



T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ADİ YALANCIDARI (*Paspalum dilatatum* Poir.) BİTKİSİNİN
SOMATİK KROMOZOM SAYISININ BELİRLENMESİ VE GENÇ
SALKIMLARININ *İN VİTRO* KÜLTÜRDE EKSPANTAT OLARAK
KULLANILMA OLANAKLARI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA**

SEHER ÇAKIR

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HATAY
AĞUSTOS-2019



T.C.

HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ADİ YALANCIDARI (*Paspalum dilatatum* Poir.) BİTKİSİNİN SOMATİK
KROMOZOM SAYISININ BELİRLENMESİ VE GENÇ SALKIMLARININ
İN VİTRO KÜLTÜRDE EKSPANTAT OLARAK KULLANILMA
OLANAKLARI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA**

SEHER ÇAKIR

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**HATAY
AĞUSTOS-2019**

T.C.
HATAY MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ADİ YALANCIDARI (*Paspalum dilatatum* Poir.) BİTKİSİNİN SOMATİK
KROMOZOM SAYISININ BELİRLENMESİ VE GENÇ SALKIMLARININ
İN VİTRO KÜLTÜRDE EKSPANTAT OLARAK KULLANILMA
OLANAKLARI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA**

SEHER ÇAKIR

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Ersin CAN danışmanlığında hazırlanan bu tez **28/08/2019** tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **OYBİRLİĞİ** ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ersin CAN
Başkan

Prof. Dr. Nafiz ÇELİKTAŞ
Üye

Dr.Öğr.Üyesi Adem EROL
Üye

Kod No:

Prof. Dr. Erdal SERTKAYA
Enstitü Müdürü

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

28.08.2019

TEZ BİLDİRİMİ

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

SEHER ÇAKIR

ÖZET

ADİ YALANCIDARI (*Paspalum dilatatum* Poir.) BİTKİSİNİN SOMATİK KROMOZOM SAYISININ BELİRLENMESİ VE GENÇ SALKIMLARININ *İN VİTRO* KÜLTÜRDE EKSPANTAT OLARAK KULLANILMA OLANAKLARI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Bu araştırma, adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) bitkisinin somatik kromozom sayıları ve *In Vitro* kültür özelliklerinin saptanması amacıyla yapılmıştır.

Araştırma sonuçları, incelenen ekotiplerin $2n=4x=40$ kromozomlu olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada, 5 farklı adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipinden alınan genç salkım segmentlerinin farklı konsantrasyonlarda (2, 4, 6 ve 8 mg l⁻¹) 2,4,5-T (2,4,5-triklorofenoksiasetik asit) içeren MS ortamında kallus oluşum ve bitki rejenerasyon potansiyelleri incelenmiştir.

Araştırma sonuçları, kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonunun ekotiplere ve 2,4,5-T konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur. Ekotiplere bağlı olarak kallus oluşum oranı % 32.8 ile % 68.7, petri kutusu başına kallus ağırlığı 37.82 ile 113.4 mg ve petri kutusu başına gerçekleşen rejenerat sayısı 2.00 ile 8.06 arasında değişmiştir. En yüksek kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonu 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T konsantrasyonundan sağlanmıştır.

2019, 59 sayfa

Anahtar Kelimeler: Adi Yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.), Genç Salkım, *In Vitro* Kültür, Kromozom, Ekotip, 2,4,5-T

ABSTRACT

AN INVESTIGATION ON DETERMINATION OF SOMATIC CHROMOSOME NUMBERS AND ON THE POSSIBILITY OF USING YOUNG INFLORESCENCES OF DALLISGRAS (*Paspalum dilatatum* Poir) AS EXPLANTATE *IN VITRO* CULTURE

This study was conducted to determine the number of somatic chromosomes, morphological features and *In Vitro* culture capabilities of dallisgras (*Paspalum dilatatum* Poir). The results showed that ecotypes had $2n=4x=40$ chromosomes.

This study was conducted to determine the effects of genotype and 2,4,5-T (2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid) concentrations on the callus induction and plant regeneration from the young inflorescences of dallisgras (*Paspalum dilatatum* Poir). In the study, the segments of young inflorescences from six different ecotypes of dallisgrass were cultured on the MS-medium containing different concentrations of 2,4,5-T (2, 4, 6 and 8 mg l⁻¹).

The result of the study showed that the ecotypes were significantly different in callus induction ratio, callus weight per petri dishes and plant regeneration from the young inflorescences. Depending on the ecotypes, callus induction ratio varied from 32.8 % to 68,7 %, callus weight from 37.82 to 113.4 mg/petri dishes and number of regenerates per petri dishes from 2.00 to 8.06 regenerates. Callus induction ratio, callus weight and regeneration ratio were also significantly influenced by the concentrations of 2,4,5-T. The segments cultured on the MS-medium containing 6 mg l⁻¹ of 2,4,5-T gave the highest values of callus induction ratio, callus weigh and regeneration ratio.

2019, 59 pages

Key Words: Dallisgrass, Young Inflorescences, *In Vitro* Culture, Chromosome, Ecotype, 2,4,5-T

TEŞEKKÜR

Çalıőmamın her aőamasında yardımını esirgemeyen ve tez çalıőmam süresince bana yol gösteren danıőman hocam Sayın Prof. Dr. Ersin CAN' a en içten duylarımla teşekkür ederim.

Tez çalıőmalarım esnasında desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Nafiz ÇELİKTAŞ hocama, Sayın Arő. Gör. İbrahim ERTEKİN'e, Sayın Arő. Gör. Yusuf Ziya AYGÜNE'e, aileme ve eőime candan teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Sitolojik araştırmalarda kullanılan yöntemler.....	18
3.2.1.1. Kromozom sayımları için kök ucu örneklerinin alınması.....	18
3.2.1.2. Devamlı preparatların hazırlanması.....	20
3.2.2. <i>İn Vitro</i> kültür araştırmalarında kullanılan yöntemler.....	21
3.2.2.1. <i>İn Vitro</i> kültür araştırmalarında ele alınan varyantlar ve deneme planı.....	21
3.2.2.2. Kullanılan besi ortamlarının hazırlanması.....	21
3.2.2.2.1. Makro ve mikro elementlerin stok solüsyonlarının hazırlanması.....	21
3.2.2.2.2. Jelat (FeSO ₄ · 7H ₂ O ve Na ₂ EDTA) hazırlanması.....	22
3.2.2.2.3. Vitamin ve oksin stok solüsyonlarının hazırlanması.....	23
3.2.2.2.4. Stok solüsyonlardan yararlanarak besi ortamının hazırlanması.....	23
3.2.2.3. Ekplantaların sterilizasyonu ve kültüre alınmaları.....	24
3.2.2.4. Kallus indüksiyonu.....	24
3.2.2.5. Bitki rejenerasyonu.....	25
3.2.2.6. Rejeneratların geliştirilmesi.....	25
3.2.2.6. Araştırmada elde edilen verilerin değerlendirilmesi.....	26
4. ARAşTIRMA BULGULARI VE TARTIşMA.....	27
4.1. Sitolojik araştırma bulguları.....	27
4.2. <i>İn Vitro</i> kültür araştırmaları ile ilgili bulgular.....	28
4.2.1. Kallus indüksiyonu.....	28
4.2.1.1. Kallus oluşum oranı.....	31
4.2.1.1.1. Ekotipin kallus oluşumuna etkisi.....	32
4.2.1.1.2. Oksin konsantrasyonlarının kallus oluşumuna etkisi.....	33
4.2.1.1.3. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus oluşumuna etkisi.....	34
4.2.1.2. Kallus ağırlığı.....	36
4.2.1.2.1. Ekotipin kallus ağırlığına etkisi.....	37
4.2.1.2.2. Oksin konsantrasyonlarının kallus ağırlığına etkisi.....	38

4.2.1.2.3. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus ağırlığına etkisi	39
4.2.2. Bitki rejenerasyonu	42
4.2.2.1. Rejenerasyon oranı.....	45
4.2.2.1.1. Ekotipin rejenerasyon oranı etkisi.....	45
4.2.2.1.2. Oksin konsantrasyonlarının rejenerasyon oranına etkisi.....	47
4.2.2.1.3. Ekotipxoksin konsantrasyonlarının rejenerasyon oranına etkisi.....	48
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	51
KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	59



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kullanılan MS (Murashige ve Skoog, 1962) besi ortamı bileşimi	22
Çizelge 4.1. Farklı adi yalancıları ekotiperinde, oksin konsantrasyonlarının genç salkımlardan kallus oluşum oranına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları.....	32
Çizelge 4.2. Farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortalama kallus oluşum oranları (%) .	32
Çizelge 4.3. Farklı 2,4,5 T konsantrasyonlarının ortalama kallus oluşum oranına (%) etkisi.....	34
Çizelge 4.4. Farklı adi yalancıları ekotipleri ve 2,4,5 T konsantrasyonlarının ortalama kallus oluşum oranına etkisi (%)	35
Çizelge 4.5. Farklı adi yalancıları ekotiperinde, oksin konsantrasyonlarının genç salkımlardan oluşan kallus ağırlığına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları.....	37
Çizelge 4.6. Farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortalama kallus ağırlıkları (mg/petri) .	37
Çizelge 4.7. Farklı 2,4,5 T konsantrasyonlarının ortalama kallus ağırlıklarına etkisi (mg/petri)	39
Çizelge 4.8. Farklı adi yalancıları ekotipleri ve 2,4,5 T konsantrasyonlarının ortalama kallus ağırlıklarına etkisi (mg/petri)	40
Çizelge 4.9. Farklı adi yalancıları ekotiperinde, oksin konsantrasyonlarının genç salkımlardan oluşan bitki rejenerasyon oranına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları	45
Çizelge 4.10. Farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortalama rejenerasyon oranına etkisi (rejenerant/petri)	46
Çizelge 4.11. Farklı 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama rejenerasyon oranına etkisi (rejenerant/petri)	47
Çizelge 4.12. Farklı adi yalancıları ekotipleri ve 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama rejenerasyon oranına etkisi (rejenerant/petri)	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	$2n=4x=40$ kromozomlu adi yalancıdarı (<i>Paspalum dilatatum</i> Poir.) ekotipinde mitoz kromozomları	27
Şekil 4.2.	Adi yalancıdarı bitkisinin salkım segmentlerinin kültür kaplarına yerleştirilmesi (kültür başlangıcı).....	28
Şekil 4.3.	Adi yalancıdarı bitkisinin salkım segmentlerinde hafif bir kararmanın olduğu çiçek organlarında herhangi bir değişimin olmadığı (kültür başlangıcından 7 gün sonra).....	29
Şekil 4.4.	Adi yalancıdarı bitkisinin salkım segmentlerinin kesilme yerlerinde, salkım eksenlerinde ve başakçıklarda şişme (kültür başlangıcından 2 hafta sonra).....	30
Şekil 4.5.	Adi yalancıdarı bitkisinin salkım segmentlerinin kesim yerlerinde ve başakçıkların salkım eksenine bağlanma yerlerinde kallus oluşumu (kültür başlangıcından 5 hafta sonra).....	30
Şekil 4.6	Adi yalancıdarı bitkisinin salkım segmentlerinden meydana gelen kalluslar üzerinde somatik embriyo gelişimi. (kültür başlangıcından sekiz hafta sonra).....	31
Şekil 4.7	Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus oluşumuna etkisi.....	36
Şekil 4.8	Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus ağırlığına etkisi.....	41
Şekil 4.9.	Rejenerasyon ortamına aktarılacak hale gelmiş embriyogenik kalluslar (kültür başlangıcından 8 hafta sonra).....	42
Şekil 4.10.	Somatik embriyolardan bitki rejenerasyonu (kültür başlangıcından 9 hafta sonra).....	43
Şekil 4.11.	Işık koşullarında klorofil oluşturan bitkicikler (kültür başlangıcından 10 hafta sonra).....	43
Şekil 4.12.	Rejenerasyon ortamında 10 mm kadar boylanan bitkicikler (kültür başlangıcından 11 hafta sonra).....	44
Şekil 4.13.	Saksıda kardeşlenmiş olan rejenerat (kültür başlangıcından 16 hafta sonra).....	44
Şekil 4.14.	Ekotip x oksin konsantrasyonlarının etkisi rejenerasyon oranına etkisi.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
2,4,5-T	:(2,4,5-Triklorofenoksiasetik asit
2,4-D	: (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid)
AgNO ₃	:Gümüş nitrat
BAP	: 6-Benzylamino Purin
Dicamba	: (3,6-dikloro-2-methoksibenzoik asit)
IAA	: Indol-3-asetik asit
IBA	: Indol 3- butrik Asit
l	: Litre
LS	: Linsmaier ve Skoog Besi ortamı
mg	: Miligram
mg/l	: Miligram/Litre
ml	: Mililitre
MS	: Murashige ve Skoog Besi Ortamı
NAA	: Naftalen Asetik asit
Picloram	: (4- amino-3,5,6- trikloropiklonik asit)
Z	: Zeatin
α-monobromonaftalin:	alfamonobromonaftalin

1. GİRİŞ

Yenilenebilir doğal kaynak ekosistemleri akılcı ve bilinçli bir şekilde tekniğine uygun olarak kullanıldıklarında, insanoğluna yenilenemeyen doğal kaynaklara göre daha uzun süre hizmet edebilecek niteliğe sahiptirler (Tükel ve Hatipoğlu, 2017).

Beslenmemizin temeli olan hayvansal gıda maddeleri üretimine dair sorunlar, temelde hayvancılığın karşı karşıya kaldığı sorunlardan kaynaklanmaktadır. Kaliteli kaba yem üretimi sorunu ise ülkemiz hayvancılığının en önemli sorunlarından birisidir. Doğal çayır meralarımız ve yem bitkileri yetiştiriciliği hayvan yemi üretim kaynakları içinde çok önemli yer tutmasına rağmen, bu alanların kural dışı kullanımları sebebiyle bozulmuş ve gerçek işlevlerini yerine getiremeyecek duruma gelmişlerdir. 67 yılda 41 mil ha'dan 14.6 mil ha'a kadar düşmüştür (TUİK, 2018).

Bu önemli doğal kaynakların çeşitli sebeplerle esas işlevini kaybetmesi sonucu; yurdumuzda hayvan beslenmesi, verimleri azalmış doğal çayır-meralara, anızlara ve tahıl samanına dayanmıştır. Çayır-meraların yanlış kullanılması sonucunda üretilen yemlerin besin değeri ve miktarı azaldığı için hayvanların yararlanma potansiyeli de azalmış ve verimlerinde düşüş meydana gelmiştir. Yem bitkileri sorunun çözümüne kaba yem kaynaklarının tekrar hayata geçirilerek başlanmalıdır. Türkiye'nin en önemli bu doğal kaynakların yeniden ıslah edilerek otlatma kapasitelerinin artırılması zorunludur (Özkan ve Şahin Demirbağ, 2016).

Ülke genelinde olduğu gibi bölgedeki meralarda yıllardan beri süregelen yanlış kullanımlar sonucu verimsiz hale gelmiştir. Ülkemiz çayır-meralarının içinde bulunduğu bu durum, toprak ve su kaynaklarımızı da olumsuz yönde etkilemektedir.

Ülkemizin en önemli yenilenebilir doğal kaynaklarımız olan çayır-meralarımızın bu durumdan kurtulabilmesi için uygun ıslah yöntemleri ile ıslah edilerek yeniden bol ve kaliteli yem üretir duruma getirilmeleri zorunludur.

Ülkemiz meralarında, dinlendirme veya gübreleme gibi kısa süre içinde sonuç verecek yöntemlerin başarılı olmadığı (Altın, 1975; Alınoğlu, 1984; Alınoğlu ve Mülayim, 1984; Tükel ve Hatipoğlu, 1987), buna karşılık; şartların elverişli olduğu yerlerde bu alanların tekrar tohumlanarak, bölgenin iklim ve toprak koşullarına adapte olmuş yem bitkileri karışımlarının ekilmesinin daha başarılı olduğu ortaya çıkmıştır (Tosun ve ark., 1975).

Yeniden tohumlama yöntemi ile mera ıslahı ve tarla yem bitkileri yetiştirme alanlarının genişletilebilmesi için muhtelif ekolojik bölgelerimiz için adapte olduğu saptanmış bol ve kaliteli yem üreten yem bitkisi tür ve çeşitlerinin yeterli miktarlarda tohumlarının üretilmesi gerekmektedir.

Bugün ülkemizde yapılan yem bitkisi araştırmalarına rağmen, farklı ekolojik özellikler gösteren bölgelerimizin uygun yem bitkisi türlerini ve bunların tohumlarını bulmak oldukça güçtür. Bunun için herşeyden önce farklı ekolojik bölgelerimiz için kullanılabilir yem bitkisi tür ve çeşitlerinin ortaya saptanması ve yeterli miktarda tohumlarının üretilmesi gerekmektedir.

Ülkemizin değişik bölgelere adapte olmuş yem bitkisi tür ve çeşitlerinin ortaya konulmasında, vejetasyonda bulunan yabancı türler, mevcut çeşitler ve dış kaynaklı materyalden yararlanmak mümkündür. Birçok yem bitkisinin anavatanı olan ülkemiz, yem bitkisi ıslahında kullanılabilir yabancı yem bitkisi popülasyonları açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Yüksek verimli yem bitkisi popülasyonlarından yararlanma, bu bitkilerin söz konusu bölgenin ekolojik koşullarına çok iyi adapte olması nedeni ile çok iyi bir avantaj sağlar.

Bölgemizde yem bitkisi ıslahında kullanılabilir adi yalancıcı (*Paspalum dilatatum* Poir.) bitkisidir. Yaklaşık 400 türü bulunan *Paspalum* L. cinsinin esas gen merkezi Brezilya, Arjantin, Küba, Uruguay, Paraguay gibi Güney Amerika ülkeleridir. Adi yalancıcı (*Paspalum dilatatum* Poir.) dik büyüyen ve yumak meydana getiren ve aynı türler içinde soğuğa en dayanıklı olan bitkidir. Mera kurulumunda kullanıldığı gibi, slaj yemi olarak da değerlendirilir. Çok tohum oluşturmaya rağmen, tohum çimlenme gücü çok zayıftır. (Tosun, 1974).

Bugün *Paspalum* L. bitkisi doğal yayılım alanlarından tropik ve subtropik alanlara taşınmıştır. İyi bir sıcak mevsim buğdaygil yem bitkisi olup, özellikle mera tesislerinde kullanılır (Çınar ve Hatipoğlu, 2014). Otlamaya dayanıklıdır. Çiçeklenme öncesinde lezzetli olmasına rağmen çiçeklenme sonrası ortaya çıkan ergot mantarı bitkinin hayvanlar tarafından sevilerek yenmesini düşürür (Cook ve ark., 2005). Türkiye’de özellikle Akdeniz sahillerinde mera karışımları için önerilen bir türdür (Çınar ve ark., 2014).

Subtropik bölgelerin önemli bir yembitkisi olan adi yalancı darı bitkisi birkaç seksüel tetraploidler ile apomiktik olan (penta ve hexaploid) gibi biyotiplerden oluşur (Casa ve ark., 2002).

Adi yalancıdarı bitkisinin özellikle penta ve heksaploid türlerinin apomiktik üreme biyolojisi göstermesi bitkide istenmeyen karakterlerinin klasik ıslah yöntemleri ile ıslahında güçlükleri ortaya çıkarmaktadır.

Özellikle son yıllarda bu bitkilerde ıslah sürecinin kısaltılabilmesi ve istenen karakterlerin bir geneotipte toplanması için in-vitro kültür tekniklerinin kullanılmasına yönelik uluslararası alanda yoğun çabalar bulunmaktadır. Özellikle bu bitkilerin ıslahında in-vitro kültür teknikleri ile varyasyon oluşturulması, istenilen edilen varyantların kolay selekte edilmesi ve hızlı bir şekilde çoğaltılması konusu üzerinde durulmaktadır (Ahlowalia, 1984).

Buğdaygil yembitkilerinde in-vitro kültür tekniklerinin uygulanmasına yönelik araştırmalar 1950'li yıllarda başlamış olmasına karşılık, 1970'li yıllara kadar önemli bir başarı elde edilememiştir (Vasil ve Vasil, 1986). Son zamanlarda farklılaşmamış meristem hücrelerini içeren doku ve organların in-vitro kültürde eksplantat olarak kullanılması ve besi ortamlarına ilave edilen farklı büyüme düzenleyicileri ile büyük gelişmeler sağlanmıştır. Bugüne kadar sürdürülen araştırmalarda 50' den fazla buğdaygil yembitkisi türü için uygun eksplantat-kallus-rejenerat sistemi geliştirilmiştir. Bu türler arasında *Paspalum* cisine ait türler de bulunmaktadır. Nitekim *Paspalum dilatatum* P. bitkisinin genç salkımlarından elde edilen embriyogenik kalluslardan süspansiyon kültürlerinin oluşturulduğu ve bu süspansiyon kültürlerden izole edilen protoplastlardan bitki rejenerasyonunun gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Akashi ve Adachi, 1992).

Elde edilen bu başarılı sonuçlara karşılık, diğer buğdaygil yembitkilerinde olduğu gibi *Paspalum dilatatum* P. bitkisinde de birçok problem mevcuttur. Her şeyden önce, bir türün farklı genotipleri in-vitro kültürde farklı sonuçlar vermekte, bir genotip için uygun olduğu saptanan kültür koşulları diğer bir genotipte aynı derecede başarılı olamamaktadır (Dale, 1980; Hatipoğlu, 1991).

Bu araştırmada; çok önemli sıcak mevsim yembitkisi olan adi yalancıdarı bitkisinin somatik kromozom sayısının belirlenmesi, in-vitro kültürde genç çiçek salkımlarının eksplantat olarak kullanılması, rejenera olabilir kallus kültürlerinin elde edilmesi ile in-vitro kültür olanaklarından yararlanma imkanları amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Hill ve Myers (1945), boyamadan evvel yapılan hidroliz için gereken zamanın materyale göre değişiklik gösterdiğini, domuz ayrığı (*Dactylis glomerata*) bitkisinde 23 ile 25 dakikanın optimum bir hidroliz süresi olduğu halde, yüksek çayır yumağı (*Festuca elatior*) bitkisinde 30 dakikalık sürenin daha iyi boyama sağladığını bildirmektedirler

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

O' Mara (1948), da alfa-monobromonaftalin ve alfa-monobromobenzeni ilk işlem için kullanmış ve bu kimyasal maddelerin paradiklorobenzen ve asetonaftenden daha kolay bir şekilde kullanıldıklarını ortaya koymuştur. Bu maddelerin kromozomların kısalması ve düzleşmesi suretiyle onların sağlıklı sayımına ve büyüklüklerinin kıyasına imkan vermek bakımından en az diğer maddeler kadar etkili olduğunu belirtmiştir. Ayrıca, alfa-monobromonaftalinin paradiklorobenzen ve asetonaftenden daha kolay bir şekilde kullanıldığını ve iğ ipliklerinin oluşumunu durdurduğunu, kromozomların kısalmasına ve düzelmesine etki ettiğini bildirmiştir.

Sass (1951), asetokarmin ile kromozomların boyama tekniğini, asetokarmin hazırlanması yöntemini ve kromozom sayımı ile metafaz kromozomlarının morfolojilerini tespit etmede kök uçlarından preparat hazırlanması konusunda bilgiler sunmuştur.

Carnahan ve Hill (1961), *Bothriochloa ischaemum* ve *Themeda triandra* türlerinin apomiktik türler olduğunu ve bu nedenle bu türlerde somatik kromozom sayısının değişken olduğunu, bu türler üzerinde sürdürülen sitolojik araştırmalarda *Bothriochloa ischaemum* için $2n=40-60$, *Themeda triandra* için ise $2n=20-80$ arasında değişen kromozom sayıları saptadığını bildirmektedir.

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

Chen ve ark. (1977), büyük sakalotu (*Andropogon gerardi*) bitkisinde yaptıkları araştırmalarda, genç salkımlardan oluşan kallus ağırlığının besi ortamına ilave edilen 5 μM 'a kadar olan 2,4-D konsantrasyonlarında konsantrasyon arttıkça artış gösterdiğini, daha yüksek konsantrasyonlarda kallus ağırlığının azaldığını belirtmişlerdir.

Conger ve ark. (1978), domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.), embriyolarıyla sürdürdükleri araştırmalarda besi ortamındaki 2,4-D konsantrasyonunun 20 μM 'a kadar

arttırıldığında kallus ağırlığında artış olduğunu, 20 µM' dan daha yüksek 2,4-D konsantrasyonlarının kallus ağırlığında azalmaya neden olduğunu saptamışlardır.

Brettel ve Ark. (1980), sorgum (*Sorghum bicolor*) bitkisinde genç salkımlardan kallus oluşum oranının, salkım uzunluğuna bağlı olarak önemli derecede değiştiğini, en yüksek kallus oluşum oranının 10-20 mm' lik salkımlardan elde edildiğini saptamışlardır

Nakamura ve Keller (1982), farklı triticale genotipleriyle sürdürdükleri araştırmalarda, genç başaklardan oluşan rejenere olabilir kallus oranının genotiplere bağlı olarak çok farklılık gösterdiğini ve besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T konsantrasyonlarının kallus oluşumu üzerine etkisinin genotipe bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuşlardır

Dale ve Dalton (1983), ingiliz çimi (*Lolium perenne* L.), italyan çimi (*Lolium multiflorum* L.), *Lolium multiflorum x Festuca pratensis*, *Lolium multiflorum x Lolium perenne*, *Festuca pratensis*, *Festuca arundinacea*, *Phleum pratense*, *Dactylis glomerata* gibi sekiz farklı buğdaygil tür ve melezlerinin genç salkımlarıyla sürdürdükleri araştırmalarda, salkımlar kültüre alındıktan 4 hafta sonra çiçek primordialarından çiçek yerine çok sayıda sürgünün oluştuğunu, *Dactylis glomerata* L. bitkisinde salkım başına ortalama 24,8 bitki elde edilebildiğini saptamışlardır. Araştırmacılar salkımlarda çiçek primordialarından sürgün oluşumunu vivipari olarak nitelendirmekte ve bu olayın özellikle çevre koşullarının etkisiyle doğada da ortaya çıktığını bildirmektedirler. Araştırmacılar, elde edilen rejeneratların fenotip ve kromozom sayısı açısından normal olduğunu saptamışlardır.

Maddock ve ark. (1983), farklı buğday genotipleri üzerinde sürdürdükleri araştırmalarda genç başaklardan kallus oluşturma oranlarının genotipe bağlı olarak değiştiğini ve oluşan rejenerantlarda fenotipik varyasyon gözlemlendiğini bildirmektedirler.

Ahlowalia (1984), bugün bilinen klasik ıslah yöntemleriyle bir buğdaygil yembitkisi çeşidinin ıslahının 15-20 yıl devam ettiğini bildirmektedir. Araştırmacı biyoteknolojik yöntemlerin kullanılmasıyla bu ıslah sürecinin kısaltılabileceğini, özellikle varyantların ortaya çıkartılması ve arzu edilen varyantların seleksiyonunda biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılabileceğini bildirmektedir.

Ahn ve ark. (1985), köpekdişi ayrığı (*Cynodon dactylon*) bitkisinin genç salkımlarıyla sürdürdükleri araştırmalarda 0,5 cm uzunluğundaki salkım parçalarından 4 haftalık bir kültür sonucunda 12,8 mg ile 128,2 mg arasında değişen kallus ağırlıkları elde

etmişlerdir.

Marsolais ve Kasha (1985), "Elrose" arpa çeşidi ile yaptıkları anter kültürü çalışmasında, ficol 400 ilavesi ile hazırlanmış sıvı BAC1 ortamında % 9 ve %12 'lik sakkaroz içeren varyantların her ikisinde de artan 2,4-D konsantrasyonlarında reaksiyon gösteren anter ve toplam kallus yüzdesinin arttığını, fakat embriyogenik kallus / sulu yapıdaki kallus oranındaki değişimin net olmadığını, % 9 sakkaroz ve en yüksek 2,4-D konsantrasyonu (8 mg/l) ile oluşturulan kombinasyonunun 284 anterden, % 26,1 oranında toplam reaksiyon ve %10,9 embriyogenik ve % 61,4 embriyogenik olmayan, sulu yapıda kallus oluşturarak en iyi sonucu verdiğini, indüksiyonun 10. gününde alt kültür ortamıyla yenilenen ortamda aynı kombinasyonun tekrarlanması durumunda en düşük reaksiyonun (% 6,2) gerçekleştiğini, %3 sakkaroz ve 1 mg/l IAA kullanılması durumunda ise % 50,2 oranında embriyogenik kallus oluşurken, embriyogenik olmayan kallus oranının % 16,8 olduğunu, alt kültür ortamında artan 2,4-D konsantrasyonlarında embriyogenik kallus / sulu yapıdaki kallus oranının azaldığını saptamış ve sulu yapıdaki kallusların rejenerasyon kabiliyetlerinin çok zayıf olduğunu bildirmişlerdir.

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

Bovo ve Mroginski (1986), farklı yalancıları (*Paspalum*) türleriyle sürdürdükleri araştırmalarda genç salkımlar kültüre alındığında bu salkımların 3-8 gün içinde kahverengi bir hal aldığını, başakcıklarda şişme ortaya çıktığını ve 8. Gün sonunda salkım parçalarının kesilme yerlerinde kallus oluşumunun ortaya çıktığını gözlemişlerdir.

Rhodes ve ark. (1986), sürdürdükleri araştırmalarda genç mısır (*Zea mays* L.) salkımlarından kallus oluşumunun genetik kontrol altında olduğunu bildirmişlerdir.

Vasil ve Vasil (1986), buğdaygil yem bitkilerinde biyoteknolojik yöntemlerin kullanılmasına yönelik araştırmaların 1950'li yıllarda başladığını ancak bu araştırmaların 1970' e kadar başarısız olduğunu bildirmektedirler.

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

Ahn ve ark. (1987), farklı köpekdişi ayrığı (*Cynodon dactylon* L.) çeşitleriyle sürdürdükleri araştırmalarda genç salkımlardan kallus oluşum oranının genotipe bağlı

olarak önemli farklılıklar gösterdiğini saptamışlardır.

Metzinger ve ark. (1987), *Bothriochloa ischaemum*' un A8793 ve A8911c, ve *Bothriochloa intermedia*' nin A8873b ve 8894d genotiplerinde kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyonunu araştırdıkları çalışmalarında; genotiplere ait genç salkımların 2-5 mm segmentlerini ekplantat olarak kullanmışlar, 5 mg/l 2,4-D, 30 g/l sakkaroz, 7 g/l T.C. agar içeren LS ortamında ve 0.5 mg/l 2,4-D, 3.2 mg/l IAA, 1mg/l kinetin, 15 g/l sakkaroz ve 5 g/l agar içeren MS ortamında kültür etmişlerdir. Araştırmacılar, her iki ortamda da beyaz kompakt yapıda embriyogenik ve sulumsu yapıda embriyogenik olmayan kallusların oluştuğunu, embriyogenik kalluslardan sürgün oluşumunun başladığını, genotip x ekplantat x ortam kompozisyonunun kallus ve bitki rejenerasyonunu etkilediğini bildirmektedirler.

Artunduaga ve ark. (1988), *Bothriochloa ischaemum* (A-8793 ve A-8911c) ve *Cynodon dactylon* (L.) Pers (A-10978b, A 12164 ve Brazos) çeşitlerinin genç salkımları ile sürdürdükleri araştırmalarda; eksplantatları 0, 1, 3 ve 5 mg/l 2,4-D içeren modifiye edilmiş MS ortamında kültür ettiklerini, bütün eksplantatlardan 4 hafta sonra kallus oluştuğunu, 3 mg/l 2,4-D uygulamasının *Bothriochloa ischaemum*' un iki çeşidinde de embriyogenik kallus oluşumunu artırırken, *Cynodon dactylon* bitkisinin sadece iki çeşidinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, maksimum embriyogenik kallus oluşumunun *Cynodon dactylon* bitkisinin Brazos çeşidinden elde edildiğini, ancak diğer çeşitlerden rejenerasyon sağlanmasına karşın, Brasoz çeşidinden rejenerasyon gerçekleşmediğini bildirmektedirler.

Lörz ve ark. (1988), buğdaygil bitkilerinde kallus oluşturulması ve kallustan bitki rejenerasyonunun kullanılan explantata, genotipe, donör bitkilerin fizyolojik durumuna, besi ortamının bileşimine ve kültür koşullarına bağlı olduğunu bildirmektedirler.

Molenaar ve ark. (1988), tek yıllık ve çok yıllık çim bitkileri üzerinde sürdürdükleri araştırmalarda genç salkımlardan kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunun genotipe bağlı olarak büyük farklılıklar gösterdiğini, farklı 2,4-D konsantrasyonlarının kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna etkisinin genotipe bağlı olarak değiştiğini bildirmektedirler.

Gland ve Hatipoğlu (1989), farklı *Hyparrhenia hirta* L. ekotipleri ile sürdürdükleri araştırmalarda; genç salkımlardan kallus indüksiyon oranının ekotiplere bağlı olarak % 13.3 ile % 55.6 arasında, kallus ağırlığının 4.4 ile 68.7 mg/ petri arasında

ve rejenerasyon oranının % 4.4 ile % 162.2 arasında değiştiğini saptamışlardır. Araştırıcılar; kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının besi ortamına ilave edilen büyüme düzenleyicisinin cinsine ve konsantrasyonuna bağlı olarak da önemli derecede farklılık gösterdiğini, en yüksek kallus indüksiyon oranı (% 41.3) ve rejenerasyon oranının (% 130) 2,4-D içeren ortamda kültür edilen salkımlardan, en yüksek kallus ağırlığının (46.64 mg/petri) ise dicamba içeren ortamda kültür edilen salkımlardan elde edildiğini, ortamdaki 2,4-D içeriğinin 5 mg/l' ye kadar yükseltilmesi ile kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranında artış olmasına karşılık, dicamba ve picloram içeren ortamlarda konsantrasyonun 10 mg/l' ye kadar arttırılmasının kallus indüksiyonu, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranında artışa neden olduğunu bildirmektedirler.

Pareddy ve Petolino (1990), farklı mısır (*Zea mays* L. spp.) genotipiyle sürdürdükleri araştırmalarda genç salkımlardan kallus oluşum oranlarının genotiplere bağlı olarak önemli derecede değiştiğini saptamışlardır.

Eizenga ve Dahleen (1991), farklı yüksek çayır yumağı (*Festuca pratensis* L.) genotiplerinin genç salkımlarıyla sürdürdükleri araştırmalarda genç salkımlardan kallus oluşma oranının genotiplere bağlı olarak önemli derecede değiştiğini, besi ortamına ilave edilen 2,4-D ve 2,4,5-T gibi auxinlerin kallus oluşturma oranında önemli bir farklılık meydana getirmediğini, oluşun rejenerantların herhangi bir varyasyon göstermediğini saptamışlardır.

Hatipoğlu (1991), farklı domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) ekotipleri üzerinde sürdürdüğü araştırmalarda genç salkımlardan kallus indüksiyon oranı, sürgün indüksiyon oranı ve bitki rejenerasyon oranı açısından genotipler arasında önemli farklılıklar bulunduğunu, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4-D konsantrasyonlarının kallus indüksiyon oranına etkisinin genotiplere bağlı olarak önemli derecede değiştiğini, düşük 2,4-D konsantrasyonlarında rejenerasyon oranının daha yüksek olduğunu ve elde edilen rejeneratlarda herhangi bir fenotipik ve kromozom sayısı sapmasının ortaya çıkmadığını saptamıştır.

Akashi ve Adachi (1992), adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* P.) bitkisinin genç salkımlarıyla sürdürdükleri araştırmalarda en yüksek kallus oluşturma oranını MS ortamına ilave edilen 10 mg 2,4-D ile elde etmişlerdir.

Burson (1992), *Paspalum cromoerhizon* Trin. ($2n = 2x = 20$), *P. indecorum* Mez ($2n = 2x = 20$), ve *P. laxum* Lam. ($2n = 6x = 60$) türlerini *P. dilatatum* Poir. ($2n = 4x = 40$) türü ile melezlendiğini, tüm hibritlerde mayoz bölünmede düzensizliklerin olduğunu, 12 *P. dilatatum* x *P. cromoerhizon* hibridinin kromozom sayısının $2n = 3x = 30$ olduğunu, yedi *P. dilatatum* x *P. indecorum* hibridinin 30 kromozoma sahip olduğunu, üç *P. dilatatum* x *P. laxum* hibridinin ise 50 kromozomlu olduğunu bildirmektedir.

Özcan ve ark. (1992), bezelye (*Pisum sativum* L.)'de olgunlaşmamış kotiledonların farklı bölgelerini eksplant olarak kullandıklarını ve 0,5 mg/l BAP ve 4 mg/l NAA içeren MS besi ortamında kültür ettiklerini, kallus oluşumu sonrasında sürgün oluşumunun başladığını, kotiledonların embriyonik uç kısımları ile, bu kısmı ve hemen altındaki kotiledon bölgesini içeren eksplantların en fazla sürgün oluşturduğunu, embriyonik ucun alınmaması durumunda sürgün oluşumunun gerçekleşmediğini, ortama ilave edilen gümüş nitrat ($AgNO_3$)'ın sürgün sayısında değil, fakat sürgün kalitesinde etkili olduğunu, rejenere olan sürgünlerin 1 mg/l IBA içeren $\frac{1}{2}$ MS ortamında %80-90 oranında köklendiklerini saptamışlardır.

Hatipoğlu ve ark. (1993), *Hyparrhenia hirta* L. bitkisinde sürdürdükleri araştırmalarda; genç salkımlardan kallus indüksiyon oranının ekotiplere bağlı olarak % 10.4 ile % 57.8, kallus ağırlığının 10.7 ile 134.9 mg/ petri ve salkım segmenti başına rejenerat sayısının 0.20 ile 0.53 arasında değiştiğini, ekotiplerin kromozom sayısının kallus indüksiyonu ve kallus ağırlığına etkisinin önemsiz olduğunu, dicamba içeren ortamda kültür edilen salkımlardan 2,4-D içeren ortamda kültür edilenlere göre daha yüksek kallus ağırlığı elde edilmesine karşılık, 2,4-D içeren ortamda kültür edilen salkımlarda salkım segmenti başına dicamba içeren ortamdakine göre daha yüksek rejenerasyon oranı elde edildiğini, oksin çeşitlerinin kallus indüksiyonuna etkisinin ekotiplere bağlı olarak farklılık gösterdiğini bildirmektedirler.

Özcan ve ark. (1993), bezelye (*Pisum sativum*)'de olgunlaşmamış kotiledon eksplantlarından bitki rejenerasyonu ve somatik embriyogenesis gerçekleştirmenin hızlı bir yöntemini tarif ettikleri çalışmalarında, kotiledon boyutları ve ortama yerleştirilme şekillerinin direk rejenerasyonda oldukça önemli olduğunu, en yüksek bitki rejenerasyonunun 7-8 mm boyutundaki yeşil kotiledonların kesim bölgelerinden besi ortamına yerleştirilmeleri durumunda sağlandığını ve elde edilen sürgünlerin %80-90 oranında köklendiğini, somatik embriyoların modifiye edilmiş MS ortamında, 27-215 μM

α -naftalasetik asit ve 23-181 μ M oranlarında 2,4-diklorofenoksiasetik asit ilavesi ile gerçekleştiğini, ancak en yüksek ve normal morfolojili somatik embriyo frekansının α -naftalasetik asit kullanılması ile gerçekleştiğini saptamışlardır.

Can ve ark. (1994), 10 farklı domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) klonlarından alınan genç salkım segmentlerinin 2,4-D içeren LS ortamında kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyon potansiyellerini inceledikleri araştırmada; kallus indüksiyonu ve petri kutusu başına kallus ağırlığının klonlara bağlı olarak önemli derecede değiştiğini, sürgün indüksiyonu ve rejenerasyon oranı açısından klonlar arasında önemli bir farklılığın ortaya çıkmadığını, klonlara bağlı olarak besi ortamına konulan salkım segmenti başına 0.109 ile 1.266 arasında değişen sayılarda bitkicik elde edildiğini, sürgün indüksiyon oranının 2,4-D konsantrasyonlarından önemli derecede etkilendiğini, 2,4-D konsantrasyonlarının kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranında önemli bir farklılık yaratmadığını, salkım segmentlerinden direk sürgün indüksiyonu için ortama 2.5 mg/l 2,4-D ilave edilmesi gerektiğini bildirmişlerdir.

Denchev ve Conger (1994), *Panicum virgatum* bitkisinin dokularından kolaylıkla rejenerasyonun sağlanacağı yöntemleri geliştirmek amacıyla yaptıkları araştırmalarda; Alamo çeşidinin olgun karyopsis ve genç yapraklarından alınan ekplantaları, 2,4-D ve BAP içeren MS ortamında kültüre aldıklarını, olgun karyopsisler için 45 μ M, genç yapraklar için de 5 μ M BA konsantrasyonlarının 22.5 μ M 2,4-D içeren MS besi ortamında hem organogenesis hem de somatik embriyogenesis yoluyla yüksek frekansta bitki rejenerasyonuna neden olduğunu bildirmektedirler.

Hatipoğlu ve Doğramacı (1995), 10 ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) hattından yaptıkları anter kültürü çalışmalarında iki farklı besi ortamı (85D12 ve P2) ve üç farklı katılaştırma maddesinde (agar, buğday ve mısır nişastası) kültüre etmişlerdir. reaksiyon gösteren anter ve rejenerasyon oranının yüksek oranda genotip, besi ortamı ve besi ortamı katılaştırma maddesinin etkisi altında olduğunu, hem reaksiyon gösteren anter oranı, hem de rejenerasyon oranı açısından P2 ortamının 85D12 ortamına göre daha üstün olduğunu ve rejenerasyon oranlarının agar ve buğday nişastasında benzer ancak bunların mısır nişastasından istatistiki olarak yüksek olduğunu bildirmektedirler.

Özcan ve ark. (1996). korunga (*Onobrychis viciifolia*)'da döllenen yaklaşık 15 gün sonra hasat edilen tohumlardan olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo parçalarını MS besi ortamında kültüre aldıklarını ve farklı konsantrasyonlardaki BAP ve NAA'nın

direk sürgün oluşumuna yol açtığını, en yüksek sürgün oluşumunun 0.5 mg/l BAP ve 2 mg/l NAA içeren ortamda öncelikle bir kallus aşaması sonrasında oluştuğunu, olgunlaşmamış embriyo parçalarının, kotiledon eksplantlarına oranla daha yüksek sürgün oluşturma kapasitesine sahip olduğunu, rejeneren olan sürgünlerin 1 mg/l IBA (%54) veya 1 mg/l NAA(%60) içeren ½ MS ortamına aktarılarak köklendirildiklerini, IBA içeren ortamda köklenme direkt olarak olurken, NAA içeren ortamda köklenmenin bir kallus fazı sonrasında gerçekleştiğini saptamışlardır.

Çelikaş ve Hatipoğlu (1997), 9 yazlık durulmuş arpa hattı ve çeşidi üzerinde sürdürdükleri anter kültürü araştırmalarında; anterleri 0, 7, 14, 21 ve 28 gün sürelerle +4 °C'de ön muameleye tabii tuttıklarını ve bu uygulama süreleri sonunda farklı derişimlerde (2, 4, 6 ve 8 mg/l) 2,4-D içeren N6 ortamında kültür ettiklerini, tepki gösteren anter oranının büyük ölçüde genotipik etki altında olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar, genotipe bağlı olarak ortalama anter tepki oranının % 0.00 ile % 1.313 arasında değiştiğini, tepki gösteren anter oranı açısından 14 günlük sürenin en ideal soğuk ön muamele süresi olduğunu, incelenen 2,4-D derişimlerinin anter tepki oranına etkilerinin birbirinden farklı olmadığını bildirmektedirler.

Can ve ark. (2000), 6 farklı adi yalancı darı ekotipinin genç çiçek salkım segmentlerini MS besi ortamında ve farklı 2,4-D içeren oksin konsantrasyonlarda (2, 4, 6, 8, ve 10 mg/l) kültür ettiklerini, kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonunun ekotiplere ve 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini ortaya koymuşlardır. kallus indüksiyon oranı % 17.5 ile % 65, petri kutusu başına kallus ağırlığı 75.25 ile 365.1 mg ve salkım segmenti başına gerçekleşen rejenerant sayısı 0.263 ile 1.612 arasında ekotiplere bağlı olarak değiştiğini. En yüksek kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonunun 6 mg/l 2,4-D oksin konsantrasyonundan sağlandığını saptamışlardır.

Can ve Hatipoğlu (2000), 15 Sarı Sakalotu (*Bothriocloa ischaemum* (L.) Keng) ekotipinin genç salkımlarından kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna etkisini belirleme sürdürdükleri çalışmada; farklı besi ortamı, oksin çeşidi ve konsantrasyonlarının kallus oluşturma, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonunu önemli ölçüde etkilediğini, kallus oluşum oranını ekotiplere bağlı olarak % 9.7 ile % 51.6 arasında, petri kutusu başına kallus ağırlığının 96.6 ile 414.6 mg arasında ve salkım segmenti başına rejeneren olan bitkicik sayısı 0.0 ile 2.2 arasında değiştiğini, kallus

oluşturma, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyon oranı bakımından LS besi ortamının SH besi ortamından daha üstün olduğunu, 2,4-D oksin içeren ortamda kültür edilen salkımların dicamba içeren ortamda kültür edilenlere oranla daha yüksek kallus oluşturma oranı ve kallus ağırlığı verirken, dicamba içeren ortamdan daha yüksek oranda bitki rejenerasyon oranı gerçekleştiği saptanmıştır. Kallus oluşturma oranı ve kallus ağırlığı bakımından 4 mg/l 2,4-D konsantrasyonu daha üstün olurken, 8 mg/l'lik dicamba konsantrasyonu en yüksek bitki rejenerasyon oranını oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Çelikaş (2001), korunga (*Onobrychis sativa* L.) bitkisinde genotip, eksplantat, oksin çeşit ve konsantrasyonu ile sitokinin çeşit ve konsantrasyonunun in-vitro rejenerasyon üzerine etkilerinin saptanması ile yaptığı çalışmada, kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyonunun genotip, eksplantat, oksin çeşidi ve konsantrasyonu ve sitokinin çeşit ve konsantrasyonundan önemli derecede etkilendiğini bildirmiştir.

Molinari ve ark. (2001), bu çalışmanın amacının, transformasyon yoluyla apomiktik genotiplerden (*Paspalum simplex*) izole edilen dizilerin apomiksisle ilişkilerini test ederek, bu türlerin seksüel ve apomiktik hatlarından bitki rejenerasyonu için bir yöntem geliştirmek olduğunu, hızlı ve etkili bir rejenerasyon için, aseptik ve kontrollü koşullarda büyütülen 10 günlük fidelerden elde edilen hipokotil disklerinin en iyi sonucu verdiğini, kallus oluşumu için en iyi besi ortamının, Thiamin -HCL 4 mg/L, Myoinositol 100 mg/l, şeker 30 mg/L, 8 gr/l katılaştırıcı agar ve 2 mg/l 2,4-D ve 0.05 mg/l kinetin içeren MS besi ortamı olduğunu, kallus oluşum ortamındaki kültürlerden 6 hafta sonra kallus yüzeylerinde erken rejenerasyon sürgünlerinin meydana geldiğini ve iki hafta sonra bu yapılardan, NAA 0.5 mg /L ve 6-BAP 2 mg /l ortamlarına alınmadan iyi gelişen sürgünler meydana geldiğini, oluşan bu sürgünlerden iki hafta sonra aynı ortamda bitki büyüme düzenleyicisi olmaksızın iyi bir kök sistemi geliştiğini bildirmişlerdir

Ramgareeb ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada, köpekdişi ayrığı (*Cynodon dactylon*) bitkisinin genç yapraklarını, 3 mg/l 2,4-D içeren MS besi ortamında kültür ettiklerini ve ürettikleri embriyogenik kallustan 14 hafta içinde 40 bitkicik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Vikrant ve rashid (2001), *Paspalum scrobulatum* L. PSC-1 çeşidinin olgun olmayan çiçek durumunun başakçık eksenleri üzerinde, yüksek frekanslı direkt somatik embriyogenesisin (sırasıyla %34 ve % 30) 9.0 µM 2,4-D içeren MS ortamında ve 4.5 µM 2,4-D içeren N6 ortamında sağlandığını, çiçek primordiası dışındaki diğer bitki

dokularının, kallus oluşumundan sonra indirekt olarak somatik embriyolar verdiğini, % 0.5'lik aktif karbon içeren temel besi ortamında 1 hafta inkübe edilen somatik embriyoların, aktif karbon içermeyen ortama alındığında, yüksek bir rejenerasyon potansiyeline sahip olduğunu ilk defa ortaya koyduklarını bildirmişlerdir.

Magali ve ark. (2002), *Paspalum notatum* Flügge. bitkisinin Tifton 9 çeşidinin tohumlarından bitki rejenerasyonu ve embriyonik kallus oluşumu için, 30 µM dicamba ve 5 µM (BA) içeren MS besi ortamında kültüre alındığını ve en iyi kallus oluşumu ile büyümenin gözlemlendiğini, dış ortamda yetiştirilen 9734 tohumdan, % 65.7 çimlendiğini ve bu ortamda % 21.4'ünün embriyonik kallus oluşturduğunu, üretilen embriyonik kallusların mikro partikül bombardıman tekniğine uygun olduğunu, bu ortamda oluşan embriyonik kallusların, 1 µM GA3 ve 5 µM BA ilave edilen MS ortamına aktarıldığında en iyi sürgün oluşumunun sağlandığını, oluşan sürgünlerin hormonsuz SH ortamına aktarıldığında iyi bir kök gelişimi meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Can ve ark. (2004), farklı *Lolium perenne* genotiplerinin genç çiçek salkımlarından LS besi ortamında 4 farklı (2.5, 5, 7.5 and 10 mg l⁻¹) dicamba oksin konsantrasyonlarının araştırıldığı çalışmada, kallus indüksiyon, kallusu ağırlığı ve bitki rejenerasyon oranının genotiplerden önemli derecede etkilendiğini, genotiplere bağlı olarak, ortalama kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının sırasıyla 20.3 %-67.2 %, 54.4-118.1, 0.797-2.719 arasında değiştiğini, ortalama kallus indüksiyon, sürgün indüksiyon, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının dicamba konsantrasyonlarından da önemli derecede etkilendiğini, en yüksek kallus indüksiyon, sürgün indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının sırasıyla 20.3 %-67.2 %, 54.4-118.1, 0.797-2.719 olarak LS besi ortamına ilave edilen 5 mg l⁻¹ dicamba konsantrasyonundan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Avcı ve Can (2006), 8 farklı adi yalancıdarı bitkisinin alınan genç çiçek salkımlarının in vitro kültürde eksplantat olarak kullanıldığını, kallus indüksiyon oranının ekotiplere bağlı olarak % 21.8 ile % 60.1 arasında, petri kutusu başına kallus ağırlığının 133.2 ile 380.3 mg arasında ve salkım segmenti başına gerçekleşen rejenerat sayısının ise 0.78 ile 2.7 arasında değiştiğini, 2.5 mg/l'lik dicamba (3,6 dikloro-2metoksibenzoikasit) oksinin en yüksek kallus indüksiyonu, kallus ağırlığını sağladığı ve en yüksek rejenerasyon oranı için ise 7.5 veya 10 mg/l'lik pikloram (4- amino-3,5,6-trikloropiklonik asit) oksin konsantrasyonlarından sağlandığını bildirmişlerdir.

Can ve ark. (2008), yaptıkları araştırmada; *Agropyron cristatum* genotipinin genç çiçek salkımlarını 2 farklı besi ortamı (LS ve SH), 2 farklı oksin; dicamba (3,6-dikloro-2metoksibenzoic asit) ve pikloram (4-amino-3,5,6-trikloroopikolinik asit) ve 4 farklı oksin konsantrasyonunun (2, 4, 6 ve 8 mg l⁻¹) araştırıldığı çalışmada, kallus indüksiyon, sürgün indüksiyon oranı ve kallus ağırlığının sırasıyla; 18%- 18.8%, 8.6% - 62.5%, 11.4-16.4 mg arasında değiştiğini, kallus indüksiyon, sürgün indüksiyon oranı ve kallus ağırlığının oksin tipi ve konsantrasyonundan önemli derecede etkilendiğini, en yüksek kallus indüksiyon oranı ve kallus ağırlığının LS besi ortamına ilave edilen 4 mg l⁻¹ dicamba konsantrasyonundan, en yüksek direkt sürgün indüksiyon oranının ise SH besi ortamına ilave edilen 2 mg l⁻¹ pikloram konsantrasyonundan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Şener ve ark. (2008), 4 farklı arpa (*Hordeum vulgare* L.) genotipinin genç çiçek salkımlarından LS besi ortamında 4 farklı (2.5, 5, 7.5 and 10 mg l⁻¹) pikloram (4- amino-3,5,6- trikloropiklonik asit) oksin konsantrasyonlarının araştırıldığı çalışmada, kallus indüksiyon, sürgün indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının genotiplerden önemli derecede etkilendiğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca genotip ve pikloram konsantrasyonları arasında önemli derecede interaksiyon bulunduğunu, genotiplere bağlı olarak, ortalama kallus indüksiyon oranı, sürgün indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının sırasıyla 0.0–39.1%, 12.5–29.7%, 0.0–150.3 mg ve 0.2–1.5 arasında değiştiğini, ortalama kallus indüksiyon, sürgün indüksiyon, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının pikloram konsantrasyonlarından da önemli derecede etkilendiğini LS besi ortamına ilave edilen 7.5 mg l⁻¹ pikloram konsantrasyonunda en yüksek kallus indüksiyon oranı (31.3 %), sürgün indüksiyon oranı (40.6%) ve segment başına 1.2 rejenerant gerçekleştiğini, ayrıca araştırmada albino bitkilere de rastlanıldığını bildirmişlerdir.

Manivannan ve ark. (2010), beş farklı mısır genotipinin olgunlaşmamış embriolarından kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyonunu araştırdıkları çalışmada; genotip, besi ortamı, oksin ve oksin konsantrasyonlarının kallus indüksiyonunu etkilediğini. En yüksek embriyogenik kallusun N6 besi ortamına ilave edilen 2 mg/l 2,4-D konsantrasyonundan elde edildiğini bildirmişlerdir.

Sisharmini ve ark. (2010), 4 farklı Ekmeklik buğday genotipinde kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyonu ile ilgili yaptıkları araştırmada, MS-L7 temel besi

ortamına ilave edilen 2,4-D ve picloram büyüme düzenleyicilerini konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda; genotip, besi ortamı ve büyüme düzenleyicilerinin kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyonu için önemli role sahip olduklarını MS-L7 besi ortamına ilave edilen 4 mg/l 2,4-D + 2 mg/l picloram kombinasyonun en iyi indüksiyon ortamı olduğunu bildirmişlerdir.

Atis ve ark. (2013), domuz ayrığı bitkisinde, genotip ve 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının kallus, sürgün ve bitki rejenerasyonuna etkilerini araştırdıkları çalışmada; 5 farklı domuz ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) ekotipinin genç çiçek salkımlarının, 2, 4, 6 ve 8 mg l⁻¹ farklı konsantrasyonlarda 2,4,5-T ilave edilmiş MS besi ortamında kültür ettiklerini, ekotip ve 2,4,5-T oksin konsantrasyonları arasında interaksyonun önemli olduğunu bildirmişlerdir. Ekotiplere bağlı olarak kallus indüksiyon oranı (%), sürgün indüksiyon oranı (%), kallus ağırlığı (mg/petri) ve segment başına rejenerat sayılarının sırasıyla 6.3-37.5%, 7.8-51.6%, 13.1- 115.4 mg ve 0.3-1.1 arasında değiştiğini, MS besi ortamında kültüre alınan eksplantatlardan en yüksek, kallus indüksiyon oranı (%), sürgün indüksiyon oranı (%), kallus ağırlığı (mg/petri) ve segment başına rejenerat sayılarının 4 mg l⁻¹ 2,4,5-T konsantrasyonunda olduğunu bildirmişlerdir.

Sabancı ve Yavuz (2015), Türkiye’de çayır ve mera alanları 1940’lı yıllarda 40 milyon hektarın üzerinde iken günümüzde 14 milyon hektara kadar gerilediğini, mera yasasının 1998 yılında çıkarılmasından sonra meraların korunması ve ıslahı konusunda ilerlemeler kaydedildiğini, ancak yeterli seviyeye ulaşamadığını, mera alanlarının ancak %76’sı tespit, %39’u tahdit edildiğini, ıslah çalışması yapılan alanlar ise yalnızca 450 bin hektar olduğunu, meraların tahsis amacının değiştirilmesini düzenleyen 14. Maddesinde birçok değişiklik yapıldığını, Mera Kanununun temelini köylülerin katılımının ve otlatma ilkelerine uyulmasının sağlanması gerektiğini bildirmişlerdir.

Algül ve ark. (2016), bitkilerin büyüme ve gelişmesinde büyüme düzenleyicilerinin kullanımı oldukça önemli olduğunu, sentetik büyüme düzenleyicilerinin kullanımı ile bitkide sentezlenen içsel hormonların etkilerine benzer sonuçlar elde edilebildiğini ve bu amaçla oksin, sitokin, gibberellinler, absisik asit ve etilenin yanında brassinosteroidler, salisilik asit, jasmonatlar ve poliaminler gibi çeşitli büyüme düzenleyicilerinin de kullanımı giderek arttığını bildirmektedirler.

Erkoyuncu ve Yorgancılar (2016), arpa bitkisinin olgun embriyolarından kallus ve bitki rejenerasyonu oluşturmak için yaptıkları araştırmada, kallus ve sürgün

oluşumunun bütün genotiplerde sağlandığını, genotiplere bağlı olarak, kallus indüksiyonunda en iyi besi ortamının MS1 ve 4 mg/l dicamba ortamı olduğunu, sürgün oluşumunda ise MS1 besi ortamı ve 1 mg/l BAP büyüme düzenleyicini en iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Özkan ve Şahin Demirbağ (2016), Türkiye'deki kaliteli kaba yem kaynaklarının mevcut durumunu araştırmak için yapılan çalışmada, yem bitkileri ve hayvancılığı gelişmiş olan ülkelerde kaliteli kaba yem üretimi konusunda bir problem görülmez iken, ülkemizde kaliteli kaba yem üretim potansiyeli yeterli olmamakla birlikte, yıldan yıla artış göstermeye başladığını, ülkemizde kaliteli kaba yem ihtiyacı çayır mera alanları ve yem bitkilerinden karşılamaya çalıştığını ancak bunun yeterli olmadığını, bu sorunu çözebilmek için; üreticilerin bilinçlendirilmesi, yem bitkileri yetiştiriciliği hakkında bilgilerin verilmesi gerektiğini, çayır ve meraların aşırı ve düzensiz otlatmanın önüne geçilmeli, ekim nöbetinde yem bitkilerine daha çok yer verilmemesini, ıslah edilen mera alanlarının bakımı ve korumasına önem gösterilmesini bildirmişlerdir.

Malini ve ark. (2018), mısır bitkisinde hormonların kallus oluşumuna etkilerinin araştırıldığı çalışmada; 5 genotipin kallus oluşumunda eksplantat ve farklı hormon konsantrasyonlarından etkilendiğini, en yüksek kallus oluşumunun olgunlaşmamış embriyo ve tohum kültüründen elde edildiğini, genotipler arasında COH(M)5 genotipinin en yüksek kallus oluşumunu 2D2K2 besi ortamı kompozisyonundan oluşturduğunu bildirmektedir.

Altındal ve Akgün, (2019), yaptıkları çalışmada, çavdarda genotipin (diploid ve tetraploid), ön işlem (+4 °C'de 1 hafta süre ön işlem uygulanmış ve uygulanmamış) ve besin ortamlarının (MS, N6 ve NN) anter kültüründe anter tepki oranı, kallus oluşumu ve yeşil bitkicik rejenerasyonu üzerine etkileri incelenmişlerdir. Kallus oluşum ortamı olarak MS ortamında 10 g/L agar, NN ortamında 8 g/L agar kullanılmış, ayrıca her iki ortama 2,4 µmol/L Kinetin, 4,4 µmol/L BAP, 2,7 µmol/L NAA ve karbon kaynağı olarak 30,3 g/L sükroz ilave edilmiştir. N6 ortamına ise 5 g/L agar, 2 mg/L 2,4-D, 0,5 mg/L Kinetin, 1 mg/L IAA ve 90 g/L sükroz ilave edilmiştir. Rejenerasyon ortamı olarak, kallus oluşum ortamı olan MS ve NN ortamları aynı kalmış ancak modifiye edilmiş N6 ortamına 2 g/L aktif karbon, karbon kaynağı olarak 20g/L sükroz, hormon olarak 2 mg/L kinetin, katılaştırıcı madde olarak da 5 g/L agar eklenmiştir. Araştırmada soğuk ön işlem uygulamasının anter tepki oranı ve kallus büyüklüğü üzerine olumsuz, kallus oranı ve kök

oluşumu üzerine olumlu etkisi olduğunu, diğer taraftan soğuk ön uygulamasının incelenen özellikler üzerine etkisi çavdar genotiplerinde farklılık gösterdiğini ve özelliklerden anter tepki oranı hariç önemli bulunmuştur. Besin ortamlarının kallus oranı ve büyüklüğü üzerine etkisi önemli olurken, anter tepki oranı üzerine etkisi önemsiz olmuştur. En fazla kök oluşumu ve bitki rejenerasyonu soğuk uygulamalı diploid çavdar anterlerinin MS ortamında kültüre alınması ile elde edilmiştir.



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Araştırmada materyal olarak; Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Tayfur Sökmen Kampüsü içindeki doğal alanlardan toplanarak Tarla Bitkileri Araştırma alanına klon olarak dikilmiş olan adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipleri kullanılmıştır. Sitolojik araştırmalar için 30 farklı ekotip, içine 2:1:1 oranında tarla toprağı: kum: çiftlik gübresi karışım oranı ile hazırlanmış toprakla doldurulmuş 7x7x8 cm boyutlarındaki saksılara, İn-vitro kültür araştırmaları için, 5 ekotip aynı karışım oranı ile hazırlanmış 13x13x13 cm boyutlarındaki saksılara şaşırılmış ve sera koşullarında yetiştirilmiştir. Donor bitkiler haftada bir kez %8 N+ %8 P₂O₅ içeren sıvı gübre solusyonunun %1' lik çözeltisi ile gübrenilmiş ve yeterince sulanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sitolojik araştırmalarda kullanılan yöntemler

3.2.1.1. Kromozom sayımları için kök ucu örneklerinin alınması

Sitolojik araştırmalar için saksılara şaşırılmış olan bitkilerin, saksı tabanına kadar uzayan kök uçları sabah 09.⁰⁰' da 1-1,5 cm uzunluğunda kesilerek içinde bir miktar su bulunan beher kabı içinde temizlenmiştir. İlk işlem olarak; kromozomların mitoz bölünmenin metafaz devresinde ekvatorial tablada toplanmasını engelleyip hücre içinde dağılmasını, iğ iplikçiklerinin yapısını bozarak iğ oluşumunu engellemek için yapılmıştır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995). İlk işlemde, kök uçlarına doymuş alfa-monobromonaftalin çözeltisi uygulanmıştır. Alfa-monobromonaftalin'in iğ ipliklerinin oluşumunu durdurduğu, kromozomların kısalmasına ve düzelmesine etki ettiği bildirilmektedir (Elçi 1982). Bu çözelti; 200 ml musluk suyuna 8-10 damla damlatılarak hazırlanmıştır. 10ml'lik cam şişelere bu çözülden 5-7 ml kadar doldurulmuştur. Cam şişelerin üzerine kağıt etiketler yapıştırılmış ve üzerine kurşun kalem ile bitki numaraları, kök ucunun alındığı tarih, saat ve başka gerek duyulan bilgiler yazılmıştır.

Kesilen kök uçları, içinde çözelti bulunan cam şişelere konulmuş, ağızları tıpa ile kapatılmıştır. Materyal, oda koşullarında 4 saat süre ile karanlık bir dolap içinde bekletilmiştir. İlk işlemde sonra, şişeler içindeki alfa-monobromonaftalin çözeltisi süzümüştür. Süzme işlemi tamamlandıktan sonra, şişeler 2 defa çeşme suyu, 2 defa da destile su ile yıkanmıştır. Şişelere bu kez glasiyal asetik asit konulmuş ve oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Tespit işlemi ile hücrelerin hayat seyri aniden sona erdirilmesi ve mümkün olduğunca doğal durumunu bozmadan gözlenmesi amaçlanmıştır. Tespit işleminden hemen sonra glasiyal asetik asit şişe içerisinden boşaltılmıştır. Şişe içerisindeki köklerden hemen kullanılmayacak olanlar % 70' lik etil alkol içerisinde +4°C'de buzdolabında depolanmıştır. Böylece, kökleri uzun süre muhafaza etmek mümkün olmuştur. Daha sonra tespit işlemi yapılmış köklere hidroliz işlemi uygulanmıştır. Hidroliz, dokuların hücrelerini birbirinden ayırıp, onların daha iyi gözlenmesini sağlamak amacıyla yapılmıştır. Bu ayırma işleminden sonra artık dokular, aralarında birleştirici bir kuvvet bulunmayan yalnız bir hücre yığını durumunu getirilmiştir. Böylece, her bir hücre kendi içlerindeki kısımları ile birlikte mikroskop altında üst üste gelmeden tek bir tabaka halinde gözlemlenmesi amaçlanmıştır. Hidroliz ile ayrıca sitoplazmanın renksiz hale gelmesi ve yalnızca çekirdekteki kromatinin boyanması sağlanmaktadır.

Kök uçları hidroliz yapılmadan önce, 4 defa 5' er dakika süre ile destile su ile yıkanarak glasiyal asetik asitten temizlenmiştir. Ayrıca, daha sonra incelenmek amacıyla % 70' lik alkol içinde stoklanmış olan kök uçları da hidroliz yapılmadan önce 3 defa 5' er dakika süre ile destile su ile yıkanmıştır. Temizlenen kök uçları su banyosunda 1 N HCL içerisinde 60 °C'de 16 dakika süre ile hidroliz edilmiştir. Hidroliz süresi, daha önce yapılan ön çalışmalarla kök uçlarının en iyi boyandığı süre olarak alınmıştır. Daha sonra kromozomların boyama işlemine geçilmiştir. Araştırmada kullanılan Feulgen boyası Hatipoğlu (1991)'na göre hazırlanmıştır.

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

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

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

3.2.1.2. Devamlı preparatların hazırlanması

Devamlı preparatları yapmak için, alkol buharı değiş tokuşu yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle lam ile lamel birbirinden ayrılmadan, bunların arasında alkol buharı sentetik reçine olan entellan değiş tokuşu sağlanmıştır. Lamın uygun bir kenarına preparatla ilgili gerekli bilgiler yazılı etiket yapıştırıldıktan sonra, preparat, bir şale içine konulmuştur. Kabın ve kapağının iç tarafı kurutma kâğıdı ile kaplanmıştır. Cam kaba, 4-5 mm yüksekliğe kadar alkol konularak, kabın içindeki kurutma kâğıdı alkol ile nemlendirilmiştir. Ayrıca, cam kabın etrafına parafilm sarılarak, alkol buharlarının kapaktan uçması önlenmiştir.

Böylece, hazırlanan kaplara, preparatlar konularak buzdolabında 0-4 °C' da bir gece bekletilmiştir. Ertesi gün, preparatlar bu cam kaptan çıkarılarak lam ve lamel bir jilet yardımıyla ayrılarak arasına iki damla entellan damlatılarak tekrar aynı şekilde kapatılıp, hafifçe bastırılarak lam ve lamel arasındaki hava kabarcıkları alınmıştır. Daha sonra, içinde kurutma kâğıdı bulunan petri kapları alkol ile nemlendirilmiş, içlerine preparatlar yerleştirilmiştir. Petri kapları düz bir masa üzerinde oda sıcaklığında bir hafta süre ile

kurutularak preparatların daimi hale getirilmesi sağlanmıştır. Kromozomları metafaz safhasında bulunan en iyi bir şekilde dağılma gösteren, fazla büzülmemiş, morfolojileri iyi görülebilen ve bir düzlem üzerinde bulunan en iyi kök ucu somatik hücreleri belirlenmiştir. Bu hücrelerin fotoğrafları dijital olarak çekilmiştir. Kromozom sayımları bitkinin 25 hücresinde yapılmıştır.

3.2.2. *İn Vitro* kültür araştırmalarında kullanılan yöntemler

3.2.2.1. *İn Vitro* kültür araştırmalarında ele alınan varyantlar ve deneme planı

Araştırmada besi ortamı olarak MS (Murashige and Skoog, 1962) ile 2,4,5-T (2,4,5 Triklorofenoksiasetik asit) oksinin 4 farklı konsantrasyonu (2 mg l^{-1} , 4 mg l^{-1} , 6 mg l^{-1} ve 8 mg l^{-1}) ve eksplantat olarak ta genç çiçek salkımları kullanılmıştır. Araştırma tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre düzenlenmiş olup, ana parselleri ekotipler, alt parselleri 2,4,5 Triklorofenoksiasetik asit oksin konsantrasyonları oluşturmuştur. Her uygulama kombinasyonu 4 kez tekrarlanmıştır.

3.2.2.2. Kullanılan besi ortamlarının hazırlanması

Araştırmada temel besi ortamı olarak MS besi ortamı kullanılmıştır. Bu ortamın bileşimi Çizelge 3.1.'de gösterilmiştir.

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

3.2.2.2.1. Makro ve mikro elementlerin stok solüsyonlarının hazırlanması

Besi ortamında bulunması gerekli olan KI, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ gibi mikro elementler ve jelat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ve Na_2EDTA) dışındaki makro ve mikro elementlerin her bir besi ortamında litrede bulunması gerekli olan miktarlarının 10 katı hassas terazide tartıldıktan sonra, içerisinde 200 cc bidestile su

bulunan ve bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 2 litrelik bir erlenmayer kabına sırasıyla ilave edilmişlerdir. Karışımı oluşturan elementler iyice çözüldükten sonra, karışımın hacmi 1 litreye tamamlanmış ve herbiri 150 ml olan, 10 ayrı plastik kaplara 100' er ml paylaştırılmıştır. Kapların üzerine yapıştırılan etiketlere besi ortamının adı, içerdiği makro-mikro elementler ve ortamın yapılış tarihi yazılarak, buzdolabının derin dondurucusunda muhafaza edilmiştir. KI, $\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ bileşenlerinin ise ayrı ayrı stok solüsyonları hazırlanmıştır.

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

7,45 gr Na_2EDTA bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş 1 litrelik erlen kabında 200 cc bidestile su içinde eritilmiş ve eriyik 90°C 'ye kadar ısıtılmıştır. Sıcaklık belirtilen düzeye eriştiğinde çözeltiye 5,57 gr FeSO_4 ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır. Daha sonra karışımın sıcaklığı oda sıcaklığına erişinceye kadar soğutulmuş ve karışım hacmi 1 litreye tamamlanmıştır. Hazırlanan jelat koyu renkli pyrex şişe içinde muhafaza edilmiştir.

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

Bileşik	MS (Murashige ve Skoog, 1962) Besi Ortamı
Makro elementler	Konsantrasyon (mg l^{-1})
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
KH_2PO_4	170
KNO_3	1900
NH_4NO_3	1650
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
Mikro elementler	
H_3BO_3	6.8
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	16.9
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
KI	0.83
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8
Na_2EDTA	37.3
Organik Bileşikler	

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

Bileşik	MS (Murashige ve Skoog, 1962) Besi Ortamı
Makro elementler	Konsantrasyon (mg l⁻¹)
Thiamin. HCl	0.1
Pyridoxin. HCL	0.5
Nikotinic asit	0.5
Myo- inositol	100.0
Sakkaroz (g)	30
Agar (g)	8
pH	5.8

3.2.2.2.3. Vitamin ve oksin stok solüsyonlarının hazırlanması

Besi ortamlarında bulunan Thiamin HCL, Pyridoxin. HCL, Nikotinic asit gibi vitaminlerin 100 mg'ı hassas terazide tartılarak 20-30 ml bidestile suda çözüldükten sonra hacim 100 ml'ye tamamlanmış ve pyrex cam şişe içinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Besi ortamı için gerekli olan 2,4,5-T (2,4,5 Triklorofenoksiasetik asit) oksininin stok solüsyonu, vitaminlerin stok çözeltisi gibi hazırlanmıştır..

3.2.2.2.4. Stok solüsyonlardan yararlanarak besi ortamının hazırlanması

Araştırmada kullanılan besi ortamının hazırlanması aşağıdaki yöntemle yöre yapılmıştır.

Karışım I:

Her bir besi ortamı için daha önceden hazırlanmış olan 100 ml'lik makro ve mikro element stok solüsyonları magnetik karıştırıcı üzerinde bulunan 1 litrelik pyrex erlenmayer kaplarına boşaltılarak, iyice karıştırılmış ve karışıma stok solüsyonunda bulunmayan mikro elementlerin gerekli miktarları stok solüsyonlarından ilave edilmiştir. Karışımların hacmi bidestile su ile 800 ml'ye tamamlanmıştır. 800 ml'ye tamamlanan karışımın pH'sı 1N KOH ve HCL çözeltilerinin yardımıyla besi ortamları için gerekli olan pH ölçüsüne getirilmiştir. Her bir karışım dört eşit parçaya ayrılmış ve her parça 250 ml'lik pyrex şişeye doldurulmuştur. MS besi ortamı için her bir şişeye 2.0 g agar ilave edilmiş ve şişelerin ağızları kapatıldıktan sonra alüminyum kağıtla sarılmıştır. Şişeler

içindeki karışım I Otoklavda 121 °C de ve 2 bar basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

Karışım II:

İçerisinde 50 ml bidestile su bulunan ve bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan 250 ml'lik iki pyrex erlenmayer kabı içine MS besi ortamında bulunması gerekli olan 30 g sakkaroz ilave edilip iyice karıştırıldıktan sonra 100 mg Myo-İnositol ve 0,1 mg/I Thiamin. HCL ve SH besi ortamı için 1000 mg Myo-İnositol, 0,1 mg l⁻¹Thiamin HCL, 0,5 mg l⁻¹ Pyridoxin ve 0,5 mg l⁻¹ Nikotinik asit ve 1 mg l⁻¹ BAP (Benzil Amino Purin) ilave edilmiştir. Karışımların hacimleri bidestile su ile 160 ml'ye tamamlandıktan sonra, her bir karışım 4 eşit parçaya ayrılmıştır. Her parçaya gerekli 2,4,5-T (2 mg l⁻¹, 4 mg l⁻¹, 6 mg l⁻¹ ve 8 mg l⁻¹) konsantrasyonları ilave edildikten sonra, karışımların hacimleri bidestile su ile 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Karışım II varyantlarının pH' ları ayrı ayrı her bir besi ortamı için gerekli pH ölçülerine ayarlanmıştır. Daha sonra Karışım II varyantları steril kabin içinde ucuna steril filtre takılmış emme-basma pompası vasıtasıyla steril pyrex cam şişe içerisine filtre edilmiştir.

Otoklavdan çıkarılan karışım I steril kabin içinde bulunan bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Karışımın sıcaklığı 60-70 °C ye düştüğünde karışım II karışım I in üzerine ilave edilerek iyice karıştırılmıştır. Hazır hale gelen besi ortamı varyantları steril kabin içinde her bir steril petri kabına (60x15 mm) 7 ml olacak şekilde steril pipet yardımıyla doldurulmuştur. Kültür kapları içindeki besi ortamının sıcaklığı oda sıcaklığına düştüğünde, kültür kapları plastik kaplar içine konulmuş ve kullanılıncaya kadar 10 °C de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.3. Ekplantaların sterilizasyonu ve kültüre alınmaları

13x13x13 cm boyutlarındaki saksılara şaşırtılan adi yalancıları bitkilerinde bayrak yaprağının görünme aşamasındaki olan sürgünler kesilmiş ve içerisinde bir miktar su bulunan ağzı kapaklı cam şişelere yerleştirilmiştir. Bu şişeler bir gece +4 °C'de buzdolabında bekletilmiştir. Soğuk uygulanan sürgünler steril kabin içerisinde önce % 96' lık alkol ile 2 dakika, daha sonrada % 10'luk sodium hipoklorit çözeltisinde 12 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra sürgünler 4 kez steril edilmiş

destile su ile yıkanmıştır. Sterilize edilen sürgünlerden binoküler altında 5-20 mm boyundaki genç salkımlar çıkartılmıştır. 5 mm'den büyük salkımlar skalpel yardımıyla 5'er mm lik segmentlere ayrılmıştır. Her kültür kabına (60 X15 mm) 4 segment yerleştirilmiştir.

3.2.2.4. Kallus indüksiyonu

Besi ortamına yerleştirilen kültürler iklim dolabında 25 °C'de muhafaza edilmiştir. Kültürler peryodik olarak binoküler altında incelenmiş ve kallus oluşum fazı sona erdiğinde, her petri kutusunda kallus oluşturan segmentler sayılmıştır. Bu sayımlardan yararlanarak petri kutusu başına segmentlerin kallus oluşturma oranları yüzde olarak saptanmıştır.

Ayrıca her petri kutusunda oluşan kallusun ağırlığı 0.1 mg hassasiyetli terazide tartılarak petri kutusu başına kallus ağırlığı saptanmıştır.

3.2.2.5. Bitki rejenerasyonu

Tartımı yapılan kalluslar büyüme düzenleyicisi içermeyen rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Rejenerasyon ortamına aktarılan kalluslar 10 gün süre ile 25 °C' deki iklim odasında karanlık koşullarda muhafaza edilmiştir. Kallustan sürgün oluşumu gerçekleştiğinde kültürler ışıklı ortama alınmıştır. Rejenerasyon ortamında yeterince büyüyen bitkiciklerin her uygulama için sayımı yapılmış ve ortama konan petri kutusu başına rejenerasyon oranı hesaplanmıştır.

3.2.2.6. Rejeneratların geliştirilmesi

Rejenerasyondan sonra bu bitkiciklerin her biri ayrı ayrı içerisinde 15 ml gelişme ortamı bulunan cam tüplere aktarılmıştır. Gelişme ortamı; MS besi ortamında bulunması gerekli olan makro ve mikro element konsantrasyonlarının yarısını içeren bir ortam olup, ayrıca 20 g/l Sakkaroz ve 10 g/l agar içermektedir. Rejenere olan bitkicikler gelişme ortamında bir ay süre ile 25 °C' de ışıklı ortamda muhafaza edilmiştir. Daha sonra bu tüplerden çıkartılan bitkiler saksılara şaşırtılmıştır. Saksılara şaşırtılmış adi yalancıları

bitkicikleri 7 gün ile plastik örtü altında muhafaza edilmiş ve ortama adapte olmaları sağlanmıştır.

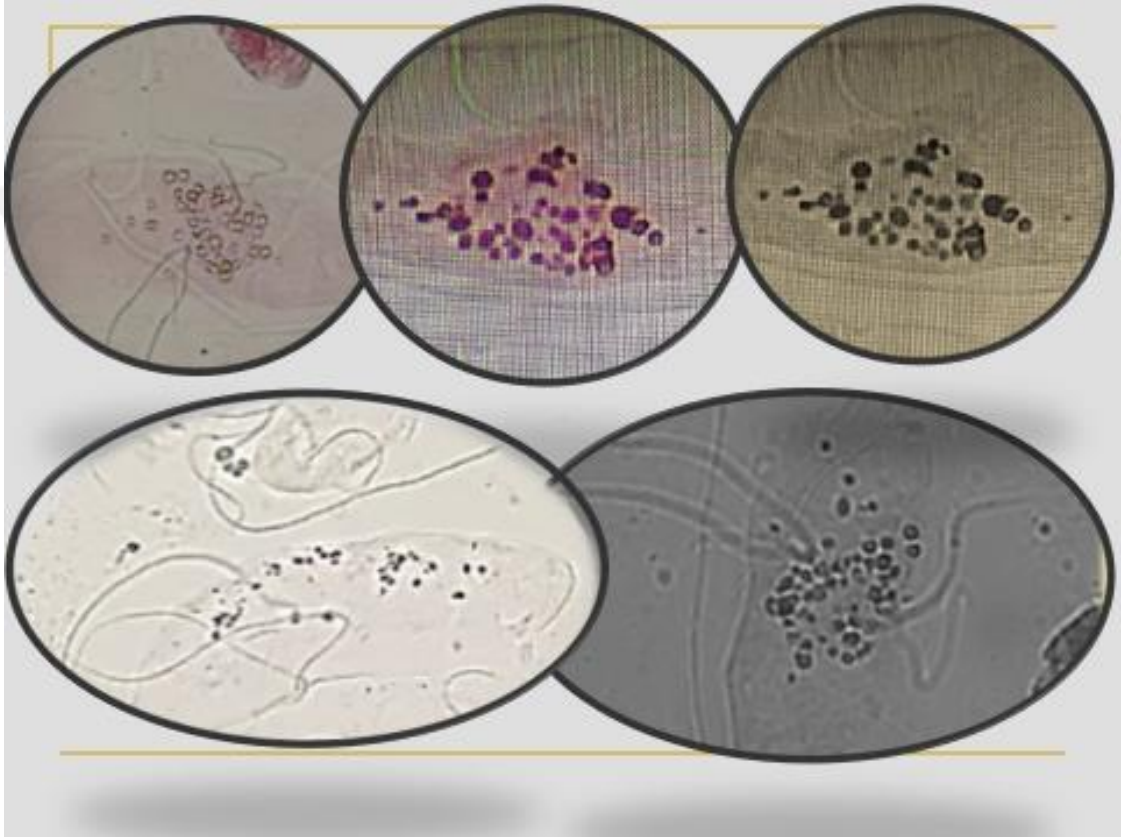
3.2.2.6. Araştırmada elde edilen verilerin değerlendirilmesi

Araştırmada elde edilen verilere tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine uygun olarak MSTATC istatistik programından yararlanılarak varyans analizi uygulanmıştır. Varyans analizi uygulanmadan önce, kallus induksiyon oranı değerlerine $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ transformasyonu, rejenerasyon oranı değerlerine $\sqrt{x+0,5}$ transformasyonu uygulanmıştır. Varyans analizi sonucu önemli ortalamalar Duncan testine göre gruplandırılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Sitolojik araştırma bulguları

Araştırmada incelenen 30 adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipinde yapılan somatik kromozom sayımları; ekotiplerin $2n=4x=40$ kromozomlu olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 4. 1).



Şekil 4.1. $2n=4x=40$ kromozomlu adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipinde mitoz kromozomları

Adi yalancıdarı için saptanan bu kromozom sayıları; Burson ve ark. (1973), Burson (1991;1992;1995) tarafından da bildirilmiştir. Aynı bitkinin $2n= 40,50$ ve 60 olarak değişen farklı kromozom sayısına sahip olan biyotipleri de bulunmaktadır (Watson ve Burson, 1985; Hatipoğlu ve Tükel, 2009). Ayrıca, Casa ve ark. (2002), adi yalancıdarı bitkisinin seksüel olan biyotiplerin tetraploid ve apomiktik olan biyotiplerin ise penta ve hexaploid kromozom sayısına sahip olduğunu bildirmektedirler.

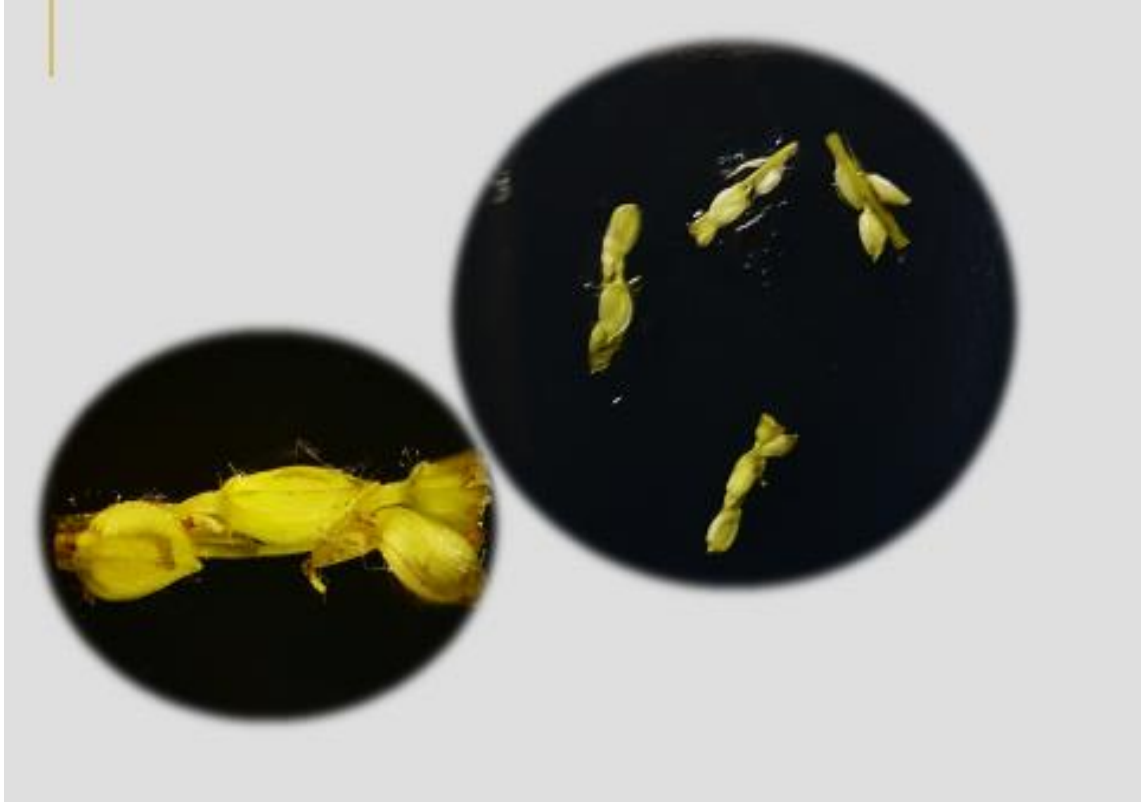
Bölgedeki adi yalancıdarı popülasyonunun tetraploid formda olduğunu ve

$2n=4x=40$ kromozom sayısına sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla farklı ploidi seviyesine ait bitkilerin de bulunabileceğini söyleyebiliriz.

4.2. *İn Vitro* kültür araştırmaları ile ilgili bulgular

4.2.1. Kallus indüksiyonu

Araştırmada MS besi ortamının 4 farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda kültüre alınan adi yalancıdarı ekotiplerinin genç çiçek salkımından alınan 5 mm'lik segmentler her kültür kabına 4 adet yerleştirilmiştir. (şekil 4. 2).



şekil 4.2. Adi yalancıdarı bitkisinin salkım segmentlerinin kültür kaplarına yerleştirilmesi (kültür başlangıcı)

Kültür başlangıcından 7 gün sonra kültürlerde yapılan incelemelerde; salkım segmentlerinde hafif bir kararmanın başladığı, çiçek organlarında herhangi bir değişime

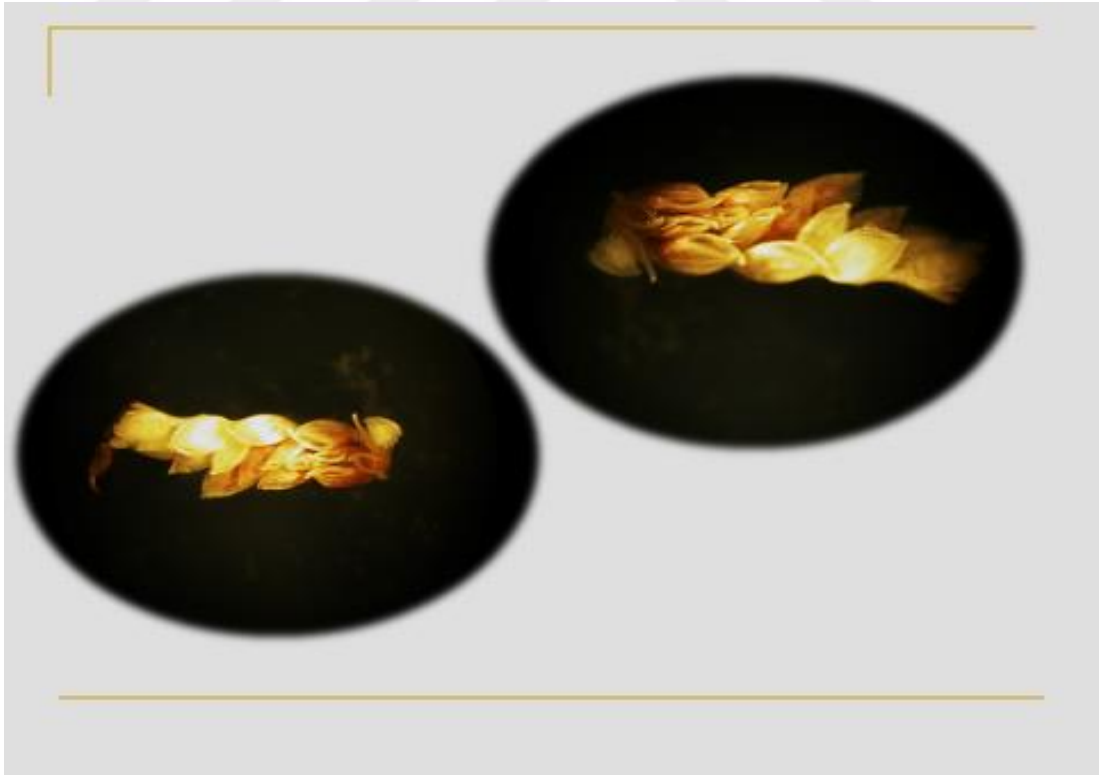
görülmemiştir. (Şekil 4.3).

Kültür başlangıcında 2 hafta sonra salkım segmentlerinin kesildiği yerlerde, salkım eksenlerinde ve başakçıklarda bir şişmenin olduğu görülmüştür (Şekil 4.4).

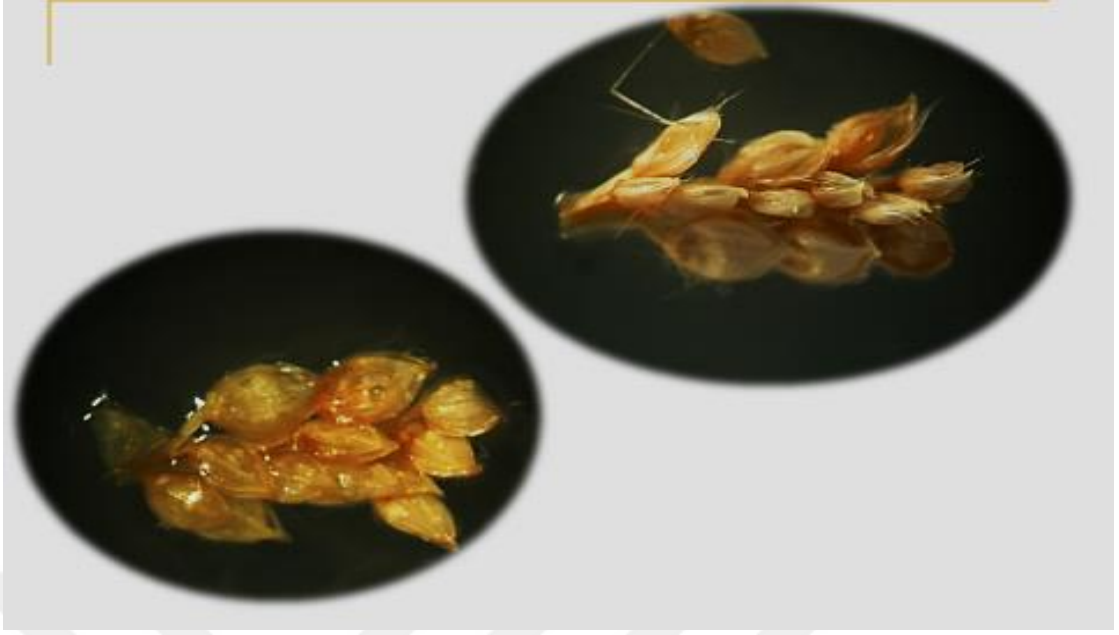
Kültür başlangıcından 5 hafta sonra yapılan incelemelerde; çiçek segmentleride, başakçıklarda bir uzama olduğu ve çiçek taslaklarını belirgin bir şekilde şişkinleştiği izlenmiştir. Ayrıca salkım segmentlerinin kesim yerlerinde ve başakçıkların salkım eksenine bağlandığı yerlerde kallus oluşumunun gerçekleştiği gözlenmiştir (Şekil 4.5).

Kültür başlangıcından altı hafta sonra oluşan kalluslarda belirgin bir büyümenin olduğu görülmüştür. 6 haftalık kültür süreci sonunda, kültürlerde hem beyaz renkli ve sulu kallus (embriyogenik olmayan), hem de sıkı yapılı embriyogenik kallusun oluştuğu ve embriyoidlerin belirginleştiği gözlenmiştir (Şekil 4.6).

Adi yalancıdarı bitkisinin genç salkımlarından oluşan kallus indüksiyonu ile ilgili gözlemlerimiz; Bovo ve Mroginski (1986), Can ve ark. (2000), Avcı ve Can (2006), ın aynı bitkinin genç salkım segmentlerinden oluşan kallus indüksiyonu ile ilgili gözlemlerini desteklemektedir.



Şekil 4.3. Adi yalancıdarı bitkisi salkım segmentlerinde hafif bir kararmanın olduğu çiçek organlarında herhangi bir değişimin olmadığı (kültür başlangıcından 7 gün sonra)



Şekil 4.4. Adi yalancıdarı bitkisi salkım salkım segmentlerinin kesilme yerlerinde, salkım eksenlerinde ve başakçıklarda şişme (kültür başlangıcından 2 hafta sonra)



Şekil 4.5. Adi yalancıdarı bitkisi salkım salkım segmentlerinin kesim yerlerinde ve başakçıkların salkım eksenine bağlanma yerlerinde kallus oluşumu (kültür başlangıcından 5 hafta sonra)



Şekil 4.6. Adi yalancıdarı bitkisinin salkım segmentlerinden meydana gelen kalluslar üzerinde somatik embriyo gelişimi. (kültür başlangıcından sekiz hafta sonra)

4.2.1.1. Kallus oluşum oranı

Dört farklı 2,4,5-T (2, 4, 6 ve 8 mg l⁻¹) (2,4,5-triklorofenoksiasetik asit) oksin konsantrasyonunu içeren MS (Murashige and Skoog, 1962) temel besi ortamında kültüre alınan 5 adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipine ait salkım segmentlerinin kallus oluşturma oranlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1' de verilmiştir.

Çizelge'de izlendiği gibi yapılan varyans analiz sonuçları; adi yalancıdarı bitkisinin genç salkımlarından oluşan kallus oluşum oranının ekotiplere, kallus indüksiyon ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarına ve ekotipxoksin konsantrasyonu interaksiyonuna bağlı olarak önemli derecede değiştiğini ortaya koymuştur.

Çizelge 4.1. Farklı adi yalancıları ekotiperinde, oksin konsantrasyonlarının genç salkımlardan kallus oluşum oranına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	3	1256.936	3.6444
Ekotip	4	2809.647.	8.1464**
Hata-1	12	344.894	
Konsantrasyon	3	8756.916	22.613**
Ekotip x Konsantrasyon	12	275.997	0.7048*
Hata-2	45	391.610	
GENEL	79		

**) $p \leq 0.01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

*) $p \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

4.2.1.1.1. Ekotipin kallus oluşumuna etkisi

Araştırmada kullanılan farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortaya çıkan kallus oluşum oranları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Araştırmada 5 ekotipten alınan ve dört farklı besi ortamında kültüre edilen 320 salkım segmentinden tüm varyantların ortalaması olarak % 42.18'lik bir kallus oluşum oranı saptanmıştır.

Çizelge 4.2. Farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortalama kallus oluşum oranları (%)

Ekotip No	Kallus Oluşum Oranı
1	34.4 +(30.21) B *
2	29.7 (26.50) B
3	45.3 (40.38) AB
4	32.8 (32.88) B
5	68.7 (59.86) A
Ortalama	42.18 (37.96)

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

+ Açık değerleri

Çizelge 4.2 incelendiğinde, ekotiplere bağlı olarak ortalama kallus oluşum oranının % 29.7 ile % 68.7 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. 5 numaralı ekotipten

alınan salkım segmentleri en yüksek kallus oluşum oranı göstermiştir. Ancak bu ekotip 3 numaralı ekotipten istatistiksel olarak farklı olmayan kallus oluşum oranı göstermiştir. 2 no'lu ekotip en düşük kallus oluşum oranı göstermiştir. 2 no'lu ekotip de 1 ve 4 numaralı ekotiplerden ile istatistiksel olarak farklı olmayan kallus oluşum oranı meydana getirmiştir.

Araştırmamızda ortaya çıkan farklı adi yalancıları ekotiplerinin farklı kallus oluşum oranları göstermesi ile ilgili bulgular, Can ve ark. (2000), Avcı ve Can (2006)'ın aynı bitki üzerinde elde ettiği bulguları desteklemektedir. Ayrıca, Nakamura ve Keller (1982), Maddock ve ark.(1983), Molenaar ve ark. (1988), Gland ve Hatipoğlu (1989), Pareddy ve Petolino (1990), Reddy ve Vaidyanath (1990), Eizenga ve Dahlen (1991), Hatipoğlu (1991), Can ve ark. (1994), Can ve Hatipoğlu (2000), Can ve ark. (2004), Avcı ve Can (2006), Can ve ark. (2008), Şener ve ark. (2008), Sisharmini ve ark. (2010), Atis ve ark. (2013), Erkoyuncu ve Yorgancılar (2016) ve Altındal ve Akgün, (2019)'ün muhtelif buğdaygil bitkileri ile sürdürdükleri in-vitro kültür araştırmalarında elde ettikleri bulgular da bulgularımızı desteklemektedir.

Araştırmamızda farklı ekotiplerin farklı kallus indüksiyon oranları göstermesine neden olarak; genetik yapı farklılığı gösterilebilir. Nitekim, bitki türlerinde in-vitro reaksiyonun genlerle kontrol edildiği, uygun gen kombinasyonlarını taşımayan genotiplerin iyi reaksiyon göstermediği araştırmalarla kanıtlanmış durumdadır (Galiba ve ark., 1986).

4.2.1.1.2. Oksin konsantrasyonlarının kallus oluşumuna etkisi

Araştırma bulguları, besi ortamında kullanılan 4 farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının kallus oluşum oranına etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.3).

Araştırmada, dört farklı oksin konsantrasyonlarının tüm varyantların ortalaması olarak % 42.18'lik bir kallus oluşum oranı saptanmıştır.

6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama % 71.2 kallus oluşum oranı ile en yüksek kallus oluşum oranı gösteren 2,4,5-T oksin konsantrasyon olmuştur.

Oksin konsantrasyonun 6 mg l⁻¹'den itibaren arttıkça veya azaldıkça, kallus oluşum oranında bir azalma eğiliminin ortaya çıktığı saptanmıştır. Nitekim, 4 mg l⁻¹'lik

2,4,5-T oksin konsantrasyonunda ortalama kallus oluşum oranı % 40.0 iken, 2 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda bu oran % 12.5 olarak gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama kallus oluşum oranına (%) etkisi

Konsantrasyonlar	Kallus Oluşum Oranı
2 mg l⁻¹	12.5 +(12.40) C*
4 mg l⁻¹	40.0 (36.11) B
6 mg l⁻¹	71.2 (63.52) A
8 mg l⁻¹	45.0 (39.84) B
Ortalama	42.18 (37.96)

* Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar LSD testine göre p≤0,05 hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

+ Açı değerleri

8 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda ortalama kallus oluşum oranı % 45.0 olarak gerçekleşmiştir ve 4 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonundan istatistiksel olarak farksız bulunmuştur.

Bu sonuçlar, farklı adi yalancıdan ekotiplerinin genç salkımlarından kallus oluşumunda 6 mg l⁻¹'den daha yüksek 2,4,5-T konsantrasyonlarının kallus indüksiyonunu olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

Araştırmada kallus indüksiyon oranının oksin konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Can ve ark. (2000) ve Avcı ve Can (2006)'ın aynı bitkinin farklı oksin türü ile Atis ve ark. (2013)'nin aynı oksin türü ile yaptığı çalışmadaki bulgularına benzerlik göstermektedir. Ayrıca, Can ve ark. (2004), Şener ve ark. (2008)'nin muhtelif buğdaygillerde yapılan çalışmalarda elde edilen araştırma bulgularına benzerlik göstermektedir.

4.2.1.1.3. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus oluşumuna etkisi

Araştırma bulguları, genç salkım segmentlerinin kallus oluşturma oranı, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının ekotiplere bağlı olarak etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.4).

Araştırmada ekotiplere bağlı olarak ortalama kallus oluşum oranları % 29.7 ile % 68.7 arasında değiştiği görülmektedir. 5 numaralı ekotipten alınan salkım segmentleri ortalama % 67.8'lik kallus oluşum oranıyla 1,2,3 ve 4 no'lu ekotiplerin salkım segmentlerinden oluşan kallus oluşum oranlarına göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek kallus oluşum oranı göstermiştir. Ancak, 3 no'lu ekotipten istatistiksel olarak farklı olmayan kallus oluşum oranı göstermiştir.

Çizelge 4.4. Farklı adi yalancıları ekotipleri ve 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama kallus oluşum oranına etkisi (%)

Ekotipler	2,4,5-T Konsantrasyonları				Ortalama
	2 mg l ⁻¹	4 mg l ⁻¹	6 mg l ⁻¹	8 mg l ⁻¹	
1	0.00 (0.57)D*	43.80 (37.64)BCD	56.30 (48.75)ABC	37.50 (33.89)BCD	34.4 (30.21)B
2	0.00 (0.57)D	25.00 (22.79)CD	56.20 (48.75)ABC	37.50 (33.89)BCD	29.7 (26.50)B
3	12.50 (15.29)CD	50.00 (45.00)BC	81.20 (70.96)AB	37.50 (30.29)BCD	45.3 (40.38)AB
4	0.00 (0.57)D	25.00 (26.39)CD	62.50 (59.71)ABC	43.70 (44.86)BC	32.8 (32.88)B
5	50.00 (45.00)BC	56.30 (48.75)ABC	100.00 (89.43)A	68.80 (56.25)ABC	68.7 (59.86)A
Ortalama	12.5 (12.40)C	40.0 (36.11)B	71.2 (63.52)A	45.0 (39.84)B	42.18 (37.96)

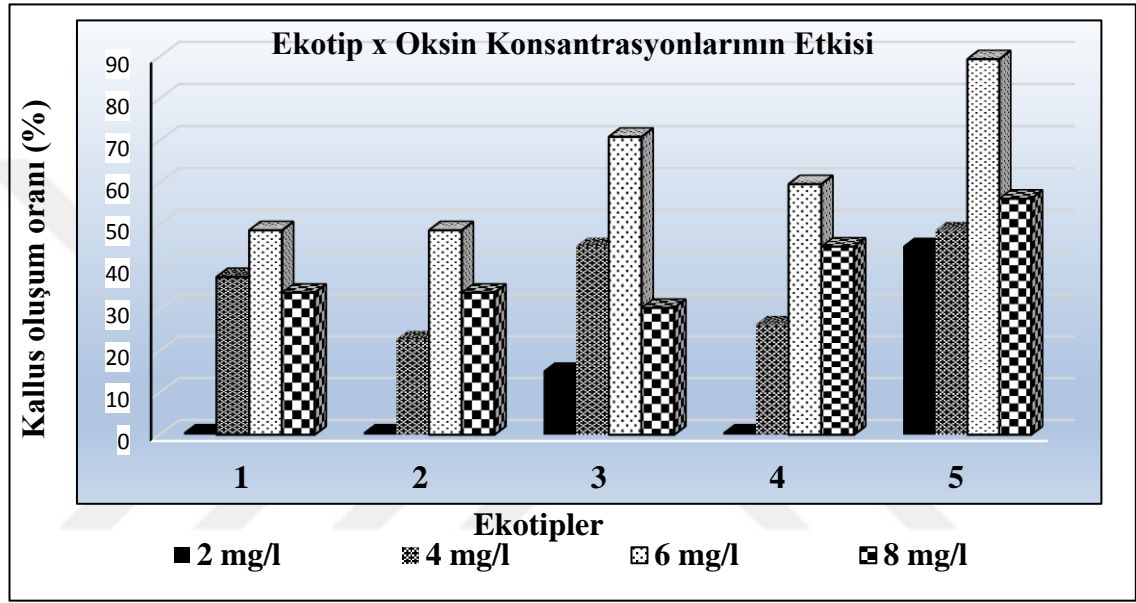
*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre p≤0,05 hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

+ Açık değerleri

6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama % 71.2'lik oran ile en yüksek kallus oluşum oranı gösteren konsantrasyon olmuştur. Oksin konsantrasyonlarının 6 mg l⁻¹'den itibaren arttıkça veya azaldıkça, kallus oluşum oranında bir azalma eğiliminin ortaya çıktığı saptanmıştır.

Kullanılan 2,4,5-T oksinin 6 mg l⁻¹ konsantrasyon miktarı, en yüksek ortalama kallus oluşum oranını % 100 ile 5 numaralı ekotipte oluştururken, en düşük kallus oluşum oranını % 0.00 oranı ile 2 mg l⁻¹ oksin konsantrasyonunda bulunmuştur ve istatistiki olarak birbirlerinden farklı olmayan 1,2 ve 4 numaralı ekotiplerde gerçekleşmiştir. 5 no'lu

ekotip besi ortamına ilave edilen 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının tüm varyantlarında diğer ekotiplere oranla daha yüksek kallus oluşum oranı gösteren ekotip olmuştur (Şekil 4.7). Ayrıca, 6 mg l⁻¹ oksin konsantrasyonu tüm ekotiplerde en yüksek kallus oluşum oranı gösteren konsantrasyon olmuştur. Oksin konsantrasyonun 6 mg l⁻¹’ den itibaren arttıkça veya azaldıkça tüm ekotiplerde kallus oluşum oranlarında bir azalma ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.7. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus oluşumuna etkisi

Ekotip x konsantrasyon interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli derecede farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Metzinger ve ark. (1987), Artunduaga ve ark. (1988), Molenaar ve ark. (1988), Gland ve Hatipoğlu (1989), Can ve ark. (1994), Can ve Hatipoğlu (2000), Can ve ark. (2004), Avcı ve Can (2006), Can ve ark. (2008), Şener ve ark. (2008), Sisharmini ve ark. (2010), Atis ve ark. (2013), Erkoyuncu ve Yorgancılar (2016)’ın bulgularını desteklemektedir.

4.2.1.2. Kallus ağırlığı

Dört farklı 2,4,5-T (2,4,5-Triklorofenoksiasetik asit) oksin konsantrasyonunu içeren MS (Murashige and Skoog, 1962) temel besi ortamında kültüre alınan 5 adi

yalancıları (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipine ait salkım segmentlerinden oluşan kallus ağırlığına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5’ de verilmiştir.

Çizelge’de izlendiği gibi yapılan varyans analiz sonuçları; adi yalancıları bitkisinin genç salkımlarından oluşan kallus ağırlığının ekotiplere, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarına ve ekotipxoksin konsantrasyonu interaksyonuna bağlı olarak önemli derecede değiştiğini ortaya koymuştur.

Çizelge 4.5. Farklı adi yalancıları ekotiperinde, oksin konsantrasyonlarının genç salkımlardan oluşan kallus ağırlığına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	3	4442.987	5.503
Ekotip	4	14360.952	17.789**
Hata-1	12	807.257	
Konsantrasyon	3	26087.362	31.689**
Ekotip x Konsantrasyon	12	748.048	0.908*
Hata-2	45	823.219	
GENEL	79		

**) $p \leq 0.01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

*) $p \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

4.2.1.2.1. Ekotipin kallus ağırlığına etkisi

Araştırmada 5 ekotipten alınan ve dört farklı besi ortamında kültüre alınan 320 salkım segmentinden tüm varyantların ortalaması olarak 61.83 (mg/petri) kallus ağırlığı saptanmıştır. Araştırmada kullanılan farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortaya çıkan ortalama kallus ağırlı değerleri Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortalama kallus ağırlıkları (mg/petri)

Ekotip No	Kallus Ağırlığı
1	51.54 B*
2	37.82 B
3	60.16 B
4	46.22 B
5	113.40 A
Ortalama	61.83

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

Çizelge 4.6 incelendiğinde, ekotiplere bağlı olarak petri kutusu başına oluşan ortalama kallus ağırlığı 37.82 ile 113.40 (mg/petri) arasında değişmiştir. Genellikle ekotiplere bağlı olarak kallus ağırlığının değişimi kallus oluşum oranındaki değişime benzerlik göstermiştir. Yani kallus oluşum oranı yüksek olan ekotipin genç salkımlarından ortalama olarak daha yüksek kallus ağırlığı elde edilmiştir. 5 numaralı ekotipten alınan salkımlar ortalama 113.40 mg/petri ile en yüksek kallus ağırlığı gösterirken, düşük kallus oluşum oranı gösteren 2 no'lu ekotip 37.82 mg/petri ile yine en düşük kallus ağırlığı oluşturmuştur. Ancak, 2 no'lu ekotip istatistiksel olarak 1,3 ve 4 numaralı ekotiplerden ile farklı olmayan kallus ağırlığı göstermiştir. Bu sonuçlar ekotipler arasında kallus ağırlığı açısından ortaya çıkan farklılığın kallus oluşum oranları arasındaki farklardan ileri geldiğini, ekotipler arasında kallus büyüme hızı açısından bir farklılık olmadığını ortaya koymaktadır.

Araştırmamızda ekotiplere bağlı olarak değişim gösteren kallus ağırlıkları ile ilgili bulgularımız; Gland ve Hatipoğlu (1989), Can ve ark. (1994), Can ve ark. (2000), Can ve Hatipoğlu (2000), Can ve ark. (2004), Avcı ve Can (2006), Can ve ark. (2008), Şener ve ark. (2008) ve Atis ve ark. (2013)'nin muhtelif buğdaygillerin genç çiçek salkımlarıyla sürdürdükleri araştırmalarında elde ettikleri araştırma bulgularını desteklemektedir. Ekotiplerin kallus ağırlığı açısından gösterdiği farklılık; ekotiplerin kallus indüksiyon oranlarındaki farklılıktan ileri geldiğini söyleyebiliriz.

4.2.1.2.2. Oksin konsantrasyonlarının kallus ağırlığına etkisi

Araştırma bulguları, besi ortamında kullanılan farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının kallus ağırlığına etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.7).

Araştırmada incelenen 2,4,5-T konsantrasyonlarının kallus ağırlığı üzerine etkileri, kallus oluşum oranı üzerindeki etkilerine benzerlik göstermiştir. 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama % 105.9 mg/petri kallus ağırlığı ile en yüksek kallus ağırlığı gösteren konsantrasyon olmuştur.

Oksin konsantrasyonu 6 mg l⁻¹ den düştükçe ve yükseldikçe kallus ağırlığında da bir azalma eğilimini ortaya çıkartmıştır. Nitekim, 4 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda ortalama kallus ağırlığı 60.08 mg/petri iken, 8 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin

konsantrasyonunda ortalama kallus ağırlığı 63.84 mg/petri olarak gerçekleşmiştir ve 4 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonundan istatistiksel olarak farksız bulunmuştur. En düşük kallus ağırlığı 2 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda ortalama 17.51 mg/petri olarak gerçekleşmiştir.

Bu sonuçlar, farklı adi yalancıları ekotiplerinin genç salkımlarından kallus oluşumunda olduğu gibi kallus ağırlığında da 6 mg l⁻¹'den daha yüksek veya düşük 2,4,5-T konsantrasyonlarının kallus ağırlığını da olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

Araştırmada kallus ağırlığının konsantrasyonlara bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Chen ve ark (1977), Conger ve Carabia (1978), Nakamura ve Keller (1982), Ahn ve ark. (1985), Gland ve Hatipoğlu (1989), Can ve ark. (1994), Can ve ark. (2000), Can ve Hatipoğlu (2000), Can ve ark. (2004), Avcı ve Can (2006), Can ve ark. (2008), Şener ve ark. (2008) ve Atis ve ark. (2013)' nun bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.7. Farklı 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama kallus ağırlıklarına etkisi (mg/petri)

Konsantrasyonlar	Kallus Ağırlığı
2 mg l ⁻¹	17.51 C
4 mg l ⁻¹	60.08 B
6 mg l ⁻¹	105.9 A
8 mg l ⁻¹	63.84 B
Ortalama	61.83

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar LSD testine göre p≤0,05 hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

4.2.1.2.3. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus ağırlığına etkisi

Araştırmada kullanılan farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortaya çıkan ortalama kallus ağırlıkları, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının etkisinin ekotiplere bağlı olarak etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.8).

Araştırmada ekotiplere bağlı olarak kallus ağırlığı ortalama 37.83 ile 113.4 mg/petri arasında değişmiştir. Kallus oluşum oranında olduğu gibi 5 numaralı ekotipten alınan salkımlar, 1,2, 3 ve 4 no'lu ekotiplerden alınan salkımlara göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek kallus ağırlığı göstermiştir. En düşük ortalama kallus

ağırlığı 37.83 mg/petri ile 2 no'lu ekotipte gözlemlenmiştir. Ancak bu ekotipte gözlenen kallus ağırlığı 1, 3 ve 4 no'lu ekotiplerde oluşan kallus ağırlığı açısından istatistiksel olarak farksız bulunmuştur.

Kallus oluşum oranlarında olduğu gibi kallus ağırlığında da 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı, ortalama 105.9 mg/petri ile en yüksek kallus ağırlığı gösteren konsantrasyon olmuştur. En düşük kallus ağırlığı yine 17.51 mg/petri ile 2mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda görülmüştür.

Çizelge 4.8. Farklı adi yalancıları ekotipleri ve 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama kallus ağırlıklarına etkisi (mg/petri)

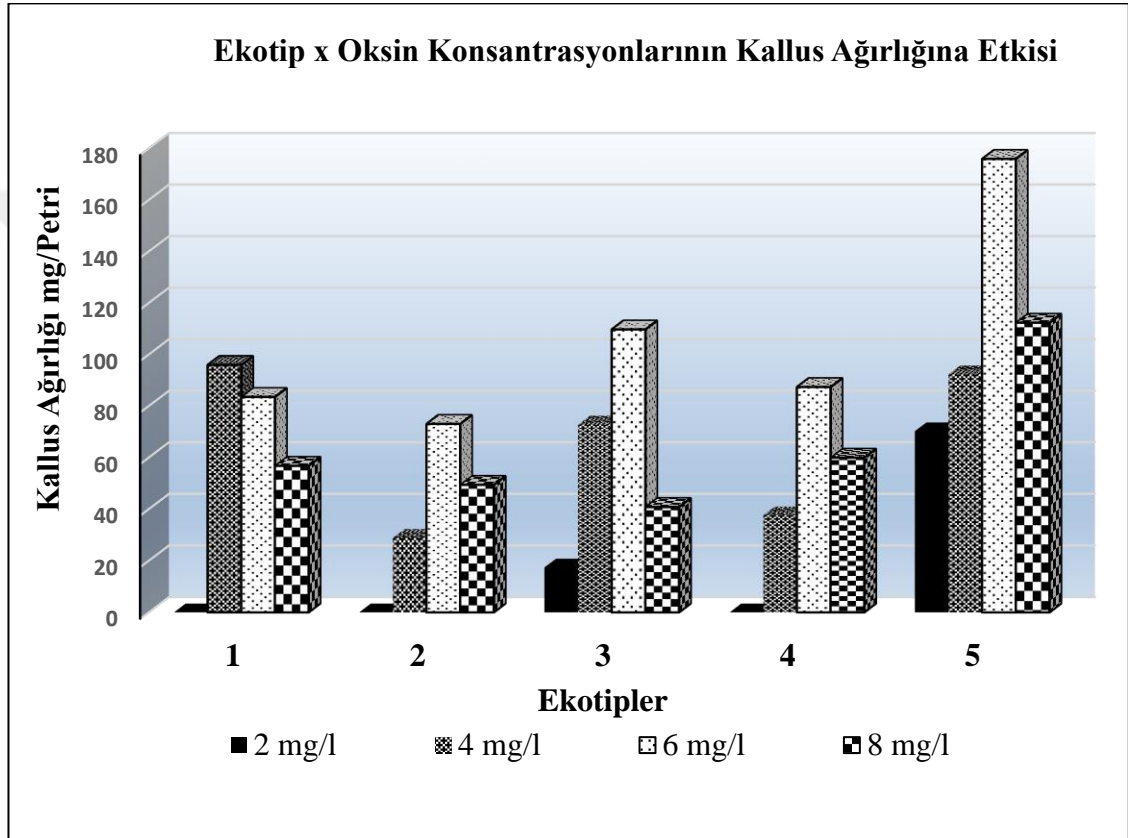
Ekotipler	2,4,5-T konsantrasyonları				Ortalama
	2 mg l ⁻¹	4 mg l ⁻¹	6 mg l ⁻¹	8 mg l ⁻¹	
1	0.00 F*	95.93 BCDE	83.50 BCD	56.75 BCDEF	51.54 B
2	0.00 F	28.85 DEF	73.03 BCDE	49.40 BCDEF	37.82 B
3	17.38 EF	72.75 BCDE	109.70 B	40.82 CDEF	60.16 B
4	0.00 F	37.60 CDEF	87.35 BCD	59.92 BCDEF	46.22 B
5	70.20 CDE	95.25 BC	175.90 A	112.3 B	113.4 A
Ortalama	17.51 C	60.08 B	105.9 A	63.84 B	

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre p≤0,05 hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Kallus oluşum oranında olduğu gibi oksin konsantrasyonunun 6 mg l⁻¹' den itibaren arttıkça veya azaldıkça, kallus ağırlığında da bir azalma eğiliminin ortaya çıktığı saptanmıştır.

Kullanılan 2,4,5-T oksinin 6 mg l⁻¹ konsantrasyon miktarı, ortalama en yüksek kallus ağırlığını 175.90 mg/petri ile 5 numaralı ekotipte oluştururken, 2 mg l⁻¹ oksin konsantrasyonunun en düşük kallus ağırlığını 0.0 mg/petri ile birbirlerinden istatistiki olarak farklı olmayan 1,2 e 4 numaralı ekotiplerde gerçekleştirmiştir. 5 no'lu ekotip besi ortamına

ilave edilen 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının tüm varyantlarında diğer ekotiplere oranla daha yüksek kallus oluşum oranının da olduğu gibi en yüksek kallus ağırlığı gösteren ekotip olmuştur (Şekil 4.8). Ayrıca, 6 mg l⁻¹ oksin konsantrasyonları 1 no'lu ekotip hariç tüm ekotiplerde en yüksek kallus ağırlığı gösteren konsantrasyon olmuştur. Oksin konsantrasyonunun 6 mg l⁻¹' den itibaren arttıkça veya azaldıkça tüm ekotiplerde kallus oluşum oranlarında olduğu gibi kallus ağırlığında da bir azalma ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.8. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının kallus ağırlığına etkisi

2,4,5-T'nin kallus ağırlığı açısından etkinliklerinin ekotiplere bağlı olarak değişmesi; ekotiplerin eksplantatların alınması sırasındaki fizyolojik durumu ile açıklanabilir. Ekotiplerin bu devrede buldukları fizyolojik durum; büyüme düzenleyicilerinin sentezi, taşınması ve yarıyışlılığını etkileyebilir (Vasil, 1987). Diğer taraftan, farklı ekotiplerin farklı oksinleri metabolize edebilme yetenekleri de, farklı oksinlerin farklı ekotiplerde kallus ağırlığı açısından farklı etkinlik göstermelerine neden olabilir (Close ve Ludeman, 1987).

4.2.2. Bitki rejenerasyonu

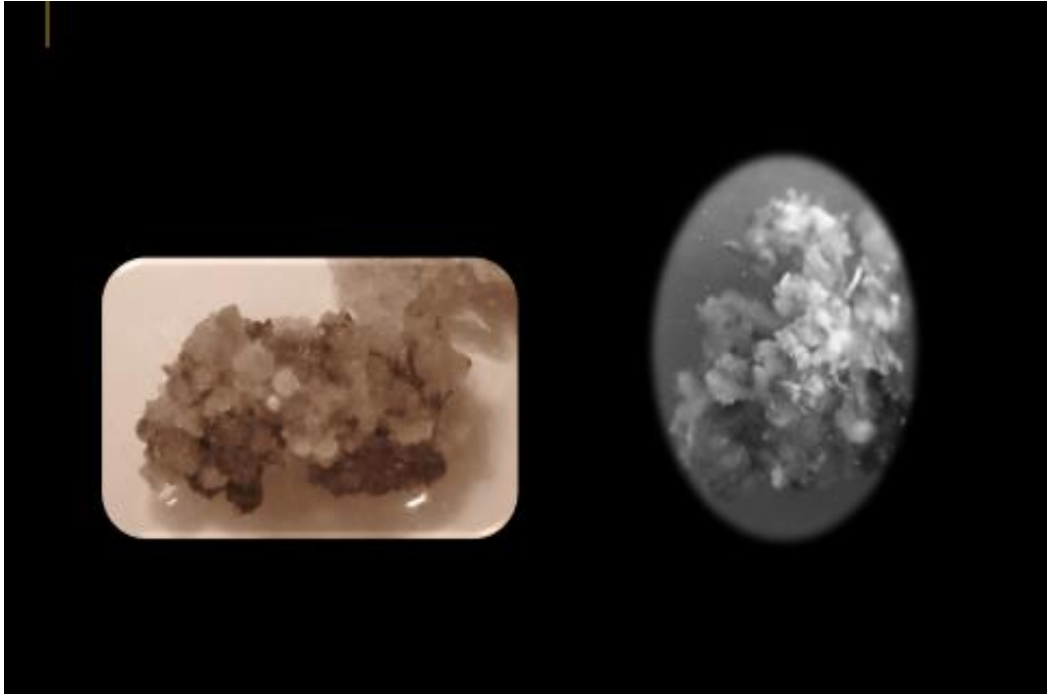
Araştırmada MS besi ortamının 4 farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda kültüre alınan adi yalancıları ekotiplerinin genç çiçek salkımından oluşan kalluslar, kültürler kültür başlangıcından 8 hafta sonra induksiyon ortamından rejenerasyon ortamına aktarılacak hale gelmiştir (Şekil 4.9).

Kültürler rejenerasyon ortamına aktarıldıktan 7-10 gün sonra karanlık koşullarda 7-10 içinde rejenerasyon gerçekleşmiştir (Şekil 4.10).

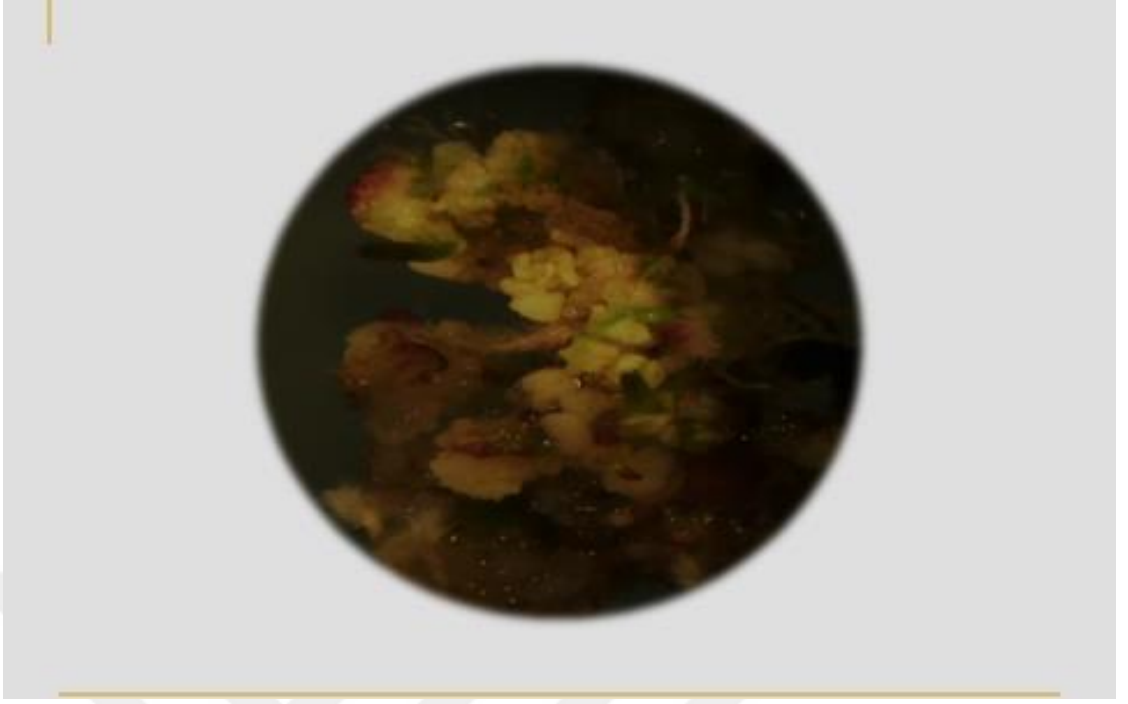
Rejenerasyon ortamında oluşan rejenerantlarda ışıklı iklim odasında 1 hafta içinde yeşil renk oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.11).

Rejenerantlar 3 haftalık süreç sonunda, yaklaşık olarak 10 mm boylanmıştır (Şekil 4.12).

Daha sonra gelişme ortamına aktarılan rejenerantlar üç haftalık kültür sonunda saksıya şaşırtılabilecek büyüklüğe ulaşmışlardır. Saksılara şaşırtılan adi yalancıları bitkileri bir hafta süre ile iklim odasında plastik örtü altında bırakılarak ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Bununla birlikte bazı rejeneratların öldüğü gözlemlenmiştir. Daha sonra iklimlendirilmiş sera koşullarında bitkicikler kardeşlenmişlerdir (Şekil 4.13).



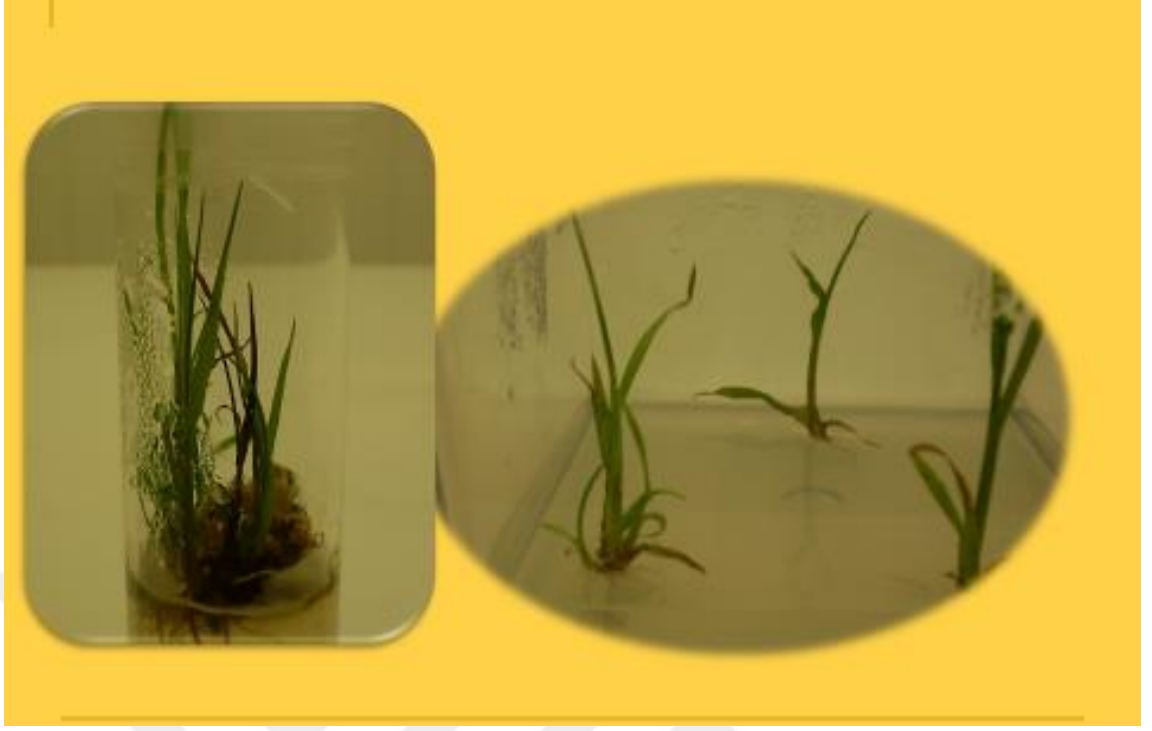
Şekil 4.9. Rejenerasyon ortamına aktarılacak hale gelmiş embriyogenik kalluslar (kültür başlangıcından 8 hafta sonra)



Şekil 4.10. Somatik Embriyolardan Bitki Rejenerasyonu (kültür başlangıcından 9 hafta sonra)



Şekil 4.11. Işık koşullarında klorofil oluşturan bitkicikler (kültür başlangıcından 10 hafta sonra)



Şekil 4.12. Rejenerasyon ortamında 10 mm kadar boylanan bitkicikler (kültür başlangıcından 11 hafta sonra)



Şekil 4.13. Saksıda kardeşlenmiş olan rejenerat (kültür başlangıcından 16 hafta sonra)

4.2.2.1. Rejenerasyon oranı

Dört farklı 2,4,5-T (2,4,5-Triklorofenoksiasetik asit) oksin konsantrasyonunu içeren MS (Murashige and Skoog, 1962) temel besi ortamında kültüre alınan 5 adi yalancıcı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipine ait salkım segmentlerinin rejenerasyon oranlarına uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.9' da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Farklı adi yalancıcı ekotiperinde, oksin konsantrasyonlarının genç salkımlardan oluşan bitki rejenerasyon oranına etkisi ile ilgili varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F Değeri
Tekerrür	3	1.505	4.668
Ekotip	4	6.140	19.043**
Hata-1	12	0.322	
Konsantrasyon	3	7.413	31.542**
Ekotip x Konsantrasyon	12	0.348	1.480*
Hata-2	45	0.235	
GENEL	79		

** $p \leq 0.01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

* $p \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak önemli

Çizelge'de izlendiği gibi yapılan varyans analiz sonuçları; adi yalancıcı bitkisinin genç salkımlarından rejenerasyon oranının ekotiplere, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarına ve ekotipxoksin konsantrasyonu interaksyonuna bağlı olarak önemli derecede değiştiğini ortaya koymuştur.

4.2.2.1.1. Ekotipin rejenerasyon oranı etkisi

Araştırmada 5 ekotipten alınan ve dört farklı besi ortamında kültüre edilen 320 salkım segmentinden tüm varyantların ortalaması olarak petri kutusu başına 3.56, salkım segmenti başına 0.89 adet rejenerant elde edilmiştir. Toplam 320 salkım segmentinden de 284.8 adet bitkicik elde edilmiştir.

Araştırmada kullanılan farklı adi yalancıcı ekotiplerinde ortaya çıkan rejenerasyon oranları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. incelendiğinde; ekotiplere bağlı olarak petri kutusu başına ortalama rejenerasyon oranının 2.00 ile 8.06 arasında değiştiği görülmektedir.

5 numaralı ekotip ortalama 8.06 rejenerasyon oranı ile en yüksek değeri gösteren ekotip olurken, 2 numaralı ekotip 2.00 rejenerasyon oranı ile en düşük rejenerasyon oranı gösteren ekotip olmuştur. Ekotipler arasında iġtatistiki olarak salkım segmenti başına oluşturdukları rejenerant sayısı bakımından bir farklılık görülmemiştir.

Çizelge 4.10. Farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortalama rejenerasyon oranına etkisi (rejenerant/petri)

Ekotip No	Rejenerasyon Oranı
1	2.12 +(1.45) A *
2	2.00 (1.37) A
3	2.94 (1.64) A
4	2.69 (1.60) A
5	8.06 (2.88) A
Ortalama	3.56 (8.94)

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

+ Açı değerleri

Araştırmamızda ortaya çıkan farklı adi yalancıları ekotiplerinin farklı rejenerasyon oranları göstermesi ile ilgili bulgularımız, Lörz ve ark. (1988), Gland ve Hatipoğlu (1989), Hatipoğlu (1993), Can ve ark. (1994),), Can ve ark. (2000), Can ve ark. (2004), Avcı ve Can (2006), Can ve ark. (2008), şener ve ark. (2008), Sisharmini ve ark. (2010), Atis ve ark. (2013),’nın değişik buğdaygillerle sürdürdükleri araştırma bulgularına benzerlik göstermektedir.

Araştırmamızda ekotiplere bağlı olarak rejenerasyon oranının 2.00-8.06 (rejenerant/petri) arasında değişimine ekotiplerin gösterdiği genetik farklılığın neden olabileceği söylenebilir. Bu görüşümüzü; Hatipoğlu,(1995)’ nun aynı tür içerisindeki farklı genotiplerin in-vitro kültürde farklı reaksiyon göstermesine neden olarak genetik farklılığın olabileceği ve in-vitro kültürde reaksiyonun genlerin kontrolü altında olduğu şekildeki görüşlerini desteklemektedir.

4.2.2.1.2. Oksin konsantrasyonlarının rejenerasyon oranına etkisi

Araştırma bulguları, kullanılan oksin konsantrasyonlarının rejenerasyon oranına etkisinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama rejenerasyon oranına etkisi (rejenerant/petri)

Konsantrasyonlar	Rejenerasyon Oranı
2 mg/l	1.25 (1.08) C*
4 mg/l	2.85 (1.70) B
6 mg/l	6.85 (2.57) A
8 mg/l	3.30 (1.79) B
Ortalama	3.56 (1.78)

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

+ Açı değerleri

Araştırmada incelenen 2,4,5-T konsantrasyonlarının rejenerasyon oranı üzerine etkileri, kallus oluşum oranı ve kallus ağırlığı üzerine olan etkilerine benzerlik göstermiştir. 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama 6.85 bitkicik/petri kutusu oranı ile en yüksek rejenerasyon oranı gösteren konsantrasyon olmuştur.

Kallus oluşum oranı ve kallus ağırlığı değerlerinde olduğu gibi rejenerasyon oranında da oksin konsantrasyonunun 6 mg l⁻¹' den yüksek veya düşük olması rejenerasyon oranı değerlerinde bir azalma eğilimini ortaya çıkartmıştır. Nitekim, 4 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda ortalama rejenerasyon oranı 2.85 iken, 8 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda ortalama rejenerasyon oranı 3.30 bitkicik/petri kutusu olarak gerçekleşmiştir ve 4 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonundan istatistiksel olarak farksız bulunmuştur. En düşük ortalama rejenerasyon oranı 2 mg l⁻¹'lik 2,4,5-T oksin konsantrasyonunda ortalama 1.25 bitkicik/petri kutusu olarak gerçekleşmiştir.

Bu sonuçlar, farklı adi yalancıları ekotiplerinin genç salkımlarından kallus oluşumu ve kallus ağırlığında olduğu gibi 6 mg l⁻¹'den daha yüksek veya düşük 2,4,5-T konsantrasyonlarının rejenerasyon oranını da olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir.

Araştırmada rejenerasyon oranının oksin konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız; Gland ve Hatipoğlu (1989), Denchev ve Conger (1994), Can ve ark. (2000), Avcı ve Can (2006), Can ve ark. (2008), Şener ve ark. (2008), Sisharmini ve ark. (2010), Atis ve ark. (2013)'nın bulgularına benzemektedir.

4.2.2.1.3. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının rejenerasyon oranına etkisi

Araştırmada kullanılan farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortaya çıkan ortalama rejenerasyon oranı değerleri, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının etkisinin ekotiplere bağlı olarak etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Farklı adi yalancıları ekotipleri ve 2,4,5-T konsantrasyonlarının ortalama rejenerasyon oranına etkisi (rejenerant/petri).

Ekotipler	2,4,5-T konsantrasyonları				Ortalama
	2 mg/l	4 mg/l	6 mg/l	8 mg/l	
1	0.00 +(0.71)E*	3.25 (1.81)BCD	3.50 (1.93)BCD	1.75 (1.35)BCD	2.12 (1.45)A
2	0.00 (0.71)E	1.50 (1.29)DE	4.25 (2.014)BCD	2.25 (1.46)CDE	2.00 (1.37)A
3	0.00 (0.71)E	2.25 (1.64)BCDE	6.75 (2.63)B	2.75 (1.58)BCDE	2.94 (1.64)A
4	0.00 (0.71)E	1.25 (1.22)DE	6.00 (1.50)BC	3.50 (1.97)BCD	2.69 (1.60)A
5	6.25 (2.59)B	6.00 (2.55)B	13.750 (3.77)A	6.25 (2.60)B	8.06 (2.88)A
Ortalama	1.25 (1.08)C	2.85 (1.70)B	6.85 (2.57)A	3.30 (1.79)B	3.56 (1.78)

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

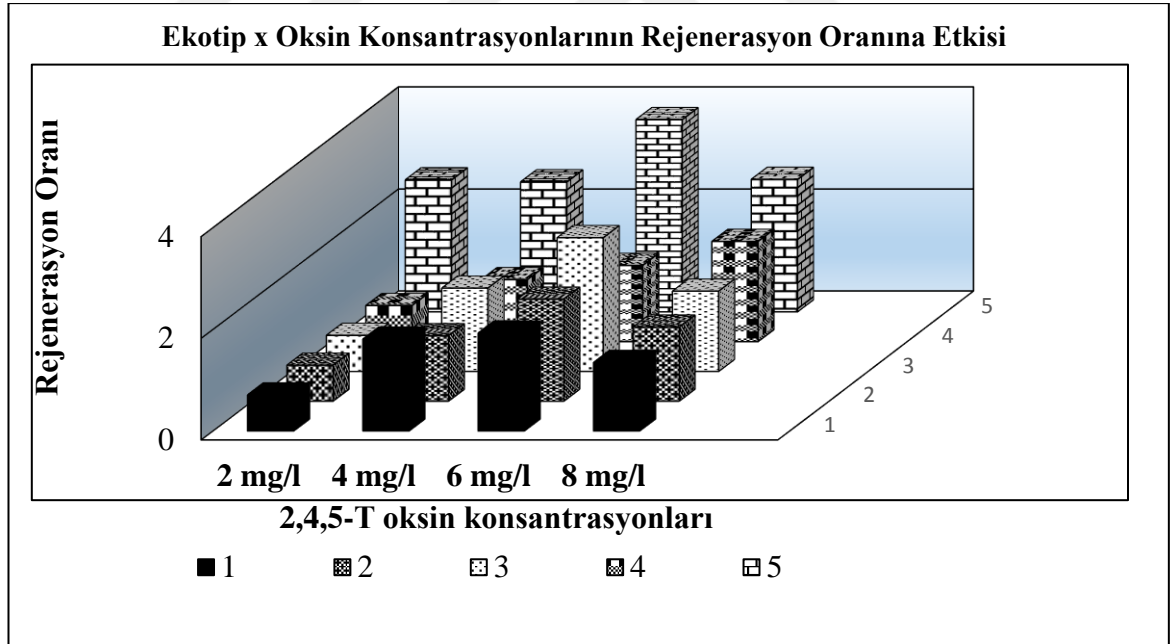
+ Açık değerleri

Araştırmada ekotiplere bağlı olarak ortalama rejenerasyon oranı 2.00 ile 8.06 bitkicik/petri kutusu arasında değişmiştir. 5 numaralı ekotip ortalama 8.06 rejenerasyon

oranı ile en yüksek değeri gösterirken, diğer ekotipler, salkım segmenti başına oluşturdukları rejenerant sayısı bakımından istatistiki olarak bir farklılık göstermemiştir.

Kallus oluşum oranı ve kallus ağırlığında olduğu gibi 6 mg l^{-1} 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama 6.85 bitkicik/petri kutusu ile en yüksek rejenerasyon oranı gösteren konsantrasyon olmuştur. Oksin konsantrasyonunun 6 mg l^{-1} ' den itibaren arttıkça veya azaldıkça, kallus oluşum oranında ve kallus ağırlığında görüldüğü gibi rejenerasyon oranında da bir azalma eğiliminin ortaya çıktığı saptanmıştır.

Kullanılan 2,4,5-T oksinin 6 mg l^{-1} konsantrasyon miktarı, en yüksek ortalama rejenerasyon oranı 13.75 bitkicik/petri kutusu ile kallus oluşum oranı ve kallus ağırlığında olduğu gibi 5 numaralı ekotipte oluştururken, en düşük rejenerasyon oranı 0.0 bitkicik/petri kutusu ile 1,2,3 ve 4 no'lu ekotiplerin 2 mg l^{-1} oksin konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. 5 no'lu ekotip besi ortamına ilave edilen 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının tüm varyantlarında diğer ekotiplere oranla daha yüksek rejenerasyon oranı gösteren ekotip olmuştur (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Ekotip x oksin konsantrasyonlarının etkisi

Ayrıca, 6 mg l^{-1} oksin konsantrasyonları tüm ekotiplerde en yüksek rejenerasyon oranı gösteren konsantrasyon olmuştur. Oksin konsantrasyonunun 6 mg l^{-1} ' den itibaren

arttıkça veya azaldıkça tüm ekotiplerde rejenerasyon oranlarında bir azalma ortaya çıkmıştır.

Rejenerasyon oranı bakımından ekotip x konsantrasyon interaksyonunun istatistiksel olarak önemli derecede farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Metzinger ve ark. (1987), Artunduaga ve ark. (1988), Molenaar ve ark. (1988), Can ve ark. (1994), Can ve Hatipoğlu (2000), Can ve ark. (2004), Avcı ve Can (2006), Can ve ark. (2008), Şener ve ark. (2008), Sisharmini ve ark. (2010), Atis ve ark. (2013)'nın bulgularını desteklemektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda, Adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* P.) bitkisinin somatik kromozom sayısının belirlenmesi genç salkımlarının *in-vitro* kültürde eksplantat olarak kullanılması ve rejenere olabilir kallus kültürlerinin elde edilmesi ile *in-vitro* kültürden yararlanma imkanları amaçlanmıştır

Araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

Araştırmadan elde edilen bulgular; adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipinde yapılan somatik kromozom sayımları; ekotiplerin $2n=4x=40$ kromozomlu olduğunu ortaya koymuştur. Bölgedeki adi yalancıdarı popülasyonunun tetraploid formda olduğunu ve $2n=4x=40$ kromozom sayısına sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla farklı ploidi seviyesine ait bitkilerin de bulunabileceğini söylenebilir.

Dört farklı 2,4,5-T (2,4,5-triklorofenoksiasetik asit) oksin konsantrasyonunu içeren MS (Murashige and Skoog, 1962) temel besi ortamında kültüre alınan 5 adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipine ait salkım segmentlerinin kallus oluşturma kallus indüksiyonu, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranı açısından önemli varyasyon olduğunu ortaya koymuştur.

Ekotiplere bağlı olarak ortalama kallus oluşum oranının % 29.7 ile % 68.7 arasında değiştiğini, 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama % 71.2 kallus oluşum oranı ile en yüksek kallus oluşum oranı gösteren konsantrasyon olduğunu ve oksin konsantrasyonun 6 mg l⁻¹'den itibaren arttıkça veya azaldıkça, kallus oluşum oranında bir azalma eğiliminin ortaya çıktığı saptanmıştır. Ayrıca, araştırmada kullanılan farklı adi yalancıdarı ekotiplerinde ortaya çıkan ortalama kallus oluşum oranı, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının etkisinin ekotiplere bağlı olarak etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir. 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamında 5 numaralı ekotipten alınan salkım segmentleri ortalama % 67.8'lik kallus oluşum oranıyla 1,2 ve 4 no'lu ekotiplerin salkım segmentlerinden oluşan kallus oluşum oranlarına göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek kallus oluşum oranı göstermiştir.

Ekotiplere bağlı olarak petri kutusu başına oluşan ortalama kallus ağırlığı 37.82 ile 113.40 (mg/petri) arasında değişmiştir. Genellikle ekotiplere bağlı olarak kallus

ağırlığının değişimi kallus oluşum oranındaki değişime benzerlik göstermiştir. 2,4,5-T konsantrasyonlarının kallus ağırlığı üzerine etkilerinin, kallus oluşum oranı üzerindeki etkilerine benzerlik göstermiştir. 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama % 105.9 mg/petri kallus ağırlığı ile en yüksek kallus ağırlığı gösteren konsantrasyon olmuştur. 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamında kallus oluşum oranında olduğu gibi 5 numaralı ekotipten alınan salkımlar, 1,2, 3 ve 4 no'lu ekotiplerden alınan salkımlara göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek kallus ağırlığı göstermiştir.

Araştırmada 5 ekotipten alınan ve dört farklı besi ortamında kültüre edilen 320 salkım segmentinden tüm varyantların ortalaması olarak petri kutusu başına 3.56, salkım segmenti başına 0.89 adet rejenerant elde edilmiştir. Toplam 320 salkım segmentinden de 284.8 adet bitkicik elde edilmiştir. Ekotiplere bağlı olarak petri kutusu başına ortalama rejenerasyon oranının 2.00 ile 8.06 arasında değiştiği görülmektedir. 2,4,5-T konsantrasyonlarının rejenerasyon oranı üzerine etkileri, kallus oluşum oranı ve kallus ağırlığı üzerine olan etkilerine benzerlik göstermiştir. 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T oksin içeren besi ortamı ortalama 6.85 bitkicik/petri kutusu oranı ile en yüksek rejenerasyon oranı gösteren konsantrasyon olmuştur. Araştırmada kullanılan farklı adi yalancıları ekotiplerinde ortaya çıkan ortalama rejenerasyon oranı değerleri, besi ortamına ilave edilen farklı 2,4,5-T oksin konsantrasyonlarının etkisinin ekotiplere bağlı olarak etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, 2,4,5-T oksinin 6 mg l⁻¹ konsantrasyon miktarı, en yüksek ortalama rejenerasyon oranı 13.75 bitkicik/petri kutusu ile kallus oluşum oranı ve ve kallus ağırlığında olduğu gibi 5 numaralı ekotipte oluşmuştur.

Araştırma sonuçları, kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonunun ekotiplere ve 2,4,5-T konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur. Ekotiplere bağlı olarak kallus oluşum oranı % 32.8 ile % 68.7, petri kutusuna başına kallus ağırlığı 37.82 ile 113.4 mg ve petri kutusu başına gerçekleşen rejenerat sayısı 2.00 ile 8.06 arasında değişmiştir. En yüksek kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonu 6 mg l⁻¹ 2,4,5-T konsantrasyonundan sağlanmıştır.

KAYNAKLAR

- Ahlowalia, B.J., 1984. Forage Grasses. In: Handbook of Plant Cell Culture, Ammirato, P.V.J., EvanS, D.A., Sharp, W.R. and Yamada, Y. (Eds), Vol. 3: 91-125, **Mc Millian Pub.** Comp., New York, London.
- Ahn, B.J., Huang, F.H. ve King, J.W., 1985. Plant Regeneration through Somatic Embryogenesis in Common Bermudagrass Tissue Culture. **Crop. Sci.** 25: 1107-1109.
- Ahn, B.J., Huang, F.H. ve King, J.W., 1987, Regeneration of Bermudagrass Cultivars and Evidence of Somatic Embryogenesis. **Crop Sci.** 27: 594-597.
- Akashi, R. ve Adachi, T 1992. Plant Regeneration from Suspension Cultured-Derived Protoplast of Apomictic Dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) **Plant Science Limeric.** 82:2, 213-218.
- Algül, B.E., Tekintaş, F.E., and Dalkılıç, G., 2016. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Kullanımı ve İçsel Hormonların Biyosentezini Arttırıcı Uygulamalar. Adnan Mend. Üniv. **Zir. Fak. Der.** 13(2): 87-95.
- Alinoğlu, N. 1984 Investigations on The Effect of Grazing and Complete Rest Treatmenrs on Range Vegetation. In: Grassland and Animal Hunbandry Research Institute Research Activities, Edited By Karabulut, A. and Munzur, M. Ministry of Agriculture Forestry and Village Affairs Grassland and Animal Husbandry **Research Institute Pub.** 97,pp. 13-16.
- Alinoğlu, N. ve Mülayim, M. 1984. Investigations on Effects of Some Fertilizers on Green Grass Yields of Natural Pasture and Meadow in Ankara Conditions. In: Grassland and Animal Hunbandry Research Institute Research Activities, Edited By Karabulut, A. and Munzur, M. Ministry of Agriculture Forestry and Village Affairs Grassland and Animall Husbandry **Research Institute Pub.** 97, pp.17-18
- Altın, M. 1975. Erzurum Şartlarında Azot, Fosfor ve Potasyumlu Gübrelerin Tabii Çayır ve Mer'anın Ot Verimine, Otun Ham Protein ve Ham Kül Oranına ve Bitki Kompozisyonuna Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. **A.Ü: Basım Evi** Araştırma Serisi No: 95 Erzurum.
- Altındal, N. ve Akgün, İ. 2019. Çavdarda (*Secale cereale* L.) Anter Kültüründe Kallus Oluşumu ve Bitkicik Rejenerasyonu Üzerine Genotip, Soğuk Uygulama ve Besin Ortamlarının Etkisi. **Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi**, Sayı 16, S. 559-566.
- Artunduaga, I.R., Taliaferro, C.M. and Johnson, B.L. 1988. Effects of Auxin Concentration on Induction and Growth of Embriyogenic Callus from Young Inflorescence Explants of Old World Bluestem (*Bothriochloa* spp.) and Bermuda (*Cynodon* spp.) Grasses. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.**; 12,1, 13-19.
- Atis I, Can E, Celiktas N and Hatipoglu, R. 2013. Effects of genotype and 2,4,5-T concentrationson callus induction, shoot formation and plant regeneration from young inflorescences in orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, 11 564-567.
- Avcı S and Can E, 2006. Efficient somatic embriyogenesis from immature inflorescences of dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) **Propagation of Ornamental Plants.** Vol. 6, No. 3: 134-139.

- Bovo, O.A and Mroginski, L.A, 1989. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Cultured Mature and Immature Embryos of *Paspalum notatum* Gramineae. **Plant-Science-Limerick**, 65: 2, 217-223; 38 ref.
- Bovo, O.A and Mroginski, L.A.,1986. Tissue Culture in *Paspalum (Graminea)*: Plant Regeneration from Cultured Inflorescences. *J. Plant Physiol.* 124: 481- 492
- Brettel, R.I.S., Wernicke, W. ve Thomas, E., 1980. Embryogenesis from Cultured Immature Inflorescences of *Sorghum bicolor*. **Protoplasma** 104: 141-148
- Burson BL, 1991. Genome relationships between tetraploid and hexaploid biotypes of dallisgrass, *Paspalum dilatatum*. **Bot Gaz.** 152:219–223.
- Burson BL, 1995. Genome relationship and reproductive behavior of intraspecific *Paspalum dilatatum* hybrids:yellow-anthered X Uruguaiana. **Int J Plant Sci.** 156: 326–331.
- Burson BL, Lee H, and Bennett HW, 1973. Genome relations between tetraploid *Paspalum dilatatum* and four diploid *Paspalum* species. **Crop Sci.** 13:739–743.
- Burson, B.L., 1992. Cytogenetic relationships between *Paspalum dilatatum* and *P. cromoerhizon*, *P. indecorum*, and *P. laxum*. **Int J Plant Sci.** 153 (2): 244-249.
- Can E, Celiktaş N, Hatipoğlu R, Yılmaz S, Avcı S (2004) Effects of genotype and concentrations of dicamba on callus induction and plant regeneration from young inflorescences of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). **Biotechnology and biotechnological equipment** 18(2):52-57.
- Can E, Çelikaş N and Hatipoğlu R, (2008) Effect of auxin type and concentrations in different media on the callus induction and shoot formation of crested wheatgrass (*Agropyron cristatum* (L.) Gaertn). **Biotechnol Biotechnol Equip.** 22:782–786.
- Can, E., and Hatipoğlu, R. 2000. Besi Ortamı, Oksin Çeşidi ve Konsantrasyonunun Sarı Sakal otu (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng) Bitkisinin Genç Salkımlarından Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Etkisi." **Turk J Agric For** 24 (2000): 221-230.
- Can, E., Çelikaş, N. and Hatipoğlu, R. 2000. Adi Yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) Bitkisinin Genç Salkımlarından Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Genotip ve 2, 4-D Konsantrasyonunun Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. **Turk J Agric For**, 24: 113-119.
- Can, E., Tükel, T. ve Hatipoğlu, R. 1994. Domuz Ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) Bitkisinin Genç Salkımlarının İn Vitro Kültürde Eksplantat Olarak Kullanılma Olanakları Üzerinde Bir Araştırma. **Tarla Bitkileri Kongresi Cilt II Bitki Islahı Bildirileri** S:254-256. Bornova/İzmir.
- Carnahan, H.L. ve Hill, H.D., 1961. Cytology and Genetics of Forage Grasses. **Bot. rev.** 27(1): 1-161
- Casa AM, Mitchell SE, Lopes CR and Valls JFM, 2002. RAPD analysis reveals genetic variability amongsexual and apomitic *Paspalum dilatatum* Poiret bio-types. **J Hered** 93:300–302.
- Chen, C.H., Stenberg, N.E. ve Ross, J.G., 1977. Clonal Propagation of Big Bluestem by Tissue Culture. **Crop Sci.** 17: 847-850
- Cınar, S.,and Hatipoğlu, R. (2014). Forage yield and botanical composition of mixtures of some perennial warm season grasses with alfalfa (*Medicago sativa* L.) under Mediterranean conditions. **Turkish Journal of Field Crops** 19 (1): 13-18.
- Cınar, S.,Hatipoğlu,R., Gundel, F.D., Aktas, A. and Avcı. M. 2014. Performances of Some Perennial Warm Season Grasses Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Mixtures

- Under Mediterranean Conditions, **Turkish Journal of Field Crops**, 19 (2) ISSN 1301-1111 p:221-227.
- Close, K.R. and Ludeman, L.A. 1987. The Effects of Auxin Like Plant Growth Regulators and Osmotic Regulation on Induction of Somatic Embryogenesis from Elite Maize Inbreds. **Plant Sci.** 52:81-89.
- Conger, B. V. ve Hanning, G.E., 1992. Registration of Embryogen-P Orchardgrass Germplasm with a Hig Capacity for Somatic Embryogenesis from İn-vitro Cultures. **Plant Breeding Abstracts** vol. 62 No. 5.
- Conger, B.V. ve Carabia, J.V., 1978. Callus Induction and Plantlet Regeneration in orchardgrass. **Crop Sci.** 18:157-159.
- Conger, B.V., Hanning, G.E., Gray, D.J. ve Mcdaniel, J.K., 1983. Embryogenesis from Mesophyll Cells of Orchardgrass. **Science** 221: 850-851.
- Cook, B.G., Pengelly, B.C., Brown, S.D., Donnely, J.L., Eagles, D.A., Franco, M.A., Hanson, J., Mullen, B.F., Partridge, I.J., peters, M., Schultze-Kraft, R., 2005. Tropical Forages: an interactive selection tool..CSIRO, DPI&F(Qld), **CIAT and ILRI**, Brisbane, Australia.
- Çeliksaş, N. 2001. Korunga (*Onobrychis sativa* L.) Islahında İn-vitro kültür tekniklerinden yararlanma olanakları üzerine bir araştırma Doktora Tezi **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Adana.
- Çeliksaş, N. ve Hatipoğlu, R. 1997. Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Anter Kültüründe Genotip, Soğuk Uygulama Süresi ve Besi Ortamı 2,4-D İçeriğinin Etkisi. **Ç:Ü:Z:F. Dergisi** . 12(2) 163-172.
- Dale, P.J. 1980. Emryoids from Cultured Immature Embryos of *Lolium multiflorum*. **Z. Pflanzenphysiol.** 100:73-77.
- Dale,P.J. and Dalton, S.J. 1983. Immature Inflorescence Culture in *Lolium*, *Festuca*, *Phleum* and *Dactylis*. **Z.Pflanzenphysiol.** 111:39-45.
- Denchev, P.D. and Conger, B.V. 1994. Plant Regeneration from Callus Cultures of Switchgrass. **Crop Sci.** 34.6, 1623-1627.
- Eizenga, C. ve Dahleen, L.S., 1991. Callus Production Regeneration and Eveluation Plants from Cultured İnflorences of Tall fescue (*Festuca arundinacea* Scrb). **Plant Breeding Abstracts** vol. 61 No. 6
- Elçi Ş., 1982. Sitogenetikte Gözlemler ve Araştırma Yöntemleri, Fırat Üniversitesi, **Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji** No. 3, Elazığ.
- Erkoyuncu Tanur, M.,Yorgancılar, M. 2016. Efficient Callus Induction and Plant Regeneration from Mature Embryo Culture of Barley (*Hordeum vulgare* L.) Genotypes. 18th International Conference on Agricultural, **Biotechnology, Biological and Biosystems Engineering**, 01-02 June, Dubai-UAE.
- Galiba, G., Kovacs, G., and Sutka, J., 1986. Substitution Analysis of Plant Regeneration from Callus Culture in Wheat. **Plant Breeding.**97: 261-263.
- Gland, A und Hatipoğlu, R. 1989. Einsatz der Biotechnologie zur Entwicklung Dürreresistenter Gerstengnotype und zur Verbesserung Von Weidegrasern für den Anbauin der Türkei. Wissenschaftlike Ergebnisse Deutsch-Turkisher Universitaetparthnerschafter in Agrarbereich, **Deutsch-Turkisches Symposium** in Bornova-izmir/Türkei Vom 26 bis 30September, S. 274-285
- Hatipoğlu, R. 1991. Untersuchungen über die Zytologischen Eigenschaften und In-Vitro-Kulturmöglichkeiten von Zwei Wild Vokommeenden Grasarten, *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf und *Dactylis glomerata* L., aus dem **Çukurova Gebiet, Südtürei. Dissertation an der Universitaet Hohenheim.**

- Hatipoğlu, R. 1992. Tüylü Sakalotu (*Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf) Genç Salkımlarının İn Vitro Kültüründe Salkım Uzunluğunun Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Etkisi **Ç.Ü.Z.F. Dergisi** 7, (3): 153-166.
- Hatipoğlu, R. ve Doğramacı, M., 1995. Die Wirkungen von Genotyp, Kulturmedium Sowie Gelierstoff auf die Antherenkultur von Weizen. Deutsch-Türkische Agarforschung-Deutsche-Türkisches Symposium, 12-12 September, Ankara, pp: 139-146, **Verlag Ulrich E. Grauer**, Stuttgart.
- Hatipoğlu, R. ve Tükel, T., 1996. Çukurova Bölgesinin Doğal Buğdaygil Bitkilerinde Somatik Kromozom sayısının saptanması Üzerinde Bir Araştırma **Ç.Ü.Z.F. Dergisi** 11, (2): 105-114.
- Hatipoğlu, R., 1995. Biyoteknolojiye Giriş **Ç.Ü.Z.F. Ders Kitabı** No: 129.
- Hatipoğlu, R., Hesemann, C.U. ve Gland, A., 1992. Çukurova Üniversitesi Kampüsü İçindeki Doğal Mer'alardan Toplanan domuz Ayrığı (*Dactylis glomerata* L.) Populasyonunuda Sitolojik Araştırmalar. **Ç.Ü.Z.F. dergisi** 7, (4): 141-156.
- Hatipoğlu, R., Hesemann, C.U., ve Gland, A., and Tükel, T., 1993. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration From Immature Inflorescences of *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf. **Proceedings of the XVII. International Grassland congress** 13-16 February, Session 27-51, pp: 1036-1038.
- Hatipoğlu, R., ve Tükel, T., 2009. Darılar, Buğdaygil ve Diğer familyalardan Yem Bitkileri, (Avcioğlu, R., Hatipoğlu, R., Karadağ, YEdit.) **Cilt III. TÜGEM, Emre Basımevi**, İzmir, s: 718-721
- Hill, H.D ve Myers, W.M., 1945. A Schedule Including Cold Treatment to Facilitate Somatic Chromosome Counts in Certain Forage Grasses, **Stain Techn.**, Vol. 20. No:3, 89-92.
- Lesins, K. and Lesins, I., 1972. Taxonomy and Cytogenetics of *Medicago*. In C.H. Hanson (ed.) Alfalfa Science and Technology. **Agronomy** 15 : 53-86.
- Lörz, H., Gobel, E. and Brown, P., 1988. Advances in Tissue Culture and Progress towards Genetic Transformation of Cereals. **Plant Breeding**, 100: 1-25.
- Maddock, S.E. Lancaster, V.A. Risiott, R. ve Franklin, J., 1983. Plant Regeneration from Cultured Immature Embryos and Inflorescences of 25 Cultivars of Wheat (*Triticum aestivum* L.). **J. Exp. Bot.** 34(144): 915-926
- Magali F. Grando ., Chandra I. Franklin., Robert G. Shatters J.R, 2002. Optimizing Embryogenic Callus Production and Plant Regeneration from 'Tifton 9' Bahiagrass Seed Explants for Genetic Manipulation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, 71 (3): 213-222
- Malini, N., Anandakumar, C.R., Gnanam, R. ve Ramakrishnan, SH.,2018. Effect of harmones on callus induction in Maize (*Zea mays* L.) Journal of Applied and Natural Science 10 (1):202-209.
- Manivannan A., Kaul J., Singode A. and Dass S. 2010. Callus induction and regeneration of elite Indian maize Inbreds. **Afr. J. Biotechnol.**, 9: 7446-7452.
- Marsolais, A.A. and Kasha, K.J., 1985. Callus Induction from Barley Microspores. The Role of Sucrose and Auxin in a Barley Anther Culture Medium. **Can. J. Bot.** 63: 2209-2212.
- Metzinger, B.D., Taliefferro, C.M., Johnson, B.B. and Mitchell JR.E.D. 1987. İn-vitro Regeneration of Apomictic Bluestem Grasses. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.**; 10,1, 31-38.
- Molenaar, C.J., Loeffen, J.P.M. ve Van Der Valk, P.,1988. The Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Donor Plant Environment on Plant

- Regeneration from Immature Inflorescence Derived Callus of *Lolium perenne* and *Lolium multiflorum*. **Plant Sci.** 57:165-172
- Molinari, L., Busti, A., Pupilli, F and Arcioni, S, 2001. Plant Regeneration from Callus of the Apomictic Grass *Paspalum simplex*. **Proceedings of the XLV Italian Society of Agricultural Genetics - SIGA Annu Congress SALSOMAGGIORE TERME, ITALY - 26/29**
- Murashige, T., Skoog S., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture , **Physiol. Plants**, 15, 473—497.
- Myer, J.R., 1945. Prefixing With Paradichlorobenzene to Facilitate Chromosome Study, **Stain Techn.**, Vol. 20, No : 4, 121-125.
- Myers, W.M., 1947. Cytology and Genetics of Forage Grasses. **Bot. Rev.** 13(6-7): 319-421.
- Nakamura, C. ve Keller, W.A., 1982. Callus Proliferation and Plant Regeneration from Immature Embryos of Hexaploid Triticale. **Z. Pflanzenzüchtg.** 88: 137-160
- O' Mara, J.G. 1948. Acetic Acid Methods for Chromosome Studies at Prophase and Metaphase in Meristems, **Stain Techn.**, 23: 201-204.
- Ozcan S, Yıldız M, Sancak C, Ozgen, M. 1996. Adventitious shoot regeneration in sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.). **Turkish Journal of Botany** 20:497-501.
- Özcan, S., Barghchi, M., Firek, S. and Draper, J. 1992. High frequency adventitious shoot regeneration from immature cotyledons of pea (*Pisum sativum* L.). **Plant cell reports**, 11(1), 44-47.
- Özcan, S., Barghchi, M., Firek, S. And Draper, J. 1993. Efficient adventitious shoot regeneration and somatic embryogenesis in pea. **Plant cell, tissue and organ culture**, 34(3), 271-277.
- Özkan U, Şahin Demirbağ N, 2016. Türkiye’de kaliteli kaba yem kaynaklarının mevcut durumu. **Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi**, 9 (1): 23-27.
- Pareddy, D.R. ve Petolino, J.F., 1990. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Immature Inflorescences of Several Elite Inbreds of Maize. **Plant Sci.** 67: 211-219
- Ramgareeb, S., Watt, M.P., Cooke, A.J. 2001. Micropropagation of *Cynodon dactylon* from leaf and nodal segments. **South African Journal of Botany** 67, 250 – 257.
- Salehi, H., & Kosh-Khui, M. 2005. Effects of genotype and plant growth regulator on callus induction and plant regeneration in four important turfgrass genera: A comparative study. **Vitro Cellular and Developmental Biology Plant**, 41, 157–161.
- Rhodes, C.A. Green, C.E. and Phillips, R.L., 1986., 1986. Factors Affecting Tissue Culture Iniation from Maize Tassells. **Plant Sci.** 46: 225-232.
- Sabancı, C. O., Yavuz T. 2015. Çayır-mer’alarımızın korunması ve kullanımında değişimler ve yeni gelişmeler, **Türkiye Ziraat Mühendisliği VIII. Teknik Kongresi**, Bildiriler Kitabı 12-16 Ocak, 154-160. Ankara.
- Sass, J.E., 1951. **Botanical Microtechnique**, the Iowa, State College Press, Press Building, **Ames, Iowa**. U. S. A. 106-107.
- Sisharmini, A., A. Apriana, dan Sustiprijatno 2010. Induksi kalus dan regenerasi beberapa genotipe gandum (*Triticum aestivum* L.) secara in-vitro. **J. AgroBiogen**,6(2):57-64.
- Şener O, Can E, Arslan M, Çelikleş N. 2008. Effects of genotype and picloram concentrations on callus induction and plant regeneration from immature

- inflorescence of spring barley cultivars (*Hordeum vulgare* L.). **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, 22(4): 915–920
- Thomas, M.R. ve Scott, K.J., 1985. Plant Regeneration by Somatic Embryogenesis from Callus Initiated from Immature Inflorescences of *Hordeum vulgare* .**J. Plant Physiol.** 121: 159-169
- Topaktaş, M. ve Rencüzoğulları, E. 1995. Sitogenetik Ders Kitabı **Ç.Ü.Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji** ISBN 975-487-026-8.
- Tosun, F., Manga, İ., Altın, M. ve Serin, Y. 1975. Erzurum Şartlarında Kıraç Mer'a Islahı Üzerinde Bir Araştırma. **Tübitak v. Bilim Kong. TOAG.**
- Tosun, F.. 1974. Baklagil ve buğdaygil yembitkileri kültürü. Atatürk Üni. Yay. No:242. Zir. Fak. Yay. No: 123. Ders Kit Seri No: 8. Erzurum.
- Tuik,2018.<https://www.google.com.tr/webhp?sourceid=chrome-instant&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=tuik%20mera%20alan%C4%B1>.
- Tükel, T. ve Hatipoğlu, R., 1987. Çukurova Koşullarında Farklı Azot Dozlarının Tüylü Sakalotu (*Hyparrhenia hirta* (L.) Staff) ’ un Baskın Olduğu Doğal Bir Mer’anın Verim ve Botanik Kompozisyonuna Etkisi Üzerinde Bir Araştırma. **Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi** Cilt 2 (1): 10-24
- Tükel, T. ve Hatipoğlu, R., 2017. **Çayır Mer’a Amenajmanı .Ç.Ü. Ziraat Fakültesi genel yayın no:191, Ders Kitapları yayın no:A-59.**
- Vasil, I.K ve Vasil, V., 1986. Regeneration in Cereal and Other Grass Species. In: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, **VASIL, I.K (Ed.)**, Vol. 3: 121-150, Academic Press, Inc.
- Vasil, I.K., 1987. Developing Cell and Tissue Systems for the Improvement of **Cereal and Crops. J. Plant Physiol.** 128: 193-218.
- Vikrant and Rashid, 2001. Direct as well as İndirect Somatic Embryogenesis from İmmature (unemerged) İnflorescence of a Minor Millet *Paspalum scrobiculatum* L. **Euphytica** 120 (2): 167-172, 2001
- Watson, V.H.,and Burson, B.L., 1985. Dallisgrass. In: Forages, M.E. heath, R.F. Barnes,D.S. Metcalfe (eds), pp: 259-262, **Iowa State University Pres**, Iowa.
- Wernicke W, Grost J, Molkovits L 1986. The ambiguous role of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in wheat tissue culture. **Physiologia Plantarum** 68:597-602.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Diyarbakır'da doğdum. İlk, Orta ve Lise eğitimimi Diyarbakır'da tamamladım. Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü'nü 2010 yılında kazandım. 2014 yılında mezun oldum. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimime başladım.

