

T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇELTİKTE (*Oryza sativa* L.) ENDOSPERM DESTEKLİ OLGUN EMBRİYO
KÜLTÜRÜNDE KALLUS OLUŞUMU VE BİTKİ REJENERASYONUNA TOHUM
İRİLİĞİNİN ETKİSİ

Aybuke Sultan KOCA

OCAK

2015

T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇELTİKTE (*Oryza sativa* L.) ENDOSPERM DESTEKLİ OLGUN EMBRİYO
KÜLTÜRÜNDE KALLUS OLUŞUMU VE BİTKİ REJENERASYONUNA TOHUM
İRİLİĞİNİN ETKİSİ

Aybuke Sultan KOCA

Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. A. Murat ÖZGEN
ANKARA

OCAK

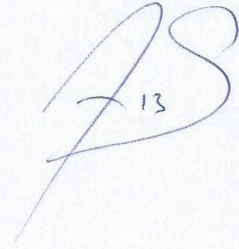
2015

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmamın; akademik kural ve etik ilkelere bağlı kalınarak hazırlandığını, çalışmada yararlanılan ve bu çalışma ürünü olmayan bütün bilgiler için kaynak yayınlara atıfta bulunulmuş olduğunu beyan ederim.

Aybuke Sultan KOCA


İmzası

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized letters 'A' and 'S' with the number '13' written in the middle.

ONAY

Prof. Dr. A. Murat ÖZGEN danışmanlığında Aybuke Sultan KOCA tarafından hazırlanan bu çalışma Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. (Prof.) A. Murat ÖZGEN

İmza: 

Üye: Prof. Dr. (Prof.) M. Sait ADAK

İmza: 

Üye: Doç. Dr. (Assoc. Prof.) Sertaç ÖNDE

İmza: 

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Aykut ÖZKUL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Çeltikte (*Oryza sativa* L.) Endosperm Destekli Olgun Embriyo Kültüründe Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Tohum İriliğinin Etkisi

Aybuke Sultan Koca

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Danışman: Prof. Dr. A. Murat Özgen

Tescilli 10 çeltik çeşidinin (Aromatik-1, Çakmak, Durağan, Edirne, Efe, Gala, Halilbey, Neğiş, Osmancık-97, Şumnu) olgunlaşmış embriyolarının bitki materyali olarak kullanıldığı bu araştırma 2013-2014 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütüldü. *In vitro* koşullarda bu 10 çeltik çeşidi büyük ve küçük olarak iki gruba ayrıldı. Kallus oluşumu için 8 ml/l 2,4- D (2,4 Diklorofenoksiasetik asit) içeren sıvı MS ortamı ve bitki rejenerasyonu için 20 g/l sükroz ve 7 gr/l agar içeren katı MS ortamı kullanıldı.

Çalışmada, kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi parametreleri belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre iri tanelilerde kallus oluşumu % 96,7-100,0; kallus ağırlığı 0,468-0,837 gr, rejenerasyon kapasitesi % 42,0-86,7 kültür etkisi % 40,0-86,7 arasında belirlendi. Küçük tanelilerde ise bu değerler sırasıyla kallus oluşumu % 93,4-100,0; kallus ağırlığı 0,326-0,581 gr; rejenerasyon kapasitesi % 36,0-63,3; kültür etkisi 33,3-63,3 olarak belirlendi.

Çeltikte tane iriliğinin bitki rejenerasyonuna etkili olduğu, büyük tanelerin rejenerasyon kapasitesinin daha yüksek olduğu saptandı.

2015, 72 sayfa

Anahtar kelimeler: Çeltik, *Oryza sativa* L, tohum iriliği, kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu

ABSTRACT

MSc Thesis

Effect of Seed Size on Plant Regeneration of Callus From Endosperm- Supported Mature Embryos of Rice (*Oryza sativa* L)

Aybuke Sultan Koca

Ankara University Biotechnology Institute

Prof. Dr. A. Murat Özgen

This study was carried out in University of Ankara, Faculty of Agriculture, Department of Field Crops, Biotechnology Laboratory during 2013-2014, mature embryos of 10 registered rice (*Oryza Sativa* L.) varieties (Aromatik-1, Çakmak, Durağan, Edirne, Efe, Gala, Halilbey, Neğiş, Osmancık-97, Şumnu) were used as plant material. These 10 rice varieties were seperated into 2 groups as small and large in *in vitro* conditions. Liquid MS medium including 8 mg/l 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) was used for callus induction. For plant regeneration, solid MS medium including 20 g/l sucrose and 7 g/l agar was used.

In this study, callus induction, callus weight, regeneration capacity and culture efficiency parameters were determined. According to the results, 96,7-100,0 % callus induction, 0,468-0,837 gr callus weight, 42,0-86,7 % regeneration capacity and 40,0-86,7 % culture efficiency were obtained in large seeds. In small seeds, these parameters varied as 93,4-100,0 % in callus induction, 0,326-0,581 gr in callus weight, 36,0-63,3 % in regeneration capacity and 33,3-63,3 % in culture efficiency, respectively.

It was established that; for rice, seed size is effective on plant regeneration and regeneration capacity is higher in larger seeds.

2015, 72 pages

Keywords: Rice, *Oryza sativa* L, seed size, callus induction, plant regeneration

TEŞEKKÜR

“Çeltikte (*Oryza sativa* L.) endosperm destekli olgun embriyo kültüründe kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna tohum iriliğinin etkisi” konulu tez çalışmasını veren ve çalışmayı gerçekleştirebilmem için her türlü desteğı sağlayan danışman hocam Prof. Dr. A. Murat Özgen başta olmak üzere; Doç. Dr. Melahat Avcı Birsin ve kendilerinden ders alma fırsatını bulduğum bütün Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü öğretim üyelerine teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen annem Solmaz Koca, babam Mustafa Koca ve kardeşim Fatih Koca’ya çok teşekkür ederim.

Aybuke Sultan KOCA

ANKARA, Ocak 2015

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	I
ONAY	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER.....	VI
SEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	IX
SİMGELER DİZİNİ	X
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.	3
2.1. TAHİLLARLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER.	3
2.2. ÇELTİK BİTKİSİ VE ÖNEMİ.....	4
2.2.1 ÇELTİK TAKSONOMİSİ	8
2.2.2 ÇELTİĞİN PİRİNCE İŞLENMESİ	9
2.3. BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ.....	10
2.3.1 EMBRİYO KÜLTÜRÜ	16
2.3.1.1. ENDOSPERM DESTEKLİ EMBRİYO KÜLTÜRÜ.	20
2.4. BÜYÜME DÜZENLEYİCİLERİNE BAĞLI KALLUS GELİŞİMİ	23
3. GEREKÇE VE AMAC	32
4. MATERYAL VE YÖNTEM	34
4.1. MATERYAL	34
4.1.1. AROMATİK-1	34
4.1.2. ÇAKMAK	34
4.1.3. DURAĞAN	35
4.1.4. EDİRNE	36
4.1.5. EFE	37
4.1.6. GALA	37
4.1.7. HALİLBEY	38
4.1.8. NEĞİŞ	39
4.1.9. OSMANCIK-97	39
4.1.10. ŞUMNU.....	40

4.2. YÖNTEM	41
4.2.1. KULLANILAN EKİPMANLARIN STERİLİZASYONU	41
4.2.2. STERİL SAF SU HAZIRLANMASI.....	41
4.2.3. EKSPLANT HAZIRLIĞI	42
4.2.4. STOK 2,4 –D ÇÖZELTİSİNİN HAZIRLANMASI	42
4.2.5. KALLUS ORTAMININ HAZIRLANMASI VE STERİLİZASYONU.....	43
4.2.6. REJENERASYON ORTAMININ HAZIRLANMASI VE STERİLİZASYONU.....	43
4.2.7. EKSPLANTLARIN YÜZEY STERİLİZASYONU	44
4.2.8. KALLUS OLUŞUM AŞAMASI	45
4.2.9. REJENERASYON AŞAMASI	46
4.2.10. VERİLERİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	46
<u>5. ARAŞTIRMA BULGULARI</u>	<u>48</u>
5.1. OLGUN EMBRİYOLARDA TANE İRİLİĞİ.....	48
5.2. OLGUN EMBRİYOLARDA TANE İRİLİĞİNE GÖRE KALLUS OLUŞUMU	49
5.3. OLGUN EMBRİYOLARDA TANE İRİLİĞİNE GÖRE KALLUS AĞIRLIĞI.....	50
5.4. OLGUN EMBRİYOLARDA TANE İRİLİĞİNE GÖRE REJENERASYON KAPASİTESİ.....	53
5.5. OLGUN EMBRİYOLARDA TANE İRİLİĞİNE GÖRE KÜLTÜR ETKİSİ	55
<u>6.TARTIŞMA VE SONUÇ</u>	<u>58</u>
6.1. TARTIŞMA.....	58
6.2. SONUÇ	60
<u>KAYNAKLAR.....</u>	<u>62</u>
<u>ÖZGEÇMİŞ.....</u>	<u>71</u>

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Çeltik tanesinin ayrıntılı yapısı	4
Şekil 2.2. Dünya pirinç üretiminde önemli ülkeler ve üretimdeki payları(%)	6
Şekil 2.3. Çeltiğin pirinçe işlenmesi	9
Şekil 2.4. Bitki doku kültürü	11
Şekil 2.5. Bitkisel hormon gruplarının yapısı	23
Şekil 2.6. 2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit)	26
Şekil 4.1. Aromatik-1	34
Şekil 4.2. Çakmak	35
Şekil 4.3. Durağan	36
Şekil 4.4. Edirne	36
Şekil 4.5. Efe	37
Şekil 4.6. Gala	38
Şekil 4.7. Halilbey	38
Şekil 4.8. Neğiş	39
Şekil 4.9. Osmancık-97	40
Şekil 4.10. Şumnu	40
Şekil 4.11. Çeltikte Tane İriliği Farkı	42
Şekil 5.1. Çeltikte 14. günde kallus oluşumu (A: Büyük tane; B: Küçük tane)	50
Şekil 5.2. Çeltiklerin rejenere bitki oluşumları (A: Büyük tane; B: Küçük tane)	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Dünya’da Çeltik – Pirinç Durumu	5
Çizelge 2.2. Ülkemizde Çeltik Ekim Alanları ve Durumu	6
Çizelge 5.1. Tane iriliğine göre çeltik çeşitlerinin bin tane ağırlığı(g)	48
Çizelge 5.2. Büyük taneli çeltik çeşitlerinin kallus oluşturma yüzdesi (%)	49
Çizelge 5.3. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin kallus oluşturma yüzdesi (%)	49
Çizelge 5.4. Çeltik kallus oluşum yüzdesine ilişkin varyans analizi sonuçları	50
Çizelge 5.5 Büyük taneli çeltik çeşitlerinin kallus ağırlığı (g)	51
Çizelge 5.6. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin kallus ağırlığı(g)	51
Çizelge 5.7. Çeltik kallus ağırlığına ilişkin varyans analizi sonuçları	52
Çizelge 5.8. Tane iriliğine göre çeşitlerin kallus ağırlıklarına ilişkin Duncan testi sonuçları (g)	52
Çizelge 5.9. Büyük taneli çeltik çeşitlerinin rejenerasyon kapasitesi oranı(%)	53
Çizelge 5.10. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin rejenerasyon kapasitesi oranı(%)	54
Çizelge 5.11. Çeltik rejenerasyon kapasitesine ilişkin varyans analiz sonuçları	54
Çizelge 5.12. Tane iriliğine göre çeşitlerin rejenerasyon kapasitesine ilişkin Duncan testi sonuçları(%)	55
Çizelge 5.13. Büyük taneli çeltik çeşitlerinin kültür etkisi oranı(%)	56
Çizelge 5.14. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin kültür etkisi oranı(%)	56
Çizelge 5.15. Çeltik kültür etkisine ilişkin varyans analiz sonuçları	57
Çizelge 5.16. Tane iriliğine göre çeşitlerin kültür etkisine ilişkin Duncan testi sonuçları(%)	57

SİMGELER DİZİNİ

Kg	Kilogram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mM	Milimolar
g/l	Gram/litre
mg/l	Miligram/Litre
mg/ml	Miligram/Mililitre
v/v	Hacim/hacim
g/Mol	Gram/Mol
Da	Dekar
Ha	Hektar
°C	Santigrat Derece
dH ₂ O	Distile su
MS	Murashige and Skoog besi ortamı
N6	Chu besin ortamı
B5	Gamborg besin ortamı
2,4-D	2,4-Diklorofenoksi asetik asit
ABA	Absisik asit
IAA	Indol asetik asit
NAA	Naftalin asetik asit
BAP	Benzil amino pürin

1. GİRİŞ

Günümüzde var olan sınırlı üretim kaynaklarına karşın, tüketim gereksinimi insan nüfusunun artışına paralel olarak gün geçtikçe artmakta ve bu yüzden insanlığın isteğini karşılamakta zorlanmaktadır. Bu sorunu çözebilmek amacıyla, insanlar ellerindeki sınırlı kaynaklardan daha fazla yararlanma ve besin içeriği bakımından zengin ve kaliteli üretim yapabilmenin yollarını aramaktadırlar. Bu durum göz önüne alındığında, ülkemiz tarım arazilerinin genişletilmesi söz konusu olamayacağından, var olan tarım arazilerinde yetiştirilmek üzere besin değeri yüksek tohumluklar geliştirilmesi büyük önem kazanmaktadır.

Çeltik; tüketimde önemli bir yer tutmasının yanı sıra alerjen olamamasıyla da buğday, arpa, çavdar gibi özellikle gluten içeren tahıllara alerjisi olan kişilerin güvenle tüketebileceği bir sıcak iklim tahılıdır (1).

Ülkemizde sulanan alanların yetersizliği, gelişimi esnasında bol su kaynağına ihtiyaç duyan çeltik için bir dezavantaj oluşturmaktadır. Verim artışını sağlamak için klasik bitki ıslahı programlarına alternatif olarak onları tamamlayan ve destekleyen yeni biyoteknolojik yöntemler ortaya çıkmıştır. Klasik ıslahta başarı seleksiyona, bu ise geniş bir genetik varyasyonun oluşturulmasına bağlıdır. Bunun sağlanması için uygun özellikler taşıyan genitör bitki popülasyonlarına ihtiyaç vardır. Popülasyon boyutundaki artış yer, zaman ve finansman artışını da beraberinde getirmektedir (2). Fakat biyoteknolojik yöntemlerin kullanılmasıyla izole edilmiş bir genin bitkiye doğrudan aktarılması söz konusu olduğundan, öncelikle farklı türler ve cinsler arası gen aktarımında melezleme zorunluluğu ortadan kaldırılmakta ve klasik ıslahta yabancı gen kaynaklarından yararlanmada en önemli engel olan doğal bariyer, bir başka deyişle, kısırılık ve uyumsuzluk sorunu da çözülmektedir. Modern biyoteknolojik yöntemlerin kullanılmasıyla, klasik ıslahta farklı cinsler arası gen aktarımında ikinci büyük engel olan, bağlılık (linkage) nedeniyle istenen genlerle birlikte istenmeyen genlerin de mezellere geçmesi sorun olmaktan çıkmaktadır (3).

Çeltikte genetik transformasyonlar ve rejenerasyonda sürgünler, olgunlaşmamış çiçek salkımları, kök ve yaprakların yerine embriyogenik kalluslar kullanılmaktadır. Çünkü organojenezle kıyaslandığında kallus kültürünün gen aktarımında ve rejenerasyonda daha

uygun olduğu görülmüştür (2). Biyoteknolojik yöntemler ile arzu edilen genotiplerin çok kısa sürede çoğaltılmalarına, klasik yöntemlerle başarılamayan cinsler ve türler arası melezlerin elde edilmesine de olanak sağlayarak, cinsler ve türler arası gen transferini kolaylaştırmaktadır. Bu da çok kısa sürede homozigot hatların elde edilmesine ve karakterleri kontrol eden genlerin, gen ya da gen grubu olarak bir organizmadan izole edilerek diğer bir organizmaya aktarılmasına olanak sağlayarak, bitki ıslahında ıslah sürecinin kısaltılmasına katkıda bulunabilmektedir (4).

Biyoteknolojik yöntemlerin, geleneksel yetiştirme yöntemleriyle kombine edilmesi sayesinde birçok bitkide, daha verimli ve daha kaliteli çeşitler geliştirilmiş ve geliştirilmeye devam edilmektedir (5). Biyoteknolojik yöntemlerin uygulanmasında *in vitro* çalışmaların başlangıcı doku kültürüdür. Doku kültürü ile kültüre alınan olgun embriyolara gen aktarımı yapılabilmekte, daha sonra gen aktarılmış embriyo uygun besin ortamında olgun bitki haline getirilerek, aktarılan geni taşıyan transgenik bitkiler elde edilebilmektedir.

Doku kültürü sırasında meydana gelen kalluslardan farklılaşan bitkiler arasında görülen somaklonal varyasyondan da ıslah programlarında yararlanılabilmektedir. Ayrıca, *in vitro* ortamda kimyasal ve fiziksel mutagen uygulamaları ile hastalıklara, antibiyotiklere, herbisitlere, tuza, düşük sıcaklığa ve kuraklığa toleranslı veya dayanıklı mutant hücre seçimleri yapılabilmektedir (6).

Çeltik ekim alanında yaygın olarak tek bir çeşidin ekiminin yapılması, o çeşidin bir hastalık patojenine karşı hassaslaşmasına neden olacaktır (7). Bu da ülkemizde yapılan çeltik tarımı ve verimi açısından risk oluşturacaktır. Bu yüzden çeltik yetiştirilen bölgelere uygun, verimli ve kaliteli yeni çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu düşünceden hareketle bu çalışmada; tane iriliğinin kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna olan etkisi araştırılarak, doku kültüründe rejeneratif bitki sayısının artırılması olanakları irdelenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Tahıllarla İlgili Genel Bilgiler

Tahıl (hububat) adı verilen taneler botanikte buğdaygiller (*Poaceae*) familyasına aittir. Tahılların yetiştirilme işlemlerinin kolay olması ayrıca ürünün taşınma, depolanma ve bekletilmeye olan elverişliliği nedeniyle hem insan ve hayvan beslenmesinde hem de endüstri hammaddesi olarak kullanılmaktadır.

Tahıllar, cinslerin özellikle iklim istekleri yüzünden gösterdikleri farklılıklar bakımından; buğday, arpa, yulaf ve çavdarın oluşturduğu serin iklim tahılları ile çeltik, mısır, darılar ve kuşyeminin oluşturduğu sıcak iklim tahılları alt gruplarına ayrılmaktadırlar (8).

Besidokuyu (endosperm) ve bitkinin küçük bir örneğini (embriyo) kapsayan tane (tohum) uygun nem, sıcaklık ve hava koşullarında çimlenip yeni bir bitki oluşturma yeteneğindedir. Bu özelliği ile tahıl tanesi, tohumluk olarak da önem taşımaktadır (8).

Tahıl tanelerinin bileşimi cinslere göre değişmekle birlikte yaklaşık % 65-75 nişasta, % 8-15 protein, % 1-5 yağ, % 1,5-3 şeker, % 1-2 kül, % 11-13 nem içerir. Tahıl taneleri karbonhidratlar, proteinler, yağlar ve mineral maddeler bakımından zengindir (9).

Tahıl tanesi başlıca üç kısımda incelenmektedir.

Kabuk

- ❖ Meyve kabuğu (perikarp)
- ❖ Tohum kabuğu (testa)
- ❖ Hiyalin

Endosperm

- ❖ Alöron
- ❖ Asıl endosperm

Embriyo

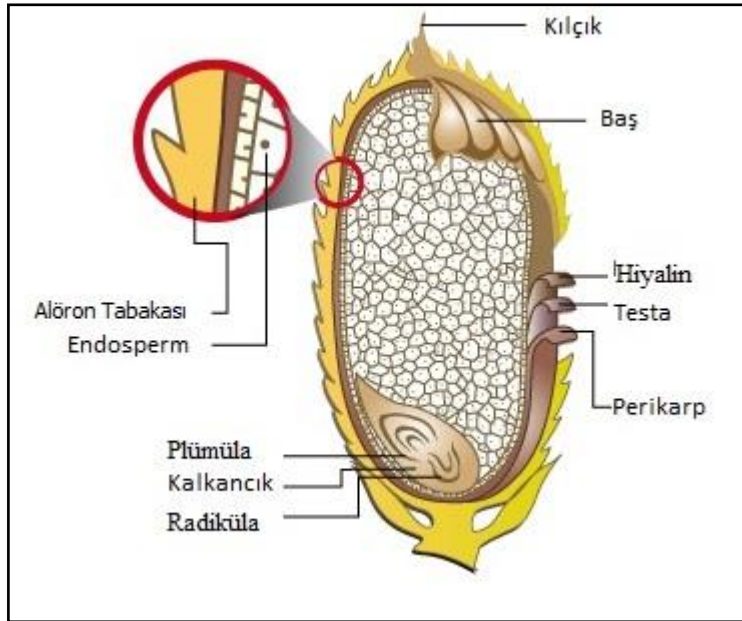
- ❖ Kalkancık (skutellum)

- ❖ Asıl embriyo
 - Tomurcuk (plümula)
 - Sapçık (hipokotil)
 - Kökçük (radikula)

2.2. Çeltik Bitkisi ve Önemi

Asya kıtasındaki özellikle muson ülkelerinin tipik kültür bitkisi olan çeltik; kültür bitkileri içerisinde insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır (10). Türkiye’de yaklaşık 500 yıl önce ekilmeye başlanmış olan çeltiğin dünyada 140.000’den fazla çeşidinin olduğu tahmin edilmektedir (7,10).

Çeltiğinde içinde bulunduğu *Poaceae* familyasında tane karyopsis durumundadır. Yani meyve kabuğu (perikarp) ve tohum kabuğu (testa) bitişik durumdadır (8). Harmandan sonra taneler buğday, çavdar ve mısırdaki olduğu gibi çıplak ya da yulaf, çeltik, darılar ve kuşyemine olduğu gibi çiçek kavuzları (palea’lar) ile sarılı olarak bulunmaktadır. Bu kavuzlar çeltikte yalnızca taneyi sararken; arpa, darılar ve kuşyemine ise karyopsise bitişik durumdadır (8). Çeltik tanesinin kısımları Şekil 2.1. verilmektedir.



Şekil 2.1. Çeltik tanesinin ayrıntılı yapısı (11).

TMO (Toprak Mahsülleri Ofisi)'nun hazırlamış olduğu 2013 Hububat Sektör Raporu'na göre dünyada 2013-2014 yıllarında öngörülen çeltik ekili alanı 160.8 milyon hektardır. Bu yıllarda çeltik üretiminin 709.1 milyon ton ve veriminin 4.41 ton/ha olacağı öngörülmektedir (Çizelge 2.1.) (12).

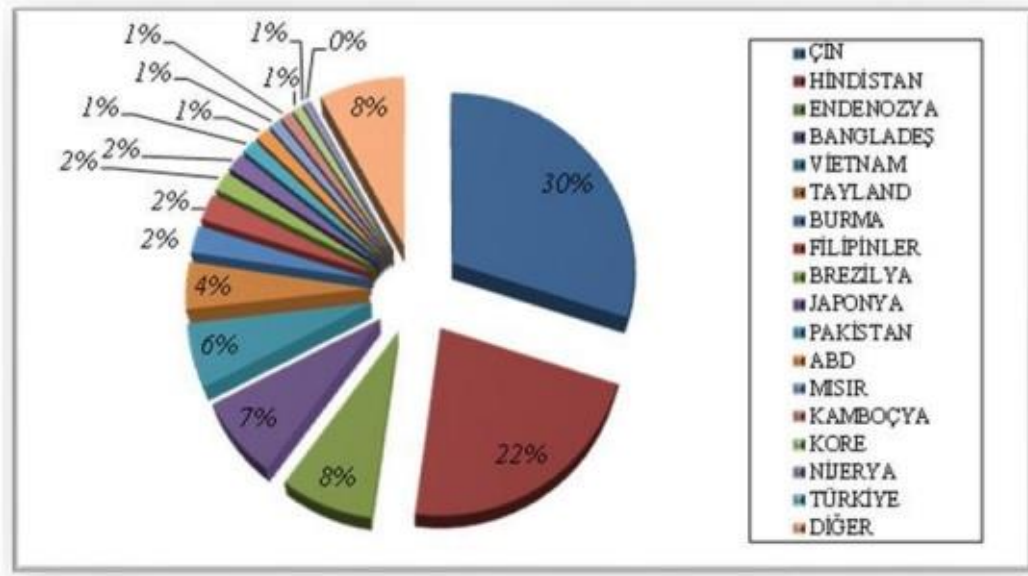
Çizelge 2.1. Dünya'da Çeltik – Pirinç Durumu (12)

YILLAR	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14 *
Ekiliş (Milyon Hektar)	154.7	158.1	155.8	158.2	160.2	157.9	160.8
Çeltik Üretim**	642.5	668.3	656.6	671.6	696.1	702.6	709.1
Verim (ton/ha)	4.15	4.23	4.22	4.25	4.34	4.45	4.41
Pirinç Üretim **	432.6	448.8	440.6	449.3	466.4	471.1	475.0
Pirinç Tüketim **	428.3	436.9	437.5	445.2	458.6	468.4	474.6
Pirinç Ticaret**	29.3	29.1	31.3	35.7	38.9	37.6	39.0
Pirinç Stok **	80.6	92.4	95.6	99.6	107.5	110.2	110.5

*Öngörü;

Çeltik Üretim, Pirinç Üretim, Pirinç Tüketim, Pirinç Ticaret ve Pirinç Stok (Milyon Ton**)

Dünya pirinç üretiminde % 30'lik pay ile Çin ilk sırayı alırken, Hindistan % 22'lik üretim payı ile ikinci sırada %8'lik payla üçüncü sırayı Endonezya almaktadır. 2013 yılı verilerine göre bu üç ülke dünya çeltik üretiminin % 60'ini karşılamaktadır (12).



Kaynak: IGC

Şekil 2.2. Dünya pirinç üretiminde önemli ülkeler ve üretimdeki payları (%) (12).

TMO tarafından 2013 yılında yayınlanan Hububat Sektör Raporu'na göre Türkiye'de 2013 yılında çeltik ekilen ve hasat edilen alan 1.105.924 dekadır. Çeltik üretimi 900 bin ton ve verimi ise 894 kg/da'dır (13). Tük (Türkiye İstatistik Kurumu) 2013 verilerine göre Türkiye'de çeltik ekili alanın ve çeltik üretiminin en yüksek olduğu bölge Batı Marmara bölgesidir (Çizelge 2.2.) (14).

Çizelge 2.2. Ülkemizde Çeltik Ekim Alanları ve Durumu (14)

Bölge	Ekilen Alan(dekar)	Hasat edilen Alan(dekar)	Üretim(ton)	Verim(kg/da)
Kuzeydoğu Anadolu	125	125	48	384
Ortadoğu Anadolu	1.265	1.265	491	388
Güneydoğu Anadolu	34.887	34.887	17.038	488
İstanbul	3.000	3.000	2.337	779
Batı Marmara	730.697	730.697	606.348	830
Doğu Marmara	28.122	28.122	20.750	738
Batı Anadolu	755	755	670	887
Akdeniz	4.651	4.651	2.408	518
Orta Anadolu	4.400	4.400	4.4649	1.057
Batı Karadeniz	297.648	297.648	245.124	824
Doğu Karadeniz	374	374	137	366

Türkiye’de üretilen çeltiğin % 94’ü doğrudan gıda olarak kullanılmaktadır ve kişi başına pirinç tüketimi yılda 8,6 kilogramdır (15).

Ülkemiz çeltik yetiştiriciliği açısından uygun ekolojik koşulları olan alanlara sahiptir (16). Fakat çeltik yetiştiriciliği; üretiminin izne bağlı olması, toplu yerleşme alanlarına uzak olan yerlerde ekilme zorunluluğu, yoğun iş gücü ve mekanizasyon gerektirmesi, sulama suyunun kısıtlı olması, üretimin masraflı ve sıkıntılı olması nedeniyle zordur. Ayrıca hastalık ve zararlılara karşı dayanıksız çeşitler bulunması, Karadeniz bölgesinde hasat döneminde yağın yağışlar ve sertifikalı tohumluk üretiminin yetersiz olması da zorlukları arttırmaktadır (17).

Bu zorlukları aşmak için araştırmacılar bitki ıslahı ve tohumluluk konusuna önem vermişler ve araştırmalarını bu yöne çevirmişlerdir. Bitki ıslahı çalışmalarında, başarıyı etkileyen iki önemli konu vardır. Bunlar; varyasyon ve seleksiyondur.

Varyasyon, küçük değişmelerle yıllar boyunca kendiliğinden olduğu gibi; melezleme, mutasyon ve poliploidi ile de yapay olarak oluşturulabilmektedir. Geniş bir genetik varyasyonla çalışılması, yürütülen ıslah programlarında yeni çeşitlerin geliştirilmesinde önemli bir engeli de ortadan kaldıracaktır. Geniş varyasyonların oluşturulmasında ise farklı alttürler arasında yapılan melezlemelerden yararlanılmaktadır.

Seleksiyon, amaca uygun bitkilerin seçilmesidir ve seleksiyon yapılırken sürekli kontrolle karşılaştırılması gerekmektedir. O yörede, yetişen standart çeşitleri materyal olarak seçerek, daha üstün çeşitlerin geliştirilmesi sağlanır. Son yüzyılda, klasik ıslah yöntemlerinden yararlanılarak; üstün verimli ve kaliteli birçok çeşit geliştirilmesine rağmen başta hastalık ve zararlılar olmak üzere bazı biyotik ve abiyotik çevresel baskılara karşı dayanıklılıkta istenilen sonuca tam olarak ulaşamamıştır (18).

Çeltik üretiminde artışın sağlanmasında uygun çeşit seçimi, hastalıklarla mücadele, tohum yatağı hazırlama, uygun sulama ve gübreleme gibi tarımsal uygulamalarının yanı sıra toprak ve arazi özelliklerinin de iyi bilinmesi gerekmektedir. Dolayısıyla, çeltik ekim alanlarının verim ve kalitesinin arttırılmasına yönelik alınabilecek önemli tedbirlerden birisi de, topraklara ait yeterli veri ve bilgilerin sağlanmasıdır (16).

Çeltik, suya doymun ortamda yaşayıp gelişebilen bir bitkidir. Büyüme döneminde ortalama sıcaklığın 22 °C veya daha fazla olduğu yerlerde başarıyla üretilebilmektedir. İdeal köklenme derinliği en az 50 cm olup pH'sı 4.5-8.5 arasında değişen topraklarda yetiştirilebilmektedir. Yüzeyden 45-150 cm derinlikte yer alan geçirimsiz toprağı bulunan ağır tekstürlü topraklarda en karlı üretim yapılabilir. Böylece topraktan sızma yoluyla su kaybı az olmaktadır. Derin, killi, bitki besin maddelerince zengin, organik maddesi yüksek toprakları çok seven ve bu özelliklere sahip topraklarda fazlaca verim alınabilen çeltik, tuza orta derecede dayanıklı bir bitkidir (16).

Lörz (1989), Tahıllarda *in vitro* koşullarda yürütülen bitki rejenerasyon çalışmalarında çok hücreli eksplantlarla başarıya ulaşıldığını ve tahıllara alternatif gen aktarım yöntemlerinin uygulanabileceği belirtilmiştir (19).

Özcan ve Özgen (1996), ıslah edilmiş kültür bitkilerin yabani formlarıyla karşılaştırıldığında birçok mantar, bakteri ve virüs hastalıkları ile zararlılara karşı daha duyarlı olduğu, bu durumun genelde uygulanan ıslah yöntemlerinin eksikliğinden kaynaklandığını belirtmişlerdir (20). Islah programlarında, seleksiyon çalışmalarında ürün kalitesi ve miktarı gibi özellikler ön planda tutulduğundan, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığın her zaman ikinci plana atıldığını, bitki genetik mühendisliği tekniklerinin kullanılmasıyla, ıslah süresinin kısaltılmasının yanında; melezlemede karşılaşılan engellerin, genetik bağlılık sorunlarının ve gen havuzlarından yararlanmadaki sınırlamaların kolayca ortadan kalkacağını düşünmüşlerdir. Ayrıca tahıllar gibi ekonomik önemi büyük olan bitkilerde klasik ıslah yöntemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda zaman kazanmak açısından biyoteknolojik yöntemlerin önemini vurgulamışlardır (20).

2.2.1. Çeltik taksonomisi

Soreng vd (2000), buğdaygillerin yeni taksonomisine göre çeltik bitkisi (21);

Alem: Plantae -Bitkiler

Alt Alem: Viridiplantae - Yeşil Bitkiler

Şube: Tracheophyta - Vasküler bitkiler

Alt Şube: Spermatophytina - Tohumlu Bitkiler

Sınıf: Magnoliopsida -Kapalı Tohumlular

Alt Sınıf : Liliaceae - Tek Çenekliler

Takım: Poales

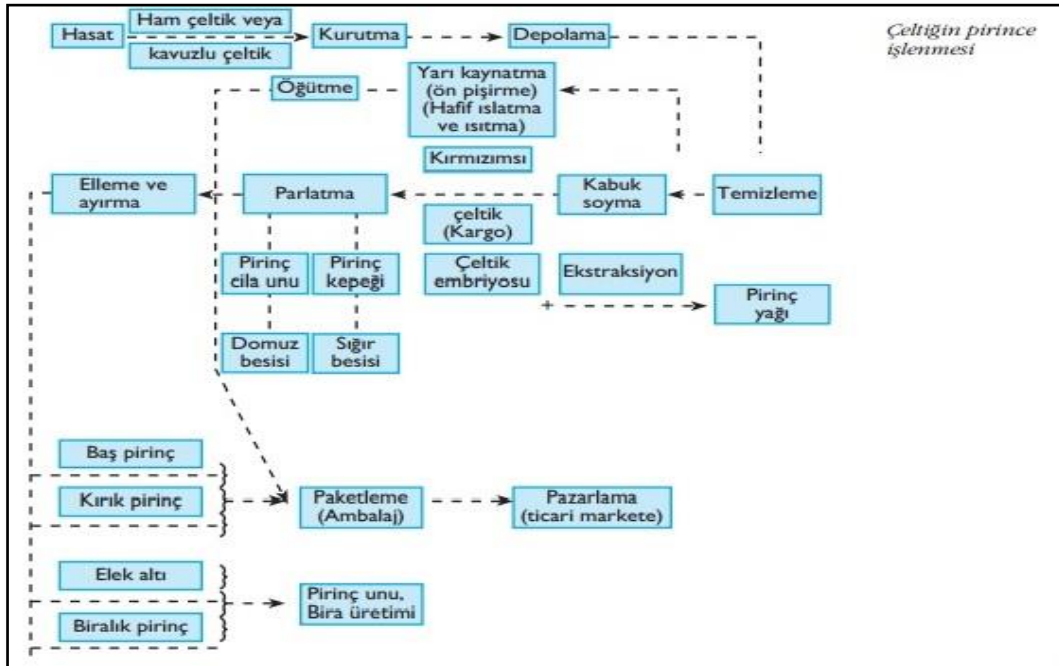
Familya: Poaceae -Buğdaygiller

Cins: *Oryza L.* - Çeltik

Tür: *Oryza sativa L.* (2n=24) olarak sınıflandırılmaktadır (22).

2.2.2. Çeltiğin pirince işlenmesi

Çeltik tanesi, karyopsis ile onu sıkıca fakat yapışmadan saran bir iç kavuz ve kapçıktan oluşmaktadır. Bu kavuzlar çeltiğin harmanı sonunda da karyopsisten ayrılmazlar. Kavuzlu bu ürüne “çeltik” adı verilmektedir. Elle ya da makine ile hasat edilen çeltik taneleri harmanlamadan sonra saplarından ayrılmaktadır. Çeltik veya ham çeltik olarak bilinen bu ürün daha sonra çeşitli işlemlerden geçirilerek pirince dönüşmektedir. Çeltik pirince işlenmesinde önce iç kavuz ve kapçık çıkarılır, bunlar çeltik kepeğini meydana getirmektedirler. İkinci aşamada testa ve perikarp ayrılmaktadır ki bu da pirinç ununu meydana getirmektedir. Üçüncü aşamada tane embriyosu çıkarılmaktadır. Geriye kalan çeltik endospermine pirinç adı verilmektedir. Bu ürün cilalanır, parlatılır, sert plastik ya da kauçuk zeminden geçirilerek pürüzleri giderilmektedir. Elde edilen bu ürün parlak camsı-mikamsı görünüşteki pirinçtir (Şekil 2.3.) (23).



Şekil 2.3. Çeltiğin pirince işlenmesi (23).

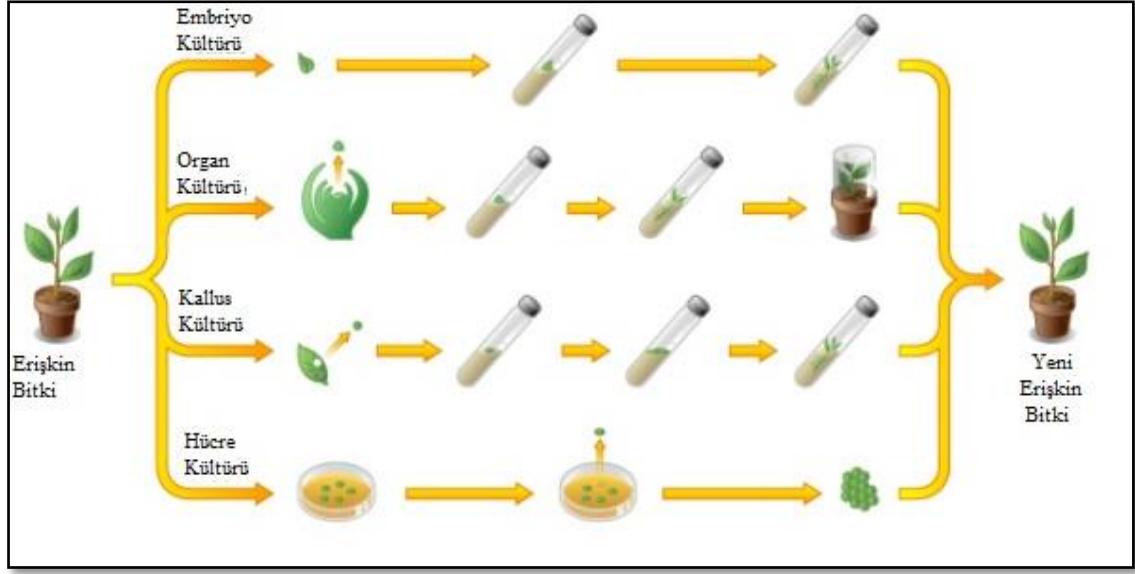
Pirinç, bünyesinde sodyum ve yağ içermeyen bitkisel bir protein kaynağıdır. Yani pirinçte kolesterol hiç yoktur. Pirinç, alerjik olmayan bir gıda maddesidir ve 100 gram pirinç 360 kalori içerdiğinden özel hasta diyetlerinde ve verdiği tokluk hissiyle zayıflama diyetlerinde de kullanılabilir. Ayrıca, kolesterol şikayeti olan hastaların iyi huylu kolesterolünü yükseltir, kötü huylu kolesterolünü de düşürme özelliği vardır. Bu nedenlerden dolayı özellikle yoğun olarak tüketildiği Uzakdoğu ülkelerinde önemli bir temel gıda maddesidir. Aynı zamanda bağırsak hareketlerini düzenleyen, tansiyonu düşürücü etkisinden dolayı sıkça tüketilen bir tahıldır. Sıvıyı içine çeken bir gıda olduğundan dokulara yerleşmiş tuzu bünyesinde bulundurup, dolaşım sisteminin, kalbin ve böbreklerin yükünü hafifletmektedir. Bu nedenle vücudu toksinlerden arındırmaktadır (11).

Pirinç protein, karbonhidrat, kalsiyum, B1 ve B2 vitaminleri ve az da olsa A ve C vitaminlerini ihtiva eder. Pirinç, içerdiği mineraller sayesinde kemik yapısının gelişimini, cildin ve tırnakların parlaklaşmasını sağlarken içerdiği karbonhidratlar ise vücudun enerji kaynağını oluşturur. Kas gelişiminde görevli aminoasitlerden bünyesinde 8 tanesini bulundurur. Ayrıca, fosfor ve demir gibi besleyici ve vücut için gerekli elementleri de içerir. Beslenme için gerekli amino asitlerce zengin olması nedeniyle insan beslenmesinde buğdaydan daha fazla kullanılmaktadır. Pirinç, tüm bu özelliklerinin yanında ekonomiktir (24).

2.3. Bitki Doku Kültürü

Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik çeşitlilik oluşturmak, doku kültürünün temel amaçları arasındadır. Çünkü klasik ıslah yöntemleri kullanılarak istenilen özelliklere sahip yeni bir çeşidin geliştirilmesi uzun bir zaman almaktadır. Oysa bitki doku kültürü teknikleri ile çok kısa zamanda aynı sonucu elde etmek mümkündür. Bitki doku kültürü aynı zamanda genetiksel iyileştirme çalışmalarında da önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin üretilmesinde, çeşitli doku kültürü yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (25).

Bitki doku kültürü; steril şartlarda ve yapay bir besin ortamında hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları=eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımların kullanılarak yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Bitki doku kültürü (26)

Tüm doku kültürlerinin başlangıç noktası eksplant denen bitki dokularıdır. Doku kültürü bitkilerin embriyo, kök, gövde, yaprak veya çiçek parçalarından olabilmekte ve başarı oranı türlere göre değişmektedir. Önemli olan eksplant olacak bitki parçasının yüzeyinin tüm mikrobiyal kontaminasyonlardan arındırılmasıdır. Çünkü bitki hücrelerinde bölünme bakteri ve mantarlara kıyasla daha yavaş olmaktadır (27).

Ayrıca doku kültüründe fizyolojik aşama, bitkinin doku kültürüne başladığında cevap verecek yeteneğe de sahip olmasıdır. Kaynak bitki sağlıklı olmalı ve açıkça görülebilecek çürüme veya hastalık belirtilerinden uzak olmalıdır. Eksplant denen bitki, doku kültürü çalışmaları dolayısıyla dikkatle seçilmelidir. Daha genç olan dokular daha aktif bölünürler ve kallus oluşturma yeteneği daha yüksektir. Hücreler aktif olarak bölünebilir olmalıdır ve dormansi periyoduna girme eğiliminde olmamalıdır (27).

Doku kültürü çalışmalarının başlangıcı hüresel teorilere dayanmaktadır. Bu teorilere göre hücre kendi kendine çoğalabilir ve totipotenttir (28,29). Bununla birlikte asıl gelişmeler, bitkilerde doğal olarak bulunan büyüme düzenleyicilerin fark edilip kullanılmasından sonra olmuştur ve ardından bitkilerin mikro çoğaltım çalışmaları yapılmaya başlanmıştır.

Etkili bir doku kültür tekniğinin kurulması, monokotiledonlarda özellikle de Poaceae familyasında, dikotiledonlara göre daha zordur. *In vitro* doku kültürlerinde kallus oluşumu

ve oluşan kalluslardan bitki rejenerasyonunun düzeyi, temel olarak genotip (30,31) coğrafik orijin, donör bitkinin fizyolojik şartları, eksplant olarak kullanılan bitki organları, kültür ortamı ve bunlar arasındaki etkileşimden etkilenmektedirler (32).

Poaceae familyası içerisinde yer alan bitkilere uygulanan doku kültürü teknikleri; kallus kültürü, embriyo kültürü, anter kültürü, hücre süspansiyon kültürü ve protoplast kültürü olarak sıralanabilir. Sahip oldukları genetik çeşitlilik, mutasyon çalışmalarında kullanım kolaylığı ve seleksiyonda etkinlik nedeniyle üstün genotipli bitkilerin geliştirilmesinde kallus kültürlerinden yararlanılmaktadır.

Kallus kültürü; hücre ve protoplast kültürlerinin elde edilmesinde başlangıç materyali ve gen transferi için eksplant kaynağı olarak kullanıldığı gibi bitkilerden elde edilen alkaloid, sitokinler ve steroidler gibi ikincil metabolit ürünlerin üretiminde de kullanılmaktadır. Kallus oluşturmanın yararlarından biri de kallustan farklılaşan bitkiler arasında görülen somaklonal varyasyondan ıslah programlarında yararlanılmasıdır. Ayrıca *in vitro* ortamda kimyasal ve fiziksel mutagen uygulamalarıyla hastalıklara, antibiyotiklere, herbisitlere dayanıklı, yüksek tuz, düşük sıcaklık ve susuzluğa toleranslı mutant hücre seçimleri de yapılabilmektedir (33).

Kallus kültürü, bitkilerin değişik organ dokularının kallus yani farklılaşmamış hücre yığını oluşturmaya teşvik edilmesidir. Kallus kültüründe eksplant olarak embriyo, kotiledon, gövde, yaprak, sürgün ucu, kök, genç tomurcuklar, çiçek taç yapraklar, yumurta dokusu, yumurta hücreleri, yaprak sapı vb. kullanılmaktadır. Kallus embriyogenik olabilir veya olmayabilir. Ancak, kallus dokusundan bitki rejenerasyon için embriyogenik kallus önem taşımaktadır (34).

Kallus kültüründe, kültüre alınan bitki kısımlarından kallus oluşumu sağlandıktan sonra bu kallus parçalanarak sürekli alt kültürü yapılabilmekte ve böylece çoğaltılması sağlanabilmektedir. Daha sonra bunların gelişme ortamlarına bitki büyüme düzenleyicilerinin (oksinler, sitokinler vb.) değişik miktarları eklenerek bunlardan kök ve sürgün gelişimi teşvik edilip bitkicikler elde edilmektedir (35–37).

Ayrıca tarla koşullarında ve klasik ıslah yöntemlerinde karşılaşılan güçlüklerin aşılması amacıyla geliştirilen biyoteknolojik yöntemlerden hücre ve doku kültürü çalışmalarıyla çok

sayıda genotipin incelenip kısa sürede laboratuvarında seleksiyona alınması, generasyonlar arasındaki sürenin azaltılması, çevresel koşulların kontrol altında tutulabilmesi ve bitkilerin hücre düzeyinde incelenmesi sağlanabilmektedir (18,38).

Davoyan (1987), çeltikte verici bitkinin genotipinin kallus oluşumu ve bitki farklılaşmasında çok önemli bir faktör olduğunu, kallus oluşumu ve bitki farklılaşma kapasitesinin genetik faktörlerin kontrolünden bağımsız olduğunu rapor etmiştir (39).

Kyozuka vd (1988), *Japonica* çeltikleri için geliştirilen bitki farklılaşma protokolünün 14 *Indica* varyatesinde uygulanan araştırmada, beyaz ve sıkı yapılı olan kallusları I tip; yeşil ve yumuşak yapılı olanlar ise II. tip kallus olarak isimlendirmişlerdir. II. tip kallus oluşturan çeltik varyetelerinde kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu I. tip oluşturanlara göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (40).

Peng (1989), tahıllarda ıslah amacıyla kullanılan biyoteknolojik uygulamalardan iyi bir şekilde yararlanabilmek için doku ve hücre kültürlerinden etkili bir rejenerasyon yönteminin oluşturulması gerektiği, bu nedenle doku ve hücre araştırmalarının başarısının güvenilir kallus kültürü ve bitki rejenerasyon işlemlerine bağlı olduğu rapor edilmiştir (41).

Abe vd (1994), *Indica*, *Japonica* ve *Javanica* alttürlerinde yer alan 7 çeltik çeşidinin, kallus oluşturma ortamında 2 ile 14 ay kültüre alarak çeşitli organlarından bitki farklılaşma yeteneklerini incelenmiştir. Araştırmada, Takudan (*Indica*), Nipponbare (*Japonica*), Sasanishiki (*Japonica*) ve Allorio (*Javanica*) aynı bitki rejenerasyon yeteneğini gözlenirken, Fujisaka 5 (*Japonica*), Te-tep (*Indica*) ve Choukoutou (*Indica*) varyetelerinde ise 14 ay sonra sadece çok düşük yetenek gözlenmiştir. Araştırma sonucunda peroksidaz ve asit fosfotaz enzimi emilimi ile rejenerasyon kapasitesi arasında bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir (42).

Kuroda vd (1998), hücre düzeyinde heterosisi açıklayabilmek için 14x14 diallel melezde (4 *Japonica*, 4 *Javanica* ve 6 *Indica* çeşidi) tohumdan gelişen kalluslarda, kallus gelişme oranının kalıtımını incelemiştirlerdir. Araştırmada, karanlıkta 20, 28, 35 ve 40 °C'lerde 28 günlük kültürde kallus ağırlığı hesaplandığında, bütün F1 melezleri kallus gelişim oranı bakımından anaçlardan önemli derecede yüksek sonuçlar verdiği gözlenmiştir. Ayrıca F1 melezleri düşük sıcaklıklara anaçlara oranla daha fazla tolerans gösterdiği, Diallel

melezlerin varyans analizi, kallus gelişim oranı üzerine eklemeli ve dominant gen etkilerinin önemli olduğu tespit edilmiştir. Kallus gelişim oranı bakımından *Indica x Indica*, *Japonica x Japonica* alt türleri arasındaki melezlerde 20-35°C’de negatif özel kombinasyon yeteneği belirlenirken, *Japonica x Indica* alt türleri arasındaki melezde 28-35°C’de pozitif özel kombinasyon yeteneği saptanmıştır (43).

Ulukan (2003), gen aktarımına ilişkin çalışmalara başlamadan önce bitki türlerinin doku kültürü teknikleriyle rejenerasyon ve çoğalma potansiyellerinin belirlenmesinin büyük önem taşıdığını rapor edilmiştir (44).

Amarasinghe ve Yang (2005), *Japonica* alttüründen Taipei 309 çeşidi ve *Indica* alttüründen Qiuguiai 11 çeşidinin *in vitro* şartlarında farklı ortamlarda kallus oluşumu ve kalluslardan bitki oluşum potansiyelini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırma sonucu alttürlerin her biri için farklı ortamlar kullanılarak en iyi sonuç elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca raporlarında rejenerasyon etkisine ortam çeşidi kadar ortamın tazeliğinin de önemli olduğunu vurgulamışlardır (45).

Xiu-hong vd (2005), 19 çeltik çeşitinden alınan olgun embriyo, genç embriyo, genç salkım ve anterlerin dahil olduğu farklı eksplantların kallus oluşumu ve sürgün farklılaşması üzerinde çalışılmıştır. Verimliliğin genotipten genotipe değiştiği ve dört tip eksplant karşılaştırıldığında aralarında önemli derecede farklılıklar olduğu tespit edilmiştir. Kallus oluşum frekansı; genç embriyo ile genç salkım arasında, anter ile olgun embriyo arasında ve genç salkım ile anter arasında önemli derecede pozitif korelasyon görülmüş, bitkicik farklılaşması bulunan farklı eksplant tipleri arasında ve bitkicik farklılaşması ile kallus oluşumu arasında hiçbir ilişkinin bulunmadığı tespit edilmiştir (46).

Rachmawati vd (2006), *Japonica* alt grubundaki çeltiklerin kallus oluşturma oranlarının en yüksek olduğu *Indica* grubundaki çeltikte ise birkaç uygun doku kültürü yöntemiyle cevap vereceğini, çeltik genotipleri arasında *Javanica* çeşitlerinin en iyi kallus oluşturduğunu rapor etmişlerdir (47).

Carsono ve Yoshida (2006), 5 *Indica* çeltik genotipinin kallus oluşturma potansiyelini *Japonica* grubuna ait Nipponbare çeşidiyle karşılaştırarak araştırmışlardır. MS ve CL ortamlarında kök parçaları ve olgun tohumların embriyolarından kallus elde edildiğini ve

genotipler, kullanılan eksplant ve ortama bağı olarak yüksek kaliteli kallus oluşumunda önemli farklılığının olduğu tespit edilmiştir. Fatmawati, Ciapus, BP-23 ve BP-360-3 gibi dört *Indica* grubundaki çeşitler *Japonica* grubundaki Nipponbare çeşidine benzer kallus oluşum oranına sahip olduğu fark edilmiştir. MS ortamında kültüre alınan her iki eksplant CL ortamından daha yüksek oranda kallus oluşumu göstermiştir (48).

Hoque vd (2007), yapmış olduğu araştırmada *Indica* grubu çeltiklerinden 1 tanesinin *Japonica* çeltik çeşitlerinden kallus oluşma potansiyelinin yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Dolayısıyla kallus oluşumu ve bitki farklılaşma potansiyelinin çeltikte alttüre bağı olmadığı, genotipler arasındaki farklılıklardan olduğunu rapor etmişlerdir (49).

Kurt vd (2008), çeltik (*Oryza sativa* L. cv. Taipei-309)'te farklı eksplant tiplerinden kallus ve bitki oluşumu inceledikleri araştırmada 11 günlük fidelerden; kök (ana kök+yan kökler) ve sap (boğum+boğum arası+yaprak) olmak üzere 2 farklı eksplant tipini besi ortamında kültüre almışlardır. Araştırma sonucu sap eksplantından 3 kallus ve bu kalluslardan da 5 adet bitki, kök eksplantından da 20 kallus elde etmişlerdir. Fakat köklerin farklılaşma ortamında uzun süre sağlıklı kalamadığı ve öldüğü rapor edilmiştir (50).

Kurt vd (2008), çeltik (*Oryza sativa* L. cv. Pusur)'te 8 farklı eksplant tipinden (sap, kök, 1. boğum, 1. boğum arası, 2. boğum, 2. boğum arası, 1. yaprak ve 2. yaprak) kallus ve bitki oluşum potansiyelini belirlemek amacıyla çalışma yürütmüşleridir. Yürüttükleri çalışma sonucunda, sap eksplantından 86 kallus ve bu kalluslardan da toplam 28 adet bitki elde etmişlerdir. Kök eksplantından 226 kallus; 1. boğum eksplantından 53 kallus ve 1. boğum arası eksplantından 12 adet kallus elde etmişlerdir fakat bitki elde edememişlerdir. 2. boğum, 2. boğum arası, 1. yaprak ve 2. yaprak eksplantlarından ne kallus ne de bitki elde edemediklerini rapor etmişlerdir (51).

Manimaran vd (2013), transgenik bitki üretimi ve gelişimi için *Agrobacterium tumefaciens* ile gen transfer yöntemi ve elit *Indica* BPT 5204 varyeteleri kullanılmıştır. Yaş aralığı 3-30 gün arasında değişen çeşitli çeltik kallusları 3 gün süreyle karanlıkta *A. tumefaciens* süspansiyon kültürlerinde inkübe edilmiştir. Geçici GUS gen ifadesi analizine dayanan tespitite 6 günlük çeltik kalluslarının 21 günlük çeltik kalluslarına göre daha yüksek transformasyon kapasitesine sahip olduğu rapor edilmiştir (52).

2.3.1. Embriyo kültürü

Yüksek bitkilerin tohumlarından ve tohum taslaklarından embriyoların izole edilerek belli ortamlarda kültüre alınması embriyo kültürü olarak tanımlanmaktadır.

Embriyo kültürü embriyonal büyüme ve farklılaşma üzerine besinlerin, bitki büyüme düzenleyicilerinin ve diğer kimyasal ve fiziksel faktörlerin etkilerini incelemek için yararlı bir tekniktir. Embriyo kültürü ayrıca çimlenmesi zor olan tohumların çimlendirilmesinde yani tohum dormansisinin kırılmasında, genetik çalışmalarda ıslah süresinin kısaltılmasında, yeterince gelişmemiş ve hibrit embriyoların yaşatılmasında, haploid bitki üretilmesinde, hastaliksız bitki üretiminde ve tohumla üretimi zor olan bitkilerin üretiminde kullanılmaktadır (25).

Embriyonun gelişim kademeleri ana hatlarıyla küresel, kalp şekilli ve torpido şekilli olmak üzere sıralanabilir. Embriyo kültürü iki değişik şekilde yapılmaktadır:

1. Olgun tohum embriyolarının kültürü
2. Olgunlaşmamış erken bölünme fazındaki proembriyoların kültürü

Embriyo tohumundan çıkarılarak da kültüre alınabilir. Tohumdan çıkarılan embriyo tam olgun olduğundan kültürdeki gelişimi daha kolaydır. Embriyo ne kadar erken safhada kültüre alınırsa o kadar geliştirme işlemi zor olur. Çünkü olgun embriyolar temel besin ortamında (sadece makro ve mikro besin elementlerinin bulunduğu ortamda) gelişebilirken olgunlaşmamış embriyolar için ilave besin maddelerine ihtiyaç vardır (vitamin, aminoasit, hormon vs.) (53).

Ayrıca olgunlaşmamış embriyoların eksplant kaynağı olarak kullanılabilmesi için donör bitkiden belli dönemlerde eksplant kaynağı temin edilmesi ve kışlık çeşitlerde vernalizasyon ihtiyacının karşılanması için seralara ve kontrollü koşullara gereksinim duyulmaktadır. Bu durumda daha uzun bir süre ve daha fazla finansman gerekmektedir. Buna karşın, olgun embriyoların kaynağı olan tohumlar kolaylıkla temin edilebildikleri ve depolanabildikleri için yılın her döneminde çalışma olanağı sağlamaktadırlar (54).

Embriyo kültüründe, gelişen tohumdan veya tohum taslağından alınan, olgunlaşma dönemine yakın dönemdeki embriyolar izole edildiğinde bu embriyoların heterotrofik olduğu görülmüştür ve enerji kaynağı içeren basit bir inorganik ortamda gelişebilmişlerdir. Olgunlaşmamış embriyoları kültüre almada ise embriyoların büyüme ve gelişmesine destek olabilecek bir kültür ortamı belirlemenin çok önemli olduğu belirtilmiştir (25).

Bitki embriyolarının kültürü ile ilgili ilk çalışma *Raphanus* ve *Cochlearia*'nın tohumlarından olgun embriyoları (2mm) mineral tuz ve şeker içeren basit bir ortamda kültüre alınarak ve bitkicik geliştirilerek yapılmıştır. Bundan sonra, değişik bitki türlerinin embriyoları kontrollü koşullarda geliştirilmiştir. Bu çalışmalarla embriyoların besin ihtiyaçları, büyüme ve farklılaşmaları gibi konular incelenmiş ve embriyo kültürüne ilişkin bazı yöntemler ortaya konmuştur (25).

Bommineni ve Jauhar (1996), makarnalık buğday çeşitlerinde (Renville, Medora, Monroe ve Vic) olgunlaşmamış embriyolardan kallus oluşumu için % 2 ve % 3 sükroz ile 3 çeşit katılaştırıcı madde (% 0.8 agar, %0.8 agaros ve %4 phytigel) kullanılmıştır. Bütün çeşitlerde 2 mg/l 2,4-D % 3 sükroz ve % 0.8 agar içeren MS ortamında 2-3 gün içinde somatik embriyo oluşumu gözlediklerini, somatik embriyoların 3-4 hafta içerisinde küçük ve yoğun somatik topluluklar halinde geliştiklerini, bu toplulukların bitki rejenerasyon ortamına aktarıldıklarında bitki oluşumu gözlendiğini belirtmişlerdir (55).

Zhang vd (1996), çeltikte olgun embriyo kaynaklı kalluslardan sürgün rejenerasyon yeteneğinin kalıtımı belirlemek amacıyla hem yüksek hem de düşük farklılaşma yeteneği olan genotipler farklı kombinasyonlarda kültüre almışlardır. Araştırmada kallus oluşumu için 3 mg/l 2,4-D, 5 g/l maya ekstrakt, 30 g/l şeker ve 11 gr/l agar içeren ½ MS yalın ortam konsantrasyonu, oluşan kalluslardan bitki rejenerasyonu için 2.5 mg/l NAA, 8 mg/l kinetin, 30 gr/l şeker ve 3 g/l gilret içeren ¼ N6 ortamına ve ¼ MS Plus ortamına ortama transfer etmişlerdir. Bunun sonucunda bu çalışmada hem yüksek hem de düşük rejenerasyonun farklılığının aynı allel tarafından kontrol edildiği tespit edilmiştir (56).

Ivanov vd (1998), 5 buğday çeşidinin olgunlaşmamış embriyoları kullanılarak 2 mg/l 2,4-D içeren katı MS ortamında kültüre alarak embriyogenik kalluslar elde etmişlerdir. Daha sonra embriyogenik kalluslardan bitki rejenerasyonunu gerçekleştirmek için MS, 0,1 mg/IAA, 0,5 mg BAP, 20 g/l sakaroz, 8 g/l agar pH 5.8 ortamında kültüre alınmıştır. Bitki

boyu 5-6 cm'ye ulaştığında köklendirilmek üzere 5 mg/IAA, 0.1 mg/l Kinetin, 146 mg/l L-glutamin, 20 g/l sakaroz, 8 g/l agar içeren MS ortamına aktarılmıştır. Köklenen bitkilerin soğuklanmasını sağlamak üzere tüpler içerisinde 2-4 °C'de 4-5 hafta muhafaza edilmiştir. R0 rejenerantları daha sonra sera koşullarında normal fizyolojik gelişimini tamamlamıştır. Araştırmacılar yapmış oldukları çalışmada, R3 ve R4 generasyonlarını elde etmişlerdir (57).

Karaca ve Bürün (1999), yapmış oldukları bir çalışmada Doğu 88 buğday çeşidinin olgun ve olgunlaşmamış embriyoları 4 farklı madde katılmış MS ortamında kültüre almış olup kallus, sürgün ve kök oluşum oranlarını belirlemişlerdir. Araştırma sonucu en yüksek kallus oluşumu olgunlaşmamış embriyoların kültüründe (ortalama % 94) ve 2.0 mg/l 2.4-D + 1.0 mg/l kinetin eklenmiş MS ortamında olduğunu, olgun embriyoların kültüründe ise (ortalama % 95) 2.0 mg/l 2.4-D ilave edilmiş MS ortamında elde edildiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca kallus ağırlıkları bakımından olgun embriyoların daha yüksek sonuç verdiğini, en yüksek kallus ağırlığının ortalama 395.3 mg'de 2.0 mg/l 2.4-D + 1.0 mg/l kinetin içeren MS ortamında elde edildiğini bildirmişlerdir (6).

Birsin vd (2001), tarafından 2 yulaf çeşidi ve 8 hattı (Ankara-76, Ankara-84, A-803, A-804, A-805, A-821, A-822, A-823, A-824 ve A-825) kullanılan çalışmada, olgun yulaf embriyosundan kallus oluşumu ve rejenerasyon yeteneğini belirlenmiştir. Kallus oluşumu için büyümü düzenleyici olarak 2 mg/l 2,4-D, 20 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ve 4.43 g/l MS içeren katı MS ortamı kullanılmıştır. Bitki rejenerasyonu içinde, 20 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ve 4.43 g/l MS içeren katı MS ortamı kullanılmıştır. Elde edilen verilere göre, kallus oluşumu %50 (A-805) ile %95 (A-821) arasında, kallus ağırlığı 0.8 (A-805) ile 1.4 (A-821) arasında, rejenerasyon kapasitesi %69.3 ile %93 arasında, kültür etkisi %38.8 ile %80.0 arasında, bitki sayısı 1.5 ile 9.3 arasında gözlenmiştir. Kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesinin çeşit ve hatlara göre değiştiği, kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi arasında önemli bir ilişkinin olmadığı, rejenere bitki sayısının doğrudan kallus oluşumuna bağlı olduğu bildirilmiştir (58).

Li vd (2003), on yazlık buğday genotipinin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarını kültüre almışlardır. Olgunlaşmış embriyo kültürü için yüzey sterilizasyonu yaptıkları tohumları 25±1°C'de 1/2 MB ortamında (MS tuzları + B5 vitamini + 2 mg/l glisin, 300 mg/l glutamin + 500 mg/l kazein hidrolizat + %3 sakkaroz + %0,7 agar) 20-24 saat su

emmeye bıraktıktan sonra aseptik koşullarda olgunlaşmış embriyoları elde etmişlerdir. Olgunlaşmış buğday embriyolarını olgunlaşmamış embriyolar için kullandıkları 2 mg/l 2,4-D içeren MB ortamında kültüre almışlardır. Daha sonra meydana gelen kalluslar bitki rejenerasyonu için TDZ içeren MB ortamına aktarılmıştır. Araştırıcılar, kallus oluşum oranına ve bitki rejenerasyonuna genotipin etkisinin çok önemli ve bitki rejenerasyonu için TDZ'nin 1 mg/l dozunun uygun değer olduğunu bildirmişlerdir (59).

Aditya vd (2004), yüksek frekansta kallus oluşma yeteneğine sahip BR24, BR26, BRR1 dhan29, BRR1 dhan40, IR51491-AC5-4, Patnai, Pokkali, Binnatoa 8 *Indica* genotipin radikla, skutellum ve olgun embriyo eksplantları 2 mg/l 2,4-D ve % 0.3 phytagel ihtiva eden MS besi ortamında kallus oluşumunu gözlemişlerdir. Olgun embriyolar direkt kültüre alındığında yüksek frekansta kallus üretimi 2 genotipte (IR51491-AC5-4 ve BR24) gözlenmiştir. Skutellum eksplantlarından elde edilen kalluslar sarı, sıkı, kırılğan ve küçük küreciklerden oluşan tipte iken köklerinden elde edilen kalluslar yarı kırılğan, solgun sarı, parlak ve bölmeli oluşan tipte olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonucunda genetik transformasyon metodu ve protoplast izolasyonu için embriyonik hücre süspansiyonunun iyi bir kaynak olduğu ifade edilmiştir (60).

Saharan vd (2004), skutellum kaynaklı eksplantların kallus oluşumu ve bitki farklılaşmasının olgun embriyo eksplantlarından daha yüksek frekanslı olduğunu tespit etmişlerdir (61).

Khaleda ve Al-Forkan (2006), 5 farklı derin su eltiğinde kallus oluşumu ve bitki farklılaşma yeteneklerini belirlemek için yaptıkları araştırmada olgun embriyo ve skutellum eksplantlarından bütün varyetelerde yüksek kallus oluşumu ve bitki rejenerasyon frekansı bulduklarını, koleoptil ve kök eksplantlarından daha düşük frekans elde edildiğini, genotipe bağlı olarak en iyi bitki farklılaşmasının 2 mg/l BAP, 1.5 mg/l 2,4-D ihtiva eden LS ortamında sağlandığını tespit etmişlerdir. Ayrıca kallus oluşmasında ve bitki oluşma ele alınan çeşitler arasında gözlendiğini, kallus oluşumu potansiyeliyle bitki farklılaşması potansiyeli arasında korolesyon olmadığını, koleoptil ve kök eksplantları farklılaşma ortamda kallus oluşumu gözlenmesine rağmen sürgün oluşumu gözlenmediği ve skutellum eksplant kaynağının en iyi kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu sağladığını tespit etmişlerdir (62).

Hoque vd (2007), BR14, BRRİ dhan28, BRRİ dhan29, BRRİ dhan38, BRRİ dhan39 ve BRRİ dhan40 gibi 6 elit Bangadales *Indica* çeltik genotipi ile Taipei-309 *Japonica* genotiplerini 2.0 mg/l 2.4-D, 20.0 g/l sakaroz ve 8.0 g/l agar ilaveli MS ortamında kültüre aldıklarında BRRİ dhan38 genotipinin en iyi embriyonik kallus oluşumu sağlamış olduğunu, bu genotipi Taipei-309 ve BRRİ dhan39 genotiplerinin takip ettiğini saptamışlardır. Ayrıca Taipei-309 en iyi bitki rejenerasyonu olduğunu, bu genotipi BRRİ dhan38 ve BRRİ dhan39 genotiplerinin takip ettiğini bildirmişlerdir (49).

2.3.1.1. Endosperm destekli embriyo kültürü

Özgen vd (1996 ve 1998), tarafından geliştirilen bu yöntemde, yüzey sterilizasyonu uygulanan tohumlarda embriyolar bistüri ile skutellum yönünden kesilip, endospermle aralarında 45° açı olacak şekilde kaldırılarak tohum üzerinde bırakılmaktadır. Endospermdestekli yöntem olarak isimlendirilen bu yöntem ile kallus oluşumu aşamasında embriyonun gereksinim duyduğu besin maddelerininin bir bölümünü kendi endosperminden karşılamaktadır (32,63).

Bu yöntemin bitki rejenerasyonu bakımından daha iyi olmasının nedeni ile ilgili çeşitli görüşler bildirilmiştir. Bu görüşlerden biri, endosperm destekli olgun embriyo kültüründe endospermin yapay besi ortamına göre daha fazla besin sağladığı yönündedir (64). Diğer bir görüş ise embriyodaki bazı hücrelerin endospermden sinyal alabileceği ve böylece eksplantta düzgün bir şekilde farklılaşma sağlanabileceği ve bunun sonucunda da yüksek kalitede bitkilerin oluşacağı yönündedir (65).

Özgen vd (1996), 7 kışlık buğday genotipinin olgun ve olgunlaşmamış embriyolardan kallus oluşumunun sağlanmasında, kendilerinin geliştirdiği embriyo gevşetme yöntemi kullanarak başarılı bir sonuca ulaşmışlardır. Embriyoların endospermden tam olarak değil de, hafifçe ayrılarak (gevşetilerek) ortama konulmasının çalışmanın en önemli noktası olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada, kallus oluşum oranı ile kallusların rejenerasyon kapasitesi arasında bir ilişki olmadığı belirtilmiştir. Olgunlaşmış embriyoların düşük kallus oluşum frekansına, fakat yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip oldukları belirlenmiştir. Hızlı, güvenilir ve her zaman bulunabilmesi göz önünde tutulduğunda; olgunlaşmış embriyo kültürünün bu şeklinin, olgunlaşmamış embriyo kültürü için alternatif bir yöntem olarak belirtmişlerdir (32).

Sayar vd (1999), diploid (*Triticum monococcum* L.ve *Triticum boeoticum* L.), tetraploid (*Triticum durum* Desf. ‘Kundur-1149’) ve hekzaploid (*Triticum aestivum* L. ‘Bezostaja-1’) buğday çeşitlerinde endosperm destekli olgun embriyo tekniği kullanarak, tane iriliğinin kallus oluşumuna etkisi araştırdıkları çalışmada; buğday çeşitlerine ait tohumları küçük ve büyük olarak ikiye ayırdıklarını, yüzey sterilizasyonu uygulanan bu tohumlarda tamamen steril ortamda embriyo endospermden hafifçe ayrılıp 8 mg/L 2,4-D içeren sıvı ortamda kallus oluşumu sağlandığı; içinde oksin yani 2,4-D bulunmayan MS ortamına rejenerasyon için aktarıldığını, tüm genotiplerde büyük tanelerin, küçük tanelere göre kallus oluşturma frekansı, kallus net ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi ve kültür oluşturabilme yeteneğinin önemli derecede yüksek değerler gösterdiğini; tohum ağırlığı ile kallus ağırlığı ($r = 0,86$) ve kallus ağırlığı ile rejenerasyon kapasitesi ($r = 0,85$) arasında önemli ilişkili olduğunu, büyük taneli buğdaylarda endosperm destekli embriyo tekniği kullanılarak yüksek düzeyde rejeneratif kallus oluşumu elde edildiğini, bu nedenle bu tekniğin olgunlaşmamış embriyolara alternatif olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir (66).

Birsin ve Özgen (2004), eksplant kaynağı olarak olgunlaşmamış tritikale embriyosu, endosperm destekli olgun tritikale embriyosu ve olgun tritikale embriyosunun içinde olduğu 6 tritikale (BDMT-98-8S, Melez-2001, Mikham-2002, Presto, Tacettin Bey ve Tatlicak-97) genotipini kullanmışlardır. Olgunlaşmamış embriyoyu çimlendikten 15-18 gün sonra steril koşullarda 2 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Olgun embriyolar, yine steril koşullarda endospermden tamamen ayrılmış ve 2 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Endosperm destekli olgun embriyo kültüründe ise; steril koşullarda embriyo endospermden hafifçe ayrılarak 8 mg/l 2,4-D içeren ortamında kültüre alınmıştır. Yapılan araştırma sonucunda tritikale için yüksek bitki rejenerasyonunun endosperm destekli olgun embriyoda meydana geldiğini bildirmişlerdir (67).

Şimşek (2004), yulafta (*Avena sativa* L.) 2 çeşit ve 8 hat olmak üzere toplam 10 çeşit yulaf genotipi kullanılmış kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi, kültür etkisi ve rejeneratif bitki sayısı parametreleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda endosperm destekli olgun embriyo kültüründe bitki rejenerasyonuna tane iriliğinin etkili olduğu, büyük tanelerin küçüklere göre rejenerasyon kapasitesinin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (68).

Turhan ve Baser (2004), endosperm destekli ve endospermsiz olgun embriyoları MS (kontrol), 8 mg/l 2,4-D, 2 mg/l NAA, 4 mg/l 2,4-D + 1 mg/l NAA ve 4 mg/l 2,4-D + 2 mg/l NAA içeren 5 farklı MS ortamında kültüre almışlardır. En yüksek kallus oluşumunun 4 mg/l 2,4-D + 1 mg/l NAA içeren ortamda endosperm desteksiz olgun embriyoda gerçekleştiğini saptamışlardır. Yine, aynı çalışmada en yüksek embriyogenik kallus oluşumunun endospermsiz olgun embriyoda meydana geldiği tespit edilmiştir (69).

Filippov vd (2006), olgun embriyoların olgunlaşmamış embriyolara göre daha yaşlı ve daha fazla farklılaşmış dokular içerdiğini ve bu nedenle tersine farklılaşma için daha yüksek oranda oksin kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir. Yine, aynı araştırmacılar endosperm destekli olgun embriyo kültüründe endospermin bitki büyüme düzenleyicilerini absorbe edebileceğini ve bu nedenle endosperm destekli olgun embriyo kültüründe endosperm desteksiz olgun embriyo kültürüne göre daha yüksek oranda oksin kullanılması gerektiğini bildirmişlerdir (70).

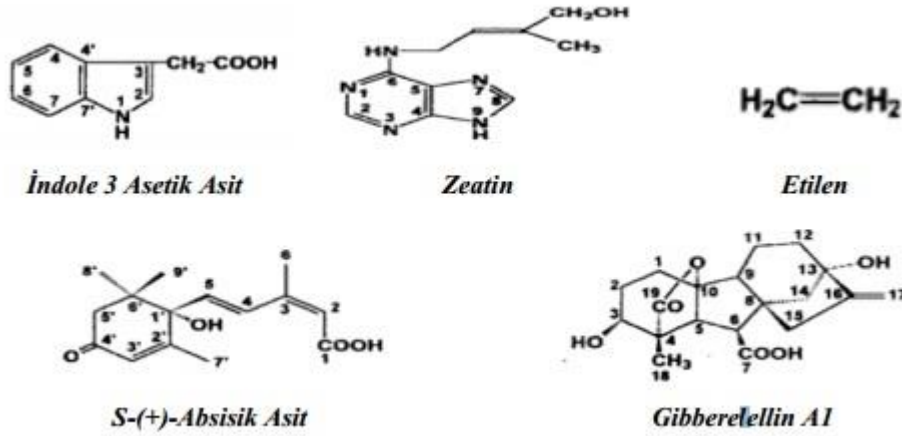
Özgen vd (2007), Arpada (*Hordeum vulgare* L.) tohum iriliğinin *in vitro* koşullarda endosperm destekli olgun embriyo kültürü parametrelerine olan etkilerini araştırmışlardır. Arpa kavuzlu bir tahıl olduğundan kavuzları mekanik yolla temizlenmiş büyük ve küçük olarak iki gruba ayrılmıştır. Embriyolar endospermden tamamen ayrılmadan yerinden oynatılmış ve kallus oluşumu için 8mg/l 2,4-D içeren sıvı ortamda 25±1°C inkübatörde 11 gün boyunca karanlıkta bekletilmişlerdir. Gelişen kalluslar bitki rejenerasyonu için bitki büyüme düzenleyici içermeyen katı MS ortamına aktarılmış 3 hafta 25±1°C inkübatörde bekletilmiş ve daha sonra 4 hafta süreyle 16 saatlik fotoperiyotta (1500 Lux) ve 25±1°C sıcaklıkta bekletilerek rejenere edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, kallus gelişiminin ve bitki rejenerasyonunun iri tohumluklarda daha fazla olduğu yönündedir (71).

Han vd (2011), Arpa (*Hordeum vulgare* L.) çeşitlerinde *in vitro* koşullarda endosperm destekli olgun embriyo kültürü yöntemiyle genotipler arasındaki kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu özelliklerinin farklılıkları rapor edilmiştir. Araştırmada 12 genotip (Dong 17, Fuxuan 48, Golden Promise, Humai 1, Igri, TL43, Triumph, Weisuobuzhi, Zaoshu 3, ZAU 3, ve Zhepi 1, Yuyaohuanghumimai) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek kallus oluşumunu % 78.4 Zaoshu 3, % 74.3 Golden Promise vermiştir. Bu da Zaoshu 3 genotipinin *in vitro* çalışmalarda kullanılabilirliğini ve bu çeşidin agronomik özelliklerinin iyi, adaptasyon yeteneğinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir (72).

Endosperm destekli doku kültürü yöntemi, kallus üretimi ve bitki rejenerasyonu için gereken toplam süreyi kısaltabilecek etkili bir yöntem olmasının, ıslah uygulamaları açısından önemli olduğunu bunun yanı sıra hızlı ve basit olmasının da bu yöntemin diğer bir avantajı olduğunu düşünülmektedir.

2.4. Büyüme Düzenleyicilerine Bağlı Kallus Gelişimi

Bitki büyüme ve gelişmesinde en önemli rol oynayan 5 ana hormon grubunun bitki bünyesinde mevcut olduğu yapılan araştırmalarda belirlenmiştir. Bunlar; oksinler, sitokininler, çok çeşitli gibberellinler, etilen ve absisik asittir. (Şekil 2.5.)



Şekil 2.5. Bitkisel hormon gruplarının yapısı (73).

Bitki bünyesinde oluşan fizyolojik faaliyetlerin çoğunluğu bu hormonların kontrolü altındadır. Hormonların etkileri daima bir denge içerisinde birbirlerini tamamlayıcı veya bir diğerinin etkisini azaltıcı olarak ortaya çıkmaktadır. Günümüzde büyümeyi ve gelişmeyi yönlendirici özellikleri dikkate alındığında bitki hormonlarından çok yönlü olarak yararlanılmaktadır. Bitki bünyesinde bulunan bu doğal bileşiklerin yanında bu bileşiklerin kimyasal yapılarına az veya çok benzeyen sentetik bileşikler de eklenmiş ve hormon etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bunlardan birçoğunun bitkide doğal bulunanlardan çok daha aktif oldukları, yani çok daha az kullanıldıklarında benzer etkiler oluşturdukları belirlenmiştir. Bitkide mevcut olmadığı halde çok düşük miktarlarda hormon etkisini gösteren bu maddelere “sentetik hormonlar” ya da “büyüme ve gelişme düzenleyicileri” adı verilmektedir.

Büyüme ve gelişme düzenleyicilerin tanımında da belirtildiği gibi hormonlar gibi çok az miktarlarda bile bitki gelişimine tesir eden ve sentetik olarak üretilen kimyasal maddeler de (sentetik hormon) vardır. Elde edilen maddelerin bir kısmı büyümeyi teşvik ederken (oksin, sitokinin, gibberellin...) diğer bir kısmı da engellemektedir (absisik asit, etilen...) Fakat büyüme ve gelişme düzenleyicileri gelişmeyi teşvik edici ve engelleyici maddeler olarak birbirinden kesin sınırlarla ayırmak pek mümkün değildir. Çünkü bitki büyümesinin değişik devrelerinde ve değişik bitki organlarına değişik konsantrasyonlarda uygulandıklarında farklı etkiler gösterebilir (74).

Sitokininler hücre bölünmesini başlatan maddelerdir. Letham, 1964 yılında ilk doğal sitokininini mısır tohumlarından elde ederek "zeatin" adını vermiştir. Çok sayıda tohum veya meyve ile kök salgılarında bulunan zeatin, sitokininlerin en yaygını olmasına rağmen, sitokininler içersinde en önemlisi "kinetin" dir. Bu maddenin diğerlerine nazaran büyük farkı sentetik olarak elde edilmiş olması ve büyümeyi özellikle hücre bölünmelerini teşvik ediyor olmasıdır. Kinetinden başka, benziladenin, benzilamino purin ve tetra hidropiraniil kullanılmaktadır (75). Ayrıca sitokininler bitkinin üreme kabiliyetini düzenlemede de rol oynamaktadırlar (76–78).

Sitokininler hücre bölünmesini, yeniden farklılaşma ve bitki rejenerasyonunu teşvik etmektedirler. Doku kültürü çalışmalarında sitokinin ve oksinin büyüme düzenleyicileri besin ortamına yaklaşık 1/10 oranında verilirse bitki hücreleri bölünerek farklılaşmamış doku kütlesi olan kallus oluşmaktadır. Eğer kallus daha sonra, aynı besinleri içeren fakat sitokinin / oksin oranının 1/10'den daha yüksek olduğu yeni bir ortama aktarılırsa kallus üzerinde kökler oluşmaktadır. Diğer taraftan sitokinin oksine olan oranı arttırılırsa kallus yeşil renge dönüşerek üzerinde sürgünler gelişmeye başlamaktadır. Böylece tek bir kallus parçalara bölünerek ve her bir parçaya kök ve sürgün oluşturmasını uyarıcı yönde büyüme düzenleyici uygulanarak başlangıçtaki tek bir kallustan birbirine benzeyen yüzlerce yeni bitki üretilebilmektedir (79).

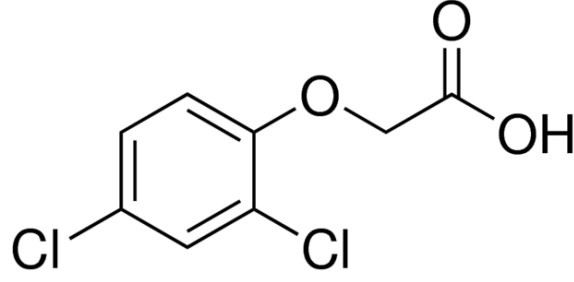
Oksinler, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi etkileyen en önemli gruptur; bitkilerin büyüme gösteren uç kısımlarında yani meristem dokularında (kök, tomurcuk, yaprak vb.) yoğun olarak bulunmaktadır. Bitkinin gelişmesini diğer bitki büyüme düzenleyicilerle birlikte gerçekleştirir. Bitki kökünde doğal olarak az bulunur ve bitkinin boyca büyümesini sağlarlar. Hücre bölünmesi, büyümesi, hücre ve doku farklılaşmasını düzenlerler. Bitkinin

güneşe yönelmesini sağlarlar (74). Oksinlerin uzamayı hızlandırması hücre büyüme ve bölünmesini artırmasının bir sonucudur. Bu durum oksinin hücrenin osmotik sisteminde oluşturduğu bazı değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Oksinler, hücrede osmozun artırılması, hücrenin suya karşı geçirgenliğini yükseltmesi, hücre çeperi basıncında düşmeye neden olması, hücre çeperi sentezinde artışın sağlanması, hücre çeperi esnekliğini ve genişliğini artıran özel RNA ve protein yapısındaki enzimlerin sentezini artırması gibi nedenlerden dolayı hücre büyümesinde etkili olmaktadır (80). Çok fazla salgılandığında veya sentetik olanların fazla uygulanması halinde büyümeyi durdururlar. Az salgılandığında yapraklar dökülmeye başlar. Meyve vermede etkindirler. Döllenen çiçeğin dökülmesini engellerler. Ovaryumun gelişmesini ve çekirdeksiz meyve oluşumunu sağlarlar. İlkbaharda kambiyum gelişimini düzenlerler. Sentetik olarak elde edilen oksinler genelde yabancı otların yok edilmesinde kullanılırlar (74).

Oksinler, doğal ve sentetik oksinler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Doğal oksinlerden en önemlileri; İndol 3-asetik asit (IAA), İndol-3-bütirik asit (IBA) ve fenilasetik asit (PAA) tir. Sentetik oksinler ise Naftalenasetik asit (NAA), Naftiloksiasetik asit (NOA), p-klorofenoksi asetik asit (4-CPA), 2,4- Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D), 2,4,5-Triklorofenoksiasetik asit (2,4,5-T), 2-(2,4,5)- triklorofenoksi propiyonik asit (2,4,5-TP) ve 4-amino-3,5,6-trikloropikolinik asit (Picloram)'den oluşmaktadır (80).

Oksinlerden; çelik köklendirmede IAA, IBA, NAA; çiçek ve meyve dökülmesini azaltmada CPA, NOA, bazen 2,4-D'nin kullanıldığı bilinmektedir. Ayrıca oksinler meyve kabuğunun inceltilmesi ve parlak görünüme sahip olması, gövdeden sürgün çıkmasını engelleme, herbisit gibi pek çok amaçla da kullanılmaktadırlar (25). Doku kültürü çalışmalarında ise tek başına kullanıldıklarında kallus oluşumunu, hücre süspansiyonlarının elde edilmesini ve somatik embriyo oluşumunun uyarılmasını, sitokinlerle birlikte kullanıldıklarında yine kallus oluşumunu, sürgün rejenerasyonunu (organojenez) ve somatik embriyo oluşumunun uyarılmasını sağlamaktadırlar (81).

Doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak sentetik oksinlerden, özellikle de 2,4-D'den (diklorofenoksiasetik asit) yararlanılmaktadır. (Şekil 2.6.)



Şekil 2.6. 2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit) (82)

2,4-D, Amerika Kimyasal Kozmetik Anonim Şirketi tarafından 1940'ların ortalarında geliştirilmiş organik bir kimyasal olup, ana bileşimi asittir (83). Aslında, hormonların biyolojik aktivitesine benzer organik bileşikler geliştirmek istenirken 2,4-D gibi etkili herbisitler bulunmuştur.

2,4-D, klorofenoksi bileşikler grubundandır. Klorlandırılmış fenoksi asit grubuna girer. Beyaz pudra halindedir. Açık formülü $Cl_2C_6H_3OCH_2CO_2H$, moleküler ağırlığı 221.04 gr/Mol'dür (84). Erime noktası 140.5 °C (413.5 K), kaynama noktası 160 °C (0.4 mm Hg), su içerisindeki çözünürlüğü 25 °C' de 900 mg/l'dir (85). 2,4-D'nin asit formu, ticari olarak kendi başına kullanılmamaktadır. Genellikle amin ve ester tuzları olarak kullanılır. 2,4-D'nin ester formu, buharlaşma ile kaybedileceğinden amin tuzlarının kullanımı daha yaygındır.

2,4-D genellikle düşük yoğunluklarda; hücre gelişimi, hücre bölünmesi, meyve gelişimi ve köklendirme çalışmaları için kullanılmaktadır (86). Fakat 2,4-D yüksek dozlarda kullanıldığında bitki metabolizmasında gerçekleşen enzim aktivitesi, nükleik asit sentezi, protein sentezi ve hücre bölünmesi gibi bazı olayları etkileyerek bitki gelişimini engellemektedir (87). Aynı zamanda *in vitro* ortamda 2,4-D'nin yüksek dozu somaklonal varyasyona neden olduğundan doku kültürü kaynaklı varyasyonu azaltmak için de 2,4-D seviyelerinin daha düşük olması gerekmektedir (88). Bitki doku kültürü ortamında yaygın olarak yer almasının yanı sıra yüksek yoğunluklarda, tarımda önemli bir herbisit olarak da kullanılmaktadır.

Nışlı vd (1973), çeşitli oksin hormonları ve çeşitli çeltik dokuları kullanılarak bunlardan oluşan kalluslardan bitki oluşmasını sağlayan bir araştırma yürütmüşlerdir. 2,4-D, NAA ve

IAA oksin hormonlarının kallus oluşturma yeteneklerini yumurta, anter, boğum, kök ve tohum gibi çeşitli eksplantlarda başarılı olduğu, kalluslardan bitki oluşumunda sitokininlerin gerekli olmadığını rapor etmişlerdir (89).

Lieb vd (1973), olgun sağlıklı embriyolar % 1'lik Triton X-100 ilaveli % 50 ticari klor ile 20 dakika muamele etmişler ve ardından birkaç kez steril su durulama işlemi yapmışlardır. Kök eksplantlarından kallus dokusunun gelişmesi ve büyümesi için 6 hafta sürede 2,4-D ortamında inkübasyonun gerekli olduğu rapor etmişlerdir (90).

Inoue vd (1976), çeltikte epidermal hücreler, yaprak kını, koleoptil, boğum, boğum araları, mezokotil ve kök; *Echinochloa crus-galli*, *Nicotiana tabacum* ve *Vicia faba*' nın yaprakları ve kökleri gibi farklı eksplantlar kallus oluşumu için farklı konsantrasyonda 2,4-D ihtiva eden ortama aktarmışlardır. Kallus oluşturan eltik tohum ve organ kaynaklı eksplantlar farklı konsantrasyonlarda oksin içeren ortama alındıklarında farklılaşma gözlendiği ve kallus oluşumunun oksin konsantrasyonu yanı sıra oksin eşitine (IAA, NAA ve 2,4-D) de bağlı olduğunu ve kallus oluşumu için farklı oksin çeşitlerinin içerdiği maddenin aktivitesinin farklılığından kaynaklandığını tespit etmişlerdir. Çeltik eksplantlarında kallus oluşumunda kinetin (sitokinin) etkisi görülmediği, Thiamine HCl kallus büyümesi için gerekli olduğu ancak kallus oluşumu için şart olmadığını bildirmişlerdir (91).

Abe vd (1984), yalın MS, 3.0 mg/l 2,4-D, 2.0 mg/l kazein hidrolaz ve 30 g/l sakkaroz ilaveli ortama *Japonica*, *Indica*, *Japonica-Indica* hibritleri ve *Javanica* sanılan büyük tohumlu eltik varyeteleri gibi çeşitli ekotipleri bulunan 60 eltik çeşitinde 5-7 günlük fidelerinden alınan kök eksplantlarının doku kültürüne tepkisini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada bitki rejenerasyonunu 10 mg/l kinetin, 2.0 mg/l 2,4-D ile aynı yalın ortamda 2-3 parça eksplanttan elde edildiğini ve bütün varyetelerde %70 oranında köklerde kallus oluşumu gözlendiğini bildirmişlerdir. Araştırmada kullanılan *Japonica* grubu çeşitlerinin bitki farklılaşma kapasitesinin diğer gruplara göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir (92).

Brisibe vd (1990), bir Asya eltiği (*Oryza sativa* L.) eşit, bir Afrika eltiği (*Oryza glaberrima* Steud.), iki yabani eltik (*Oryza perennis* Moench ve *Oryza latifolia* Desv.) eşitleri araştırmada kullanılmıştır. Bu 4 genotipinin olgun tohumlarını çeşitli sakkaroz

konstrasyonları içeren 2,4-D besi ortamında kültüre aldıklarında yüksek sakaroz içeren ortamda kallus oluşumu ve bunu takip eden organojenezin fazla olduğunu saptanmıştır (93).

Pavlica vd (1991), *Allium ascalonicum* L.'ye farklı dozlarda 2,4-D kimyasalı uygulamışlardır. Uygulama sonucunda, 2,4-D'nin mutajenik etkili olduğu, güçlü bir sitotoksik olduğu belirlenirken, aynı zamanda laggard kromozomu ile köprü oluşumu da gözlenmiştir (94).

Felföldi ve Purnhauser (1992), 3 tritikale ve 44 buğday varyetesinin olgunlaşmamış embriyolarını 1 mg/l 2,4-D içeren MS ortamı üzerinde kültüre alarak kallus oluşumunu araştırmışlardır. Genotiplere bağlı olarak kallus oluşumunda belirgin bir fark gözlenmemiştir. Kalluslar daha sonra hormon içermeyen MS ortamı üzerinde kültüre alınarak bitki rejenerasyonu sağlanmıştır. Rejenerasyon yeteneğini buğdayda %1-90 oranında (ortalama %40) iken tritikalede bu oran %5-84 (ortalama %38) olarak bulunmuştur. Ayrıca, buğdayda embriyogenik kallus benzeri kalluslar %0-39 oranında (ortalama %4), tritikalede ise %0-81 oranında (ortalama %32) bulunmuştur (95).

Oinam ve Kothari (1995), *Indica* alt grubuna ait CH 1039 çeltik çeşidinin 3, 4, 5, ve 7 günlük fidelerinden elde edilen koleoptil eksplantlarının 2.5mg /l 2,4-D ihtiva eden MS ortamında kültüre alındığında kallus oluşumu sağlamış olduklarını, elde edilen kalluslardan sürgün oluşumu 2.0 mg/l BAP ve 0.5 mg/l NAA ihtiva eden MS0 ortamında elde edildiğini, bir koleoptil eksplantından ortalama 9.1 - 14.0 sürgün elde edildiğini ve en yüksek bitki oluşum frekansının 4 günlük koleoptil eksplantlarından elde edildiğini bildirmişlerdir (96).

Vikrant ve Rashid (2001), *Triticale*'nin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarını MS ve N6 ortamlarında 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlarında (4.5, 9.0, 18.0 ve 22.5 µM) kültüre almışlardır. En yüksek kallus oluşumunun MS ortamında 9.0 µM 2,4-D dozunda, buna karşın N6 ortamında 18 µM 2,4-D dozunda meydana geldiğini bildirmişlerdir (97).

Mendoza ve Kaepler (2002), Bobwhite buğday çeşidinin olgun embriyolarında 4 oksin tipinin 2,4-D, dikamba, pikloram, ve 2-MCPP [2-(2-metil-4-klorofenoksil) propiyonik asit]'nin 4.5, 9.0 ve 18.0 µM miktarlarını ve şekerin (maltoz ve sakkaroz) farklı sterilizasyonlarının kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine olan etkilerini

araştırmışlardır. Kallus oluşumu için $25\pm 10^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat karanlıkta çimlendirilen tohumların embriyoları kullanılmıştır. Kallus oluşum ortamında MS besinlerine ilave olarak 5 mg/l glutamin, 2 mg/l glisin, 1 mg/l miyo-inositol, 1mg/l kazein hidrolizat, 0.5 mg/l nikotinic asit, 0.5 mg/l pirodoksine ve 0,1 mg/l tiamin kullanmışlardır. Bitki rejenerasyonu ortamı olarak, yarı dozda MS inorganik tuzlarına ilave olarak kallus oluşumunda kullanılan benzer organik bileşikler kullanmışlardır. Bitki büyüme düzenleyicileri olarak ise, kallus oluşumunda kullanılan oksin tipine göre 0.1 mg/l oksin ve 0.5 mg/l BA kullanılmıştır. Çalışma sonucunda kallus oluşumuna oksin tipinin ve dozunun etkisinin çok önemli olduğu belirlenmiştir. 2-MCPP hariç diğer oksinlerde kallus oluşumu gözlemlenmiştir. Pikloram ve dikamba konsantrasyonunun artması kallus taze ağırlığını artırmış, buna karşın 2,4-D konsantrasyonunun artması kallus taze ağırlığını azaltmıştır. Yine, aynı çalışmada en yüksek rejenerasyon oranı, 18 μM dikamba içeren ve filtre sterilizasyonu yapılan sakkaroz içeren ortamda gözlemlenmiştir (98).

Rashid vd (2003), Basmati 370, Basmati 385 ve KS 282 çeltik çeşitlerinin olgun embriyoları 2.0 mg/l 2,4-D ilave edilmiş MS ortamında kültüre alınarak kallus oluşumunun düşükten yükseğe sırasıyla Basmati 370 (% 6.5), Basmati 385 (% 17.6) ve KS 282 (% 31.3) olduğunu, oluşan kallusların oksin ve sitokin içeren MS ortamına transfer edildiklerinde, en yüksek bitki farklılaşmasının 0.5 mg/l NAA+ 1.0 mg/l BAP ilave edilmiş MS ortamında sağlandığını ve en düşük bitki farklılaşmasının ise 0.4 mg/l NAA ve 0.8 mg/l BAP içeren MS ortamında olduğunu tespit etmişlerdir (99).

Kermene (2004), Khao Dawk Mali 105 ve Suphanburi 1 çeltik çeşitlerinin hücre kültürlerinde farklı 9 ortamda test edilmiştir. İki çeşit 2.0 mg/l 2,4-D ve 4.0 mg/l 2,4-D ihtiva eden N6 ortamında yüksek başarı sağlandığı, ancak farklılaşma yeteneği olan hücrelerin büyüme oranında çeşitler arasında önemli farklılık bulunmadığı tespit edilmiştir (100).

Bano vd (2005), çeltik tohumlarını oksin ve sitokin çeşitli konsantrasyonlarını içeren MS ortamında kültüre aldıklarında en iyi kallus 2,4-D ve kinetin içeren MS ortamında elde edilirken, bitkicik oluşumu 0.2 mg/l IAA ile 0.5 mg/l BAP içeren MS ortamından elde etmişlerdir (101).

Buğdayda endosperm destekli ve desteksiz olgun embriyo kültürlerinde oksin tiplerinin karşılaştırıldığı çalışmalarda dikambanın 2,4-D'den daha etkili olduğu belirlenmiştir (70,88).

Beena (2006), 21 çeltik varyetesi tohumlarının kallus oluşumu için 2 mg/l 2,4-D + 1 mg/l Kinetin içeren eden ortamda kültüre alınmıştır. Sürgün farklılaşması için ise MS + 0,5 mg/l NAA + 2 mg/l BAP ihtiva eden ortamda kültüre alınarak % 10 sürgün farklılaşma yeteneği olan varyetelerin endosperm rengi kırmızı olan çeltikler olduğu, beyaz renklilerden ise sadece bir tanesinde % 8 oranında sürgün farklılaşması olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca genel olarak beyaz renkli varyetelerin kırmızı renkli varyetelere oranla daha düşük farklılaşma potansiyeline sahip olduğu rapor edilmiştir (102).

Chowdhury vd (2006), Arkansas çeltik varyeteleri N6, MS ve B5 ortamında kallus oluşumuna bakıldığında, N6 ve MS ortamından B5 ortamı en iyi performans sağladığını, sürgün oluşumu için yaygınca kullanılan 2,4-D ortamına alternatif Pikloram kullanılmasının da sürgün farklılaşma sıklığının düşük olmasına rağmen sürgün gelişiminin yüksek ve hızlı olduğunu rapor etmişlerdir (103).

Haliloğlu (2006), buğdayın yaprak tabanından etkili bitki farklılaşma sisteminin geliştirilmesi amacıyla Bobwhite ve Pavon 76 buğday varyetelerinin yaprak eksplantlarından kallus oluşumu ve bitki farklılaşma kapasitesini belirlemek amacıyla yaptığı araştırmada; en fazla sayıda somatik embriyo 1mg/l NAA+1mg/l 2,4-D ilaveli MS ortamında elde edildiğini ve en fazla bitki oluşumunun da 1 mg/l kinetin ilaveli farklılaşma ortamına transfer edilen embriyonik kalluslardan elde edildiğini rapor etmiştir (104).

Jubair vd (2008), Topa yerel çeltik varyetesinin doku kültüründe potansiyelini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada varyetenin kallus oluşumunu, kallus büyüme oranını ve dolaylı bitki oluşum potansiyelini incelemişlerdir. 2.0 mg/l 2,4-D eklenmiş MS ortamında olgun tohumlar kültüre alındığında % 100 kallus oluşumu yanı sıra en yüksek kallus büyüme oranı (0.0791 ± 0.017 g/hafta) gözlenmiştir. Ayrıca en yüksek bitki rejenerasyonu, kallus başına ortalama 3 sürgün ile % 80 rejenerasyon yapan 3.0 mg/l BAB+ 0.5 mg/l NAA+ 0.5 mg/l kinetin bulunan ortamda sağlandığını rapor etmişlerdir (105).

Summart vd (2008), KDML 105 aromatik çeltik varyetesinin kallus oluşumunda farklı 2,4-D konsantrasyonun (1, 2, 3, 4, 5 mg/l), inkübasyon sıcaklığı (25 ± 2 °C ve 30 ± 2 °C), ışık (karanlık, aydınlık), şeker konsantrasyonu (% 2, % 3 ve % 4 (w/v)) ve kültür ortamının (MS, B5, LS ve N6) etkisi araştırmak için yapılan çalışmada sonucu; 2 mg/l 2,4-D bulunan ortamda daha fazla kallus oluştuğu, 25 ± 2 °C oluşan kalluslar kuru ve yeşilimsi renkte ve sık yapılı iken 30 ± 2 °C kalluslar yumuşak krem renkli ve gevsek yapılı olduğu, kallus büyümesi karanlık koşullarda daha iyi olduğu, MS ve N6 ortamlarında kallusların yumuşak ve krem renkli iken LS ve B5 ortamlarında daha sıkı yapılı olduğu, 25 °C sıcaklıkta % 3 şeker ihtiva eden MS ortamında büyüdüğünde yüksek kaliteli kallus oluştuğu ancak % 4 şeker ihtiva eden N6 ortamında en fazla sayıda kallus oluştuğunu rapor etmişlerdir (106).

Doğan (2010), makarnalık buğday olan Kunderu 1149 ve Çakmak 79'un *in vitro* koşullarda olgun embriyo kültürü yöntemiyle, kallus oluşumu ve gelişiminin belirlenmesi amacıyla bitki büyüme düzenleyicilerinden sentetik oksin türevi olan 2,4-D ve pikloramin farklı dozları (0, 3, 6, 9, 12 mg/l) uygulanmıştır. En yüksek kallus oluşum yüzdesi ve kallus oluşum ağırlığı 3mg/l 2,4-D içeren ve 3mg/l Pikloram içeren ortamlarda elde edildiği belirtilmiştir (85).

Benlioğlu (2013), Arpa çeşidi olan Bülbül 89 ve Tarm 92'nin farklı 2,4-D dozlarında (0, 3, 6, 9 ve 12mg/l) olgun embriyolarının kültüre alındığı ve bitki rejenerasyonunun her iki genotip içinde en iyi 3mg/l 2,4-D dozunda olduğu rapor edilmiştir (107).

3. GEREKÇE VE AMAÇ

Sıcak iklim tahılları arasında önemli bir yere sahip olan çeltik dünyada özellikle Asya kıtasında önemli bir besin maddesi olarak tüketilmektedir. Ülkemizde de üretimi ve tüketimi diğer tahıllar kadar yüksektir. Hatta Türkiye'de çavdar ve yulaf verimleri 200 kg/da'nın, buğday ve arpa verimleri 250 kg/da'nın, mısır ve çeltik verimleri ise 750 kg/da'nın üzerindedir (108).

Bilindiği gibi tek tip çeltik yetiştiriciliği çeşitli patojenlere karşı dayanıksızlığa neden olmaktadır. Bunu önlemek amacıyla ülkemizde yeni çeltik çeşitlerinin geliştirilmesi veya var olanların verimlerinin artırılması üzerine araştırmalar hız kazanmıştır.

Son yıllarda hızla gelişen yeni ıslah yöntemleriyle bitkilere olumlu özellikleri bozulmadan, verim ve kaliteyi yükseltecek bazı yeni özelliklerin eklenmesine ve çıkarılmasına yönelik ümit verici çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar, doğrudan gen aktarımı, rekombinat DNA, protoplast füzyonu ve benzeri ıslah yöntemleri kullanılarak başarılabilmektedir. Klasik ıslah yöntemlerinin yanı sıra ileriye yönelik olarak biyoteknolojik teknikler kullanılarak doku kültürü ve genetik mühendisliği çalışmaları da hızla devam etmektedir (109).

Biyoteknolojik yöntemlerin başarısı kültüre alınmış hücre ve dokulardan yeni bir bitkinin etkili bir şekilde rejenere olması bağlıdır (63,110). Bu da kallus kültürlerinden elde edilecek bitki rejenerasyonu kapasitesine bağlıdır. Bu nedenle kallustan bitki rejenerasyonu için etkili bir sistem kurulması önemlidir (32,63).

Fakat kallus kültüründen başlayarak bütün bir bitki haline gelebilme yeteneği bitkiden bitkiye değişiklik göstermektedir. *In vitro* çalışmalarda çoğunlukla rejenerasyon bakımından en elverişli doku olan olgunlaşmamış embriyolar kullanılmaktadır. Ancak yapılan araştırmalarla yılın belirli zamanlarına bağlı kalınmadan sağlanan ve kültüre alınması daha kolay olan olgunlaşmış embriyolardan elde edilen kalluslarda yüksek oranda rejenerasyon sağlanarak başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Doku kültürü teknikleriyle yetiştirilen tahıllarda kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu ve dış ortama alıştırma (aklimatizasyon) aşamaları başarılı bir şekilde gerçekleştirilmektedir (63). Ayrıca, endosperm destekli kallus oluşum yöntemi gibi bazı teknikler, olgun embriyo

kültürlerinden kallus oluřturmada bařarıyla kullanılmaktadır (32,63,111). Aynı zamanda, bu teknikle yetiřtirilen bitkilerin kallus oluřumu, bitki rejenerasyonu ve dıř ortama alıřtırma ařamaları bařarılı bir řekilde gerçekleřtirilmekte (63) ve olgun embriyolarda daha dūřuk olan rejenerasyon oranı, kallus ve sūrgūn oluřumu, būyūme dūzenleyicilerin kullanımı ile artırılabilir. (63).

Doku kūltūrū çalıřmalarında rejeneratif bitki elde etmek için gerekli olan kallusların oluřturulması için genellikle sentetik oksin tūrevleri ōzellikle 2,4-D kullanılmaktadır. 2,4-D'nin az miktarda kullanımı kallus oluřumunu stimūle yani uyarıcı etki yaptığı bilinmektedir. Çok miktarda kullanılması ise kromozom ve kromatit ōzerinde kırıklıklara ve yapısal deęiřimlere neden olduėu yapılan arařtırmalar sonucunda ortaya çıkmıřtır (112).

Tez kapsamında eksplant olarak kullanılan çeltiėin olgun embriyoları bin tane aėırlıklarına gōre ayrılmıřtır. Bu iřlem tane içerisinde endospermin niceliėine iliřkin bilgi edinmek amacıyla yapılmaktadır. Bin tane aėırlığı tane yoėunluėu ve būyūklūėine baėlı olarak deėiřmektedir. Būyūk ve yoėunluėu yūksek olan tanelerde endospermin endosperm olmayan kısma oranı kūuk tanelerinkinden daha būyūktür. Ayrıca būyūklūėu çeřit iklim ve toprak ōzelliklerinden de etkilenmektedir (113).

Bu tezin amacı, tane iriliėinin kallus oluřumu ve bitki rejenerasyonuna olan etkisini arařtırmak ve doku kūltūrūnde rejeneratif bitki sayısının artırılması olanaklarını irdelemektir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1. Materyal

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüş olan bu çalışmada kullanılan 10 adet çeltik (*Oryza sativa* L.); Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü' nün tescil ettiği Aromatik-1, Çakmak, Durağan, Edirne, Efe, Gala, Halilbey, Neğiş, Osmancık-97, Şumnu çeşitleridir.

4.1.1. Aromatik-1

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından introduksiyon yolu ile IRRI (Uluslararası Çeltik Araştırma Enstitüsü)'den sağlanan materyalden geliştirilen 2007 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Bitki boyu 75-80 cm, çeltik taneleri sarı renkli ince uzun, yapraklar ise dik ve koyu olup sağlam saplı ve yatmaya dayanıklıdır. Çeltik bin tane ağırlığı 25gr'dır. Vejetasyon süresi 130-135 gündür. Dekara 600-700 kg verim vermektedir. Kök boğaz çürüklüğüne dayanıklı fakat yanıklık hastalığına karşı hassastır (114).



Şekil 4.1. Aromatik-1

4.1.2. Çakmak

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Trakya x N1-41T-1T-0T melezinden

geliştirilen ve 2011 yılında tescil ettirilen bir çeşittir. Bitki boyu 95-100 cm, çeltik taneleri sarı renkli ve uzun, yapraklar dik ve yeşil renktedir. Sağlam saplı ve yatmaya dayanıklıdır. Salkımlar uzun ve dik yapıdadır. Çeltik 1000 tane ağırlığı 33 gr'dır. Vejetasyon süresi ortalama 130 gün olan, yüksek verim potansiyeline sahip bir çeşittir. Çeltik yanıklık hastalığına orta derecede toleranslıdır. Kök boğaz çürüklüğü hastalığına dayanıklıdır (114).



Şekil 4.2. Çakmak

4.1.3. Durağan

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından PANDA X BALDO Melezinden geliştirilen ve 2007 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Bitki boyu 90-96 cm, çeltik taneleri sarı renkli ve uzun, yapraklar ise dik ve açık yeşil renkli olup sağlam saplı ve yatmaya dayanıklıdır. Çeltik 1000 tane ağırlığı 33 gr'dır. Vejetasyon süresi 130-135 gündür. Yüksek verim potansiyeline sahiptir Dekara 750-900 kg verim vermektedir. Kök boğaz çürüklüğüne dayanıklı ve yanıklık hastalığına karşı hassastır. (114).



Şekil 4.3. Durağan

4.1.4. Edirne

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından BALDO X CALENDAL melezinden geliştirilen ve 2004 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Bitki boyu 105-110 cm, çeltik taneleri sarı renkli ve uzun, yapraklar geniş ve açık yeşildir. Çeltik 1000 tane ağırlığı 38-39 gr'dır. Vejetasyon süresi 125-130 gündür. Verimi Baldo çeşidi ayardır. Kök boğaz çürüklüğü ve yanıklık hastalığına hassastır (114).



Şekil 4.4. Edirne

4.1.5. Efe

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından Baldo x Demir melezinden geliştirilen ve 2011 yılında tescil ettirilen bir çeşittir. Bitki boyu 100-105 cm, çeltik taneleri sarı renkli ve uzun, yapraklar yarı dik ve yeşil renkte olup sağlam saplı ve yatmaya dayanıklıdır. Salkımlar yarı dik yapıdadır. Çeltik 1000 tane ağırlığı 36-37 gr'dır. Vejetasyon süresi 125-130 gündür. Yüksek verim potansiyeline sahip bir çeşittir. Çeltik yanıklık hastalığına toleranslıdır (114).



Şekil 4.5. Efe

4.1.6. Gala

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından OSMANCIK-97 çeşidinin seleksiyonuyla elde edilmiş olup 2007 yılında üretim izni alınan bir çeltik çeşididir. Bitki boyu 90-95 cm, çeltik taneleri sarı renkli ve uzundur. Çeltik 1000 tane ağırlığı 32-33 gr'dır. Vejetasyon süresi 130-135 gündür. Yüksek verim potansiyeline sahiptir. Farklı ekolojilere uyum sağlayabilmektedir. Kök boğaz çürüklüğüne dayanıklı fakat salkım boğum ve salkım yanıklığı hastalığına karşı hassastır (114).



Şekil 4.6. Gala

4.1.7. Halilbey

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından VENERIA X İPSALA melezinden geliştirilen ve 2004 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Bitki boyu 95-100 cm, çeltik taneleri sarı renkli ve uzun, yapraklar geniş ve koyu yeşildir. Çeltik 1000 tane ağırlığı 33-34 gr'dır. Vejetasyon süresi 130-135 gündür. Yüksek verim potansiyeline sahiptir. Osmancık-97'den daha yüksek verim vermektedir. Kök boğaz çürüklüğüne dayanıklı ve yanıklık hastalığına hassastır (114).



Şekil 4.7. Halilbey

4.1.8. Neğiş

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından VIALONE NANO X SEQUIAL melezinden geliştirilen ve 2002 yılında tescil ettirilen bir eltik çeşididir. Bitki boyu 100-105 cm, eltik taneleri sarı renkli ve uzun olup yaprakları geniş ve açık yeşildir. Çeltik 1000 tane ağırlığı 37-38 gr'dır. Vejetasyon süresi 120-125 gündür. Verimi Baldo çeşidinden daha yüksektir. Kök boğaz ürüklüğü ve yanıklık hastalığına hassastır (114).



Şekil 4.8. Neğiş

4.1.9. Osmancık-97

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından ROCCA x EUROPA melezinden geliştirilen ve 1997 yılında tescil ettirilen bir eltik çeşididir. Bitki boyu 95-100 cm, eltik taneleri sarı renkli, uzun, camsı ve mat görünüşlü; yaprakları dik ve koyu yeşildir. Çeltik 1000 tane ağırlığı 33-34 gr'dır. Vejetasyon süresi 130-135 gündür. Yüksek verim potansiyeline sahiptir. Kök boğaz çürüklüğüne dayanıklıdır fakat salkım boğum ve salkım yanıklığı hastalığına karşı hassastır (114).



Şekil 4.9. Osmancık -97

4.1.10. Şumnu

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından RIALTO X KORAL Melezinden geliştirilen ve 2006 yılında tescil ettirilen bir çeltik çeşididir. Bitki boyu 80-85 cm, çeltik taneleri sarı renkli ve orta uzunlukta olup yapraklar dik ve açık yeşildir. Kısa boylu, yatmaya dayanıklıdır Çeltik 1000 tane ağırlığı 29-31 gr'dır. Vejetasyon süresi 125-130 gündür. Yüksek verim potansiyeline sahiptir Dekara 800-1000 kg verim vermektedir. Kök boğaz çürüklüğü ve yanıklık hastalığına dayanıklıdır (114).



Şekil 4.10. Şumnu

4.2. Yöntem

Tez kapsamında olgun embriyoda endosperm destekli doku kültürü yöntemi kullanılmıştır. Özgen vd (1996 ve 1998) tarafından geliştirilen bu yöntemde, yüzey sterilizasyonu uygulanan tohumlarda embriyolar bistüri ile skutellum yönünden kesilip, endospermle aralarında 45° açı olacak şekilde kaldırılarak tohum üzerinde bırakılmaktadır (32,63). Olgun embriyoların kallus oluşumları için 8 mg/L 2,4-D içeren sıvı ortam kullanılmıştır (115). Olgun embriyolardan elde edilen kalluslardan sürgün ve kök oluşumunu gelişimini sağlamak için ise hazır MS (Murashige ve Skoog, 1962) ile katı besin ortamı kullanılmıştır.

4.2.1. Kullanılan ekipmanların sterilizasyonu

In vitro çalışmalarda, çalışılan laboratuvarın ve kullanılan tüm ekipmanların steril olması bakteriyel bulaşma olmadan başarılı sonuçlar elde etmede büyük önem taşımaktadır (116). Bu nedenle her çalışma öncesinde kullanılacak olan ekipmanlar, özelliklerine göre steril edilmişlerdir. Tohumların yüzey sterilizasyonunda kullanılacak olan kavanozlar ağızları kalın alüminyum folyolarla kapatılarak steril edilmiştir. İçine ortam dökülen ve diğer amaçlarla kullanılan cam petriler ise gruplar halinde yüksek ısı derecelerine dayanıklı yanmaz kağıtlara sarılarak 200°C' de 2 saat süre ile etüvde steril edilmiştir. Kavanozların alüminyum koruyucuları, cam petrilerin kağıt koruyucuları steril kabin içerisinde açıldıktan sonra kullanılmıştır. Steril kabin içerisinde kullanılan pens ve bisturi gibi metal ekipmanların steril edilmesinde ise % 70'lik (v/v) etil alkol ve bek alevi kullanılmıştır. Embriyoların endospermden ayrılmasında kullanılan bisturi ucu gerekli görüldükçe özel koruması içindeki yeni steril uç (Surgeon, no: 10) takılarak değiştirilmiştir (117).

4.2.2. Steril saf su hazırlanması

Musluk suyunda erimiş minerallerin olması çalışmalarda kullanılan ortam formüllerindeki besin maddelerin hassas dengesini bozucu yönde etki ederken, sudaki klor da toksik etkide bulunarak kültürün gelişmesini engellemektedir. Bunu önlemek amacıyla laboratuvar çalışmaları saf su kullanılmaktadır. Suyun kaynatılıp buharının soğutulması esasına dayanan destilasyon yöntemiyle elde edilen saf su, laboratuvar çalışmalarının ortam hazırlama, tohum sterilizasyonu aşamalarında kullanılmıştır (116).

Saf su ağız sıkıca kapatılabilen Duran şişelerine doldurularak otoklavlanma için hazır hale getirilmiştir. Su buhar basıncıyla sterilizasyon prensibine dayanan otoklavda, Duran şişelerinin kapakları gevşek şekilde bırakılarak 121 °C’ de 1.2 psi basınç altında 25 dakika tutularak sterilizasyonu sağlanmıştır ve böylece steril saf su elde edilmiştir. 25 dakika sonunda otoklavdan çıkarılırken kapakları sıkıca kapatılan sular soğuduktan sonra kullanılmıştır (116).

4.2.3. Eksplant hazırlığı

Kavuzlu toplam 10 çeltik genotipinde çiçek kavuzları özenle temizlenmiştir ve her genotipe ait tohumlar bin tane ağırlıklarına göre büyük ve küçük olarak gruplandırılmıştır.



Şekil 4.11. Çeltikte Tane İriliği Farkı

Daha sonra genotiplere ilişkin büyük ve küçük gruba giren tohum örnekleri sırasıyla petri başına 10’ar tane olmak üzere üç tekrarlı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kültüre alınmıştır.

4.2.4. Stok 2,4 –D çözeltisinin hazırlanması

Çalışmada kullanılan 2,4-D büyüme düzenleyicisi için 100 ml’lik 1 mg/ml (1:1) oranında stok çözelti hazırlanmıştır. 1 mg/ml’lik 100 ml 2,4-D stok çözeltisi için 0,1 g 2,4-D tartım

kağıdı üzerinde hassas terazide tartılmıştır ve 25 ml alkol içerisinde çözündürülmüştür. Ardından vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Kullanımın ardından stok çözelti +4°C' de buzdolabında saklanmıştır (116).

4.2.5. Kallus ortamının hazırlanması ve sterilizasyonu

Olgun embriyolarda kallus oluşumu için 8 mg/L 2,4-D içeren sıvı ortam hazırlanmıştır.

Buna göre 250 ml'lik besin ortamı hazırlamak için (116):

- 250 ml'lik behere 200 ml distile su konulmuş ve içine uygun büyüklükte bir balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir.
- 200 ml distile su üzerine 8 mg/L 2,4-D, 1mg/ml'lik stoklardan mikropipet yardımı ile 2000 µl çekilerek eklenmiştir.
- Hacim distile su ile 250 ml' ye tamamlanmıştır.
- Ortam pH'ı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak kallus gelişimi için en uygun değer olan 5.8'e ayarlanmıştır.
- Duran şişesine hazırlanan ortam konulmuştur.
- Şişe kapağı gevşek bırakılarak, otoklavda 121°C' de, 1.2 psi basınçta 25 dakika steril edilmiştir.
- Steril ortam, otoklavdan çıkarıldıktan sonra kapağı iyice sıkıştırıldı ve soğutulduktan sonra kullanılmıştır.

4.2.6. Rejenerasyon ortamının hazırlanması ve sterilizasyonu

Olgun embriyolardan elde edilen kalluslardan sürgün ve kök oluşumunu gelişimini sağlamak amacıyla hazır MS (Murashige ve Skoog, 1962) ile katı besin ortamı hazırlanmıştır. Besin ortamı, formülünde belirtilen organik, inorganik ve diğer maddelerden oluşan, bitkilere topraktan karşıladıkları her türlü besin maddesi ve su gereksinimlerini *in vitro* koşullarda sağlayan karışımdır (115).

Ortamın hazırlanmasında Özgen vd. (2007)'den yararlanılmıştır (71).

Buna göre 250 ml'lik besin ortamı hazırlamak için:

- 250 ml'lik behere 200 ml distile su konulmuş ve içine uygun büyüklükte bir manyetik balık atılarak manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir.
- 1.1 g MS (Sigma),
- 5 g sukroz (Sigma) tartılarak su içerisine ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı üzerinde tamamen erimeleri sağlanmıştır.
- Hacim distile su ile 250ml' ye tamamlanmıştır.
- Ortam pH'ı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak kallus gelişimi için en uygun değer olan 5.8'e ayarlanmıştır.
- Ortamı katılaştırmak için 1.75 g agar tartılarak Duran şişesine konulmuş ve üzerine hazırlanan ortam eklenmiştir.
- Şişe kapağı gevşek bırakılarak, otoklavda 121°C' de, 1.2 psi basınçta 25 dakika steril edilmiştir.
- Daha sonra biraz soğutularak steril kabindeki önceden steril edilmiş olan 10 cm'lik petri kaplarına dökülmüştür.
- Steril kabin içerisindeki ortamların yaklaşık yarım saat süre ile soğutularak katılaşması beklenilmiş ve ardından petrilerin kapakları kapatılarak kenarları streç film ile kaplanmıştır.

4.2.7. Eksplantların yüzey sterilizasyonu

Tohumlar yüzey sterilizasyonu için:

- Tohumlar kavuzlarından ayıklanarak temizlenmiştir.
- Steril kabin içerisinde steril kavanozlara tohumlar alınmıştır.
- Tüm tohum yüzeyine; gerek kullanılan kimyasallar gerekse steril su değmesi için steril kabin içinde (200 devir/dakika) çalkalayıcı kullanılmıştır.
- Kavanozdaki tohumlara ilk önce % 70' lik (v/v) etil alkol eklenip 5 dakika (200 devir/dakika) çalkalanmış daha sonra alkolün etkileri uzaklaştırmak için 3 kez steril saf su ile yıkanmıştır.

- Yıkama işlemi bittikten sonra 25 dakika ticari çamaşır suyu olan % 5 (v/v) sodyum hipoklorit (Ace) ile (200 devir/dakika) çalkalanmış ve çamaşır suyunun ortamdan uzaklaştığına emin olana dek bir kaç kez steril saf su ile durulanmıştır.
- Yüzey sterilizasyonları tamamlanan tohumların bulunduğu kavanozlar, steril alüminyum folyolarla kapatılmış etrafı streç film ile sarılmıştır.
- Son olarak 33°C' lik distile su banyosunda 2 saat süre bekletilerek şişmeleri sağlanmıştır (71).

4.2.8. Kallus oluşum aşaması

Sterilizasyonu tamamlanmış embriyoların canlılıkları bozulmadan, daha önceden hazırlanmış olan ortamlarına aktarılması büyük önem taşımaktadır.

- Steril ve yumuşamış tohumlarda embriyolar steril kabin içerisinde bistüri ve pens yardımıyla kalkancık endospermden tam olarak ayrılmadan embriyo yerinden oynatılmıştır.
- Steril embriyoların endospermleriyle birlikte, steriliteyi bozulmadan ve kopartılmadan alınarak; tohumların birbirine değmemesine ve karın çizgisinin aşağıda olmasına özen gösterilerek petri başına on tohum gelecek şekilde steril petrilere konulmuş daha sonra üzerlerine önceden hazırlanmış olan steril sıvı besin ortamı 10'ar ml olarak eklenmiştir.
- Çalışma her bir çeşit için büyük tane ve küçük tane olmak üzere 3 tekrarlı olarak deney yürütülmüştür.
- Petriler, kenarları streçlenerek 14 gün süre ile 26⁰C' deki inkübatörde (Bellco, Shellab) karanlıkta bekletilmiştir (71).
- 14 günün sonunda oluşan kalluslar, içinde buldukları petri kaplarıyla birlikte tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir.
- Sürgünleri, endospermi, kallus gelişim ortamını ve tartılırken kenarında bulunan streçi içeren petri kapları tekrar tartılmış ve aradaki fark "kallus ağırlığı" (g) olarak değerlendirilmiştir.
- Oluşan kallus sayısı, kültüre alınan toplam embriyo sayısına oranlanarak "kallus oluşturma oranı" (%) belirlenmiştir.

4.2.9. Rejenerasyon aşaması

- Steril kabinde, kallus oluşturmuş olan embriyolardan bistüri yardımıyla oluşan sürgünler ayrılarak Özgen vd (1998)' e uygun olarak büyüme düzenleyici içermeyen besin ortamlarına alınmıştır (63).
- Kallus içeren petripler, kenarları streçlenerek 21 gün süre ile 26⁰C' deki inkübatörde (Bellco, Shellab) karanlıkta bekletilmiştir.
- Büyüme düzenleyici içermeyen ortama aktarılan embriyolar 21 gün sonra kültür odasına yerleştirilerek 4 hafta süreyle 16 saatlik fotoperiyotta (1500 Lux) ve 25±1⁰C sıcaklıkta bekletilerek rejenere edilmiştir.
- Üzerinde yeşil nokta görülen kalluslar rejenere kabul edilmiş rejenere olan kallus sayısının toplam kallus oluşturan embriyo sayısına oranlanmasıyla “rejenerasyon kapasitesi” (%) değeri hesaplanmıştır.
- Rejenere olan kallus sayısının kültüre alınan toplam embriyo sayısına oranlanmasıyla “kültür etkinliği” hesaplanmıştır

4.2.10. Verilerin değerlendirilmesi

Eksplantlar her bir çeşit büyük tane ve küçük tane olmak üzere ayrılmıştır. Doku kültürü çalışmaları hem büyük tane için hem de küçük tane için 10 adet olgun embriyo içeren petriplerde üç tekrarlamalı olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur.

Araştırma esnasında kallus oluşumu (%), kallus ağırlığı (g) , rejenerasyon kapasitesi (%) ve kültür etkinliği (%) parametreleri dikkate alınmıştır. Çeşitler arasındaki farklılığın ve çeşit içindeki büyük küçük gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde varyans analizi tekniğinden yararlanılmıştır. Denemede grup ortalamaları arasındaki farklılıkları incelemek için Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır. Elde edilen verilerin istatistik analizleri MSTAT-C paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

Kültürün 14. gününde kallus oluşum oranı (%);

Kallus oluşum oranı (%) = (Oluşan kallus sayısı / Kültüre alınan eksplant sayısı) x 100 formülüne göre hesaplanmıştır.

Kallus ağırlığı (g); yine kültürün 14. gününde kallusların hassas terazi ile tartılmasıyla hesaplanmıştır.

Rejenerasyon ortamında 30. günde rejenerasyon kapasitesi (%) ve kültür etkisi (%);

Rejenerasyon kapasitesi (%) = (Rejenere kallus sayısı / Kallus oluşturan embriyo sayısı) x 100 formülüne göre hesaplanmıştır.

Kültür etkisi (%) = (Rejenere kallus sayısı / Kültüre alınan eksplant sayısı) x 100 formülüne göre hesaplanmıştır.

5. ARAŞTIRMA BULGULARI

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü' nün tescil ettiği Aromatik-1, Çakmak, Durağan, Edirne, Efe, Gala, Halilbey, Neğiş, Osmancık-97, Şumnu çeltik çeşitlerinin olgun embriyoları kullanılmıştır. Çeltikte bitki rejenerasyonuna tohum iriliğinin etkisinin olup olmadığının araştırılması kapsamında çeltikler büyük ve küçük taneli olarak ayrılmıştır. Denemeler 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Yöntem olarak endosperm destekli doku kültürü yöntemi kullanılmıştır. Tez kapsamında Kallus Oluşturma Yüzdesi, Kallus Ağırlığı, Rejenerasyon Kapasitesi, Kültür etkinliği gibi parametreler incelenmiştir. Çıkan sonuçlar Varyans Analizi ve Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi raporlarına göre değerlendirilmiştir.

5.1. Olgun Embriyolarda Tane İriliği

Bin tane ağırlıkları hesaplanmış Çizelge 5.1. verilmiştir.

Çizelge 5.1. Tane iriliğine göre çeltik çeşitlerinin bin tane ağırlığı (g)

Çeşitler	Küçük Tane	Büyük Tane
Aromatik-1	16,4	25,6
Çakmak	20,3	32,9
Durağan	22,5	34,2
Edirne	25,2	38,1
Efe	23,9	37,0
Gala	20,5	32,0
Halilbey	22,3	33,4
Neğiş	24,4	37,8
Osmancık-97	21,1	34,1
Şumnu	19,9	31,0
Ortalama	21,6± 2,58	33,6 ± 3,70

Çizelge 5.1.'e göre küçük taneli genotiplerin bin tane ağırlığı 16,4 - 25,2 g arasında; büyük taneli genotiplerin ise bin tane ağırlığı 25,6-38,1 g arasında değiştiği görülmüştür.

5.2. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kallus Oluşumu

Kallus oluşturma yüzdesi 10 çeltik çeşidinin genotiplerinin küçük ve büyük taneleri ayrı ayrı embriyoları gevşetilerek 8mg/L 2,4-D içeren sıvı ortamda 26 °C'de kültüre alınması ve 14 gün sonra kallus oluşturan embriyoların sayılıp kültüre alınan toplam embriyo sayısına oranlanmasıyla elde edilmiştir (Çizelge 5.2., Çizelge 5.3.)

Çizelge 5.2. Büyük taneli çeltik çeşitlerinin kallus oluşturma yüzdesi (%)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik-1	90	100	100	96,7 ± 05,78
Çakmak	100	90	100	96,7 ± 05,78
Durağan	90	100	100	96,7 ± 05,78
Edirne	100	100	100	100,0 ± 00,00
Efe	100	100	100	100,0 ± 00,00
Gala	100	90	100	96,7 ± 05,78
Halilbey	100	90	100	96,7 ± 05,78
Neğiş	100	100	100	100,0 ± 00,00
Osmancık-97	100	100	100	100,0 ± 00,00
Şumnu	100	100	100	100,0 ± 00,00

Çizelge 5.3. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin kallus oluşturma yüzdesi (%)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik-1	100	90	100	96,7 ± 05,78
Çakmak	80	100	100	93,4 ± 11,54
Durağan	90	100	100	96,7 ± 05,78
Edirne	90	100	100	96,7 ± 05,78
Efe	100	100	90	96,7 ± 05,78
Gala	100	100	90	96,7 ± 05,78
Halilbey	100	100	90	96,7 ± 05,78
Neğiş	100	100	90	96,7 ± 05,78
Osmancık-97	100	100	100	100,0 ± 00,00
Şumnu	100	100	100	100,0 ± 00,00

Kallus oluşum yüzdesinden elde edilen verilerle varyans analizi sonuçları Çizelge 5.4.'de verilmiştir.

Çizelge 5.4. Çeltik kallus oluşumun yüzdesine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Faktör A (çeşit)	9	160,000	17,778	0,7619
Faktör B (irilik)	1	6,667	6,667	0,2857
AB	9	60,000	6,667	0,2857
Hata	40	933,333	23,333	
Toplam	59	1160,000		

Küçük ve büyük taneli çeltikler kallus oluşturma bakımından belirgin bir fark göstermediğinden istatistiksel olarak da anlamlı çıkmadığı gözlenmiştir. Çizelge 5.4. incelendiğinde de çeşit (faktör A), tane iriliği (faktör B), tane iriliği x çeşit (AB) etkileşiminin istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir.



Şekil 5.1. Çeltikte 14. günde kallus oluşumu (A: Büyük tane; B: Küçük tane)

5.3. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kallus Ağırlığı

Çeltik çeşitlerinin büyük ve küçük taneli olarak ayrılan genotipleri 8mg/L 2,4-D içeren sıvı ortamda 26 °C'de kültüre alınmış ve 14 gün sonra kallus ağırlık ölçümleri hesaplanmıştır.

Çizelge 5.5. incelendiğinde çeşitlere ait kallus ağırlıkları ortalamaları 0,468-0,837 g arasında değiştiği görülmektedir. Çeşitler incelendiğinde en küçük değeri Aromatik-1 çeşidi alırken en büyük değeri Edirne çeşidinin aldığı görülmektedir.

Çizelge 5.5. Büyük taneli çeltik çeşitlerinin kallus ağırlığı (g)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik- 1	0,519	0,453	0,433	0,468±0,05
Çakmak	0,634	0,650	0,629	0,637±0,01
Durağan	0,745	0,793	0,744	0,761±0,03
Edirne	0,812	0,876	0,824	0,837±0,03
Efe	0,784	0,758	0,748	0,763±0,02
Gala	0,634	0,621	0,638	0,631± 0,01
Halilbey	0,662	0,674	0,686	0,674±0,01
Neğiş	0,809	0,829	0,836	0,824±0,01
Osmancık-97	0,690	0,675	0,620	0,661±0,03
Şumnu	0,634	0,621	0,638	0,631±0,01

Çizelge 5.6. incelendiğinde çeşitlere ait kallus ağırlıkları ortalamaları 0,326-0,581 g arasında değiştiği görülmektedir. Çeşitler incelendiğinde ise en küçük değeri Aromatik-1 alırken en büyük değeri Efe çeşidinin aldığı görülmektedir.

Çizelge 5.6. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin kallus ağırlığı (g)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik-1	0,304	0,364	0,310	0,326 ± 0,03
Çakmak	0,384	0,398	0,414	0,399 ± 0,01
Durağan	0,454	0,449	0,485	0,462 ± 0,02
Edirne	0,491	0,370	0,398	0,384 ± 0,02
Efe	0,570	0,597	0,576	0,581 ± 0,01
Gala	0,393	0,372	0,386	0,383 ± 0,01
Halilbey	0,463	0,457	0,444	0,454± 0,01
Neğiş	0,464	0,442	0,436	0,447 ± 0,01
Osmancık -97	0,358	0,366	0,392	0,372± 0,02
Şumnu	0,346	0,321	0,332	0,333 ± 0,01

Çeltikte tane iriliğine göre çeşitlerin kallus ağırlığına ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 5.7.'de yer almaktadır. Çizelge 5.7. incelendiğinde çeşit (faktör A), tane iriliği (faktör B), tane iriliği x çeşit (AB) etkileşiminin istatistiksel olarak önemliliği vurgulanmaktadır.

Çizelge 5.7. Çeltik kallus ağırlığına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Faktör A (tane iriliği)	9	0,386	0,043	65,4449*
Faktör B (çeşit)	1	1,103	1,103	1684,7821*
AB	9	0,095	0,011	16,1029*
Hata	40	0,026	0,001	
Toplam	59	1,610		

* P<0.05'e göre önemli

Tane iriliğine göre kallus ağırlığı bakımından farkların belirlenmesi için yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 5.8.'de yer almaktadır.

Çizelge 5.8. Tane iriliğine göre çeşitlerin kallus ağırlıklarına ilişkin Duncan testi sonuçları (g)

Çeşitler	Büyük Tane	Küçük Tane
Aromatik-1	0.468 e	0.326 ı
Çakmak	0,638 cd	0.399 fg
Durağan	0.761 b	0.463 e
Edirne	0.837 a	0.420 efg
Efe	0.763 b	0.596 d
Gala	0.668 c	0.384 gh
Halilbey	0.674 c	0.455 e
Neğiş	0.825 a	0.447 ef
Osmancık-97	0.662 c	0.372 ghı
Şumnu	0.631 cd	0.333 hı

*Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

5.4. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Rejenerasyon Kapasitesi

Kalluslar 14. günün sonunda sıvı besiyerinden bitki büyüme düzenleyici içermeyen katı besiyerine alınmıştır. Bu besiyerinde kalluslar önce 26 °C’de inkübatörde 21 gün boyunca karanlıkta bekletilmişlerdir. Daha sonra 26°C’de 16 saat karanlık, 8 saat aydınlık foto periyot ortama sahip iklim odasına konulmuştur. Işıklı ortamda bazı çeşitler hızla sürgün ve kök oluşumuna geçerken bazı çeşitler yeşil taneli kırılğan kallus oluşturmuşlardır. Işıklı ortama alındıktan 4 hafta (1 ay) sonra üzerinde yeşil nokta görülen kalluslar rejenera kabul edilmiş; rejenera olan kallus sayısının toplam kallus oluşturan embriyo sayısına oranlanmasıyla “rejenerasyon kapasitesi” (%) değeri hesaplanmıştır.

Çizelge 5.9. incelendiğinde çeşitlere ait rejenerasyon kapasitesi oranları % 42.0-86.7 arasında değiştiği görülmektedir. Çeşitler incelendiğinde en küçük % değerini Aromatik çeşidi verirken en büyük % değerini Edirne ve Şumnu çeşitlerinin verdiği görülmektedir.

Çizelge 5.9. Büyük taneli çeltik çeşitlerinin rejenerasyon kapasitesi oranı (%)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik-1	30	56	40	42,0±13,11
Çakmak	67	80	50	65,7±15,04
Durağan	60	80	60	66,7±11,54
Edirne	90	90	80	86,7±05,78
Efe	60	50	50	53,3±05,77
Gala	77	80	60	72,3±10,77
Halilbey	50	78	50	59,3±16,16
Neğış	50	50	40	46,7±05,77
Osmancık-97	50	78	50	59,3±16,16
Şumnu	80	90	90	86,7±05,77

Çizelge 5.9. incelendiğinde çeşitlere ait rejenerasyon kapasitesi oranları % 36,0-63,3 arasında değiştiği görülmektedir. Çeşitler incelendiğinde en küçük % değerini Aromatik çeşidi verirken en büyük % değerini Şumnu çeşidinin verdiği görülmektedir.

Çizelge 5.10. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin rejenerasyon kapasitesi oranı (%)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik-1	38	30	40	36,0±05,30
Çakmak	30	45	50	41,7±10,40
Durağan	40	50	40	43,3±05,77
Edirne	56	60	50	55,3±05,03
Efe	50	40	45	55,0±05,00
Gala	45	40	30	38,3±07,63
Halilbey	50	50	67	55,7±09,81
Neğiş	50	30	40	40,0±10,00
Osmancık-97	60	60	56	58,7±02,30
Şumnu	70	60	60	63,3±05,77

Rejenerasyon kapasitelerine ilişkin varyans analiz sonuçları Çizelge 5.11.'de yer almaktadır. Çizelge 5.11. incelendiğinde çeşit (faktör A), irilik (faktör B) tane iriliği x çeşit (AB) etkileşiminin istatistiksel olarak önemliliği vurgulanmaktadır.

Çizelge 5.11. Çeltik rejenerasyon kapasitesine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler	Kareler	F
		Toplamı	Ortalaması	
Faktör A (çeşit)	9	6765.733	751.748	8.8476*
Faktör B (tane iriliği)	1	3557.400	3557.400	41.8682*
AB	9	1944.933	216.104	2.5434**
Hata	40	3398.667	84.967	
Toplam	59	15666.733		

*P<0.05'e göre önemli

**P<0.01'e göre önemli

Tane iriliğine göre rejenerasyon oluşturma kapasitesi bakımından bu farkların belirlenmesi için yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 5.12.'de yer almaktadır.

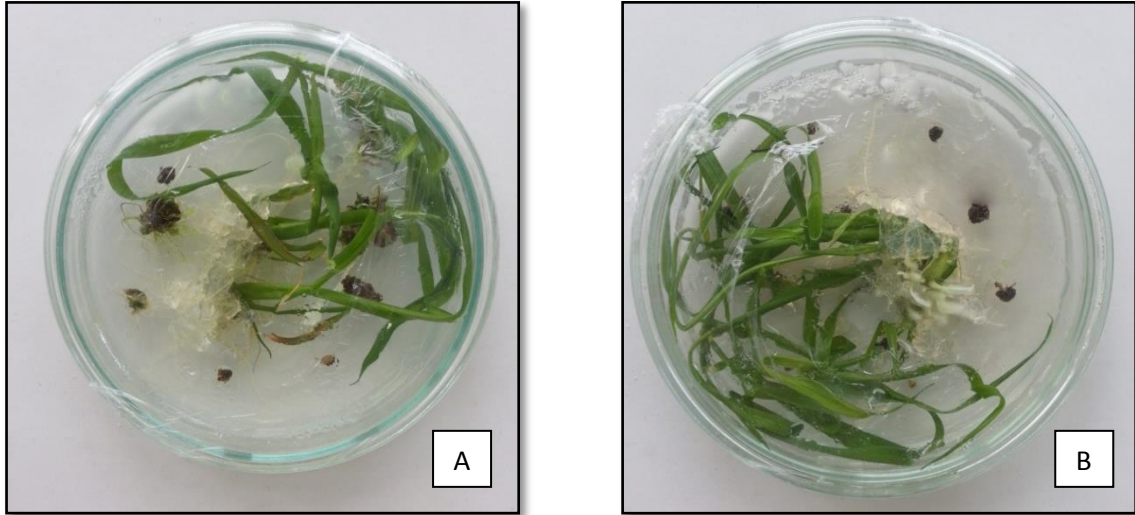
Çizelge 5.12. Tane iriliğine göre çeşitlerin rejenerasyon kapasitelerine ilişkin Duncan testi sonuçları (%)

Çeşitler	Büyük Tane	Küçük Tane
Aromatik-1	42.0 fgh	36.0 h
Çakmak	65.7 bc	41.7 fgh
Durağan	66.7 bc	43.3 efgh
Edirne	86.7 a	55.3 cdef
Efe	53.3 cdefg	55.0 cdef
Gala	72.3 ab	38.3 gh
Halilbey	59.3 bcd	55.7 cdef
Neğiş	46.7 defgh	40.0 gh
Osmancık-97	59.3 bcd	58.7 bcd
Şumnu	86.7 a	63.3 bc

*Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

5.5. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kültür Etkisi

Rejenere olan kallus sayısının kültüre alınan toplam embriyo sayısına oranlanmasıyla “kültür etkinliği” hesaplanmıştır.



Şekil 5.5. Çeltiklerin rejenerere bitki oluşumları (A: Büyük tane B:Küçük tane)

Çizelge 5.13. incelendiğinde çeşitlere ait büyük tanelerin rejenerasyon oluşturma kapasiteleri %40,0-86,7 arasında değiştiği görülmektedir. Çeşitler incelendiğinde küçük % değerini Aromatik çeşidi alırken en büyük değeri ise Edirne ve Şumnu çeşidi almaktadır.

Çizelge 5.13. Büyük taneli çeltik çeşitlerinin kültür etkisi oranı (%)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik-1	30	50	40	40,0±10,00
Çakmak	60	80	50	63,3±15,28
Durağan	60	80	60	66,7±11,54
Edirne	90	90	80	86,7±05,78
Efe	60	50	50	53,3±05,77
Gala	70	80	60	70,0±10,00
Halilbey	50	70	50	56,7±11,54
Neğiş	50	50	40	46,7±05,77
Osmancık-97	50	70	50	56,7±11,54
Şumnu	80	90	90	86,7±05,77

Çizelge 5.13. incelendiğinde çeşitlere ait büyük tanelerin rejenerasyon oluşturma kapasiteleri % 33,3-63,3 arasında değiştiği görülmektedir. Çeşitler incelendiğinde küçük % değerini Aromatik çeşidi alırken en büyük değeri ise Şumnu çeşidi almaktadır.

Çizelge 5.14. Küçük taneli çeltik çeşitlerinin kültür etkisi oranı (%)

Çeşitler	Tekerrürler			Ortalama
	A	B	C	
Aromatik-1	30	30	40	33,3±05,77
Çakmak	30	40	50	40,0±10,00
Durağan	40	50	40	43,3±05,77
Edirne	50	60	50	53,3±05,77
Efe	50	40	40	43,3±05,77
Gala	40	40	30	36,7±05,77
Halilbey	50	50	60	53,3±05,77
Neğiş	50	30	40	40,0±10,00
Osmancık-97	60	60	50	56,7±05,77
Şumnu	70	60	60	63,3±05,77

Çeltikte tane iriliğine göre çeşitlerin kültür etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 5.15.' de yer almaktadır. Çizelge 5.15. incelendiğinde çeşit (faktör A), irilik (faktör B) tane iriliği x çeşit (AB) etkileşiminin istatistiksel olarak önemliliği vurgulanmaktadır.

Çizelge 5.15. Çeltik kültür etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Faktör A (çeşit)	9	7108.333	789.815	11.8472*
Faktör B (tane iriliği)	1	3681.667	3681.667	55.2250*
AB	9	2001.667	222.407	3.3361*
Hata	40	2666.667	66.667	
Toplam	59	15458.333		

*P<0.05'e göre önemli

Tane iriliğine göre kültür etkisi bakımından bu farkların belirlenmesi için yapılan Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi sonuçları Çizelge 5.16.'de yer almaktadır.

Çizelge 5.16. Tane iriliğine göre çeşitlerin kültür etkisine ilişkin Duncan testi sonuçları (%)

Çeşitler	Büyük Tane	Küçük Tane
Aromatik-1	40.0 ef	33.3 f
Çakmak	63.3 bc	40.0 ef
Durağan	66.7 bc	43.3 def
Edirne	86.7 a	53.3 cde
Efe	53.3 cde	43.3 def
Gala	70.0 b	36.7 f
Halilbey	56.7 bcd	53.3 cde
Neğiş	46.7 def	40.0 ef
Osmancık-97	56.7 bcd	56.7 bcd
Şumnu	86.7 a	63.3 bc

*Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

6.1. Tartışma

Bu çalışmada Trakya Tarımsal Araştırmanın tescillediği 10 çeltik genotipi (Aromatik-1, Çakmak, Durağan, Edirne, Efe, Gala, Halilbey, Neğiş, Osmancık-97, Şumnu) kullanılarak tane iriliğinin bitki rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır.

Denemede kullanılan çeşitler küçük ve büyük taneli olarak ikiye ayrılmış ve bu genotipler endosperm destekli olarak sıvı ortamda (8mg/ L 2,4-D içeren) kültüre alınmasıyla elde edilen kallus oluşumu, kallus ağırlığı ve hormonsuz ortamda sağlanan rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi gibi parametreler incelenmiştir. Bu öğeler bakımından elde edilen verilerle istatistik analizi yapılmıştır. İstatistik analizine göre tane iriliği, çeşit ve tane iriliği x çeşit etkileşimleri kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi bakımından önemli bulunurken kallus oluşturma yüzdesi bakımından önem gözlenmemiştir.

Tane iriliğinin kallus oluşum yüzdesi (%) bakımından çeşitler karşılaştırıldığında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Genel itibariyle üzerinde çalışılan 10 çeltik çeşidi yüksek oranda kallus oluşturmuşlardır.

Bulgularımız Şimşek (2004), Özgen vd (2007) çalışmalarıyla uyum göstermektedir. Kallus oluşumunun genotipten genotipe fark ettiğini göstermektedir (68,71).

Tane iriliğine göre kallus ağırlığı bakımından incelendiğinde genotiplere ait küçük tanelerin kallus ağırlıkları 0.326-0.581 gr arasında, büyük tanelerin 0.468-0.837gr arasında değiştiği görülmüştür. Büyük taneli çeşitler incelendiğinde en küçük değeri Aromatik-1 en büyük değeri Edirne çeşidinin aldığı gözlemlenmiştir. Küçük taneli çeşitler incelendiğinde ise en küçük değeri Aromatik-1 alırken en büyük değeri Efe çeşidinin aldığı görülmüştür. Kallus ağırlığına tane iriliğinin etkili olduğu ve 1000 tane ağırlığı yüksek genotiplerde kallus ağırlığının da yüksek olduğu belirlenmiştir.

Bulgularımız değişik buğday genotiplerinin olgun embriyolarıyla yaptıkları çalışmada kallus ağırlığına, tane iriliğinin etkili olduğu ve 1000 tane ağırlığı yüksek genotiplerde

kallus ağırlığının da yüksek olduğunu bildiren Sayar vd (1999)'ın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir (66).

Tane iriliğine göre rejenerasyon kapasitesi bakımından incelendiğinde çeşitlere ait büyük tanelerin rejenerasyon oluşturma kapasiteleri % 42,0-86,7 arasında, küçük tanelerin % 36,0-63,3 arasında değiştiği görülmektedir. Büyük taneli çeşitler incelendiğinde en küçük değeri Aromatik-1 en büyük değeri Edirne ve Şumnu çeşitlerinin aldığı gözlemlenmiştir. Küçük taneli çeşitler incelendiğinde ise en küçük değeri Aromatik-1 alırken en büyük değeri Şumnu çeşidinin aldığı görülmüştür. Çeltik olgun embriyolarından elde edilen rejenerasyon kapasitesinin genotipe göre değiştiği görülmüştür.

Çeltik olgun embriyolarından elde edilen rejenerasyon kapasitesinin genotipe göre değiştiğini gösteren bulgularımız; endosperm destekli olgun ve olgunlaşmamış embriyolarla çalışan Birsin ve Özgen (2002) ve Özgen vd (2007)'nin sonuçlarıyla uyumludur (71,118).

Rejenerasyon kapasitesi bakımından aynı çeşidin küçük ve büyük taneleri arasında farklılığın önemli olduğu Duncan testi sonuçlarında görülmektedir. Bu durum çeltikte tane iriliği arttıkça rejenerasyon kapasitesinin de önemli ölçüde arttığını açıkça göstermektedir. Bulgularımız, buğdayda tane iriliğinin rejenerasyon kapasitesini etkilediğini bildiren Sayar vd (1999)'nin sonuçlarıyla da uyumludur (66).

Tane iriliğine göre kültür etkisi bakımından değerlendirildiğinde çeşitlere ait büyük tanelerin rejenerasyon oluşturma kapasiteleri % 40,0-86,7 arasında, küçük tanelerin % 33,3-63,3 arasında değiştiği görülmüştür. Büyük taneli çeşitler incelendiğinde en küçük değeri Aromatik-1 en büyük değeri Edirne ve Şumnu çeşitlerinin aldığı gözlemlenmiştir. Küçük taneli çeşitler incelendiğinde ise en küçük değeri Aromatik-1 alırken en büyük değeri Şumnu çeşidinin aldığı görülmüştür. Kültür etkisinin tane iriliği ve genotipe bağlı olarak değiştiği saptanmıştır.

Kültür etkisinin genotiplere bağlı olarak değiştiğini gösteren sonuçlarımız; bu konuda daha önce yulafta (Özgen ve Birsin 2002) ve arpada (Özgen vd. 2007) yapılan çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur (71,118).

6.2. Sonuç

Son yıllarda, geleneksel ıslah metotları ile kombine edilmiş mutasyon, protoplast kültürü, besi ortamında tozlanma ve dölleme, embriyo kültürü ve gen teknolojisi gibi biyoteknolojik yöntemler kullanılmaktadır (5).

Gen teknolojisi ile birlikte bu biyolojik sistemleri insanların ihtiyacına göre daha iyi uyarlayabilmek için kullanılabilir yöntem yelpazesi oldukça genişlemiştir. Özellikle gen teknolojisi kullanımından beklenen; a) verimi artıran, b) ürünün kalitesini yükselten, c) çevreyi ve doğal kaynakları koruyan ve d) ucuz üretim şekillerini ortaya koyacak yeni metot, ürün ve hizmetlerin ortaya çıkarılmasıdır (119).

Artan dünya nüfusunun gıda gereksiniminin karşılanmasının garanti altına alınmasında, yüksek kaliteli, güvenilir ve sağlığı koruyan gıda maddelerinin hazırlanmasında, çevre ve kaynakları koruyan bir üretim sisteminin geliştirilmesinde ve ülke ve beslenme ekonomisinde rekabet ortamının muhafazasında gen teknolojisine büyük değer verilmektedir (5).

Bitkilerin tarımsal niteliklerinin geliştirilmesi amacıyla laboratuvar koşullarında uygulanan biyoteknolojik yöntemler, zamanla tarla koşullarında yapılan çalışmalarda karşılaşılan sorunların giderilmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Sonuçların daha kısa sürelerde alınabildiği, bitkilerin hücre, doku ve çeşitli organların kullanıldığı bu çalışmalarda, bitkilere biyoteknolojik sistemler için geliştirilmiş tüm yöntemler uygulanabilmektedir (120).

Bitki transformasyonu için kullanılan çoğu metotta genetik transformasyona sahip hücreler veya dokulardan farklılaşan bütün bitkilere ihtiyaç duyulmaktadır. Kallus oluşumu ve bitki farklılaşma potansiyeli üzerinde kullanılan varyetelerin önemli etkisi vardır (40). Doku kültüründe genotipin ortamdan daha önemli olduğu bildirilmiştir (121).

Tez kapsamındaki bulgularımız daha önce tane iriliğinin rejenerasyon kapasitesine etkisi üzerinde çalışan araştırmacıların bazı bulgularıyla benzerlik gösterirken bazı bulgularıyla da farklılık gösterdi. Farklılık kullanılan genotiplerin gerek biyolojik gerekse köken bakımından farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

In vitro çalışmalarda önemli bir yere sahip olan kallus oluşumu, özellikle oluşan kallusların yapısı nedeniyle kültürün başarısını etkileyen en önemli faktörlerdendir. Rejenerasyon kapasitesi ve kültüre alınan embriyo sayısına bağlı olan kültür veriminin de sıkı kallus oluşumu dolayısıyla artması beklenir. Ancak kültür öğelerinin birbirinden bağımsız hareket edebildiği de bilinmektedir. Oluşan bütün kallusların sıkı yapıda olmaması özellikle çeltikte kırılıcı kallus yapısının bulunması sebebiyle bazılarının düşük kallus ağırlığı verdiği görülmüştür. Buna bağlı olarak küçük taneli ve büyük taneli embriyolardan elde edilen kültür verimi tepkilerinin bazıları arasında önemli ilişki olmadığı da ortaya çıkmıştır.

Sonuç olarak, olgunlaşmamış embriyolara alternatif bir yöntem olarak diğer tahıllarda başarıyla uygulanan endosperm destekli bitki doku kültürü yönteminin eltik içinde kullanılabileceği ve bu yöntemde başarının iri endospermli tanelerin kullanılmasıyla arttırılabileceği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Demirçeken FG. Gluten Enteropatisi (Çölyak Hastalığı): Klasik Bir Öykü ve Güncel Gelişmeler [Internet]. Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2011. p. 58–72. Available from: <http://guncel.tgv.org.tr/journal/36/pdf/100006.pdf>
2. Ananthi N, Anandakumar CR, Ushakumari R, Shanti P. Regeneration Study of Some Indica Rice Cultivars Followed by Agrobacterium- Mediated Transformation of Highly Regenerable Cultivar, Pusa Basmati 1. Electron J Plant Breed. 2010;1249–56.
3. Özgen M, Türet M. Biyoteknoloji ve Bitki Islahı. Bitki Islahı ve Gen Aktarma Teknolojisi. Kocaeli: Can Ofset,İzmir; 1995. p. 227–36.
4. Hatipoğlu R. Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı; 1999.
5. Demir A, Seyis F, Kurt O. Genetik Yapısı Değiştirilmiş Organizmalar : I Bitkiler. OMÜ Zir Fak Derg. 2006;21(2):249–60.
6. Karaca Ö, Bürün B. Buğdayda embriyo kültüründen kallus oluşumu. Turkish J Agric For. 1999;2:269–74.
7. Sürek H. Çeltik Tarımı. Hasad Yayınları. 2002.
8. Emeklier Y. Sıcak ve Serin İklim Tahılları. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları; 2012.
9. Sağlam S. Sıcak İklim Tahılları [Internet]. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. 2010. p. 2. Available from: http://www.agri.ankara.edu.tr/fcrops/1416__SSaglam_SicakiklimTahillari_Hafta_14.pdf
10. Kün E. Sıcak İklim Tahılları. Ankara: Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları; 1997.
11. Grace Fern. Brown Rice & White Rice [Internet]. Environmental Challenges of the RP. 2010. p. 1. Available from: [http://ecop.pbworks.com/w/page/18520507/Brown vs white rice 0809](http://ecop.pbworks.com/w/page/18520507/Brown%20vs%20white%20rice%200809)
12. TMO. Hububat Sektör Raporu [Internet]. 2014. Available from: <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/raporlar/2013hububatsektorraporu.pdf>
13. Tüik. Tahıl ve Diğer Bitkisel Ürünlerin İstatistikleri [Internet]. 2014. Available from: http://rapor.tuik.gov.tr/reports/rwservlet?bitkisel_uretimdb2=&report=BARAPOR42.RDF&p_yil1=2013&p_kod=1&p_mad1=111140000&p_dil=1&p_sec=1&desformat=html&ENVID=bitkisel_uretimdb2Env
14. Tüik. Tahıl ve Diğer Bitkisel Ürünlerin İstatistikleri [Internet]. 2014. Available from: http://rapor.tuik.gov.tr/reports/rwservlet?bitkisel_uretimdb2=&report=BARAPOR4

4.RDF&p_yil1=2013&p_kod=3&p_duz1=0&p_mad1=111140000&p_dil=1&p_sec=1&desformat=html&ENVID=bitkisel_uretimdb2Env

15. Canan S. Samsun İli Bafra İlçesinde Çeltik Üretimine Yer Veren Tarım İşletmelerinde Toplam Faktör Verimliliğindeki Değişim ve İnovasyon. Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2014. p. 111.
16. Saygın F. Coğrafi Bilgi Sistem Modellemesi ile Çeltik Arazi Uygunluk Sınıflarının Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi; 2013. p. 127.
17. Sürek H. Çukurova bölgesinde çeltik tarımı ve sorunları. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü. 2005. p. 62–4.
18. Özgen M, Adak MS, Söylemezoğlu G, Ulukan H. Bitkisel gen kaynaklarının korunma ve kullanımında yeni yaklaşımlar. Türkiye Ziraat Mühendisliği V Teknik Kongresi. 2000. p. 259–84.
19. Lörz H. In vitro manipulation of cereal crops. In: Mujeeb-Kazi A, Stich LA, editors. Review of Advances in Plant Biotechnology 1985-88. Mexico D.F.; 1989. p. 93–102.
20. Özcan S, Özgen M. Bitki genetik mühendisliği. Kükem Derg. 1996;1:69–95.
21. Soreng RJ, Davidse G, Peterson PM, Zuloaga FO, Judziewicz EJ, Filgueiras TS, et al. Catalogue of New World Grasses [Internet]. Smithsonian Institution. 2014. Available from: <http://www.tropicos.org/Project/CNWG>
22. ITIS (Integrated Taxonomic Information System) [Internet]. 2014. Available from: http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=41976
23. Karasu A, Yürür N, Turgut İ, Yağdı K, Doğan R, Emeklier Y, et al. Sıcak İklim Tahılları II. Tarla Bitkileri -1. Eskişehir: T.C. Anadolu Üniversitesi Yayını No:2256 Açık Öğretim Fakültesi Yayını No: 1253; 2013.
24. Kolsarıcı Ö, Çiftçi CY, Emeklier Y, İncikarakaya S, Adak S, Geçit HH, et al. Tarla Bitkileri. Ankara: Ankara Üniversitesi Fakültesi yayınları:1569; 2009.
25. Babaoğlu M, Yorgancılar M, Akbudak MA. Temel Laboratuvar Teknikleri. Bitki Biyoteknolojisi (Cilt I) Doku Kültürü ve Uygulamaları. Konya: Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları; 2001.
26. Anonim. Bitki Doku Kültürü Tanımı ve Bazı Uygulama Alanları [Internet]. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi. 2013. p. 1. Available from: http://www.agri.ankara.edu.tr/bahce/1099_Bitki_doku_3a.pdf
27. Collin HA, Edwards HS. Plant Cell Culture. BIOS scientific; 1998.
28. Schleiden MJ. Beiträge zur Phytogenesis. Archiv für Anatomie. Physiol und Wissenschaftliche Medici. 1838;13:137–76.

29. Schwann T. Mikroskopische untersuchungen über die übereinstimmung in der struktur und dem wachstum der thiere und pflanzen. Veriag Dr. Sander'schen Buchhandlung. 1839.
30. Purnhauser L, Medgyesy P, Czako M, Dix PJ, Marton L. Stimulation of shoot regeneration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. tissue cultures using the ethylene inhibitor AgNO₃. *Plant Cell Rep.* 1987;6:1–4.
31. Vnuchkova VA, Maryakima II, Eisner GI. Effect of acetone in the culture medium on the regeneration efficiency and on the resistance to root of regenerants of various plant species. *Plant Cell Rep.* 1993;12:577–80.
32. Özgen M, Türet M, Özcan S, Sancak C. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes. *Plant Breed.* 1996;115:455–8.
33. Sharma GC, Bello LL, Sapra VT, Peterson CM. Callus initiation and plant regeneration from Triticale embryos. *Crop Sci.* 2003;21:11–8.
34. Bürün B. Buğdaygillerde in vitro kültürler. Yüzüncü yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Derg. 1996;6(4):18–95.
35. Evans DA, William R.S. Growth and behavior of cell cultures embryogenesis and organogenesis. *Plant Tissue Cult.* 1981;45–114.
36. Gamborg OL, Shyluk JP. Nutrition, media and characteristic of Plant Cell and Tissue Cultures. *Plant Tissue Cult.* 1981;21–44.
37. Torello WA. Callus initiation, plant regeneration and evidence of somatic embryogenesis in red fescue. *J Agron Crop Sci.* 2004;24:1037–40.
38. Dracup M. Increasing salt tolerance of plants through cell culture requires greater understanding of tolerance mechanisms. *Aust J Plant Physiol.* 1991;18:1–15.
39. Davoyan EL. Genetic determination of the process of callus formation and induction of regenerates in the tissue culture of rice. *Genet USSR.* 1987;23(2):303–10.
40. Kyojuka J, Otoo E, Shimamoto K. Plant Regeneration from Protoplast of Indica Rice : Genotypic Differences in Culture Response. *Theor Appl Genet.* 1988;76:887–90.
41. Peng J, Hodges TK. Genetic analysis of plant regeneration in rice. *Vitr Cell Dev Biol -Plants.* 1989;25:91–4.
42. Abe T, Oka Y, Sasahara T. Varietal Variations in Biochemical Changes During Growth and Redifferentiation of Rice Callus Cultures. *Japanese J Genet.* 1994;69:385–96.
43. Kuroda S, Kato H, Ikeda R. Heterosis and Combining Ability for Callus Growth Rate in Rice. *Crop Sci.* 1998;38:933–6.

44. Ulukan H. Tahıllarda in vitro alışmalar. MKU Ziraat Fakóltesi Derg. 2003;8(1-2):19–31.
45. Amarasinghe AAY, Yang YS. Comparative Studies on in vitro Response of Fresh And Old Callı of Rice (*Oryza sativa* L.). J Agric Sci. 2005;1(2):1–14.
46. Xiu-hong W, Xiang-yuan S, Xian-jun W. Tissue Culture Responses from Different Explants of Rice. Rice Sci. 2005;12(3):229–32.
47. Rachmawati D, Anzai H. Studies on Callus induction, Plant Regeneration and Transformation Of Javanica Rice Cultivars. Japanese Soc Plant Cell Mol Biol. 2006;23:521–4.
48. Carsono N, Yoshida T. Identification of Callus Induction Potential of 15 Indonesian Rice Genotypes. Plant Prod Sci. 2006;9(1):65–70.
49. Hoque ME, Ali MS, Karim NH. Embryogenic Callus induction and Regeneration of Elite Bangladeshi Indica Rice Cultivars. Plant Tissue Cult and Biotech. 2007;17(1):65–70.
50. Kurt O, Aydın E, Seyis F. Farklı Somatik Explantların eltikte (*Oryza sativa* L. cv. Taipei-309) Kallus ve Bitkicik Oluşumuna Etkisi. Biyol Bilim Araştırma Derg. 2008;1(1):1–3.
51. Kurt O, Akay H, Gölümser A. Farklı Somatik Explantların eltik (*Oryza Sativa* L. cv. Pusur)'te Kallus ve Bitkicik Oluşumuna Etkisi. Ülkesel Tahıl Sempozyumu. Konya; 2008 Jun;180–4.
52. Manimaran P, Ravi Kumar G, Raghurami Reddy M, Jain S, Bhaskar Rao T, Mangrauthia SK, et al. Infection of Early and Young Callus Tissues of Indica Rice BPT 5204 Enhances Regeneration and Transformation Efficiency. Rice Sci. 2013;20(6):415–26.
53. Kocaçalışkan İ. Bitki kólterleri (Organ, Doku ve Hücre). Kütahya: Dumlupınar Üniversitesi Fen Edebiyat fakóltesi Biyoloji Bölümü; 2003.
54. Aydın M. Bazı Ekmeklik ve Makarnalık Buğday eřitlerinin Olgun Embriyo Kólterüne Tepkilerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi; 2010. p. 123.
55. Bommineni VR, Jauhar PP. Regeneration of plantlets through isolated scutellum culture of durum wheat. Plant Sci. 1996;116(2):197–203.
56. Zhang L, Hattori K. Genetic Analysis of Regeneration Ability in Rice Seedcallus. Genes Genet Syst. 1996;71:313–7.
57. Ivanov P, Anatanssov Z, Milkova V, Nikolava L. Culture selected somaclonal variation in five *Triticum aestivum* L. Genotypes. Euphytica. 1998;104(3):167–72.
58. Birsin MA, Önde S, Özgen M. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of oat (*Avena sativa* L.). Turkish J Biol. 2001;25:427–34.

59. Li W, Ding CH, Hu Z, Lu W, Guo GQ. Relationship between tissue culture and agronomic traits of spring wheat. *Plant Sci.* 2003;164:1079–85.
60. Aditdya TL, Hoque ME, Khalequzzaman M. Response to High Frequency Callus Induction Ability from Root Regions of Germinated Embryo in Indica Rice. *Pakistan J Biol Sci.* 2004;7(5):861–4.
61. Saharan V, Yadav RC, Yadav N, Chapagain RBP. High frequency plant regeneration from desiccated cali of indica rice (*Oryza sativa* L.). *African J Biotechnol.* 2004;3(5):256–9.
62. Khaleda L, Al-Forkan M. Genotypic variability in callus induction and plant regeneration through somatic embryogenesis of five deepwater rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Bangladesh. *African J Biotechnol.* 2006;5(16):1435–40.
63. Özgen M, Türet M, Altınok S, Sancak C. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. *Plant Cell Rep.* 1998;18:331–5.
64. Bartok T, Sagi F. A new endosperm supported culture callus induction method for wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 1990;22:37–41.
65. Chen JY, Yue RQ, Xu HX, Chen XJ. Study on plant regeneration of wheat mature embryo under endosperm- supported culture. *Agric Sci China.* 2006;5:572–8.
66. Sayar MT, Birsin MA, Ulukan H, Özgen M. Effect of seed size on the tissue culture response of callus from mature embryos of wheat species. *Wheat Inf Serv.* 1999;89(1-6):81–4.
67. Birsin M, Özgen M. A comparison of callus induction and plant regeneration from different embryo explant of Triticale. *Cell Mol Biol Lett.* 2004;9:353–61.
68. Şimşek S. Yulafta (*Avena sativa* L.) Tohum İriliğinin Bitki Rejenerasyonunda Etkisi. *Ankara Üniversitesi;* 2004. p. 54.
69. Turhan H, Baser I. Callus Induction from Mature Embryo of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Asian J Plant Sci.* 2004;3(1):17–9.
70. Filippov, M., Miroshnichenko, D., Vernikovskaya, D., Dolgov S. The effect of auxins, time exposure to auxin and genotypes on somatic embryogenesis from mature embryos of wheat. *Plant, Cell, Tissue Organ Cult.* 2006;84:213–22.
71. Özgen M, Yıldız M, Koyuncu N, Önde S. The effect of seed size on tissue culture response of callus from endosperm-supported mature embryos of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Cereal Res Commun.* 2007;35(3):1415–25.
72. Han Y, Xiao-li J, Fei-bo W, Zhang G. Genotypic differences in callus induction and plant regeneration from mature embryos of barley (*Hordeum vulgare* L.). *J Zhejiang Univ Sci B.* 2011;12(5):399–407.

73. Basra AS. Plant Growth Regulators in Agriculture and Horticulture. Their Role and Commercial Uses Haworth Press, ISBN 1560228911, 9781560228912; 2000.
74. Karakuş C, Köker R. Tarımda Bitki Gelişim Düzenleyicilerin (BGD) Kullanımı ve Hormon Riski. Üniversite Öğrencileri 2 Çevre Sorunları Kongresi. İstanbul; 2007. p. 163–75.
75. Kılıç Y. Fitohormonların Saplı Meşe (*Quercus robur* L.) 1+0 Yaşlı Fidan Morfolojik Karakterleri Üzerine Etkisi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2007. p. 74.
76. Ashikari M, Sakakibara H, Lin S, Yamamoto T, Takashi T, Nishimura A, et al. Cytokinin oxidase regulates rice grain production. *Science* (80-). 2005;309:741–5.
77. Sugawara H, Ueda N, Kojima M, Makita N, Yamaya T, Sakakibara H. Structural Insight into the Reaction Mechanism and Evolution of Cytokinin Biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci*. 2008;107(7):2734–9.
78. Kurakawa T, Ueda N, Maekawa M, Kobayashi K, Kojima M, Nagato Y, et al. Direct Control of Shoot Meristem Activity by a Cytokinin Activating Enzyme. *Nature*. 2007;445:652–5.
79. Graham LE, Graham JM, Wilcox LW. Bitki Biyolojisi. Ankara: palme yayınları; 2004.
80. Westwood MN. Hormones and Growth Regulators. Temperate Zone Pomology: Physiology and Culture. Timber Press; 1993.
81. Ranawad K. Plant Biotechnology. S. Chand & Company LTD., Ram Nagar, New Delhi-110055.; 2003.
82. Sigma. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid [Internet]. Sigma- Aldrich. Available from: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/d7299?lang=en®ion=TR>
83. Keller T, Skopp G, Wu M. Fatal overdose of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Forensic Sci Int*. 1994;65:13–8.
84. Sigma. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid Plant Cell Culture Tested [Internet]. Sigma- Aldrich. p. 450A. Available from: https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigma-aldrich/docs/Sigma/Product_Information_Sheet/d7299pis.pdf
85. Doğan E. Makarnalık Buğdayda (*Triticum Durum* Desf.) Farklı 2,4-D ve Picloram Dozlarının Kallus Oluşumuna ve Kromozom Yapısına Etkisi. Ankara Üniversitesi; 2010. p. 107.
86. Holt JS, Powles SB, Holtum JAM. Mechanisms and agronomic aspects of herbicide resistance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 1993;44:203–29.
87. Seiler JP. The genetic toxicology of phenoxy acids other than 2,4,5-T. *Mutat Res*. 2006;1978(55):197–226.

88. Mendoza MG, Kaeppler HF. Auxin and sugar effects on callus induction and plant regeneration frequencies from mature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Vitr Cell Dev Biol -Plants*. 2002;39:39–45.
89. Nishi T, Yamada Y, Takahashi E. The Role of Auxins in Differentiation of Rice Tissues Cultured in vitro. *J Plant Res*. 1973;86(3):183–8.
90. Lieb HB, Ray TB, Still CC. Growth of Rice Root- derived Callus Tissue in Suspension Culture. *Plant Physiol*. 1973;51(6):1140–1.
91. Inoue M, Maeda E. Effect of Auxin Concentration on the Callus Induction from Various Organs of Rice Seedlings. *Proceeding Crop Sci Soc Japan*. 1976;45(4):545–7.
92. Abe T, Futsufara Y. Varietal Difference of Plant Regeneration from Root Callus Tissues in Rice. *Japan J Breed*. 1984;34:147–55.
93. Brisibe EA, Taniguchi T, Maeda E. In Vitro Plant Regeneration from Morphogenic Callus Cultures of Cultigens and Wild *Oryza* Species. *Japanese J Crop Sci*. 1990;59(3):557–65.
94. Pavlica M, Papeš D, Nagy B. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid causes chromatin and chromosome abnormalities in plant cells and mutation in cultured mammalian cells. *Mutat Res*. 1991;263:77–81.
95. Felföldi K, Purnhauser L. Induction of regenerating callus cultures from immature embryos of 44 wheat and 3 triticale cultivars. *Cereal Res Commun*. 1992;20(3-4):273–7.
96. Oinam GS, Kothari SL. Totipotency of coleoptile tissue in indica rice (*Oryza sativa* L. cv. CH 1039). *Plant Cell Rep*. 1995;14:245–8.
97. Vikrant A, Rashid A. Somatic embryogenesis from immature and mature embryos of a minor millet *Paspalum scrobiculatum* L. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2002;69:71–7.
98. Mendoza MG, Kaeppler HF. Auxin and sugar effects on callus induction and plant regeneration frequencies from mature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Vitr Cell Dev Biol -Plants*. 2002;38:39–45.
99. Rashid H, Abbasi FM, Quraishi A. Plant Regeneration from Seed Derived Callus of Three Varieties of Basmati Rice. *Plant Tissue Cult*. 2003;13(1):75–9.
100. Kermane P. Plant Regeneration from Cell Suspension Culture of Rice Varieties Khao Dawk Mali 105 and Suphanburi 1. *Kasetsart J*. 2004;38:90–6.
101. Bano S, Jabeen M, Rahim F, Ilahi I. Callus Induction and Regeneration in Seed Explants of Rice (*Oryza sativa* cv. Swat-II). *Pakistan J Bot*. 2005;37(3):829–36.

102. Beena C. Genetic effect on the regeneration of the calli of rice. *Indian J Crop Sci.* 2006;1(1-2):207–8.
103. Chowdhury MR, Dahul A, Hubstenberger J, Phillips G. Development of in vitro regeneration protocols for Arkansas rice varieties. *J Ark Acad Sci.* 2006;60:108–12.
104. Haliloğlu K. Efficient regeneration system from wheat leaf base segments. *Biol Plant.* 2006;50(3):326–30.
105. Jubair TA, Salma U, Haque N, Akter F, Mukti IJ, Haque AKMF, et al. Callus Induction and Regeneration of Local Rice (*Oryza sativa* L.) Variety Topa. *Asian J Plant Sci.* 2008;7(5):514–7.
106. Summart J, Panichajakul S, Prathepha P, Thanonkeo P. Callus Induction and Influence of Culture Condition and Culture Medium on Growth of Thai Aromatic Rice, Khao Dawk Mali 105(KDML 105), Cell Culture. *World Appl Sci J.* 2008;5(2):246–51.
107. Benlioğlu B. Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Embriyo Kültürüne Uygulanan Farklı 2,4-D Dozlarının Rejeneratif Sürgünlerde Kromozom Yapısına Etkisi. Ankara Üniversitesi; 2013. p. 95.
108. Baydar H. Tarla Bitkileri [Internet]. Tarla Bitkileri Özel. Isparta; 2012 p. 68. Available from: <http://ziraat.sdu.edu.tr/assets/uploads/sites/138/files/tarla-bitkilerine-giris-16112012.pdf>
109. Acar H. Arpada Doku Kültürü ve Bitki Islahında Yararlanma Olanakları. Ankara; 1997.
110. Redway FA, Vasil V, Lu D, Vasil K. Identification of callus types for longterm maintenance and regeneration from commercial cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet.* 1990;79:609–17.
111. Ahmed KZ, Bartok T, Sagi F. A modified method for rapid callus induction by utilization of endosperm metabolites in mature and immature seeds of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and durum wheat (*Triticum durum* L.). *Cereal Res Commun.* 1992;20:81–6.
112. Zeljezic D, Garaj-Vrhovac. V. Chromosomal aberrations, micronuclei and nuclear buds induced in human lymphocytes by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid pesticide formulation. *Toxicology.* 2004;200(1):39–47.
113. Ünal S. Hububat Teknolojisi. İzmir: E.Ü.Mühendislik Fakültesi Yayınları; 1991.
114. Anonim. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Çeşitlerimiz [Internet]. 2013 [cited 2014 Jul 22]. Available from: <http://www.ttae.gov.tr/index.php/urun-cesitleri/celtik>
115. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiol.* 1962;15:473–97.

116. Somun G. Arpada (*Hordeum vulgare* L.) tuzluluğa tolerasın in vitro koşullarda belirlenmesi. Ankara Üniversitesi; 2010. p. 114.
117. Çabuk B. Mısırdada (*Zea mays* L.) Farklı 2,4-D Dozlarının Kallus Oluşumu ve Kromozomal Yapıya Etkisi. Ankara Üniversitesi; 2010. p. 153.
118. Özgen M, Birsin MA. Callus induction and plant regeneration from immature and endosperm supported mature embryos of winter oat (*Avena sativa* L.). *J Genet Breed.* 2002;56(4):339–44.
119. Menrad K, Gaisser S, Hüsing B, Menrad M. Gentechnik in der Landwirtschaft, Pflanzenzucht und Lebensmittelproduktion. *Tech Wirtschaft und Polit.* 2003;50:1–250.
120. Özgen M, Adak MS, Söylemezoğlu G, Ulukan H. Bitki gen kaynaklarının korunma ve kullanımında yeni yaklaşımlar. Türkiye Ziraat Mühendisliği V Teknik Kongresi. 2000. p. 259–84.
121. Mathias RJ, Fukui K. The effect of specific chromosome and cytoplasm substitutions on the tissue culture response of wheat (*Triticum aestivum*) callus. *Theor Appl Genet.* 1986;71:797–800.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Aybuke Sultan Koca

Doğum Yeri: Ankara

Doğum Tarihi: 13 Eylül 1985

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce, Korece

Eğitim Durumu

Lise: Cumhuriyet Anadolu Lisesi

Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü

Yurt Dışı Tecrübesi

Jagiellon Üniversitesi (Uniwersytet Jagielloński) Erasmus eğitimi (2011-2012)

Ulusal Kongrede Sunulan Poster Sunumu

Koca A.S., Çeltikte (*Oryza sativa* L.) Endosperm Destekli Olgun Embriyo Kültüründe Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Tohum İriliğinin Etkisi 11. Tarla Bitkileri Kongresi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Çanakkale, Türkiye, 7-10 Eylül.

Özet

Çeltikte (*Oryza sativa* L.) Endosperm Destekli Olgun Embriyo Kültüründe Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Tohum İriliğinin Etkisi

Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünden tescilli 10 çeltik çeşidinin (Aromatik-1, Çakmak, Durağan, Edirne, Efe, Gala, Halilbey, Neğiş, Osmancık-97, Şumnu) olgunlaşmış embriyolarının bitki materyali olarak kullanıldığı bu araştırma Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütüldü. *In vitro* koşullarda bu 10 çeltik çeşidi büyük ve küçük olarak iki gruba ayrıldı. Kallus oluşumu için 8 ml/l 2,4- D (2,4 Diklorofenoksiasetik asit) içeren sıvı MS ortamı ve bitki rejenerasyonu için 20 g/l sükröz ve 7 gr/l agar içeren katı MS ortamı kullanıldı.

Çalışmada, kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi parametreleri belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre iri tanelilerde kallus oluşumu % 96,7-100,0; kallus ağırlığı 0,468-0,837 gr, rejenerasyon kapasitesi % 42,0-86,7 kültür etkisi % 40,0-86,7 arasında belirlendi. Küçük tanelilerde ise bu değerler sırasıyla kallus oluşumu % 93,4-100,0; kallus ağırlığı 0,326-0,581 gr; rejenerasyon kapasitesi % 36,0-63,3; kültür etkisi 33,3-63,3 olarak belirlendi.

Çeltikte tane iriliğinin bitki rejenerasyonuna etkili olduğu, büyük tanelerin rejenerasyon kapasitesinin daha yüksek olduğu saptandı.

Anahtar kelimeler: Çeltik, *Oryza sativa* L, tohum iriliği, kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu