T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GYPSOPHILA ARROSTI'NİN *IN VİTRO*'DA BOR'A TEPKİSİNİN BELİRLENMESİ VE MİKROÇOĞALTIMI

Mukaddes KOCAOĞLU KAVAS

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARALIK-2012
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

(İmza)

Mukaddes KOCAOĞLU KAVAS

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

*GYPSOPHILA ARROSTİ'*NİN *IN VİTRO*'DA BOR'A TEPKİSİNİN BELİRLENMESİ VE MİKROÇOĞALTIMI

Mukaddes KOCAOĞLU KAVAS
Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR

2012, 40 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Mustafa HARMANKAYA
Yrd. Doç. Dr. Mustafa YORGANCILAR
Yrd. Doç. Dr. Semiha ERİŞEN

Bu araştırmada, *Gypsophila arrosti* L. bitkisinin *in vitro* şartlarda bor elementine karşı tepkisi ve mikro çoğaltım kabiliyeti araştırılmıştır. Bor denemesi için tohumlar, 0, 10, 20, 40, 80 mg/l Bor (B) içeren MS ortamlarında kültüre alınmış ve tohumların çimlenme durumları belirlenmiştir. Bitkinin bor toleransını belirlemek için çıkış yapan fideler 8 hafta boyunca kültür ortamında yetiştirilmiştir. Bu sürenin sonunda fidelerde; bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm) ve bitki ağırlıkları (g) ve bitki element içeriği (mg/kg) belirlenmiştir.

Gypsophila arrosti L. bitkisinin tohumları en yüksek (80 mg/l B) bor içeren ortamda bile çimlenmiştir. Bor konsantrasyonu arttıkça bitki büyümesinin azaldığı görülmesine rağmen azda olsa 80 mg/l bor dozunda dahi bitkiler yaşama kabiliyeti göstermiştir. Araştırmada en fazla gövde uzunluğu 7.5 cm ile 20 mg/l B uygulamasından elde edilirken, en yüksek gövde yaş (0.9 g) ve kuru (0.2 g) ağırlığı 10 mg/l B dozu uygulamasından elde edilmiştir. Kök uzunluğu, kök yaş ağırlığı ve kök kuru ağırlığı bakımından bor uygulamaları arasında istatistiki olarak farklılık tespit edilememiştir.

Mikro çoğaltım için sürgün eksplantları farklı konsatrasyon (0, 0.5, 1.0, 2,5 mg/l) ve kombinasyona (BAP, KIN, ZEA, TDZ; 2,4-D, NAA vb.) sahip büyüme düzenleyicileri içeren (MS) ortamında kültüre (6 hafta) alınmıştır. Gelişen sürgünlerden iyi durumda olanlar 0, 0.5, 1.0 mg/l IBA veya NAA içeren MS ortamında köklendirmeye (4 hafta) alınmıştır. Buradan elde edilen köklenmiş fideler dış ortama başarılı bir şekilde alıştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Gypsophila arrosti*, bor, mikroçoğaltım

ABSTRACT

In this study, it is searched the impact against the element boron of *Gypsophila arrosti* L. plant and the ability of micropropagation of the plant. The seeds for boron trial are taken to the culture in the MS environment containing 0, 10, 20, 40, 80 mg/l Boron(B) and the germination situations of the seeds are determined. To determine boron tolerance of the plant, the boomed seeds are grown in the culture environment during 8 weeks. At the end of this period, plant height (cm), root length (cm), plant weights (g) and elemental content of plant (mg/kg) are determined on the seeds..

The seeds of *Gypsophila arrosti* L. plant are germinated in the environment involving the highest boron element (80 mg/l B), as well. Although it is seen that the plant growth is decreased as boron concentration increases, plants in 80 mg/l B dose indicate viability even a little. In the research, while the most body lenght is derived from 7.5 cm and 20 mg/1 B implementation, the highest body wet (0.9 g) and dry (0.2 g) weight are obtained from 10 mg/l B dose implementation. Statistically diversity between boron applications in terms of root length, root wet weight and root dry weight could not be identified.

Shoot explants for micro propagation are taken to the culture (6 weeks) in the environment (MS) containing growth regulator which has different concentration (0, 0.5, 1.0, 2.5 mg/l) and combination (BAP, KIN, ZEA, TDZ; 2,4-D, NAA etc). The good ones of growing offshoots are taken to root (4 weeks) in MS environment containing 0,0.5, 1.0 mg/l IBA or NAA. The rooted seedlings obtained from here are accustomed to outer environment successfully.

Keywords: *Gypsophila arrosti*, boron, micropropation

MS THESIS

DETERMINATION OF BORON RESPONSE OF *GYPSOPHILA ARROSTI* AND MICROPROPAGATION

Mukaddes KOCAOĞLU KAVAS

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE FIELD CROPS

Advisor: Asst. Prof. Dr. Mustafa YORGANCILAR

2012, 40 Pages

Jury
Assoc. Prof. Dr. Mustafa HARMANKAYA
Asst. Prof. Dr. Mustafa YORGANCILAR
Asst. Prof. Dr. Semiha ERİŞEN

ÖNSÖZ

Bilgi birikimi ve titiz çalışma prensibiyle bilimsel bir çalışmanın nasıl olması gerektiği konusunda beni yönlendiren, Sayın hocalarım, Yrd. Doç Dr. Mustafa YORGANCILAR' a ve Prof. Dr. Mehmet BABAOĞLU' na,

Sera ve laboratuvardaki uygulamaların her aşamasında tecrübelerini esirgemeyen Sayın Dr. Emine ATALAY'a ve Ziraat Yüksek Mühendisi Ufuk BACAKSIZ'a,

Yine çalışmamda yardım ve desteklerini esirgemeyen Arş. Gör. Gülay ÇOKSARI, Arş. Gör. Mesut UYANIK, Öğr. Gör. Esra KARACİF, Arş Gör. Münüre TANUR ERKOYUNCU ve Arş. Gör. Şermin ARSLAN arkadaşlarıma,

Büyük fedakarlıklarla bugünlere gelmemi sağlayan sabır ve anlayışlarıyla yanımda olan annem, babam ile kardeşlerime,

Ve eşim Ramazan KAVAS'a

Sonsuz Teşekkürler…

Mukaddes KOCAOĞLU KAVAS

KONYA-2012

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ÖNSÖZ ..... **vii**

İÇİNDEKİLER ..... **viii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **3**

2.1. Bitki Hakkında Genel Bilgiler 3
2.2. Borla İlgili Çalışmalar 6
2.3. Doku Kültürü Çalışmaları 10

3. MATERYAL VE YÖNTEM **14**

3.1. Materyal 14
3.2. Metot 14
3.2.1. Besin ortamlarının hazırlanması 14
3.2.2. Sterilizasyon işlemi 17
3.2.3. Tohumların Kültüre Alınması 19
3.2.4. Mikro çoğaltım çalışmaları 19
3.2.5. Gözlem, Ölçüm ve Analizler 20
3.2.6. Verilerin Değerlendirilmesi 21

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **22**

4.1. Bor Denemeleri 22
4.1.1. Çimlendirme 22
4.1.2. Bitki gelişim parametreleri 23
4.1.3. Element içerikleri 25
4.2. Hızlı Çoğaltım 28
4.1.1. Sürgün çoğaltımı 28
4.1.2. Sürgünlerin köklendirilmesi 30
4.1.3. Sürgünlerin dış ortama alıştırılması 32

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **33**

5.1. Sonuçlar **33**

5.2. Öneriler **33**

EKLER **40**

ÖZGEÇMİŞ **41**

SİMGELER VE KISALTMALAR

BAP	6-benzylaminopurine
K.O.	Kareler Ortalaması
MS	Murashige ve Skoog temel besin ortamı
IBA	Indolbutirik asit
TDZ	Thidazuron
S.D.	Serbestlik Derecesi
NAA	Naftalen Asetik Asit
ZEA	Zeatin
CV	Varyans Katsayısı

1. GİRİŞ

Türkiye, üç fitocoğrafi bölgenin (İran-Turan, Akdeniz ve Avrupa-Sibirya) kesişim noktasında yer alan, Anadolu'nun en eski yerleşim merkezlerinden olan biyoçeşitliliği oldukça zengin bir ülkedir. Birçok bitki taksonu tıbbi, aromatik, ilaç ham maddesi, boya, çiçekçilik vs. ekonomik amaçlarla kullanılmaktadır. Bu bitki cinslerinden biri olan *Gysophila'*nın 59 taksonunun gen merkezi de Türkiye'dir (Özçelik ve Yıldırım, 2011).

Türkiye'de *Caryophyllacea* familyasının *Silene* (yaklaşık 150 takson) ve *Dianthus* (yaklaşık 70 tür)'tan sonra üçüncü büyük cinsi *Gypsophila*'dır (Korkmaz, 2007). Çok yıllık ve otsu bir yapıya sahip olan *Gypsophila* türleri, kök yapısı itibariyle toprağı sıkıca sarar. Bu nedenle toprak kaymasını, su kaybını ve drenaj problemini önlemektedir. Ayrıca *Gypsophila* türlerinin bazıları süs bitkisi olarak değerlendirilebilecek niteliktedirler. *Gypsophila*'nın bazı türlerinin de soğuk, kuraklık, tuzluluk ve bor elementi vb. gibi dayanıklılığa sahip olması türlerin çok değişik habitatlarda yetişebilmelerini sağlamıştır. Babaoğlu ve ark. (2004), *Gypsophila perfoliata* L. ve *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat bitkilerinin bor açısından hiperakümülatör olma potansiyeline sahip olduğunu, *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat yapraklarında yaklaşık 3500 mg/kg B bulunduğu halde bitkinin sağlıklı bir şekilde geliştiğini belirlemişlerdir. Bu nedenle *G. sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat ve *G. perfoliata* L. bitkileri ile aynı cinsten olan ve tarımsal açıdan üretimi daha kolay olan *G. arrosti* bitkisinin hiperakümülatör olma potansiyelinin belirlenmesi B toksitesi bakımından problemli tarım alanları bakımından önem arz etmektedir. Ayrıca suni gübre kullanımı nedeniyle meydana gelen bor toksitesinin ürün rekoltesinde kayıp oluşturduğunu ve bu zararın aynı alanda *Gypsophila* türlerinin yetiştirilmesiyle giderilebileceği düşünülmektedir. Kullanım alanına göre değişmekle birlikte klonal çoğaltım çoğu durumda gerekli olabilmektedir. Bitkinin hızlı bir şekilde üretimini sağlamak adına mikro çoğaltımın yapılması fide şeklinde toprağa şaşırtılmasını mümkün kılacaktır.

Halk arasında bu cinslerin saponin bakımından zengin ve ekonomik önemi olan taksonları "Çöven, Çövenotu, Çövenkökü, Helvakökü, Sabunotu" adıyla bilinmektedir (Özçelik ve Yıldırım, 2011). Saponinler, köpürme özelliğinden dolayı diğer glikozitlerden ayrılırlar. Saponinleri oluşturan başlıca bileşikler ise triterpen

glukozitleri, steroid glukozitleri ve steroid alkaloid glukozitleridir. Triterpenoid saponinler yoğun olarak *Caryophyllaceae, Sapindaceae, Polygalaceae* ve *Sapotaceae* gibi çift çenekli bitki familyalarında bulunurlar. *Gypsophila* saponini, bünyesinde 1 galaktoz, 1 ksiloz, 1 arabinoz, 1 fukoz ve 1 ramnoz şekeri bulundurur (İnan, 2006).

Çövenler içerdiği saponin (bir çeşit glikozit) nedeniyle pek çok alanda kullanılmaktadır. Çöven rizomlarından elde edilen ekstraktı fabrikasyon olarak sabun ve likörlerin imalatında, öksürük ve solunum sistemleri rahatsızlıklarında, film emülsiyonlarında ve kimyasal temizleyicilerde, köpürtücü olarak yangın söndürücülerin yapısında, aynı zamanda içerdiği saponinlerden dolayı, beyazlatıcı özelliğinin yanı sıra gevreklik kazandırıcı olarak helva üretimlerinde kullanılmaktadır (Özçelik ve Yıldırım, 2011).

'Çöven' olarak bilinen bitkiler, değişik özelliklere sahip olması nedeniyle birçok bilim dalını ilgilendirmekte olup ilaç, gıda ürünü, temizlik ürünü, park ve bahçelerin süslemesinde kullanılabilmesi nedeniyle, ziraatçıların, gıdacıların, kimyacıların, eczacıların, peyzajcıların, tekstilci ve kuyumcuların ilgi alanı içerisindedir (İnan, 2006).

Çövenin bileşiminde yer alan başlıca öğeler; şekerler, resinler ve triterpen sınıfında yer alan ve albo saponin olarak adlandırılan saponinlerdir (Baytop, 1984). Çöven, saponin ekstresi elde edilen bitkilere denilmekle beraber ekstrenin kendisine de denilebilmektedir. Ülkemizde her yıl yöresel kullanımı, ticareti ve dış satımı için doğal bitki türlerinden binlerce ton kök, yaprak ve çiçek toplanmaktadır. Aşırı toplama nedeniyle ilgili türlerin popülasyonları baskılanmaktadır (Özçelik ve Yıldırım, 2011).

Bu çalışma ile kuraklığa, tuzluluğa dayanıklı ve bor biriktirme özelliğine sahip olabilecek *Gypsophila arrosti* bitkisinin bora karşı tepkilerinin *in vitro* şartlarında belirlenmesi ve doku kültürü ile mikro çoğaltımı hedeflenmiştir. Bu bitkilerdeki dayanıklılık mekanizmasının anlaşılması yapılacak olan fizyolojik düzeydeki çalışmalar da bir örnek teşkil edecek niteliktedir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bitki Hakkında Genel Bilgiler

Gypsophila L., *Caryophyllaceae* familyasının üçüncü büyük cinsidir. Ülkemizde doğal yayılış gösteren ve yarısından fazlası endemik olan cinsin üyeleri yurdumuz için önemli bir gen kaynağıdır (Korkmaz, 2007).

Gypsophila cinsi; *Gypsophila* adı "gypsos= jips" ve "phileo=sevmek" kelimelerinden oluşur. Jipsli toprakları seven, jipsli topraklarda yetişen anlamındadır. Bu cins ilk defa Linne tarafından 1751 yılında tanımlanmıştır (Koyuncu ve ark., 2006). Bu bitki cinslerinden *Gypsophila* ülkemizde 59 takson mevcuttur. Bu cinslerin saponin bakımından zengin ve ekonomik önemi olan taksonları halk arasında 'Çöven, Çövenotu, Çövenkökü, Helvakökü, Sabunotu' adıyla bilinmektedir. Çövenler içerdiği saponin (bir çeşit glikozit) nedeniyle pek çok alanda kullanılmaktadır (Özçelik ve Yıldırım, 2011).

Çöven köklerinin özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinden söküldüğü, çöven olarak kökleri sökülen 6 önemli *Gypsophila* türünden 3 tanesinin endemik olduğu *(Gypsophila graminifolia, G. arrosti* var. *nehulosa, G. eriocalyx)* diğer üç türün *(Gypsophila bicolor, G. perfoliata, G. venusta)* de yurdumuzda dar yayılışlı bitkiler olduğu ve dolayısı ile bu bitkilerin köklerinin sökülmesi ile büyük bir doğa ve flora tahribatının meydana geldiği tespit edilmiştir (Koyuncu ve ark., 2006).

Halkımızın Çöğen, Çöven, Çuvan ve Çöven Otu isimlerini verdiği bu cinsten çok değişik şekilde yararlanılmaktadır. Kökleri toplanan narin gövdeli bitkilerden elde edilen hülasa, gevreklik kazandırılması amacıyla helvaya katılmaktadır. Yine çoğu türlerinin köklerinden sabun ve likör yapımında istifade edildiği belirtilmektedir. Doğu Anadolu bölgesinde yerli halk tarafından bu kökler yerli ve orijinal bir gıda çeşidi olan otlu peynirin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Bütün bunların yanı sıra *Gypsophila* türünün kültürü yapılmakta ve çiçekçilerde bolca satılan önemli süs bitkileri arasında görülmektedir. Doğal *Gypsophila* türlerinin kültüre alınması, çiçekçilik potansiyellerinin araştırılması ve üretilmeleri üzerine yapılan araştırmaların giderek artması beklenmektedir (Korkmaz, 2007).

Çöven, *Caryophyllaceae* (Karanfilgiller) familyasından *Gypsophila, Saponaria* ve *Ankyropetalum* cinslerine ait bazı çok yıllık türlerin topraktan çıkarılıp, güneşte kurutulmuş, odunsu kökleridir. Ancak çöven elde edilen türlerin çoğu *Gypsophila*

cinsine aittir (Koyuncu ve ark., 2006). "Çöven" olarak bilinen bitkiler, değişik özelliklere sahip olması nedeniyle birçok bilim dalını ilgilendirmekte olup ilaç, gıda ürünü, temizlik ürünü, park ve bahçelerin süslemesinde kullanılabilmesi nedeniyle, ziraatçıların, gıdacıların, kimyacıların, eczacıların, peyzajcıların, tekstilci ve kuyumcuların ilgi alanı içerisindedir (İnan, 2006).

Gypsophila arrosti Guss. var. *nebulosa* (Boiss. et Heldr.) Bark. bitkisi çok yıllık, çıplak, kökleri kalındır; gövde 30-60 cm boyunda yayvan dallanmış; yapraklar şeritsi-mızraksı, 10-50 x 1-6 mm, ucu sivri; çiçek durumu çok dallanmış; çiçek sapları 5-15 mm, çiçekler küçük, soluk pembe veya beyaz renkli; kaliks 2mm, genişçe çan şeklinde, dişleri küt, pateller 3-4 mm elitik-oblong; meyve küresel kapsül tipindedir. Çiçek açma zamanı Haziran-Temmuz olup yetişme ortamı kuru taşlı yerler, tarlalar, 800-1200m'dir. Bitkinin yayılışı Konya (Beyşehir), Afyon, Ankara, Burdur, Karaman ve Antalya çevreleridir. Endemik (yurdumuza özgü) bir türdür. Kökleri Konya-Beyşehir-Isparta çevrelerinde toplanır. Daha çok "Beyşehir çöveni" olarak bilinir. Bileşimindeki ham saponozit oranı % 19-22 arasında olup kaliteli bir çövendir (Koyuncu ve ark., 2006).

Genellikle doğal olarak yetiştiği gevşek, akıntılı, metamorfik, meyilli ve jipsli alanlarda yayılış göstermesi birçok türünün erozyona karşı kullanılabilecek bir cins olduğunu göstermektedir. Bu bitkilerin taşıdığı saponin, temizlik malzemeleri ve yangın söndürücü imalatında, binaların dış cephe izolasyonunda, yangına dayanıklı malzeme üretiminde, gıda ve ilaç sektöründe büyük bir ekonomik öneme sahiptir. Hızlı kentleşme, sanayi atıkları, tarım alanlarında yaygın ve aşırı miktarda pestisit kullanımı yoğun şekilde çevre kirlenmesine yol açmıştır. Bu kirlilikten en çok endemik ve nadir türler etkilenmektedir (Korkmaz, 2012). Özellikle son yıllarda modern tarım araçları ve aşırı sökülme nedeniyle bitki çok azalmıştır. Esasen endemik bir bitki olması nedeniyle sökülmesi yasaklanması gerekmektedir (Koyuncu ve ark., 2006).

Gypsophila taksonlarının toprakaltı aksamına toplayıcılar ve ticaretini yapanlar "kök" adını vermekte iseler de bu kısımların botanik biliminde karşılıkları genelde "rizom", bazıları "kök", bazıları ise "rizoma bağlı yan kökler" şeklindedir. Genellikle kullanılan kısım çok yıllıklarda rizom, tek yıllıklarda ise sadece köktür. Bazı taksonların rizomları oldukça yumuşaktır, bazılarında ise odunsudur. Saponin en çok bitkinin rizom kabuklarında, daha az oranda rizomun veya kökün orta kısmında (merkezi silindir) en az da toprak üstü kısmında bulunmaktadır.

Çöven rizomları kaynatılıp bal ile tatlandırılarak içilmeye devam edildiği zaman idrar ve âdet söktürücü, ıhlamur ile kaynatılıp lekelere masaj yapılırsa leke giderici, kaynatıldıktan sonra kaynama suyu cilde, losyon şeklinde uygulanırsa sivilce giderici etkileri vardır (Özçelik ve Yıldırım, 2011). Çöven rizomlarının su ile iyice kaynatıldıktan sonra, ipekli ve değerli kumaşlar bu suyun içinde bekletildiği zaman, kumaşların rengi ve parlaklığının bozulmadan temizlendiğini bildirmiştir (İnan, 2006).

Çöven bir yandan helva yapımında kullanılması nedeniyle diğer taraftan da temizleyici özeliğinden dolayı çok eskilerden beri bilinen ve tanınan tıbbi amaçlı bir ham maddedir. Rizomları ve kökleri saponin bakımından zengindir. Taşıdığı saponinden dolayı köpürücüdür. Temizleyici ve emülgatör olarak kullanımı yanında saponin elde etmede yararlanılır (Özçelik ve Yıldırım, 2011)

Çöven kökü (Radix *Gypsophilae*) 30 yıldan beri doğal floramızdan, özellikle Doğu Anadolu, Orta Anadolu ve Güneybatı Anadolu bölgelerimizden sökülerek yurt içinde kullanılan veya ihraç edilen önemli droglarımızdan birisidir. Bu nedenle çöven kökü diğer bazı kökleri ile karıştırılarak 2. kalite çöven olarak da satılır. Karıştırmada en fazla kullanılan *Astragalus* (Geven) türlerinin kökleridir. Ayrıca az da olsa *Glycyrrhiza glabra, Acantholimon sp., Onobrychys cornuta ve Scorzonera rigida* bitkilerinin kökleri de karıştırmada kullanılmaktadır. Bu bitkilerin kökleri dış görünüşleri bakımından çöven köküne benzerse de içerdikleri etken madde yönünden saponin taşımadıkları için çöven kökü yerine kullanılmazlar. Çöven kökünü bu köklerden ayırmak veya karıştırılmış olup olmadığını anlamak için küçük bir kök parçası toz edilir, bir şişe içinde su ile çalkalanır. Su üstünde kalıcı bir köpük meydana gelirse numune çöven köküdür. Aksi halde numune, çöven kökü değildir (Koyuncu ve ark., 2006).

Çöven kökünün ana etken maddeleri saponozitlerdir. Saponozit (sapo: sabun) terimi, ortak özellikleri su ile çalkalanınca kalıcı köpük vermek olan bir grup doğal ve organik bileşiği tanımlamak için kullanılmıştır. Bazı saponozitler sakkarozdan 50 kat daha tatlıdır. Saponozitlerin değişik kullanım alanları vardır. Bilinen yüzlerce saponozitin yaklaşık % 75'i yüksek potansiyelli tatlandırıcı olarak nitelendirilmiştir. Bu madde su ile çalkalanınca köpürücü özelliğe sahiptir. Saponozitleri yüksek oranda içeren bitkilerin bulunduğu familyaların en önemlilerinden birisi *Caryophyllaceae* (Karanfilgiller) familyasıdır. Bu nedenle, kökleri çöven olarak kullanılan bitkiler de bu familyadadır. Anadolu'da yetişen ve kökleri çöven olarak kullanılan bitkiler % 10-25

oranında ham saponozit içerirler. Başta eczacılık ve ilaç sanayi olmak üzere deterjan yapımında köpük ajan, film emülsiyonlarında, yangın tüplerinde ve dericilik sanayiinde parlatıcı olarak kullanılmaktadır. Saponozitler bitkiler alemin de çok yaygındırlar. Bitkide onu dış etkilere karşı koruyucu olarak meydana gelirler. Bir fitopatojene karşı saponozitlerin bitkiye direnç sağladığı ve koruduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu bitkilerin acı lezzeti hayvanlar tarafından yenmesini önler. Steroidal saponozit içeren bitkilerin böcek saldırısına uğramadığı saptanmıştır. *Gypsophila arrosti* var. *nebulosa, Gypsophila bicolor, Gypsophila eriocalyx, Gypsophila perfoliata* gibi çöven elde edilen türlerin köklerinden hazırlanan ekstrelerin antiviral etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Koyuncu ve ark., 2006).

Bu bitkilerin köklerinden elde edilen saponozitler; antifungal ve antibiyotik etkilerinin yanı sıra, farklı farmakolojik etkileri nedeniyle de yüzyıllardan beri tedavide kullanılan, genellikle bitkisel kaynaklı bileşiklerdir (İnan, 2006). Çöven kökü içerdiği saponin etken maddesi nedeniyle ülkemizde daha çok tahin helvası yapımında, tahinin rengini ağartmak amacıyla maya ve beyazlatıcı olarak kullanılmaktadır. Ayrıca dövme dondurma yapımında da kıvam verici olarak kullanılır (Koyuncu ve ark., 2006).

2.2. Borla İlgili Çalışmalar

Borun bitkilerin büyüme ve gelişmesinde önemli bir element olduğu ilk olarak 1923'te Warington tarafından kanıtlanmıştır (Palta, 2006).

Bor bitkilerde; şekerlerin taşınmasında, hücre duvarı sentezinde, lignifikasyon olgusunda, hücre duvarı yapısının oluşumunda, karbonhidrat metabolizmasında, RNA metabolizmasında, solunumda, IAA (indolasetik asit) metabolizmasında, fenol metabolizmasında, biyolojik membranların yapısal ve fonksiyonel özellikleri üzerinde önemli işlevlere sahiptir (Kacar ve Katkat, 1998).

Hiperakümülatör bitkiler, kirli alanların temizlenmesinde kullanılabilecek potansiyel temizleme araçları olarak düşünülmekte ve bu yönde birçok çalışma sürdürülmektedir. Bu yeni teknolojinin adı "Fitoremediasyon" olup topraklardaki kirleticileri temizlemenin zorluğu ve yüksek maliyeti düşünülerek geliştirilmeye çalışılan ve uzun vadede kullanım potansiyeli yüksek bir teknolojidir (Özçelik ve Yıldırım, 2011).

Bor, bitkilerin büyüme ve gelişmesinde gerekli olan bir elementtir. Hayvanlarda ve insan dokularında ise küçük konsantrasyonlarda bulunur (Gregory ve Kelly, 1997). Siyanobakterilerin azot döngüsünde bor da kullandıkları bilinmektedir (Ho., 2000). Borun bitkilerce kullanılabilen formu toprakta çözünebilen, bağımsız, iyonize olmamış H_3BO_3, $B(OH)_3$ veya iyon halindeki $B(OH)_4^-$dır (Hu Brown, 1997). Bor topraktan köklerle pasif absorbsiyonla alınır ve bu alınımda toprak pH'ı, nemi ve sıcaklığı da etkilidir (Goldberg, 1997).

Bor, baklagillerde kök nodül oluşumu için temel elementtir. Optimal koşullarında yetiştirilen bezelye bitkilerinin nodüllerinin hücre çeperlerinde bor'un yer aldığı ve nodüllerdeki B konsantrasyonunun köklerden çok daha fazla olduğu bulunmuştur. Nodül oluşumunda bitkiler kökleri tarafından salgılanan kimyasal maddeler yardımıyla *Rhizobium* cinsi bakterileri kendilerine çekerler. Bor'un yeterli olmadığı durumlarda, bezelye bitkisinde bakteriler tarafından enfekte edilen konutçu hücrelerin sayısı azalmakta ve nodül gelişimi engellenmektedir. B konsantrasyonu arttığında N_2 fiksasyonu azalmakta, azalan B konsantrasyonunda ise N_2 fiksasyonu artmaktadır (Ardıç, 2006).

Çift çenekli bitkilerin B istekleri, tek çenekli bitkilere göre 3-4 misli daha fazladır (Ardıç, 2006). Bor elementine, tek çeneklilerin bazı türleri (buğday, yulaf, sorgum ve darı gibi), çift çenekli (ayçiçeği, domates, bal kabağı, bezelye, soya fasulyesi ve acı bakla gibi) ve diğer tek çeneklilerden (zambak ve mısır) daha az ihtiyaç duyarlar.

Bor elementi bitkilerde hücre zarı, polen çimlenmesi, kök uzaması, nükleik asit, protein ve indol asetik asit (IAA) metabolizması üzerinde rol oynamaktadır. Borun bitkiler üzerindeki bu etkileri, elementin ortamdan çekildiği çalışmalarla ortaya konmuştur (Lewis, 1980; Lovatt, 1985; Robertson ve Loughman, 1974; Shelp, 1993; Mahboobi ve ark., 2000).

Atalay (2003), farklı B (0, 1.08, 3.24, 9.72, 19.44 mg/l B) dozlarının *in vitro* şartlarda Kızıltan-91 çeşidinde çimlenme üzerine etkisi araştırılmış, 10. ve 20. günde yapılan gözlemlerde B dozlarının çimlenme üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir.

Lima (1998), 0, 2, 4, 8, 10, 15 ve 20 mg/l B çözelti ile doyurulmuş pamuk üzerinde bezelye çeşidi Rondo'nun tohumlarını çimlendirerek borun çimlenmeye

etkisini incelemiştir. Çimlenme yüzdesi 8 mg/l B dozuna kadar etkilenmemiş, bu dozdan daha yüksek dozlarda artan oranlarda çimlenmede azalmalar gözlemlenmiştir. Fakat fidelerin gelişme oranı konsantrasyon artışıyla azalmış ve toksite belirtileri 2 mg/l B'dan fazla olan uygulamalarda kendini göstermiştir.

Cattanach (1990), bitkiye elverişli bor miktarı 0.8 ppm olan bir toprakta tarla şartlarında şekerpancarına farklı dozlarda (0, 0.056, 0.112, 0.24 ve 0.48 kg/da B) bor uygulamıştır. Denemede şeker pancarının kök verimi, şeker oranı ve arıtılmış şeker verimi üzerine uygulanan bor dozlarının etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı, ayrıca 0.056 kg/da B'dan fazla uygulanmasının kök verimini kontrole göre azalttığı belirlenmiştir.

Yorgancılar ve Babaoğlu (2005), Orta Güney Anadolu tarım bölgesinde yaygın olarak yetiştirilen makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitlerinde farklı B uygulamalarının çimlenme üzerine etkisini *in vitro* ve saksı denemelerinde araştırmıştır. *In vitro* denemeler 200 ml'lik cam kavanozlarda, % 0.7 agar, % 3 sakkaroz ve sırasıyla; 0, 1.08, 3.24, 9.72, 29.16 ppm B içeren 50 ml MS besin ortamında, saksı denemeleri ise 0, 1.08, 3.24, 9.72, 29.16 ppm B içeren toprakta yürütülmüştür. Tüm denemeler "Tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine" göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Çimlenme üzerine bor dozlarının etkisi her iki şartta da önemli bulunmazken, çeşitlerin ve çeşit x bor interaksiyonun etkisi ise önemli bulunmuştur. Araştırma sonucunda bitki besin maddelerinin etkilerini belirlemede *in vitro* denemelerinin saksı ve tarla çalışmalarına alternatif bir metot olarak tavsiye etmiştir. Buğdayda çimlenmeyi engelleyecek minimum bor seviyesi en düşük B dozu, 29.16 ppm olup bunun altındaki dozların çimlenmeyi etkilememiştir.

Dell ve Huang (1997), bor noksanlığında bitki kök ucunun gövdeye oranla gelişiminin azaldığını, dolayısıyla gövde/kök oranının artması nedeniyle bitkinin stres koşullarına (diğer bitki besin elementleri veya su noksanlığı gibi) hassasiyetinin önemli ölçüde arttığını belirtmektedirler. Ayrıca, bor noksanlığında deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin, ribonükleik asit (RNA) miktarının ve hücre bölünmesi ile kök uzamasının da önemi düzeyde azaldığı tespit edilmiştir (Moore ve Hirsch, 1983). Toprak çözeltisinin pH'sı yüksekse bor bitkiler tarafından alınamaz hale gelir. Bu nedenle kireç uygulaması bazen bitkilerde bor eksikliğine yol açmıştır (Ho., 2000).

Babaoğlu ve ark. (2004), Eskişehir İli, Kırka İlçesi'nde halen faaliyette bulunan bir bor (B) madeni alanında *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat. var. *sphaerocephala, Gypsophila perfoliata* L., *Puccinellia distans* (Jacq.) Parl. ve *Elymus elongatus* olmak üzere sadece 4 bitki türünün bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bu bitkilerde yaptıkları analizlerde bor konsantrasyonunun çok yüksek olduğunu ve element analizleri sonuçlarına göre *Puccinellia distans*'ın *Gypsophila*'dan sonra alanda yetişen en fazla bor biriktiren 3 (üç) bitki türü olduğunu belirlenmiş, bu bitkinin tuza karşı da toleranslı olduğu da ifade edilmiştir. *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat bitkisinin bor açısından hiperakümülatör olma potansiyeline sahip olduğunu, yapraklarında yaklaşık 3500 ppm B bulunduğu halde bitkinin sağlıklı bir şekilde geliştiğini belirlemişlerdir.

Vejetatif aksamında yüksek konsantrasyonlarda element biriktirebilen bitkiler hiperakümülatör bitki olarak adlandırılırlar (Babaoğlu ve ark., 2004; Memon ve ark., 2001). Metabolik faaliyetler ve özellikle enzim sistemleri için çok gerekli olmasına rağmen mikro besin elementleri yüksek konsantrasyonda toksik etki yapmaktadırlar. Ancak hiperakümülatör olarak adlandırılan bitkiler, bu elementler yüksek konsantrasyonda bulundurulsalar bile olumsuz etkilenmezler. Hiperakümülatör bitkiler sorunlu toprak tipinde yetişebilme yeteneği, bölgesel iklim koşullarına adaptasyonu, etkili kök derinliği, kirleticileri bünyesinde biriktirebilme özelliği ile birlikte hızlı büyüme kabiliyeti ve vejetatif aksamın fazla olması gibi önemli özelliklere sahiptirler (EPA 2000; 2001). Bu bitkiler ayrıca ilgili elementi üst aksamlarında biriktirerek sorunlu alanların temizlenmesinde başarılı olarak kullanılma potansiyeline sahiptir (Babaoğlu ve ark., 2004).

Bor (B), bitkilerin gelişebilmesi için gerekli olan mikro besin elementlerinden birisidir. Bitkilerde noksanlık ve toksite belirtilerine neden olan toprak bor seviyeleri arasında çok az bir fark vardır. Bu nedenle bilinen mutlak gerekli mikro besin elementlerinin noksanlık ve toksite belirtileri arasında en yaygın olarak görülenlerin başında bor gelmektedir (Gezgin ve ark., 2002).

Orta Anadolu tarım topraklarının önemli bir kısmında bor'un noksanlığı kadar toksitesi (Gezgin ve ark., 2002) ve bunların bitkilerde olumsuz etkileri çok yaygın olarak görülmektedir.

Çeşitli sanayi faaliyetleri ile insan etkili sonucu birçok alanda biriken ağır metallerin yanında doğal çevre şartları ile geniş tarım arazilerinde ekimi yapılan bitkiler için fitotoksik düzeylerde mikro element birikimleri gözlenmekte ve verimde ciddi oranlarda düşüşler yaşanmaktadır. Bitkiler arasında bulunan ve yeşil temizleme makineleri olarak adlandırılan hiperakümülatör bitkilerin diğer bitkilerden yüzlerce kat daha fazla metal, radionükleotid, eser element biriktirebilmektedir (Hakkı ve ark.,2006).

2.3. Doku Kültürü Çalışmaları

Gelişen biyoteknolojik yöntemler, bitki ıslahında klasik yöntemlere göre daha kısa sürede sonuç alınmasını ve türe sadece istenilen karakterlerin kazandırılmasını sağlamaktadır. Bitkilerde, yüksek oranda adventif sürgün oluşumu, bu amaçla yürütülen çalışmaların başarılı olma yüzdesini önemli düzeyde artırır. Bugün doku kültürü yöntemleri ile laboratuvar ortamında birçok bitkinin hızlı üretilmesi mümkün olmaktadır. Aynı zamanda doku kültürü çalışmalarından elde edilen sonuçlar yapay tohum üretimi, somatik hibridizasyon ve gen kaynaklarının korunmasında da kullanılmaktadır (Babaoğlu ve ark. 2002).

Yapılan literatür taramasında *Gypsophila arrosti* L. türünde herhangi bir doku kültürü çalışmasına rastlanılamadığı için aynı familyada yer alan diğer *Gypsophila* türleri ve benzer özellikler gösteren bitkilerde yürütülen çalışmalar aşağıda sıralanmıştır.

Ahroni ve ark. (1997), *Gypsophila paniculata* L.'nın Arbel çeşidi için boğum aralarını kullanarak farklı sitokinin (TDZ, BA, KİN veya ZEA) ve oksin (NAA) içeren MS ortamında etkili bir rejenerasyon protokolü geliştirmişlerdir. Araştırmada, TDZ eksplantlardan sürgün oluşumunda en etkili sitokinin (% 100) olarak bulunmuştur. Bu rejenerasyon prosedürü, *Gypsophila*'nın diğer kültür çeşitlerinde de (Perfecta, Golan, Gilboa, Flamingo and Tavor) uygulanabilir bulmuştur. Rejenere olan bitkiler, başarılı bir şekilde toprağa transfer edilmiştir.

Kanchanapoom ve ark. (2011), *Gypsophila paniculata* L.'nın rejenerasyonu için tarlada yetiştirilen 2 aylık bitkilerden nodal eksplantlar kullanılarak bir protokol oluşturmuşlardır. Çoklu sürgünlerin başlangıcı, en iyi 13.3 μM BA ilave edilen MS ortamında oluşmuştur. Kallus büyümesi 44.3 μM BA içeren MS' de gözlenmiştir. Kalluslar, sürgün oluşumunu başlatmak için 2, 4-D (4.5, 13.5, 22.6 μM), NAA (5.3,

16.1, 26.8 μM) veya BA (4.4, 13.3, 22.1 μM) ilave edilmiş MS ortamına 2 aylık transfer edilmiştir. Altı haftalık kültür başlangıcından sonra, çoklu sürgünler, 13.3 μM BA ilave edilmiş MS ortamında kültüre alınmış kalluslardan rejenere olmuştur. Bütün rejenere edilmiş sürgünler, 16.1 μM NAA içeren MS ortamında 4 haftada köklenmiştir. Kökleri oluşmuş bitkicikler, % 100 canlılıkta saksılara aktarılmıştır.

Alla-Atta ve ark. (2001), *Gypsophila paniculata* cv. perfecta çeşidinde yürüttükleri mikroçoğaltım çalışmasında eksplant olarak sürgün uçlarını kullanmışlar, kültür başlangıcından 4 hafta sonra en yüksek sürgün sayısının 2 mg/l BA içeren MS ortamında olduğunu (6.8 adet/eksplant), bunu 4.0 mg/l BA + 0.3 mg/l NAA (6.0 adet/eksplant) içeren ortamın takip ettiğini ifade etmişlerdir. Elde ettikleri sürgünlerin ise en iyi köklenmeyi 2.0 mg/l NAA içeren ½ MS ortamında gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Ahroni ve ark. (1997), *Gypsophila perfecta* sürgün rejenerasyonunda TDZ kullanıldığında daha iyi sonuç almalarına rağmen, 0.2 ve 1 mg/l BAP içeren ortamlarda diğerlerine göre daha sağlıklı sürgün oluştuğunu ifade etmişlerdir.

Atalay ve ark. (2007), *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat'de ise 0.22 TDZ'de daha normal ve daha canlı sürgünlerin oluştuğu ancak BAP içeren ortamlardaki sürgünlerden daha açık renkli oldukları fark edilmiştir. Yine yüksek oranda TDZ sürgün gelişiminde anormalliklere sebep olmuştur.

Han ve ark. (1991), *Gypsophila paniculata* sürgünlerinde 5 (beş) farklı konsantrasyondaki (% 0.7, 1.0, 1.3, 1.7, 2.1 ve 2.5 içeren) agarlı 1.0 mg/l BA ve 0.3 mg/l IAA içeren MS ortamında vitrifikasyonu engelleme durumu incelenmiştir.

A. Zuker ve ark. (1997) tarafından çöven bitkisinin yaprak explantlarından adventif sürgünler başarılı bir şekilde geliştirilmiştir. Murashige and Skoog temel alınarak NAA ile kombine farklı konsantrasyonlarda TDZ veya BAP içeren 18 ortamda sürgün rejenerasyon etkinliği test edilmiştir. Eksplant yaşı ve yaprak donörü olarak kullanılan kısımların hepsi rejenerasyon etkinliğini etkilemiştir. En yüksek adventif rejenerasyon etkinliği thidiazuron içeren ortamda analiz edilmiş en genç kısımlarından meydana gelen en yaşlı yapraklardan elde edildi; sürgünler eksplant başına ortalama 7 sürgün ile ortalama yaprakların % 67'den gerçekleşmiştir. Bu rejenerasyon yöntemi

kulanılan 6 çeşit için de uygun olmuştur. rejenere edilen sürgünler uzamış, köklenmiş ve başarılı bir şekilde sera şartlarına uyum sağlamışlardır.

M. N. Barakat ve Heba El-Sammak (2011), *Gypsophila paniculata* L. bitkisinin rejenerasyon kabiliyetini sürgün uçları ve yan tomurcuklar kullanılarak A, B, C ve D protokolleri olmak üzere 4 farklı ortam protokollerinde belirlenmiştir. Kallus başlangıcında ortam protokolü ve ortam protokolü x eksplantların interaksiyonu önemsizken eksplantlar ise önemli farklılıklar oluşmuştur. Tomurcuk eksplantları (% 16.66), sürgün ucu eksplantlarla (% 5.82) kıyaslandığında daha yüksek değeri vermiştir. Ortam protokolleri, sürgün oluşumunda ortam protokolleri x eksplantların interaksiyonundan yüksek derecede önemli değişikliklere neden olmuşken eksplantlar ise önemsiz çıkmıştır. MS ortamına 0.5 mg/L BA and 0.5 mg/L NAA ilave edilmiş protokol A, sürgün oluşumu (% 88.3) ve vitrifikasyonda (% 79.99) diğer 3 ortam protokollerinden üstün olarak yüksek derecede önemlidir.

M. S. Hanafy ve Lobna, M. Abou-Setta. (2007). *G. paniculata'* nın sürgün uçları, her biri 0.5 mg/l NAA ve BAP içeren MS ortamlarında sürgün kültürlerini kurmak için kültüre almıştır. Kallus kültürünü başlatmak için aynı sürgünler 1.5 mg/l her biri 2,4-D ve kinetin içeren MS ortamında kültüre almıştır. Her kültür farklı konsantrasyonlardaki büyüme düzenleyiciler ile farklı kültür ortamlarında yetiştirilmiştir. Kallus büyümesi, 1.5 mg/l 2,4-D içeren ortamda yetiştirildiğinde yüksek olmuştur. Saponin içeriği, HPLC analizi aracılığıyla belirlenmiştir. Sürgün kültürlerinde en yüksek saponin içeriği 5 mg/l IAA içeren ortamda büyümüş sürgünlerde gözlenmiştir. Fakat 2,4-D ve kinetin 1.5 mg/l herbiri içeren ortamda büyümüş kallus dokuların saponinleri, en yüksek saponinleri göstermiştir.

Rashid ve ark. (2012), ekonomik öneme sahip kesme çiçek olan *G. paniculata'*nın *in vitro* tekniği ile çoğaltımda eksplant olarak apikal meristem ve farklı ortamlar kullanılmıştır. Çoklu sürgünler, farklı konsantrasyonlarda BAP, NAA ve Kin'nin çeşitli kombinasyonlarından elde edilmiştir. Yaprakları çıkartılmış apikal meristemlerin sterilizasyonu için musluk suyu ve ev deterjanı ile yıkandıktan sonra ticari sodyum hipokloride daldırılmıştır. Daha sonrasında steril bitkiler, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/l konsantrasyonlarında BAP gibi büyüme düzenleyiciler eklenmiş MS ortamına aşılanmıştır. Çoğaltmak için BAP ve NAA'nin farklı konsantrasyonları, BAP ve Kin (mg/l)'nin farklı kombinasyonları, BAP1 + Kin (mg/l)'nin BAP1 kombinasyonu,

Kin ve NAA (mg/l) kullanılmışken kök oluşması için farklı konsantrasyonlarda Kin ve NAA (mg/l) kullanılmıştır. İklim odasında bitki formları için optimumu sıcaklık 22 +/- 2˚C sağlanmıştır. Kültürler, 16 saat 2000-3000 lüx ışık yoğunluğuna inkube edilmiştir. Bütün ortam, MS temel tuzlar (makro-mikro), demir edta, vitaminler, 30 g/l şeker ve 0.1 g myoinasitola dayanmıştır. 121˚C 20 dk otoklavlanmadan önce ortam pH'sı 5.57'e ayarlanmış ve 1.5 g/l phytagel eklenmiştir. Bütün ortam testlerinde en yüksek sürgün çıkışı, çoklu sürgün oluşumu ve maksimum sürgün boyu 1 mg/l BAP ilave edilmiş ortamdan aşılamadan 4 gün sonra elde edilmiştir. Maksimum sürgün uzunluğu, % 86 ile 6.53 cm'de benzer ortamlarda 21 gün sonra gözlenmiştir. Köklenme başlangıcı, 11 gün sonra 0.5 mg/l NAA eklenmiş ortamda % 85 ile 2.66 cm olarak gözlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak ticari değere sahip olan *Gypsophila arrosti* L. türü kullanılmıştır. Tohumlar S.Ü. Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Mehmet Babaoğlu tarafından temin edilmiştir.

Besin ortamlarının hazırlanması, besin ortamlarının ve gerekli diğer sterilizasyonlar (fayanslar, bisturi, pens) S.Ü. Ziraat Fakültesi Biyoteknoloji laboratuvarının ön hazırlık odasında yapılmıştır. Bitki ve tohumların sterilizasyon işlemleri ve diğer steril çalışmalar laminar hava akışlı steril kabin içerisinde yapılmıştır. Kabin, alkol ile silinip U.V. açılarak 15 dakika çalıştırıldıktan sonra kullanılmıştır. Besin ortamları Merck ve Sigma şirketinin analitik seviyede kimyasalları kullanılarak hazırlanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Besin ortamlarının hazırlanması

MS temelli besin ortamına, makro elementler NH_4NO_3 (1650 mg), KNO_3 (1900 mg), $MgSO_4.7H_2O$ (370 mg), KH_2PO_4 (170 mg) ve $CaCl_2.2H_2O$ (440 mg) hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Mikro besin elementleri ise stok çözeltiler ile ortama ilave edilmiştir. Karbon kaynağı olarak % 3 sakkaroz ilave edildikten sonra hacim tamamlanmış, besin ortamlarının pH'sı 1 N KOH yada 1 N HCl kullanılarak 5.8'e ayarlanmış, % 0.8 yarı katılaştırıcı olarak agar (technical agar, solidifying agent-DIFCO) ilavesinden sonra 1.2 atm basınç altında ve 121˚C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir (Babaoğlu ve ark., 2001).

3.2.1.1. Stok solüsyoların hazırlanması

Stok solüsyonlar bir labaratuvarda dikkatli bir şekilde hazırlanıp sürekli taze olarak elde tutulması gereken besin ortamı unsurlarındandır. Çünkü ticari olarak satılan hazır preparatlar pahalı olmakta ve ortam içeriği istenildiği gibi değiştirilememektedir. En çok hazırlanan stok solüsyonlar; makro ve mikro elementler, bitki büyüme düzenleyicileri, vitaminler ve antibiyotiklerdir. MS temelli olarak ve genellikle normal konsantrasyonu 100 katı (x100) olacak şekilde hazırlanmışlardır.

Stok solüsyonları hazırlanırken, her biri hassas terazide tartıldıktan ve 80 ml saf su içinde, manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldükten sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve çözeltiler kullanılıncaya kadar plastik kaplar içerisinde buzdolabında saklanmıştır. Tüm stok solüsyonları Atalay, 2003; Babaoğlu ve ark., (2002)'e göre aşağıdaki gibi hazırlanmıştır;

H_3BO_3 Stok Solüsyonu (xl00); 620 mg H_3BO_3 80 ml saf su içinde çözündürüldükten sonra son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır. Daha sonra cam şişelere alınarak şişeler etiketlenmiş ve buzdolabında muhafaza edilmiştir.

$MnSO_4.4H_2O$ Stok Solüsyonu (xl00); 2230 mg $MnSO_4.4H_2O$ hassas terazide tartıldıktan ve 80 ml saf su içinde, manyetik karıştırıcı yardımıyla çözündürüldükten sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve çözelti şişe içinde buzdolabında saklanmıştır.

$ZnSO_4.7H_2O$ Stok Solüsyonu (xl00); 100 ml'lik behere 80 ml saf su konulduktan sonra manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş ve 860 mg $ZnSO_4$.7H.2O tartılıp suya eklenmiş, iyice çözündükten sonra son hacim 100 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanmıştır. Renkli cam şişe içine konulmuş ve şişe etiketlendikten sonra buzdolabında muhafaza edilmiştir.

$Na_2MoO_4.2H_2O$ Stok Solüsyonu (xl00); öncelikle 100 ml behere 80 ml saf su konularak işe başlanmış ve daha soma 25 mg $Na_2MoO_4.2H_2O$ tartılıp ilave edilerek son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Renkli cam şişeye konularak etiketlenmiş ve buzdolabında muhafaza edilmiştir.

$CuSO_4.5H_2O$ Stok Solüsyonu (xl00); 2.5 mg $CuSO_4.5H_2O$ içinde 80 ml saf su bulunan behere konulmuş ve manyetik karıştırıcı ile çözündürüldükten sonra hacim yine saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

KI Stok Solüsyonu (xl00); 83 mg KI tartılarak 80 ml saf su içine katılarak son hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve hazırlanan çözelti renkli şişelere alınarak etiketlenerek buzdolabında muhafaza edilmiştir.

$CoCl_2.6H_2O$ Stok Solüsyonu (xl00); 2.5 mg $CoCl_2.6H_2O$ 100 ml'lik behere konulan 80 ml saf suda manyetik karıştırıcı üzerinde çözündürülmüş ve son hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Vitamin Stok Solüsyonu (xl00); glisin (200 mg), nikotinik asit (50 mg), piridoksin-HCl (50 mg), tiamin-HCl (10 mg) vitaminleri beherdeki 80 ml saf su içine, biri tamamen çözündükten sonra diğeri ilave edilerek son hacim 100 ml'ye tamamlanmıştır. Myo-inositol çökelti verdiği için stok solüsyona katılmamış ortam hazırlanırken toz olarak tartılıp ortama ilave edilmiştir.

Vitamin stok solüsyonu 10 ml'lik özel plastik kaplara konulmuş, etiketlenmiş ve bozulmasını engellemek için buzdolabında dondurularak saklanmıştır. Hazırlanan vitamin stok solüsyonu herhangi bir sterilizasyon işlemine tutulmamıştır.

Fe-EDTA Stok Çözeltisi; 5.57 g $FeSO_4$.$7H_2O$ 350 ml saf suda, 7.45 g Na_2EDTA 350 ml saf suda ayrı ayrı hafifçe ısıtılarak eritilmiştir. Her iki çözelti daha soma karıştırılarak hacmi 1 litreye tamamlanmış ve otoklav edilmiştir. Otoklav şelatlama işlemini hızlandırmak amacıyla yapılmıştır. Otoklav sonrası solüsyon koyu altın sarısı bir renk almış ve kullanıma hazır hale gelmiştir. Hazırlanan bu Fe-EDTA stok solüsyonu buzdolabında saklanmıştır.

3.2.1.2. *İn vitro* çimlendirme ortamlarının hazırlanması

In vitro çimlendirmede ticari olarak satılan hazır standart MS (Murashige ve Skoog., 1962) formülasyonu kullanılırken, B içeriği bakımından değiştirilen ortamlar stok solüsyonlar kullanılarak hazırlanmış ve borik asit (H_3BO_3) miktarları değiştirilmiştir. Bir litre besin ortamı hazırlanmak için 2 litrelik bir kapta 800 ml saf su ile işe başlanmıştır. Erlen, manyetik karıştırıcı üzerine konulup karıştırıcı çalıştırıldıktan sonra MS formülasyonunda tüm makro besin elementleri hassas terazide teker teker tartılarak ilave edilmiştir. Mikro besin elementleri daha önce hazırlanmış stok solüsyonları kullanılarak hassas pipet (Gilson) yardımıyla ortama ilave edilmiştir. Bor (B) elementi ise 5 farklı (0, 10, 20, 40, 80 mg/l B) konsantrasyonda borik asit (H_3BO_3) formunda, 0, 57.2, 114.4, 228.8, 457.6 mg/l H_3BO_3 olarak ortama ilave edilmiştir.

Sonra sakkaroz (30 g/l, a/h) ilave edilerek hacim 1 litreye tamamlanarak pH 5.8'e ayarlanıp katılaştırıcı olarak 8 g/l (a/h) agar ilave edilmiştir. Ortam homojen bir görüntü alıncaya kadar ısıtılıp 200 ml'lik kavanozlara, 50 ml besin ortamı olacak şekilde dağıtılmış ve toplamda 2500 ml ortam hazırlanmıştır. Etiketlenen kavanozların ağzı ısıya dayanıklı kapaklarla örtülerek otoklavda sterilize edilmiştir.

3.2.1.3. *In vitro* mikro çoğaltım ortamlarının hazırlanması

Her kavanozda 50 ml olacak şekilde 1250 ml konsantrasyon (0.2, 0.5, 1.0 mg/l) ve kombinasyonlarında (BAP, ZEA, TDZ) içeren MS besin ortamı hazırlanmıştır. Sürgünler farklı içeriğe sahip besin ortamlarında (MS) bitki büyüme düzenleyicileri olarak çeşitli sitokinin konsantrasyon (0.2, 0.5, 1.0 mg/l) ve kombinasyonlarında (BAP, ZEA, TDZ) sürgün oluşumu için kültüre alınmıştır. Ortamlara yarı-katılaştırıcı olarak agar (7-8 g/l), karbon kaynağı olarak sakkaroz (% 3, a/h) ilave edilmiştir. Besin ortamları pH'ı 1 N KOH yada 1 N HCl kullanılarak 5.5–5.8'e ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 121°C'de 20 dakika tutularak steril edilmiştir.

3.2.2. Sterilizasyon işlemi

In vitro doku kültüründe en önemli nokta sterilizasyon işlemleridir. Böylelikle çalışmada istenmeyen bakteriyal veya fungal kontaminantların engellenmesiyle çalışmanın boşa gitmemesi, emek ve zaman kaybının önüne geçilmesi amaçlanmıştır.

Tohumların sterilizasyonu; denemede birincil eksplant kaynağı olarak tohumlar kullanıldığı için bitkinin tohumları % 70'lik alkol içinde 30 saniye bekletildikten sonra 1-2 damla Tween-20 damlatılmış % 15'lik ticari hipoklorit (% 50 NaOCl içeren ticari hipoklorit çözeltisi ile hazırlanmış) çözeltisinde 15 dakika sterilize edilerek steril saf su ile 3-4 kez durulanmıştır.

Çalışma ortamının Sterilizasyonu; tüm steril çalışmalar 0.22 µm porozite de hepa filtrelere sahip yatay hava akışlı kabin içinde gerçekleştirilmiştir. Steril çalışmalara başlamadan önce yatay hava akışlı içi % 96'lık etil alkolle silinmiş ve kabin içi 15 dakika süreyle açık bırakılan ultra-viyole (U.V) lambası ile sterilize edilmiştir.

Alet ve ekipmanların sterilizasyonu; steril çalışmalarda kullandığımız aletler (bisturi, pens vb.) kullanım öncesi % 96'lık etil alkol içine batırıldıktan sonra alev lambasına yatay olarak tutularak alevle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur.

Isıya dayanıklı ve tekrar kullanılabilir erlenler ve diğer kuru materyallerin ağızları alüminyum folyo ile kapatılarak ya da uygun metal konteynırlar içine yerleştirilerek etüvde (sıcak hava fırınında) sterilize edilirken ısıya dayanıklı olmayan materyaller (pipetler) daha önce sterilize edilmiş olarak satın alınmış ve kullanılmıştır.

Sterilizasyon sırasında kullanılacak kavanozlar, boş olarak kapakları kapatılarak otoklavda 121˚C' de 1.5 atm basınç altında 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Eksplantların kültüre alınmasında kullanılan 10x10, 15x15 cm ebadındaki fayanslar alüminyum folyo ile sarılıp otoklav poşetine konulduktan sonra yine otoklavda sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Fayanslar kabin içinde, yüzeyine dokunulmadan açılmış ve aleve tutularak sterilize edilen aletlerle üzerine konulan eksplantların kesilerek kültüre alınmasında kullanılmıştır. Fayanslar her bakımdan temiz olması, sert bir destek vermesi ve daha az maliyete sahip olmasından tercih edilmiştir. Kültür kapları (örnek: cam kavanozlar) açıldıktan sonra ağız kısımları aleve tabi tutulmuştur. Bu işlemle kapların ağız kısımlarından kaynaklanabilecek kontaminasyonu engellemek amaçlanmıştır.

Besin ortamlarının sterilizasyonu; tüm besin ortamları otoklavda (Hirayama, Hiclive HV-85) 20 dakika boyunca 121 ˚C' de 1.5 atm basınç altında sterilize edilmiştir. Hazırlandıktan sonra kavanozlara konulan besin ortamları, kapakları hafifçe kapatılarak ortamların üzeri etiketlenmiş ve kapaklarına otoklav bandı yapıştırıldıktan sonra otoklav sterilizasyonuna tabi tutulmuştur (otoklav bandı sterilizasyon sonrası renk değiştirdiği için kapların veya ortamın sterilize edilip edilmediğinin göstergesidir). Otoklav sonrası kapaklar hemen sıkıştırılmıştır. Bütün ortamlar otoklav edildikten sonra 1-2 saat dışarıda bekletilmiş, soğutulduktan sonra kullanılıncaya kadar kapalı bir dolapta saklanmıştır.

Petrilere dağıtılacak ortamlar ise kavanozlara konulmadan, erlen içerisinde ağzı alüminyum folyo ile kapatılarak otoklav sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Besin ortamları otoklav sonrası katılaşmadan yatay hava akışlı kabin içerisinde 10 ml'lik steril plastik pipetle her petriye 30 ml olacak şekilde 9 mm çapındaki steril plastik petri kaplarına dağıtılmıştır. Ortamlar katılaştıktan sonra streç film (gıda ambalaj filmi) ile sarılarak kapalı dolapta muhafaza edilmiştir. Isı ile bozulmayan büyüme düzenleyicileri otoklav öncesi besin ortamlarına ilave edilmişlerdir.

Bitki materyallerinin yüzey sterilizasyonu; doku kültürü işlemleri arasında en önemli aşamalardan biridir. Yüzey sterilizasyonu için en fazla etil alkol, sodyum hipoklorit, durulamada steril saf su kullanılmış ve bu işleminin tamamı yatay hava akışlı kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. Stok solüsyonları hazırlanırken, her biri hassas terazide tartıldıktan ve 80 ml saf su içinde, manyetik karıştırıcı yardımıyla

çözündürüldükten sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve çözeltiler kullanılıncaya kadar plastik kaplar içerisinde buzdolabında saklanmıştır.

3.2.3. Tohumların Kültüre Alınması

Doku kültürü çalışmalarına temel eksplant kaynağı temini için sterilize edilen tohumlar MS besin ortamı bulunan magenta kültür kaplarında her birinde 5 adet tohum olacak şekilde kültüre alınmıştır. Magentalar 16 saat fotoperiyot, % 64 nem ve 24℃ (±1) sıcaklık ve 3000 lux ışık yoğunluğu koşullarında raflı kültür dolabına konulmuştur. Uygun büyüklüğe gelinceye kadar kültüre devam edilmiştir.

Bitkinin bor elementine karşı gösterdiği tepkinin belirlenmesi amacıyla sterilize edilen tohumlar % 0.8 (a/h) agar, %3 (a/h) sakkaroza ve 5 farklı B konsantrasyonuna sahip MS ortamı içeren magenta kültür kaplarında her birinde 5 adet tohum olacak şekilde kültüre alınmıştır. Her doz için 10 kavanoz ve toplamda 250 adet tohum ile 50 kavanoz kullanılmıştır. Magentalar 16 saat fotoperiyot, % 64 nem ve 24℃ (±1) sıcaklık ve 3000 lux ışık yoğunluğu koşullarında raflı kültür dolabına konulup ve gelişimleri takip edilmiştir. Kültür sonrası analiz için numunenin alınacağı 20. güne kadar 8. ve 12. günde tohumlar gözlenmiş ve çimlenme yüzdeleri tespit edilmiştir. Bitki fidelerin bor elementine karşı büyüme seyri 60. güne kadar gözlemlenmiştir.

3.2.4. Mikro çoğaltım çalışmaları

Kültür alma; steril fidelerden alınan sürgünler çeşitli konsantrasyon (0, 0.5 ve 1.0 mg/l) ve kombinasyonlarında (BAP, KIN, ZEA, TDZ; 2,4-D, NAA, IBA vb.) oksin ve sitokinin içeren MS ortamında kültüre alınmıştır.

Tüm kültürler 16 saat fotoperiyot, % 62–64 oransal nem, 24±1℃ ve 3000 lüks beyaz floresan ışık yoğunluğu koşullarında raflı kültür dolabında tutulmuştur. 30 gün sonunda elde edilen sürgünler 900 ml çeşitli oksin konsantrasyon (0, 0.5 ve 1.0 mg/l) ve kombinasyonlarda(NAA veya IBA) içeren MS ortamında köklendirmeye alınmıştır.

Dış ortama alıştırma (Aklimatizasyon); *in vitro*'da oluşan sürgünler köklendirme sonrası önce 15–27℃'de yüksek nem içeren torf: perlit (1:1) karışımında iki-üç hafta saksılarda ve naylon torba kapatılarak bekletilip birer hafta arayla naylon torbaların köşelerinden kesilerek son hafta da naylon torba ağzı tamamen açılıp sera koşullarında dış ortama alıştırılmıştır.

3.2.5. Gözlem, Ölçüm ve Analizler

3.2.5.1. Bor denemeleri

***In vitro* çimlenme (%);** bor içeren besin ortamlarında kültüre alınan tohumlar çimlenme ve gelişme durumlarının tespiti için dört gün arayla 20. güne kadar gözlem yapılmıştır. Çimlenme değerleri % olarak kaydedilmiştir.

Bitki boyu (cm); Her bir farklı konsantrasyondaki magenta kaplarındaki fidelerin tamamında gövde boyları ölçülerek cm olarak kaydedilmiştir.

Kök uzunluğu (cm); her bir farklı uygulama için tek magentadaki bitki köklerinin tamamında uzunlukları ölçülerek ortalama uzunluklar cm cinsinden tespit edilmiştir.

Bitki ağırlığı (g); bitki fidelerinin B alımını belirlemek amacıyla bitki kök ve gövdeleri kurutma ve yakma sırasında kolaylık sağlaması amacıyla bistüri ile 2-3 parça olacak şekilde kesilip yaş ağırlıkları belirlenecek ve 70°C'deki etüvde yaklaşık 2 gün kurutulup gövdelerin kuru ağırlıkları tespit edildikten sonra yakma işlemine tabi tutulmuştur.

Bitki bor içeriği (mg/kg); hava sirkülasyonlu kurutma dolabında 70 ℃'deki sabit ağırlığa ulaşıncaya kadar kurutulan bitki kısımları (kök ve gövde) hassas terazide (0.000) yaklaşık 0.2 g tartıldıktan sonra mikrodalgada yakma sırasında kullanılan teflon tüplere aktarılmış ve her bir örneğin üzerine 5 ml nitrik asit (HNO_3) ve 2 ml H_2O_2 ilave edilerek 25-30 dakika kadar gaz çıkışı olması için beklendikten sonra mikrodalgaya (CEM-Mars x 5 model) yerleştirilmiştir. Yakma 170 ℃'de 40 dakika 170 PSI basınç altında gerçekleştirilmiştir. Yakma işlemi tamamlanınca hacmi saf su ile 25 ml'ye tamamlanmış ve plastik kaplara mavi bantlı filtre kağıdı ile süzülerek aktarılan numuneler buzdolabında okuma yapılıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

ICP-AES ile örneklerin okunması; Mikrodalga da yakılarak hazırlanan örnekler ICP-AES (Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry).(Varian-Vista Model, axiel) cihazında, standart çözeltiler kullanılarak kalibrasyon yapıldıktan sonra okunmuştur.

Bir okumada 28 elementin miktarını belirleyebilen ICP-AES ile örnekler makro ve mikro element içeriği yönünden analize tabi tutuldu. Okuma sonrası elde edilen veriler;

Element içeriği (mg/kg) = okuma değeri x sulandırma faktörü (hacim)/örnek ağırlığı formülü ile gerçek değere çevrilerek ve istatistiki analizler için kullanılmıştır.

3.2.5.2. Mikro çoğaltım denemeleri

Sürgün sayısı (adet); sürgün sayıları, adet/eksplant olarak belirlenmiştir.

Sürgün boyu (cm); sürgün boyları, eksplant başına cm ortalama olarak belirlenmiştir.

***In vitro* köklenme (adet);** oluşan sürgünler farklı büyüme düzenleyicilerinde köklenme için kültüre alındıktan sonra oluşturdukları kök sayıları, adet/eksplant olarak belirlenmiştir.

***In vitro* kök uzunluğu (cm);** farklı büyüme düzenleyicilerinde köklenme için kültüre alındıktan sonra oluşturdukları kök uzunlukları, cm/eksplant olarak belirlenmiştir.

3.2.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Her iki çalışmadan elde edilen veriler bilgisayarda MSTAT-C istatistik programı kullanılarak analizine tabi tutulmuş ve istatistiki açıdan önemli bulunan değerler çoklu karşılaştırma testi olan LSD uygulanıp literatür bilgileri ile kıyaslamalı olarak yorumlanmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Yapılan araştırmada *Gypsophila arrosti* L.'nin *in vitro* şartlarda bor (B)'a tepkileri ve mikro çoğaltım imkanları araştırılmış ve sonuçlar iki bölüm halinde aşağıda verilmiştir.

4.1. Bor Denemeleri

4.1.1. Çimlendirme

Farklı bor dozlarında çimlendirmeye alınan tohumlarda 20. güne kadar 4'er gün arayla yapılan gözlem sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Gypsophila arrosti'*nin farklı B uygulamalarındaki çimlenme yüzdeleri*

Gözlem zamanı (gün)	B (mg/l)				
	0	**10**	**20**	**40**	**80**
4.	48.0±25.3	30.0±14.1	48.9±22.6	40.0±23.1	44.0±20.7
8.	68.0±27.0	45.7±15.1	68.9±28.5	48.0±25.3	64.0±15.8
12.	68.0±27.0	45.7±15.1	68.9±28.5	54.0±21.2	66.0±13.5
16.	72.0±21.5	57.1±13.8	68.9±28.5	58.0±23.9	70.0±10.5
20.	76.0±20.7	62.9±13.8	71.1±26.7	62.0±19.9	70.0±10.5

* Standart sapma değerlerinin yüksek olması, tekerrürler arası çimlenme güçlerindeki varyasyondan kaynaklanmıştır.

Çizelge 4.1'e bakıldığında her dozda çimlenme yüzdeleri 20. güne kadar düzenli bir şekilde artmıştır. *G.a arrosti* L. bitkisinin; 4. gündeki çimlenme yüzdesi % 48.9 ile 20 mg/l dozunda en yüksek bulunurken, bunu sırasıyla azalan 0 mg/l (% 48.0), 80 mg/l (% 44.0), 40 mg/l (% 40.0) ve 10 mg/l (% 30.0) uygulamaları izlemektedir. 8. gün sonunda en yüksek çimlenme yüzdesi % 68.9 ile 20 mg/l dozunda meydana gelirken, bunu sırasıyla azalan 0 mg/l (% 68.0), 80 mg/l (% 64.0), 40 mg/l (% 48.0) ve 10 mg/l (% 45.7) izlemektedir. 12. gün çimlenmesi sonunda çimlenme yüzdesi % 68.9 ile 20 mg/l dozunda en fazlayken bunu sırasıyla 0 mg/l (% 68.0), 80 mg/l (% 66.0), 40 mg/l (% 54.0) ve 10 mg/l (% 45.7) izlemektedir. 16. gün çimlenmesi sonunda çimlenme yüzdesi % 72.0 ile 0 mg/l dozunda en fazlayken bunu sırasıyla 80 mg/l (% 70.0), 20 mg/l (% 68.9), 40 mg/l (% 58.0) ve 10 mg/l (% 57.1) izlemektedir. 20. gün çimlenmesi sonunda çimlenme yüzdesi % 76.0 ile 0 mg/l B uygulamasından elde edilmiştir ve bunu sırasıyla 20 mg/l (71.1), 80 mg/l (% 70.0), 40 mg/l (% 62.0) ve 10 mg/l (% 62.9) takip etmiştir. Sonuç olarak 0, 10, 20, 40 ve 80 mg/l B uygulamalarında *G. arrosti* L. bitkisin çimlenme oranları standart sapmadan da anlaşılacağı üzere varyasyon göstermiş olup çimlenmenin bor uygulamalarından etkilenmediği görülmektedir.

Yapılan araştırmalara bakıldığında; Atalay (2003) farklı bor dozlarının (0. 1.08. 3.24. 9.72. 19.44 mg/l B) Kızıltan-91 çeşidinde çimlenme üzerine etkisini *in vitro* ortamında araştırmış ve bor uygulamalarının bu çeşitte çimlenmeyi etkilediğini belirtirken, Yorgancılar ve Babaoğlu (2005) Buğday Çeşitlerinde Borun Çimlenme Üzerine Etkisinin *In vitro* ve Saksı Şartlarında Araştırılması isimli yaptığı çalışmada bor uygulamalarının çimlenmeyi etkilemediğini tespit etmiştir. Paull ve ark. (1988), yaptıkları denemelerde saksı toprağına 25, 50, 150 mg/kg B dozu uygulayarak buğday ve arpa çeşitlerinin tepkilerini incelemişlerdir. Araştırmanın sonucuna göre en yüksek uygulamada B dozunun çimlenmeyi geciktirdiğini ancak çimlenme yüzdesinde bir değişikliğin meydana gelmediğini bildirmişlerdir. Lima (1998), bezelye tohumlarını 0, 2, 4, 8, 10, 15 ve 20 mg/l B çözelti ile doyurulmuş pamuk üzerinde çimlendirerek borun çimlenmeye etkisini incelemiştir. Yalnızca yüksek konsantrasyonlarda yaklaşık olarak % 8 azalma gösteren çimlenme oranı 8 mg/l B'ye kadar B uygulamasından etkilenmediğini belirlemiştir. Ayrıca, fide gelişiminin azaldığı ve toksite belirtilerinin ortaya çıktığı B konsantrasyonundan 4 kat daha fazla B bulunması durumunda tohumların çimlenme oranında azalma olduğunu ifade etmiştir. Bagheri ve ark. (1992), bezelyelerde sera şartlarında yaptıkları saksı denemelerinde çimlenmenin B seviyesinden etkilenmediğini ifade etmişlerdir.

Görüldüğü gibi, Paull ve ark. (1988); Atalay (2003); Yorgancılar ve Babaoğlu (2005) buğday ve arpa, Lima (1998); Bagheri ve ark. (1992) bezelyede benzer sonuçlar elde ettikleri görülmektedir. Bu çalışmalarda sonuçlarımızı destekler niteliktedir.

4.1.2. Bitki gelişim parametreleri

Araştırmada farklı dozlardaki bor uygulamalarında bitki gelişim seyri incelenmiş ve 6 haftanın sonunda bitkilerde aşağıdaki değerler belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Yapılan varyans analizi sonucunda farklı bor uygulamalarının gövde uzunluğu ve gövde kuru ağırlığı üzerine etkisi % 1 seviyesinde önemli, gövde yaş ağırlığı üzerine etkisi % 5 seviyesinde önemli bulunurken, kök uzunluğu ve kök kuru ağırlığı üzerine etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.2)

Çizelge 4.2. *Gypsophila arrosti'*nin farklı B uygulamalarındaki bitki gelişim seyrine ait varyans analiz sonuçları

Parametreler	S.D.	K.O.	F	CV
Gövde uzunluğu	4	16.893	10.6354**	0.24
Kök uzunluğu	4	2.020	2.3142	0.20
Gövde yaş ağırlığı	4	0.322	4.8347*	0.57
Kök yaş ağırlığı	4	0.052	2.9741	0.68
Gövde kuru ağırlığı	4	0.011	7.8559**	0.41
Kök kuru ağırlığı	4	0.001	3.3190	0.29

** %1, * %5 seviyesinde önemlidir.

Çizelge 4.3. *Gypsophila arrosti'*nin farklı B uygulamalarındaki bitki gelişim seyri

Parametreler	B (mg/l)					LSD Değeri
	0	10	20	40	80	
Gövde uzunluğu (cm)	4.8 AB	6.3 A	7.5 A	6.3 A	1.4 B	3.45
Kök uzunluğu (cm)	5.3	5.2	5.1	4.3	3.3	-
Gövde yaş ağırlığı (g)	0.5 ab	0.9 a	0.5 ab	0.2 b	0.1 b	0.49
Kök yaş ağırlığı (g)	0.22	0.34	0.30	0.09	0.03	-
Gövde kuru ağırlığı (g)	0.08 B	0.19 A	0.09 B	0.07 B	0.01 B	0.09
Kök kuru ağırlığı (g)	0.06	0.09	0.07	0.07	0.01	-

Çizelge 4.3'e bakıldığında en fazla gövde uzunluğu 7.5 cm ile 20 mg/l B uygulamasından elde edilmiştir. 20 mg/l B uygulamasına kadar gövde uzunluğunda artış gözlenmiş bundan sonra artan B dozlarında azalma meydana gelmiştir. En düşük gövde uzunluğu ise 80 mg/l B dozunda oluşmuştur. Burada görüldüğü gibi yapılan LSD gruplamasında 10, 20 ve 40 mg/l B uygulamasında *G. arrosti* bitkisi gövde uzunluğu bakımından benzer tepki vermiştir. Sonuç olarak gövde uzunluğu bakımından bu bitki belli bir düzeydeki bor konsantrasyonunda gelişim göstermiştir.

Bu bitkinin kök uzunluklarına bakıldığında ise bor uygulaması arttıkça bitki kök gelişimin azaldığı görülmüştür. Fakat bu azalma istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Yapılan çalışmalara bakıldığında B uygulamasının artması ile birçok türde kök uzunluğunun azaldığı ifade edilmiştir. Yorgancılar, (2005); Campbell ve ark., (1998) yaptıkları araştırmada B uygulanmayan bitkilerde kök uzunluklarının fazla bir artış göstermediğini, B dozu arttırıldıkça kök uzunluklarında bir azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir. Yorgancılar (2005); El-Sharkawi ve ark.'nın (1999), borun buğdayda kök gelişimine etkisini inceledikleri çalışmalarına göre artan B uygulamasının bir noktaya kadar kılcal kök gelişimi hızlandırdığını fakat B dozunun daha da arttırılması

ile köklerde deformasyonlara neden olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak B uygulamasının artması ile kök uzunluğunda bir azalma meydana gelmiştir fakat bu bitkide 80 mg/l B uygulanasında bile belirli düzeyde bir kök gelişimi meydana gelmiştir.

G. arrosti bitkisi, gövde ağırlıkları incelenecek olursa uygulamalar arasında farklılık oluştuğu görülmektedir. En fazla gövde yaş ağırlığı 0.9 g ile 10 mg/l B dozunda görülürken 20 mg/l dozu uygulamasından sonra azalma meydana geldiğini söyleyebiliriz. Görüldüğü gibi bor dozunun artışı ile gövde yaş ve kuru ağırlıklarında bir azalma meydana gelmiştir fakat yine de bu bitki belirli oranlardaki bor dozuna direnç göstermiştir. Yorgancılar (2005), B uygulamalarında gövde ağırlık ortalaması doz miktarı artınca azalmalar görüldüğünü ifade etmiştir.

G. arrosti bitkisi, kök yaş ve kuru ağırlığı bakımından istatistiki olarak uygulamalar arasında farklılık bulunmamasına rağmen 20 mg/l B uygulamasından sonra bitkinin kök gelişimi yavaşladığından kök miktarlarında ritmik bir azalma meydana gelmiştir. Güneş ve Alpaslan (2000), sera şartlarında yetiştirdikleri 8 mısır genotipinde, B uygulamasının borun alımını ve konsantrasyonunu arttırırken kuru ağırlığı azalttığını belirlemişlerdir. Barut (1997); Alpaslan ve ark. (1996); Taban ve ark. (1995); Paull ve ark. (1993); Paull ve ark. (1988); tarafından yapılan denemelerde, uygulanan B miktarına bağlı olarak buğday çeşitlerinin kuru ağırlıklarının bazı çeşitlerde azaldığı bazı çeşitlerde ise belirgin bir değişmenin olmadığını belirtmişlerdir (Yorgancılar, 2005).

Sonuç olarak bütün bitki gelişim parametreleri bir bütün olarak değerlendirildiğinde bu bitkinin belirli bir orandaki bor dozuna (40 mg/l B) direnç gösterebildiğini söyleyebiliriz.

4.1.3. Element içerikleri

Bitki kök ve gövdesinde yapılan element analizi sonucu elde edilen değerler varyans analizine tabi tutulmuştur.

4.1.3.1. Kök

Gypsophila arrosti L. fidelerin kök B içerikleri ICP-AES cihazı ile belirlendikten sonra B miktarları mg/kg olarak hesaplanmış ve istatistik analiz sonucu

elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.4'da verilmiştir. *Gypsophila arrosti* L. bor uygulaması incelendiğinde kök B içeriklerinde en düşük B alımı 10.5 mg/l ile 0 B dozunda görülürken en yüksek B alımı ise 80 mg/l dozunda 601.9 mg/l olarak meydana gelmiştir. B konsantrasyonu arttıkça bitki kökünde B birikiminde lineer olarak arttığı gözlenmiştir.

Bitki köklerinde element analizi sonucunda farklı B uygulamalarında % 1 seviyesinde önemli olan elementler; Na, B, K, Cu, Mn, S, % 5 seviyesinde ise P, Mg ve Zn elementleridir. Ca elementinin miktarı ise istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.4. *Gypsophila arrosti'*nin farklı B uygulamalarındaki element içeriğine ait varyans analiz sonuçları

	Gövde				Kök			
Parametreler	S.D.	K.O.	F	CV	S.D.	K.O.	F	CV
Ca	4	444650.228	9.7386**	0.05	4	476743.227	1.6558	0.17
K	4	10147063.515	7.7226**	0.04	4	54544218.823	14.4250**	0.08
P	4	5474730.373	17.4650**	0.12	4	4777991.221	5.6637*	0.14
Mg	4	206214.895	9.2461**	0.08	4	479179.265	5.5510*	0.21
B	4	574581.118	308.2873**	0.07	4	171016.005	939.4769**	0.07
Mn	4	7690.888	11.2323**	0.11	4	2751.128	9.4330**	0.10
Cu	4	2.459	6.9144*	0.23	4	7.311	9.1567**	0.17
Zn	4	5726.829	39.3651**	0.09	4	1252.972	5.0657*	0.08
Na	4	48672.088	3.1412	0.10	4	405739.349	20.9603**	0.08
S	4	329411.078	9.5016**	0.07	4	427280.912	5.1235**	0.08

** %1, * %5 seviyesinde önemlidir.

Çizelge 4.5. *Gypsophilla arrosti* kök besin elementleri içerikleri

B (mg/l)	Makro Besin Elementleri (mg/kg)				Mikro Besin Elementleri (mg/kg)					
	Ca	K	P	Mg	B	Mn	Cu	Zn	Na	S
0	3302.4	26082.1AB	6419.2bc	1689.2a	10.5E	144.9BC	4.3BC	200.4ab	2336.7A	3464.4b
10	3697.1	28592.2A	5712.1bc	1873.8a	57.7D	131.7C	4.3BC	212.8a	1721.4B	3689.8b
20	2992.4	27672.5AB	5506.3c	1419.2ab	98.4C	180.6AB	4.0C	175.0bc	1848.2B	3433.1b
40	3146.8	22873.0BC	7424.1ab	1021.5b	212.0B	163.3ABC	7.5A	188.7abc	1806.8B	4367.6a
80	2613.2	18104.6C	8535.3a	967.1b	601.9A	208.7A	6.5AB	161.0c	1305.6C	3801.5b
Ort.	3150.4	24664.9	6719.4	1394.2	196.1	165.84	5.32	187.58	1803.74	3751.28

S $LSD_{0.05}$: 543.7; Na $LSD_{0.01}$: 381.2; Zn $LSD_{0.05}$: 29.61; Mg $LSD_{0.05}$: 5532.0.; Mn $LSD_{0.01}$: 46.79; P $LSD_{0.05}$:1729.; K $LSD_{0.01}$:5327; Cu $LSD_{0.01}$: 2.447; B $LSD_{0.01}$: 36.96

Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi B dozunu artırılması ile bitki kökünün K, Mg, Zn, Na element içerikleri düzenli bir şekilde azalırken, P, B, Mn, Cu, elementlerinde artış belirlenmiştir. Ca, S içeriği ise dalgalanmalar görülmüştür. Gezgin ve Hamurcu (2006)

Borun N, Ca, Mg, Fe ve Mn ile antogonistik; P, K, S, Zn ve Cu ile de sinerjistik etkileşiminin olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla kısmen örtüşmemiştir. Bu farklılığın kök element içerikleri olmasından ve araştırmamızın doku kültürü şartlarında kapalı kavanozlarda yürütülmesinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

4.1.3.2. Gövde

Gypsophila arrosti L. fidelerin gövde B içerikleri ICP-AES cihazı ile belirlendikten sonra B miktarları mg/kg olarak hesaplanmış ve istatistik analiz sonucu elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.4'da verilmiştir. Bitki gövdelerinde element analizi sonucunda farklı B uygulamalarında % 1 seviyesinde önemli olan elementler; Ca, B, K, Mn, S, P, Mg ve Zn, % 5 seviyesinde ise Cu elementi önemli bulunmuşken Na, elementi ise istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.6. *Gypsophilla arrosti* gövde besin elementleri içerikleri

B (mg/l)	Makro Besin Elementleri (mg/kg)				Mikro Besin Elementleri (mg/kg)					
	Ca	K	P	Mg	B	Mn	Cu	Zn	Na	S
0	4645.3A	29857.4AB	4963.0BC	2107.8A	9.5D	238.1B	2.8ab	125.7BC	1249.8	2560.3AB
10	4386.2A	27524.7B	3203.6D	2019.5A	286.4C	224.7B	2.2bc	97.8C	1316.5	2250.1B
20	4179.9AB	27467.4B	3666.9CD	1841.9A	500.8B	185.8B	1.3c	94.4C	1283.1	2168.6B
40	4193.5A	31740.8A	5538.3AB	1925.0A	958.4A	251.7B	3.0ab	134.0B	1333.0	2618.7AB
80	3600.4B	30174.7AB	6502.6A	1431.4B	1035.4A	324.0A	3.7a	202.8A	1019.9	3001.2A
Ort.	4201.1	29353.0	4136.3	1865.1	558.1	244.86	2.6	130.94	1240.46	2519.78

Ca $LSD_{0.01}$: 585.4; B $LSD_{0.01}$: 118.3; Mn $LSD_{0.01}$: 71.69; Mg $LSD_{0.01}$: 409.1; Zn $LSD_{0.01}$: 33.04;
S $LSD_{0.01}$: 510.1 P $LSD_{0.01}$:1534.0 K $LSD_{0.01}$: 3140; Cu $LSD_{0.05}$: 1.123

Gypsophila arrosti L. bor uygulaması incelendiğinde gövde B içeriklerinde en düşük B alımı 9.5 mg/l ile 0 B dozunda görülürken en yüksek B alımı ise 80 mg/l dozunda 1035.4 mg/l değişim göstermiştir (Çizelge 4.4). Nable ve ark. (1990), 0.618-395 mg/l borik asit aralığında B konsantrasyonu arttıkça B alımının lineer olarak arttığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlarda çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Bitkinin diğer element içeriklerine bakıldığında ise B uygulamasının artması ile bitki gövdesindeki Ca, Mg ve Na miktarı azalırken, K, P, Mn, Cu, Zn ve S miktarı artmıştır. Gezgin ve Hamurcu (2006) Borun N, Ca, Mg, Fe ve Mn ile antogonistik; P, K,

S, Zn ve Cu ile de sinerjistik etkileşiminin olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızı kısmen destekler niteliktedir.

Sonuç olarak çalışmanın doku kültürü şartlarında kapalı kavanozlarda yapılmış olması bitkinin element alımı hakkında genel bir bilgi vermektedir, fakat bazı elementlere ait sonuçlar sera ve arazi şartlarında değişkenlik gösterebilir. Bu nedenle *in vitro* çalışmalar sera ve arazi denemelerine ön bilgi verme niteliğinde olmaktadır. Çünkü bitkinin arazi koşullarındaki çevresel faktörleri iklim koşullarına bağlı olarak değişmektedir.

4.2. Hızlı Çoğaltım

4.1.1. Sürgün çoğaltımı

G. arrosti L.'a ait 30 günlük steril fidelerden alınan boğum arası explantları farklı konsantrasyonda (0.2, 0.5 ve 1.0 mg/l) ZEA, TDZ ve BAP içeren MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından farklı zamanlarda boğumlardan yaprakların yeniden oluştuğu görülmüştür. Zaman içinde TDZ bitki büyüme düzenleyicisi içeren MS besin ortamlarının farlı dozlarında da sürgün sayısının diğer ortamlara göre hızla arttığı ve oluşanlarında ise camsılaşmanın başladığı gözlenmiştir.

Kullanılan farklı ortamların eksplant başına sürgün sayılarına etkisini belirlemek için varyans analizi yapılmıştır (Çizelge 4.7). Varyans analizi sonucunda büyüme düzenleyici sürgün sayısı bakımından %1 düzeyinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bu değerler arasındaki önem düzeyini belirlemek için yapılan LSD testi sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Farklı miktarlardaki BAP, ZEA ve TDZ içeren ortamların genel ortalamasına bakıldığında en fazla sürgün sayısı 23.1 adet olarak TDZ içeren ortamlarda gözlenmiştir. Genel olarak TDZ içeren ortamlarda sürgün sayısı daha fazla olmasına rağmen TDZ'nin sürgünler üzerindeki olumsuz etkisi nedeniyle sürgünlerin kimisinde camsılaşma kimisinde ise yaprakların sararmış oldukları gözlenirken BAP ve ZEA'li ortamlarda sürgünlerin sağlıklı oldukları gözlenmiştir. 30 gün sonunda oluşan sürgünler sayılarak köklendirme ortamına aktarılmıştır (Şekil 1.).

Çizelge 4.7. *Gypsophila arrosti'*nin farklı büyüme düzenleyicisi içerisindeki sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait varyans analiz çizelgesi

	Sürgün sayısı				Sürgün Uzunluğu			
Parametreler	S.D.	K.O.	F	CV	S.D.	K.O.	F	CV
BDZ	2	647.293	39.6374**	0.000	2	4.918	75.1053**	0.000
DOZ	2	41.831	2.5616	0.1050	2	0.344	5.2464*	0.0160
BDZ x DOZ	4	5.218	0.3195	-	4	0.205	3.1231*	0.048
HATA	18	16.330	-	-	18	0.065	-	-

** % 1, * % 5 seviyesinde önemlidir.

Çizelge 4.8. *Gypsophila arrosti'*nin farklı büyüme düzenleyicisi içerisindeki sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu

	Sürgün Sayısı (adet/eksplant)				Sürgün Uzunluğu (cm)			
BD	BD miktarı (mg/l)			Ort.	BD miktarı (mg/l)			Ort.
	0.2	0.5	1.0		0.2	0.5	1.0	
BAP	5.9	7.2	10.9	8.0 B	2.4 a	1.7 c	1.9 bc	2.0 A
TDZ	23.0	20.4	26.0	23.1 A	0.8 d	0.8 d	0.8 d	0.8 B
ZEA	7.3	8.9	10.6	8.9 B	2.4 a	2.3 ab	1.8 c	2.2 A
Ort.	**12.1**	**12.2**	**15.8**		**1.9 a**	**1.6 b**	**1.5 b**	

BD: Büyüme düzenleyicisi BD-$LSD_{0,01}$: 5.48 BD-$LSD_{0,01}$: 0.35; BDM-$LSD_{0,05}$: 0.25
BDM: Büyüme düzenleyici miktarı BD x BDM-$LSD_{0,05}$: 0.44

Ayrıca gelişen sürgünlerin uzunlukları cm cinsinden ölçülmüş ve değerlerin ortalamaları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Yapılan varyans analizinde büyüme düzenleyicisi (BDZ) %1, uygulama dozu (DOZ) ve BDZxDOZ interaksiyonu %5 seviyesinde istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Farklı büyüme düzenleyicilerinde *G. arrosti*'de sürgün uzunluğu 0.8 ile 2.4 cm arasında değişmiştir. En yüksek sürgün uzunluğu BAP ve ZEA'nin 0.2 mg/l uygulamasından (2.4 cm) elde edilirken, en düşük sürgün uzunluğu TDZ (0.8 cm) tüm uygulamalarından elde edilmiştir. Büyüme düzenleyicilerinin genel ortalamalarına bakıldığında ise ZEA sürgün uzunluğu (2.2 cm) bakımından etkili olurken BAP ile (2.0 cm) aynı grup içerisinde yer almıştır. Uygulama dozlarında ise sürgün uzunluğu bakımından 0.2 mg/l düzeyi etkili doz olarak belirlenmiştir. Rashid ve ark. (2012), maksimum sürgün uzunluğu,1 mg/l BAP içeren ortamda % 86 ile 6.53 cm'de 21 gün sonra gözlenmiştir.

Sonuç olarak *G. arrosti* bitkisinde doku kültürü ile mikroçoğaltım için, sürgün sayısı bakımından 1 mg/l TDZ uygulaması, sürgün uzunluğu bakımından ise 0.2 mg/l BAP veya ZEA içeren ortam araştırıcılara tavsiye edilebilir. Ahroni ve ark. (1997),

Gypsophila'nın diğer kültür çeşitlerin (Perfecta, Golan, Gilboa, Flamingo ve Tavor) eksplantlarında sürgün oluşumunda en etkili sitokinin (% 100) olarak TDZ'i bulmuşlardır. Ayrıca *Gypsophila perfecta* sürgün rejenerasyonunda TDZ kullanıldığında daha iyi sonuç almalarına rağmen, 0.2 ve 1 mg/l BAP içeren ortamlarda diğerlerine göre daha sağlıklı sürgün oluştuğunu belirtmişlerdir. Atalay ve ark. (2007)'da, *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat'de ise 0.22 TDZ'de daha normal ve daha canlı sürgünlerin oluştuğu ancak BAP içeren ortamlardaki sürgünlerden daha açık renkli oldukları fark etmişler ve yine yüksek oranda TDZ sürgün gelişiminde anormalliklere sebep olduğu görüşleri çalışmamızı destekler niteliktedir.

4.1.2. Sürgünlerin köklendirilmesi

G. arrosti L. türünde mikro çoğaltım ile elde edilen 2-3 cm boyundaki sağlıklı sürgünler 0.2 ve 1.0 BAP (mg/l) ile 0.2 ZEA (mg/l) dozundaki hormonlu ortamlardan alınan sürgünler 0 mg/l, 0.5 ve 1.0 mg/l IBA ile 0.5 ve 1.0 mg/l NAA içeren MS ortamlarında köklendirilmeye alınmıştır. Bitkilerde sürgün gelişimi ve kök uzunluğu belirlenmiş ve elde edilen değerler varyans analizi yapılmıştır. Sağlıklı sürgünlerin gözlemlendiği farklı sitokininli ortamların ve köklendirme ortamlarının sürgün uzunluğu ve kök uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak % 1 seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9).Yapılan LSD önem testine göre Çizelge 4.10.'da ortalama gelişen sürgün uzunluğu ve Çizelge 4.11.'de ortalama kök uzunluğu gruplandırılmıştır.

Çizelge 4.9. *Gypsophila arrosti'*nin farklı büyüme düzenleyicisi içerisindeki sürgün uzunluğu ve kök uzunluğuna ait varyans analiz çizelgesi

		Gelişen Sürgün Uzunluğu		
Parametreler	S.D.	K.O.	F	CV
Geldiği Sürgün Ortamı (GSO)	2	4.424	6.4137**	0.0048
Köklendirme Ortamı (KO)	4	4.371	6.3365**	0.0008
GSO x KO	8	1.663	2.4116	0.0384
Hata	30	0.690	-	-
		Kök Uzunluğu		
Parametreler	S.D.	K.O.	F	CV
Geldiği Sürgün Ortamı (GSO)	2	6.329	38.8698**	0.0000
Köklendirme Ortamı (KO)	4	0.951	5.8410**	0.0013
GSO x KO	8	0.266	1.6363	0.1562
Hata	30	0.163	-	-

** %1, * %5 seviyesinde önemlidir. A:Geldiği ortam (0.2 ZEA, 0.2 BAP ve 1.0 BAP)B: Köklendirmeye alındığı ortam (0.5-1.0 NAA veya IBA).

Çizelge 4.10. *G. arrosti* L. bitkisinin farklı köklenme ortamlarındaki ortalama sürgün gelişimi (cm)

Geldiği Sürgün Ortamı (mg/l)	Köklendirme Ortamı (mg/l)					Ort.
	0	**0.5 IBA**	**1 IBA**	**0.5 NAA**	**1 NAA**	
0.2 ZEA	7.4A	5.5BCD	4.5D	6.5AB	6.4ABC	**6.1B**
1.0 BAP	6.6AB	5.5BCD	6.4ABC	6.9AB	4.6CD	**6.0B**
0.2 BAP	7.7A	5.9ABCD	7.0AB	7.4A	6.9AB	**7.0A**
Ortalama	**7.2A**	**5.6C**	**6.0BC**	**6.9AB**	**6.0BC**	

GSO $LSD_{\%1}$: 0.83, KO $LSD_{\%1}$: 1.08, GSO x KO $LSD_{\%1}$: 1.87

Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi farklı büyüme düzenleyicileri içeren köklendirme ortamında *G. arrosti*'nin ortalama gelişen sürgün uzunluğu, 6.0 ile 7.0 cm arasında değişmiş olup en fazla sürgün uzunluğu 0.2 mg/l BAP uygulamasından aktarılmış bitkilerden elde edilmiştir. Farklı dozlarda köklendirme ortamlarına bakıldığında ortalama sürgün uzunluklarında farklılıklar görülmüş olup, en yüksek sürgün uzunluğu ortalaması büyüme düzenleyicisi içermeyen ortamdan elde edilmiştir. 0.2 ZEA'li ortamdan büyüme düzenleyici içermeyen ortama aktarılanlarda sürgün uzunluğu 7.4 cm, 1.0 BAP'lı ortamdan büyüme düzenleyici içermeyen ortama aktarılanlarda sürgün uzunluğu 6.6 cm, 0.2 BAP'lı ortamdan büyüme düzenleyici içermeyen ortama aktarılanlarda sürgün uzunluğu 7.7 cm'dir.

Çizelge 4.11. *G. arrosti* L. bitkisinin farklı köklenme ortamlarındaki ortalama kök uzunluğu (cm)

Geldiği Sürgün Ortamı (mg/l)	Köklendirme Ortamı (mg/l)					Ort.
	0	**0.5 IBA**	**1 IBA**	**0.5 NAA**	**1 NAA**	
0.2 ZEA	2.5A	2.3AB	1.5BC	1.2CD	1.7ABC	**1.8A**
1.0 BAP	1.3CD	0.5DE	0.2E	0.4DE	0.4DE	**0.5C**
0.2 BAP	1.1CDE	1.2CD	1.1CDE	1.0CDE	0.8CDE	**1.0B**
Ortalama	**1.6A**	**1.3AB**	**0.9B**	**0.9B**	**1.0B**	

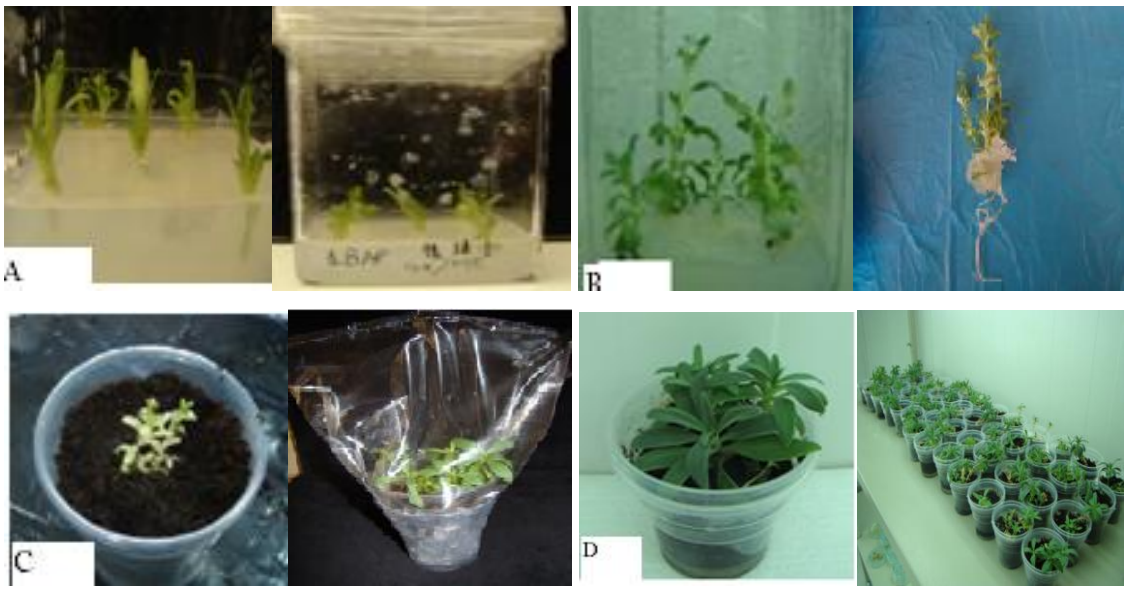
GSO $LSD_{\%1}$: 0.41, KO $LSD_{\%1}$: 0.52, GSO x KO $LSD_{\%1}$: 0.91

Çizelge 4.11'da görüldüğü gibi 0.2 ZEA, 1.0 BAP ve 0.2 BAP ortamlarından gelen sürgünleri aktardığımız farklı doz ve ortamlardaki köklendirme ortamları (0.5 IBA, 1.0 IBA, 0.5 NAA ve 1.0 NAA) ile kıyaslandığında 0 mg/l MS ortamında geldikleri üç ortamda da sürgün ve kök uzunluklarını bakımından en yüksek değer sırasıyla 7.2 cm ve 1.6 cm olarak bulunmuştur. Bu durum ile *G. arrosti* L. bitkisinin köklenmesi (% 100) için oksin kullanılması gerekmediğini göstermiştir. 0.2 ZEA'li ortamdan büyüme düzenleyici içermeyen ortama (0 mg/l) aktarılanlarda kök uzunluğu

2.5 cm; 1.0 BAP'lı ortamdan büyüme düzenleyici içermeyen ortama (0 mg/l) aktarılanlarda kök uzunluğu 1.3 cm; 0.2 BAP'lı ortamdan büyüme düzenleyici içermeyen ortama (0 mg/l) aktarılanlarda kök uzunluğu 1.1 cm'dir. Alla-Atta ve ark. (2001), en iyi köklenmeyi 2.0 mg/l NAA içeren 1/2 MS ortamında gösterdiklerini belirlemişlerdir. Rashid ve ark. (2012), köklenme başlangıcı, 11 gün sonra 0.5 mg/l NAA eklenmiş ortamda % 85 ile 2.66 cm olarak gözlemiştir. . Kanchanapoom ve ark. (2011), rejenere olmuş sürgünleri 16.1 µM NAA içeren MS ortamında 4 haftada köklendiğini belirlemişlerdir. Sonuç olarak bizim çalışmamızda, bir hafta sonunda sürgünlerin bazılarında kök oluşumu başlamıştır. 2. haftanın sonunda sürgünlerin çoğunda kök oluşumu gözlenmiştir. 4. haftanın sonunda sürgünlerin tamamı köklenmiştir. Buda yapılan araştırmalarla benzerlik göstermektedir.

4.1.3. Sürgünlerin dış ortama alıştırılması

G. arrosti L. türlerinde *in vitro*'da oluşan sürgünler köklendirme sonrası önce 15–27°C'de yüksek nem içeren torf: perlit (1:1) karışımında iki-üç hafta saksılarda ve naylon torba kapatılarak bekletilip birer hafta arayla naylon torbaların köşelerinden kesilerek son hafta da naylon torba ağzı tamamen açılıp sera koşullarında dış ortama alıştırılmıştır (Şekil 1.). Kanchanapoom ve ark. (2011), 4 haftada köklenen bitkiciklerin % 100 canlılıkta saksılara aktarıldığını belirtmişlerdir.



Şekil 1. *Gypsophila arrosti* L. bitkisinin *in vitro* doku kültürü ile çoğaltılması
a) 1.0 mg/l BAP içeren MS ortamında yan sürgünlerin çoğaltımı
b) Köklenme ortamında oluşan kökler
c) Aklimatizasyon işlemi yapılan fide
d) Saksı olarak bardaklara aktarılmış *Gypsophila arrosti* bitkisi

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Gypsophila arrosti bitkisi de diğer bazı türleri gibi bitki bünyesinde (kök ve gövde) B biriktirerek hiperakümülatör bir bitki olma özelliğini göstermektedir. *Gypsophila arrosti* bitkisinin bor elementine olan tepkisi 0 ile 80 mg/l B dozu sonuçlarına baktığımızda hem gövde kısmında (9.5-1035.5 mg/l) hem de kök kısmında (10.5-601.9 mg/l) bor elementini lineer bir artışla bünyesine aldığı gözlenmiştir.

Böyle ticari ve endemik bir bitki olan *G.arrosti'*nin mikro çoğaltımında steril fidelerden alınan explantlar 0.2, 0.5 ve 1.0 mg/L BAP, TDZ ve ZEA içeren MS ortamında oluşan sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna bakıldığında TDZ'li ortamda sürgün sayısının en fazla olduğu gözlemlenirken sürgün uzunluğunu da en az olup camsılaşma görülmüştür. BAP ve ZEA'li ortamlarda ise sağlıklı sürgünler gözlenmiştir. En fazla sürgün uzunluğu ise 2.2 cm olarak ZEA'li ortamlarda görülmüştür. 0.2 ZEA, 1.0 BAP ve 0.2 BAP'lı ortamlarda sürgünlerin daha sağlıklı olduğu görüldüğü ve bu ortamdan gelen sürgünlerin 0 mg/l, 0.5 ve 1.0 mg/l IBA ile 0.5 ve 1.0 mg/l NAA içeren köklendirme ortamlarına alınmıştır. Sonucunda ise büyüme düzenleyici içermeyen ortama aktarılanlarda kökler daha uzun olduğu gözlenmiştir. 0.2 ZEA'li ortamdan gelen sürgünlerin kök uzunluğu, 2.5 cm, 1.0 BAP'lı ortamdan gelen sürgünlerin kök uzunluğu 1.3 cm, 0.2 BAP'lı ortamdan gelen sürgünlerin kök uzunluğu 1.1 cm'dir.

Yapılan çalışmalarla; bu bitkinin B tolerans sınırları tespit edilerek literatürlere ve bilime kazandırılmaktadır. Böylece bor bakımından toksite problemleri olan tarım alanlarında bu bitkiler temizleyici bitki olarak kullanılabilme potansiyeli de belirlenmiş olmaktadır. Oluşturulacak ıslah programlarında B toksitesi ve tuza dayanıklılık konusunda model bir bitki potansiyeline sahiptir.

5.2. Öneriler

1. Çöven elde edilen bitkilerin özellikle *Gypsophila arrosti* L.'nin üretim yöntemleri araştırılmalı ve üretimleri teşvik edilmelidir.

2. Ortamın sürgün oluşumunda iyi bir ortam olan TDZ'in oluşturduğu vitrifikasyon probleminin nasıl engellenmesi konusu hakkında çalışmalar yapılmalıdır.

3. Kazık köklü ve bor hiperakümülatör bitki olan *G.arrosti* bitkisi bor toksitesi mevcut olan bölgelerimiz için tercih edilebilir.

4. Yurt içi doğadan çöven kökü sökümü durdurulmalı veya en azından çöven kökü sökülen alanlarda münavebe uygulanması sağlanmalıdır.

5. Çoğu endemik olan *Gypsophila* L. türlerinin bazı taksonların doğadan kontrolsüz şekilde toplanması bitkilerin populasyonlarını zayıflatmakta ve endemik türlerin nesillerinin devamı bakımından tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle ekonomik amaçlı olarak yaygın bir şekilde kullanılan taksonların üretilmesine ve doğada tehdit altında olan özellikle endemik taksonların korunmasına yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

1. Ahroni, A., Zuker, A., Rozen, Y., Shejtman, H., Vainstein, A. 1997. An efficient method for adventitiousshoot regeneration from stem-segment explants of *gypsophila*. Plant Cell Tissue and Organ Culture.49 (2): 101-106, 1997

2. Alpaslan, M., Taban, S., İnal, A., 1996. Kütük, C., Erdal, I., Besin Çözeltisinde Yetiştirilen Buğday (*Triticum aestivum* L.) Bitkisinde Bor-Azot İlişkisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 3, 215-219.

3. Anonymaus Environmental Protection Agency (EPA). 2000. Introduction to Phytoremediation. EPA/600/R-99/107. February. USA.

4. Anonymous Environmental Protection Agency (EPA). 2001. Brownfields technology primer: Selecting and using phytoremediation for site cleanup. EPA 542-R-01-06. July. USA.

5. Atta-Alla, H. K.; Moghazy, E. S.; Waly, A. K.; Abo El-Soad, I. A. 2001. Micropropagation of *Gypsophila paniculata* var Perfecta. Annals of Agricultural Science, volume: 39, issue:1, 629-644 pp.

6. Atalay, E., 2003. Buğday (Kızıltan-91) ve arpa (Tokat-157/37) *in vitro* fidelerinde bor alımının ICP-AES ile tespiti. S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Konya

7. Atalay,E., Babaoğlu, M. 2011. *In itro* Koşullarda Yetiştirilen Buğday ve Arpa'da Besin Ortami Bor İçeriklerinin Çimlenme ve Fide Gelişimi Üzerine Etkisi. IX. Tarla Bitkileri Kongresi, 12-15 Eylül 2011. Bursa. 284-287

8. Atalay, E., Yorgancılar, M., Babaoğlu, M., 2007. Bor hiperakümülatör *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat Bitkisinin *In vitro* Doku Kültürü İle Çoğaltılması. *Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 25-27 Haziran 2007 Erzurum, (Poster Bildiri).* Bildiriler Kitabı-I, s. 441-444.

9. Babaoğlu, M,, Gürel, E,, Özcan, S, 2002, Bitki Biyoteknolojisi I Doku Kültürü ve Uygulamaları, Bölüm 11, *S.Ü. Vakfı Yayınları,* Konya, 374.

10. Babaoğlu, M., Gezgin, S., Topal, A., Sade, B., Dural, H. 2004. *Gypsophila sphaerocephala* Fenzl ex Tchihat.: A Boron Hyperaccumulator Plant Species that May Phytoremediate Soils with Toxic B Levels. Turk J. Agric and For. 28: 273-278.

11. Bacaksız, U. 2009. Puccinellia distans (çorak çimi)'ın in vitro doku kültürü ve bora (B) tepkisinin araştırılması S.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Konya.

12. Bagheri, A., Paull, J.G., Rathjen, A.J., Ali, S.M., Moody, D.B. 1992. Genetic variation in the response of pea (Pisum sativum L.) to high soil contentrations of boron. Plant and Soil. 146:1-2, 261-269; 17 ref.

13. Barakat, M. N. and El-Sammak, Heba, 2011. *In vitro* culture and plant regeneration from shoot tip and lateral bud explants of *Gypsophila paniculata* L. Journal of Medicinal Plants Research Vol. 5(15), pp. 3351-3358, 2011

14. Barut, H., 1997. Çinko Eksikliği ve Bor Toksisitesi Gösteren Topraklarda Gyttja Uygulamasının Buğdayın Büyümesi ve Çinko ve Bor Konsantrasyonları Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Anabilim Dalı, Adana.

15. Campbell, TA., Rathjen, AJ., Paull, JG., & Islam, AKMR., 1998. Method for screening bread wheat for tolerance to boron. Euphytica 100: 131-135, Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands

16. DelI, B., Huang, L., 1997, Physiologocial response of plants to law boran, *Plant and Soils*, 193(1-2): 103-120.

17. Gezgin S., Dursun N., Hamurcu M., Harmankaya M., Önder M., Sade B., Topal A., Soylu S., Akgün N., Yorgancılar M., Ceyhan E., Çiftçi N., Acar B., Gültekin İ., Işık Y., Şeker C., and Babaoglu M., 2002. Determinatıon Of Boron Contents Of Soils In Central Anatolian Cultivated Lands And Its Relations Between Soil And Water Characteristics Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. ISBN 0-306-47243-0, Pages: 391-400.

18. Gezgin S., Hamurcu M., 2006. Bitki Beslemede Besin Elementleri Arasındaki Etkileşimin Önemi ve Bor ile Diğer Besin Elementleri Arasındaki Etkileşimler. Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 20 (39): 24-31 Konya/Türkiye

19. Gregory S., Kelly, N. D., 1997, Boron: A review of its nutritional interactions and therapeutic uses, *Alternative Medicine Review*, 2(1): 48-56.

20. Goldberg, S., 1997, Reactions of boron with soils, Plant and Soil, 193: 35-48.

21. Güneş, A., Alpaslan, M., Özcan, H., Çıkılı, Y. 2000. Türkiye'de Yaygın Olarak Yetiştirilen Mısır (*Zea mays L.*) Çeşitlerinin Bor Toksitesine Duyarlılıkları. Turkish Agricultural and Foresty. 24: 277-282. TÜBİTAK. Ankara.

22. Hakkı, E. E., Ünlü, A., Özbek, Z., Gezgin, S., Babaoğlu, M., 2006, Bor biriktiren *Gypsophila* L. cinsi bitkilerin moleküler genetik yöntemlerle karakterizasyonu, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (40): (2006) 27-31.

23. Han, B. H.; Paek, K. Y.; Choi, J. K. 1991. Journal of the Korean Society for Horticultural Science, 32:4, 518-524

24. Ho S.B., 2000, Boron deficiency of crops in Taiwan, Department of Agricultural Chemistry, National Taiwan University, 106: 1-15.

25. Hu Brown, H,P,, 1997, Absorption of Boron by Plant Roots, *Plant and Soil,* 193:49-58.

26. İnan, M., 2006. Çukurova Koşullarında Farklı Kökenli Çöven (*Gypsophila* sp.) Türlerinde Kök Verimleri ve Saponin İçeriklerinin Araştırılması, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü(Doktora Tezi), Adana.

27. Kacar B., Katkat A.V., 1998, Bitki Besleme, Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, *Vipaş Yayınları*, 441.

28. Kanchanapoom, Kantamaht, Jıngjıt S., Kanchanapoom Kamnoon In Vitro Flowering Of Shoots Regenerated From Cultured Nodal Explants Of Gypsophila Paniculata L., Notulae Botanicae Horti Agrobotanicicluj-Napoca 2011, 39(1):84-87

29. Korkmaz, M., 2007, Türkiye'de Yetişen Tek Yıllık *Gypsophila* L. (Caryophyllaceae) Taksonları Üzerinde Biyosistematik Çalışmalar, Doktora Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi,* 260: 13-20, Isparta.

30. Korkmaz, M., 2012, Türkiye'nin Bazı *Gypsophila* L. (Caryophyllaceae) Taksonlarının Habitat Özellikleri, *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi 5 (2): 111-125, 2012* ISSN: 1308-3961, E-ISSN: 1308-0261, www.nobel.gen.tr

31. Koyuncu, M., Güvenç, A., Erdurak, C. D., 2006, Doğu Anadolu'da Çöven Elde Edilen Bitkiler Ve Bunların Doğadaki Potansiyeli, *Tbag-Dpt/Ç.Sek/6 (199t094),* 37:3- Ankara

32. Lewis, D, H., 1980, Boron lignification and the origin of vascular plants a unified hypothesis, *New Phytol,* 84: 209-229.

33. Lima, M.D.R., 1998. Seed germination of pea (*Pisum sativum* L.) under different concentration boron levels. IRRIGA.3:1,47-54.

34. Lovatt, C. J,, 1985, Evolution of xylem results in a requirement for boron in the apical meristems of vascular plants, *New Phytol*, 99: 509-522.

35. Mahboobi, H., Yucel, M., Öktem, H. A., 2000, Changes in total protein profiles of barley cultivars in response to toxic boron concentration, *J. Plant Nutr*., 23 (3): 391-399.

36. Mccoy, H., Kenney, M. A., Montgomery, C., Irwın A., Wıllıams L., Orrell R., 1994, Relation of boron to the composition and mechanical properties of bone, *Environ Health Perspect,* 102 Suppl 7: 49-53.

37. Memon, A., Aktopraklıgil, D., Ozdemır, A., Vertıı, A. 2001. Heavy metal accumulation and detoxification mechanisms in plants. Turk J Bot 25 (2001) 111-121.

38. M.S. Hanafy and Lobna, M. Abou-Setta. 2007. Saponins Production in Shoot and Callus Cultures of *Gypsophila Paniculata* Journal of Applied Sciences Research, 3(10): 1045-1049, 2007

39. Moore, H. M, ve Hirsch, A, M,, 1983, Effect *of* boron deficiency *on* mitosis and incorporation *of* tritiated thymidine into nucleic *of* sunflower *root* tips, *Am. J. Bot.*, 70:165-172,

40. MSTAT-C., 1980, MStat User's Quides Statistics (Version 5 ed.) Michigan State Universty. Michigan, USA.

41. Murashige, T., Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol Plant*, 15:473-497.

42. Nable, O. R., Lance, R. C. H., Cartwright, B. 1990, Uptake of boron and silicon by barley genotypes with differing suspectibilities to boron toxicity, *Annals of Botany*, 66:1, 83-90; 15.

43. Özçelik, H., Yıldırım, B., 2011, Türkiye çövenlerinin *(Gypsophila* L. ve *Ankyropetalum* Fenzl spp.) ekonomik önemi, kullanım olanakları ve korunması üzerine düşünceler, *SDÜ Orman Fakültesi Dergisi,* 12:57-61.

44. Palta, Ç., 2006, Orta Anadolu bölgesinde hibrit mısır çeşitlerinin bor toksisitesi ve noksanlığına tepkilerinin belirlenmesi, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, 120:4-12

45. Paull, J.G., Cartwright, B., Rathjen, A.J. 1988. Responses of wheat and barley genotypes to toxic concentrations of soil boron. Euphytica. 39, 137-144.

46. Paull, J.G., Nable, R.O., Rathjen, A.J., 1993. Physiological and Genetic Control of the Tolerance of Wheat to High Concentrations of Boron and Implications for Plant Breeding. Genetic Aspects of Plant Mineral Nutrition, 367-376. Eds. P.J. Randall et al. Kluwer Academic Publishers. Printed in The Netherlands.

47. Rashid, S., Ilyas S., Naz S., Aslam F. and Ali A. 2012. *In Vitro* Propagation Of *Gypsophila Paniculata* L. Through Plant Tissue Culture Techniques. Pakistan Journal Of Science .Vol. 64 No. 1 March, sayfa 6-10, 2012.

48. Robertson, G. A., Loughman, B. C., 1974, Response to boron deficiency: A comparison with responses produced by chemical methods of retarding root elongation, *New Phytol.*, 73: 821-832.

49. Shelp, B. J., 1993, Physiology and biochemistry of boron in plants: boron and its role in crop protection (Ed, U,C, Gupta), *CRC Press*, Boca Raton FL, 53-85.

50. Taban, S., Kütük, C., Inal, A., Erdal. I., 1995. Relationship Between Boron and Calcium in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Soil Fertility and Fertilizer Management 9 th International Symposium of CIEC, pp 85-90. 25-30 September, 1995, Kuşadası-Turkey.

51. Yorgancılar, M., 2004. Bazı buğday çeşitlerinde doku kültürü yoluyla bor'a karşı tepkilerinin araştırılması. S.Ü. Fen Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Konya.

52. Yorgancılar, M. ve Babaoğlu, M. 2005. Buğday çeşitlerinde borun çimlenme üzerine etkisinin in vitro ve saksı şartlarında araştırılması. S.Ü. Ziraat Fakületesi Dergisi 19 (35): 2005. 109-114.

53. Yorgancılar, M., Babaoğlu, M., Atalay, E., Gök, M., 2007. Bor Uygulamasının *In vitro* Koşullarında Ayçiçeği Fidelerinin Gelişimine Etkisi ve Fidelerdeki Bor Alımının ICP-AES ile Tespiti. *Türkiye VII. Tarla Bitkileri Kongresi, 25-27 Haziran 2007 Erzurum, (Poster Bildiri).* Bildiriler Kitabı-II, s. 632-636.

54. Zuker, A. Ahroni, A. · Shejtman, H.· Vainstein, A., 1997. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of Gypsophila paniculata L. Plant Cell Reports 16: 775–778 (1997).

55. URL. http://www.tarimsal.com/bitkidokukulturu.htm

EKLER

EK-1 MS besin ortamının içeriği *(Murashige ve Skoog 1962)*

Komponentler	Madde miktarı (mg/1)
$CaCl_2,2H_20$	440
$CoCl_2,6H_20$	0,025
$CuS0_4,5H_20$	0,025
Na_2EDTA	37,3
H3BO3	6,2
KH2PO4	170
KI	0,83
KNO3	1900
$MgS0_4,7H_20$	370
$MnS0_4,4H_20$	22,3
$Na_2Mo0_4\ 2H_20$	0,25
NH4NO3	1650
$ZnS04,7H_20$	8,6
Glisin	2,0
Myo-Inositol	100
Nikotinik asit	0,5
Pridoksin-HCl	0,5
Thiamine-HCl	0,1
Sakkaroz	30 000

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı	:	Mukaddes KOCAOĞLU KAVAS
Uyruğu	:	TC.
Doğum Yeri ve Tarihi	:	KASTAMONU / 1985
Telefon	:	05545328064-05432293539

e-mail: mukaddeskocaoglu@gmail,com

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Kuzeykent Süper Lisesi, KASTAMONU	2003
Üniversite	:	Karadeniz Teknik Üniversitesi, ORDU	2008
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, KONYA	2012
Doktora	:		

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2011-….	Bingöl Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

UZMANLIK ALANI

Bitki Biyoteknolojisi (Doku Kültürü)

YABANCI DİLLER

İngilizce (Üds: 61,25- Kpds: 51)