

**KSÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) ÇEŞİTLERİNİN
KALLUS KÜLTÜRÜNDE TUZA (NaCl) TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ**

ŞERİFE AKKEÇECİ

105880

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

**KAHRAMANMARAS
ŞUBAT 2001**

105880

KSÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum L.*) ÇEŞİTLERİNİN
KALLUS KÜLTÜRÜNDE TUZA (NaCl) TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ**

**SERİFE AKKEÇECİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

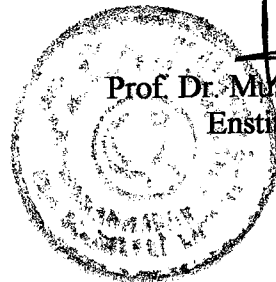
**Bu Tez 7/5/2001 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği ile Tarla
Bitkileri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Doç. Dr. Tevrican
DOKUYUCU
DANIŞMAN
(Tarla Bit. Böl.)

Prof. Dr. Mustafa
ÇÖLKESEN
ÜYE
(Tarla Bit. Böl.)

Yrd. Doç. Dr. İ.Ersin
AKINCI
ÜYE
(Bahçe Bit. Böl.)

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.
Kod No:



Prof. Dr. Mustafa ÇÖLKESEN
Enstitü Müdürü

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

**T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANİSYON MERKEZİ**

İÇİNDEKİLER	SAYFA NO
ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	III
TEŞEKKÜR.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Kallus Oluşumu ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	4
2.2. Tuzluluğa Dayanıklılık ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	16
3.1. Materyal.....	16
3.2. Yöntem.....	17
3.2.1. Buğday Başaklarının Temizlenmesi.....	17
3.2.2. Olgunlaşmamış Buğday Tohumlarının Dezanfeksiyonu.....	17
3.2.3. Olgunlaşmamış Buğday Embriyolarından Kallus Oluşumu	17
3.2.4. Sıvı Stres Ortamının Hazırlanması.....	17
3.2.5. Embriyolardan Elde edilen Kallusların Sıvı Stres Ortamına	
Aktarılması.....	18
3.2.6. Kallusların Sıvı MS Ortamına Aktarılması.....	18
3.2.7. Kallusların Katı Stres Ortamında Aktarılması.....	19
3.2.8. Rejenerasyon Ortamı.....	19
3.2.9. İncelenen Özellikler.....	19
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	20
4.1. Olgunlaşmamış Buğday Embriyolarından Kallusların Elde	
Edilmesi.....	20
4.2. Kallus Verimi	21
4.3. Sıvı Stres (MS+NaCl) Ortamında Kallus Verimi.....	22
4.4. Sıvı MS Ortamında Kallus Verimi.....	24
4.5. Katı Stres Ortamından Sağlanan Kallus Verimi.....	26
4.6. Kallus Rejenerasyon Oranı.....	28
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	30
KAYNAKLAR.....	31
ÖZGEÇMİŞ.....	38

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI EKMEKLİK BUĞDAY (*Triticum aestivum L.*) ÇEŞİTLERİNİN
KALLUS KÜLTÜRÜNDE TUZA (NaCl) TOLERANSLARININ BELİRLENMESİ

ŞERİFE AKKEÇECİ

KSÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARLA BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

DANIŞMAN: Doç. Dr. Tevrican DOKUYUCU

Yıl: 2001, Sayfa : 38

Jüri: Doç. Dr. Tevrican DOKUYUCU
Prof. Dr. Mustafa ÇÖLKESEN
Yrd. Doç. Dr. İ. Ersin AKINCI

Bu çalışmada Panda, Seyhan-95, Bal Atilla, Marmara-86 ekmeklik buğday çeşitleri kullanılmıştır. Çalışmada çeşitlere ait olgunlaşmamış embriyoların *in vitro* kültürde, steril ortamda (MS + 2mg 2,4-D/l) kültüre alınarak, kallus oluşum oranları ve kallus ağırlık artışları belirlenmiştir. Elde edilen kalluslar, stres faktörü olarak, farklı oranlarda (0, 1.5, 3, 4.5, 5.5, 7 gr /l) NaCl içeren, sıvı MS (MS + 2 mg 2,4-D/ l) ortamında, daha sonra da stres faktörü içermeyen sıvı MS ortamında kültüre alınmıştır. Buradan elde edilen kalluslar, aynı oranlarda NaCl içeren katı MS ortamında, bir kez daha stres faktörüne maruz bırakılmış ve bütün ortamlarda kalluslardaki ağırlık artışı ile stres faktörüne bağlı olarak kallus ağırlığında meydana gelen azalma miktarları tespit edilmiştir. Katı stres ortamından alınan kalluslar MS ortamına 1 mg /l BAP + 1mg/l Kinetin ilavesiyle hazırlanan rejenerasyon ortamına aktarılmış ve kallusların bu ortamdaki gelişmeleri incelenmiştir. Denemeye alınan çeşitlerin hiçbiri tuzluluğa (NaCl) toleransta önemli bir farklılık göstermemiştir. Ancak 1.5 gr NaCl/l içeren stres ortamında Seyhan-95 çeşidi, 3 gr NaCl/l içeren ortamda ise Panda çeşidinin kallus ağırlık artışındaki azalma daha az olmuştur. NaCl dozlarının 4.5, 5.5 ve 7gr/ l'ye çıkarılmasıyla kallus ağırlık artışında meydana gelen azalmalar bütün çeşitlerde % 75'in üzerinde olmuştur.

Araştırma sonucunda; kallus oluşum oranı bakımından çeşitler arasında önemli farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Stres faktörünün artışına bağlı olarak çeşitlere ve dozlara göre kallus ağırlık artışı da önemli ölçüde azalmıştır. Buna

göre çeşitlerin NaCl stres faktörüne tepkilerini kallus kültürleri aracılığıyla değerlendirmenin mümkün olabileceği anlaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Buğday, Kallus Kültürü, Tolerans, NaCl (Tuz).



ABSTRACT**MScTHESIS**

**EVALUATION OF SOME COMMON WHEAT (*Triticum aestivum L.*)
GENOTYPES FOR TOLERANCE TO SALT (NaCl) BY CALLUS CULTURES**

ŞERİFE AKKEÇECİ

**DEPARTMENT OF AGRONOMY SCIENCE
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE
UNIVERSITY OF KAHRAMANMARAS SUTCU IMAM**

Supervisor: Prof. Dr. Tevrican DOKUYUCU

Year : 2001, Pages:38

**Jury : Prof. Dr. Tevrican DOKUYUCU
Prof. Dr. Mustafa ÇÖLKESEN
Prof. Dr. İ.Ersin Akıncı**

This research was carried out to determine the response of some wheat cultivars (Panda, Seyhan-95, Bal Atilla and Marmara-86) to different salt (NaCl) levels (0, 1.5, 3, 4.5, 5.5 and 7 NaCl/l) by callus cultures. In the study, callus induction rate (%) and callus proliferation (yield) were determined by culturing of immatured embryos on media (MS+ 2 mg 2,4-D/l) by in vitro culture. Obtained calli were cultured in liquid MS with different NaCl levels (0, 1.5, 3, 4.5, 5.5 and 7 g NaCl/l) and without NaCl in liquid media (MS+2 mg 2,4-D/l). These calli were transferred on to solid MS media with stress factor (NaCl) to determine callus weight and decreasing rate due to stress factor on all the media. Obtained calli from these solid media were transferred on to regeneration media (MS+ 1mg BAP/l+ 1 mg Kinetin/l) and observed for its growth.

None of the cultivars used in the experiment was significantly different for response to salt (NaCl) levels. However, Seyhan-95 on stress media with 1,5 g NaCl/ l and Panda cultivar on media with 3 g NaCl/l had less decreasing on callus growth. When NaCl levels were increased from 3 g/l to 4.5, 5.5 and 7 g/, all the cultivars had higher decreasing for callus growth than 75 %.

According to the results, there were significantly differences among the cultivars for callus induction rate. Callus growth of cultivars significantly decreased due to increasing of stress factor and it was understood that it was

possible to evaluate the response of the cultivars for different NaCl levels by callus cultures.

Key words: Wheat, Callus Culture, Tolerance , NaCl (salt).



TEŞEKKÜR

Bana bu araştırma konusunun seçiminde ve çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Doç. Dr. Tevrican DOKUYUCU' ya saygılarımla teşekkür ederim.

Araştırmanın büyük bir kısmını yürüttüğüm K.Maraş Sütçü İmam Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı imkanlarından faydalanmamı sağlayan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Akif ESKALEN' e ve laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarını esirgemeyen Bitki Koruma Bölümü Araştırma Görevlisi Leyla DANIŞTI' ya teşekkür ederim

Tezimin yazımı esnasında yardımlarını esirgemeyen Gıda Mühendisi Peri PAKÖZ' e, bilgisayarda karşılaştığım problemlerin giderilmesinde yardımcı olan Zootečni Bölümü Araştırma Görevlisi Hayri YILMAZ' a teşekkür ederim.

Verdikleri desteği, hoşgörüyü, hep yanımda hissettiğim, lisansımda olduğu gibi Yüksek Lisansımda da başarıma en büyük imzayı atan ve bugünlerimi borçlu olduğum aileme de sonsuz teşekkürler.

<u>ÇİZELGELER DİZİNİ</u>	<u>SAYFA NO</u>
Çizelge 3.1. Kallusların Oluşumu İçin Kullanılan MS Ortamı Formülasyonu.....	16
Çizelge 4.1. Buğday Çeşitlerinin Kallus Oluşum Oranları Toplam Kallus Verimi.....	20
Çizelge 4.2. Kallus Verimi Bakımdan Çeşitlere Ait Ortalama Değerler ve LSD Grupları.....	22
Çizelge 4.3. Sıvı Stres Ortamında Çeşitlere Ait Ortalama Kallus Verimi.....	22
Çizelge 4.4. Sıvı Stres Ortamında Dozlara Ait Ortalama Kallus Verimi.....	22
Çizelge 4.5. Sıvı Stres Ortamında (MS+NaCl) Çeşitlere Göre Kallus Verimi.....	23
Çizelge 4.6. Sıvı MS Ortamında Dozlara Ait Ortalama Kallus Verimi	24
Çizelge 4.7. Sıvı MS Ortamında Dozlara Ait Ortalama Kallus Verim.....	25
Çizelge 4.8. Sıvı MS Ortamında Çeşitlere ve Dozlara Göre Kallus Verimi.....	25
Çizelge 4.9. Katı MS Ortamında Çeşitlere Ait Ortalama Kallus Verimi.....	27
Çizelge 4.10. Katı MS Ortamında Dozlara Ait Ortalama Kallus Verimi.....	27
Çizelge 4.11. Rejenerasyon Ortamında Yeşil Aksam Oluşturan Kallusların Oranı (%).....	28

SEKİLLER DİZİNİ**SAYFA NO**

Şekil 3.1.Sıvı Kültür Ortamı.....	18
Şekil 4.1.Sıvı Stres Ortamında (MS+NaCl) Çeşitlere Göre Kallus Ağırlıkları.....	24
Şekil 4.2.Sıvı MS Ortamında Çeşitler ve Dozlara Göre Kallus Verimi	26
Şekil 4.3.Katı Stres Ortamında (MS+NaCl) Kallus Ağırlık Artışı.....	27
Şekil 4.4.Bitki Rejenerasyon Ortamı Marmara-86.....	29
Şekil 4.5.Bitki Rejenerasyon Ortamı Bal Atilla.....	29



SİMGELER VE KISALTMALAR

MS	:Murashige Skoog
BA	:Benzyl Adenin
LS	:Linsmaier ve Skoog
BAP	:Benzil Amino Pürin
NAA	:Naftalin Asetik Asit
2,4-D	:Diklorofenoksi Asetik Asit
Mar-86	:Marmara-86
TTC	:Tetrazolyum Tri Klorür
L	:Litre
g	:Gram
NaCl	:Sodyum Klorür
EC	:Elektriksel Konduktivite
KD	:Kilo Dalton
kg	:Kilogram
ml	:Mili litre
IAA	:Indol Asetik Asit
ha	:Hektar
mg	:Miligram
mM	:Mikro Molar
ml	:Mililitre
°C	:Santigrad derece

1. GİRİŞ

Buğday tahıl bitkileri içerisinde en fazla ekilen kültür bitkisidir. Dünyadaki ekim alanı 227 milyon hektar, üretimi yıllık 588 milyon ton olup, verim ortalaması ise 2562 kg/ha'dır (Anonim, 1996). Dünya nüfusunun yaklaşık % 35'inin temel besini olan buğday, besinlerden alınan kalorinin % 20'sini karşılamaktadır (Vasil ve ark., 1991).

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de buğday, tarım alanlarının vazgeçilmez bir bitkisi olup, 23.9 milyon hektar olan tarla arazisinin yaklaşık 9.35 milyon hektarında ekilmekte ve her yıl toplam 18.65 milyon ton ürün elde edilmekte olup, verim ortalaması da 1980 kg/ha'dır (Anon., 1999). Türkiye bu rakamlarla dünyada en fazla buğday üretimi yapan ülkeler arasında yedinci sırada yer almaktadır. Ülkemizin önemli tarım bölgelerinden Akdeniz Bölgesinin önemli bir üretim alanı olan Kahramanmaraş yöresinde de 192 bin ha'lık alanda buğday ekimi yapılmaktadır. Yıllık 386.500 ton ürün alınan yörede verim ortalaması 2100 kg/ha'dır (Anonim,1996).

Gramineae familyasının *Triticum* cinsinden olan besin bitkilerinin atası olarak kabul edilen (Ekin, 2001) buğday (*Triticum aestivum* L.) çok geniş adaptasyon sınırlarına sahiptir. Bunun yanı sıra üretiminin de ekonomik olması nedeniyle artan dünya nüfusu karşısında, ucuz ve kaliteli bir besin kaynağı sağladığı için önemi her geçen gün daha da artmaktadır .

Geçmiş yıllarda tahıllarda (buğday, mısır, çeltik) ve diğer bitkilerde tarımsal açıdan önemli karakterlerin iyileştirilmesi açısından önemli aşamalar kaydedilmiştir (Lörz ve ark., 1988). Buğday bitkisi tarihin ilk dönemlerinden günümüze kadar insanlığın temel besin kaynağı olmuş ve bu özelliğini halen devam ettirmektedir. Bu nedenle buğdayın verimini ve kalitesini arttırmak amacıyla çok sayıda çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda, "klasik ve biyoteknolojik ıslah yöntemleri" olarak gruplandırılan bir çok teknik kullanılmaktadır. Günümüzde ise bitki ıslahında biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması önemli avantajlar sağlamaktadır. Bitki ıslahında biyoteknolojik yöntemlerin uygulanabilmesindeki başarı, doku ve hücre kültürlerinden elde edilecek sonuçlara bağlıdır (Redway ve ark., 1990).

Kendine döllen bir bitki olan buğday, doğal koşullarda kendiliğinden genetik varyasyonlar oluşturamamaktadır (Lörz ve ark., 1988). Ancak bu bitkinin çok sayıda tür ve çeşitleri bulunmaktadır. Ayrıca ıslah kuruluşları tarafından yapılan melezleme çalışmalarıyla da varyasyon artırılmaktadır. Klasik ıslah yöntemlerinden biri olan seleksiyon ıslahı, popülasyonlarda çok yaygın olarak kullanılmakta olup, amaca uygun genotiplerin belirlenmesi ve seçilmesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntemle buğday genotipleri çeşitli faktörler ve verim bakımından test edilerek seçilmektedir. Kallus kültürü de bir doku kültürü tekniği olup, bitki ıslahında doku kültürlerinden yararlanmak için öncelikle her bitki için uygun kallus ve rejenerasyon sistemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Buğdaygiller familyasına ait değişik türlerde çeşitli bitki dokularından yararlanılarak kallus kültürleri oluşturulabilmekte ve bunlardan bitkiler elde edilebilmektedir. Buğday da kallus kültürlerinin elde edilmesinde, olgunlaşmamış embriyo (Ohnoutkova ve Novak, 1985; Koba ve ark., 1988; Yu ve ark., 1990; Yang ve ark., 1991) olgun embriyo (Kim ve Kim, 1989;

Bannikova ve Barabanova, 1990), olgunlaşmamış başakçık (Ohnoutkova ve Novak 1985; Ren ve ark., 1989; Pauk ve Szarka, 1991) gibi bitki kısımları kullanılmaktadır. Fakat olgunlaşmamış embriyolar genellikle en iyi sonucu vermektedir (Vasil ve Vasil, 1992). Bu teknikle genotiplerin *in vitro* koşullarda oluşturulacak bazı stres faktörlerine gösterdikleri tepkileri hücre düzeyinde gözlemek mümkündür (Koç, 1994).

Türkiye’de 2 990 880 hektar alan sulanmakta ve bu sulanan alanın 19 850 hektarında tuzluluk problemi bulunmaktadır (Anonim 1987). Türkiye’de tuzluluk nedeniyle tarıma uygun olmayan alanın toplam ülke yüzölçümünün yaklaşık %2’si olduğu bildirilmiştir (Anonim 1980) Kahramanmaraş ili topraklarının ise 155 462 hektar alanı sulanmakta ve 1192 hektarında tuzluluk problemi bulunmaktadır (Anonim 1997). Tuzlu toprakların, tarımsal üretimde kültür bitkilerinin normal gelişimini engelleyecek düzeyde tuz içerdiği elektriksel iletkenliğinin 25°C’de 4 mmhos/cm’den yüksek, değişebilir sodyum yüzdesinin % 15’den küçük ve pH değerinin daima 8.5’den küçük olduğu bildirilmiştir (Akalan 1988). Tuzluluğun bitki yetiştiriciliğini kısıtlayan en önemli etkisi, fizyolojik kuraklık şeklinde ortaya çıkmaktadır. Artan tuz konsantrasyonu, osmotik basıncı artırdığından dolayı topraktaki bitkiler tarafından alınabilecek su miktarını azaltmakta (Sağlam, 1994), bitkilerin besin alımını kısıtlamaktadır (Sezen 1995). Ayrıca sulanan alanların artmasının yanı sıra yetersiz drenaj ve bilinçsiz sulama nedeniyle tuzluluk probleminin daha da artacağı düşünülmektedir. Bu alanların ıslah edilebilmesi yada problemin daha da artmaması için ilk önce çok yönlü bir inceleme gereklidir; tuzlu toprakların türü, tuzlanma derecesi, bölgedeki dağılımı, tuzlanma nedeni, pH değeri, değişebilir sodyum, toprak özellikleri ve yıkama suyunun niteliği (Tugay 1987). Bununla birlikte farklı ekim nöbeti sistemleri, fiziksel veya kimyasal yöntemler kullanılarak bir çok çalışmalar yapılmaktadır. Ancak bu çalışmalar çok maliyetli olup, bazen de sonuç alınmamaktadır. Bu gibi durumlarda tuzluluk problemi ile ilgili çalışmalardan biride tuzluluğa dayanıklı genotipleri belirlemek ve bu genotipleri tuzlu alanlarda kullanmaktır. Bu gibi sorunlu alanlar için arpa önemli bir bitki olmasına rağmen, buğday da tarımsal üretimde ekim nöbetine çok sık giren bir bitki olması nedeniyle bu alanlarda da zaman zaman ekilmekte fakat verimi önemli ölçüde düşmektedir. Araştırmacılar bu gibi sorunlu alanlarda değerlendirilmek üzere yüksek tuz konsantrasyonunda yetişebilen buğday çeşitleri geliştirebilmek için de çalışmalar yapmaktadırlar. Bununla beraber değişik buğday çeşitlerinin büyüme ve gelişmesini sınırlı tuz konsantrasyonlarında sürdürebildiği (Gorham ve Strogonov, 1986), tuzlu topraklarda yetişen buğdayların çoğunlukla zayıf bir gelişme gösterdiği, geç dönemlere oranla, çimlenme ve fide dönemi arasındaki devrede tuzluluğa karşı çok daha fazla duyarlı olduğu (Akkaya, 1994) ve tuzluluğun bitki için en büyük zararının, bitki kökleri vasıtasıyla su alımını ve tohumun çimlenmesini güçleştirme şeklinde ortaya çıktığı bildirilmektedir (Anonim, 1986). Tuzlu koşullarda büyütülen bitkilerde bir taraftan total yaprak alanı azalırken, bir taraftan da stomaların kapanmasıyla fotosentez hızı düşer (Aspinall, 1986). Bütün bu etkenler bir aradayken bitki hayat devresini bile tamamlayamadan ölebilir.

Uzun yıllar tuzun bu büyüme ve gelişme üzerindeki olumsuz etkilerinin fizyolojik kuraklık nedeniyle ortaya çıktığı kabul edilmiştir. Fakat yapılan bazı çalışmalar Bernstein ve Hayward (1958) ve Bernstein (1963) bitkilerin kültür

ortamında osmotik basınca bir miktar uyum yapabildiğini ve böylece tuzun zararlı etkisine kısmen karşı koyabildiğini göstermiştir. Her bitki kültür ortamının arttırılan osmotik basıncına karşı yapabildiği uyum ölçüsünde tuz toleransına ve dolayısıyla yaşama şansına sahiptir. Tuza tolerans değişik araştırmacılara göre değişik şekilde tanımlanmıştır (Bozcuk, 1988)

Öte yandan Jennings (1968) tuz toleransını daha değişik bir şekilde ve bir bitkinin tuzlu koşullarda hayat devresini tamamlayabilme ve diğer bitkilerle başarılı bir şekilde rekabet edebilme yeteneği olarak tanımlamıştır.

Konu ile ilgili olarak daha önceki yıllarda, çoğu saksı çalışması olmak üzere, bir çok yetiştirme ve farklı tuz konsantrasyonlarında çimlendirme çalışmaları yapılmıştır (Tıprıdamaz, 1989; Del'aquila ve Di-Turi,1996). Son yıllarda da, yeni bir teknik olan kallus kültürleri aracılığıyla genotiplerin tuzluluğa tepkilerini ölçmek için buğday, çeltik ve diğer bitkilerde de bazı çalışmalar yapılmıştır (Kocsy ve ark., 1992; Subhashini ve Reddy, 1993).

Bu çalışmada da, Kahramanmaraş koşullarında yetiştirilen bazı ekmeklik buğday genotiplerinden elde edilen kalluslar farklı tuz konsantrasyonlarında test edilerek bu genotiplerin tepkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Konu ile ilgili daha önceki yapılan çalışmalar aşağıda iki başlık halinde verilmiştir.

2.1. Kallus oluşumu ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Ahloowalia (1982), Maris Huntsman buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarını 2,4-D IAA ve Kinetin içeren ve içermeyen ½ MS ortamı üzerinde kültüre alınmıştır. Kinetin içeren ortamda kültüre alınan embriyoların % 77'sinin, kinetin içermeyen ortamdaki embriyoların ise tamamının iki hafta içinde kallus oluşturduklarını gözlemiştir.

Oizas-Akins ve Vasil (1982), yaptıkları çalışmada, buğdayın olgunlaşmamış embriyo ve başakçıklarından elde edilen kallus kültürlerinden bitki rejenerasyonu gerçekleştirmek amacıyla olgunlaşmamış embriyo ve başakçıkları 2 mg/l 2,4-D içeren MURASHIGE ve SKOOG (1962) (MS) ortamında kültüre alarak, kırılğan ve kompakt olmak üzere iki tip kallus elde etmişlerdir. Rejenerasyon ortamına aktarılan kırılğan kalluslardan bitki oluşumu sağlanırken, kompakt kalluslardan çoğunlukla kök rejenerasyonunun elde edildiğini, sonuç olarak her iki materyalden de elde edilen kalluslardan bitki oluşumu sağlanarak toprağa aktarıldığını, bu bitkilerin $2n=6x=42$ normal kromozom sayısına sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Maddock ve ark. (1983), yaptıkları çalışmada, 25 buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyo ve başakçıklarından elde edilen kalluslardan bitki oluşumunu sağlamışlardır. Araştırmacılar (Highbury, Maris ve Butler) buğday çeşitlerinden elde edilen kallusların 1mg/L 2,4-D içeren ortamda yüksek oranda sürgün oluşturduklarını belirtmişlerdir.

Schaeffer ve ark. (1984), yaptıkları çalışmada, buğdayın (*Triticum aestivum* L.) olgunlaşmamış embriyo, olgunlaşmamış başakçık ve anterlerini farklı konsantrasyonlarda hormon içeren ortamlarda kültüre almışlardır. Kültüre aldıkları bütün eksplantlardanda yüksek oranda kallus elde etmişlerdir. 21 farklı genotipin olgun embriyolarından elde ettikleri kallusları farklı ortamlarda kültüre almışlar ve 1800 mg'a kadar değişen miktarlarda kallus ağırlığı elde etmişlerdir. Elde edilen kallusların rejenerasyon ortamına aktarıldıktan ve 4-8 hafta sonra yeşil sürgünler meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Heyser ve ark. (1985), yaptıkları çalışmada, ekmeklik buğdaydan (*Triticum aestivum* L.) elde edilen kallus kültürlerinden somatik embriyo oluşumunu ve bitki rejenerasyonu gerçekleştirmişlerdir. Bitki ıslahında kullanılan doku kültürlerinde başlangıç materyalinin oldukça önemli olduğunu, buğdaydan elde edilen kallus kültürlerinin genellikle olgun ve olgunlaşmamış embriyolardan elde edildiğini belirtmişlerdir. Embriyogenik kallusların küçük yuvarlak hücreli ve kırılğan

olduklarını, embriyogenik olmayan kallusların uzun hücreli ve kompakt olduklarını gözlemişlerdir. Embriyogenik bölgelerden alınan hücrelerin rejenerasyon oranının yüksek olduğunu, embriyogenik olmayan bölgeden alınan hücrelerin ise rejenerasyon oranının çok düşük olduğunu bildirmişlerdir. Olgunlaşmamış embriyoların ortama yerleştirildikleri yüzey durumuna göre embriyogenik ve embriyogenik olmayan kallusların oluştuğunu, olgunlaşmamış embriyoların sürgün bölgesinden oluşan kallusların embriyogenik, kök bölgesinden oluşan kallusların ise embriyogenik olmadıklarını tespit etmişlerdir.

Zhang ve Seilleur (1985), *in vitro* 'da yaptıkları çalışmada, buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşitlerinin farklı dokularından elde edilen kalluslardan bitki oluşumu sağlamışlardır. Sekiz buğday çeşidinin olgun ve olgunlaşmamış embriyolarını farklı ortamlarda kültüre alarak kallus oluşum oranlarını tespit etmişlerdir. Döllenmeden yaklaşık 16-22 gün sonra alınan olgunlaşmamış embriyoların, genotipe göre değişmekle birlikte, daha yüksek oranda kallus oluşumu meydana getirdiklerini ancak bu eksplantlardan elde edilen kallusların rejenerasyon oranının kullanılan ortama bağlı olarak değişim gösterdiğini belirtmişlerdir.

Inagaki (1986), yaptığı çalışmada olgunlaşmamış buğday embriyolarından elde edilen beyaz görünüşlü, parlak ve kırılğan kallusların 0.1 mg/L 2.4-D içeren MS ortamında 90 ile 120 gün boyunca 3 veya 4 kez alt kültüre alınarak embriyogenesinin teşvik edildiğini bildirmiştir.

Galiba ve ark. (1986), yaptıkları buğday kallus kültürlerinde, kallusların bitki rejenerasyon yeteneklerini etkileyen faktörleri belirlemeye çalışmışlardır. Cheyenne buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarından elde edilen kalluslardan oluşan bitkilerde kromozom analizleri yapıldığını ve kalluslardan bitki rejenerasyonunun bir çok gen tarafından kontrol edildiğini ileri sürmüşlerdir.

Hunsinger ve Schauz (1987), buğdayın (*Triticum aestivum* L.) olgunlaşmamış embriyolarından elde edilen kalluslardan somatik embriyo oluşumu ve bitki rejenerasyonu oranına dicambanın etkisini araştırmışlardır. Üç buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyoları 1 mg/l dicamba içeren N6 ortamında kültüre alındıktan sonra, 7-10 gün içinde kallus ve embrioid elde etmişlerdir. 4-6 hafta sonra ise bu kalluslardan % 70 oranında embrioid meydana geldiğini ve her embrioidde 1-30 arasında bitki elde edildiğini belirtmişlerdir. Ayrıca kültüre alınan Caribo ve Kanzler çeşitlerinden, Sage çeşidine göre daha iyi sonuçlar alındığını bildirmişlerdir.

Ovesna ve Lhotova (1987), buğday (*Triticum aestivum* L.) doku kültürlerinden kallus ve bitki rejenerasyonunu gerçekleştirmek amacıyla yaptıkları çalışmada, kültüre alınan 4 buğday çeşidinde en uygun materyalin 14 günlük olgunlaşmamış embriyoların olduğunu saptamışlardır.

Kovacs (1988), yaptığı çalışmada *in vitro* koşullarda, buğday kalluslarını soğuğa dayanıklılık bakımından test etmiştir. Araştırmada, soğuğa dayanıklılık bakımından farklılık gösteren 4 farklı çeşidin (Cheyenne, Chinese spring, Saratavskaya ve Hope) genç yaprak primordiasını 50 mg/L ve 2 mg/L 2,4-D eklenmiş MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamlarında kültüre alarak kallusları elde etmiştir. Oluşan kallusları ve elde ettiği fidelerle birlikte -12°C soğuğa maruz tutarak genotipleri soğuğa dayanıklılık bakımından test etmiştir. Soğuk uygulaması sonucunda fidelerin soğuğa hassasiyetlerinin değerlendirilmesini hayatta kalma oranlarına göre yapmıştır.

Kallusları ise gelişimden 24 saat sonra TTC ile boyayarak genotiplerin soğuğa dayanıklılıkları ve hayatta kalanların oranlarını renklenme durumlarına göre belirlemiştir. Buna göre buğday doku kültürü tekniği ile çeşitlerin soğuğa dayanıklılık bakımından etkili bir şekilde değerlendirilebileceğini ve TTC boyamasının da iyi bir belirleyici olduğunu saptamıştır. Yapılan derecelendirme sonucunda, genotiplerin soğuğa dayanıklılık bakımından farklı seviyelere ayrıldığı, ayrıca soğuğa dayanıklılığın belirlenmesi bakımından kallus kültürlerinin fidelere göre daha etkili olduğunu belirtmiştir. Soğuğa dayanıklı çeşitlerde kallusların çoğunun tamamen beyaz ve canlı kaldıklarını gözlemiş ve bu tür *in vitro* testlerin bitki ıslahı çalışmalarında iyi bir tamamlayıcı olarak kullanılacağını bildirmiştir.

Morozova (1988), buğday kalluslarının alt kültür süresince rejenerasyon yeteneklerinin devamlılıklarını belirlemek amacıyla yaptığı çalışmada, Zavra kışlık ve Moskovskaya-35 yazlık buğday çeşitlerinin 14-16 günlük olgunlaşmamış embriyolarının 2,4-D, kinetin ve sakkaroz içeren MS ortamında kültüre alarak kallus oluşumunu teşvik etmiştir. Sulu, kırılğan, uzun hücrelere sahip kallusların embriyogenik olmadığını ve küçük hücrelere sahip olanların ise embriyogenik kalluslar olduğunu bildirmiştir. Kallusların alt kültüre alındıkları ortamın içeriğine bağlı olarak bitki rejenerasyon oranının değiştiğini, her iki varyetede de en yüksek bitki rejenerasyon oranının 2-3 mg/l 2,4-D, % 5 sakkaroz, 0.1 mg/l kinetin içeren (veya içermeyen) kallus gelişme ortamında alt kültüre alınan kalluslardan elde edildiğini bildirmiştir. Ayrıca Zarda çeşidinin kültüre alındıktan 40-60 gün sonra % 17-31, Moskovskaya çeşidinin 80-90 gün sonra % 11-33 rejenerasyon oranına sahip olduğunu belirlemiştir.

Liu (1988), kültüre alınan buğday embriyolarından kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu kapasiteleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla yaptığı bu araştırmada, buğday embriyosu için en yüksek kallus oluşumunun meydana geldiği ortamın 2 mg/l 2,4-D; 0,5 mg/l NAA ve 200 mg/l kazein hidrolizat içeren MS ortamı olduğunu belirlemiştir. *In vitro*'da 10 buğday çeşidi ile yaptığı çalışmada, kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu oranları yönünden çeşitler arasında önemli düzeyde farklılıklar bulunduğunu, ayrıca en yüksek bitki rejenerasyonunun kallus oluşum oranı yüksek olan çeşitlerde meydana geldiğini bildirmiştir.

Sidorova ve ark. (1988), yaptıkları çalışmada, kışlık buğday çeşitlerinin olgunlaşmamış embriyolarının kallus oluşturma oranlarını belirlemişlerdir. 2 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre alınan 10 kışlık buğday genotipinden, en hızlı ve

kolay kallus oluşturma kapasitesine Polesskaya 70 çeşidinin sahip olduğunu; Karibo çeşidinin ise 1 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamda en yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip olduğunu belirlemişlerdir. Bunun yanında kalluslardan rejenerasyon edilen bitkiciklerde somaklonal varyasyonun daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Fekete ve Pauk (1989), buğday kallus kültürlerinden bitki oluşumuna, ortama ilave edilen 2,4-D ve kinetin miktarının etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, GK Othalom çeşidinin kallus kültürlerinin (1-1.5) mg/l kinetin içeren ortamlarda kültüre almışlardır. Bu kültürlerde en yüksek bitki oluşumunun (% 86) 1 mg/l kinetin içeren ortamda gerçekleştirildiğini bildirmişlerdir.

Gaphonenko ve Golubeva (1989), buğdayın kallus kültürlerinin rejenerasyon kapasitelerini belirlemişlerdir. Kallus elde etmek amacıyla döllenmenin gerçekleşmesinden 10 ile 14 gün sonra alınan olgunlaşmamış buğday embriyolarını kültüre almışlardır. Kültüre alındıktan 3, 7, 14, 30, 90 ve 180 gün sonra yapılan gözlemler sonucunda embriyogenik kapasiteye sahip kallusların 2 mg/l 2,4-D içeren LS (LINSMAIER ve SKOOG,1965) ortamında elde edildiğini, bitki rejenerasyonunun ise 2,4-D içermeyen fakat IAA içeren ortamda gerçekleştirildiğini bildirmişlerdir.

He ve ark. (1989), kültüre alınan olgunlaşmamış buğday (*Triticum aestivum* L.) embriyolarından embriyogenik kallus oluşum kapasitelerine makro elementlerin etkilerini belirlemeye çalışmışlardır. Ortama ilave edilen (10-20 mM) NH_4NO_3 (0-40 mM) KNO_3 , (0.31-10 mM) KH_2PO_4 , (0-24 mM) CaCl_2 ve (0-48 mM) MgSO_4 tuzlarının yüksek oranda epiplast kallus oluşumunu teşvik ettiğini, ortama ilave edilen (0-20 mM) KNO_3 , (0-24 mM) CaCl_2 ve (0.19-12 mM) MgSO_4 tuzlarının ise yüksek oranda scutellar kallus oluşumunu teşvik ettiğini gözlemişlerdir. Epiplast ve scutellar bölgeden oluşturulan embriyogenik kallusların alt kültüre alınarak çoğaltılmaları için ortamda en az (10 mM) NH_4NO_3 'ün bulunması gerektiğini kanıtlamışlardır. Sonuç olarak CaCl_2 , MgSO_4 ve KH_2PO_4 'ün epiplast kallus oluşumu için mutlak gerekli olmadığını fakat bitki rejenerasyonu için ortamda mutlaka bulunması gerektiğini, ayrıca fosfat elementinin kallustan sürgün oluşumunu teşvik ettiğini saptamışlardır. Ayrıca ortama ilave edilen 4 makro elementin beyaz kallus oluşumunu artırdığını bildirmişlerdir.

Ito ve Abe (1990), olgunlaşmamış buğday embriyolarından kallus oluşumu ve bu kalluslardan bitki rejenerasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Yapılan çalışmada 122 buğday çeşidinin 10 günlük olgunlaşmamış embriyolarının 2 mg/l 2,4-D içeren MS, B5 (GAMBORG B5, 1968) ve N6 (MOROCZ ve ark.,1990) ortamlarında kültüre alındığını ve bunlardan kompakt kallusların elde edildiğini bildirmişlerdir. Bu kallusların rejenerasyon ortamına transfer edildiklerinde en yüksek bitki rejenerasyonunun MS ortamında meydana geldiğini ve rejenerasyon oranının genotipe bağlı olarak % 0 ile 87 arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir.

Kato ve ark. (1990), yaptıkları çalışmada, buğdayda olgun embriyodan sağlanan kallusların bitki rejenerasyon kapasitesi üzerine kültür koşullarının etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları in vitro çalışmada, Etiyopya'nın yerel buğday çeşidi olan IL-68'in başaklarına (çiçeklenmeden 8, 11, 14, 17, 20, 23, ve 26 gün sonra olacak şekilde) 2,4-D uyguladıklarını ve olgunlaşmadan sonra 2,4-D ve BA içeren MS ortamında kültüre aldıklarını belirtmişlerdir. Alt kültür ortamına BA eklenmesiyle olgun embriyolardan sağlanan kallusların rejenerasyon kapasitesinin azaldığı, bununla birlikte daha sonraki dönemlerde 2,4-D uygulamasının ise rejenerasyon kapasitesini arttırdığını bildirmişlerdir.

Vasil (1990), çalışmasında, olgunlaşmamış buğday embriyolarından elde ettikleri embriyogenik kallusları 100 ml'lik erlenler içerisinde hazırladığı 100 mg/l myo-inositol, 2mg/l 2,4-D ve % 3 sakkaroz içeren sıvı MS ortamında kültüre alıp karanlık koşullarda, 27°C de, 150 devir/dk'da çalışan çalkalayıcılar üzerinde inkübe etmiştir. Kültürleri haftada bir alt kültüre alarak kallusları çoğaltmayı başarmıştır.

Mohamand ve Nabors (1990), buğdayın 3 genotipinin kültüre alınmasıyla oluşturulan kalluslardan rejenere edilen bitkilerde meydana gelen varyasyonları belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, Glennson, Pavon ve PAK 16171 çeşitlerinden rejenere edilen bitkilerde morfolojik ve agronomik karakterler yönünden meydana gelebilecek varyasyonlar incelenmiştir. Kalluslar 2 mg/l 2,4-D; % 2 sakkaroz ve % 1 agar içeren ortamında elde edilmiştir. Elde edilen bu kalluslardan 0.1 mg/l IAA ve 0.5 mg/l BAP içeren ortamda bitki oluşumu sağlanmıştır. Sonuç olarak da kalluslardan elde edilen bitkiler ile ebeveynleri arasında bitki boyu, başak uzunluğu, başaktaki tane sayısı ve 100 tane ağırlıkları yönünden farklılıklar bulunduğunu bildirmişlerdir.

Chowdhury ve ark. (1991), yaygın olarak ekimi yapılan ticari buğday çeşitlerinin olgunlaşmamış embriyolarından elde edilen kallusların bitki rejenerasyonu kapasitelerine genotipten kaynaklanan varyasyonları belirlemeye çalışmışlardır. 1986-87 yıllarında, doğu, batı ve merkez olarak belirlenen 3 ayrı bölgeden toplam 102 yerel çeşit toplamışlardır. Döllenenin gerçekleşmesinden 14 gün sonra alınan olgunlaşmamış embriyolar karyopsislerinden ayrılarak 0,22 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre alınmışlardır Batı bölgesinden alınan çeşitlerin ortalama kallus oluşturma oranı yönünden % 60.7'lik değerlerle en iyi sonucu verdiğini, merkez bölgeden alınan çeşitlerin başaklanma zamanının geç olması nedeniyle kallus oluşumunun (% 50)'lik değerle düşük bulunduğunu bildirmişlerdir.

Mohamand ve Nabors (1992), buğdayda (*Triticum aestivum L.*) bitki rejenerasyonu ve kallus kültürü bakımından 2 metodu mukayese ettikleri çalışmalarında, agar ortamı ile mukayese edildiğinde filtre kağıdı kullanılan ortamda, Glennson buğday çeşidinin hem kallus verimi hem de embriyogenik kallus oluşumunun iki kat daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Rakhimbaev ve Kushnarenko (1993), buğdayda doku kültürü vasıtasıyla elde edilen rejenerantlarda somaklonal varyasyonları belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında, Tselinnaya-21 ve Saratovskaya-42 çeşitlerinin kalluslarını MS ortamına transfer ettiklerini, hayatta kalabilen rejenerantların ve fertil bitkilerin oranlarının genotipe bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca elde edilen bitkilerin $2n=42$ kromozoma sahip olduklarını, donör bitkilerin ve rejenerantlardan elde edilen tanelerde gliadin ve glutenin proteinlerinin elektroforez analizi sonucu, kromozomların sayı ve yapılarında herhangi bir farklılık olmadığını, bununla beraber F_2 bitkilerinde fertil kardeş sayısı, başak boyu ve şekli ile sap uzunluğu bakımından varyasyon gözlemlendiğini belirtmişlerdir.

Cristaldo ve ark. (1997), 12 ekmeklik buğday (*Triticum aestivum L.*) genotipinden elde ettikleri kallusları *Helminthosporium sativum* fungusundan filtre edilen iki toksine maruz bırakmışlardır. 4 hafta sonra alt kültüre aldıkları genç kallusları gösterdikleri tepkilere ve genotiplerinin dayanıklılıklarına göre; dayanıklı, orta dayanıklı, orta hassas ve hassas olmak üzere 4 farklı gruba ayırmışlardır. Sekiz haftalık ikinci alt kültürün sonucunda ise genotiplerin dayanıklılıkları bakımından farklılıklar olduğunu belirlemişler fakat sonucun güvenilirliğinin az olmasından dolayı alt kültürü yenilemişlerdir. 12 haftalık üçüncü alt kültürün sonucunda kallus gelişimi oldukça düşükken, 16 haftalık dördüncü alt kültür sonucunda genotipler arasında herhangi bir farklılık belirleyememişlerdir. Bununla beraber üçüncü ve dördüncü alt kültür sonucunda olumlu somaklonal varyasyonlarda olduğunu gözlemişlerdir. Böylece hastalığa dayanıklılığın gözlenmesi bakımından kallusların kullanılmasının etkili ve alternatif bir teknik olabileceğini savunmuşlardır.

Cheng ve ark. (1998), 35 kışlık buğday genotipinin olgunlaşmamış embriyo kültürlerinden elde ettikleri rejenerant bitkilerin genel durumlarını incelediklerinde 1985/1986, 1986/1987 ve 1987/1988 yıllarında toplam 7142 başak hattından 1593'ünü somaklonal varyantlar olarak belirlemişlerdir. Bu varyantların % 81'ini geliştirdikleri bitkilere göre daha uzun ömürlü ve % 63'ünün de daha fertil bitkiler olduğunu belirtmişlerdir.

2.2. Tuzluluğa Dayanıklılık ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Bozcuk (1988), bazı kültür bitkilerinde tuzluluğun çimlenme üzerine etkisi ve tuz toleransı sınırlarının saptanması isimli çalışmasında, belli ölçülerde tuz toleransı olduğu bilinen kültür bitkilerinden domates, *Lycopersicon esculentum* Mill. (Arrom 8331), arpa *Hordeum vulgare* L. (Tokat 157/37) ve pamuk, *Gossypium hirsutum* L. (Caroline Quen) tohumlarını kullandı. Tuzlu ortamlarda ve kontrollü koşullarda tohumların çimlenme yüzdesi ayrıca çimlenme evresinde bitkilerin tuz toleransı sınırlarını belirlemeye çalıştı. Domates ve arpa bitkilerinin maksimum tuz toleransı sınırlarını 100-150 mM arasında, pamukta 75-100 mM arasında olduğunu belirledi ve kültür çözeltilisine ilave ettiği NaCl miktarını artırdıkça çimlenme yüzdesinde de belirgin bir azalma olduğunu gözledi. Her üç bitkide de en düşük çimlenme yüzdesinin tuz konsantrasyonu en yüksek olan Hoogland (kontrol) + 150 mM NaCl çözeltilisinde olduğunu gözlemledi. Çalışmanın sonucunda istatistiki analizlerde göz önüne alınarak, NaCl konsantrasyonuna bağlı olarak her üç bitki tohumunda da çimlenmeyi önemli derecede engellediği fakat domates ve arpa tohumlarının Hoogland (kontrol) çözeltilisine ilave edilen 25 mM ve 50 mM NaCl konsantrasyonundan etkilenmedikleri halde, pamuk tohumlarının 25 mM konsantrasyonundan bile etkilenmiş olduğunu gözlemledi. Böylece bitkiler arasındaki bu fizyolojik özelliklerin, tuzlu koşullarda çalışılacak bitki materyalinin seçiminde önemli bir kriter olabileceğini belirtti.

Yine Bozcuk yaptığı çalışma sonrası bitkilerdeki tuz toleransını 3 ayrı grupta topladı:

- 1- Tuz toleransı, giderek artan tuzluluk koşullarında bir bitkinin hiç büyüme söz konusu olmaksızın hayatta kalabilmek için gösterdiği direnme gücüdür.
- 2- Tuz toleransı verilen bir tuz konsantrasyonunda bir bitkinin maksimum ürün yapabilme kapasitesidir.
- 3- Tuz toleransı, verilen bir tuz konsantrasyonunda bir bitkinin tuz verilmeyen ortamdaki kontrollerine göre ürün verme kapasitesidir.

Cook ve Veset (1991), toprak solüsyonundaki tuz konsantrasyonu arttıkça, bitki köklerinin toprak solüsyonundan su almasının da zorlaştığını ve tuz konsantrasyonu arttıkça, turgor eksikliğine ve dolayısıyla büyümenin durmasına neden olan su stresinin giderek daha yüksek toprak suyu seviyelerinde de ortaya çıktığını bildirmiştir. Toprak kurudukça ve toprak solüsyonundaki tuz konsantrasyonu arttıkça bitkiye elverişli su miktarının önemli ölçüde azaldığı ve bitkinin tuzluluğa bir tepki olarak, enerjisini büyüme olaylarına harcamak yerine, su alımına harcadığını belirtmişlerdir. Enerjinin alıkonulduğu ilk olaylardan birisinin hücre büyümesi olduğu ve bitkinin hücre büyümesi için yeterince enerji ayıramadığı için hücrelerin yeterince büyüemedikleri belirlenmiş ve bu nedenle tuzlu topraklarda yetişen buğdayların çoğunlukla zayıf bir gelişme gösterdikleri belirtilmiştir. Ayrıca su stresine maruz kalmış bitkilerde tipik bir şekilde ortaya çıkan koyu mavi-yeşil renk, kısmen hücrelerin az büyümesinden kaynaklandığı tuzların miktarına ve çeşidine bağlı olarak bitkide besin elementi dengesizliğinin de meydana

geldiği yüksek sodyum miktarı, bitkide kalsiyum ve hatta magnezyum eksikliğine bile neden olabildiği ifade edilmiştir. Sonuç olarak buğday bitkisinin geç dönemlere oranla çimlenme ve fide dönemi arasında tuzluluktan çok daha fazla etkilendiği bu devrede EC'nin 4 mmhos/cm olması durumunda bitkilerin önemli ölçüde zarar gördüğü belirtilmiştir.

Elkoca (1997), 95 fasulye genotipini ele almış, çimlenme ve fide gelişimi döneminde tuza toleranslı genotiplerin belirlenmesi üzerinde çalışmıştır. Araştırmanın ilk aşamasında, genotipleri petri kutularına 3 farklı NaCl solüsyonunda (-0.0, -0.9 ve -1.5 MPa) çimlendirmiş ve tuzluluğa dayanıklı, orta derece dayanıklı ve hassas olan genotipleri belirlemiştir. İkinci aşamada ise seçilen genotipleri kum ortamında ve yine 3 farklı NaCl solüsyonunda (-0.0, -0.6 ve -0.9 MPa) çıkış ve fide gelişimi yönünden incelemiştir.

Artan tuz konsantrasyonlarının, çimlenme oranını önemli ölçüde azalttığı gözlenmiştir. İki aşamalı olarak yürütülen çimlendirme denemesi sonuçlarına göre, genotiplerin ortalama çimlenme oranları -0.0, -0.9 ve -1.5 MPa uygulamalarında birinci çimlendirme denemesinde sırasıyla % 92.1, % 70.9 ve % 32.8; ikinci çimlendirme denemesinde ise sırasıyla % 95, % 78.0 ve % 32.7 olduğu görülmüştür. Çimlendirme denemeleri sonucunda 11 dayanıklı, 5 orta derecede dayanıklı ve 3 hasas genotip belirlenmiştir.

Saksı denemesine alınan genotiplerin artan tuzluluk seviyelerine bağlı olarak daha uzun sürede ve daha düşük oranda çıkış yaptığı belirlenmiştir. Artan tuzluluk seviyeleri genotiplerin yaprak sayısı, kök ve sürgün uzunluğu, kök ve sürgün yaş ve kuru ağırlığını ve ayrıca kök/sürgün oranını azaltmıştır.

Deneme sonuçlarına göre; yüksek çimlenme oranına sahip olan Yunus-90, 473, 421, 460, 439, 560 ve 472 nolu genotiplerin saksı denemesinde de tuzluluğa toleranslı oldukları ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlara göre, adı geçen genotiplerin tuzluluğa tolerans bakımından ümitvar oldukları belirtilmiştir.

Kabar ve Kocaçalışkan (1990), buğday tohumu (*Triticum aestivum L.*) çimlenmesi ve oluşan fidelerin büyümesi esnasında büyüme düzenleyicileri ve tuzluluğun polifenol oksidaz aktivitesi üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmalarında tuzluluk (NaCl) beklenildiği gibi çimlenmeyi engellemiştir. Büyüme düzenleyicileri yani kinetin, giberallik asit ve Giberallik asit+ kinetin kombinasyonu bu engellemeyi büyük ölçüde azalttı. Çimlenmenin 4. ve 5. günlerinde tuzlu ortamda büyüme düzenleyicileriyle özellikle giberallik asit ile teşvik edilen monofenolaz aktivitesi koleoptilde, radikula ve endospermden daha fazlaydı.

Tıprıdamaz (1989), çalışmasında, tuz ve su stresinin iki ekmeklik buğday (*Triticum aestivum L.*) çeşidinde (Gerek-79 ve Bezostaya 1), oransal su kapsamı (O.S.K.) ile organik ve inorganik madde (Na, K, Cl) değişimine etkisini incelemiştir. Bunun için, adı geçen bitkilerin büyüme odasında ve kontrollü koşullarda, Hoagland kültür çözeltilisinde, 20 gün süreyle büyümesini sağlamış ve daha sonra değişik konsantrasyonlarda NaCl çözeltilerinde tuz stresine maruz bırakmıştır. Stres uygulamasının 24., 48., ve 72. saatlerinde aldığı örneklerde yaprak, O. S. K. ile

yaprak, gövde ve kök dokularında organik ve inorganik madde analizleri yaparak çalışmasının sonucunu da şöyle özetlemiştir:

- 1.) Her iki stres koşullarında da kullanılan buğday çeşitlerinde, uygulanan stresin derecesine ve süresine bağlı olarak O.S.K. azalmıştır, ancak Gerek-79 çeşidi daha yüksek O.S.K. ile Bezostaya-1'den önemli farklılık göstermiştir.
- 2.) İki stres koşullarında, her iki çeşitte de, yaprak, gövde, ve kök dokularındaki prolin miktarının, stresin derecesine ve süresine bağlı olarak artmış olduğu, Bezostaya-1 çeşidi daha fazla prolin birikimi le Gerek-79'dan farklı bulunmuştur.
- 3.) Her iki çeşitte de, yaprak ve gövde dokularındaki betain miktarı stresin derecesine ve süresine bağlı olarak artmış, kök dokusunda ise zamana bağlı olarak azalmıştır. Gerek-79 yaprak ve gövde dokusunda Bezostaya-1'e göre önemli ölçüde daha fazla betain biriktirmiştir.
- 4.) Stres koşullarında her iki buğday çeşitinde de dokulardaki Na, K ve Cl konsantrasyonları açısından Gerek-79 ve Bezostaya-1 arasında önemli farklar bulunmuş ve K/Na oranında stres artışına bağlı olarak azalma gözlenmiştir.

Kocsy ve ark. (1992), in vitro koşullarda kurağa ve tuza dayanıklı genotiplerin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, 4 buğday çeşidinin in vitro kültüründe, tuz ve kuraklık stresi bakımından test etmek amacıyla, besi ortamında mannitol ve NaCl kullanıldığını bildirmişlerdir. Kurağa toleranslı Korchia ve Chinese Spring çeşitlerinde mannitol uygulamasının katalase aktivitesini arttırdığı, peroksidaz ve süperoksidaz dismutase aktivitesini azalttığını belirtmişlerdir. Tuza hassas Regina ve Capple Desprez çeşitlerinde NaCl uygulamasının glutathione peroksidase ve superokside dismutase aktivitesinin arttırdığını ve tuza dayanıklı çeşitlerde de katalase aktivitesinin azaldığını belirtmişlerdir.

Durnhauser (1992), tarafından buğday kallus kültürlerinde bakır kullanımının kök ve sürgün oluşumunun üzerine etkisini araştırdığı çalışmasında, bakır iyonlarının ($CuSO_4$) MS ortamı içerisinde 5 ile 1000 kat daha yüksek konsantrasyonda kullanılmasının, olgunlaşmamış embriyolardan elde edilen kalluslardan sürgün oluşumu sağladığını, 10 mM $CuSO_4$ içeren MS ortamından, orijinal MS ortamına (0.1 mM $CuSO_4$ içeren) göre, 8 kat daha fazla sürgün oluşumunun sağlandığını ve bakırsız ortama göre, bakır eklenen ortamdan 23 kat daha fazla kök oluşumu olduğunu belirtmiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyonda bakır sülfat kullanılan ortamda 0.5 mg/lt kinetin + 0.04 mg/lt BA kullanılmasının sürgün oluşumunu önemli ölçüde arttırdığını bildirmiştir.

Subhashini ve Reddy (1993), yaptıkları çalışmada, tuza toleranslı SR-26B çeşidinin olgun embriyolarından elde edilen kallusların 3 farklı NaCl ve deniz suyu konsantrasyonunda (5mM) prolinin etkisini araştırdığını ve prolinin kallus ağırlığını ve rejenerasyon oranını arttırdığı, fakat bu artışın düşük ve yüksek konsantrasyonlarda sağlanmadığını belirtmişlerdir.

Farroq (1994), çakıl kültürü ile yaptığı çalışmada, yabancı buğdayın ürün geliştirme potansiyelini araştırmıştır. Çalışmada *graminaceous* bitkilerinin çeşitli koleksiyonlarda (tek ve çok yıllık, yabancı ve kültür bitkilerinde) tuza toleransı elektrik iletkenliğini (EC) artırarak belirlemeye çalışmıştır. Materyal olarak arasında 19 yabancı çeşit, 5 tane çok yıllık buğdaygil (*Elymus*, *Elytrigia*, *Leymus*, *Pseudoroegneria* ve *Thinopyrum*) ve 9 türe ait (*Aegilops*, viz. *Ae. ovata*, *Ae. turiculallis*, *Ae. variabilis*, *Ae. viz. longissima*, *Ae. sharonensis*, *Ae. bicoronis* ve *Ae. squarrosa*) 101 çeşit kullanılmıştır. Çalışmada buğdayın tuza toleransını geliştirebilmek, donör olarak kullanılacak ebeveyni ve tuza dayanıklı bu genotipteki (S) genini bulmak amaçlanmıştır. Bu 5 tür içerisinde *Leymus* cinsi (*L. karelinii*) ve *Thinopyrum* cinsine ait 2 çeşit (*Th. scipeum* ve *Th. junceum*) LU-26 kültürde yüksek tuz konsantrasyonuna tolerans gösterdikleri ve ayrıca buğdayın tuza toleransını artırmada *Aegilops* türünün başarılı bir şekilde kullanılabileceği bildirilmiştir.

Güneş ve ark. (1995), yaptıkları çalışmada Türkiye’de yaygın olarak üretimi yapılan altı buğday çeşidinin (Gerek-79, Bolal-2975, Kıraç-66, Çakmak-79, Bezostaya-I ve Kızıltan) tuz stresine dayanıklılıklarını araştırmışlardır. Bu amaçla toprağa 68 mmol/kg NaCl ilave etmişlerdir. Tuz ilave edilen ve edilmeyen toprakta yetiştirilen buğday çeşitlerinin tuzluluğa gösterdikleri duyarlılığı değişik bitkisel parametrelerle karşılaştırmışlardır. Araştırmadan elde ettikleri sonuca göre, Bezostaya-I, Bolal-2973 ve Gerek-79 çeşitlerinin diğer çeşitlere göre tuza daha dayanıklı olduklarını tespit etmişlerdir. Tuz stresi sonucunda bu çeşitlerin Na ve Cl kapsamlarının diğer çeşitlere göre daha düşük, potasyum, prolin ve klorofil kapsamlarının ise yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Zhong ve ark.(1995), *Triticeae*’de ani tuz değişikliklerine toleransı kontrol eden yaygın mekanizmanın belirlenmesi üzerinde durmuşlardır. Önceki çalışmalar göstermiştir ki bir çok *Triticeae* türünde tuza toleransın poligenik bir özellik olduğu, fakat bazı kromozomlar üzerindeki genlerin diğerlerinden tuz stresine daha çok tolerans sağladığını belirtmişlerdir. Buradan hareketle *Triticeae* türlerinde tuzluluğa tolerans bakımından önemli farklılıklar gözlendiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada ani tuz stresine toleransın kromozomlarca kontrol edildiğini belirlemek için 200 mM NaCl içeren solüsyon kültürlerinde yaprak gelişmesinin hızı ölçülerek, arpa (*Hordeum vulgare* L.), çavdar (*Secale cereale* L.) ve (*Dasyphyrum villosum* L.) ve buğdayın (*Triticum aestivum* L.) genomlarını incelemişlerdir. Bireysel kromozom çiftleri veya kromozom kollarının disomic ekleme hatlarında, arpanın 3. 4. ve 5. homolog gruplarında, çavdarın 5. ve 7. ve D genomunda 4. ve 6. kromozomlarda (tuz toleransına karşı) belirgin pozitif etkiler görülmüştür. 2. gruptaki kromozomların dozu artırıldığında ise tuz stresine (etkisine) toleransta azalama veya artma olmadığı gözlenmiştir.

Ashan ve Virk (1996), yaptıkları çalışmada 6 temel generasyon P1, P2, F1, F2, geriye melezler (BC1 ve BC2) ve melezler arasında Alexandria (tuza hassas) ve KRL1-4 (tuza tolerant) varyeteleri kullanarak kışlık buğday genotiplerinin tuzluluğa dayanıklılığını araştırmışlardır. Tuza toleranslı ve yüksek ürün veren rekombinant hatların basit yetiştirme teknikleriyle elde edilebileceğini belirtmişlerdir.

Del'aquila ve Di-turi (1996), farklı sürelerde depolanmış buğday tohumlarının farklı nem ve sıcaklık koşullarındaki; çimlenme oranında herhangi bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Tohumların standart çimlenme testindeki enerji tahmin desenini geliştirmek için, kökçüğün ortaya çıkma safhasından önce stres faktörlerini uygulayarak (40°C ve 40-45°C sıcaklık rejiminde, 0.4-0.6 mM NaCl solüsyonuna 16-24 saatlik süreyle daldırılan) 20°C'de çimlendirmiştir. Tohumların; çimlenme zamanı ve çimlenme yüzdesinde artış olduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca muameleye tabi tutulmuş olgun tohumların çimlenme değerleri muameleye tabi tutulmayan olgun tohumlarla karşılaştırılarak aralarındaki ilişkilerin çimlenme zamanındaki değişimlerin gözlenmesinde sıcaklık ve tuzluluğa toleransın belirlenmesinde önemli parametre olabileceğini belirtmişlerdir. İki işlemin birleştirilmiş etkilerinin normal bir çimlenme ile karşılaştırılmasıyla buğday tohumlarında çimlenme testinin tohum kalite değerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Mavituna (1996), oksin benzeri bitki büyüme düzenleyicilerinin tuz stresine bırakılmış ekmeklik buğday (*Triticum aestivum L.*) çeşitleri (Tosun ve Bolal) üzerindeki etkilerini incelemiştir. Yüzeysel sterilizasyonu takiben tohumları bitki büyüme düzenleyicisi solüsyonunda (PSA-6 ve 2,4-D) 18 saat karanlıkta bekletirken, kontrol tohumlarını da saf su içerisinde bekletmiştir. Tohumları saf su içeren kaplara ekleyerek, 10 gün süreyle, 25°C sıcaklıkta, büyüme dolabında büyümeye bırakmış, onuncu günde stres uygulamasını saf suyu, % 2 ve % 4'lük NaCl solüsyonu ile değiştirerek uygulamıştır. Son beş gün strese maruz bırakılmış 15 günlük fidelerde fotosistem aktivite ölçümleri yapmıştır.

Fotosistem aktivite ölçümlerinin analizi sonucunda, 5 günde % 4'lük tuz stresi altında Tosun çeşidinin aktivitenin korunması bakımından Bolal çeşidine göre daha yüksek bir kapasiteye sahip olduğunu belirlemiş ve böylece Tosun çeşidinin fotosistem aktivitesi bazında tuz stresine daha dayanıklı olduğunu bildirmiştir. Oksin benzeri büyüme düzenleyicilerinin koruyucu etkisinin hassas varyetede (Bolal) daha belirgin olduğunu ve bu etkinin çeşide özel olduğunu belirtmiştir.

Ayrıca, yapmış olduğu elektroforez analizi sonucunda, tuz stresi ve büyüme düzenleyicisi uygulamış hem Tosun hem de Bolal çeşitlerinin kök protein profillerinde nicel ve nitel değişiklikler olduğunu gözlemiştir. Buna göre stres uygulanmayan Bolal çeşidinde 54 kD moleküler ağırlığında tek bir protein bulunduğunu, bununla beraber, aynı varyetenin tuz stresi ve PSA-6 uygulamalarında sırasıyla 33 ve 34 kD moleküler ağırlığında protein bulunduğunu gözlemiştir. Ayrıca, Tosun çeşidinde, PSA-6 uygulaması ve tuz stresi koşullarında, iki farklı moleküler ağırlığa sahip (15 ve 23 kD) protein olduğunu belirlemiş ve tuz stresi, bitki büyüme düzenleyicisi uygulanmış ve kontrol tohumlardan büyütülmüş fidelerin protein yapılarındaki farklılıkların çeşide göre değiştiğini bildirmiştir.

Arif ve Swati (1997), yaptıkları çalışmada, sekiz buğday genotipini (Sonalika, LU 26s, Mutant-1, Pak-81, Pirsabak-85, Blue Silver, Punjap, Type-15 ve Khyber-87) EC 11.63 mmhos/cm ve pH 9.34 ile çiftçilerin tuzdan etkilenmiş tarlalarında yetiştirerek gözlemlemişlerdir. Tahıl bitkisinde; bitki başına tane sayısı, ana saptaki ortalama başak boyu, 1000 tane ağırlığı ve tane verimi gibi bazı bitki parametrelerini ele almışlardır. Bitkide tane verimi karakteri dışında çalışılan karakterlerin her biri için genotipik ve fenotipik korelasyonlar oluştuğu, tuzluluğa tolerans bakımından tane sayısı dışındaki bütün özelliklerde genotipler arasında önemli farklar olduğunu belirlemişlerdir.

Oertli ve ark. (1997), 'nın bitki gelişiminin tuzluluk oranına karşı direncinin; farklı besin maddeleriyle etkileşimi, bitkinin gelişimi ve gübreleme miktarına göre önemli ölçüde değiştiği gerçeğinden hareketle yürüttükleri bu çalışmada yazlık buğday çeşidi (*Triticum aestivum* L. Cv. Lona) üzerinde tuzluluk ve besin seviyelerinin karşılıklı etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bitkiler yetiştirme kabininde, hidroponik kültürde, olgunlaşma dönemine kadar yetiştirilmişlerdir. Araştırmada 8 tuzluluk oranı (0'dan 150 mM NaCl'ye) değişik besin seviyeleri ve 1, 0.2 ve 0.04 güçteki Hoaglandın makro besin çözeltisi (xHS) kullanılmıştır. 1 ve 0.2 xHS besin solüsyonunda düşük (0-40) ve orta tuzluluk (40-100) mM oranında sırasıyla NaCl'de önemsiz azalmalar olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte 0.04 xHS'de veya yüksek tuzluluk seviyelerinde (125-150 mM NaCl) verimde önemli azalmalar olduğunu ve bu azalmaların 0.2'deki 1xHS'de daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Buna karşın verim miktarı 1ve 0.2 x HS'de düşük ve orta tuz seviyesinde az etkilenmesine karşın, artan tuz oranı bitki veriminin önemli ölçüde düşmesine neden olduğunu belirtmişlerdir Tüm makro besin elementleri seviyelerinde ürün miktarındaki azalmanın, azalan yaprak ve filiz sayısından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Bu sonuç tuzluluk oranının ana etkilerinin ilk gelişim evresinde başladığını ve bu tip topraklarda buğday verimini artırabilmek için;

- i) besin yönünden fakir olan topraklarda besin ihtiyacının giderilmesi
- ii) çimlenme, tohumlama ve ilk kardeşlenme sırasında kök bölgesinde destekleyici koşulları oluşturmak
- iii) tohum miktarını artırarak, ana sap yoğunluğunun artırılması gerektiğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu araştırma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Materyal olarak 4 ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi (Bal-Atilla, Marmara-86, Seyhan-95, Panda) kullanılmıştır. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri deneme alanına ekilen çeşitlerin, döllenen 15 gün sonra alınan olgunlaşmamış embriyolarından kalluslar elde edilmiştir. Kallusların elde edilmesinde MS (Murashige Skoog) besi ortamı kullanılmış olup, bu ortamın formülasyonu Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kallusların Oluşumu İçin Kullanılan MS Ortamı Formülasyonu

Kullanılan Kimyasallar	Miktarı (mg/l)
NH ₄ NO ₃	1600
KNO ₃	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.6
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA·2H ₂ O	37.3
Myo-inositol	100
Nicotinik acid	0.5
Pyridoxin HCL	0.5
Thiamin HCL	0.1
Glisin	2
Sakkaroz	%3
2,4-D	2
pH:5.7	
(Sadece katı ortamda kullanıldı)	Agar: 7gr

3.2.Yöntem

Çalışma, tesadüf parsellerinde, 5 tekerrürlü olacak şekilde planlanmış olup, olgunlaşmamış embriyolardan kallus elde edilmesi, kallusların çoğaltılması, kallusların sıvı stres ortamına, sıvı kallus çoğaltma ortamına, katı stres ortamına ve rejenerasyon ortamına aktarılması şeklinde olmak üzere birbirini izleyen işlemler sonucunda gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle kültür sırasında yapılan işlemler sıra halinde aşağıdaki başlıklarla anlatılmıştır.

3.2.1. Buğday Başaklarının Temizlenmesi

Deneme alanlarından temin edilen buğday başakları, başak yüzeyindeki bazı bulaşıklık kaynaklarını uzaklaştırmak için bir beher içerisine bırakılıp üzerinden 20-30 dakika süreyle, çeşme suyu akıtılarak başak yüzeyindeki bazı bulaşıklık kaynakları uzaklaştırılmıştır. Bu başaklardan sağlanan olgunlaşmamış buğday tohumları, kavuzlarından ayrılarak sterilizasyon yapılmak üzere cam tüpler içerisine bırakılmıştır.

3.2.2. Olgunlaşmamış Buğday Tohumlarının Dezanfeksiyonu

Bu tohumlar laboratuvar şartlarında yüzeysel dezanfeksiyona tabii tutulmuştur. % 75'lik alkolde 5 dk bekletildikten sonra, 3 kez steril saf sudan geçirilen tohumlar ve % 15'lik sodyum hipokloritte 25 dk bekletildikten sonra ,7 kez steril saf sudan geçirilerek dezanfeksiyon işlemi tamamlanmıştır (Türet,1995).

3.2.3. Olgunlaşmamış Buğday Embriyolarından Kallus Oluşumu

Dezanfeksiyon işlemi tamamlanan tohumlar, petri kutuları içerisindeki steril kurutma kağıtları üzerinde bir süre kurutulurken, kültüre alınmaya hazır hale getirilmiştir. Tohumların embriyolarının endospermle bağlantısı steril koşullarda bistüri yardımıyla kesilerek koparıldıktan sonra, 2 mg/l 2,4-D içeren MS ortamına karın kısımları alta gelecek şekilde yerleştirilmiştir. 28°C ve karanlık koşullarda kültüre alınan embriyolarda kallus gelişiminin olup olmadığı gözlenmiştir. Bu şekilde elde edilen kalluslar çoğaltılmak amacıyla alt kültüre alınmıştır.

Olgunlaşmamış buğday embriyolarından beyaz görünüşlü, parlak ve kırılkan kalluslar, 2 mg/l 2,4-D içeren, MS ortamında kültüre alınarak çoğaltılmıştır. Daha sonra 10-15 gün arayla alt kültüre alınarak, ağırlık artışları belirlenmiştir.

3.2.4. Sıvı Stres Ortamının Hazırlanması

Genotiplerin tuzluluğa dayanıklılığını belirlemek için buğday embriyolarından karanlık koşullarda çoğaltılarak elde edilen kalluslar stres faktörleri uygulamak üzere hazırlanan ve değişik oranlarda (0.0 gr/l, 1.5 gr/l, 3.0 gr/l, 4.5 gr /l, 5.5 gr/l ve 7.0 gr/l) NaCl içeren MS sıvı kültür ortamına alınmıştır. Bu oranlar tarla koşullarında sırasıyla tuzsuz (0 gr/l NaCl), hafif tuzlu (1.5- 3.0 g/l NaCl), tuzlu (4.5 g/l NaCl), fazla tuzlu (5.5 gr/l NaCl) ve çok tuzlu (7 gr/l NaCl) sınıflara karşılık

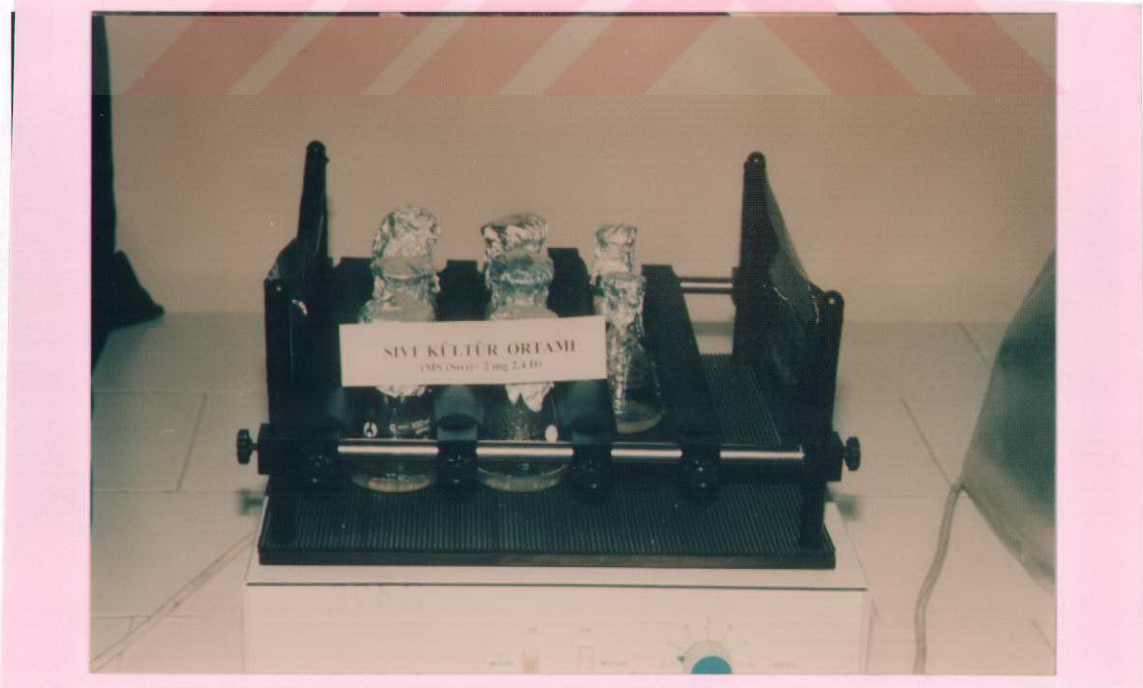
gelmektedir (Tüzüner, 1990). 125ml'lik erlenlere 25 ml olacak şekilde sıvı stres ortamı eklenmiş erlenlerin ağzı önce pamuk daha sonra aliminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra otoklavda 120°C'de, 1 atmosfer basınç altında, 15-20 dakika süreyle sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır. Hücrelerin stres faktörlerinden homojen bir şekilde etkilenmesini sağlamak için yani stres faktörlerinin tüm hücrelere etki etmesini sağlamak için sıvı stres ortamı tercih edilmiştir.

3.2.5. Embriyolardan Elde Edilen Kallusların Sıvı Stres Ortamına Aktarılması

Bal-Atilla, Marmara-86, Seyhan-95 ve Panda çeşitlerinden elde edilen kalluslar hazırlanan sıvı stres ortamlarına, her çeşit ve her çeşidin altı farklı stres dozu için sıvı kültür ortamına yaklaşık 1 gr ağırlığında beyaz parlak ve kırılğan yapıdaki kalluslar, steril koşullarda aktarılmıştır. Erlenlerin ağzları yine pamuk ve aliminyum folyo ile sıkıca kapatıldıktan sonra, çalkalayıcı üzerine yerleştirilerek, 120 devir/dakikada, karanlık koşullarda ve 28°C'de, bir hafta süreyle kültüre alınmıştır. Kalluslar, sıvı stres ortamına konmadan önce ve ortamda 1 hafta süreyle tutulduktan sonra tartılarak, ağırlık artışları kontrol edilmiştir.

3.2.6. Kallusların Sıvı MS Ortamına Aktarılması

Sıvı stres ortamında 1 hafta süreyle bekletilen ve ağırlıkları belirlenen kalluslar içerisinde stres faktörü bulunmayan, sıvı (MS+ 2 mg 2,4-D/l) besi ortamına aktarılmıştır. Daha sonra, yine çalkalayıcı üzerinde, 120 devir/dakikada, karanlık koşullarda ve 28°C'de bir hafta süreyle tutularak gelişimi sağlanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Sıvı Kültür Ortamı

Yine kalluslar, kültür öncesinde ve sonrasında tartılarak ağırlık artışları kaydedilmiştir.

3.2.7. Kallusların Katı Stres Ortamına Aktarılması

Bal Atilla, Marmara-86, Seyhan-95 ve Panda çeşitlerinin embriyolarının 2mg/l 2,4-D içeren MS kültür ortamına alınmasıyla elde edilen ve aynı ortamda çoğaltılan kalluslar önce sıvı stres ortamında, daha sonra da sıvı MS ortamında kültüre alınmıştır. Bu aşamalardan sonra daha önce içeriği belirtilen MS katı besi ortamına stres faktörleri (NaCl) eklenerek, kalluslar bir hafta süreyle ile bir kez daha, stres faktörüne maruz bırakılmıştır. Daha sonra buradan elde edilen kalluslar rejenerasyon ortamına aktarılmıştır.

3.2.8. Rejenerasyon Ortamı

Stres faktörüne maruz bırakılan kalluslar, bitki elde edebilmek amacıyla, rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Bir çok çalışmada kullanılan hormonlar [0.1 mg/l 2,4-D (Ben Amer ve ark., 1998), 1mg NAA (Spiridon ve ark., 1998), 1.5 mmol (Malik ve ark., 1998), 0.2 mg NAA ve 1mg BAP (Varshney ve ark., 1998) dikkate alınarak, bu çalışmada da MS ortamına ilaveten, 0,1 mg 2,4-D, 2 mg BAP, 2 mg Kinetin, kullanılarak rejenerasyon ortamı hazırlanmıştır. Kalluslar küçük petrielerde hazırlanan rejenerasyon ortamında, 7-10 gün aralıklarla, alt kültüre alınmıştır. Bu arada ağırlık artışları ve yeşil aksam oluşum oranları tespit edilmiştir.

3.2.9. İncelenen Özellikler

Farklı aşamalarda yürütülen çalışmada, aşağıda belirtilen özellikler incelenmiştir.

- 1) Kallus oluşum oranı (MS katı ortamda kallus oluşturan danelerin % oranı)
- 2) Kallus ağırlık artışı; oluşan kallusların sıvı besi ortamında çoğaltılması sonucu sağlanan artış mg olarak tartılmıştır.
- 3) Sıvı stres ortamında kallus ağırlık artışı; hazırlanan sıvı stres ortamına konan kallusların kazandıkları ağırlıklar mg olarak tartılarak belirlenmiştir.
- 4) Katı stres ortamında kallus ağırlık artışı; katı stres ortamına aktarılan kallusların kazandıkları ağırlık artışıdır.
- 5) Rejenerasyon oranı; rejenerasyon ortamına konan kalluslarda oluşan sürgün, yeşil aksam veya bitkiciklerin sayılmasıyla belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA**4.1. Olgunlaşmamış Buğday Embriyolarından Kallusların Elde Edilmesi**

Araştırmada çeşitlere göre elde edilen kallus oluşum oranları Çizelge 4.1' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Buğday Çeşitlerinin Kallus Oluşum Oranları Toplam Kallus Verimi

Çeşidin adı	Kültüre alınan tane sayısı	Kallus oluşturan tane sayısı	Kallus oluşum oranı	Σ Kallus Verimi (mg)
PANDA	305	173	% 56.7	12951
BAL ATILLA	60	49	% 81.6	6987
MARMARA-86	60	27	% 45.0	7278
SEYHAN-95	145	98	% 67.6	5745

Başlangıç olarak bütün çeşitlerden 320'ser tane kültüre alınmasına rağmen enfeksiyona bağlı olarak bazı petriler uygulama dışı bırakılmış ve petrilerdeki tane sayısı üzerinden kallus oluşum oranı hesap edilmiştir. Çizelge 4.1.1'de görüleceği gibi, en yüksek kallus oluşum oranı Bal Atilla çeşidinden (% 81.6) elde edilmiştir. Bu çeşidi Seyhan-95 (% 67,6), Panda (% 56,7) ve Marmara-86 (% 45,0) çeşitleri izlemiştir. Kallus oluşum oranı daha önceki yapılan çalışmalara; (Ohnoutkova ve Novak, 1985; Morozova, 1988; Ren ve ark., 1989; Yang ve ark., 1991; Pauk ve Szarka, 1991) göre düşük elde edilmiştir. Bu durum sterilizasyon sırasındaki kullanılan sterilant maddelerin çeşitlere göre farklı etkide bulunmasından ve çeşitlerin genotipik yapısındaki farklılıktan kaynaklanmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda da kallus oluşum oranlarının genotiplere, ortamın içeriğine, sterilant maddelerin etkisine, uygulanma süresine ve inkubasyon koşullarına göre önemli ölçüde değiştiği bildirilmiştir (He ve ark., 1989; Sears ve Dekard, 1982; Lazar ve ark., 1983; Karadimova ve Erikson, 1986; Liu, 1988; Redway ve ark., 1990; Chevrier ve ark., 1990).

Monokotiledon bitkilerin en önemlisi olan buğdayda embriyogenik kallus kültürlerinin elde edilmesinde, olgunlaşmamış embriyo, olgun embriyo ve olgunlaşmamış başakçık gibi bitki dokuları kullanılmakta ve olgunlaşmamış embriyolar ve başakçıklar embriyogenik kallus kültürleri elde edilmesinde olumlu sonuçlar vermektedir (Vasil, 1990).

Daha önce yapılan diğer çalışmalar sonucunda, olgun buğday embriyolarından embriyogenik kallus elde edilmesinde pek başarı sağlanamamış ve embriyogenik kallus elde etmek amacıyla bir çok araştırmacı tarafından olgunlaşmamış embriyo ve başakçıklar eksplant olarak kullanılmıştır, ancak embriyonun alındığı gün ve genotipin etkisinin oldukça önemli olduğu belirtilmiştir (Ohnoutkova ve Novak, 1985; Morozova, 1988; Ren ve ark., 1989; Yang ve ark., 1991; Pauk ve Szarka, 1991). Fakat bazı araştırmacılar, Zhang ve Seilleur, (1985), Eapen ve Rao, (1982); Lazar ve ark., (1983); Butenko ve ark., (1986), Tuberosa ve ark., (1988); Avenido ve ark., (1988) olgun buğday embriyolarından düşük oranda de olsa kallus

elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bu konuda çalışma yapan Ovesna ve Lhotova (1987) ise olgun embriyolardan elde ettikleri kallusların embriyogenik olmadıklarını belirtmişlerdir. Olgun embriyolardan kallus oluşumunun diğer bitki materyallerine oranla daha düşük olmasının olgun embriyolarda metabolik aktivitelerin minimum seviyede olmasından kaynaklandığı düşünülmekte ve bu nedenle olgun embriyolara yapılan çalışmalarda ortama ilave edilen 2,4-D konsantrasyonu yüksek tutulmaktadır (8 mg/l) (Rajyalakshimi ve ark., 1988; Redway ve ark., 1990).

Embriyogenik kallus elde etmek amacıyla kültüre alınan olgunlaşmamış buğday embriyolarının döllenmenin gerçekleşmesinden sonraki kültüre alındıkları gün, embriyogenik kallus oluşumunda önemli bir kriterdir. Bu konuda daha önce çalışma yapan araştırmacılar Zhang ve Seilleur, (1985); Papenfus ve Carman, (1987); Orshinski ve Mchughen, (1987); Morozova, (1988); Barabanova ve ark., (1988); Chowdhury ve ark., (1991) döllenmeyi takiben 14. ve 22. günlerde kültüre alınan olgunlaşmamış buğday embriyolarından uygun embriyogenik kalluslar elde etmişlerdir. Bu çalışmada da 10. ile 20. günlerde kültüre alınan olgunlaşmamış embriyoların, beyaz, parlak ve kırılkan kallus oluşumu sağlaması adı geçen araştırmacıların sonuçlarına uyum sağladığının göstergesidir. Ancak genotipik farklılıkların yanı sıra çeşitlerin olgunlaşma durumuna göre, döllenmeden sonraki gün sayısının farklı olabileceği bu nedenle de kallus oluşum oranlarının farklılık gösterdiği düşünülmektedir.

Kalluslar karanlık koşullarda inkübe edilerek elde edilmiştir. Işıklı koşullarda inkübe edilen kallus hücrelerinde klorofil oluşumu teşvik edilmekte, bu da kallus gelişimini yavaşlatmaktadır. Papenfus ve Carman, (1987); tarafından yapılan çalışmada karanlık koşulların kallus gelişimini artırırken, bitki rejenerasyon oranını azalttığını bildirilmiştir. Bunun yanında Lazar ve ark., (1983) ve Ohnoutkova ve Novak, (1985) kallus gelişimine genotipin ve ortama ilave edilen hormon miktarlarının yanında, *in vitro* koşullarının da etkili olduğunu bildirmişlerdir.

4.2. Kallus Verimi

Çeşitlere ait toplam kallus verimi Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Çizelge 4.1.'de de görüldüğü gibi toplam kallus verimi bakımından en yüksek değer (12951mg) Panda çeşidinden elde edilmiştir. Toplam kallus verimi bakımından bu çeşidi Seyhan-95 (7278 mg), Bal-Atilla (6987 mg) ve Marmara-86 (5745 mg) çeşitleri izlemiştir. Toplam kallus verimindeki bu farklılıklar, çeşitlere göre kullanılan petri sayısındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Ancak ortalama kallus verimi dikkate alındığında (Çizelge 4.2.) çeşitlerin performansları daha açık bir şekilde anlaşılmaktadır. Çizelge 4.2.'de de görüldüğü gibi ortalama kallus verimi bakımından da yine en yüksek değer Panda çeşidinden (332 mg) elde edilmiştir. Marmara-86, Bal-Atilla ve Seyhan-95 çeşitlerinin ortalama kallus verimleri ise sırasıyla 270.8, 199.7 ve 192.1 mg olmuştur. Ortalama kallus verimi bakımından çeşitler arasındaki bu farklılıklar çeşitlerin genotiplerindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Çizelge 4.2.'de analiz sonuçlarından da görüleceği gibi çeşitlere ait değerler farklı harflerle gösterilmiş ve bu ortalamalar % 5 ihtimal seviyesinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Kallus Verimi Bakımından Çeşitlere Ait Ortalama Değerler ve LSD Grupları

	Çeşitler	Kallus Verimi (mg/l)
1	Seyhan	192.16 a
2	Bal-Atilla	199.63 b
3	Panda	331.95 b
4	Marmara-86	270.78 ab
LSD(0.05)		92.97

Daha önce yapılan çalışmalarda ortalama kallus verimi bakımından genotipler arasında önemli farklılıklar olduğu belirtilmiştir (Sears ve Dekard, 1982; Lazar ve ark., 1983; Kradimova ve Erikson 1986; Liu, 1988; Redway ve ark., 1990; Chevrier ve ark., 1990).

4.3. Sıvı Stres (MS+NaCl) Ortamında Kallus Verimi

Genotiplerin tuzluluğa dayanıklılığını belirlemek için MS + 2 mg/l 2,4-D ortamında, karanlık koşullarda çoğaltılan kalluslar stres faktörleri uygulanmak üzere hazırlanan ve değişik oranlarda (0.0, 1.5, 3.0, 4.5, 5.5 ve 7.0 g/l) NaCl içeren MS sıvı kültür ortamına alınmışlardır.

Çizelge 4.3. Sıvı Stres Ortamında Çeşitlere Ait Ortalama Kallus Verimi (mg)

	Çeşitler	Kallus Verimi (mg)
1	Seyhan	1705.417 a
2	Bal-Atilla	1535.917 b
3	Panda	1704.000 a
4	Marmara-86	1565.417 b
LSD(0.05)		131.3

Çizelge 4.4. Sıvı Stres Ortamında Dozlara Ait Ortalama Kallus Verimi (mg)

	Dozlar	Kallus Verimi (mg)
1	0	2210.500 a
2	1.5	1941.000 b
3	3.0	1643.375 c
4	4.5	1475.750 cd
5	5.5	1348.000 de
6	7.0	1147.500 e
LSD(0.01)		217.9

Stres ortamında kültüre alınan kallusların çeşitlere ve dozlara göre ortalama değerleri sırasıyla Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4.'de verilmiştir. Analiz sonuçlarına göre çeşitler bakımından en yüksek ortalama değer (1705.417 mg) Seyhan-95 çeşidinden elde edilmiştir bunu 1704.000 mg ile Panda, 1565 mg'la Marmara-86 ve 1535.917

mg'la Bal-Atilla çeşitleri izlemiştir. Çeşitler arasındaki değerler harflerle ifade edilirken çeşitlere ait bu değerler % 5 ihtimal seviyesinde önemli bulunmuştur.

Çizelge.4.4.'de dozlara ait varyans analiz sonuçları incelendiğinde ise en yüksek değer kontrol (0.0 mg) dozundan elde edilmiş ve stres faktörleri artırıldıkça değerlerde azalma görülmüştür. Dozlara ait bu değerlerde farklı harflerle ifade edilmiş ve % 1 ihtimal seviyesinde önemli bulunmuştur. Çeşit x Doz interaksyonu dikkate alındığında ise % 5 ihtimal seviyesinde önemli olduğu sonucu ortaya çıkmıştır.

Sıvı stres ortamında çeşitlere ve dozlara göre belirlenen kallus ağırlık artışları çizelge 4.5'de verilmiştir. Çizelge 4.5'den de görüleceği gibi NaCl dozunun artmasına bağlı olarak, çeşitler de kallus ağırlık artışı azalmıştır. Panda çeşidi en yüksek (498 mg) kallus ağırlık artışını kontrolde kazanmıştır. Ortamdaki NaCl miktarı 1.5 gr/l çıkarıldığında kallus ağırlık artışı kontrole göre % 36.3 oranında azalmış ve 317 mg kallus ağırlık artışı olmuştur. Ortamdaki NaCl konsantrasyonlarının 3.0, 4.5, 5.5 ve 7 gr/l' ye çıkarılmasıyla kallus ağırlık artışları sırasıyla % 60.0, % 80.3, % 83.3 ve % 93.7 oranında azalmıştır.

Bal-Atilla çeşidi kontrol (0.0gr/NaCl) dozunda 397 mg kallus ağırlık artışı kazanmıştır. Ortama 1.5, 3.0, 4.5, 5.5 ve 7.0 gr NaCl/l eklenmesiyle kallus ağırlık artışları sırasıyla % 31.8, % 69.0, % 77.0, %81.8 ve % 94.2 oranında azalmıştır.

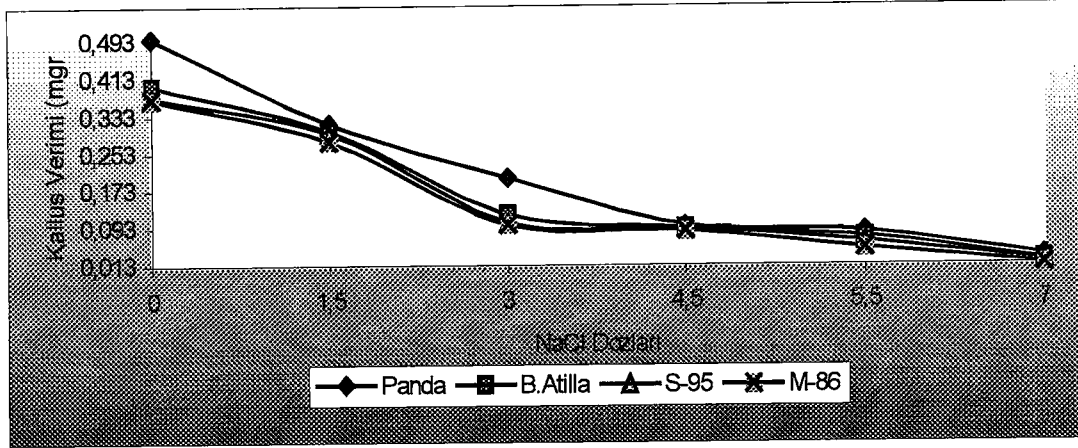
Kontrol dozunda Seyhan-95 çeşidinin kallus ağırlık artışı (371mg) Panda ve Bal Atilla çeşitlerinde sağlanan artışların gerisinde kalmıştır. Ancak 1.5 gr NaCl/l dozundaki kallus ağırlık kaybı (% 20.2) bu çeşitte en düşük olmuştur. Bu çeşidin 3.0, 4.5, 5.5 ve 7 gr NaCl/l dozlarındaki kallus ağırlık artışındaki azalmalar sırasıyla % 71.9, % 75.5, % 83.0 ve % 94.8 oranında olmuştur.

Çizelge 4.5. Sıvı Stres Ortamında (MS+NaCl) Çeşitlere Göre Kallus Verimi

ÇEŞİTLER									
NaCl Dozları	PANDA		BAL-ATILLA		SEYHAN-95		MARMARA-86		Ort. Ağırlık Artışı (mg)
	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	
0.0 gr	498	-	397	-	371	-	370	-	409
1.5 gr	317	36.3	301	31.8	296	20.2	278	24.8	298
3.0gr	199	60.0	123	69.0	104	71.9	099	73.2	131
4.5 gr	098	80.3	091	77.0	091	75.5	087	76.4	091
5.5 gr	083	83.3	072	81.8	063	83.0	048	87.0	066
7.0 gr	031	93.7	023	94.2	019	94.8	013	96.4	022

Marmara-86 çeşidi kontrol dozunda, kallus ağırlık artışı bakımından Seyhan-95 çeşidinden farklı olmayıp, 370 mg kallus ağırlık artışı sağlanmıştır. Bu çeşidin 1.5 gr NaCl/l dozundaki kallus ağırlığına ait azalma % 24.8 oranında olmuştur. 3.0, 4.5, 5.5, ve 7.0 gr NaCl/l dozlarındaki azalmalar sırasıyla % 73.2, % 76.4, % 87.0 ve % 96.4 oranında olmuştur. Çizelgeden de anlaşılacağı gibi, çeşitlerin NaCl konsantrasyonlarına olan tepkileri farklı olmuştur. 1.5 gr NaCl /l dozuna en toleranslı çeşit Seyhan-95 olup, bu çeşidi sırasıyla Marmara-86, Bal Atilla ve Panda çeşitleri

izlemiştir. 3 gr NaCl/l dozuna en dayanıklı genotip Panda olmuş ve bu çeşidi sırasıyla Bal Atilla, Seyhan-95, ve Marmara-86 çeşitleri izlemiştir. NaCl dozlarının



4.5, 5.5 ve 7 gr/l çıkarılmasıyla kallus ağırlık artışında meydana gelen azalmalar % 75.5'nin üzerinde olmuştur.

Şekil 4.1. Sıvı Stres Ortamında (MS+NaCl) Çeşitlere Göre Kallus Ağırlıkları

Daha önce yapılan çalışmalarda da 5 buğdaygil türü arasından 2 tür (*T. scipeum* ve *T. junceum*) diğerlerine göre oldukça yüksek tuz toleransı göstermiştir (Farroq, 1994).

4.4. Sıvı MS Ortamında Kallus Verimi

Sıvı stres ortamında bir hafta süreyle bekletilen ve ağırlıkları belirlenen kalluslar, içerisinde stres faktörü bulunmayan sıvı MS ortamına alınmış ve burada çeşitlerin stres faktörü kalktıktan sonraki durumları belirlenmeye çalışılmıştır.

Sıvı MS ortamındaki kallus verimlerine ait tablolar (çizelge 7 ve çizelge 8) incelendiğinde çeşitlerin %5 ihtimal düzeyinde dozların ise %1 ihtimal seviyesinde önemli olduğu sonucu ortaya çıkmıştır.

Çizelge 4.6. Sıvı MS Ortamında Çeşitlere Ait Ortalama Kallus Verimi (mg)

	Çeşitler	Kallus Verimi (mg)
1	Seyhan	2008.167 a
2	Bal-Atilla	1557.500 b
3	Panda	1926.333 a
4	Marmara-86	1782.333 ab
	LSD (0.05)	326.1

Çizelge 4.7. Sıvı MS Ortamında Dozlara Ait Ortalama Kallus Verimi (mg)

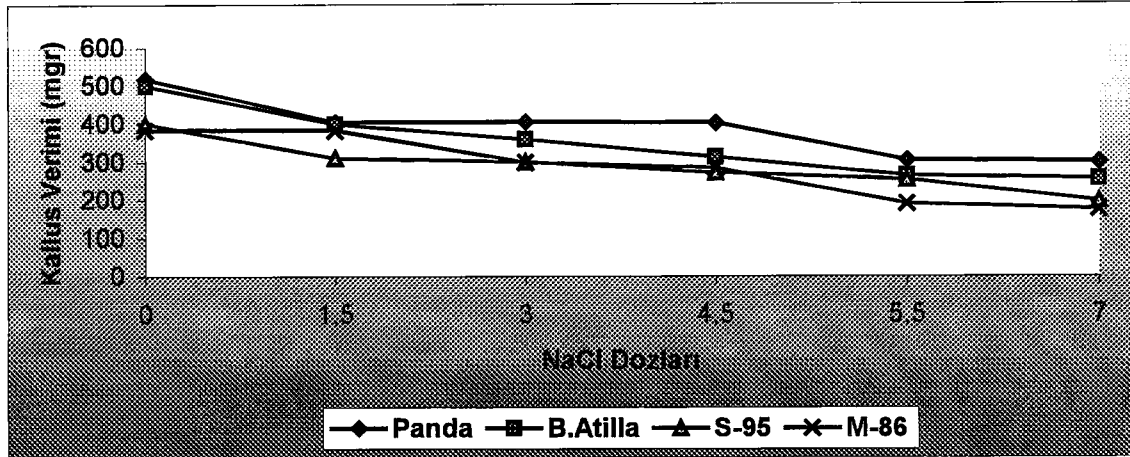
	Dozlar	Kallus Verimi (mg)
1	0	2639.375 a
2	1.5	2287.250 ab
3	3.0	1878.750 bc
4	4.5	1541.125 cd
5	5.5	1373.750 cd
6	7.0	1191.250 d
LSD(0.01)		217.9

Daha önce yapılan çalışmalarda da çeşitli faktörler bakımından stres uygulanan kallusların gelişiminin faktör ortadan kalktıktan sonra daha iyi olduğu fakat yine de stres uygulanmış kalluslardaki ağırlık artışının kontrole göre daha düşük seviyede kaldığı belirtilmiştir (Mavituna, 1996). Bu çalışmada da analiz sonuçları karşılaştırıldığında benzer sonuçların ortaya çıktığı gözlenmektedir.

Çizelge 4.8. Sıvı MS Ortamında Çeşitlere ve Dozlara Göre Kallus Verimi

ÇEŞİTLER									
NaCl Dozları	PANDA		BAL ATILLA		SEYHAN-95		MARMARA-86		Ort. Ağırlık Artışı (mg)
	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	Ağırlık artış miktarı (mg)	Ağırlık azalma oranı (%)	
0.0gr	517	-	498	-	397	-	383	-	45
1.5gr	490	52.2	398	20.0	309	22.2	381	78.9	40
3.0gr	402	22.2	358	28.1	299	24.7	297	22.5	34
4.5gr	399	22.8	311	37.6	271	31.7	283	26.1	32
5.5 gr	302	41.6	262	47.4	253	36.3	189	50.7	25
7.0gr	298	42.4	254	49.0	195	50.9	173	54.8	23

Çizelge 4.6' da görüleceği gibi, bütün çeşitlerin en yüksek kallus ağırlık artışı kontrol (0 gr NaCl/l) uygulamalarından elde edilmiştir. Kontrol uygulamasında, Panda (517mg) çeşidindeki kallus ağırlık artışı en fazla olmuş ve bu çeşidi Bal Atilla (498 mg), Seyhan-95 (397 mg) ve Marmara-86 (383 mg) çeşitleri izlemiştir. Bu durumun Panda çeşidinin diğer çeşitlere göre NaCl faktöründen daha az etkilenmesinden ve stres faktörü ortadan kalktıktan sonra daha iyi gelişmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.2. Sıvı MS Ortamında Çeşitler ve Dozlara Göre Kallus Verimi

Çizelge 4.6.'da tüm çeşitlerin ortalama kallus ağırlık artışı göz önüne alındığında kontrol dozunda en yüksek değerin bulunduğu ve bunu sırasıyla diğer stres faktörlerinin (1.5, 3.0, 4.5, 5.5 ve 7.0 mg NaCl) azalan oranda izlediği görülmüştür. Sıvı MS ortamındaki kallus ağırlık artışı, daha önce 1.5, 3.0, 4.5, 5.5 ve 7 gr NaCl/l stres ortamına tutulmuş kalluslarda kontrole göre azalarak meydana gelmiştir (Çizelge 4.6). Ancak yine de bu ağırlık artışları stres faktörü içeren ortamda sağlanan artışlardan (Çizelge 4.5) daha yüksek olmuştur. Bu durum çeşitlere ait kallusların stres ortamında tutulmalarından kaynaklanmaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda da stres ortamında tutulmuş olan kalluslardaki ağırlık artışının kontrole göre daha düşük seviyede olduğu belirtilmiştir, (Durnhauser, 1992).

4.5. Katı Stres Ortamından Sağlanan Kallus Verimi

Dört çeşitten (Bal-Atilla, Marmara-86, Panda ve Seyhan-95) elde edilen kalluslar önce sıvı stres ortamında daha sonrada sıvı MS ortamında kültüre alınmıştır. Bu aşamalardan sonra, daha önce içeriği belirtilen sıvı MS ortamına agar ilavesiyle elde edilen katı stres ortamına aktarılan kalluslar bu ortam içerisinde de 1 hafta süreyle bekletilerek bir kez daha stres faktörüne maruz bırakılmıştır. 1 hafta süreyle 28°C tutulan kalluslarda ağırlık artışları belirlenmiş ve bu değerler Şeki4.5.1' da sunulmuştur.

Şekil 4.3' de, katı stres ortamında tutulan kalluslardaki ağırlık artışının oldukça düşük seviyede olduğu görülmektedir. Kontrol uygulamasında dahi ağırlık artışı sıvı kültüre göre daha düşük seviyede kalmıştır. Bu durum ortam farklılığından kaynaklanmıştır. Çizelge 4.5.1' da görüldüğü gibi katı stres ortamında en fazla kallus ağırlık artışları Panda çeşidinden elde edilmiştir. NaCl'e toleransta bu çeşidi Seyhan-95 çeşidi izlemiştir. Sıvı stres ortamında olduğu gibi, katı stres ortamında da kallus ağırlık artışları stres faktörünün artışına bağlı olarak azalmaktadır. Ancak Bal-Atilla çeşidinde kontrol uygulamasında (0.0gr NaCl/l) kallus ağırlık artışı 50 mg olurken, (1.5 gr NaCl/l) uygulamasında bu ağırlık artışı 77 mg'a çıkmıştır. Bal Atilla çeşidinde katı ortama bir miktar (1,5 gr) NaCl eklenmesi kallus gelişimini teşvik

etmiş olabilir ve bu nedenle ağırlık artışı kazanılmış olabilir. Yada bu durum tesadüfi olarak ortaya çıkmıştır. Ancak bu çeşitte de 1.5 gr uygulamasından sonraki dozlarda da kallus ağırlık artışında azalmalar olmuştur.

Çizelge 4.9. Katı MS Ortamında Çeşitlere Ait Ortalama Kallus Verimi

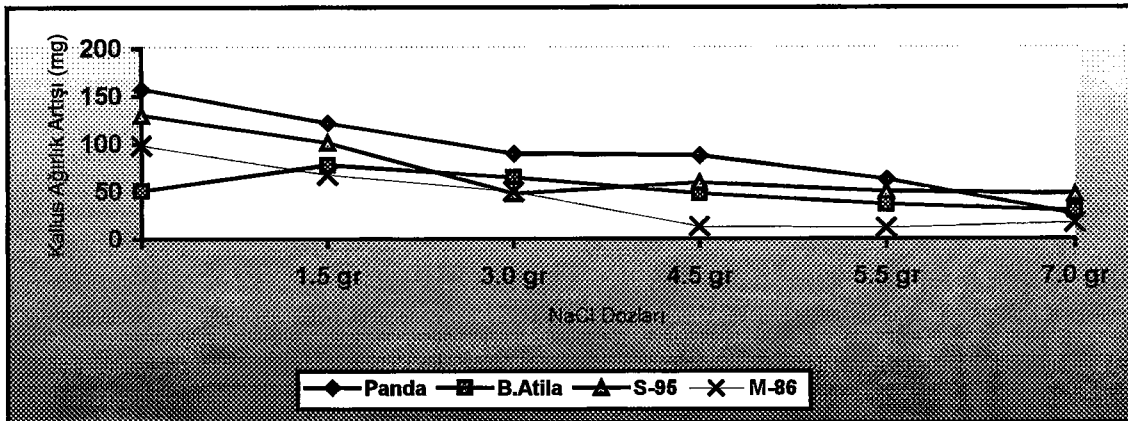
	Çeşitler	Kallus Verimi (mg/l)
1	Seyhan	51.500 c
2	Bal-Atilla	90.767 a
3	Panda	72.800 b
4	Marmara-86	43.167 c
LSD(0.01)		12.11

Analiz sonuçları incelendiğinde ise (Çizelge 9-10) NaCl'ye toleransta yine ilk sırayı Panda çeşidinin aldığı ve çeşitler ve dozların %1 ihtimal seviyesinde önemli olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Çeşit doz interaksyonunda da yine önem düzeyi %1 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Katı MS Ortamında Dozlara Ait Ortalama Kallus Verimi

	Dozlar	Kallus Verimi (mg/l)
1	0	108.850 a
2	1.5	32.200 b
3	3.0	63.300 c
4	4.5	52.350 cd
5	5.5	40.350 de
6	7.0	30.300 e
LSD(0.01)		14.83

Buradan elde edilen kalluslar rejenerasyon ortamına (MS + 1mgr/l BAP+1 mg/l Kinetin) aktarılarak, rejenerasyon durumları gözlenmiştir.



Şekil 4.3. Katı Stres Ortamında (MS+NaCl) Kallus Ağırlık Artışı (mg)

4.6. Kallus Rejenerasyon Oranı

Buğday genotiplerinin tuzluluğa dayanıklılığını belirlemek amacıyla stres faktörlerine maruz bırakılan kalluslar en son aşama olarak bitki elde edebilmek amacıyla rejenerasyon ortamına aktarılmıştır.

Çizelge 4.11. Rejenerasyon Ortamında Yeşil Aksam Oluşturan Kallusların Oranı (%)

Rejenerasyon Ortamından Alınmadan Önce Tutuldukları NaCl Dozları	Panda		Seyhan-95		Bal-Atilla		Marmara-86	
	Kallus Sayısı	Yeşil Aksam Oluşum Oranı (%)	Kallus Sayısı	Yeşil Aksam Oluşum Oranı (%)	Kallus Sayısı	Yeşil Aksa Oluşum Oranı (%)	Kallus Sayısı	Yeşil Aksa Oluşum Oranı (%)
0.0	202	45.0	308	44.0	107	36.4	214	23.4
1.5	302	44.4	141	36.2	167	29.3	247	17.0
3.0	315	19.4	180	34.4	210	20.0	236	13.6
4.5	216	18.2	195	25.6	182	16.5	174	12.6
5.5	201	12.4	174	19.5	147	9.2	215	8.4
7.0	156	9.6	189	10.0	148	4.7	183	6.6
Ort.		%24.8		%28.3		%19.3		%13.6

MS kültür ortamına 1mg/l BAP (Benzil Amino Pürin), 1mg/l Kinetin ilave edilerek hazırlanan rejenerasyon ortamında kalluslar (Şekil 4.4 ve Şekil 4.5), 7-10 gün aralıklarla alt kültüre alınmış ve gelişim durumları izlenmiştir. Gelişme durumları ve yeşil aksam oluşum oranları her çeşit için ayrı ayrı belirlenmiş ve bu değerler çizelge 4.6.7'de verilmiştir. Çizelge 4.12' de görüldüğü gibi, en fazla yeşil aksam Panda çeşidinden (% 24.8) elde edilmiştir. Bu çeşidi sırasıyla Seyhan (% 24.3), Bal Atilla (% 19.3) ve Marmara-86 (% 13.6) çeşitleri izlemiştir. Bu durum genotipler arasındaki farklılıklardan ve çeşitlerin uygulanan stres faktörlerinden farklı şekilde etkilenmesinden kaynaklanabilir. Yine Çizelge 4.12'den görüleceği gibi, rejenerasyon ortamında NaCl stres faktörü kullanılmamasına rağmen, çeşitler daha önce uygulanan stres faktörünün seviyesine göre farklı oranda yeşil aksam oluşturmuşlardır. Dört çeşitte de yeşil aksam oluşum oranı daha önceki ortamlarda kullanılan stres (NaCl) faktörü seviyesindeki (1.5, 3.0, 4.5, 5.5 ve 7.0 gr NaCl / l) artışa bağlı olarak azalmıştır.

Daha önce yapılan çalışmalarda da stres faktörünün şiddeti ve süresi arttıkça genotiplerin dayanıklılıklarının azaldığı belirtilmiştir (Cook ve Veset, 1991).



Şekil 4.4. Bitki Rejenerasyon Ortamı



Şekil 4.5. Bitki Rejenerasyon Ortamı

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmada kullanılan çeşitlerin kallus oluşum oranları genotiplere göre farklılık göstermiştir. Kallus kültürlerinin oluşturulması bakımından Bal Atilla çeşidi en iyi sonucu vermiştir.

Sıvı besi ortamında katı besi ortamına göre daha fazla kallus ağırlık artışı kazanılmıştır. Sıvı kültürde kallus ağırlık artışı kazanma bakımından en iyi sonucu Panda çeşidi vermiştir.

NaCl stres faktörünün artışına bağlı olarak kallus ağırlık artışında önemli ölçüde azalmalar meydana gelmiştir. Bu azalma miktarı çeşitlere ve dozlara göre değişmiştir. Buna göre Panda çeşidinin NaCl stres faktörüne tolerans bakımından diğer çeşitlere göre daha iyi olduğu belirlenmiştir. Genotiplerin stres faktörüne tepkilerinin kallus kültürleriyle değerlendirilebileceği ve sıvı kültür ortamında hücrelere stres faktörünün daha iyi etki edeceği anlaşılmıştır.

Stres faktörü uygulanmış kallusların gelişimi, stres faktörünün kaldırılmasından sonra da düşük bulunmuştur. Bu da stres faktörünün kallus gelişimi üzerinde etkili olduğunu göstermektedir.

Denemeye alınan çeşitlerin hiçbiri tuza (NaCl) dayanıklılık bakımından önemli farklılık göstermemiştir. Ancak stres ortamında 1.5 gr NaCl/l konsantrasyonunda en toleranslı çeşit Seyhan-95 çeşidi olup, bu çeşidi sırasıyla Marmara-86, Bal-Atilla ve Panda çeşitleri izlemiştir. 3 gr NaCl konsantrasyonunda en dayanıklı genotip Panda olmuş ve bu çeşidi sırasıyla Bal-Atilla, Seyhan-95 ve Marmara-86 çeşitleri izlemiştir. NaCl konsantrasyonu 4.5, 5.5 ve 7.0 gr/l'ye çıkarılmasıyla kallus ağırlık artışında meydana gelen azalmalar % 75.5'in üzerinde olmuştur.

Bu bulgular ışığında, kallus kültürleri aracılığıyla genotiplerin in vitro koşullarda oluşturulacak NaCl stres faktörlerine tepkisinin belirlenebileceği anlaşılmıştır. Buna göre, bundan sonra yapılacak çalışmalarda, çeşit sayısının artırılması ve toprakta bulunan diğer tuzların etkisinin de dikkate alınmasının daha yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- AHLOOWALIA, B.S., 1982.** Plant regeneration from callus culture in wheat . Crop Science .22, (2), 405-410.
- AKALAN, İ.,1988.** Toprak Bilgisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1058, Ders Kitabı No:309. Ankara.
- AKKAYA, A., 1994.** Buğday Yetiştiriciliği. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üni. Ziraat Fakültesi Genel Yayın No:1. Ders Kitapları Yayın No: 1.
- BEN AMER I.M., A. BORNER, 1998.** Effect of cytoplasm on immature embryo culture in wheat (*Triticum aestivum L.*). Institut für Pflanzengengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), corrensstra Be 3,D-06466 Gatersleben/Germany.
- ANONYMOUS, 1980.** Topraksu İstatistik Bülteni. Programlama ve Planlama Dairesi Başkanlığı Yayınları. Ankara.
- ANONYMOUS, 1986.** Tarımsal yapı ve üretim. T.C. Başbakanlık D.İ.E. Yayınları, 1685, Ankara.
- ANONYMOUS, 1987.** Türkiye Arazi Varlığı. Toprak Su Genel Müdürlüğü. 1987/Ankara.
- ANONYMOUS, 1996.** Production year book. Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome. Vol.50. FAO Statistics Series No.135.
- ANONYMOUS, 1997.** Kahramanmaraş İli Arazi Varlığı. T.C. Başbakanlık Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yayınları. İl Rapor no:46. Ankara.
- ANONYMOUS, 1999.** T.C. Başbakanlık D.İ.E. (Statistical yearbook of Turkey) Yayın no:2240.
- ARİF, M., SWATI, M. S., 1997.** Correlation studies of some wheat characters under saline environment . Sahrad-Journal-of-Agriculture (Pakistan), 13(6): 591-594.
- ASPİNALL, D., 1986 .** Metabolik Effects of water and salinity stress in relation to expansion of the leaf surface, Austr. Journ. plant physiol., 13,59-73.
- ASHAN, M., VİRK, D. S. 1996.** Genetik analysis of salt tolerance in spring what (*Triticum aestivum L.*). Cereal-Researc.; Wright h-Communications (Hungary). (1996). V. 24 (3) p. 353-360.
- AVENIDO, R.A., COTTON, T. L., AMANTE, A.A., MONSALUD, M. J. R., ZAMORA, A.B. 1988.** Callus establishment from mature embryos of wheat (*Triticum aestivum L.*) and subsequent shoot regeneration. Philippin Journal of Crop Science. 13.
- BANNIKOVA, V. P., BARABANOVA, E. A., 1990.** Induction and histological features of somatic embriyogenesis in the tissue culture of Gramineae. Sitilogia Genetika.24 (2): 61-68.
- BARABANOVA, E. A., BANNIKOVA, V.P., GIRKO, V.S., 1988.** Plant regeneration from cultured embryos of winter wheat. In Biologiya kul'tivirvemkyh kletoki bioteknologiya, 1. Nouosbirisk, USSR.110.
- BELYANSKAYA, S. L., IKHSANOV, S. K., SHAMINA, Z. B., 1993.** Influence of stress factors on cell cultures and seedlings of rice. (Abstract) Field Crops 45: 1-12.

- BERNSTEIN, L., HAYWARD, H. E., 1958.** Physiology of salt tolerance, Ann. Rev. Plant Physiol., 9,25-46.
- BERNSTEIN, L., 1963.** Osmotic Adjustment of plants saline media, II. Dynamik State, Amer, Jour.Bot., 50. 360-370.
- BOZCUK, S., 1988.** Bazı kültür bitkilerinde tuzluluğun çimlenme üzerine etkisi ve tuz toleransı sınırlarının saptanması. Doğa-Tr.J.of Biology 15(1991), 145-151 TUBİTAK.
- BUTENKO, R.G., DZHARDEMALIEV, ZH.K., GAVRILOVA, N.F., 1986.** Plant regenerasyon from callus tissue obtained from different organs of winter wheat .Fiziologiya Rostenii.33 (5): 837-842.
- CHENG,-X. Y., GAO, -M. W., LIANG -Z. Q., LIU,-G. Z. 1998.** Journal-of-Applied Genetics (Poland). V. 39 (1): 59-72.
- CHEVRIER, N., QURESHI, I. A., HUCL, P., KARTHA, K.K., 1990.** Heritability of in vitro regeneration in wheat (*Triticum aestivum L.*) Canadian Journal of Plant Sciences. 70(20): 547-550.
- CHOWDHURY, S. H., KATO,K., YAMAMOTO,Y., HAYASHI, K., 1991.** Varietal variation in plant regeneration capacity from immature embryo among common wheat cultivars. Japanese Journal of Breeding.41(3):443-450.
- COOK, R. J. AND R.J. VESET, 1991.** Wheat health management. The American Phytop athological Society, 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, Minnesota 55121, USA.
- CRISTALDO, R. M., CARVALHO, F., BARBIERI, R. L., DORNELLES, A. L., HANDEL, C.L., BERED, F., KOHLI, M., 1997.** Response of different subcultures of wheat [*Triticum aestivum L.*] callus to toxic filtrates of *Helminthosporium sativum*. Journal-of-Genetics-&-Breeding (Italy). (Jan 1997). V. 51 (1): 39-43.
- DEL'AQUILA, A., DI-TURI, M., 1996.** International Seed Testing Association's Secretariat, Reckenholz (Switzerland).Proceedings of the International Seed Testing Association.Reckenholz (Switzerland). International Seed Testing Association. 1996, 309.
- DURNHAUSER, L., 1992.** Stimulation of shoot and root regeneration in wheat (*Triticum aestivum L.*) callus cultures by copper. Cereal Research Communications (1992) 19 (4): 419-423
- EAPEN, S., RAO, P.S.,1982.** Organogenesis and plantlet formation from callus cultures of different cultivars of bread wheat (*Triticum aestivum L.*). Proceedings, Indian National Science Academy, (Biological Sciences). 48 (3) 371-377.
- ELKOCA, E., 1997.** Fasulyede (*Phaseolus vulgaris L.*) tuza dayanıklılık üzerine bir araştırma. Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Özetleri. s.76. (1995-2000).
- FARROQ, S., 1994.** Crop improvement potential of wild germplasm. Proceedings of a national seminar of genetic resources of cereals and their utilization in Pakistan, 8-10 February 1994, Islamabad, Pakistan. 204: 3-26.
- FEKETE, S., PAUK, J., 1989.** Study of the effect of 2,4-D and kinetin on plant regeneration in wheat: two-step efficient plant regeneration. Cereal Research Communications. 17(3-4): 237-244.

- GALIBA, G., KOVACS, G., SUTKA, J., 1986.** Substitution analysis of plant regeneration from callus culture in wheat. *Plant Breeding*. 97(3): 261-263.
- GAMBORG, O. L., MILLER, R. A., OJIMA, K., 1968.** Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Exp. Cell Res.* 50:151-158.
- GAPHONENKO, A. K., GOLUBEVA, O. N., 1989.** Morphogenetic processes in the culture of somatic cells of wheat. *Plant Breeding Abstracts*. Vol.59 No.7.
- GORHAM, D. M., STROGONOV, B.P., 1986.** Salt tolerance. In *Physiological Processes Limiting Plant Productivity*. Ed. C. B. Johnson. Pp. 271-292 Butter Worths. London 1986.
- GÜNEŞ, A., ALPARSLAN M., TABAN, S., HATİPOĞLU, F., 1995.** Değişik Buğday Çeşitlerinin Tuz stresine Dayanıklılıkları. Ankara Üniversitesi Ziraat fakültesi. Toprak Bölümü. *Tr. J. Of Agriculture and Forestry* 21 (1995) 165-169 TÜBİTAK.
- HE, D. G., YANG, Y. M., SKOOT, K. J., 1989.** A comparison of scutellum callus and epiblast callus induction in wheat: the effect of genotype embryo age and medium. *Plant Science, Irish Republic* 57(3)225-233.
- HEYSER, J. W., NABORS, M., MACKINNON, C. DYKES, T., DEMOTT, K. J., KAUTZMAN, D. C., MUJEEB-KAZI, A., 1985.** Long-term, high-frequency plant regeneration and the induction of somatic embryogenesis in callus cultures of wheat (*Triticum aestivum L.*). *Z. Pflanzenzüchtg.* 94:218-233.
- HUNSINGER, H., SCHAUZ, K., 1987.** The influence of dicamba on somatic embryogenesis and frequency of plant regeneration from cultured immature embryos of wheat (*Triticum aestivum L.*). *Plant breeding*. 8(2):119-123.
- INAGAKI, M., 1986.** Callus induction and plant regeneration from immature haploid embryos of wheat. *Japan. J. Breed.* 36: 49-53.
- ITO, S., ABE, J., 1990.** Callus formation and plant regeneration from immature wheat embryos. *Bulletin of the Tohoku National Agricultural Experiment Station*. No.81,33-40.
- JENNINGS, B. E., 1968.** Holophtes Succulence and sodium in plants, a unified theory, *new phytol.*,67,899-911.
- KABAR, K., KOCAÇALIŞKAN İ., 1990.** Buğday tohumlarının çimlenmesinde tuzluluk (NaCl), polifenol oksidaz ve büyüme düzenleyicileri arasındaki etkileşimler. *Doğa Türk Botanik Dergisi*. V 14. N 3.
- KARADIMOVA, M., ERIKSON, T., 1986.** Somatic embryogenesis and organogenesis in the callus culture of immature embryos of wheat (*Triticum aestivum L.*). *Genetikai Seleksiya*. 19 (5): 451-455.
- KATO, K., CHOWDHURY, S. H., HARADA, S., 1990.** Effect of culture condition on plant regeneration capacity of mature embryo derived callus in wheat (*Triticum aestivum L.*). (Abstracts) *Field Crops* 46: 1-12.
- KIM, S. C., KIM, S. G., 1989.** Plant regeneration from single cell culture of wheat (*Triticum aestivum L.*). *The Korean Journal of Botany (Korean Republic)*. 32(4): 227-233.

- KOBA, T., SHIMADA, T., OTANI, M., NIIZEKI, H.,1988.** Chromosomal and morphological variation in plants regenerated from calli of immatura embryos and infbrescences of a barley-wheat hybrid. Institute of Plant Science Reseaech 757-762.
- KOCSY, G., GLIBA, G., SUTKA, J., 1992.** In vitro system to study salt and drought tolerance of wheat. (Abstract) Field Crops 45: 1-12.
- KOÇ. N. K., 1994.** Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları .Adana.
- KOVACS, G., 1988.** Testing of wheat for frost resistance in in-vitro somatic callus cultures. Noventermeles (Hungary) 37(6): 481-485.
- KÜN. E., 1983.** Serin iklim tahılları, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları:875,Ders Kitabı:240. Ankara.
- LAZAR, M. COLLINS, G.B., VIAN, W.E., 1983.** Genetic and enviromental effects on the growth and differentiation of wheat and somatic cell cultures. The Journal of Heredity, 74: 353-357.
- LINSMAIER, E .M., SKOOG, E., 1965.** Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 8:100-127.
- LIU, B., 1988.** A preliminary study on the relationship between callus growth rate and plantlet regeneration capacity of wheat. Acta Agriculturae Universitatis Jilinensis 10(2): 16-20.
- LÖRZ, H., GOBEL, E., BROWN, P., 1988.** Advances in tissue culture and progress toward genetic engineering in cereals. Plant Breeding Abstracts. 100: 1-25.
- MADDOCK, S. E., LANCASTER, V. A., RISIOTT, R., FRANKLIN, J., 1983.** Plant regeneration from cultured immature embryos and inflorescences of 25 cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) Journal of Experimental Botany 34(144): 915-926.
- MALIK, M. RAFI, ROBERT S. ZEMERTA AND KAREN DEMPSTER 1998.** Effect of Absciscic Acid on Wheat callus cultures. Department of plant, Soil Entomological Sciences, University of Idaho,Moscow, Idaho 83844, USA.
- MAVITUNA, A. M., 1996.** Effect of Auxin-Like Plant Growth Regulators on Salt Stressed Wheat varieties. In Partial Fulfillment of Requirements For The Degree of Master of Science in The Department of Biotechnolgy. A Thesis Submitted to The Graduate School of Natural and Applied Sciences of The Middle East Technical Universty.
- MOHAMAND, A. S., NABORS, M. W., 1990.** Somaclonal variant plants of wheat derived from mature embryo explants of three genotypes. Plant Cell Reports.8(9): 558-560.
- MOHAMAND, A. S., NABORS, M. W., 1992.** Comparison of two methods for callus culture and plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.).Plant Cell, Tissue and Organ Culture 26 (3): 185-187.
- MOROCZ, S., DONN, G., NEMETH, J., DUDITS, D., 1990.** Nutrient medium Ther. Appl. Genet. 70:721-726.

- MOROZOVA, S. E., 1988.** Duration of regenerative ability in wheat callus. In Biologiya kul'tiviruemykh kletok biotekhnologiya.1.Novosibirsk,USSR. 135-136.
- MURASHIGE,T., SKOOG, F., 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- OERTLI, J., J., SCHMIDALTER, U., HU, Y., 1997.** Interactive effects of salinity and macronutrient level on wheat. I. Growth. *Journal-of-plant-nutrition* 20 (9): 1155-1167.
- OHNOUKOVA, L., NOVAK, F., J., 1985.** Effect of *in vitro* culture conditions on callus formation and regeneration from immature embryos and inflorescences of wheat and barley. *Acta Universitatis Agriculturae Brno. A(Facultas Agronomica).* 33(3): 323-326.
- ORSHINSKY, B.R., MCHUGHEN, A., 1987.** Callus culture and plant regeneration in Neepawa wheat Canadian Journal of Plant Science. 67 (1): 284 .
- OVESNA, J., LHOVA, M., 1987.** Study of callus growth and plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum L.*) tissue culture. *Scientia-agriculturae-Bohemoslovaca.* 19(4): 243-252.
- OZIAS-AKINS, P., VASIL, I. K., 1982.** Plant regeneration from cultured immature embryos and inflorescences of *Triticum aestivum L.* (wheat): evidence for somatic embryogenesis. *Protoplasma.* 110(2): 95-105.
- PAPENFUS, J.M., CARMAN, J.G, 1987.** Enhanced regeneration from wheat callus using dicamba and kinetin. *Crop Science* 27 (3): 588-357.
- PAUK, J., SZARKA, B., 1991.** Protoplast isolation and culture investigations in common wheat (*Triticum aestivum L.*). *Physiologia Plantarum.* 82(1)A5 (En, also Eighth international protoplast symposium.). Cereal Research Institute, Szeged, Hungary.
- RAKHIMBAEU, I. R., KUSHNARENKO, S. U., 1993.** Somaclonal variation of regenerants in the tissue culture of wheat. (Abstracts) *Field Crops. Volum:46. No:1-12.*
- RAJYALAKSHIMI, K., DHIR, S.K., MAHESHWARI,N., MAHESHWARI, S.C., 1988.** Callusing and regeneration of plantlets via somatic embryogenesis from inflorescence cultures of *Triticum aestivum L.*; role of genotype and long-term retention of morphogenic potential *Plant Breeding.* 101(19): 80-85.
- REDWAY, F.A., VASIL,V., LU, D., VASIL, I.K., 1990.** Identification of callus types long-term maintenance and regeneration from commercial cultivars of wheat (*Triticum aestivum L.*). *Theor and Appl. Genet.* 79(5): 609-617.
- REN, Y. G., JIA, J. F., LI, M. Y., ZHEN. G, G. C., 1989.** Plantlet regeneration from protoplast isolated from callus cultures of immature inflorescences of wheat (*Triticum aestivum L.*), *Chinese Science Bulletin.* 34(19): 1649-1652.
- SAĞLAM, M.T. 1994.** Toprak Kimyası. Trakya üniversitesi . Tekirdağ Ziraat Fakültesi, Yayın No: 190, Ders Kitabı. No: 21.226 S.
- SEARS, R.G., DECKARD, E.L.,1982.** Tissue culture variability in wheat. Callus induction and plant regeneration. *Crop Science* 22: 546-550.

- SEZEN, Y., 1995.** Toprak Kimyası. Atatürk Üniversitesi.Yayın No: 790, Ziraat Fakültesi Yayın No: 190, Ders Kitapları Serisi:71,284 s.
- SCHAEFFER, G. W., LAZAR, M. D., BAENZIGER, P. S.,1984.** Tissue culture variability in wheat: Callus induction and plant regeneration.Crop Science 22: 546-550.
- SHIMADA KOBAYASHI, T., OTANI, M., NIIZEKI, H., 1988.** Chromosomal and morphological variation in plants regenerated from calli of immature embryos end inflorescences of a barley-hat hybrid. Institute of Plant Science Research, 757-762.
- SIDOROVA, N. V., MORGUN, V. V., LOYVIHENKO, V. F., 1988.** Peculiarities of callus and morphogenesis in immature embryo culture of different winter wheat genotypes.Fiziologiya Biokhimiya Kul'turykh Rastenii. 20(4): 349-353.
- SPIRIDON, E., KINTZIOS, MARIA TRIONTOFYLLOU AND JOHN DROSSOPOULOS 1998.** Effect of genotype and different growth regulator treatments on callus induction, proliferation and plant regeneration from mature wheat embryos. Agricultural University of Athens, Department of plant Physiology, Faculty of Agricultural Biology and Biotechnology, Iera Odos 75, 11855 Athens, Greece.
- SUBHASHINI, K., REDDY, G. M., 1993.** Effect of salt stress on enzyme activities in callus cultures of tolerant and susceptible rice cultivars. Indian Journal of Experimental Biology 28 (3): 277-279.
- SUBHASHINI, K., REDDY, G. M., 1994.** Role of proline in callus growth and plant regeneration under salt stress in rice. Field Crops 45: 1-12
- TIPIRDAMAZ, R., 1989.** Tuz ve su stresinin buğday (*Triticum aestivum L*) bitkisinin Türkiye'de yetiştirilen iki çeşidine oransal su kapsamı ile organik ve inorganik madde değişimine etkisi. Hacettepe Üni.Fen Bil. Ens.Yön.'nin Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü Doktora Tezi.
- TUBEROSA, R., RAVAGLIA, S., LUCCHESI, C., 1988.** Callus induction and plant regeneration in Italian cultivars of bread wheat. Agricultura Mediterranea. 118(49): 361-365.
- TUGAY, M.E., 1987.** Cumhuriyet Üniversitesi.Ziraat Fak. Dergisi. Cilt: 3. Sayı:1.
- TUNA, E., (2001).** Bitkiler neden ve nasıl korunur? Başkent Üniversitesi Kültür Yayınları. Bütün Dünya 2000 Dergisi. Sayı: 2001/07 ISSN 1301-7608.
- TÜRET, M., ÖZGEN, M., 1995.** Buğdayda (*Triticum spp.*) kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna ploidi düzeyinin etkisi. Biyoteknoloji ve Bitki Islahı Workshop. 17-19 Nisan 1995, Gebze-Kocaeli, 169-174.
- TÜZÜNER, A., 1990.** T.C: Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Gen. Müd. Toprak ve Su Analiz Laboratuvarları El Kitabı. Ankara,1990.
- VARSHNEY-A; KONT,-T, KATHARÍ, -S:L., 1998.** Plant regeneration from coleoptile tissue of wheat (*Triticum aestivum L.*). Biologia-Plantarum 40 (1): 197-141.
- VASIL, I. K., 1990.** Transgenic cereals becoming a reality. BIOTECHNOLOGY 8: 797.

- VASIL, I. K., VASIL, V., 1992.** Advances in cereal protoplast research. *Physiologia Plantarum*. 85:279-283.
- VASIL, V., CASTILLO, A. M., FROMM, M. A., VASIL, I. K., 1991.** Herbicide resistant fertile transgenic wheat plants obtained by microprojectile bombardment of regenerable embryogenic callus. *Bio/Tecnology*. 10: 667-675.
- YANG,X.H., LI,H.C., HU,D.F.; 1991.** Enhancing wheat protoplast isolation by negative pressure treatment. *Acta Agric. Boreali-Sinica* 6:2-57-61.
- YU. Y. J., PU, Z., LIAO, P.A., AU, F.Q., 1990.** Variability of some traits in the plants regenerated from culture of immature wheat embryos. *Hereditas Beijing*. 12(3): 4-6.
- ZHANG, L. J., SEILLEUR, P., 1985.** A simple fast method to obtain high frequency of plant regeneration from mature and immature wheat embryos. *Bull: rech. Agron. Gembloux*, 3:187-197.
- ZHONG, Q.C., ZHU, Y. L.,CHEN,W. H., 1989.** Plantlet regeneration from in vitro culture of young spikes of wheat and its variation. *Acta horticulturae Sinica*. 3 (3): 129-136.

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Kahramanmaraş'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğreniminin bitimini takiben 1993 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü'nü kazanarak lisans öğrenimine başladı. 1997 yılında aynı bölümde lisans öğrenimini tamamlayarak mezun oldu. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi'nin 06/10/1997 tarihli Öğretmenlik Formasyonu Programını başarıyla tamamlayarak Öğretmenlik Meslek Bilgisi Sertifikasını aldı. Aynı yıl Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisansına başladı. Bununla birlikte Gaziantep Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi (GÜSEM)'in düzenlemiş olduğu İlköğretim Sınıf Öğretmenliği Sertifikası Programına katılarak İlköğretim Sınıf Öğretmenliği Sertifikasını aldı. Yüksek Lisansının ikinci yılında Kahramanmaraş Karaçocuk Biber Fabrikasında Üretimden Sorumlu Müdür olarak iş hayatı ile tanıştı. Kahramanmaraş Yaşar Dondurma ve Gıda Maddeleri A.Ş.' de Kalite Kontrol Şefi olarak görev yaptı. 04.01.2001 tarihinde Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandı. Halen Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Daktilograf olarak görev yapmaktadır.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM VE ARAŞTIRMA
DOKÜMANTASYON MERKEZİ