

İĞDIR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI KANOLA (*Brassica napus* L.) ÇEŞİTLERİNİN *IN VITRO* ŞARTLARDA
TUZLULUĞA TOLERANSININ BELİRLENMESİ**

Lilifer TURAN

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

İĞDIR

2017

Her Hakkı Saklıdır.

Yrd. Doç. Dr. Ahmet Metin KUMLAY danışmanlığında, Lilifer TURAN tarafından hazırlanan bu çalışma .../.../.....tarihinde aşağıdaki jüri tarafından, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:.....

İmza:.....

Üye:.....

İmza:.....

Üye:.....

İmza:.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim kurulunun / /..... tarih ve/ sayılı kararı ile onaylanmıştır.

İmza

.....

Yrd. Doç. Dr. Bahri GÜR

Enstitü Müdür V.

ÖZET

BAZI KANOLA (*Brassica napus* L.) ÇEŞİTLERİNİN *IN VITRO* ŞARTLARDA TUZLULUĞA TOLERANSININ BELİRLENMESİ

TURAN, Lilifer

Yüksek Lisans Tezi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Ahmet Metin KUMLAY

Ocak 2017, 49 sayfa

Bu araştırma “Tesadüf Bloklarında Bölünen Bölünmüş Parseller Deneme Deseni”ne göre üç tekerrürlü olarak Erzurum Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Doku Kültürü Laboratuvarı’nda yürütülmüştür. Çalışmada Elvis ve Californium kanola çeşitlerinin sürgün ucu, hipokotil ve kotiledon eksplantları kullanılmıştır. Bitki büyütme ortamı olarak MS ortamına, (T0: 0.0 mM NaCl) kontrol ortamı yanında (T1: 25 mM NaCl; T2: 50 mM NaCl; T3: 75 mM NaCl; T4: 100 mM NaCl; T5: 150 mM NaCl) 5 farklı besiyeri kullanılmıştır. Bitkicikler 6 hafta süre ile uzun gün fotoperiyot (16 saat aydınlık, 8 saat karanlık) şartlarında tutulmuşlardır. Altıncı hafta sonunda şu gözlemler alınmıştır: İlk sürgün verme gün sayısı, bitkinin canlı kalma oranı, sürgün uzunluğu, yan dal sayısı, boğum sayısı, boğum aralığı, yaprak alanı, kök sayısı, kök uzunluğu, bitki yaş ve kuru ağırlıkları. Çalışma sonucunda Elvis kanola çeşidinin Californium çeşidine göre, incelenen özellikleri yönünden çok daha ön planda olduğu belirlenmiştir. Sürgün ucu ve kotiledon eksplantlarının hipokotil eksplantına göre daha olumlu sonuçlar verdiği kaydedilmiştir. Ortamlardan ise en iyi sürgün rejenerasyonu 50 mM NaCl içeren tuz ortamında elde edilirken, bu ortamı; kontrol ortamı ve 25 mM NaCl tuz içeren ortam takip etmiştir. Californium çeşidi (9.19 gün), Elvis çeşidine göre (9.56 gün) daha erken sürgün vermeye başlamış, fakat Elvis çeşidi (23.74 mm) daha uzun bitkicikler vermiştir (Californium, 22.37 mm). Sürgün ucu, kotiledon ve hipokotil eksplantlarında sırasıyla 33.11 mm, 24.69 mm ve 11.36 mm sürgün uzunlukları belirlenmiştir. Ortamlar arasında en uzun bitkicikler; kontrol ortamında (36.33 mm) elde edilmiş, bunu 25 mM NaCl (33.56 mm) ve 50 mM NaCl (31.56 mm) tuz ortamları takip etmiştir. Çalışma sonucunda iyi bir sürgün gelişimi için; Elvis çeşidi, sürgün ucu ve kotiledon eksplantları ile 50 mM NaCl konsantrasyonlarına kadar iyi bir sürgün gelişimi verdiği, ancak artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak incelenen bütün bitkicik özelliklerinde önemli düşüşler meydana geldiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kanola, *Brassica napus* L., doku kültürü, *in vitro*, NaCl (tuz) stresi, dayanıklılık.

ABSTRACT

DETERMINATION OF SODIUM CHLORIDE STRESS TOLERANCE OF SOME RAPESEED (*Brassica napus* L.) CULTIVARS UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

TURAN, Lilifer

Ms Thesis, Department of Field Crops

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ahmet Metin KUMLAY

January 2017, 49 pages

This research was carried out at the Tissue Culture Laboratory of Erzurum Eastern Anatolia Agricultural Research Institute according to the “Split – Split Plot Design in Randomized Blocks” with three replications. Shoot tip, hypocotyl and cotyledon explants of Elvis and Californium canola (*Brassica napus* L.) genotypes were used in the study. In addition to control media (T0: 0.0 mM NaCl), 5 different NaCl concentrations (T1: 25mM, T2: 50 mM, T3: 75 mM, T4: 100 mM, T5: 150 mM) were added to MS media to culture explants. Explants were incubated under long-day photoperiod conditions (16 h light, 8 h dark) for 6 weeks. At the end of the 6th weeks, following observations were taken: days to the first shoot appearance; plantlet survival rate; the length of shoots, roots and nodes; the number of shoots, roots and nodes; diameter of leaves; fresh and dry weight of plantlets. As a result of the study, it was seen that Elvis genotype had much more significant better plantlet characteristics compared to Californium cultivar. Shoot tip and cotyledon explants gave better results compared to hypocotyl explants. The best shoot regeneration from media was obtained in salt combination media containing 50 mM NaCl, control media and media containing 25 mM NaCl salt. The Californium variety (9.19 days) started to shoot earlier than Elvis variety (9.56 days), but the Elvis variety (23.74 mm) gave longer plantlet (Californium, 22.37 mm). Shoot lengths of 33.11 mm, 24.69 mm and 11.36 mm were determined in the shoot, cotyledon and hypocotyl explants, respectively. The longest plantlets among the medias; control media (36.33 mM), followed by 25 mM NaCl (33.56 mM) and 50 mM NaCl (31.56 mM) salt media. As a result of the study, it can be concluded that Elvis genotype, shoot tip and cotyledon explants determined better shoot development up to 50 mM NaCl concentration, however increased salt concentration resulted a significant decrease on plantlet growth characteristics in examined genotypes and explants.

Key words: *Brassica napus* L., tissue culture, *in vitro*, NaCl stress, growth response.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

“Bazı Kanola (*Brassica napus* L.) Çeşitlerinin *in vitro* Şartlarda Tuzluluğa Toleransının Belirlenmesi” konulu yüksek lisans tezimin planlanmasından yazılmasına kadar her konuda bilgi, tecrübe ve samimiyetiyle bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam, Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Metin KUMLAY’a ve laboratuvar çalışmalarında verdiği desteklerden dolayı Sayın Dr. Canan KAYA’ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında bilgilerini ve tecrübelerini benimle paylaşan ve yön veren bölüm hocalarıma şükranlarımı sunarım.

Yüksek Lisans tezimin kurulumu ve yürütülmesi aşamasından yazılmasına kadar olan tüm süreçte, her konuda bana yardımcı olan ve aynı zamanda çalışmalarım sırasında sonsuz sabır ve hoşgörü gösteren sevgili aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

Lilifer TURAN

Ocak, 2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	1
1. GİRİŞ	3
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
3. MATERYAL ve METOD.....	14
3.1. Materyal	14
3.2. Metod	14
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Alet, Ekipman ve Malzemelerin Sterilizasyonu	14
3.2.2. Çalışmada Kullanılan Kanola Çeşitleri ve Bitkisel Materyalin Hazırlanması	14
3.2.3. Bitki Rejenerasyonu İçin Doku Kültürü Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu	15
3.2.4. Hazırlanan Eksplantların Besi Ortamlarına Aktarılması ve İnkübasyon	16
3.2.5. Verilerin Elde Edilmesi	18
3.2.6. Verilerin Değerlendirilmesi	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	21

4.1. Sürgün verme gün sayısı (gün).....	21
4.2. Bitki canlılık oranı (%)	23
4.3. Sürgün uzunluğu (mm)	25
4.4. Yan dal sayısı (adet).....	27
4.5. Boğum sayısı (adet)	29
4.6. Boğum aralığı (mm).....	31
4.7. Yaprak alanı (mm ²)	33
4.8. Kök sayısı (adet).....	35
4.9. Kök uzunluğu (mm).....	37
4.10. Bitki yaş ağırlığı (mg).....	39
4.11. Bitki kuru ağırlığı (mg).....	41
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	43
6. KAYNAKLAR	45
ÖZGEÇMİŞ.....	49

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No:	Sayfa no:
Şekil 3.1. Kanola tohumlarının çimlendirilmesi.....	14
Şekil 3.2. Doku kültürü ortamlarının hazırlanması.....	16
Şekil 3.3. Hazırlanan eksplantların besi ortamlarına aktarılması.....	17
Şekil 3.4. Sürgün verme gün sayılarının (gün) belirlenmesi.....	19
Şekil 3.5. Canlı kalma oranları (%)’nın belirlenmesi.....	19
Şekil 3.6. Sürgün uzunluğu (mm) ölçüm işlemi	20

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge no:	Sayfa no:
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan tuz (NaCl) ve konsantrasyonları.....	15
Çizelge 4.1. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin sürgün verme gün sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	21
Çizelge 4.2. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin sürgün verme gün sayısı (gün) ortalama değerleri.....	22
Çizelge 4.3. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin bitki canlılık oranlarına ait varyans analiz sonuçları.....	23
Çizelge 4.4. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin bitki canlılık oranı (%) ortalama değerleri.....	24
Çizelge 4.5. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin sürgün uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları	25
Çizelge 4.6. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin sürgün uzunluğu (mm) ortalama değerleri.....	26
Çizelge 4.7. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin yan dal sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	27
Çizelge 4.8. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin yan dal sayısı (adet) ortalama değerleri.....	28
Çizelge 4.9. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin boğum sayısına ait varyans analiz sonuçları	29
Çizelge 4.10. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin boğum sayısı (adet) ortalama değerleri.....	30
Çizelge 4.11. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin boğum aralığına ait varyans analiz sonuçları	31

Çizelge 4.12. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin boğum aralığı (mm) ortalama değerleri	32
Çizelge 4.13. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin yaprak alanına ait varyans analiz sonuçları	33
Çizelge 4.14. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin yaprak alanı (mm ²) ortalama değerleri.....	34
Çizelge 4.15. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	35
Çizelge 4.16. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin kök sayısı (adet) ortalama değerleri.....	36
Çizelge 4.17. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları.....	37
Çizelge 4.18. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin kök uzunluğu (mm) ortalama değerleri.....	38
Çizelge 4.19. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin bitki yaş ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.....	39
Çizelge 4.20. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin bitki yaş ağırlığı (mg) ortalama değerleri	40
Çizelge 4.21. Farklı eksplant kaynakları ve tuz konsantrasyonlarında kanola çeşitlerinin bitki kuru ağırlığına ait varyans analiz sonuçları.....	41
Çizelge 4.22. Farklı eksplant kaynakları ve tuz ortamlarında kanola çeşitlerinin bitki kuru ağırlığı (mg) ortalama değerleri	42

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μM	Mikromolar
cm	Santimetre
dS M^{-1}	Desisiemens/Metre
g	Gram
l	Litre
mg L^{-1}	Miligram/Litre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat Derece

Kisaltmalar

2,4-D	Diklorofenoksiasetik Asit
AgNO_3	Gümüş Nitrat
BA	Benzil Adenin
BAP	Benzil Amino Pürin
BBD	Bitki Büyüme Düzenleyecileri
GA_3	Gibberellik Asit
B_5	Gamborg Besin Ortamı
IAA	Indol-3-Asetik Asit
IBA	Indol-3-Bütirik Asit
JA	Jasmonik Asit
KIN	Kinetin (6-Furfurylamino pürine)
LSD	Least Significant Difference
MS	Murashige ve Skoog (1962) Besi Ortamı
NAA	Naftalen Asetik Asit

NaCl	Sodyum Klorür
SA	Salisilik Asit
SD	Serbestlik Derecesi
TDZ	Thidiazuron
T₀	Kontrol Ortamı (0.0 mM NaCl)
T₁	25 mM NaCl
T₂	50 mM NaCl
T₃	75 mM NaCl
T₄	100 mM NaCl
T₅	150 mM NaCl
ZT	Zeatin

1. GİRİŞ

Kanola bitkisi (*Brassica napus* L.) tohumlarında katı, sıvı ve ham yağ olarak kullanılan %40-45 oranında yağ bulunduran, yağında orta ve yüksek oranda doymamış yağ olan oleik asit içeren, kaynama noktası yüksek (223°C) olmasından dolayı iyi bir kızartma yağı özelliği gösteren, E vitaminince zengin en iyi yağ bitkilerinden biridir (Öztürk ve Akınerdem, 2004). Kanadalı bitki ıslahçıları 1970'li yıllarda kolza bitkisi üzerinde yaptıkları yoğun ıslah araştırmalarıyla elde ettikleri, yağında %2'nin altında erusik asit ve küspesinin her gramında 30 µM'in altında glukozinolat içeren, yeni çeşitlere kanola adını vermişlerdir. Dünya kanola üretiminin önemli bir kısmı insan beslenmesinde kullanılmakta olup, kanola yağının besin değeri ve içeriği zeytinyağı ve yerfıstığı yağının kalitesine yakın bir değerdedir (Köycü, 2006; İlkdoğan, 2008). 2014 yılı verilerine göre; dünyada yaklaşık 42.5 milyon ha alandan, 82.5 milyon ton kanola üretimi gerçekleştirilmiş olup, dekara 195 kg verim elde edilmiştir (Anonymous, 2014). Ülkemizde ise yaklaşık 35.081 bin ha alandan, 120 bin ton üretim yapılmış ve dekara 342 kg verimle, yağ bitkileri arasındaki yerini almaktadır (Anonim, 2015).

Dünyada sulanabilir tarım arazileri alanının yaklaşık beşte birinin toprak tuzluluğundan olumsuz etkilendiğini, bu nedenle gıda üretiminde sürdürülebilirliğin sağlanabilmesi için, tuzluluğa tolerant yeni bitki ve çeşitlerinin geliştirilmesinin çok önemli olduğu vurgulanmıştır (Chinnusamy *et al.*,2005). Toprak tuzluluğu insanlık ve tarım için uzun yıllardan beri problem olmakta, artan sulama ve drenaj problemleri nedeniyle de bu sorun gittikçe artmaktadır. Tarımdaki toprak tuzluluğu, gittikçe ürün gelişimini ve üretkenliğini olumsuz etkilemekte ve dünyanın birçok bölgesinde en önemli problemlerden biri durumuna gelmektedir. Mevcut bilgilere göre dünya sulanabilir tarım alanlarının yaklaşık %20'sinin tuzluluktan etkilendiği, artan bu tuzlulaşma probleminden dolayı, gelecek 25 yıl içerisinde tarıma elverişli alanların %30 civarında azalacağı ve bu oranın 2050 yılına kadar %50'ye ulaşacağı tahmin edilmektedir (Wang *et al.*,2003).

Son zamanlarda geliştirilen *in vitro* tekniklerle, kısa sürede ve ucuz yöntemlerle bitkilerin tuzluluğa dayanımlarının test edilebileceği ve buradan seçilen bitkilerin tuzluluğa tolerans yönünden değerlendirilebileceği belirlenmiştir. *In vitro* çalışmalar

sonucunda, tuzluluğa dayanıklı olan bitkilerin uzun dönemde faydalı olacağı, ancak elde edilen bitkilerin genetik olarak stabil olmalarının da önemli olduğu vurgulanmıştır (Rai *et al.*, 2011).

Yürütülen *in vitro* alışmalarda hem geliştirilen yeni kanola çeşitlerinde, hem de melezleme sonrası elde edilen hatlarda tuzluluğa toleransın belirlenmesinin zaman ve masrafi azaltma yönünden çok büyük avantajları olduğu bir gerçektir. Bu nedenle *in vitro* teknikleri hem tuza dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde, hem de mevcut çeşitlerin tuza dayanıklılıklarının test edilmesinde sık sık kullanılan metotlardır.

Bütün bu sebeplerden dolayı; yürütülen bu araştırma ile ülkemizde ekimi yapılan Elvis ve Californium adlı iki farklı kışlık ticari kanola çeşidinden alınan, değişik bitki parçacıkları, değişen konsantrasyonlarda tuz (NaCl) içeren MS besi ortamında *in vitro* ortamda gelişmeye bırakılmış ve tuzluluğa toleransları belirlenmeye çalışılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, daha sonraki biyoteknolojik araştırmalar ile sera ve tarla çalışmalarına temel oluşturacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bitkilerin topraktaki tuzluluğa toleransının belirlenmesi çok büyük önem arz etmektedir. Bu amaçla tarla ve sera çalışmalarında çok sayıda çalışma yapılmış ve tuzluluğa dayanıklı ya da toleranslı olan bitki tür ve çeşitleri belirlenmeye çalışılmıştır. Ancak, bilindiği gibi tarla çalışmaları genelde çevre faktörlerinin etkisi altında bulunmakta ve tolerant yeni çeşitlerin belirlenmesi uzun zaman almakta ve masraflı olmaktadır. Bu amaçla yürütülen *in vitro* çalışmalarında hem geliştirilen yeni çeşitlerde, hem de melezleme sonrası elde edilen hatlarda tuzluluğa toleransın *in vitro* şartlarda belirlenmesinin zaman ve masrafı azaltma yönünden çok büyük avantajları olduğu rapor edilmiştir (Tal, 1994).

Khrais *et al.* (1998) 130 adet Avrupa ve Kuzey Amerika kökenli patates çeşitlerini 0, 40, 80 ve 120 mM NaCl konsantrasyonları içeren MS ortamında test etmişlerdir. Çalışma sonucunda Amisk, Belrus, Bintje, Oneway, Sierra ve Tobique çeşitlerinin bitki canlılığı ve diğer incelenen bitki karakteristikleri yönünden tuzluluğa en tolerant çeşitler olduğu görülmüş ve gelecekte yapılacak tuzluluk stresi çalışmalarında bu çeşitlerin önerilebileceği vurgulanmıştır.

Ochatt *et al.*(1999) besi yerine ilave edilen 60, 90, 120, 150, 300 ve 450 mM NaCl konsantrasyonlarında iki patates hattının tuzluluğa toleranslarını test etmişler; 90 mM dozunun en yüksek yaş ve kuru bitki ağırlığı verdiğini ve 120 mM NaCl dozunun üzerindeki ortamlarda rejenere olan bitkiciklerin yaş ağırlıklarının azaldığını belirlemişlerdir.

Zhang and Bhalla (1999) yedi farklı kanola çeşidinden alınan; kotiledon, hipokotil ve kök eksplantlarının *in vitro* şartlarda sürgün oluşturma yeteneklerini belirlemek için yaptıkları çalışmada, kök eksplantının en yüksek oranda rejenerasyon verdiğini rapor etmişlerdir.

Khan *et al.* (2002) kanola hipokotil eksplantlarını; BAP, NAA, IAA ve 2,4-D hormonlarının farklı konsantrasyonları ve kombinasyonları içeren MS ortamında sürgün rejenerasyonuna tabi tutmuşlar; en iyi sürgün gelişiminin, 2.0 mg L⁻¹ BAP + 0.5 mg L⁻¹

IAA içeren ortamda, en etkili köklenmenin ise yarı katı MS ortamında 0.250 mg L^{-1} IBA + 0.125 mg L^{-1} IAA içeren ortamda oluştuğunu tespit etmişlerdir.

Rasim *et al.* (2003) tuzluluğa tolerans ve hassas olan iki farklı kanola çeşidi üzerinde yaptığı çalışmada; NaCl ilave edilmiş toprakların, elektrik iletkenliğini ölçmüşler ve kontrol uygulaması (2.4 ds M^{-1}) ile birlikte 4.0 , 8.0 veya 12.0 ds M^{-1} elektrik iletkenlik uygulamalarını kullanmışlardır. Çalışma sonucunda; denemede uygulanan bütün tuzluluk konsantrasyonlarında tuzluluğa tolerant olan Dunkeld çeşidinin, tuzluluğa hassas olan Cyclon çeşidine göre, daha yüksek sürgün yaş ve kuru ağırlıkları ile tohum verimi verdiği belirlenmiştir.

Rasim *et al.* (2004) 2:1 oranında toprak: kum karışımının olduğu saksı denemesinde 8 adet kanola hat ya da çeşidini denemeye almışlardır. Çimlenmeden 20 gün sonra distile su içerisinde çözülmüş NaCl çözeltileri ortama ilave edilmiştir. Topraktaki başlangıç elektrik iletkenliği 2.4 dS M^{-1} olarak tespit edilmiş (kontrol), diğer uygulamalar 4 , 8 , 12 dS M^{-1} olarak belirlenmiştir. Artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak bitki boyunun ve çiçek oluşumunun önemli oranda azaldığı, uzun bitkilerin ve en kalın sapların DGL ve Dunkeld çeşidinden elde edildiği, buna karşın Cyclon ve Rainbow çeşitleri en düşük değerleri verdiği, ortamdaki tuz konsantrasyonu arttıkça, çiçek oluşum başlangıcının önemli oranda geciktiği rapor edilmiştir.

Vijayan *et al.*(2003) geniş bir dut popülasyonunun tuzluluğa toleransını belirlemek için yaptıkları çalışmada arazide yetiştirilen dutlardan yanal tomurcuklar almışlar ve bunları *in vitro* şartlarda $\%0.0$, 0.25 , 0.5 , 0.75 , 1.0 NaCl konsantrasyonlarında gelişmeye bırakmışlardır. Buradan elde edilen sürgünleri daha sonra $\%0.1$, $\%0.2$, $\%0.3$ tuz konsantrasyonlarında köklenmeye bırakmışlardır. NaCl uygulamalarının, dut sürgün ve köklerinin oluşumunu ve gelişimini engelleyici etkide bulunduğu açıkça gözlemlenmiştir. Yanal sürgünlerin *in vitro* şartlardaki bitki canlılığı kontrol ortamında $\%83.70$ iken, bu oran $\%1.0$ lik tuz konsantrasyonunda $\%6.1$ olarak belirlenmiştir. Farklı çeşitlerde bitki başına ortalama kök sayısı kontrol ortamında 11.9 adet iken $\%0.3$ NaCl konsantrasyonunda ortalama 0.2 adet olarak belirlenmiştir. Kök uzunluğuda kontrol ortamında 1.80 cm iken $\%0.3$ NaCl ortamında 0.1 cm olarak belirlenmiştir.

Kaya ve ark. (2005) kanola (*Brassica napus ssp. oleifera* L.), yağ şalgamı (*Brassica campestris* L.) ve lahanası (*Brassica oleracea* L.) bitkilerinin çimlenme ve çıkışı üzerine farklı NaCl konsantrasyonlarının (0, 5, 10 ve 20 dS M⁻¹) etkilerini belirlemek amacıyla bir araştırma yürütmüşlerdir. Çalışmada farklı tür ve çeşitlerin NaCl konsantrasyonlarına farklı tepkiler gösterdiği belirlenmiş; yağ şalgamının NaCl konsantrasyonlarından en az etkilenen tür olduğu, 10 dS M⁻¹ seviyesine kadar hem çimlenmede hem de fide gelişiminde önemli azalmalar olmadığı, NaCl seviyelerinin çimlenmeden daha çok fide gelişimini, olumsuz yönde etkilediği gözlemlenmiştir.

Akasaka-Kennedy *et al.* (2005) kanolanın yaprak ve kotiledon eksplantlarının sürgün rejenerasyonu üzerine yürüttükleri bir çalışmada, sürgün oluşum oranının %0 ile %100 arasında değiştiğini, yaprak eksplantının kotiledon eksplantına göre %28 oranında daha iyi rejenere olduğunu, eksplant başına düşen tomurcuk sayısının ise 7.5 adet olduğunu kayda geçmişlerdir.

Ali *et al.* (2007) Star, Westar ve Cyclon kanola çeşitlerinden elde ettikleri bitkilerden, hipokotil ve kotiledon eksplantları kullanmışlar ve en iyi reaksiyonun hipokotil eksplantlarından alındığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar, en iyi sürgün rejenerasyonunun (%96-98) Star çeşidinin hipokotil ve kotiledon yapraklarından 0.5 mg L⁻¹ 2,4-D, AgNO₃ ve BAP içeren ortamdan elde edildiğini kaydetmişlerdir. Daha sonra, sürgünler köklendirme ortamlarına alınmış ve en iyi sonuçlar yarı katı MS ortamına ilave edilen 0.3 mg L⁻¹ IBA konsantrasyonunda, Westar çeşidinde %90 oranında olduğunu saptamışlardır.

Chamandoosti (2007) yaptığı çalışmada, kanola bitkisinin 7 günlük hipokotil eksplantını farklı konsantrasyonlardaki BBD (Bitki Büyüme Düzenleyicileri) (NAA, IBA, 2,4-D, KIN ve BA) ve sodyum klorid içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Çalışma sonucunda; kallus oluşumu için en iyi ortam (6.0 mg L⁻¹ 2,4-D ve 2.0 mg L⁻¹ BA), çoklu sürgün oluşumu için en iyi ortam (1.0 mg L⁻¹ IBA ve 1.0 mg L⁻¹ BA) ve en iyi kök oluşumu için uygun ortam (1.0 mg L⁻¹ NAA ve 0.5 mg L⁻¹ KIN) belirlenmiştir. Daha sonra bu ortamlarda geliştirilen bitkicikler; 0-273.53 mM aralığında NaCl içeren ortamlarda geliştirilen bitkiciklerin hiç tuz içermeyen ortamlara göre, daha iyi kallus oluşumu, sürgün gelişimi ve kök oluşumu meydana getirdiği görülmüştür. En yüksek

sürgün sayısı (3.03 adet) 68.37 mM tuz içeren ortamdan, buna karşın en yüksek kök sayısı (7.21 adet) 102.56 mM tuz konsantrasyonu içeren ortamdan elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar; farklı BBD ve tuz içeren ortamlarda geliştirilen değişik kanola hatlarının seçiminde somaklonal varyasyonun iyi bir seleksiyon kriteri olabileceğini göstermiştir.

Ulfat *et al.* (2007) 34 adet yerel ve ticari kanola çeşidinin tuzluluğa toleranslarını belirlemek ve bitkilerde meydana gelen fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikleri ortaya koymak amacıyla 0.0 ya da 150 mM tuz konsantrasyonlarını 5 hafta süre boyunca uyguladıkları bir sera denemesi yürütmüşlerdir. Elde ettikleri sonuçların kanola bitkisinin tuzluluğa toleransını belirlemede bir seleksiyon kriteri olabileceğini belirtmişler ve 34 genotipin tuzluluğa tolerant, orta derecede tolerant ve tolerant şeklinde 3 farklı grupta kategorize edilebileceğine vurgu yapmışlardır.

Ghnaya *et al.* (2008) dört kanola çeşidinin hipokotil ve yaprak sapı eksplantlarının sürgün oluşum yeteneklerini araştırmış; Jumbo ve Drakkar çeşitlerinin, Pactol ve Cossair çeşitlerine göre rejenerasyon oranlarının daha yüksek olduklarını rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, Jumbo çeşidinin hipokotil eksplantlarının 0.3 mg L⁻¹ NAA + 3.0 mg L⁻¹ BAP içeren ortamda en yüksek sürgün rejenerasyonu verdiğini (%46.7) ve bu ortamda bitki başına 7.50 adet sürgün elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Rahman *et al.* (2008), Bangladeş'te üç patates çeşidinin tek boğum eksplantlarını beş farklı NaCl konsantrasyonunda (0.0 mM, 25 mM, 50 mM, 75 mM ve 100 mM) denemişler ve çalışma sonucunda 100 mM konsantrasyonunun, kullanılan bütün çeşitlerin kök büyümesini engellediğini rapor etmişlerdir.

Burbulis *et al.* (2008) Litvanya'da kışlık kanola çeşitlerinden alınan farklı eksplantları değişik ortamlarda (BAP, NAA ya da Zeatin ve 2,4-D kombinasyonları) denemişler ve yanal sürgün oluşturma durumuna bakmışlardır. Kotiledondan oluşan kallusten rejeneren olan sürgünlerin hipokotilden rejeneren olanlara göre daha yüksek rejenerasyon oranı verdiğini, buna karşın hipokotilden oluşan kallusten geliştirilen bitkiciklerin, bitki başına daha yüksek boğum sayısı verdiğini saptamışlardır. Ayrıca, sürgün rejenerasyon oranının % 0-37.5 ve bitki başına tomurcuk sayısının ise 0-3.8 adet

arasında değiştiği ve bütün uygulamalar arasında en iyi sonuçların 4.0 mg L⁻¹ BAP ve 0.05 mg L⁻¹ NAA kombinasyonundan elde edildiği rapor edilmiştir.

Burbulis *et al.* (2009) on adet farklı kanola çeşidinin hipokotil ve sap kesimlerinin *in vitro* rejenerasyon kapasitelerini test etmek için bir çalışma yürütmüşlerdir. Sürgün oluşumu yönünden değerlendirildiğinde bütün sürgün gelişim parametreleri yönünden en iyi sonuçlar; Valesca eşidinin hipokotil ekplantlarından elde edilmiş, buna karşın genel rejenerasyon oranı yönünden ise en iyi sonuçlar; Insider, Siska ve Kazimir çeşitlerinden elde edilmiştir. Araştırmacılar, sürgün rejenerasyon etkinliğinin çalışmada kullanılan çeşit ve eksplant tipi ile yakından ilişkili olduğunu belirtmişler; en yüksek sürgün rejenerasyon oranının Casino eşidinin sap ekplantlarında %25.78 oranında elde edilirken, Libea eşidinin hipokotil ekplantlarında %85.11 oranında elde edildiğini kaydetmişlerdir. Ayrıca, dışarıdan BBD uygulamasının hem hipokotil, hem de sap ekplantlarında sürgün oluşumunu uyardığı, ancak bu etkinin çeşitlere göre değiştiği de belirtilmiştir. Bu nedenle; her bir kanola çeşidi ve farklı ekplantlar için yeni BBD kombinasyonlarının belirlenmesi gerektiği konusuna özellikle vurgu yapılmıştır.

Burbulis *et al.* (2010) kışlık kanola çeşitlerinin hipokotil ve sap parçalarını kullanarak, BBD'nin sürgün rejenerasyonuna etkilerini incelemişlerdir. Hipokotil eksplantlarından rejenere olan bitkiciklerin canlılık oranları %0 ile %26.0 oranında değişirken, sap segmentleri eksplantları ise %38.7 ile %100 oranında değiştiğini tespit etmişlerdir.  kanola çeşidinden (Maskot, Terra H, Ability) en yüksek sürgün rejenerasyonu hipokotil eksplantlarından oluşurken, Sponsor eşidinde ise en iyi sürgün rejenerasyonu sap parçacıklarından oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Bybordi *et al.* (2010) kanola bitkisinin tuzluluğa dayanımını belirlemek amacıyla 0, 50, 100, 150 ve 200 mM NaCl konsantrasyonları 1:1 oranında karıştırılmış perlit+vermikülit karışımında denemişlerdir. Çalışma sonucunda tuz uygulamasının bitki gelişim ve büyümesini önemli oranda azalttığını ve bu azalışın 200 mM tuz konsantrasyonunda %25'lere kadar çıktığını vurgulamışlardır.

Bybordi (2010) kanola çeşitlerinin tuzluluğa dayanımını belirlemek amacıyla yaptıkları saksı denemesinde 1:1:1 oranında perlit, vermikülit ve kum karışımına 0, 4, 8,

12, 16 ve 20 dS M⁻¹ elektrik iletkenliğinde tuz ilave etmişlerdir. Çalışma sonucunda bitki boyu ve ilk çiçeklenme gün sayısı yönünden en iyi performans, SLM046 ve Okapi çeşitlerinden elde edilmiştir. Olgunlaşma gün sayısı yönünden en iyi performans Licord ve Elite çeşitlerinde gözlenmiştir. Okapi çeşidi bitki başına tohum sayısı ve bitki başına tohum verimi yönünden en iyi performansı göstermiş, bunu Fornax çeşidi takip etmiştir. İncelenen bütün bitki karakteristikleri göz önüne alındığında, farklı seviyelerdeki tuzluluğa dayanım yönünden en fazla tolerans özelliği gösteren çeşitlerin SLM046 ve Okapi çeşitlerinin olduğu sonucuna varılmıştır.

Zeynali *et al.* (2010) *in vitro* ortamda, iki farklı kanola çeşidinden alınan hipokotil ve kotiledon eksplantlarını somatik embriyo gelişimini test etmek üzere yaptıkları çalışmada; NAA, 2,4-D ve BAP hormonlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar, Talayeh kanola çeşidinin, RGS003 kanola çeşidine göre daha fazla rejenerasyon kabiliyetine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Nazarbeygi *et al.* (2011) yaptıkları çalışmada 2 farklı kanola bitkisinin tohumlarını; 0, 75, 100 ve 150 mM tuz konsantrasyonlarında çimlenmeye bırakmışlar, çalışma sonucunda tuzluluğa toleransın çeşitlere göre farklılık gösterdiğini, Hyola 401 çeşidinin yaprak ve kök sayısında meydana gelen azalmanın, RGS çeşidine göre daha fazla olduğunu belirlemişlerdir.

Rai *et al.*(2011) son zamanlarda geliştirilen *in vitro* tekniklerle kısa sürede ve ucuz yöntemlerle bitkilerin tuzluluğa ve diğer stres faktörlerine dayanımlarının test edilebileceğini, bu amaçla kullanılan bazı bitkilerin; kanola, karnabahar, krizantem, portakal, limon, çilek, soya fasulyesi, ayçiçeği, arpa, tatlı patates, keten, domates, yonca, dut, tütün, çeltik, şeker kamışı, patates ve buğday olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, *in vitro* çalışmalar sonucunda tuzluluğa dayanıklı olan bitkilerle çalışmanın uzun dönemde faydalı olacağına, ancak elde edilen bitkilerin genetik olarak stabil olmalarının da önemli olduğuna vurgu yapmışlardır.

Kamrani *et al.* (2013) yaptıkları çalışmalarda 0, 75, 150, 200, 250, 300 ve 350 mM tuz konsantrasyonlarında kanola bitkisinin gelişim durumlarını gözlemlemişlerdir. Genel anlamda artan tuz konsantrasyonunun bitkinin gelişim durumunu ve bitki boyunu

etkilediğini, bitki kuru ağırlığı ve yaprak alanındaki azalışın çok belirgin olduğunu kaydetmişlerdir.

Tarinejad *et al.* (2013) dört farklı kanola çeşidinin farklı fizyolojik yaşlardaki hipokotil ekplantlarının mikro çoğaltımında değişik oksin ve sitokin konsantrasyonları ile oksin+sitokin kombinasyonlarını uzun gün şartlarında (16 h ışık ve 8 h karanlık) kültüre almışlardır. Çalışma sonucunda en yüksek rejenerasyon oranının 10 günlük fizyolojik yaştaki hipokotil ekplantlarından (%55) 0.1 mg L⁻¹ NAA içeren MS ortamından elde edildiği, bu ortamı 0.1 mg L⁻¹ NAA+ 0.5 mg L⁻¹ KIN içeren ortamının takip ettiği (%46.65) rapor edilmiştir.

Benincasa *et al.* (2013) bir adet tuzluluğa hassas, bir adet tuzluluğa tolerant kanola çeşidinin GA₃ ile muamele edilmiş tohumlarını tuzlu ve tuzsuz ortamlarda çimlenmeye tabi tutmuşlar, tuz stresinin her iki çeşidin tohumlarının çimlenme durumunu ve bitkicik gelişimini azalttığını gözlemlemişlerdir. Yüksek tuz konsantrasyonunda çimlendirilen tuzluluğa hassas çeşit, tuz stresi olmayan ortama alındığında; bitkicikler hemen kendini toparlamış ve gelişmeye devam etmişlerdir. Araştırmacılar; daha net sonuçlar elde edebilmek için laboratuvar ve sera çalışmalarının yanında tarla çalışmalarının da yapılmasının, daha doğru sonuçlar verebileceğini rapor etmişlerdir.

Camparelli *et al.* (2013) yoncada yaptıkları *in vitro* çalışmasında 0, 50, 100, 150, 200 mM tuz konsantrasyonları kullanmış, yapılan yaklaşım analizlerinde *in vitro* ortamda geliştirilen bitkilerin, 75 mM ortalama seviyesindeki tuz konsantrasyonuna kadar dayanıklı olduğu, bitki gelişiminde ve karakteristiklerinde önemli bir değişim olmadığı ve bu konsantrasyonun yonca bitkisinde tuzluluğa tolerant yönünden seleksiyonda kritik nokta olduğu sonucuna varılmıştır.

Abili and Zare (2014) yaptıkları çalışmada; Licord, Talayeh ve Zarfam kanola çeşitlerini; 0, 50, 100, 150 ve 200 mM tuz konsantrasyonlarında gelişmeye bırakmışlar, artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak, 3 kanola çeşidinde de antioksidatif enzimlerin ve prolin seviyesinin önemli derecede değiştiği ve tuzluluğun verimde azalmalara sebep olduğu görülmüştür.

Roy and Senupta (2014) üç farklı domates çeşidini yarı katı MS ortamında (0.5 x MS) iki ay süreyle tutmuşlar ve daha sonra bu bitkileri 6 saat gibi kısa bir süreyle 0 ve 200 mM tuz konsantrasyonunda hidroponik ortamda kültüre almışlardır. Çalışma sonucunda; çeşitlerin tuzluluğu toleranslarında farklılığın olduğu, bitkilerin tuz stresine ve oksidatif strese adapte olmak için fizyolojik ve antioksidant mekanizmaları geliştirerek hızlı bir şekilde ortama adapte olduğu görülmüştür.

Uyanık ve ark. (2014) dört kışlık kanola çeşidini (Ege 7571, Elvis, Es Hydromel ve Triangle), 8 farklı NaCl dozunda (0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 ve 200 mM) denemeye almışlar; çimlenme oranının %65.33 - %100 değiştiğini tespit etmişlerdir. Sürgün verme gün sayısını 3.75-8.71 gün, kök uzunluğunu 0.50-12.81 cm ve sürgün uzunluğunu 0.59-8.79 cm olarak kaydetmişlerdir. Çimlenme oranı göz önüne alındığında; çeşitlerin 125 mM NaCl dozuna kadar tuz stresine dayanabildiğini, bu seviyeden sonra çimlenme oranında önemli düşüşlerin yaşandığı görülmüş, diğer tüm özelliklerde ise 100 mM NaCl dozuna kadar çeşitlerin tolerans gösterdikleri, bu aşamadan sonra hızlı düşüşlerin görüldüğü belirtilmiştir. Çalışma sonucunda; incelenen tüm özelliklerde, Ege 7571 çeşidinin artan tuz oranlarından en az etkilenen çeşit olduğu, buna karşın, Elvis çeşidinin ise en fazla etkilenen çeşit olduğu rapor edilmiştir.

Gerszberg *et al.* (2015) *in vitro* ortamda 8 lahana (*Brassica oleracea* var. *Capitata*) çeşidinde yürüttükleri çalışmada, 2 farklı eksplant kaynağı (hipokotil ve kotiledon) kullanarak, kallus ve organogenesis oluşumlarını tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda; en yüksek kallus oluşumunun, hipokotil eksplantlarından olduğu, Amager çeşidinin, diğer çeşitlere göre sürgün ve tomurcuk sayıları (7.50 adet) bakımından, daha üst seviyede olduğu kaydedilmiş ayrıca, en yüksek sürgün rejenerasyonun (%88.80), 8.8 µM BAP + 0.53 µM NAA hormon kombinasyonunda ve en iyi köklenmenin ise 5.37 µM NAA ortamında gerçekleştiği görülmüştür.

Khalil *et al.* (2015) Mısır'a iyi adapte olmuş Pactol kanola çeşidinin hipokotil eksplantlarından etkili bir şekilde *in vitro*'da sürgün elde edilmesi için yürüttükleri çalışmada; hipokotilden direk sürgün gelişimi ortamında en iyi sürgün gelişiminin (%88.3) ve en yüksek yan dal sayısının (10.5 adet) 0.45 mg L⁻¹ TDZ + 3.0 mg L⁻¹ BA ve 0.1 mg L⁻¹ NAA içeren ortamdan elde edildiğini rapor etmişlerdir. İndirekt sürgün

gelişiminde ise, hipokotiller önce başlangıç ortamında tutulmuş, (10 gün boyunca 2,4-D ortam) daha sonra sürgün gelişimine bırakılmış ve en iyi sürgün gelişimi (%73.75) ve yan dal sayısı (7.38 adet) 0.15 mg L⁻¹ TDZ + 1.0 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ NAA ortamında elde edilmiştir.

Murshed *et al.* (2015) dokuz farklı patates bitkisinde yaptıkları *in vitro* çalışmada MS ortamına ilave edilen 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150 ve 200 mM NaCl konsantrasyonlarında; artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak bitki boyu ve sap kalınlığı, yaprak alanı, kök sayısı ve uzunluğu, bitki yaş ve kuru ağırlığında önemli azalışlar olduğunu belirlemişlerdir.

Zaman *et al.* (2015) sekiz patates çeşidinin MS ortamında ilave edilen 0, 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 mM NaCl konsantrasyonunun tolerans durumlarını test etmişler; en uzun bitkileri (6.5 cm), en fazla boğum sayısını (8.8 adet), en yüksek bitki yaş ağırlığını (166 mg), en fazla kök sayısını (4.6 adet) ve en uzun kökleri (2.5 cm) tuzluluğa çok toleranslı olan Krode çeşidinden 60 mM tuz konsantrasyonundan elde etmişlerdir.

Khalid *et al.* (2015), çay bitkisinin tuzluluğa dayanımını belirlemek amacıyla 0, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 ve 200 mM konsantrasyonlarında NaCl ilave edilmiş MS ortamında yetiştirilen bitkilerde farklı bitki büyüme parametreleri ile fizyolojik ve biyokimyasal özelliklere bakmışlardır. Kontrole göre; 200 mM NaCl ilave edilmiş ortamda çimlenme kapasitesi %30.60, ilk kotiledon oluşumu %17.30 ve ilk gerçek yaprak çimlenmesi %28.80 oranında azalmıştır. 200 mM tuz konsantrasyonundan daha düşük tuz seviyelerindeki düşüşün çok belirgin olmadığı; bu nedenle tuz, bitkinin tuzluluk stresine dayanımının belirlenmesinde daha detaylı tarla çalışmalarına ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Çalışmada Türkiye’de üretimi yapılan Elvis ve Californium kışlık kanola çeşitleri kullanılmıştır.

3.2. Metod

Tohumlar, kavanozlarda bulunan agar ortamına (MS ortamı) ilave edilerek çimlenmesi sağlanmış ve buradan elde edilen çimlenmiş tohumlardan; hipokotil, kotiledon ve sürgün ucu eksplantları alınmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kanola tohumlarının kavanozlarda ve saksılarda çimlendirilmeye bırakılması

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Alet, Ekipman ve Malzemelerin Sterilizasyonu:

Bitki eksplantlarının konulacağı cam tüpler ve besi ortamlarının hazırlanmasında kullanılan saf su 121°C’de 15 dakika tutulmak suretiyle sterilize edilmiştir. Petri kapları, bisturi, pens ve diğer malzemelerde alüminyum folyaya sarılarak 180-200°C’de 3 saat süreyle etüvde tutulmak suretiyle sterilize edilmişlerdir. Steril çalışma kabini (laminar kabin)’nin içi çalışmaya başlamadan önce %70’lik etil alkol ile silinmiş, çalışmadan 30 dakika önce steril kabin çalıştırılarak ortam sterilizasyonu sağlanmıştır.

3.2.2. Çalışmada Kullanılan Kanola Çeşitleri ve Bitkisel Materyalin Hazırlanması:

Kanola tohumları bir beher içerisinde yıkanıp temizlenmiş, daha sonra yine bir beher içerisinde seyreltik çamaşır suyu içerisinde tutularak makro ve mikro

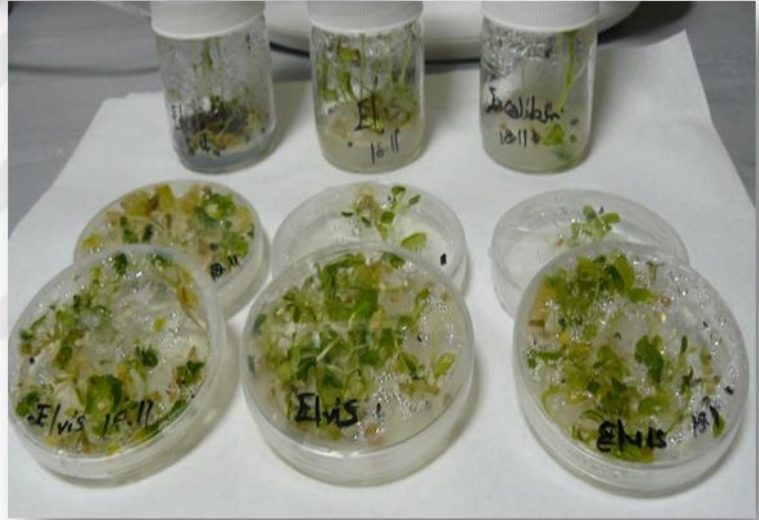
organizmalardan arındırılmıştır. Deterjanla muamele edilen tohumlar distile su deterjandan arındırılarak ve bir süre %70'lik etil alkol içerisinde tutularak mikroorganizmalardan arındırılmıştır. Alkolle muamele edilen tohumlar, ticari sodyum hipoklorit çözeltisi (%20'lik) içerisinde bir süre tutulduktan sonra distile su ile birkaç dakika 5-6 kez yıkanarak alkolden ve sodyum hipokloritten arındırılmıştır. Islak olan tohumlar kurutma kâğıtları üzerine bırakılarak, sularının iyice alınması sağlanmıştır.

3.2.3. Bitki Rejenerasyonu İçin Doku Kültürü Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu:

Murashige ve Skoog (1962) tarafından ortaya konulan MS ortamı için gerekli olan makro ve mikro elementler ile organik bileşiklerin stok çözeltileri hazırlanmış ve bunlardan gerekli miktarlar alınarak MS ortamı hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.2). Sürgün gelişim ortamları için %5 sukroz ilave edilerek iyice çözünmesi sağlanmış, ortamın pH'ı 5.6-5.8'e ayarlanarak steril çift distile su ile hacmi 1litreye tamamlanmıştır. pH ayarlandıktan sonra %8 agar ilave edilerek, çözelti kaynama noktasına yakın bir değere kadar ısıtılıp agarın ortamda tortu ve kalıntı bırakmayacak şekilde çözünmesi sağlanmıştır. Cam balon içerisinde bulunan besi ortamları otoklavda 121°C'da 15 dakika tutulduktan sonra hafifçe soğutulmuş, cam balon dışarıdan dokunulacak bir sıcaklığa düştüğünde (yaklaşık 40-50°C) ise tüplere aktarılmıştır (Şekil 3.2). Hormon ilavesinden sonra cam balonda bulunan besi yerleri donmadan, her bir kavanoza 20-25 ml besi ortamı konularak tüplerde katılaşımları beklenmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Tuz (NaCl) ve Konsantrasyonları

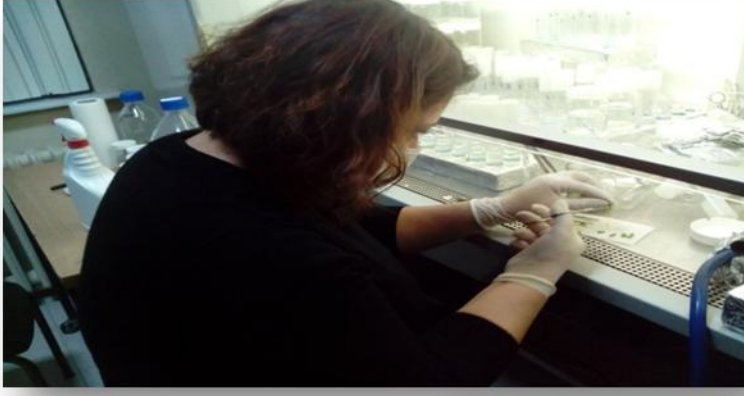
Ortamlar	NaCl konsantrasyonları (mM)
T0 (Kontrol)	0.0
T1	25
T2	50
T3	75
T4	100
T5	150



Şekil 3.2. Doku kültürü ortamlarının hazırlanması

3.2.4. Hazırlanan Eksplantların Besi Ortamlarına Aktarılması ve İnkübasyon:

Saksıda, petri kabında ve kavanozlarda bulunan MS ortamında çimlendirilmiş tohumlardan elde edilen hipokotil, kotiledon yaprakları ve sürgün ucu eksplantları steril kabin içerisine alınmış, daha önce etüvde steril edilmiş cam petri kapları içerisinde steril bir bisturi yardımıyla kesilip alınmış ve içerisinde besi ortamı olan tüplere aktarılmışlardır (Şekil 3.3). Her bir tüp içerisine 4 adet eksplant konulmuş ve bu tüpler, 16 saat aydınlık şartlarda $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de ve 8 saat karanlık $18 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de, 2000 lüks ışık yoğunluğundaki fotoperiyot şartlarına alınarak gerekli gözlemler kaydedilmiştir.



Şekil 3.3. Hazırlanan eksplantların besi ortamlarına aktarılması

3.2.5. Verilerin Elde Edilmesi:

Bitkiciklerin kültüre alınmasından 6 hafta sonra aşağıdaki gözlemler kaydedilmiştir.

1. İlk sürgün verme gün sayısı (gün): Büyütme kabinine alınan bitkicikler, 3 gün arayla kontrol edilmiş, ilk sürgün verme gün sayısı olarak kaydedilmiştir (Şekil 3.4).

2. Sürgün meydana getiren eksplant oranı (bitki canlı kalma oranı) (%): Ortamlarda canlı kalan bitkicikler oran olarak kaydedilmiştir (Şekil 3.5).

3. Sürgün uzunluğu (mm): Besi ortamındaki 6 hafta sonundaki sürgün uzunluğu ölçülerek, mm olarak belirlenmiştir (Şekil 3.6).

4. Yan dal sayısı (adet): Bitkilerin hasadı sırasında sürgün üzerinde bulunan yan dallar belirlenerek, adet olarak kaydedilmiştir.

5. Boğum sayısı (adet): Bitkilerin hasadı sırasında sürgün üzerinde bulunan boğumlar sayılarak adet olarak kaydedilmiştir.

6. Boğum aralığı (mm): Bitkilerin hasadı sırasında sürgün üzerinde bulunan boğumlar arası mesafe cetvel yardımıyla ölçülerek mm olarak belirlenmiştir.

7. Yaprak alanı (mm²): Bitkicikler üzerinde bulunan yaprakların 4 tanesi tesadüfi seçilmiş ve kumpas yardımıyla eni ve boyu ölçülerek, mm² olarak kaydedilmiştir.

8. Kök uzunluğu (mm): Sürgün üzerinde bulunan köklerden 10 tanesi tesadüfi seçilmiş, uzunlukları cetvelle ölçülmek suretiyle mm olarak kaydedilmiştir.

9. Kök sayısı (adet): Sürgün üzerinde bulunan kökler sayılarak bitki başına kök sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

10. Bitki yaş ağırlığı (mg): Hasat edilen tam bitki agardan arındırıldıktan sonra hassas terazi ile tartılarak, bitki başına tam bitki ağırlık mg olarak kaydedilmiştir.

11. Bitki kuru ağırlığı (mg): Bitkicikler agardan arındırılıp etüvde kurutulmuş, sonra hassas terazide, bitki başına bitki kuru ağırlık mg olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3.4. İlk sürgün verme gün sayılarının (gün) belirlenmesi



Şekil 3.5. Canlı kalma oranları (%)’nin belirlenmesi



Şekil 3.6. Sürgün uzunluğu (mm) ölçüm işlemi

3.2.6. Verilerin Değerlendirilmesi:

Araştırmamızın ana hatlarını teşkil eden uygulamalar aşağıda verilmiştir:

1. Çalışmada Elvis ve Californium kışlık kanola çeşitleri kullanılmıştır.
2. Hipokotil, kotiledon yaprakları ve sürgün ucu eksplantları değerlendirmeye alınmıştır.
3. Bitkiler bir tanesi tuzsuz (0 mM NaCl) kontrol ortamı ve 5 farklı tuz (NaCl) kombinasyonunda olmak üzere, toplam 6 farklı besi ortamında rejenere edilmişlerdir.
4. Çalışmada “Tesadüf Bloklarında Bölünen Bölünmüş Parseller Deneme Deseni”ne göre 2 çeşit, 3 farklı eksplant kaynağı ve 6 farklı ortam uygulanmış, ayrıca her uygulamadan 3 tekerrür yapılarak değerlendirilmiştir. 2 çeşit × 3 eksplant kaynağı × 6 tuz ortamı × 3 tekerrür olmak üzere çalışmada toplam 108 adet tüp değerlendirilmeye alınmış, gerekli gözlem ve bulgular bu 108 tüp üzerinde yapılmıştır (Şekil 3.7).
5. İncelenen özelliklere ait verilerin İstatistiksel Analizleri; Tesadüf Bloklarında Bölünen Bölünmüş Parseller Deneme Desenine göre TARİST İstatistik Programı’nda ve ortalamaların karşılaştırılması ise LSD çoklu karşılaştırma testi ile yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. İlk Sürgün Verme Gün Sayısı (gün)

Tuzlar ve eksplant x tuz interaksyonu arasındaki fark çok önemli ($p<0.01$) bulunmuş, ancak çeşit, eksplant, çeşit x eksplant, çeşit x tuz ve çeşit x eksplant x tuz interaksyonları önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.1.).

Çizelge 4.1. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Sürgün Verme Gün Sayısına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	3.37
Çeşit (a)	1	3.70
Hata-1	2	0.93
Eksplant (b)	2	5.34
Çeşit x Eksplant (axb)	2	4.23
Hata 2	8	2.72
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	154.10**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	4.55
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	109.90**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	4.28
Genel	47	
V.K. (%): 22.09		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Californium'da erken sürgün oluşumu başlamış (9.19 gün), bunu Elvis takip etmiştir (9.56 gün). Hipokotil erken sürgün vermeye başlamış (8.94 gün), bunu kotiledon (9.47 gün) ve sürgün ucu (9.70 gün) takip etmiştir. Erken sürgün oluşumu kontrol ortamında (6.22 gün) ve ilginç bir şekilde en yüksek konsantrasyon olan 150 mM'da (6.61 gün) elde edilmiş, en düşük konsantrasyonda (25 mM) ise 8.33 günden itibaren sürgün başlamıştır. İnteraksiyonda; en erken Elvis'in sürgün ucu kontrol ortamından elde edilmiş (4.00 gün), bunu Californium sürgün ucu, kontrol ortamı (5.00 gün) ve Elvis kotiledon, 150 mM ortamı (6.33 gün) takip etmiştir (Çizelge 4.2).

Bu çalışma; tuz uygulamasının kanolanın gelişimini önemli oranda azalttığını ve bu azalışın 200 mM tuz konsantrasyonunda %25'lere kadar çıktığını vurgulayan Bybordi *et al.* (2010) ile kışlık kanola çeşitlerinde ilk sürgün verme gün sayısını 3.75 gün ve çeşitlerin 100 mM NaCl dozuna kadar tuz stresine tolerans gösterdiklerini kaydeden Uyanık ve ark. (2014)'nin çalışmalarıyla benzerlik arz etmektedir.

Çizelge 4.2. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin İlk Sürgün Verme Gün Sayısı (Gün) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	6.33 c	7.33 d	10.33 ef	13.00 h	15.00 ı	0.00	8.67 a
	Sürgün Ucu	4.00 a	7.00 d	8.00 de	9.33 e	11.00 f	16.00 ij	9.33 b
	Kotiledon	7.33 d	9.67 e	10.00 ef	10.67 ef	14.00 hı	6.33 c	9.67 b
Californium	Hipokotil	6.67 cd	8.00 de	10.67 ef	14.00 hı	16.00 ij	0.00	9.22 b
	Sürgün Ucu	5.00 b	7.67 d	9.00 e	10.00 ef	12.00 g	17.33 j	10.17 c
	Kotiledon	8.00 de	10.33 ef	11.33 fg	11.33 fg	15.00 ı	0.00	9.28 b
Çeşit Ortalamaları	Elvis	5.89 ab	8.00 d	9.44 e	11.00 f	13.33 fg	7.44 c	9.56 b
	Californium	6.56 b	8.67 d	10.22 ef	11.78 f	14.33 fg	5.76 a	9.19 a
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	6.50 b	7.67 cd	10.50 de	13.50 ef	15.50 fg	0.00	8.94 a
	Sürgün Ucu	4.50 ab	7.33 c	8.50 d	9.67 d	11.50 e	16.67 g	9.70 c
	Kotiledon	7.67 cd	10.00 de	10.50 de	11.00 e	14.50 f	3.17 a	9.47 b
Genel Ortalama		6.22 a	8.33 b	9.33 c	11.39 d	13.83 e	6.61 a	9.37

4.2. Bitki Canlı Kalma Oranı (%)

Eksplantlar, tuzlar ve eksplant x tuz interaksyonu çok önemli ($p<0.01$) bulunmuş, ancak çeşitler, çeşit x eksplant, çeşit x tuz konsantrasyonları ve çeşit x eksplant x tuz interaksyonları önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur Çizelge 4.3r.

Çizelge 4.3. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Bitki Canlılık Oranlarına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	121.53
Çeşit (a)	1	1134.26
Hata-1	2	5.79
Eksplant (b)	2	5225.69**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	179.40
Hata 2	8	115.75
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	9902.78**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	175.93
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	2607.64**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	33.56 ^{ns}
Genel	47	
V.K. (%): 11.87		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Elvis %83.80 canlılık oranı vermiş, bunu Californium %74.31oranıyla takip etmiştir. Sürgün ucu eksplantı en fazla oranı (%94.44)vermiş, bunu hipokotil (%74.31) ve kotiledon (%72.92) izlemiştir. Tuz konsantrasyonlarında en yüksek oran kontrol ortamından elde edilmiş (%94.44), bunu 100 mM (%93.06) ve 25 mM (%90.28) konsantrasyonları takip etmiştir. İnteraksiyon incelendiğinde; hemen hemen bütün kontrol ortamlarında %100 canlılık oranı belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

Ali *et al.* (2007) çalışmalarında en iyi rejenere olabilen çeşidin Star olduğunu ve hipokotil ve kotiledon yapraklarından %96-98 oranında en iyi sürgün rejenerasyonunun gerçekleştiğini kaydetmişlerdir. Burbulis *et al.* (2009) ise en yüksek sürgün rejenerasyon oranınının Libea çeşidinin hipokotil ekplantlarında %85.11 olduğunu; Burbulis *et al.* (2010) ise hipokotil eksplantlarından rejenere olan bitkiciklerin canlılık oranlarının %0 ile %26.0, sap segmentleri eksplantlarının ise %38.7 ile %100 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.4. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Bitki Canlılık Oranı (%) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	91.67 b	100.00 a	75.00 d	83.33 c	100.00 a	0.00	75.00 cd
	Sürgün Ucu	91.67 b	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	100.00 a	98.61 a
	Kotiledon	100.00 a	75.00 d	75.00 d	100.00 a	100.00 a	16.67 e	77.78 c
Californium	Hipokotil	100.00 a	100.00 a	75.00 d	75.00 d	91.67 b	0.00	73.61 cd
	Sürgün Ucu	91.67 b	91.67 b	100.00 a	91.67 b	83.33 c	83.33 c	90.28 b
	Kotiledon	91.67 b	75.00 d	75.00 d	83.33 c	83.33 c	0.00	68.06 d
Çeşit Ortalamaları	Elvis	94.44 b	91.67 c	83.33 e	94.44 b	100.00 a	38.89 f	83.80 a
	Californium	94.44 b	88.89 d	83.33 e	83.33 e	86.11 de	27.78 g	74.31 a
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	95.83 b	100.00 a	75.00 e	79.17 de	85.83 d	0.00	74.31 b
	Sürgün Ucu	91.67 c	95.83 b	100.00 a	95.83 b	91.67 c	91.67 c	94.44 a
	Kotiledon	95.83 b	75.00 e	75.00 e	91.67 c	91.67 c	8.33 f	72.92 b
Genel Ortalama		94.44 a	90.28 a	83.33 b	88.89 ab	93.06 a	33.33 c	80.56

4.3. Sürgün Uzunluğu (mm)

Varyans analiz sonuçlarına göre; eksplant, tuz ve eksplant x tuz interaksyonu arasındaki fark çok önemli ($p<0.01$) bulunmuş, buna karşın çeşit, çeşit x eksplant, çeşit x tuz ve çeşit x eksplant x tuz interaksyonları önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.5.)

Çizelge 4.5. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Sürgün Uzunluğuna Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	5.08
Çeşit (a)	1	50.70
Hata-1	2	0.40
Eksplant (b)	2	4330.08**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	1.51
Hata 2	8	1.48
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	2804.18**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	0.99
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	1895.59**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	2.00
Genel	47	
V.K. (%): 8.77		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Elvis'in ortalama sürgün uzunluğu 23.74 mm ölçülmüş, bunu Californium 22.37 mm ile takip etmiştir. Sürgün ucu 31.11 mm ile en uzun sürgünleri vermiş, bunu 24.69 mm ile kotiledon ve 11.36 mm ile hipokotil izlemiştir. İnteraksiyon incelendiğinde Elvis kotiledonu, 71.67 mm ile kontrolde en uzun sürgünleri verirken, bunu 69.00 mm ile Californium kotiledonu, kontrol ortamında ve Elvis ve Californium sürgün ucu eksplantları 58.67 mm ile 25 mM ortamı takip etmiştir (Çizelge 4.6).

Rasim *et al.* (2004) NaCl ortamlarında en uzun ve en kalın saplı biticikleri DGL ve Dunkeld çeşitlerinden, Burbulis *et al.* (2009) en iyi sonuçların, Valesca çeşidinin hipokotil ekplantlarından elde edildiğini saptamışlardır. Elde edilen sonuçlar; artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak bitki büyümesinin ve boyunun olumsuz etkilendiğini belirten Kamrani *et al.* (2013) ve sürgün uzunluğunun 0.59-8.79 cm arasında değiştiğini kaydetmişlerdir. Uyanık ve ark. (2014) 'nın çalışmalarıyla benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.6. Farklı Eksplant Kaynakların ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Sürgün Uzunluğu (mm) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	28.33 e	15.00 ef	14.33 ef	7.00 g	6.00 h	0.00	11.89 e
	Sürgün Ucu	10.33 ef	58.67 c	54.00 cd	38.00 d	22.67 e	18.67 ef	33.72 a
	Kotiledon	71.67 a	28.33 e	27.67 e	13.67 ef	9.67 f	2.67 ı	25.61 c
Californium	Hipokotil	27.67 e	14.00 ef	13.00 ef	5.67 hı	4.67 hı	0.00	10.83 f
	Sürgün Ucu	10.33 ef	58.67 c	54.00 cd	34.00 de	20.67 e	17.33 ef	32.50 b
	Kotiledon	69.00 b	26.67 e	26.33 e	12.67 ef	8.00 fg	0.00	23.78 d
Çeşit Ortalamaları	Elvis	37.00 a	34.00 c	32.00 d	19.56 e	12.78 f	07.11 g	23.74 a
	Californium	35.67 b	33.11 cd	31.11 de	17.44 ef	11.11 fg	5.78 h	22.37 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	28.33 e	14.50 fg	13.67 g	6.33 ı	5.33 ij	0.00	11.36 c
	Sürgün Ucu	10.33 h	58.67 b	54.00 c	36.00 d	21.67 ef	18.00 f	33.11 a
	Kotiledon	70.33 a	27.50 ef	27.50 ef	13.17 g	8.83 hı	1.33 j	24.69 b
Genel Ortalama		36.33 a	33.56 b	31.56 c	18.50 d	11.94 e	6.44 f	23.06

4.4. Yan Dal Sayısı (adet)

Çeşit, eksplantlar ve tuz konsantrasyonları arasındaki farkın çok önemli ($p<0.01$) olduğu, interaksiyonların önemsiz ($p>0.05$) olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Yan Dal Sayısına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	0.23
Çeşit (a)	1	13.37**
Hata-1	2	0.84
Eksplant (b)	2	26.23**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	0.34
Hata 2	8	0.65
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	17.97**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	0.35
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	1.49
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	0.22
Genel	47	
V.K. (%): 30.17		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

En fazla yan dal sayısı Elvis’de (2.72 adet) görülmüş, bunu Californium (2.02 adet) ile takip etmiştir. Sürgün ucu (3.28 adet) ilk sırada yer alırken, bunu kotiledon (2.25 adet) ve hipokotil (1.58 adet) takip etmiştir. En yüksek dal sayısı, 50 mM ortamında (3.61 adet) görülmüş, bunu 25 mM (3.22 adet) takip etmiştir. İnteraksiyonu ele aldığımızda, en fazla sayı Elvis sürgün ucundan 25 mM içeren ortamdan (5.00 adet) elde edilmiş, yine Elvis çeşidinin kotiledon (4.67 adet) ve sürgün ucu (4.33 adet) eksplantları 50 mM ortamı ile ikinci ve üçüncü sıraları takip etmiştir (Çizelge 4.8).

Chamandoosti (2007) kanola bitkisinin hipokotil eksplantlarından en fazla yan dal sayısını, 1.0 mg L⁻¹ IBA + 1.0 mg L⁻¹ BA içeren ortamdan ve en fazla sürgün sayısını (3.03 adet) 68.37 mM tuz içeren ortamdan elde edildiğini rapor etmişlerdir. Ghnaya *et al.* (2008) Jumbo ve Drakkar kanola çeşitlerinin, Pactol ve Cossair çeşitlerine göre rejenerasyon oranlarının daha yüksek olduklarını, Jumbo çeşidinin hipokotil eksplantlarının 0.3 mg L⁻¹ NAA + 3.0 mg L⁻¹ BAP ortamında en yüksek sürgün rejenerasyonu (%46.7) ve sürgün sayısı (7.50 adet) verdiğini rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.8. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Yan Dal Sayısı (adet) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	1.33 f	2.33 e	3.33 d	1.67 f	2.33 e	0.00	1.83 c
	Sürgün Ucu	3.33 d	5.00 a	4.33 c	3.33 d	3.67 d	2.67 e	3.72 a
	Kotiledon	2.00 ef	4.00 cd	4.67 b	2.67 e	2.00 ef	0.33 g	2.61 b
Californium	Hipokotil	1.00 fg	1.67 f	2.00 ef	1.33 f	2.00 ef	0.00	1.33 d
	Sürgün Ucu	2.33 e	4.00 cd	3.67 d	2.33 e	3.00 de	1.67 f	2.83 b
	Kotiledon	1.67 f	2.33 e	3.67 d	2.33 e	1.33 f	0.00	1.89 c
Çeşit Ortalamaları	Elvis	2.22 de	3.78 b	4.11 a	2.56 d	2.67 cd	1.00 f	2.72 a
	Californium	1.67 ef	2.67 cd	3.11 c	2.00 e	2.11 de	0.56 fg	2.02 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	1.17 ef	2.00 e	2.67 de	1.50 ef	2.17 de	0.00	1.58 c
	Sürgün Ucu	2.83 d	4.50 a	4.00 c	2.83 d	3.33 cd	2.17 de	3.28 a
	Kotiledon	1.83 ef	3.17 cd	4.17 b	2.50 de	1.67 ef	0.17 f	2.25 b
Genel Ortalama		1.94 b	3.22 a	3.61 a	2.28 b	2.39 b	0.78 c	2.37

4.5. Boğum Sayısı (adet)

Çeşitler, eksplantlar ve tuz konsantrasyonları arasındaki fark çok önemli ($p < 0.01$) olmasına karşın, ikili ve üçlü interaksiyonlar önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Boğum Sayısına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	0.29
Çeşit (a)	1	14.08**
Hata-1	2	0.53
Eksplant (b)	2	31.84**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	0.36
Hata 2	8	0.53
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	26.10**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	0.31
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	2.25
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	0.22
Genel	47	
V.K. (%): 22.38		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

En yüksek boğum sayısının Elvis çeşidinden (3.63 adet) elde edilmiş, bunu Californium çeşidi (2.91 adet) takip etmiştir. Eksplantlardan sürgün ucu 4.28 adet ile ilk sırada yer alırken, bunu kotiledon 3.11 adet ve hipokotil 2.42 adet ile izlemektedir. Tuz konsantrasyonlarından; en fazla boğum sayısı 50 mM'dan elde edilmiş (4.61 adet), bunu 25 mM takip etmiştir (4.22 adet). İnteraksiyona bakıldığında, en fazla Elvis sürgün ucu 25 mM konsantrasyonu (6.00 adet) vermiş ve bunu Elvis çeşidinin kotiledon (5.67 adet) ve sürgün ucu (5.33 adet) eksplantları 50 mM ile takip etmiştir (Çizelge 4.10). Burbulis *et al.* (2008) kışlık kanola çeşitlerinin hipokotil kaynaklı kallusten geliştirilen bitkiciklerin, daha yüksek boğum sayısı (0-3.8 adet) verdiği ve en iyi sonuçların 4.0 mg L⁻¹ BAP + 0.05 mg L⁻¹ NAA içeren ortamdan elde edildiğini bildirmişlerdir. Akasaka-Kennedy *et al.* (2005) kanola yaprak eksplantlarının MS +AgNO₃ ilave edilmiş besi ortamında iyi bir rejenerasyon gösterdiğini ve sürgün oluşum oranının %0-%100 arasında değiştiğini ve eksplant başına 7.5 adet boğum oluştuğunu rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.10. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Boğum Sayısı (adet) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	2.33 fg	3.33 ef	4.33 de	2.67 fg	3.33 ef	0.00	2.67 c
	Sürgün Ucu	4.33 de	6.00 a	5.33 c	4.33 de	4.67 de	3.67 ef	4.72 a
	Kotiledon	3.00 f	5.00 d	5.67 b	3.67 ef	3.00 f	0.67 h	3.50 b
Californium	Hipokotil	2.00 g	2.67 fg	3.00 f	2.33 fg	3.00 f	0.00	2.17 d
	Sürgün Ucu	3.33 ef	5.00 d	4.67 de	3.33 ef	4.00 e	2.67 fg	3.83 b
	Kotiledon	2.67 fg	3.33 ef	4.67 de	3.33 ef	2.33 fg	0.00	2.72 c
Çeşit Ortalamaları	Elvis	3.22 c	4.78 b	5.11 a	3.56 c	3.67 c	1.44 e	3.63 a
	Californium	2.67 de	3.67 c	4.11 b	3.00 d	3.11 c	0.89 f	2.91 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	2.17 d	3.00 cd	3.67 c	2.50 d	3.17 c	0.00	2.42 c
	Sürgün Ucu	3.83 c	5.50 a	5.00 b	3.83 c	4.33 bc	3.17 c	4.28 a
	Kotiledon	2.83 d	4.17 bc	5.17 a	3.50 c	2.67 d	0.33 e	3.11 b
Genel Ortalama		2.94 b	4.22 a	4.61 a	3.28 b	3.39 b	1.17 c	3.27

4.6. Boğum Aralığı (mm)

Eksplant, tuz konsantrasyonları ve eksplant x tuz konsantrasyonları interaksiyon parametrelerinde istatistiki olarak çok önemli ($P < 0.01$) bulunmuş, ancak çeşit, çeşit x eksplant, çeşit x tuz konsantrasyonları ve çeşit x eksplant x tuz konsantrasyonları interaksiyonları önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.11. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Boğum Aralığına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	14.86
Çeşit (a)	1	13.31
Hata-1	2	2.84
Eksplant (b)	2	126.44**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	2.13
Hata 2	8	2.79
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	324.07**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	2.16
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	208.21**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	0.65
Genel	47	
V.K. (%): 41.11		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Çeşitler incelendiğinde, en geniş boğum aralığının Californium çeşidinde olduğu (6.99 mm), bunu Elvis çeşidinin (6.29 mm) takip ettiği görülmüştür. Eksplantlardan; kotiledon (7.83 mm), sürgün ucu (7.61 mm) ve hipokotil (4.48 mm) sırası takip etmiştir. Çok sayıda boğum ve dar boğum aralığı mikro çoğaltım için önemli bir avantaj teşkil ettiğinden, hipokotil eksplantlarının hızlı çoğaltımda daha çok ön plana çıktığı görülmektedir. Tuz konsantrasyonlarından; kontrol (14.28 mm) ilk sırada yer alırken, bunu 25 mM (7.65 mm) ve 50 mM (6.77 mm) takip etmiştir. Üçlü interaksiyon incelendiğinde; Californium çeşidinin kotiledon eksplantı, kontrol ortamında en geniş boğum aralığı (26.89 mm) vermiş, bunu Elvis çeşidinin kotiledon eksplantı, kontrol ortamı (26.53 mm) ve Californium çeşidinin hipokotil eksplantı, kontrol ortamı (13.83 mm) izlemiştir (Çizelge 4.12). Kanola *in vitro* çalışmalarında, boğum aralığı ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığından, kaynaklarla kıyaslama yapılamamıştır.

Çizelge 4.12. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Boğum Aralığı (mm) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	12.83 cd	4.58 g	3.33 gh	2.72 h	2.08 h	0.00	4.26 f
	Sürgün Ucu	2.42 h	9.95 e	10.21 de	8.88 ef	4.93 g	5.47 fg	6.98 d
	Kotiledon	26.53 b	5.80 fg	4.89 g	3.75 gh	3.44 gh	1.33 ı	7.62 c
Californium	Hipokotil	13.83 c	5.39 fg	4.75 g	2.56 h	1.64 ı	0.00	4.70 e
	Sürgün Ucu	3.17 gh	12.09 cd	11.72 d	10.36 de	5.38 fg	6.72 f	8.24 a
	Kotiledon	26.89 a	8.11 ef	5.72 fg	3.86 gh	3.61 gh	0.00	8.03 b
Çeşit Ortalamaları	Elvis	13.93 b	6.78 de	6.14 de	5.12 e	3.49 ef	2.27 f	6.29 b
	Californium	14.63 a	8.53 c	7.40 d	5.60 e	3.54 ef	2.24 f	6.99 a
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	13.33 b	4.99 ef	4.04 ef	2.64 g	1.87 gh	0.00	4.48 b
	Sürgün Ucu	2.80 g	11.08 c	10.97 cd	9.62 d	5.16 e	6.10 de	7.61 a
	Kotiledon	26.71 a	6.96 de	5.30 e	3.81 f	3.53 f	0.67 h	7.83 a
Genel Ortalama		14.28 a	7.65 b	6.77 bc	5.36 c	3.52 d	2.25 d	6.64

4.7. Yaprak Alanı (mm²)

Eksplantlar, tuzlar ve eksplant x tuz konsantrasyonları interaksyonları istatistiki olarak çok önemli bulunmuş (P<0.01), ancak çeşit, çeşit x eksplant, çeşit x tuz ve çeşit x eksplant x tuz interaksyonları önemsiz (p>0.05) bulunmuştur (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Yaprak Alanına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	5.34
Çeşit (a)	1	348.49
Hata-1	2	10.68
Eksplant (b)	2	2599.15**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	0.48
Hata 2	8	15.93
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	6589.26**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	16.06
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	3062.46**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	16.46
Genel	47	
V.K. (%): 11.41		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

En geniş yaprakların Elvis'de (47.93 mm²) olduğu, bunu Californium'un (44.33 mm²) takip ettiği görülmektedir. Eksplantlardan 51.50 mm² ile sürgün ucunun öne çıktığı ve bunu 50.56 mm² ile kotiledon ve 36.33 mm² ile hipokotilin izlediği tespit edilmiştir. Tuz konsantrasyonlarından; 50 mM (68.22 mm²) ilk sırada yer alırken, bunu 75 mM (56.89 mm²) ve 25 mM (54.33 mm²) takip etmiştir. İnteraksyonlardan; Elvis kotiledonu kontrol ortamında (91.33 mm²) en geniş yaprakları vermiş, bunu sırasıyla Elvis sürgün ucu, 75 mM (90.00 mm²) ve Californium sürgün ucu, yine 75 mM tuz ortamında (85.33 mm²) ölçülerek kayıt altına alınmıştır (Çizelge 4.14).

Elde edilen bu sonuçlar kanola çeşitlerinin tuzluluğa toleransının çeşitlere göre farklılık gösterdiğini belirten Nazarbeygi *et al.* (2011) ve artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak bitkinin büyümesi ve yaprak alanında azalmaların belirgin olduğu, Kamrani *et al.* (2013)'un çalışmalarıyla da benzerlik göstermiştir.

Çizelge 4.14. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Yaprak Alanı (mm²) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	14.00 h	50.00 ef	83.33 cd	41.67 f	40.00 fg	0.00	38.17 c
	Sürgün Ucu	27.33 g	50.00 ef	60.00 de	90.00 b	56.00 e	37.00 fg	53.39 a
	Kotiledon	91.33 a	70.00 d	70.67 d	42.67 f	35.33 fg	3.33 j	52.22 a
Californium	Hipokotil	11.33 ı	46.67 f	72.67 d	39.67 fg	36.67 fg	0.00	34.50 c
	Sürgün Ucu	25.67 g	44.67 f	54.67 e	85.33 c	52.67 e	34.67 fg	49.61 b
	Kotiledon	81.33 cd	64.67 de	68.00 de	42.00 f	37.33 fg	0.00	48.89 b
Çeşit Ortalamaları	Elvis	44.22 d	56.67 c	71.33 a	58.11 c	43.78 d	13.44 f	47.93 a
	Californium	39.44 e	52.00 c	65.11 b	55.67 c	42.22 d	11.56 g	44.33 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	12.67 h	48.33 e	78.00 b	40.67 e	38.33 f	0.00	36.33 b
	Sürgün Ucu	26.50 g	47.33 e	57.33 d	87.67 a	54.33 d	35.83 f	51.50 a
	Kotiledon	86.33 a	67.33 c	69.33 c	42.33 e	36.33 f	1.67 ı	50.56 a
Genel Ortalama		41.83 c	54.33 b	68.22 a	56.89 b	43.00 c	12.50 d	46.13

4.8. Kök Sayısı (adet)

Çizelge 4.15’de görüldüğü gibi; farklı tuz ortamlarının çeşit, eksplant ve tuz konsantrasyonlarına etkisi, istatistiksel olarak çok önemli ($P < 0.01$) olmasına karşın, ikili ve üçlü interaksyonlar arasındaki fark önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.15. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Kök Sayısına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	4.48*
Çeşit (a)	1	17.93**
Hata-1	2	0.70
Eksplant (b)	2	14.56**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	1.40
Hata 2	8	0.25
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	39.35**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	0.61
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	0.10
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	0.19
Genel	47	
V.K. (%): 25.14		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Çeşitlerden; Elvis (3.20 adet), Californium ise (2.39 adet)’dan daha fazla kök sayısı vermiştir. Eksplantlardan; kotiledon (3.31 adet), sürgün ucu (3.00 adet) ve hipokotil (2.08 adet) sıralaması dikkat çekmektedir. Tuz konsantrasyonlarında; en yüksek kök sayısı, 50 mM’da görülmüş (5.0 adet), bunu 25 mM (3.61 adet) ve 75 mM (2.89 adet) takip etmiştir. İnteraksiyonlarda en fazla kök sayısını; Elvis kotiledonu 50 mM’da (6.67 adet) vermiş, bunu Elvis sürgün ucu 50 mM (5.67 adet) ve yine Elvis kotiledon 25 mM (5.33 adet) takip etmiştir (Çizelge 4.16).

Chamandoosti (2007) kanolada kök oluşumu için en uygun ortamın 1.0 mg L^{-1} NAA + 0.5 mg L^{-1} KIN olduğunu ve en yüksek kök sayısının (7.21 adet) 102.56 mM NaCl’den elde ettiklerini belirtmişlerdir. Nazarbeygi *et al.* (2011) tuzluluğa toleransın kanola çeşitlerine göre farklılık gösterdiğini; Hyola 401 çeşidinin, kök sayısında meydana gelen azalmanın, RGS çeşidine göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Çizelge 4.16. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Kök Sayısı (adet) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	1.67 fg	3.00 e	4.67 cd	2.67 ef	1.67 fg	0.00	2.28 c
	Sürgün Ucu	3.33 de	4.00 d	5.67 b	3.00 e	3.33 de	1.33 fg	3.44 a
	Kotiledon	3.00 e	5.33 c	6.67 a	4.33 cd	3.33 de	0.67 g	3.89 a
Californium	Hipokotil	1.33 fg	2.67 ef	4.00 d	2.00 f	1.33 fg	0.00	1.89 d
	Sürgün Ucu	2.33 ef	3.00 e	4.33 cd	2.33 ef	2.00 f	1.33 fg	2.56 b
	Kotiledon	2.33 ef	3.67 de	4.67 cd	3.00 e	2.67 ef	0.00	2.72 b
Çeşit Ortalamaları	Elvis	2.67 d	4.11 b	5.67 a	3.33 c	2.78 d	0.67 f	3.20 a
	Californium	2.00 e	3.11 c	4.33 b	2.44 d	2.00 e	0.44 f	2.39 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	1.50 e	2.83 de	4.33 c	2.33 de	1.50 e	0.00	2.08 c
	Sürgün Ucu	2.83 de	3.50 cd	5.00 b	2.67 de	2.67 de	1.33 f	3.00 b
	Kotiledon	2.67 de	4.50 c	5.67 a	3.67 cd	3.00 d	0.33 g	3.31 a
Genel Ortalama		2.33 d	3.61 b	5.00 a	2.89 c	2.39 d	0.56 e	2.80

4.9. Kök Uzunluğu (mm)

Çeşitler, eksplantlar ve tuz konsantrasyonları ile ikili ve üçlü interaksyonlar arasındaki fark çok önemli ($p<0.01$) bulunmuş, ancak, çeşit x eksplant interaksyonu farkları önemsiz ($p>0.05$) bulunmuştur (Çizelge 4.17.)

Çizelge 4.17. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Kök Uzunluğuna Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	25.45
Çeşit (a)	1	264.45**
Hata-1	2	21.68
Eksplant (b)	2	1035.84**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	35.29
Hata 2	8	15.18
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	9632.76**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	103.12**
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	3445.62**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	49.75**
Genel	47	
V.K. (%): 14.56		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Elvis'ten en uzun kökler, (25.96 mm) elde edilmiş, bunu Californium (22.83 mm) takip etmiştir. Sürgün ucu (29.50 mm) ilk sırada yer alırken, bunu hipokotil (24.89 mm) ve kotiledon (18.81mm) takip etmiştir. Tuz konsantrasyonlarında; en uzun kökler, kontrol ortamından elde edilmiş (69.22 mm), bunu 50 mM (23.78 mm) takip etmiştir. İnteraksiyon incelendiğinde; Elvis hipokotili kontrol ortamında (136.67 mm) en uzun kökleri vermiş, bunu Californium hipokotil kontrol ortamı (110.00 mm) ve yine Elvis sürgün ucu kontrol ortamı (46.67 mm) takip etmiştir (Çizelge 4.18).

Uyanık ve ark. (2014) kanolada kök uzunluğunun 0.50-12.81 cm arasında değiştiğini, Ege 7571 çeşidinin, Elvis çeşidinden tuzluluktan daha az etkilendiğini saptamışlardır. Murshed *et al.* (2015) tuzluluğa maruz bırakılan patatesin, artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak, kök uzunluğunda önemli azalışlar gösterdiğini rapor etmişlerdir. Zaman *et al.* (2015) patates bitkisinden en uzun kökleri (2.5 cm), tuzluluğa çok toleranslı olan Krode çeşidinden, 60 mM tuz konsantrasyonundan elde etmişlerdir.

Çizelge 4.18. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Kök Uzunluğu (mm) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	136.67 a	11.67 g	9.33 h	4.67 h ₁	3.00 ₁	0.00	27.56 c
	Sürgün Ucu	46.67 c	25.33 ef	38.33 d	34.33 de	36.00e	4.00 h ₁	30.78 a
	Kotiledon	43.67 cd	22.67 fg	25.33 ef	11.67 g	10.00 gh	4.00 h ₁	19.56 e
Californium	Hipokotil	110.00 b	10.33 gh	7.33 h	3.33 ₁	2.33 j	0.00	22.22 d
	Sürgün Ucu	34.67 de	22.00 fg	38.33 d	34.33 de	36.00 e	4.00 h ₁	28.22 b
	Kotiledon	43.67 cd	22.67 fg	24.00 f	10.00 gh	8.00 h ₁	0.00	18.06 e
Çeşit Ortalamaları	Elvis	75.67 a	19.89 d	24.33 c	16.89 e	16.33 e	2.67 f	25.96 a
	Californium	62.78 b	17.33 de	23.22 cd	15.89 ef	15.44 ef	1.33 g	22.83 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	123.33 a	11.00 h	8.33 ij	4.00 j	2.67 k	0.00	24.89 b
	Sürgün Ucu	40.67 c	23.67 fg	38.33 d	34.33 ef	36.00 e	4.00 j	29.50 a
	Kotiledon	43.67 b	22.67 g	24.67 f	10.83 h ₁	9.00 ₁	2.00 l	18.81 c
Genel Ortalama		69.22 a	19.11 c	23.78 b	16.39 d	15.89 d	2.00 e	24.40

4.10. Bitki Yaş Ağırlığı (mg)

Çeşit x tuz interaksyonu önemsiz ($p>0.05$); buna karşın incelenen diğer tüm karakterler ve interaksyonları çok önemli ($p<0.01$) bulunmuştur (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Bitki Yaş Ağırlığına (mg) Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	1633.33
Çeşit (a)	1	57408.33**
Hata-1	2	1544.44
Eksplant (b)	2	75219.44**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	20425.00**
Hata 2	8	3211.11
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	146759.44**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	10595.00*
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	18223.89**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	11605.00**
Genel	47	
V.K. (%): 8.13		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Elvis en yüksek yaş ağırlık (220.56 mg) vermiş, bunu Californium (174.44 mg) takip etmiştir. Sürgün ucu (242.50 mg) ilk sırada yer alırken, bunu kotiledon (198.89 mg) ve hipokotil (151.11 mg) takip etmiştir. Tuz konsantrasyonlarında en fazla bitki yaş ağırlığının, 50 mM ortamından elde edildiği (331.11 mg), bunu 25 mM ortamının (252.22 mg) takip ettiği görülmektedir. İnteraksiyonda; Elvis sürgün ucu 50 mM tuz içeren ortamda en fazla bitki yaş ağırlığı verdiği (456.67 mg), bunu yine aynı çeşit ve eksplantın kontrol ortamı (450.00 mg) ile Californium sürgün ucu 50 mM konsantrasyonunun (353.33 mg) takip ettiği görülmüştür. (Çizelge 4.20).

Ochatt *et al.*(1999) *in vitro* ortamdaki patates bitkiciklerinde 90 mM NaCl ortamında en yüksek yaş bitki ağırlığının gözlemlendiğini, 120 mM NaCl üzerindeki konsantrasyonlarda ise bitkicik yaş ağırlıklarının azaldığını tespit etmişlerdir.. Rasim *et al.* (2003) tuzluluğa tolerant olan Dunkeld kanola çeşidinin, tuzluluğa hassas olan Cyclon çeşidine göre, daha fazla sürgün yaş ağırlığını verdiğini belirlemişlerdir.

Çizelge 4.20. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Bitki Yaş Ağırlığı (mg) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	130.00 g	266.67 cd	320.00 bc	110.00 gh	103.33 h ₁	0.00	155.00 e
	Sürgün Ucu	450.00 ab	270.00 cd	456.67 a	160.00 ef	263.33 cd	153.33 h	292.22 a
	Kotiledon	153.33 ef	250.00 d	300.00 c	273.33 cd	243.33 de	66.67 j	214.44 b
Californium	Hipokotil	116.67 gh	240.00 de	310.00 bc	113.33 gh	103.33 h ₁	0.00	147.22 f
	Sürgün Ucu	56.67 ij	250.00 d	353.33 b	143.00 f	216.67 e	140.00 fg	192.78 c
	Kotiledon	140.00 fg	236.67 de	246.67 de	263.33 cd	213.63 e	0.00	183.33 d
Çeşit Ortalamaları	Elvis	244.44 c	262.22 b	356.89 a	181.11 de	203.33 d	73.33 f	220.56 a
	Californium	104.44 e	242.22 cd	30.333 g	172.22 de	177.76 de	46.67 h	174.44 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	123.33 h	253.33 de	315.00 b	111.67 h ₁	103.33 ₁	0.00	151.11 c
	Sürgün Ucu	253.33 de	260.00 d	405.00 a	150.00 g	240.00 ef	146.67 gh	242.50 a
	Kotiledon	146.67 gh	243.33 e	273.33 c	268.33 cd	228.63 f	33.33 j	198.89 b
Genel Ortalama		174.44 c	252.22 b	331.11 a	176.67 c	190.56 c	60.00 d	197.50

4.11. Bitki Kuru Ağırlığı (mg)

Çeşit x tuz konsantrasyonları interaksyonu önemsiz bulunmasına karşın ($p>0.05$); çeşitler, eksplantlar, tuz konsantrasyonları ile diğer ikili ve üçlü interaksyonlar arasındaki fark çok önemli ($p<0.01$) bulunmuştur (Çizelge 4.21).

Çizelge 4.21. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Konsantrasyonlarında Kanola Çeşitlerinin Bitki Kuru Ağırlığına Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	S. D.	Kareler Ortalaması
Tekerrür	2	12.58
Çeşit (a)	1	422.22**
Hata-1	2	15.73
Eksplant (b)	2	824.19**
Çeşit x Eksplant (axb)	2	190.65**
Hata 2	8	29.94
Tuz Konsantrasyonları (c)	5	1241.53**
Çeşit x Tuz Konsantrasyonları (axc)	5	83.89*
Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (bxc)	10	174.23**
Çeşit x Eksplant x Tuz Konsantrasyonları (axbxc)	10	85.00**
Genel	47	
V.K. (%): 21.07		

** : %1 seviyesinde önemli, * : %5 seviyesinde önemli.

Elvis 20.79 mg ile ilk sırada yer alırken, bunu Californium 16.84 mg ile izlemiştir. Sürgün ucu (23.40 mg) ilk sırada yer alırken, bunu kotiledon (19.21 mg) ve hipokotil (13.85 mg) eksplantları takip etmiştir. Tuz konsantrasyonlarından; en yüksek kuru ağırlık 50 mM'dan (31.35 mg) elde edilmiş, bunu 25 mM (22.96 mg) izlemiştir. İnteraksiyonlardan; en fazla kuru ağırlık Elvis sürgün ucundan 50 mM'dan (43.74 mg) alınmış, bunu aynı çeşit ve eksplantın kontrolü (39.40 mg) takip etmiştir (Çizelge 4.22).

Rasim *et al.* (2003) tuzluluğa tolerant olan Dunkeld kanola çeşidinin, tuzluluğa hassas olan Cyclon çeşidine göre, daha yüksek sürgün kuru ağırlıkları verdiğini tespit etmişlerdir. Kamrani *et al.* (2013) artan tuz konsantrasyonunun mikro çoğaltımdaki kanola bitkisinin büyümesini ve bitki kuru ağırlığını çok belirgin bir şekilde azalttığını rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.22. Farklı Eksplant Kaynakları ve Tuz Ortamlarında Kanola Çeşitlerinin Bitki Kuru Ağırlığı (mg) Ortalama Değerleri

Çeşitler	Eksplantlar	TUZ KONSANTRASYONLARI (mM)						
		Kontrol	25	50	75	100	150	Ortalama
Elvis	Hipokotil	11.36 g	22.91 de	29.12 cd	10.38 gh	10.17 gh	0.00	13.99 e
	Sürgün Ucu	39.40 b	25.35 d	43.74 a	15.99 e	26.92 d	16.32 e	27.95 a
	Kotiledon	13.76 f	22.76 de	28.40 cd	26.82 d	24.25 d	6.67 h	20.44 b
Californium	Hipokotil	10.25 gh	21.87 e	28.71 cd	10.99 gh	10.44 gh	0.00	13.71 f
	Sürgün Ucu	4.97 ı	22.73 de	34.25 c	13.85 f	22.32 de	14.91 ef	18.83 c
	Kotiledon	12.49 fg	22.17 de	23.89 de	26.59 d	22.69 de	0.00	17.92 d
Çeşit Ortalamaları	Elvis	21.51 d	23.67 c	33.76 a	17.73 de	20.45 d	7.66 f	20.79 a
	Californium	9.24 e	22.26 cd	28.95 b	17.15 de	18.48 de	4.97 g	16.84 b
Eksplant Ortalamaları	Hipokotil	10.83 c	22.39 b	28.92 ab	10.69 c	10.31 c	0.00	13.85 c
	Sürgün Ucu	22.19 b	20.04	38.99 a	14.92 bc	24.62 b	15.61 bc	23.40 a
	Kotiledon	13.12 bc	22.46 b	26.15 ab	26.71 ab	23.47 b	3.33 d	19.21 b
Genel Ortalama		15.37 d	22.96 b	31.35 a	17.44 cd	19.46 c	6.32 e	18.82

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Kanola doku kültürü ortamlarında meristem, sürgün ucu, sap ince hücre tabakası, sap kesimi, kotiledon, hipokotil, yaprak diskleri, kökler ve boğumlardan hızlı çoğaltım yapılabildiğinden ve direkt eksplanttan rejenerasyon neticesinde kanola bitkisinin genetik yapısında herhangi bir değişiklik oluşmadığı için çalışmamızda direk rejenerasyon uygulanmıştır.

Bu araştırma, Elvis ve Californium kanola (*Brassica napus* L.) çeşitlerinin sürgün ucu, hipokotil ve kotiledon eksplantlarını kullanarak 6 farklı tuz kombinasyonu (T0: 0.0 mM NaCl kontrol; T1: 25 mM NaCl; T2: 50 mM NaCl; T3: 75 mM NaCl; T4: 100 mM NaCl; T5: 150 mM NaCl) Tesadüf Bloklarında Bölünen Bölünmüş Parseller Deneme Deseni”ne göre 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Varyans analizinde kullanılan değişkenlerin önemlilik derecelerinin belirlenmesinde çeşitler > eksplantlar > tuz kombinasyonları şeklinde bir gruplandırma yapılmıştır.

Çalışma sonucunda sürgün oluşum gün sayısının 4.00 – 17.33 gün, bitki canlı kalma oranının %16.67 – %100, sürgün uzunluğunun 2.67 – 71.67 mm, yan dal sayısının 0.33 – 5.00 adet, boğum sayısının 2.00 – 6.00 adet, boğum aralığının 1.33 – 26.89 mm, yaprak alanının 3.33 – 91.33 mm², kök sayısının 0.67 – 6.67 adet, kök uzunluğunun 2.33 – 136.67 mm, bitki yaş ağırlığının 56.67 – 456.67 mg ve bitki kuru ağırlığının 4.97 – 43.74 mg arasında değiştiği görülmektedir.

Çeşitler bazında incelendiğinde Elvis çeşidinin bitki canlı kalma oranı (%83.80), sürgün uzunluğu (23.74 mm), yan dal sayısı (2.72 adet), boğum sayısı (3.63 adet), yaprak alanı (47.93mm²), kök sayısı (3.20 adet), kök uzunluğu (25.96 mm), bitki yaş (220.56 mg) ve bitki kuru (20.79 mg) ağırlıkları yönünden Californium çeşidine göre daha yüksek değerler verdiği görülmüştür. Buna karşın, Californium çeşidi ise ilk sürgün oluşum gün sayısı (9.19 gün) ve boğum aralığı (6.99 mm), yönünden daha ön planda olduğu saptanmıştır. Elvis çeşidinin çalışılan bütün bitkisel karakteristikler yönünden ön planda olduğu görülmüş ve daha sonra yapılacak doku kültürü çalışmalarında, bu çeşidin farklı özelliklerinin *in vitro* olarak test edilmesinde fayda bulunmaktadır.

Eksplantlar kontrol edildiğinde sürgün ucu eksplantının bitki canlı kalma oranı (%94.44), sürgün uzunluğu (31.13 mm), yan dal sayısı (3.28 adet), boğum sayısı (4.28 adet), yaprak alanı (51.50mm²), kök uzunluğu (29.50 mm), bitki yaş ağırlığı (242.50 mg) ve bitki kuru ağırlığı (23.40 mg) yönünden daha iyi sonuçlar verdiği dikkat çekmektedir. Buna karşın hipokotil ve kotiledon eksplantlarından elde edilen sonuçların daha düşük değerler verdiği, ancak kotiledon eksplantlarının hipokotillere göre daha iyi rejenerasyon yeteneği gösterdiği gözlemlenmiştir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda daha iyi rejenerasyon yeteneğinden dolayı sürgün ucu eksplantlarının kullanılmasının daha uygun olduğu, ikinci seçenek olarak da kotiledon eksplantlarının kullanılabileceği önerilmelidir.

Ortamlardan ise en iyi sürgün rejenerasyonunun 50 mM NaCl içeren tuz kombinasyon ortamında elde edilirken, bu ortamı; kontrol ortamı ve 25 mM NaCl içeren tuz ortamı takip etmektedir. Tuz konsantrasyonu arttıkça, incelenen bütün bitkisel özellikler üzerindeki etkisinin önemli olduğu ve bitki gelişim ve büyümesini azalttığını ve bu azalışın 150 mM NaCl tuz konsantrasyonunda %25'lere kadar çıktığı belirlenmiştir.

Genel değerlendirme yapıldığında; Elvis çeşidinin, sürgün ucu ve kotiledon eksplantlarının; kontrol, 25 mM ve 50 mM NaCl tuz içeren ortamlarda, etkin bir şekilde rejenerasyon olabildiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlar; tuz içeren ortamlarda geliştirilen değişik kanola hatlarının seçiminde, somaklonal varyasyonun iyi bir seleksiyon kriteri olabileceği ve daha net sonuçlar elde edebilmek için, laboratuvar koşulları yanında sera ve tarla çalışmalarının da yapılmasının, daha doğru sonuçlar verebileceği önerilmelidir.

KAYNAKLAR

- Abili, J. and Zare, S., 2014. Evaluation of antioxidant enzymes activity in canola under salt stress. **International Journal of Farming and Allied Sciences**, 3 (7): 767–771.
- Akasaka-Kennedy, Y., Yoshida, H. and Takahata, Y., 2005. Efficient plant regeneration from leaves of rapeseed (*Brassica napus* L.): the influence of AgNO₃ and genotype. **Plant Cell Reports**, 24: 649–654.
- Ali, H., Ali, Z., Ali, H., Mehmood, S. and Ali, W., 2007. *In vitro* regeneration of *Brassica napus* L. Cultivars (Star, Cyclone and Westar) from hypocotyls and cotyledonary leaves. **Pakistan Journal of Botany**, 39 (4): 1251–1256.
- Anonim, 2015. Bitkisel ve Hayvansal Üretim İstatistikleri. [http:// www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr)
- Anonymous, 2014. **FAO Statistical Yearbook**.
- Benincasa, P., Pace, R., Quinet, M. and Lutts, S., 2013. Effect of salinity and priming on seedling growth in rapeseed (*Brassica Napus* var. *oleifera* Del.). **Acta Scientiarum**, 35 (4): 479–486.
- Burbulis, N., Kupriene, R. and Blinstrubiene, A., 2008. Callus induction and plant regeneration from somatic tissue in spring rapeseed (*Brassica napus* L.). **Biologija**, 54 (4): 258–263.
- Burbulis, N., Blinstrubiene, A., Kupriene, R., Jonytiene, V., Rugienius, R. and Staniene, G., 2009. *In vitro* regeneration of *Brassica napus* L. shoots from hypocotyls and stem segments. **Zemdirbyste-Agriculture**, 96 (3): 176–185.
- Burbulis, N., Blinstrubiene, A. and Kupriene, R., 2010. Genotypic and growth regulator effects on shoot regeneration from hypocotyl and stem segment explants of spring rapeseed (*Brassica napus* L.). **Journal of Food, Agriculture and Environment**, 8(2): 634–637.
- Bybordi, A., 2010. Effects of salinity on yield and component characters in canola (*Brassica napus* L.) cultivars. **Notule Scientia Biologicae**, 2 (1): 81–83.
- Bybordi, A., Tabatabaei, S. J. and Ahmedov, A., 2010. Effects of salinity on fatty acid composition of canola (*Brassica napus* L.). **Journal of Food, Agriculture & Environment**, 8 (1):113–115.

- Camparelli, A., Ruta, C., Morone-Fortunato, I. and De Mastro, G., 2013. Alfalfa (*Medicago sativa* L.) clones tolerant to salt stress: *in vitro* selection. **Central European Journal of Biology**, 8 (8): 765–776.
- Chamandoosti, F., 2007. Effect of sodium chloride on establishment of callus and organogenesis in *Brassica napus* L. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 10 (21): 3880–3884.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J. K., 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. **Crop Science**, 45: 437–448.
- Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K. and Kowalczyk, T., 2015. *In vitro* regeneration of eight cultivars of *Brassica oleracea* var. *capitata*. **In Vitro Cell & Development Biology- Plant**, 51 (1): 80–87.
- Ghnaya, A. B., Charles, G. and Branchard, M., 2007. Rapid shoot regeneration from thin cell layer explants excised from petioles and hypocotyls in four cultivars of *Brassica napus* L. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, 92: 25–30.
- İlkdoğan, U., 2008. Dünya ve Avrupa Birliği'nde yağlı tohum ticaretinde gelişmeler-Türkiye bağlamında değerlendirme. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı, Dış İlişkiler ve Koordinasyon Dairesi Başkanlığı, **AB Uzmanlık Tezi**, s: 1–137.
- Kaya, M. D., Kaya, G. ve Kolsarıcı, Ö., 2005. Bazı *Brassica* türlerinin çimlenme ve çıkışı üzerine NaCl konsantrasyonlarının etkileri. **Tarım Bilimleri Dergisi**, 4: 448–452.
- Khalid, H., Kumari, M., Grover, A. and Nasim, M., 2015. Salinity stress tolerance of *Camelina* investigated *in vitro*. **Scientia Agriculturae Bohemica**, 46 (4): 137–144.
- Khalil, S. R. M., Hussein, B. A., Hussein, E. H. A. and Tawfik, M. S., 2015. Establishment of effective regeneration system in Egyptian-adapted canola var. *Pactol*. **Journal of Biotech Research**, 6: 35–42.
- Khan, M. R., Rashid, H. and Quraishi, A., 2002. Effects of various growth regulators on callus formation and regeneration in *Brassica napus* Cv. Oscar. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 5 (6): 693–695.
- Khrais, T., Leclerc, Y. and Donnelly, D. J., 1998. Relative salinity tolerance of potato cultivars assessed by *in vitro* screening. **American Journal of Potato Research**, 75: 207–210.

- Kamrani, M. H., Hosseinniya, H. and Chegeni, A. R., 2013. Effect of salinity on the growth characteristics of canola (*Brassica napus* L.). **Technical Journal of Engineering and Applied Sciences**, 3 (18): 2327–2333.
- Köycü, Y., 2006. Kanola bitkisine çeşitli stres uygulamaları sonucunda olan değişikliklerin embriyo kültürü ile saptanması. **Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Basılmamış Yüksek Lisans Tezi**.
- Murshed, R., Najla, S., Albiski, F., Kassem, I., Jbour, M. and Al- Said, H., 2015. Using growth parameters for *in vitro* screening potato varieties tolerant to salt stress. **Journal of Agricultural Science and Technology**, 17: 483–494.
- Nazarbeygi, E., Yazdi, H. L., Naseri, R. and Soleimani, R., 2011. The effects of different levels of salinity on proline and a-, b-chlorophylls in canola. **American- Euroasian Journal of Agriculture & Environmental Science**, 10 (1): 70–74.
- Ochatt, S. J., Marconi, P. L., Radice, S., Arnozis P. A. and Caso, O. H., 1999. *In vitro* recurrent selection of potato: Production and characterization of salt-tolerant cell lines and plants. **Plant Cell, Tissue Organ Culture**, 55: 1–8.
- Öztürk, Ö. ve Akınerdem, F., 2004. Yağ açığının kapatılmasında alternatif bir yağ bitkisi, Kanola. **Türkiye 1. Yağlı Tohumlar, Bitkisel Yağlar ve Teknolojileri Sempozyumu**, s: 132–139.
- Rahman, M. H., İslam, R., Hossain, M. and Haider, S. A., 2008. Differential response of potato under sodium chloride stress conditions *in vitro*. **Journal of Biological Sciences**, 16: 79–83.
- Rai, M. K., Kalia, R. K., Singh, R., Gangola, M. P. and Dhawan, A. K., 2011. Developing stress tolerant plants through *in vitro* selection– An overview of the recent progress. **Environmental and Experimental Botany**, 71: 89–98.
- Rasim , M., Ashraf, M., Ashraf, M. Y., Rehman, S. U. and Rha, E. S., 2003 Salt-induced changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. **Biologia Plantarum** 46 (4): 629–632.
- Rasim, M., Ashraf, M., Ahmad, R. and Nazli, S., 2004. Some growth related characteristics in canola (*Brassica napus* L.) under salinity stress. **International of Agriculture and Biology**, 6 (4): 665–668.

- Roy, C. and Sengupta, D. N., 2014. Effect of short term NaCl stress on cultivars of *S.lycopersicum*: A comparative biochemical approach. **Journal of Stress Physiology & Biochemistry**, 10 (1): 59–81.
- Tal, M., 1994. *In vitro* selection for salt tolerance and practical considerations. **In Vitro Cell. Dev. Biol.**, 30: 175–180.
- Tarinejad, A. R., Nezami, P., Mohammadi, D. and Jafari, M., 2013. Response to tissue culture in four canola cultivars through hypocotyl explants. **World Applied Sciences Journal**, 24 (1): 76–83.
- Ulfat, M., Athar, H. R., Ashraf, M., Akram, N. A. and Jamil, A., 2007. Appraisal of physiological and biochemical selection criteria for evaluation of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). **Pakistan Journal of Botany**, 39 (5): 1593–1608.
- Uyanık, M., Kara, Ş. M. ve Korkmaz, K., 2014. Bazı kışlık kanola (*Brassica napus* L.) çeşitlerinin çimlenme döneminde tuz stresine tepkilerinin belirlenmesi. **Tarım Bilgileri Dergisi**, 20: 368–375.
- Vijayan, K., Chakraborti, S. P. and Ghosh, P. D., 2003. *In vitro* screening of mulberry (*Morus* spp.) for salinity tolerance. **Plant Cell Reports**, 22:350–357.
- Wang, W., Vinocur, B. and Altman, A., 2003. Plant response to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. **Planta**, 218: 1–14.
- Zaman, M. S., Ali, G. M., Muhammed, A., Farooq, K. and Hussain, I., 2015. *In vitro* screening of salt tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. **Sarhad Journal of Agriculture**, 31 (2): 106–113.
- Zeynali, M., Zanjani, B. M., Amiri, M.E., Noruzian, M. and Aghajari, S., 2010. Influence of genotype and plant growth regulator on somatic embryogenesis in rapeseed (*Brassica napus* L.). **African Journal of Biotechnology**, 9(26): 4050–4055.
- Zhang, Y. and Bhalla, P. L., 1999. Shoot regeneration potential from seedling explants of Australian cultivars of oil seed rape (*Brassica napus* L.). **10th International Rapeseed Congress**, Canberra, Australia.

ÖZGEÇMİŞ

Iğdır İlinde; 1971 yılında, Merkezde doğdu. İlk, orta öğrenimini Iğdır'da, lise öğrenimini ise Ankara'da tamamladı. 1988 yılında, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde lisans eğitimine başladı ve 1992 yılında mezun oldu. 2007 yılından beri Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığının taşra teşkilatında Ziraat Mühendisi olarak, Iğdır İl Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğünde görev yapmaktadır. 2012 yılında Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalında, Yüksek Lisans eğitimine başladı. Evli ve iki çocuk annesidir.