9 kombinasyonda sürgün elde edilememiştir. Kombinasyonlar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli bulunmuştur (Çizelge 2).

Doksanıncı günün sonuna ait (Çizelge 2) verilen ortalama değerlere bakıldığında, ilk sırayı 7.8 adet sürgün ile 0.0 mg l⁻¹ NAA + 1.0 mg l⁻¹ TDZ almış, bunu 6.0 adet ile 0.0 mg l⁻¹ NAA + 1.5 mg l⁻¹ TDZ hormon kombinasyonları izlemiş ve tüm uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur.

Sürgün oluşumu kontrolde ise 0.3 adet olmuştur. Hormon tipi yönünden değerlendirildiğinde diğerlerinde (30. ve 60. gün) olduğu gibi, en az etki eden hormonun kinetin olduğu görülmüştür.

Kotiledonların canlı kalma oranı üzerine BH'nin etkileri

Kotiledonların canlılık oranı (doksanıncı gün sonunda) üzerine hormon-doza kombinasyonuna ait uygulamalar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Kombinasyonlara ait değerlere bakıldığında, en yüksek canlılık oranı %96.9 ile 0.0 mg l⁻¹ NAA + 1.5 mg l⁻¹ TDZ'den elde edilmiştir. Kontrolde ise canlılık oranı %12.5 olmuştur. TDZ'nin yalnız kullanımının canlılık üzerine etkisinin diğer tüm hormon dozu ve kombinasyonlarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca TDZ ile NAA kombinasyonlarının genel olarak canlılık üzerine olumsuz etki ettiği, ancak BAP ile NAA ve KIN ile NAA kombinasyonlarının NAA ve BAP'ın tek başına etkisine göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir (Çizelge 2).

Hipokotilin sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Otuzuncu günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar çok önemli olmuştur. Çizelge 3'te verilen değerlere bakıldığında, ilk sırayı 16.0 adet sürgün ile kontrol uygulaması almış olup, bunu 13.0 adet sürgün ile 0.0 mg l⁻¹ NAA + 1.5 mg l⁻¹ kinetin ve 12.8 adet sürgün ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 1.0 mg l⁻¹ TDZ kombinasyonu izlemiştir. Sürgün oluşumu bakımından en etkili hormonun kinetin olduğu görülmüştür (Çizelge 3).

Çizelge 2. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre kotiledon eksplantından 30. 60 ve 90. gün sonunda sürgün oluşturanların sayısı (adet)¹ve 90. günün sonunda canlılık oranları (%)

	Hormon	Doz (mg l ⁻¹)	NAA		
			0	0.2	0.4
30.gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet sürgün/petri)	BAP	0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		0.5	0.0 ^c	2.0 ^a	0.8 ^{bc}
		1.0	0.0 ^c	0.8 ^{bc}	0.8 ^{bc}
		1.5	0.3 ^{bc}	2.0 ^a	1.3 ^{ab}
		2.0	0.5 ^{bc}	1.3 ^{ab}	1.3 ^{ab}
	KIN	0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		0.5	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		1.0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		1.5	0.0 ^c	0.0 ^c	0.5 ^{bc}
		2.0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
	TDZ	0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		0.5	0.8 ^{bc}	0.0 ^c	0.5 ^{bc}
		1.0	0.8 ^{bc}	0.0 ^c	0.5 ^{bc}
		1.5	1.3 ^{ab}	0.5 ^{bc}	1.0 ^{abc}
		2.0	0.0 ^c	0.5 ^{bc}	0.5 ^{bc}
60. gün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet sürgün/petri)	BAP	0	0.0 ¹	0.0 ¹	0.5 ^{ghi}
		0.5	2.8 ^{a-d}	3.3 ^{ab}	2.0 ^{b-f}
		1.0	1.3 ^{e-1}	3.3 ^{ab}	2.5 ^{a-e}
		1.5	2.3 ^{a-e}	2.3 ^{a-e}	2.8 ^{a-d}
		2.0	2.0 ^{b-f}	2.3 ^{a-e}	2.0 ^{b-f}
	KIN	0	0.0 ¹	0.0 ¹	0.5 ^{ghi}
		0.5	0.0 ¹	0.0 ¹	0.8 ^{f-1}
		1.0	0.0 ¹	0.0 ¹	0.0 ¹
		1.5	0.5 ^{ghi}	0.3 ^{hi}	0.5 ^{ghi}
		2.0	0.0 ¹	0.0 ¹	0.0 ¹
	TDZ	0	0.0 ¹	0.0 ¹	0.5 ^{ghi}
		0.5	2.8 ^{a-d}	0.3 ^{hi}	1.5 ^{d-h}
		1.0	3.0 ^{abc}	0.5 ^{ghi}	1.8 ^{c-g}
		1.5	3.0 ^{abc}	3.5 ^a	3.3 ^{ab}
		2.0	3.0 ^{abc}	2.8 ^{a-d}	1.5 ^{d-h}

Çizelge 2. Devamı

90. gün sonunda sürgün oluşturucu eksplant sayısı (adet sürgün/petri)	BAP	0	0.3 ^{no}	0.3 ^{no}	1.8 ⁱ⁻ⁿ
		0.5	3.0 ^{e-j}	3.3 ^{d-i}	3.0 ^{e-j}
		1.0	1.5 ^{j-o}	5.8 ^{bc}	3.3 ^{d-i}
		1.5	3.3 ^{d-i}	2.5 ^{g-k}	4.5 ^{b-e}
		2.0	2.3 ^{g-l}	4.3 ^{c-f}	2.8 ^{f-j}
	KIN	0	0.3 ^{no}	0.3 ^{no}	1.8 ⁱ⁻ⁿ
		0.5	0.3 ^{no}	0.3 ^{no}	0.5 ^{mno}
		1.0	0.0 ^o	0.0 ^o	0.0 ^o
		1.5	0.5 ^{mno}	0.8 ^{l-o}	0.0 ^o
		2.0	0.5 ^{mno}	0.0 ^o	0.0 ^o
	TDZ	0	0.3 ^{no}	0.3 ^{no}	1.8 ⁱ⁻ⁿ
		0.5	4.8 ^{bcd}	1.5 ^{j-o}	2.0 ^{h-m}
		1.0	7.8 ^a	1.0 ^{k-o}	2.0 ^{h-m}
		1.5	6.0 ^b	3.3 ^{d-i}	3.5 ^{d-h}
		2.0	3.8 ^{d-g}	4.3 ^{c-f}	1.5 ^{j-o}
90. günün sonunda canlılık oranı (%)	BAP	0	12.5 ^{n-p}	6.3 ^p	32.8 ^{i-k}
		0.5	18.8 ^{l-p}	21.9 ^{j-o}	53.1 ^{efg}
		1.0	9.4 ^{op}	53.1 ^{efg}	32.8 ^{i-k}
		1.5	20.3 ^{k-o}	29.7 ^{i-l}	62.5 ^{de}
		2.0	15.6 ^{m-p}	28.1 ^{i-m}	29.7 ^{i-l}
	KIN	0	12.5 ^{n-p}	6.3 ^p	32.8 ^{i-k}
		0.5	31.3 ^{i-l}	34.4 ^{ij}	59.4 ^{ef}
		1.0	12.5 ^{n-p}	40.6 ^{ghi}	39.1 ^{hi}
		1.5	34.4 ^{ij}	39.1 ^{hi}	39.1 ^{hi}
		2.0	23.4 ^{j-n}	34.4 ^{ij}	29.7 ^{i-l}
	TDZ	0	12.5 ^{n-p}	6.3 ^p	32.8 ^{i-k}
		0.5	76.6 ^c	56.3 ^{ef}	73.4 ^{cd}
		1.0	92.2 ^{ab}	34.4 ^{ij}	85.9 ^{abc}
		1.5	96.9 ^a	85.9 ^{abc}	50.0 ^{e-h}
		2.0	82.8 ^c	78.1 ^c	48.4 ^{fgh}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir

Çizelge 3. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre hipokotil eksplantından 30. günün sonunda sürgün oluşturanların sayısı (adet)¹, 30. ve 60. günün sonunda kök oluşturanların sayısı (adet)¹

	Hormon	Doz (mg l ⁻¹)	NAA		
			0	0.2	0.4
30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet sürgün/petri)	BAP	0	16.0 ^a	3.5 ^{n-p}	0.3 ^q
		0.5	6.3 ^{t-l}	5.5 ^{k-n}	2.5 ^p
		1.0	5.3 ^{k-n}	7.0 ^{h-k}	4.8 ^{l-o}
		1.5	5.5 ^{k-n}	5.0 ^{k-n}	5.5 ^{k-n}
		2.0	4.0 ^{m-p}	4.0 ^{m-p}	5.8 ^{j-m}
	KIN	0	16.0 ^a	3.5 ^{n-p}	0.3 ^q
		0.5	10.0 ^{ef}	12.3 ^{bcd}	8.8 ^{e-h}
		1.0	9.0 ^{e-h}	10.8 ^{cde}	10.0 ^{ef}
		1.5	13.0 ^b	10.3 ^{def}	10.8 ^{cde}
		2.0	10.8 ^{cde}	8.3 ^{f-i}	9.3 ^{efg}
	TDZ	0	16.0 ^a	3.5 ^{n-p}	0.3 ^q
		0.5	7.0 ^{h-k}	7.0 ^{h-k}	2.5 ^p
		1.0	10.3 ^{def}	12.8 ^{bc}	4.3 ^{l-p}
		1.5	7.8 ^{g-j}	4.8 ^{l-o}	3.5 ^{n-p}
		2.0	8.3 ^{f-i}	2.8 ^{op}	6.0 ^{j-m}
30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet kök/petri)	BAP	0	0.0 ^h	8.0 ^b	14.5 ^a
		0.5	2.5 ^{de}	0.8 ^{fgh}	0.5 ^{gh}
		1.0	2.3 ^{de}	0.5 ^{gh}	0.0 ^h
		1.5	0.0 ^h	1.5 ^{efg}	0.3 ^{gh}
		2.0	0.0 ^h	0.0 ^h	0.0 ^h
	KIN	0	0.0 ^h	8.0 ^b	14.5 ^a
		0.5	3.3 ^d	0.3 ^{gh}	0.5 ^{gh}
		1.0	2.5 ^{de}	0.3 ^{gh}	0.0 ^h
		1.5	2.0 ^{def}	0.3 ^{gh}	0.0 ^h
		2.0	0.5 ^{gh}	0.3 ^{gh}	0.0 ^h
	TDZ	0	0.0 ^h	8.0 ^b	14.5 ^a
		0.5	0.0 ^h	5.0 ^c	0.0 ^h
		1.0	0.0 ^h	3.0 ^d	0.0 ^h
		1.5	0.0 ^h	0.0 ^h	0.0 ^h
		2.0	0.0 ^h	0.0 ^h	0.0 ^h
60. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet kök/petri)	BAP	0	9.5 ^b	8.5 ^b	14.8 ^a
		0.5	5.0 ^c	0.8 ^{fgh}	1.3 ^{e-h}
		1.0	2.8 ^{de}	2.0 ^{d-g}	0.0 ^h
		1.5	1.5 ^{d-h}	1.5 ^{d-h}	1.8 ^{d-h}
		2.0	1.5 ^{d-h}	0.8 ^{fgh}	1.0 ^{e-h}
	KIN	0	9.5 ^b	8.5 ^b	14.8 ^a
		0.5	3.3 ^{cd}	0.3 ^{gh}	0.5 ^{gh}
		1.0	2.5 ^{def}	0.5 ^{gh}	0.0 ^h
		1.5	2.0 ^{d-g}	0.8 ^{fgh}	0.8 ^{fgh}
		2.0	0.5 ^{gh}	0.5 ^{gh}	0.0 ^h
	TDZ	0	9.5 ^b	8.5 ^b	14.8 ^a
		0.5	0.0 ^h	5.0 ^c	0.0 ^h
		1.0	0.0 ^h	4.8 ^c	0.0 ^h
		1.5	0.0 ^h	0.0 ^h	0.0 ^h
		2.0	0.0 ^h	0.0 ^h	0.0 ^h

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Hipokotilin kök oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Hipokotilin eksplant olarak kullanılması durumunda 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 14.5 adet kök ile 0.4 mg l⁻¹ NAA almış, bunu 8.0 adet ile 0.2 mg l⁻¹ NAA izlemiş ve tüm hormon kombinasyonları arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Kontrol grupta ve 18 kombinasyonda kök elde edilememiştir. Ayrıca, kök oluşumu üzerine en az etkili hormonun NAA + TDZ kombinasyonu olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3). Altmışıncı günün sonunda da ilk sırayı 14.8 adet kök ile 0.4 mg l⁻¹ NAA almış, bunu 9.5 adet ile kontrol grup, 8.5 adet ile 0.2 mg l⁻¹ NAA izlemiş ve tüm hormon kombinasyonları arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Diğer taraftan 13 kombinasyondan kök elde edilememiştir (Çizelge 3).

Kökün sürgün oluşturma kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Kökün sürgün oluşturma kapasitesi üzerine bitkisel hormonların etkilerini belirlemek amacıyla eksplantlar kültür ortamında 30. 60 ve 90 gün olmak üzere üç farklı sürede tutulmuşlardır. Otuzuncu günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 4.5 adet sürgün ile 0.0 mg l⁻¹ NAA + 0.5 mg l⁻¹ BAP almış, altmışıncı günün sonunda ilk sırayı 14.8 adet sürgün ile 0.0 mg l⁻¹ NAA + 2.0 mg l⁻¹ BAP ve doksanıncı günün sonunda ilk sırayı 29.0 adet sürgün ile 0.0 mg l⁻¹ NAA + 1.5 mg l⁻¹ BAP almış ve tüm hormon tipleri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur (Çizelge 4).

Kök eksplantının köklenme kapasitesi üzerine BH'nin etkileri

Kökün eksplant olarak kullanılması durumunda 30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı bakımından ilk sırayı 5.8 adet kök ile herhangi bir hormon uygulamasının yapılmadığı kontrol grup almış; bunu 4.8 adet ile 0.2 mg l⁻¹ NAA; 3.8 adet ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 0.5 mg l⁻¹ KIN izlemiş ve tüm uygulamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur (Çizelge 5).

Köklerden elde edilen eksplantların köklenmesi üzerine BH'nin etkileri

Köklerden oluşan sürgünlerin doksanıncı günün sonunda köklenmeleri bakımından ilk sırayı 2.8 adet sürgün ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 0.5 mg l⁻¹ TDZ almış, bunu 1.5 adet ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 1.0 mg l⁻¹ TDZ ve kontrol grup izlemiştir. Uygulamaların etkisi çok önemli olmuştur.

Köklerin canlı kalma oranı üzerine BH'nin etkileri

Doksanıncı gün sonunda kök eksplantının canlılık oranı üzerine uygulamaların etkisi istatistiksel anlamda çok önemli olmuştur. Canlılık oranı bakımından ilk sırayı %67.2 ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 2.0 mg l⁻¹ TDZ uygulaması almış, bunu %59.4 ile 0.2 mg l⁻¹ NAA + 2.0 mg l⁻¹ BAP takip etmiştir. Diğer taraftan canlılık oranı kontrol grupta %34.4 olarak tespit edilmiş, denemede kullanılan diğer 21 kombinasyonda ise canlılık oranı kontrole göre daha düşük olmuştur. (Çizelge 5).

Doku kültürü çalışmalarında öncelikli olarak dikkate alınması gereken husus, uygun bitki büyüme düzenleyicilerinin tipi ve konsantrasyonlarının seçimidir. Ayrıca, uygun eksplant seçimi de böyle çalışmalarda oldukça önem arz etmektedir. Çünkü ortama ilave edilen büyümeyi düzenleyiciler türe, çeşide ve hatta eksplant tipine uygun olmayan tipte ve konsantrasyonlarda ise kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Korunganın da içinde yer aldığı birçok bitkide yapılan çalışmalar sonucunda, oksin-sitokinin dengesinin iyi ayarlanması durumunda yüksek oranda adventif sürgün rejenerasyonu elde edilebileceği bildirilmiştir (Özgen ve ark., 1997; Sancak, 1999; Çöçü ve ark., 2003; Erdoğan ve ark., 2004; Erdoğan ve ark., 2005; Çelikleş ve ark., 2006; Çöçü, 2008).

Bitki büyüme düzenleyicilerinin doku kültürü şartlarında korunga bitkisi üzerindeki etkilerine bakıldığında kotiledonların sürgün oluşturma kapasitesi üzerine araştırmada kullanılan hormonların (NAA, BAP, TDZ, KIN) tek olarak ortama ilavesinin, sürgün oluşumuna etki etmediği, kombinasyon halinde kullanıldıklarında ise en etkili kombinasyonun NAA+BAP olduğu, ayrıca ve NAA+TDZ'nin ise sadece bir kaç kombinasyonunun etkili olduğu görülmüştür. Uzun (2012), korungada yaptığı çalışmada en fazla sürgün sayısını 1 mg l⁻¹ TDZ içeren besi ortamından, hipokotil eksplantından elde etmiştir. Barbulova et al. (2002), tarafından farklı yonca çeşitlerinde yapılan bir çalışmada eksplant olarak yaprak ve yaprak sapları kullanılmıştır. Araştırmacılar, çeşitlerin rejenerasyon kabiliyetinin birbirinden farklı olduğunu ve en iyi sonucun 0.5 mg l⁻¹ BAP içeren ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir. Yoncaya ait farklı eksplantların kullanıldığı diğer bir çalışmada ise en iyi sonuç kotiledon ve petiol eksplantlarından ve oksinin (2.4-D) düşük dozda kullanıldığı ortamdan elde edilmiştir (Gallego et al., 2001).

Çizelge 4. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre kök eksplantından 30. 60. ve 90. günün sonunda sürgün oluşturanların sayısı (adet)¹

	Hormon Doz (mg l ⁻¹)	NAA			
		0	0.2	0.4	
30. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet sürgün/petri)	BAP	0	0.3 ^{gh}	2.0 ^{bcd}	1.3 ^{c-g}
		0.5	4.5 ^a	2.8 ^b	1.0 ^{d-h}
		1.0	1.3 ^{c-g}	1.5 ^{c-f}	0.0 ^h
		1.5	1.5 ^{c-f}	1.3 ^{c-g}	1.0 ^{d-h}
		2.0	0.8 ^{e-h}	1.8 ^{b-e}	0.0 ^h
	KIN	0	0.3 ^{gh}	2.0 ^{bcd}	1.3 ^{c-g}
		0.5	0.0 ^h	0.8 ^{e-h}	2.3 ^{bc}
		1.0	2.3 ^{bc}	0.8 ^{e-h}	2.8 ^b
		1.5	0.8 ^{e-h}	0.0 ^h	0.0 ^h
		2.0	1.0 ^{d-h}	0.0 ^h	0.0 ^h
	TDZ	0	0.3 ^{gh}	2.0 ^{bcd}	1.3 ^{c-g}
		0.5	0.8 ^{e-h}	2.8 ^b	0.3 ^{gh}
		1.0	0.8 ^{e-h}	0.3 ^{gh}	0.0 ^h
		1.5	0.0 ^h	0.0 ^h	0.5 ^{fgh}
		2.0	0.0 ^h	0.0 ^h	0.8 ^{e-h}
60. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet sürgün/petri)	BAP	0	2.0 ^{k-p}	3.3 ^{i-o}	5.0 ^{ghl}
		0.5	7.8 ^{ef}	7.8 ^{efg}	4.0 ^{h-l}
		1.0	11.0 ^{bcd}	4.5 ^{h-k}	1.0 ^{n-p}
		1.5	13.3 ^{ab}	10.5 ^{cd}	3.8 ^{i-m}
		2.0	14.8 ^a	12.5 ^{abc}	4.0 ^{h-l}
	KIN	0	2.0 ^{k-p}	3.3 ^{i-o}	5.0 ^{ghl}
		0.5	3.5 ⁱ⁻ⁿ	2.0 ^{k-p}	3.8 ^{i-m}
		1.0	9.3 ^{de}	2.3 ^{j-p}	3.8 ^{i-m}
		1.5	3.3 ^{i-o}	3.5 ⁱ⁻ⁿ	6.5 ^{fgh}
		2.0	3.8 ^{i-m}	3.5 ⁱ⁻ⁿ	2.8 ^{i-o}
	TDZ	0	2.0 ^{k-p}	3.3 ^{i-o}	5.0 ^{ghl}
		0.5	4.8 ^{h-j}	2.8 ^{i-o}	1.5 ^{l-p}
		1.0	0.8 ^{op}	2.3 ^{j-p}	1.3 ^{m-p}
		1.5	4.5 ^{h-k}	0.0 ^p	0.0 ^p
		2.0	1.0 ^{n-p}	0.8 ^{op}	1.5 ^{l-p}
90. günün sonunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (adet sürgün/petri)	BAP	0	3.3 ^{i-m}	3.5 ^{i-m}	5.8 ^{g-l}
		0.5	12.5 ^d	12.5 ^d	11.0 ^{df}
		1.0	24.5 ^b	12.0 ^{de}	12.0 ^{de}
		1.5	29.0 ^a	18.0 ^c	8.3 ^{e-h}
		2.0	20.3 ^c	27.0 ^{ab}	6.0 ^{g-k}
	KIN	0	3.3 ^{i-m}	3.5 ^{i-m}	5.8 ^{gl}
		0.5	7.0 ^{f-i}	2.5 ^{j-m}	3.8 ^{i-m}
		1.0	9.3 ^{d-g}	2.3 ^{klm}	3.8 ^{i-m}
		1.5	3.3 ^{i-m}	3.8 ^{i-m}	6.5 ^{g-j}
		2.0	3.8 ^{i-m}	3.5 ^{i-m}	2.8 ^{j-m}
	TDZ	0	3.3 ^{i-m}	3.5 ^{i-m}	5.8 ^{g-l}
		0.5	5.0 ^{h-m}	4.3 ^{h-m}	1.8 ^{lm}
		1.0	3.0 ^{i-m}	2.8 ^{j-m}	1.5 ^m
		1.5	4.5 ^{h-m}	1.0 ^m	1.0 ^m
		2.0	4.0 ^{i-m}	1.3 ^m	1.5 ^m

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Çizelge 5. Farklı hormon tipleri ve dozlarının kombinasyonundan oluşan farklı uygulamalara göre kök eksplantından 30. günün sonunda kök oluşturanların sayısı (adet)¹, 90. günün sonunda köklenen eksplant sayısı (köklerden elde edilen sürgünlerden) (adet)¹, 90. günün sonunda eksplantların canlılık oranı (%)¹

	Hormon	Doz (mg l ⁻¹)	NAA		
			0	0.2	0.4
30. günün sonunda kök oluşturan eksplant sayısı (adet kök/petri)	BAP	0	5.8 ^a	4.8 ^{ab}	1.8 ^c
		0.5	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
		1.0	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
		1.5	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
		2.0	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
	KIN	0	5.8 ^a	4.8 ^{ab}	1.8 ^c
		0.5	0.0 ^d	3.8 ^b	0.0 ^d
		1.0	0.0 ^d	0.8 ^{cd}	0.0 ^d
		1.5	0.0 ^d	0.5 ^{cd}	0.0 ^d
		2.0	0.0 ^d	1.3 ^{cd}	0.0 ^d
	TDZ	0	5.8 ^a	4.8 ^{ab}	1.8 ^c
		0.5	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
		1.0	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
		1.5	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
		2.0	0.0 ^d	0.0 ^d	0.0 ^d
90. günün sonunda köklenen eksplant sayısı (köklerden elde edilen sürgünlerden) (adet kök/petri)	BAP	0	1.5 ^b	0.0 ^c	0.0 ^c
		0.5	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		1.0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		1.5	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		2.0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
	KIN	0	1.5 ^b	0.0 ^c	0.0 ^c
		0.5	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		1.0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		1.5	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		2.0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
	TDZ	0	1.5 ^b	0.0 ^c	0.0 ^c
		0.5	0.0 ^c	2.8 ^a	0.0 ^c
		1.0	0.0 ^c	1.5 ^b	0.0 ^c
		1.5	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
		2.0	0.0 ^c	0.0 ^c	0.0 ^c
90. günün sonunda eksplantların canlılık oranı (%) ¹	BAP	0	34.4 ^{d-i}	15.6 ^j	15.6 ^j
		0.5	31.3 ^{e-i}	28.1 ^{g-j}	23.4 ^{h-j}
		1.0	37.5 ^{d-h}	25.0 ^{h-j}	25.0 ^{h-j}
		1.5	32.8 ^{e-i}	45.3 ^{b-e}	37.5 ^{d-h}
		2.0	43.8 ^{c-f}	59.4 ^{ab}	25.0 ^{h-j}
	KIN	0	34.4 ^{d-i}	15.6 ^j	15.6 ^j
		0.5	54.7 ^{abc}	32.8 ^{e-i}	29.7 ^{f-j}
		1.0	28.1 ^{g-j}	32.8 ^{e-i}	21.9 ^{ij}
		1.5	42.2 ^{c-g}	42.2 ^{c-g}	21.9 ^{ij}
		2.0	42.2 ^{c-g}	21.9 ^{ij}	23.4 ^{h-j}
	TDZ	0	34.4 ^{d-i}	15.6 ^j	15.6 ^j
		0.5	42.2 ^{c-g}	48.4 ^{bcd}	56.3 ^{abc}
		1.0	43.8 ^{c-f}	29.7 ^{f-j}	25.0 ^{h-j}
		1.5	34.4 ^{d-i}	37.5 ^{d-h}	15.6 ^j
		2.0	45.3 ^{b-e}	67.2 ^a	20.3 ^{ij}

1) Aynı sütunda aynı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemsizdir.

Bu araştırmada hormon ve dozları ele alınarak değerlendirilme yapıldığında (kontrol hariç), eksplant olarak hipokotil kullanıldığında en fazla sürgün KIN ve KIN+NAA içeren ortamlardan elde edilmiş ve hipokotil eksplantı sürgün oluşturma kabiliyeti bakımından eksplantlar içerisinde ilk sırada yer almıştır. Akçura ve ark., (1999), tarafından korungaya ait farklı eksplantlar kullanılarak yapılan çalışmada da burada kaydedilen sonuçlara benzer olarak en fazla sürgün rejenerasyonu hipokotilin eksplant olarak kullanıldığı BAP ve NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Aynı şekilde, Karamian and Ranjbar (2008), korungaya ait hipokotil eksplantlarını kullanarak yaptıkları çalışmada en iyi sonucu 0.5 mg l⁻¹ NAA ve 1 mg l⁻¹ BAP içeren ortamdan elde etmişlerdir. Aynı şekilde, (Özcan ve ark., 1996) tarafından korungada yapılan bir denemede en fazla sürgün oluşumu 0.5 mg l⁻¹ BAP ve 0.2 mg l⁻¹ NAA içeren ortamdan hipokotil eksplantından elde edilmiştir. Yine korungada yapılan başka bir çalışmada (Hiroshi and Zhumeng, 1993) sürgün oluşumu bakımından en iyi ortamın 1µM NAA + 10 µM BAP kombinasyonu olduğunu, kök ve hipokotil eksplantlarının kotiledonlara göre daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda BAP'ın bizim çalışmamızda ise KIN'in daha iyi sonuç vermesi, diğer çalışmalarda kinetinin denenmemiş olmasından ve kullanılan genotiplerin farklı olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca hipokotil eksplantının hormonsuz ortamda bile iyi sonuç verdiği yapılan çalışma neticesinde görülmüştür.

Bu araştırmada kök eksplantında en fazla sürgün BAP ve BAP+NAA kombinasyonlarından elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan kombinasyonların çoğundan az sayıda da olsa sürgün elde edilmiş, ancak genel olarak bazılarında gerek hormonların yüksek dozda tek kullanımının gerekse kombinasyon halinde kullanımının sürgün oluşumunu olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, sürgün oluşumu üzerine kültür süresinin etkisinin de oldukça önemli olduğu tespit edilmiştir. Özgen ve ark. (1998),

tarafından korungada yaprak petiol ve kök eksplantları kullanılarak yapılan bir çalışmada en yüksek oranda sürgün rejenerasyonu kök eksplantından, 20 µM BA ve 0.5 µM NAA içeren ortamdan petiol eksplantından elde edilmiştir. Korungada mikroçoğaltım amacıyla yapılan başka bir çalışmada ise en yüksek oranda sürgün oluşumu 2 mg l⁻¹ BAP+ 0.05 mg l⁻¹ IBA, 2 mg l⁻¹ BAP+ 0.1 mg l⁻¹ IBA, 2 mg l⁻¹ BAP+ 0.05 mg l⁻¹ IBA, 2 mg l⁻¹ BAP+ 0.1 mg l⁻¹ NAA, 2 mg l⁻¹ BAP+ 0.5 mg l⁻¹ NAA ve 8 mg l⁻¹ BAP+ 0.05 mg l⁻¹ NAA içeren ortamlarda gerçekleşmiştir (Sancak, 1999). Yang and Nakashima (1992), tarafından kök, hipokotil ve kotiledon eksplantları kullanılarak korungada yapılan bir denemede 2.4-D ve BAP'ın rejenerasyon üzerine etkisinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine korungada yapılan başka bir çalışmada en fazla sürgün rejenerasyonu 10.7 µM M NAA ve 2.3 µM M KIN içeren B5 ortamında kültüre alınan, apikal-aksillar meristemlerden elde edilmiştir (Çelikaş ve ark., 2006).

SONUÇ

Bu çalışma, önemli bir baklagil yem bitkisi olan korungada adventif sürgün rejenerasyonu üzerine bitki hormonlarının etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. *In vitro* fidelardan elde edilen kotiledon, kök ve hipokotil eksplantları farklı dozlarda hormon içeren ortamlarda kültüre alınmışlardır. Yapılan bu çalışma sonucunda gerek hormon tip ve doz kombinasyonlarının gerekse eksplant tipinin ele alınan parametreler üzerine tepkilerinin birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Bu bakımdan en iyi sonuç kök eksplantından 29.0 adet sürgün ile 1.5 mg l⁻¹ BAP'dan doksanıncı gün sonunda elde edilmiştir. Kök oluşumu bakımından en iyi sonuç ise 14.8 adet ile 0.4 mg l⁻¹ NAA'dan hipokotilden elde edilmiştir. Bu sayede zararlılar tarafından üretimi önemli ölçüde azalan korunga bitkisinin *in vitro* şartlarda biyoteknolojik yöntemler kullanılarak çoğaltımının mümkün olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akçura M, Eskalen A, Elçi Ş, 1999. Korungada (*Onobrychis viciifolia* Scop.) kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu. Türkiye III. Tarla Bitkileri Kongresi, 15-18 Kasım 1999, Adana.
- Barbulov A, Iantcheva A, Zhiponova M, Viahova M, Atanassov A, 2002. Establishment of Embryogenic Potential of Economically Important Bulgarian Alfalfa Cultivars (*Medicago sativa* L.). Biotechnology & Biotechnological Equipment, 16: 55-63.
- Çeliktaş N, Can E, Hatipoğlu R, Avcı S, 2006. Somatic Embryogenesis, Callus Production and Plantlet Growth in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). New Zealand Journal of Agricultural Research. 49: 383-388.
- Çöçü S, Uranbey S, Sancak C, 2003. Bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 9:445-449.
- Çöçü S, 2008. Böceklerle dayanıklı transgenik korunga (*Onobrychis sativa* Lam.) bitkilerinin elde edilmesi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 97s.
- Elçi Ş, 2005. Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, 54-56, Ankara.
- Erdoğan Y, Çöçü S, Parmaksız İ, Sancak C, Arslan O, 2004. Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) bitkisinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu ve hızlı çoğaltımı. Tarım Bilimleri Dergisi, 11: 60-64.
- Erdoğan Y, Çöçü S, Parmaksız İ, Sancak C, Arslan O, 2004. Bazı burçak hatlarında (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) kotiledon boğum eksplantından adventif sürgün rejenerasyonu. Tarım Bilimleri Dergisi, 10 (2): 206-210.
- Erdoğan Y, Çöçü S, Parmaksız İ, Sancak C, Arslan O, 2005. Bazı burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) kotiledon boğum eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 10: 206-210.
- Gallego P, Hita O, Villalobos N, Dorado A, Martin L, Guerra H, 2001. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Medicago arborea* L. In Vitro Cell Dev. Biol.- Plant 37: 199-203.
- Hiroshi N, Zhumeng Y, 1993. Tissue culture of sainfoin. Proceeding of the XVII international grassland congress, 12-15 February, 1993.
- Karamian R, Ranjbar M, 2008. Plant Regeneration from *Onobrychis subnitens* Bornm. Hypocotyl Explants Via Somatic Embryogenesis and Organogenesis, Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 50: 13-18.
- Murashige, T and Skoog, F, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Phiol Plant, 15: 473-497.
- Özcan, S. ve M. Özgen, 1996. Bitki genetik mühendisliği. Kükem Dergisi, 1:69-95.
- Özcan S, Yıldız M, Sancak C, Özgen M, 1996. Adventitious Shoot Regeneration in Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Turkish Journal Botany. 20: 497-503.
- Özgen M, Altınok S, Özcan S, Sevimay C.S, 1997. In vitro micropropagation of alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars. Tr. J. of Botany, 21: 275-278
- Özgen M, Özcan S, Sevimay C.S, Sancak C, Yıldız M, 1998. High frequency adventitious shoot regeneration in sainfoin. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 52: 205-208.
- Sağlam S. 2010. Growth regulators effects on in vitro shoot regeneration of sainfoin (*Onobrychis sativa* Lam.). Biotechnol. & Biotechnol. 24: 2077-2079.
- Sancak C, 1999. In vitro micropropagation of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.), Tr. J. of Botany, 23: 133-136.
- Tan M, Serin Y, 2013. Baklagil Yem Bitkileri. (Genişletilmiş 4. Baskı) Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları, 190: 77-80 Erzurum.
- Uzun S, 2012. Korunganın (*Onobrychis viciifolia* Scop.) hipokotil ve kotiledon eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Tr. J. Nature Sci. 1: 126-130.
- Yang Z, Nakashima H, 1992. Effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid and 6- benzyl aminopurine on callus culture and plant regeneration in sainfoin (*Onobrychis viciaefolia* Scop.). Journal of Japanese Society of Grassland Science. 38: 90-91.