

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ÇELTİK (*Oryza sativa* L.)'TE SOMATİK DOKULARDAN
KALLUS OLUŞUMU VE BİTKİ ELDE ETME OLANAKLARI
ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Selma KURT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÇELTİK (*Oryza sativa* L.)'TE SOMATİK DOKULARDAN
KALLUS OLUŞUMU VE BİTKİ ELDE ETME OLANAKLARI
ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Selma KURT

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

SAMSUN
2016

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Selma KURT tarafından hazırlanan ‘**Çeltik (*Oryza sativa* L.)’te Somatik Dokulardan Kallus Oluşumu ve Bitki Elde Etme Olanakları Üzerinde Bir Araştırma**’ adlı tez çalışması 02/12/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı’nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman

Doç. Dr. İsmail SEZER
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri

Başkan

Doç. Dr. İsmail SEZER
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Üye

Yrd. Doç. Dr. Fatih ÖNER
Ordu Üniversitesi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Üye

Yrd. Doç. Dr. Yılmaz KAYA
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım./12./ 2016

Prof. Dr. Bahtiyar ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

02/12/ 2016

Selma KURT

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ÇELTİK (*Oryza sativa* L.)’TE SOMATİK DOKULARDAN KALLUS OLUŞUMU VE BİTKİ ELDE ETME OLANAKLARI ÜZERİNDE BİR ARAŞTIRMA

Selma KURT

Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İsmail SEZER

Çeltik somatik dokulardan bitki elde etme olanaklarının belirlenmesi amacıyla yürütülen bu araştırma; Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümünde yürütülmüştür. Araştırmada; Osmancık-97, Mis-2013 ve Edirne çeltik çeşitleri, I. boğum ve I. boğumarası eksplantları ve besi ortamı olarak fide yetiştirme, sürgün oluşumu ve köklendirme ortamlarının farklı kombinasyonları kullanılmıştır.

Araştırma sonucu; besi ortamına ekilen eksplantlardan %18,0 oranında sürgün ve %9,9 oranında bitki oluşumu elde edilmiştir. En fazla sürgün ve bitki sayısı, sırasıyla; çeşit olarak %22,8 ile Mis -2013 ve %12,2 ile Edirne çeltik çeşidinden, besi ortamı olarak %34,4 ve %20,0 ile LS besi ortamından, eksplant kaynağı olarak %24,2 ve %15,0 ile I. Boğum eksplantından, çeşit x besi ortamı olarak %43,8 ile Mis-2013 çeşidinin LS besi ortamında ve %26,3 ile Mis-2013 ve Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin LS besi ortamında, çeşit x eksplant kaynağı olarak %29,4 ve %21,3 ile Edirne çeşidinin I. boğum eksplantından, besi ortamı x eksplant kaynağı olarak %58,3 ve %37,5 ile LS besi ortamında I. boğum eksplantından, çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı olarak %70,0 ve %52,5 ile LS besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiştir.

İlave olarak, araştırma sonucu elde edilen bitkilerde; salkım uzunluğu, salkım başına tane sayısı, salkım başına tane ağırlığı, 1000 tane ağırlığı, sterilite oranı ve çimlenme oranına ilişkin bulguların ebeveynleri ile benzerlik taşıdıkları tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; Araştırmada kullanılan çeşit, besi ortamı ve eksplant kaynakları dikkate alındığında somatik dokulardan sürgün ve bitki oluşumu bakımından Edirne çeltik çeşidinin LS besi ortamındaki I. boğum eksplantının kullanılabileceğine karar verilmiştir.

Aralık 2016, 102 sayfa

Anahtar kelime: Çeltik, Sürgün ve bitki oluşumu, Eksplant kaynağı, Somatik doku.

ABSTRACT

Master's Thesis

A RESEARCH ON THE POSSIBILITIES OF OBTAINING CALLUS FORMATION AND PLANT REGENERATION VIA SOMATIC TISSUES IN RICE (*Oryza sativa* L.)

Selma KURT

Ondokuz Mayıs University
Graduate School of Sciences
Department of Field Crops

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İsmail SEZER

The aim of this research is to establish the possibilities of plant regeneration via somatic tissues in rice. Research was conducted at the Department of Field Crops of Faculty of Agriculture, University of Ondokuz Mayıs. In this study, Osmancık-97, Mis-2013 and Edirne varieties, the first node and the first internode and different media compositions of seedling, shooting and rooting were used.

The results of this research; planted explants to-medium, 18.0% of shoot induction and 9.9% of plant regeneration was obtained. The maximum number of shoots and plant were obtained, respectively, with 22.8% in Mis-2013 and with 12.2% in Edirne rice variety, with 32.4% and 20.0% in LS medium, with 24.2% and 15.0% in the first node explant source, with 43.8% in Mis-2013 in LS medium and with 26.3% in Mis-2013 and Osmancık-97 rice varieties in LS medium, with 29.4% and 21.3% in the first node of Edirne rice variety, with 58.3% and 37.5% in the first node in LS medium, with 70.0% and 52.5% in the first node of Edirne rice variety in LS culture medium.

Additionally, in the resulting plants; panicle length, number of grains per panicle, grain weight per panicle, 1000-grain weight, germination rate and the data on the sterility rates were found to have similarities with their parents.

Finally, in terms of this experiment results for shoot induction and plant regeneration from somatic tissue, the first node of Edirne rice variety in LS culture medium was decided that the most appropriate.

Aralık 2016, 102 pages

Key words: Rice, Shooting and plant regeneration, Explant source, Somatic tissue.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Akademik eğitim sürecimin bir üst noktası olan yüksek lisans tez çalışmalarım boyunca yardım ve desteğini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. İsmail SEZER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmamdaki katkı ve desteklerinden dolayı, emeği geçen tüm Tarla Bitkileri Bölümü, doktora ve yüksek lisans öğrencilerine de teşekkür ederim.

Beni yetiştiren, benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili anneme ve babama çok teşekkür ederim.

Çalışmamın başından sonuna kadar yanımda olan, beni destekleyen sevgili yavrularım; Yasin Alparslan ve Mevlüde Bilge'ye çok teşekkür ederim

Sonuç olarak çeyrek asırdır maddi, manevi desteği ile beni hep teşvik eden sevgili eşime çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, PYO. ZRT. 1904. 15. 024 nolu Bilimsel Araştırma Projesi olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Aralık 2016, Samsun

Selma KURT

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Bitkisel Biyoteknoloji ile İlgili Genel Bilgiler	5
2.2. Çeltikte Biyoteknolojik Uygulamalarda Yaşanan Zorluklara ilişkin genel Bilgiler	6
2.3. Sterilizasyon İle İlgili Genel Bilgiler	8
2.4. Eksplant Kaynakları İle İlgili Genel Bilgiler	11
2.4.1. Tohum, scutellum ve mezokotil eksplantları ile ilgili genel bilgiler .	12
2.4.2. Koleoptil eksplantı ile ilgili genel bilgiler	13
2.4.3. Olgun embriyo eksplantı ile ilgili genel bilgiler	13
2.4.4. Yaprak eksplantı ile ilgili genel bilgiler	14
2.4.5. Kök eksplantı ile ilgili genel bilgiler	15
2.4.6. Başakçık, karyopsis, tohum, kökçük, anter ve koleoptil ile ilgili genel bilgiler	15
2.4.7. Anter, genç başak, genç embriyo ve olgun embriyo ile ilgili genel bilgiler	16
2.4.8. Kök, koleoptil, boğum, boğumarası ve yaprak ile ilgili genel bilgiler	16
2.5. Besi Ortamı ile İlgili Genel Bilgiler	17
2.6. Kültür Şartları İle İlgili Genel Bilgiler	23
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Materyal	25
3.1.1. Bitki materyali	25
3.1.2. Toprak materyali	27
3.1.3. Besi ortamı	27
3.1.3.1. Stok çözeltiler	28
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Besi ortamı karışımının hazırlanması	31
3.2.1.1. Fide ortamı	31
3.2.1.2. Kallus ve sürgün ortamı	32
3.2.1.3. Köklendirme ortamı	33
3.2.1.4. pH ayarı	33
3.2.1.5. Besi ortamı sterilizasyonu	34
3.2.1.6. Besi ortamı dökülecek kapların sterilizasyonu	34
3.2.1.7. Besi ortamının petri veya magenta kaplarına dökülmesi	34
3.2.2. Besi ortamına ekim	35
3.2.2.1. Ön hazırlık	35

3.2.2.2. Tohum sterilizasyonu	36
3.2.2.3. Tohumların besi ortamına ekimi	37
3.2.3. Eksplantların alınması	37
3.2.4. Oluşan sürgünlerin köklendirme ortamına alınması	40
3.2.5. Köklenmesini tamamlayan bitkilerin dış ortama aktarılması ve bakım.....	40
3.2.6. Elde edilen tohumların çimlenme testine alınması	41
3.2.7. Verilerin elde edilmesi	41
3.2.7.1. <i>In vitro</i> gözlem ve ölçümlerin elde edilmesi	41
3.2.7.2. <i>In vivo</i> gözlem ve ölçümler	43
3.2.7.3. Tarımsal karakterler	44
3.2.7.4. Hasat ve harman	45
3.2.7.5. Değerlendirme	45
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	47
4.1. Sürgün Sayısı	47
4.1.1. Toplam sürgün sayısı	47
4.1.2. Çeşit başına sürgün sayısı	50
4.1.3. Besi ortamı başına sürgün sayısı	51
4.1.4. Eksplant başına sürgün sayısı	52
4.1.5. Explant kaynağı başına sürgün sayısı	54
4.1.5.1. I. boğum eksplantı başına sürgün sayısı	54
4.1.5.2. I. boğumarası eksplantı başına sürgün sayısı	55
4.1.6. Çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre sürgün sayısı	56
4.1.7. Çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı	58
4.1.8. Besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı	59
4.1.9. Çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı	61
4.2. Bitki Sayısı	64
4.2.1. Toplam bitki sayısı	64
4.2.2. Çeşit başına bitki sayısı	67
4.2.3. Besi ortamı başına bitki sayısı	68
4.2.4. Eksplant başına bitki sayısı	69
4.2.5. Explant kaynağı başına bitki sayısı	70
4.2.5.1. I. boğum eksplantı başına bitki sayısı	70
4.2.5.2. I. boğumarası eksplantı başına bitki sayısı	71
4.2.6. Çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre bitki sayısı	73
4.2.7. Çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı	74
4.2.8. Besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı ..	75
4.2.9. Çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı	77
4.3. Tarımsal Karakterler	84
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR.....	93
ÖZGEÇMİŞ	103

SİMGELER VE KISALTMALAR

SİMGELER

B5	Gamborg Besi Ortamı
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Kalsiyum klorür
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Kalsiyum Amonyum Nitrat Tetrahidrat
$^{\circ}\text{C}$	Santigrat derece
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Kobalt klorür
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Bakır sülfat
$\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Demir klorür
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Demir Sülfat
HCl	Hidroklorik Asit
HgCl_2	Cıva Klorid
H_3BO_3	Borik Asit
KI	Potasyum İyodür
KCl	Potasyum Klorür
KNO_3	Potasyum Nitrat
LS	Linsmaier ve Skoog Besi Ortamı
$\text{MgSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Magnezyum Sülfat
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Manganez Sülfat
MS	Murashige ve Skoog Besi Ortamı
N6	Chu Besi Ortamı
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
NaOH	Sodyum Hidroksit
NaNO_3	Sodyum Nitrat.
NaNO_4	Sodyum Amonyak
NaH_2PO_4	Sodium Dihydrogen Phosphate
NH_4NO_3	Ammonium Nitrate
$\text{NH}_4 \text{Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Amonyum Klorür
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Sodium Molybdate dihydrate
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Ammonium Sulfate hexahydrate
Na2-EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid Disodium
NN	Nitsch ve Nitsch Besi Ortamı
SH	Schenk ve Hildebrandt Besi Ortamı
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Çinko Sülfat
WH	White Besi Ortamı

KISALTMALAR

BA	Benzil adenin
BAP	6-benzil amino pürin
cm	Santimetre
g	Gram
ha	Hektar
IAA	Indol-3 asetik asit
IBA	Indol-3-bütirik asit
kg	Kilogram
KIN	Kinetin
l	Litre
ml	Mililitre
NAA	Naftalen asetik asit
TDZ	Thidiazuron
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
2,4-D	2,4 Diklorofenoksi Asetik Asit
µM	Mikron

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1	Araştırmada kullanılan çeşitlere ait tohumların genel görünüşleri.....	26
Şekil 3.2.	Araştırmada yapılan işlemlerin iş akış şeması	38
Şekil.3.2.	Araştırmada yapılan işlemlerin iş akış şeması (devam)	39
Şekil 4.1.	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının dağılımı	49
Şekil 4.2..	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeltik çeşitlerine göre dağılımı	51
Şekil 4.3.	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının besi ortamlarına göre dağılımı	52
Şekil 4.4.	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının eksplant kaynaklarına göre dağılımı	53
Şekil 4.5.	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının I. boğum eksplant kaynağına göre dağılımı	55
Şekil 4.6.	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının I. boğumarası eksplant kaynağına göre dağılımı	56
Şekil 4.7.	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre dağılımı	58
Şekil 4.8.	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeşit x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı	59
Şekil 4.9	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı	60
Şekil 4.10	Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı	63
Şekil 4.11	Oluşan toplam bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının dağılımı	66
Şekil 4.12.	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeltik çeşitlerine göre dağılımı	68
Şekil 4.13.	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının besi ortamlarına göre dağılımı	69
Şekil 4.14.	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının eksplant kaynaklarına göre dağılımı	70
Şekil 4.15	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum . oranlarının I. boğum eksplant kaynağına göre dağılımı	71
Şekil 4.16	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının I. boğumarası eksplant kaynağına göre dağılımı	72

Şekil 4.17	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre dağılımı	74
Şekil 4.18.	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeşit x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı	75
Şekil 4.19.	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı	76
Şekil 4.20	Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı	78



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1.	Denemede kullanılan çeltik çeşitlerinin bazı özellikleri	25
Çizelge 3. 2.	Araştırmada kullanılan besi ortamları ve ihtiva ettikleri kimyasal maddelere ilişkin veriler	28
Çizelge 3. 3.	Makro stok çözeltisinde yer alan kimyasal maddeler ve miktarları	29
Çizelge 3. 4.	Mikro stok çözeltisinde yer alan kimyasal maddeler ve miktarları	29
Çizelge 3. 5.	Demir stok çözeltisinde yer alan kimyasal maddeler ve miktarları	30
Çizelge 4. 1.	Kallus oluşum ortamında oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarına ilişkin veriler	48
Çizelge 4. 2.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oluşum oranlarına ilişkin veriler	50
Çizelge 4. 3.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler.....	52
Çizelge 4. 4.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler	53
Çizelge 4. 5.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler	54
Çizelge 4. 6.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler	56
Çizelge 4. 7.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler	57
Çizelge 4. 8.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler	59
Çizelge 4. 9.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler	60
Çizelge 4. 10.	Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler	62
Çizelge 4. 11.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	65
Çizelge 4. 12.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	67
Çizelge 4. 13.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	69

Çizelge 4. 14.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	70
Çizelge 4. 15.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	71
Çizelge 4. 16.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	72
Çizelge 4. 17.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	73
Çizelge 4. 18.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	75
Çizelge 4. 19.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	76
Çizelge 4. 20.	Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler	78
Çizelge 4. 21.	Besi ortamı, eksplant kaynağı ve çeltik çeşitleri kombinasyonuna göre bazı tarımsal karakterlere ilişkin veriler.	86

1. GİRİŞ

Dünyadaki yaklaşık 1.5 milyar hektar tarım alanının 2014 yılı itibari ile 163 milyon hektar alanında çeltik tarımı yapılmaktadır. Dünyadaki çeltik ekim alanlarının çok büyük kısmı Asya kıtasında yer almaktadır. 2014 yılı verilerine göre; Çin yaklaşık 31 milyon ha, Hindistan 43 milyon ha, Endonezya 14 milyon ha, Bangladeş 12 milyon ha, Tayland 11 milyon ha ile Dünya üzerinde en fazla çeltik ekim alanına sahip olan Asya ülkeleridir. Sadece, Hindistan, Çin ve Endonezya Dünya çeltik ekim alanında %50'den daha fazla paya sahiptir. Çeltik, Dünya tahıl ekiliş alanlarının yaklaşık %23'ünü, üretiminin ise % 26'lık kısmını kaplamaktadır (Anonymous, 2016a).

Dünyada insan ve hayvan beslenmesinde ihtiyaç duyulan besinin %80'i tahıllardan karşılanmaktadır (Sezer vd, 2012). Tahıllar içerisinde; karbonhidrat içeriği bakımından yulaf en fakir (%66), çeltik en zengin (%80), protein içeriği bakımından çeltik en fakir (%7), yulaf en zengin (%13.3) ve yağ içeriği bakımından yulaf en zengin (%8) çeltik en fakir (%0.5) olanıdır (Baydar, 2002).

Yapısında düşük miktarda protein içermesine rağmen beslenme açısından önemli olan amino asitler bakımından zengin olması sebebiyle buğday ve mısırdan sonra en fazla ekilen ve Dünya nüfusunun yarısından fazlasının beslenmesinde ilk sırayı alan çeltik, özellikle uzakdoğu ülkelerinde yaşayan milyarlarca insanın temel besin maddelerinden birini oluşturmakta (Gül, 2003; Taşlıgil & Şahin, 2011) ve toplam kalori ihtiyacının %40-70'ini karşılamaktadır (Biswas & Mandal, 2007; Sah vd, 2014).

FAO verilerine göre 2000 yılında dünya çeltik üretimi yaklaşık 600 milyon ton iken, 2014 yılında %23.5'lik artışla 741 milyon ton olurken, aynı dönemde Türkiye'de dekara çeltik verimi 603 kg'dan, 794 kg'a çıkmıştır ve %31.6'lık artış söz konusudur (Anonymous, 2016a). Türkiye'nin 1980'lerde pirinç üretimi 100 bin ton, kişi başına tüketimi ise 3.2 kg dolaylarında iken; 2014 yılında üretim 528 bin tona, kişi başına tüketim ise 8-9 kg'a (yıllık toplam pirinç tüketimi yaklaşık 600 bin ton) çıkmıştır. Ayrıca, 2014 yılında 111 bin hektarlık alanda çeltik ekimi yapan

Türkiye’de, 830 bin ton (pirinç karşılığı 498 bin ton) çeltik üretimi gerçekleşmiştir (Anonim, 2016a). Türkiye’nin hemen her bölgesinde tahıl üretimi yapılmaktadır. Türkiye’nin toplam tarım alanlarının yaklaşık 3’te 1’inde, yani yaklaşık 12 milyon ha alanda tahıl ekimi yapılmaktadır. Tahıl ekim alanlarının %67’sinde buğday, %24’ünde arpa, %6’sında mısır ve geri kalan yaklaşık %3 alanda da diğer tahıllar (çavdar, tritikale, yulaf, çeltik, darılar) ekilmektedir. Ülkemizde tahıllar içinde çeltik, sırası ile buğday, arpa, mısır ve ayçiçeğinden sonra hem üretim alanı hem de üretim miktarı açısından 5. Sırada yer almaktadır. Türkiye’de 26 ilde çeltik üretimi yapılmaktadır ve toplam çeltik üretiminin tek başına %40’tan fazlasını Edirne ili karşılamaktadır. Ardından Samsun, Balıkesir ve Çanakkale en çok çeltik üretimi yapılan illerimizdir (Anonim, 2016b; Anonim, 2016c).

Çeltik günümüzden 5000 yıl önce Hindistan’ın güneyinden Çin’e ve yaklaşık 2500 yıl önce Avrupa’ya yayılmıştır. Amerika kıtasında kültüre alınması ise ancak 17. yüzyıl sonlarında olmuştur. Yaklaşık 500 yıl önce Anadolu’ya geldiğine dair çeşitli ipuçları vardır (Kün, 1985; Gül, 2003).

Çeltiğin günümüzde bilinen 25 türü vardır. Ancak *Oryza sativa* ve *Oryza glaberrima* dünyada yaygın olarak kültürü yapılan iki çeltik türüdür, siyah taneli düşük nitelikteki bazı çeşitleri kapsayan, *Oryza glaberrima* sadece Batı ve Orta Afrika’da yetiştirilirken, yeryüzünde binlerce çeşidi bulunan *Oryza sativa*; Asya, Avrupa ve Amerika kıtalarında yetiştirilmekte olan tüm kültür çeşitlerini kapsamaktadır. (Kün, 1985).

Oryza sativa çeşitli doğa koşullarına adapte olmuş pek çok çeşide sahip olup daha yaygın olarak yetiştirilmektedir ve *Oryza sativa*’nın morfolojisi, fizyolojisi, yetiştiriciliği, genetiği ve biyokimyası üzerindeki çalışmalar eskiden beri süregelmektedir. Ayrıca, *Oryza sativa* türü içinde yer alan geleneksel çeltik çeşitlerinin coğrafik adaptasyonu, morfolojik ve fizyolojik karakterleri bakımından *Indica*, *Japonica* ve *Javanica* olmak üzere üç alt tür içinde yer aldıkları kabul edilmektedir (Anonymous, 2016b). Ocak 2015 itibarı ile Uluslararası Çeltik Gen Bankası’nda geleneksel çeşitlerin yanında yabancı çeşitleri de kapsayan 126.782 çeltik çeşidi saklanmaktadır (Anonymous, 2016c).

Tahılların ekonomik olarak değerlendirilen en önemli organı tohumudur. Tohumda; meyve ve tohum kabuğu birbirine yapışıktır (Baydar, 2002). Hasadın

ardından elde edilen kavuzlu ürüne çeltik adı verilmektedir. Çiçek kavuzları soyulmuş ancak pirince işleme ve parlatma işlemi görmemiş taneye kargo ya da kahverengi pirinç adı verilmektedir. Kabukları soyulmuş ve cilalanıp parlatılmış, sert plastik ya da kauçuk zeminden geçirilerek pürüzleri giderilmiş en son ürüne pirinç adı verilmektedir

Çeltik, pirince işlendiğinde; 100 kg çeltikten 50- 60 kg sağlam pirinç, 10-20 kg kırık pirinç, yaklaşık 13 kg pirinç kepeği, 3 kg pirinç cila unu ve 20 kg kavuz elde edilir. Tane rutubeti %14-15 olduğunda pirinç verimi daha yüksek olur. Çeşitlerin tane uzunluğu ve genişliği pirinç randımanını etkiler.

Elde edilen ürünler başta beslenme olmak üzere gıda sektörü, yem sanayi ve inşaat sektöründe yalıtım malzemesi olmak üzere farklı amaçlarla değerlendirilmektedir. Sağlam pirinç taneleri ve kırık pirinç taneleri tüm dünya mutfaklarında sıcak ve soğuk olarak tüketilmektedir. Pirinç kepeği ve pirinç cila unu, pirinç gevreği olarak kahvaltılık ürünler ile pirinç unu olarak pastacılık sanayinde kullanılmaktadır. Kavuzlar ise yakacak ve izolasyon malzemesi olarak kullanılır (Geçit vd, 2011).

Çeltiğin morfolojisi, kök, sap, çiçek ve dane olarak dört ana bölümde incelenebilir. Çeltik saçak şeklinde ve ince bir kök sistemine sahiptir. Çeltik kökleri diğer tahıllara göre daha farklıdır. Diğer tahılların kökleri birkaç gün su altında kaldığında oksijen yetersizliğinden ölebilir. Fakat çeltik su içinde çimlenir ve kökleri su altında sürekli kalabilir. Çeltiğin sap kısmı, boğum ve boğum aralarından meydana gelir. Her boğumdan bir çiçek çıkar. Ana saptaki boğum sayısı ortalama 10–15 adettir. Boğumlar arası mesafe alttan yukarı gidildikçe artar. Çeltik bitkisi 50–150 cm arasında değişen boya sahiptir. Erkenci çeltik çeşitleri kısa boylu, geççi çeltik çeşitleri ise daha uzun boyludur. Çeltikte kardeşlenme görülür. Kardeşlenme, çeltik ekiminden iki hafta sonra başlar. Kardeşlenme zamanı ve yoğunluğu, çeşit ve çevre şartlarına göre değişir. Genellikle birinci ve ikinci kardeşler daha iri salkım ve daha çok dane verir. Çeltik çiçekleri topluluk şeklindedir ve sapın uç kısmında yer alan erselik çiçeklerden (erkek ve dişi çiçekleri bir arada bulunduran çiçek yapısı) oluşan karışık salkım durumundadır. Bir salkımdaki çiçek sayısı, çeltik çeşidine ve çevre koşullarına bağlı olarak 100–150 arasında değişir. Salkımların uzunluğu, çeşitlere göre 15–25 cm arasındadır (Kün, 1985).

Üretim alanlarında arzu edilen verim artışının sağlanabilmesi için klasik bitki ıslahı programları ile yüksek performanslı çeşitlerin geliştirilmesinde bu programlar ile entegre olabilen biyoteknolojik yöntemlerin kullanılması zorunlu hale gelmiştir. Biyoteknolojik yöntemler hem zaman kazanma bakımından hem de farklı karakterlerin bir arada toplanmasında büyük potansiyel değere sahiptirler. Nitekim son yıllarda birçok bitkide farklı amaçlara yönelik olarak kullanılan biyoteknolojik yöntemler sayesinde hem klasik ıslah yöntemlerinin etkinliği artırılarak ıslah süreci kısaltılmış hem de geliştirilen çeşitlerin üretim deseni içindeki yerlerini almaları sayesinde verim ve üretimin yanında kalitede de önemli artışlar sağlanmıştır (Demir vd, 2006).

Biyoteknolojik yöntemlerle bitkilerin kök, gövde, yaprak, üreme organları gibi dokularının ve hücrelerinin uygun besi ortamında ve *in vitro* koşullarda kültüre alınması durumunda sağlıklı bitkilerin elde edilmesinin keşfedilmesinden sonra biyoteknolojik yöntemlerin bitki ıslah programlarına entegre edilmesi yönündeki çalışmalar daha da hız kazanmıştır. Nitekim kısa zamanda birçok bitkide hastalıklara, antibiyotiklere, herbisitlere, tuza, düşük sıcaklığa ve kuraklığa toleranslı veya dayanıklı bitkilerin seçiminde biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılmıştır. Özellikle ıslah programlarının süresini kısaltmaya yönelik temel biyoteknolojik çalışmalara öncelik verilmiştir. Bu düşünceden hareketle çeşitli bitki organlarından sağlıklı bitkilerin elde edilmesini sağlayabilecek bir sistemin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Bu araştırmalar sayesinde geliştirilecek sistemler, gelecekte yapılacak gen transferi çalışmalarında altyapı olarak kullanılabilecektir (Kurt, 2015).

Dikotiledon bitkilerde çeşitli eksplant kaynaklarından kallus ve bitki elde etmek rutin hale gelmiştir (Maliga, 2003). Ancak, çeltik gibi monokotiledon bitkilerde bu sonuca ulaşmak amacıyla çok sayıda araştırma yapılmasına rağmen elde edilen başarıların frekansları oldukça düşüktür (Stewart 2005; Kurt, 2015) Bunda; genotip, eksplantın kaynağı, besi ortamı ve uygulanan teknikler olmak üzere birçok faktör rol oynamaktadır. Bu araştırmada; *Oryza sativa* L. türü içinde yer alan 3 çeltik çeşidinde farklı somatik dokular ve hormon kombinasyonlarında kallus oluşumu ve bu kalluslardan bitki oluşum potansiyeli belirlenmeye çalışılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Bitkisel Biyoteknoloji ile İlgili Genel Bilgiler

Bitki, hayvan veya mikroorganizmalara ait olan hücre doku ve organların tamamını ya da bir kısmı kullanılarak yeni bir bitki, hayvan ya da mikroorganizma elde etmek veya bu organizmaların genetik yapılarında değişiklik yapmak amacı ile kullanılan yöntemlerin tamamı biyoteknoloji içinde değerlendirilmektedir. Tarımsal biyoteknoloji; bitki ve hayvanlara ait hücre, doku ve organ kültürleri, genetik yapıların incelenmesi, gen dizilerinin oluşturulması, bu bilgilerin klasik ıslah programlarında kullanılması veya doğrudan gen transferi ile organizmalara aktararak transgenik organizmaların elde edilmesi, tarımın değişik alanlarında faaliyet gösteren gıda ve yem endüstrisinden, gübre, tekstil ve deterjan sektörüne kadar geniş bir yelpazede kullanılan enzimleri üreten mikroorganizmaların bulunması, genetik olarak tanımlanması, verimin artırılması için genetik olarak değişikliğe uğratılması gibi çok geniş ve farklı uygulamaları kapsamaktadır.

Bitki doku kültürü; hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından (eksplant), kontrol edilebilir steril (*in vitro*) koşullarda, besi ortamında yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin elde edilmesini sağlayan tüm teknikleri kapsamaktadır. Nitekim bitki doku kültürü; i) mikroçoğaltım, ii) embriyo kültürü, iii) anter, polen, yumurtalık ve yumurta kültürü ile haploid bitki üretilmesi, iv) somaklonal varyasyon, v) *in vitro* döllenme, vi) somatik hücre melezlemesi ve protoplast kültürü, vii) genetik materyallerin *in vitro* korunması, viii) gen transferi, ix) sekonder metabolitlerin üretilmesi, x) *in vitro* seleksiyon ve xi) sentetik tohum üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Gözükırmızı, 2011; Kurt, 2015).

Biyoteknolojik yöntemlerle bitki elde edilmesinde başarı için öncelikle ihtiyaç duyulan şey, kültüre alınan hücre ve dokulardan etkili bir farklılaşmanın sağlanmasıdır. (Evangelista vd, 2009; Ghobeishavi vd, 2014) Farklılaşmada bitki genotipi, kullanılan eksplant kaynağı ve yaşı önemlidir (Ganeshan vd, 2003; Wani vd, 2010; Wani vd, 2011). Başarı açısından olgunlaşmamış organlar ve farklılaşma potansiyeli yüksek hücreleri içeren hücre ve dokular genel olarak daha uygundur

(Hoque & Mansfield, 2004). Hücre ve dokulardan bitkilerin elde edilmesi başta gen transferi olmak üzere birçok alanda önem taşımaktadır. Somatik eksplant kaynaklarından bitkilerin elde edilmesi birçok dikotiledon bitkide rutin hale gelmiştir. Ancak, çeltik bitkisinin de yer aldığı birçok monokotiledon bitkide, çok sayıda araştırma yapılmış olmasına rağmen arzu edilen başarı oranına bugüne kadar ulaşamamıştır (Stewart, 2005; Kurt & Şavşatlı, 2005; Biswas & Mandal, 2007). Dolayısıyla monokotiledon bitkilerde somatik explantlardan sağlıklı ve fertil bitkilerin elde edilebilmesini sağlayan yeni ve kapsamlı araştırmaların yapılmasına ihtiyaç vardır (Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b).

2.2. Çeltikte Biyoteknolojik Uygulamalarda Yaşanan Zorluklara İlişkin Genel Bilgiler

Sürdürülebilir bir tarım ile kaliteli yaşamın sağlanabilmesi açısından yüksek verimli, tane kalitesi yüksek, biyotik ve abiyotik stres etmenlerine karşı dayanıklı çeltik çeşitlerinin geliştirilebilmesi için geleneksel tarım sistemlerini destekleyici üretim sistem ve tekniklerine ihtiyaç vardır. Biyoteknolojik yöntemlerin geleneksel üretim sistemlerine entegre edilmesi sayesinde, klasik sistemlerle çözümü mümkün olmayan birçok sorunun ortadan kaldırılması mümkün olabilir (Saharan vd, 2004).

Monokotiledon bitkilerin *in vitro* besi ortamlarındaki responsları oldukça düşük olup, bugüne kadar yapılan araştırmalar sonucunda somatik eksplant kaynaklarından bitkilerin elde edilmesi, birçok dikotiledon bitkide uygulanagelmekte (Maliga, 2003) olmasına karşın çeltik bitkisinin de yer aldığı birçok monokotiledon bitkide, arzu edilen başarı düzeyine bugüne kadar ulaşamamıştır (Stewart, 2005; Kurt & Şavşatlı, 2005). Dolayısıyla monokotiledon bitkilerde somatik doku ve organlardan bitki ya da bitkilerin elde edilmesi amacıyla yeni araştırmaların yapılması oldukça önem taşımaktadır (Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b).

Kültüre alınmış hücre ve dokularından etkili bir bitki farklılaşması sağlayabilmek için biyoteknolojik yöntemlerin başarılı bir şekilde uygulanması gereklidir. Bu nedenle hücre ve doku kültürü çalışmalarının başarısı güvenilebilir bir kallus kültürü ve bitki farklılaşma yöntemine bağlıdır.

Çeltikte, besi ortamında farklılaşma somatik embriyogenesis ya da organogenesis yolu ile yapılabilmektedir. Somatik embriyogenesis gelecek vadede

ümitvar bir yaklaşımdır. Çünkü çok sayıda bitkicik elde edilerek çoğaltılabilir ve başta biyotik streslere karşı genetik transformasyon olmak üzere birçok alanda kullanılabilir (Zuraida vd, 2011; Rahman vd, 2015).

Çeltikte kallus oluşum ve bitki farklılaşmasındaki başarı; bitki genotipine, kullanılan eksplantın kaynağı ve yaşına, besi ortamının kompozisyonuna (Deo vd, 2010; Ghobeishavi vd, 2014; Khatun vd, 2003) ve çevresel faktörlere (Jain vd, 1997; Khatun vd, 2003) bağlıdır. (Lee vd, 2002; Saharan vd, 2004; İlahı vd, 2005; Rafique vd, 2011; Sompornpailin & Chutipaijit, 2012). Eksplantın orijini, fizyolojik yaşı ve dokunun farklılaşma derecesi somatik embriyogenesis yolu ile farklılaşmayı etkileyen asıl etkenler olarak tanımlanmıştır. Genelde olgunlaşmamış organlar ve meristematik dokular, olgun organlara göre bitki farklılaşması için daha uygundur (Hoque & Mansfield, 2004). Diğer taraftan bitki genotipi ve besi ortamının kompozisyonu varyasyonun ana kaynağını oluşturur (Khanna & Raina 1998; Khatun vd, 2003)

Tarımsal açıdan üstün niteliklere sahip çeltik genotipleri kallus oluşumu ve farklılaşma yeteneği açısından aynı nitelikleri çoğu kez taşımazlar. Nitekim ekonomik değeri olan pek çok *indica* grubunda yer alan çeltik çeşidinin in vitro koşullarda kallus ve bitki oluşumu kabiliyetleri açısından yetersiz oldukları rapor edilmiştir (Ramesh vd, 2009; Ahmadabadi vd, 2007; Verma vd, 2011). Çeşitlerin sadece farklı kültür ortamına tepkileri değil gelişimin farklı aşamalarındaki besi ortamı ile etkileşimi de farklılık göstermektedir. Ayrıca çeltik çeşitlerinin tohum olgunlaşma aşamasında fitohormon içeriği bakımından farklılık göstermeleri nedeni ile, bitki farklılaşmasına farklı tepki vermelerinin, bünyesel fitohormon konsantrasyonunun etkisinin bir sonucu olduğu rapor edilmiştir (Abe & Futsufara, 1984).

Indica ve *Japonica* alt gruplarında yer alan 66 çeltik çeşidi ile yapılan bir araştırma sonucunda; *japonica* grubunda yer alan çeşitlerin, *indica* grubunda yer alan çeşitlere göre daha yüksek oranda kallus ve bitki oluşturdukları (Abe & Futsufara, 1984; Wang vd, 2011), *indica* grubunda bitki farklılaşması ve somatik embriyogenesis yeteneğinin düşük olduğu (Abe & Sasahara, 1982; Abe & Futsufara, 1984; Peng & Hodges, 1989), anter ve mikrospor kültürü ile haploid bitki elde etmenin, izole edilen protoplastlardan somatik melez elde etmenin, bombardıman veya *Agrobacterium* yoluyla transgenik bitki elde etmenin *japonica* grubunda yer

alan çeltik çeşitlerine göre *indica* grubunda yer alan çeltik çeşitlerinde nispeten daha zor olduğu, bu nedenle transformasyon metotlarının kullanımında etkili bir protokole ihtiyaç olduğu rapor edilmiştir (Khanna & Raina, 1998; Hoque & Mansfield, 2004).

Kallus oluşumu ve farklılaşma, *indica* grubundaki çoğu çeltik çeşitleri için hala çözülmesi gereken bir konudur (Verma vd, 2011). *Indica* grubundaki çeltik çeşitlerinin *in vitro* kültüründe asıl problem; kallus oluşumu, somatik embriyogenesis ve ardından bitkicik oluşum oranının düşük olmasıdır (Chu & Croughan, 1990; Hoque & Mansfield, 2004). Örneğin *indica* grubunda yer alan 15 çeltik çeşidinden sadece 7 tanesinin embriyonik kallus oluşturdıkları ve bunlardan da sadece 4 tanesinin bitki oluşturdıkları rapor edilmiştir (Wang vd, 2011). Ayrıca *indica* grubunda yer alan çeltik çeşitlerinin besi ortamındaki yetersizliğinden dolayı protoplast (Yamada vd, 1986) ve hücre çözelti kültürü çalışmalarının sınırlı kaldığı rapor edilmiştir (Peng & Hodges, 1989).

Çeltikte biyoteknolojik yöntemlerin başarıyla kullanılabilmesi için etkili, uygun ve kullanışlı bir farklılaşma protokolüne olduğu kadar *in vitro* kallus oluşumuna ihtiyaç vardır (Vega vd, 2009; Khatun vd, 2012; Siddique vd, 2014; Rahman vd, 2015). Bu nedenle çeltikte çeşitli bitki organlarından ilk etapta kallus oluşumu ve daha sonra bu kalluslardan yüksek frekansta sağlıklı bitkiler elde etmeyi sağlayan bir sistemin geliştirilmesi gerekir (Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b).

2.3. Sterilizasyon İle İlgili Genel Bilgiler

Doku kültürü çalışmalarında öncelikle yapılacak iş; kullanılacak ortamın, alet ve ekipmanlar ile besi ortamına ekilecek veya aktarılacak bitki doku ya da organlarının sterilize edilmesidir. Ortam, alet ve ekipman sterilizasyonu standart hale gelmiştir fakat steril ortamda elde edilen bitkiçiklerden eksplant alınabilmesi için işe öncelikle tohum sterilizasyonu ile başlamak gereklidir.

Abe ve Futsufara (1984), 60 çeltik çeşidinin her birinden 20 adet kargo hale getirilen tohumu yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 30 saniye muamele ettikten sonra %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 40 dakika çalkalayıp ardından steril su ile 3 kez yıkamışlardır.

Mikami & Kinoshita (1988), *Japonica, indica* ve bunların hibritlerinden oluşan 108 çeltik çeşidinin tohum ve başakçıklarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etil alkol ile 1 dakika muamele ettikten sonra %2'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 30 dakika çalkalayıp ardından birkaç kez steril su ile durulamışlardır.

Khan vd (1999), *indica* çeltik grubunda yer alan 25 çeltik çeşidinin kargo haline getirdikleri tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla yarım saat musluk suyunda yıkandıktan sonra bir damla tween-20 ihtiva eden %0.01'lik cıva Klorid çözeltisinde 10 dakika çalkalanıp ardından 2-3 kez steril su ile yıkanmışlardır.

Sahrawat & Chand (2001), *indica* çeltik alt grubunun uzun taneli ve basmati karakterindeki Kasturi çeşidinin kargo haldeki tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla 7 dakika %0.1'lik cıva klorid ile muamele ettikten sonra %70'lik etanole daldırıp ardından 4 kez steril su ile yıkamışlardır.

Gomez & Kalamani (2002), Hindistan'da kurağa dayanıklı yerel çeltik çeşitlerinin kargo haline getirdikleri tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 1 dakika muamele ettikten sonra %0,1'lik cıva klorid çözeltisinde 3 dakika çalkalayıp, ardından 3 kez steril su ile yıkamışlardır.

Khatun vd (2003), 4 çeltik çeşidinin tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 1 dakika muamele yaptıktan sonrası steril su ile durulayıp, ardından %50'lik kloraks çözeltisinde 30 dakika çalkalayıp, ardından 2 kez steril su ile durulamışlardır.

Rashid vd (2004), Süper Basmati çeltik çeşidinin kargo tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70' lik etanol ile 1 dakika muamele ettikten sonra %50'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dakika çalkalayıp, ardından steril su ile 3-4 kez durulamışlardır.

Hoque & Mansfield (2004), 4 çeltik genotipine ait olgun tohumları kargo hale getirildikten sonra yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 3 dakika muamele edip, ardından steril su ile 3 kez duruladıktan sonra %50'lik ticari çamaşır suyu ile 30 dakika çalkalanıp, steril su ile 5 kez durulanmışlardır.

Carsono & Yoshida (2006), Endonezya'da yetiştirilen 15 çeltik çeşidinin olgun, sağlıklı kargo tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik

etanol ile 3 dakika muamele edip ardından %50'lik ticari çamaşır suyunda (%5 sodyum hipoklorit) 30 dakika çalkaladıktan sonra steril su ile 3 kez durulamışlardır.

Kurt vd (2008a), Taipei-309 çeltik çeşidinin tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 1 dakika muamele ettikten sonra 3-4 defa steril su durulayıp, ardından %20'lik Sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dakika çalkaladıktan sonra steril su ile 3-5 defa yıkamışlardır.

Kurt vd (2008b), Pusur çeltik çeşidinin tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 1 dakika muamele ettikten sonra %20'lik Sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 dakika çalkalayıp, ardından steril su ile 3-5 defa durulamışlardır.

Ramesh vd (2009), *indica* alt grubunda yer alan Rasi çeltik çeşidinin olgun tohumlarını kargo haline getirildikten sonra yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla akan musluk suyu altında 20 dakika tutup, ardından %70'lik etanol ile 60 saniye muamele ettikten sonra %1'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 dakika çalkalayıp, ardından steril su ile 5 kez yıkanmışlardır.

Wani vd (2011), PR-116 çeltik çeşidinin kargo haline getirilmiş tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %0.1'lik bavistin çözeltisinde 3 saat bekletildikten sonra 3 kez steril su ile durulayıp, ardından %0.1'lik cıva klorid çözeltisinde 10 dakika çalkaladıktan sonra steril su ile 3 kez durulamışlardır.

Sahoo vd (2011), *indica* grubunda yer alan 4 çeltik çeşidinin sağlıklı tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 1 dakika muamele ettikten sonra % 50'lik çamaşır suyunda 30 dakika çalkayıp, ardından steril su ile 8-10 kez durulamışlardır.

Sompornpailin & Chutipaijit (2012), *indica* grubunda yer alan KDML105 çeltik çeşidinin kargo haline getirdikleri tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 2-3 dakika muamele ettikten sonra önce %5'lik çamaşır suyunda 40 dakika ve ardından %30'luk çamaşır suyunda 30 dakika çalkaladıktan sonra steril su ile 5 kez durulamışlardır.

Puhan & Siddiq (2013), *indica*, *japonica* ve yabani çeltik gruplarından 12 çeşidin kargo tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla önce musluk suyu ile yıkayıp, ardından sıvı deterjan ile 15-20 dakika ve %0.1'lik HgCl₂ çözeltisi ile 7-8 dakika çalkaladıktan sonra 4 kez steril su ile durulamışlardır.

Sah vd (2014), *Japonica* alt grubunda yer alan Kitaake çeltik çeşidinin kargo haline getirilmiş tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 1 dakika muamele ettikten sonra %0.1'lik cıva klorid çözeltisinde 10-15 dakika çalkalayıp, ardından steril su ile 5-6 kez durulamışlardır.

Rahman vd (2015), 3 aromatik Malezya çeltik çeşidinin kargo tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %100 etanol ile 2 dakika muamele ettikten sonra 1-2 damla Tween-20 ihtiva eden %50'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 30 dakika çalkalayıp, ardından steril su ile 3 kez durulamışlardır.

Din vd (2016), Malezya kır çeltiği (*Oryza sativa* cv. Panderas)'nin kargo tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 1 dakika muamele ettikten sonra 1 damla Tween-20 ilave edilmiş %100'lük çamaşır suyunda 30 dakika çalkalayıp, steril su ile bir kaç kez durulamışlardır.

Vennapusa vd (2015), kurağa dayanıklı AC39020 çeltik genotipinin kargo tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla %70'lik etanol ile 2 dakika muamele edip, steril su ile 3 kez yıkadıktan sonra 2 damla tween ilave edilmiş %4'lük sodyum hipoklorit çözeltisinde 20 dakika çalkalayıp, ardından steril su ile 5 defa durulamışlardır.

Sankepally & Singh (2016), *indica* çeltik alt grubunda yer alan 21 adet çeltik çeşidinin tohumlarını yüzey sterilizasyonu yapmak amacıyla önce musluk suyundan geçirip, %70'lik etanol ile 2 dakika muamele ettikten sonra %1'lik cıva klorid çözeltisinde 3 dakika çalkalayıp, steril su ile 3 kez durulamışlardır.

2.4. Eksplant Kaynakları İle İlgili Genel Bilgiler

In vitro koşullarda kültüre alınan bitkilerin hücre, doku veya organlarından oluşan materyaller eksplant olarak adlandırılırlar. Eksplant seçiminde; eksplantın fizyolojik yaşı, büyüklüğü, bitkiden alındığı dönem ve eksplantın alındığı bitkinin diğer özellikleri dikkate alınması gerekir (Gözükırmızı, 2011). *In vitro* koşullarda çeltik embriyosundan kallus elde etme çalışması, Nishi vd (1968) tarafından ilk defa rapor edildiği tarihten bugüne kadar, çeltik bitkisinde *in vitro* koşullarda bitki farklılaşmasına yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır (Croughan & Chu, 1991; Khanna & Raina, 1998). Bu çalışmalardan bazıları ana başlıklar altında aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. Tohum, scutellum ve mezokotil eksplantları ile ilgili genel bilgiler

Kuru tohumun olgun embriyosunun eksplant kaynağı olarak kullanımı yaygın (Karthikeyan vd, 2009) olmasına karşın, monokotiledon bitkilerde bu explant kaynağının farklılaşma etkinliği düşüktür (Sharma vd, 2005; Sompornpailin & Chutipaijit, 2012).

Ali vd (2004), *japonica* alt grubunda yer alan Xiushui-11 ve *indica* alt grubunda yer alan XC95 çeltik çeşitlerinin olgun tohumlarını eksplant kaynağı olarak kullandıkları araştırmada; her iki tip çeltik çeşidinde de kallus oluşumunda, 2,4-D'nin besi ortamında bulunmasının kritik şekilde önemli olduğunu rapor etmişlerdir.

Wani vd (2011), *indica* alt grubuna ait PR-116 çeltik çeşidinin olgun tohumlarından elde ettikleri embriyonik kalluslardan kullanılabilir bir farklılaşma protokolü oluşturduklarını rapor etmişlerdir.

Sahoo vd (2011), *indica* alt grubundan 4 çeltik çeşidinin olgun kuru tohumlarını, kallus oluşumu ve transformasyon optimizasyonu amacıyla kullandıkları araştırmada; %45 transformasyon yeteneği ve %90 farklılaşma oranı olduğunu rapor etmişlerdir.

Puhan & Siddiq (2013), çeşitli hormon kombinasyonları ile farklı besi ortamlarının *in vitro* tohum çimlenmesi ve çimlenen tohumlardan alınan mezokotil eksplantlarının bitki oluşumuna etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada; MS ortamının en iyi çimlenme ortamı olduğunu, mezokotillerden sürgün oluşturma bakımından en iyi sonucun MS+0,5 mg/l BA besi ortamında elde edildiğini saptamışlardır.

Vennapusa vd (2015), kurağa dayanıklı *indica* alt grubunda yer alan AC-39020 çeltik genotipinin olgun tohumlarının eksplant kaynağı olarak kullandığı araştırmada; farklılaşma frekansı bakımından kullanılan besi ortamları arasında LS (Linsmaier & Skoog, 1965) ortamının belirgin derecede farklılık sağladığını tespit etmişlerdir.

Din vd (2016), Malezya kır çeltiği (*Oryza sativa* cv. Panderas)'nde bitki büyüme düzenleyicilerinin farklılaşma üzerine etkisini belirlemek amacıyla eksplant kaynağı olarak olgun tohumlar ve kallus ortamı olarak 2,4-D ve NAA'nın değişik varyasyonlarını kullandıkları araştırmada; MS+3 mg/l 2,4-D+2 mg/l NAA

kombinasyonunun en yüksek kallus oluşumu sağladığını, 2,4-D ve NAA miktarı artırıldığında, kallus oluşum yüzdesinin düştüğünü saptamışlardır.

2.4.2. Koleoptil eksplantı ile ilgili genel bilgiler

Koleoptil, embriyonik kallus ve bitki oluşturma kapasitesine sahip bir eksplant kaynağıdır (Benkirane vd, 2000; Ghobeishavi vd, 2014).

Oinam & Kothari (1995), 3, 4, 5 ve 7 günlük fidelerden alınan koleoptil explantları arasında, 4 günlük fidelerden alınan koleoptil explantlarının en yüksek bitki farklılaşmasını sağladığını rapor etmişlerdir.

Sahrawat & Chand (2001), besi ortamında çimlendirdikleri tohumlardan oluşan 3, 4, 5 ve 7 günlük fidelerin 1 cm uzunluğundaki koleoptil segmentlerini eksplant kaynağı olarak kullandıkları araştırmalarında; koleoptil dokusunun kolay elde edilebilir bir eksplant kaynağı olduğunu, uygun yaştaki fidelerden alınan koleoptil explantlarından yüksek farklılaşma frekansı elde edilebileceğini rapor etmişlerdir.

Ghobeishavi vd (2014), besi ortamında çimlenen 5 günlük fidelerin, 1 cm uzunluğundaki koleoptil explantlarını kullandıkları araştırmada; koleoptil dokusunun, kolayca elde edilebilecek bir doku olduğunu rapor etmişlerdir.

2.4.3. Olgun embriyo eksplantı ile ilgili genel bilgiler

Çeltik embriyosundan kallus oluşumu ve bitki farklılaşması ilk kez 1968 yılında elde edilmiştir (Nishi vd, 1968). Kallus oluşumu için kuru tohumun olgun embriyosu, yaygın olarak kullanılan ilk eksplant kaynağıdır (Karthikeyan vd, 2009). Olgun embriyo, diğer dokularla kıyaslandığında kolay elde edilebilir olması ve kullanılabilirliği açısından genetik transformasyonda kullanılan en iyi eksplant kaynağıdır (Ghobeishavi vd, 2015). Ancak monokotiledon bitkilerde somatik embriyogenesis yolu ile olgun embriyodan elde edilen kalluslardan bitki farklılaşma frekansı düşüktür (Sharma vd, 2005; Sompornpailin & Chutipaijit, 2012).

Valdez vd (1997), *indica* alt grubunda yer alan 7 çeltik çeşidinin olgun embriyoları ve 3 farklı besi ortamının denedikleri araştırmalarında; bitki çeşitlerinin farklılaşmasında, genetik farklılıkların direk etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Khanna & Raina (1998), 3 farklı çeltik çeşidinin tohumlarının embriyolarının explant kaynağı ve 15 farklı besi ortamı kombinasyonunun kullanıldığı araştırmada; farklılaşma yüzdesinin genotipten, kallus ortamından, farklılaşma ortamından, genotip ile besi ortamı etkileşiminden ve kallus ortamı ile farklılaşma ortamı etkileşiminden etkilendiğini rapor etmişlerdir.

Carsono & Yoshida (2006), *indica* alt grubundan 15 ve *japonica* alt grubundan 1 çeltik çeşidini kullanarak genotip x besi ortamı x eksplant etkileşimini inceledikleri araştırmada; kullanılan eksplant ve besi ortamına bağlı olarak yüksek kaliteli kallus oluşturmada genotiplerin farklılık gösterdiğini, olgun tohum embriyosu ve kök eksplantlarından kallus elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Ghobeishavi vd (2015), iki çeltik çeşidinde somatik embriyogenesi etkileyen faktörleri araştırmak amacıyla yaptıkları araştırma sonucu; olgun embriyo eksplantının kallus oluşumu, somatik embriyogenesis ve farklılaşma için etkili bir eksplant kaynağı olduğunu rapor etmişlerdir.

Sankepally & Singh (2016), 4 çeltik çeşidinde somatik embriyogenesis oluşumu, kallus oluşumu ve farklılaşma açısından başarılı bir protokol oluşturmaya yönelik olarak yaptıkları araştırmada; olgun embriyo explantlarından oluşan kallusların, iyi bir kök sistemine sahip bitkicik geliştirdiklerini rapor etmişlerdir.

2.4.4. Yaprak eksplantı ile ilgili genel bilgiler

Monokotiledon bitkilerde özellikle basal meristemde oluşan yaprak eksplantlarının, embriyonik kallus oluşumu ve bitki oluşumu için mükemmel bir kaynak olduğu, yaprak parçalarından başarılı bir şekilde bitki oluşumu sağlandığı, bitki yapraklarından en yüksek kallus elde edebilmek için eksplant alınacak en uygun dönemin 3-4 günlük fidelerin 1-5 mm yaprak segmentleri olduğu bildirilmiştir (Ramesh vd, 2009).

Ramesh vd (2009), *indica* alt grubunda yer alan Rasi çeşidinin besi ortamında elde edilen 4, 6, 8 ve 10 günlük fidelerinden 4-5 mm uzunluğundaki yaprak parçalarını eksplant kaynağı olarak alarak kallus oluşum sıklığı üzerine fidenin yaşı, yaprak parçasının pozisyonu ve 2,4-D'nin konsantrasyonunun etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları araştırmada; maksimum kallus oluşumunun $LS+11.3 \mu M$ 2,4-D+3 μM thiamine-HCL ortamında elde edildiğini rapor etmişlerdir.

2.4.5. Kök eksplantı ile ilgili genel bilgiler

Abe & Futsufara (1984), *Japonica*, *indica* ve *japonica-indica* hibritlerini içeren, 60 çeltik çeşidinin 5-7 günlük fidelerin kök parçalarını eksplant kaynağı olarak kullandıkları araştırmada; hibrit ve *indica* grubunda yer alan çeşitlerin farklılaşmada yetersiz kaldığını rapor etmişlerdir.

In vitro koşullarda yetiştirilen yüksek verimli iki çeltik çeşidinin 8 günlük fidelerinin köklerinden alınan explantlardan sağlıklı kallus oluşumu gözlemlendiği rapor edilmiştir (Mandal vd, 2003).

Hoque & Mansfield (2004), *indica* grubunda yer alan 4 çeltik genotipinin *in vitro* koşullarda yetiştirdikleri 3, 5, 7 ve 9 günlük fidelerinin kök eksplantlarını kullandıkları araştırmada; kallus ve bitki oluşumu üzerine genotipin etkili olduğunu, kök eksplantlarının gelişim düzeyinin de bu etkide belirgin rol oynadığını, genç eksplantların kallus ve bitki oluşumunda daha etkili olduğunu, en yüksek kallus oluşumunun 3 günlük fidelerden alınan kök eksplantlarından elde edildiğini, 5 günlük fidelerden alınan kök eksplantlarının 7 ve 9 günlük fidelerden alınan kök eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşturdıklarını rapor etmişlerdir.

2.4.6. Başakçık, karyopsis, tohum, kökçük, anter ve koleoptil ile ilgili genel bilgiler

Mikami & Kinoshita (1988), *Japonica*, *indica*, ve onların hibritlerini kapsayan 108 çeltik çeşidinden kallus oluşumu için; kargo tohum, 5 mm uzunluğunda kökçük, 8 mm uzunluğunda koleoptil parçaları ve 5-6 günlük fideler ve tek çekirdek aşamasındaki mikrosporları eksplant kaynağı olarak kullandıkları araştırmada; anterler, N6+2 mg/l 2,4-D ortamına, diğer explantlar ise 2 mg/l 2,4-D ihtiva eden MS ortamına alındığında kullanılan bütün çeşitlerde, tohum ve kökçükte kallus oluşum frekansının neredeyse %100 olduğunu, kallus oluşturan koleoptil eksplantının çeşide göre 0 ile %80 olduğunu, çoğu genotipte anter eksplantından N6 ortamında kültürden 20 gün sonra %5-55 arasında değişen oranlarda kallus oluşumu sağlandığını rapor etmişlerdir.

Chu & Croughan (1990), 10 çeltik çeşidinin olgunlaşmamış başaklarında farklılaşma yeteneğinin genetiğini belirlemek amacı ile yaptıkları araştırmada; çeşitler arasında farklılaşma yeteneği bakımından belirgin genotipik farklılıkların

bulunduğunu ve melezleme yolu ile farklılaşma yeteneğini artırmanın pratik bir yol olmadığını rapor etmişlerdir.

Kunanuvatchaidach vd (1995), *indica* çeltik alt grubunda yer alan 6 çeltik çeşitinden alınan olgun karyopsislerin eksplant kaynağı olarak kullanıldığı araştırmada; 5 ve 10 μ M 2,4-D+59 μ M sucrose+3 g/l casein hydrolysate ve 8 g/l agar ilave edilmiş MS ortamında yüksek oranda kallus elde edildiğini, farklılaşan bitkicilerin hepsinin bitki haline geldiğini ve morfolojik olarak serada normal gelişim gösterdiğini, bitki büyüme düzenleyicisi hormon kullanılan ve kullanılmayan ortamlar arasında farkın olmadığını rapor etmişlerdir.

2.4.7. Anter, genç başak, genç embriyo ve olgun embriyo ile ilgili genel bilgiler

Çeltikte anter kültürü, haploid bitki elde etmek amacıyla kullanılmaktadır (Nishi & Mitsuoka, 1969). Genotip, verici bitkinin fizyolojik yaşı ve kültür ortamının kompozisyonu gibi pek çok faktörün kallus oluşumu ve bitki farklılaşması için anter kültürü reaksiyonunda etkili olduğu (Wang vd, 2011), androgenesis ve sonraki bitki oluşumlarının genotipe bağlı olduğu, çoğu *indica* çeşitlerinde kültür içinde amino asit kullanarak polen/anter kültürü ile bitki oluşumu ve embriyogenesis elde etme sıklığının yüksek olduğu rapor edilmiştir (Grewal vd, 2006).

Wang vd (2005), 19 çeltik çeşidinde, anter, genç başak, genç embriyo ve olgun embriyo eksplantlarını kallus ve yeşil bitki oluşumu bakımından test ettikleri araştırmada; etkinliğin genotipe ve eksplant kaynağına göre farklılık gösterdiğini, kallus oluşum frekansının genç başakçık, genç embriyo ve olgun embriyo kültüründe anter kültüründen daha yüksek olduğunu, yeşil bitki oluşum frekansının genç başakçık ve genç embriyoda daha yüksek olduğunu ve olgun embriyodan yeşil bitki oluşumunun anter kültüründen daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

2.4.8. Kök, koleoptil, boğum, boğumarası ve yaprak ile ilgili genel bilgiler

Hoque & Mansfield (2004), *indica* alt grubunda yer alan çeltik çeşitleri için kök eksplantlarından kallus ve bitki oluşumunda en etkili fide yaşının, fidelerin 3-5 günlük dönemi olduğunu rapor etmişlerdir.

Khaleda & Forkan (2006), Bangladeş'te kültürü yapılan 5 derin su çeltik çeşidinde bitki farklılaşma ve kallus oluşumu üzerine genotipin etkisini belirlemek

amacıyla yaptıkları araştırmada; genotipe bağlı olmakla birlikte LS+2 mg/l BAP+1.5 mg/l 2,4-D ortamının en iyi bitki farklılaşma ortamı olduğunu, olgun embriyo eksplantlarının yüksek kallus ve bitki oluşumu gösterdiğini, koleoptil ve kök eksplantlarının ise embriyogenesiste düşük frekans gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Kurt vd (2008a), *japonica* çeltik alt grubunda yer alan Taipe-309 çeltik çeşidini kullanarak yaptıkları araştırma sonucu; 11 günlük çeltik fidelerinden alınan kök ve sap (boğum+boğumarası+yaprak) eksplantları arasında, sap eksplantlarından kallus oluşumu sağlandığını, farklılaşma ortamına aktarılan bu kalluslardan da sağlıklı bitkileri elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

2.5. Besi Ortamı ile İlgili Genel Bilgiler

Besin ortamı; organik, inorganik ve diğer kimyasal maddelerden oluşan, bitkilerin topraktan aldıkları her türlü besin maddesi ve su ihtiyacı yerine geçen maddeleri bitkiye sağlayan karışımdır (Koyuncu, 2008). Kallus oluşumu ve farklılaşma potansiyeli; genotip, besi ortamının kimyasal bileşimi ve hormonal dengesi, karbonhidrat kaynağı, iyonik dengesinin yanı sıra hücre zarının geçirgenliği ve farklı gelişim aşamalarında oluşan değişim tarafından etkilenir (Jiang vd, 1998; Wani vd, 2010; Rueb vd, 1994; Ali vd, 2004).

Pek çok sorunlu genotipte, farklılaşma ortamında kullanılan oksin ve sitokinlerin farklılaşma frekansını artırdığı rapor edilmiştir (Rueb vd, 1994; Lee vd, 2002; Din, vd 2016).

Kallus oluşumunun teşvik edilmesi ve yaşatılmasında oksinlerin (2,4-D) yalnız veya sitokinler ile birlikte kullanılmasının önemli olduğu (Castillo vd, 1998; Wani vd, 2010), kallus kültüründe hücre bölünmesi için 2,4-D veya NAA gibi oksinlerin önemli rol oynadığı (Cheng vd, 2010; Ding & Friml, 2010; Rademacher vd, 2012; Rahman vd, 2015), 2,4-D'nin çeltikte kallus oluşumu için başarılı sonuçlar verdiği (Lin & Zhang, 2005; Karthikeyan vd, 2009; Joyia & Khan, 2013) rapor edilmiştir (Din vd, 2016).

Doku kültür çalışmalarının buğdaygiller familyasındaki türlerde zor olmasına karşın bu zorluğun totipotensi yeteneği fazla olan koleoptil, kök ve yaprak eksplantlarının yüksek dozda oksin (2,4-D) içeren besi ortamında aşıldığı rapor edilmiştir (Vasil, 1999; Vasil, 2007; Ahmadabadi vd, 2007; Ramesh vd, 2009).

Tahıllarda doku kültüründe farklılaşmada etkili olan en önemli faktörler arasında genotip, eksplant kaynağı ve 2,4-D konsantrasyonudur (Sahrawat & Chand (2001). 2,4-D'nin hücre bölünmesi ve farklılaşmada önemli rol oynadığı, somatik embriyogenesi teşvik ettiği (Meneses vd, 2005; Panjaitan vd, 2009) rapor edilmiştir (Verma vd, 2011).

Somatik embriyogenesinin başarısının uygun bir genotip, yetiştirme ortamı, bitki büyüme düzenleyicilerine bağlı olduğu Deo vd (2010) tarafından, Somatik embriyogenesis ve organogenesisin oksin ve sitokininler tarafından tetiklendiği Jia vd (2008), Liu vd (2008) ve Chaudhury & Qu (2000) tarafından, oksinlerin somatik embriyogenesi ve bitki farklılaşmasını teşvik ettiğini Vega vd (2009) tarafından, hatta oksinlerin somatik embriyogenesis için anahtar rol üstlendiği Lee & Huang (2014) ve Verma vd (2011) tarafından rapor edilmiştir.

In vitro çalışmalarda, MS besi ortamı yanında LS, B5, WH, SH, NN ortamı en çok kullanılan besin ortamlarıdır (Koyuncu, 2008).

Çeltikte somatik kültürde MS (Murashige & Skoog, 1962) ve R2 (Ohira vd, 1973) besi ortamlarının, *japonica* grubunda anter kültüründe N6 (Chu vd, 1975) ortamının, *indica* grubu çeltik anter ve mikrospor kültüründe SK-1 (Raina vd, 1987) ortamının, protoplast kültüründe B5 (Gamborg vd, 1968) ve AA2 (Muller & Grafe, 1978) ortamlarının en çok kullanılan besi ortamları olduğu rapor edilmiştir (Khanna & Raina, 1998).

Farklı derecelerde yeşil bitki farklılaşması elde etmede tryptopan (Siriwardana & Nabors, 1983; Raina vd, 1987), proline (Datta vd, 1992) ve spermidin (Bajaj & Rajam, 1995) gibi polyaminler de kullanılmıştır (Khanna & Raina, 1998).

Hormon kompozisyonunda değişiklikler (Raina vd, 1987), karbonhidrat kaynağı (Ghosh Biswas & Zapata, 1993), osmotik stres (Hartke & Lorz, 1989) ve jel ajanlarının yüksek konsantrasyonu (Lai & Liu, 1982) kallus kültürünün farklılaşmasında kullanılmıştır (Khanna & Raina, 1998).

Abe & Futsufara (1984), 60 çeltik çeşidinin 5-7 günlük fidelerinin 1 cm uzunluğundaki kök eksplantlarını pH'sı 5.8 olan MS + 1 mg/l thiamin-HCL + 3 mg/l 2,4-D + 3 mg/l myo-inositol + 2 g/l casein hydrolysate + 30g/l sucros + 8 g/l agar besi ortamında kültüre aldığında 40 gün sonra oluşan kalluslar 2 mg/l 2,4- D ihtiva

eden aynı besi ortamında alt kültüre alınmış, 2-3 alt kültürde farklılaşan bitkiler, 0.02 mg/l 2,4- D + 10 mg/l kinetin içeren aynı kallus ortamına aktarılmışlardır. Sonuç olarak *japonica* grubundan alınan kallusların daha iyi büyüme gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Mikami & Kinoshita (1988), *Japonica*, *indica* ve bunların hibritlerinden oluşan 108 çeltik çeşidinin kallus ortamı olarak anter kültürü için N6+2 mg/l 2,4- D ortamı, diğer eksplant kaynakları için (tohum, radicle, koleoptil) MS+2 mg/l 2,4- D ortamı kullandıkları araştırma sonucunda; tohum, radicle ve koleoptil eksplantları taze ağırlık ve kallus oluşumunda birbirine paralel gelişim göstermesine karşın anter kültürünün bunlardan farklı gelişim gösterdiğini belirlenmişlerdir.

Valdez vd (1997), *indica* çeltik alt grubunda yer alan 7 çeltik çeşidinden eksplant kaynağı olarak olgun tohumlarının embriyolarını, kallus ortamı olarak MS+2.5 mg/l 2,4-D, MS+2.0 mg/l 2,4-D+50 mg/l tryptophan, N6+1 g/l hidrozoil kazein+0.5 mg/l 2,4-D ortamlarını ve farklılaşma ortamı olarak MS+0.5 mg/l BAP+0.05 mg/l NAA ortamını kullandıkları çalışmada; kallus oluşumu ve bitki farklılaşmasının sağlandığını rapor etmişlerdir (Hartke & Lorz, 1989).

Khanna & Raina (1998), *indica* çeltik alt grubunda yer alan 3 çeşidin kallus oluşumu ve farklılaşma açısından uygun besi ortamı kombinasyonunu belirlemek amacıyla kallus oluşumu ve farklılaşma ortamı olarak MS+0.5 mg/l K+2.5 mg/l NAA+0.5 mg/l 2,4-D ve MS+2 mg/l BAP+1 mg/l K+1 mg/l NAA ortamlarını kullanarak yaptıkları çalışmada; genotipin, farklılaşma responsunda ana belirleyici olmakla birlikte iki farklı gelişim fazında besin ihtiyaçlarının farklı olması sebebiyle farklılaşma ortamının, kallus ortamından farklı olması gerektiği, ele alınan 3 çeşitten 2'sinde kallus ortamındaki inorganik içeriğin farklılaşma responsunu belirgin derecede etkilemiş olduğunu rapor etmişlerdir.

Khan vd (1999), oksin ve sitokinin kombinasyonunun etkisini belirlemek amacıyla *indica* çeltik alt grubunda yer alan 25 genotipin olgun embriyolarını eksplant kaynağı olarak, besi ortamı olarak da kallus oluşumu için 2 mg/l 2,4-D ilave edilmiş MS ortamının BA'nın 0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mg/l kombinasyonundan oluşan besi ortamlarını ve farklılaşma ortamı olarak MS0, MS+0.5 mg/l BAP+0.05 mg/l IAA, N6-0, N6+0.05 mg/l BAP+0.05 mg/l IAA ve MS+4 mg/l IAA+2 mg/l Kinetin içeren besi ortamlarını kullandıkları araştırma sonucu; oksin ve sitokininin yüksek

konsantrasyonlarında kallus oluşumu fazla olmasına karşın farklılaşma ve bitki oluşumu için oldukça yetersiz kaldığını rapor edilmişlerdir.

Khatun vd (2003), farklı besi ortamlarında en iyi kallus responsunu belirlemek amacıyla 4 çeltik çeşidi ile yaptıkları araştırmada; kullanılan besi ortamları arasında en iyi kallus responsunun MS besi ortamında ve en yüksek bitki farklılaşma frekansının ise R ortamında elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Rashid vd (2004), Basmati çeltik çeşidinde yüksek farklılaşma frekansı elde etmek amacı ile yaptıkları araştırmada; N6 ortamının daha iyi büyüme ve kallus oluşumu sağladığı, bunun da N6 ortamının MS ortamından daha çok nitrojen ihtiva etmesinin bir sonucu olduğunu, sürgün oluşumunda BA'nın etkisinin kinetinin etkisinden daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Ali vd (2004), biri *japonica* biri *indica* alt grubunda yer alan iki çeltik çeşidinin olgun tohumlarını eksplant kaynağı olarak kullandıkları araştırmada; kallus oluşum ortamı olarak %3 şeker ve %0.8 agar ilave edilmiş *japonica* için N6+2,4-D (1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 mg/l) ve *indica* için N6+BAP+NAA (0.25, 0.50 ve 1.00 mg/l) ortamlarını, farklılaşma ortamı olarak MS+0.5 mg/l NAA+2 mg/l kinetin (*japonica* için) ve 3 mg/l kinetin (*indica* için)+ %3 şeker+phyta gel (%0.3, 0.4, 0.5, 0.6 ve 0.7) ortamlarını ve köklendirme ortamı olarak da %3 sucrose ve %0.3 phyta gel ilave edilmiş MS+0.5 mg/l NAA ortamını kullandıkları araştırma sonucu; her iki çeltik çeşidi için besi ortamındaki 2,4-D'nin varlığının kallus oluşumunda kritik şekilde önemli olduğunu, her iki çeşitte de oksin tipi ve karbon kaynağı arasındaki etkileşimin etkisini, kallus ortamının jel tipi ve phyta gel'in yüksek oranının sürgün farklılaşmasına faydalı etkisinin olduğunu rapor etmişlerdir.

Kurt vd (2008a), Taipei-309 çeltik çeşidinde farklı somatik eksplantların kallus ve bitkicik oluşumuna etkisini belirlemek amacıyla, MS0 ortamında yetiştirdikleri 11 günlük fidelerden aldıkları kök ve sap (boğum+boğum arası+yaprak) eksplantlarını kallus oluşumu için %3 şeker ve %0.7 agar ihtiva eden MS+2.5 mg/l 2,4-D ortamına, bu ortamda oluşan kallusları, %3 şeker ve %0.74 g agar ihtiva eden MS+0,5 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA farklılaşma ortamına, bu ortamda oluşan sürgünleri %3 şeker ve %0.76 g agar ihtiva eden MS+0.5 mg/l IAA köklendirme ortamına aktararak yaptıkları araştırma sonucu; besi ortamına alınan sap explantlarından kallus ve bitki oluşumu sağlandığını rapor etmişlerdir.

Kurt vd (2008b), çeltik (*Oryza sativa* L. Cv. Pusur)'te farklı eksplant tiplerinden kallus ve bitki oluşumunu incelemek amacıyla 12 günlük fidelerden aldıkları 8 farklı eksplant (kök, 1. boğum, 2. boğum, 1. boğumarası, 2. boğumarası, 1. yaprak, 2. yaprak ve sap) tipini kallus oluşumu için %3 şeker ve %0.7 agar ihtiva eden MS+2.5 mg/l 2,4- D ortamına, bu ortamda oluşan kallusları %3 şeker ve %0.74 g agar ihtiva eden MS+0,5 mg/l BAP+0,5 mg/l NAA farklılaşma ortamına, farklılaşma ortamında oluşan sürgünleri %3 şeker ve %0.76 g agar ihtiva eden MS+0.5 mg/l IAA köklendirme ortamına aktararak yürüttükleri araştırma sonucu; besi ortamına alınan sap, kök, I. boğum ve I. boğumarası explantlarından kallus oluşumu sağlandığını, farklılaşma ortamına aktarılan sap explantlarından orijin alan kalluslardan da bitki elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Ramesh vd (2009), fide yaşı, yaprak eksplantının pozisyonu ve 2,4- D konsantrasyonunun etkisini belirlemek amacıyla *indica* alt grubunda yer alan Rasi çeltik çeşidinin 4, 6, 8 ve 10 günlük fidelerinden alınan 4-5 mm uzunluğundaki yaprak eksplantlarını %3 sakkoroz ve %0.25 phytigel ilave edilmiş LS+11.3 mg/l 2,4-D+3 mg/l thiamine-HCL kallus oluşum ortamına, bu ortamda oluşan kallusları MS+2.2 mg/l BAP+0.27 mg/l NAA farklılaşma ortamına aktararak yürüttükleri araştırma sonucu; 11.3 mg/l 2,4-D ilave edilmiş besi ortamının maksimum kallus oluşturan ortam olduğunu, sadece 1. yaprak eksplantlarının totipotent ve bitki oluşturabilecek kallus oluşturduğunu, elde edilen bitkilerin fenotipik olarak tohumdan elde edilen bitkiler ile aynı özellikleri taşıdıklarını rapor etmişlerdir.

Verma vd (2011), Hindistan'da yağmurlu bölgelerde yetiştirilen Govind, aromatik Pusa Basmati-1 ve sulanan alanlarda yetiştirilen Jaya çeltik çeşitlerinin embriyolarını eksplant kaynağı olarak kullandıkları araştırma sonucu; bütün çeşitlerin hormon ilave edilmemiş MS ortamında iyi geliştiklerini, olgun ya da olgun olmayan embriyoların farklılaşmasında 2,4-D'nin konsantrasyonunun kritik derecede öneme sahip olduğunu, MS ortamına ilave edilen 2,4-D'nin konsantrasyonunun etkisinin çeşitten çeşide farklılık gösterdiğini ve 2,4-D'nin yüksek konsantrasyonlarında bütün çeşitlerin kallus oluşumunda azalma eğilimi gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Wani vd (2011), PR-116 çeltik çeşidinin tohumlarını, kallus oluşumu için değişik konsantrasyonlarda 2,4-D ve kinetin ihtiva eden MS ortamına ve farklılaşma ortamı olarak MS+BAP+KİN+NAA ortamına aldıkları araştırma sonucu; değişik

varyasyonlarda ve farklı oranlarda sürgünlerin oluştuğunu, kök oluşumunun sadece hormon ilave edilmemiş ½ MS ortamında olduğunu rapor etmişlerdir.

Ghobeishavi vd (2014), İran'da yetiştirilen iki çeltik çeşidinin 5 günlük fidelerinden 1 cm uzunluğundaki koleoptil eksplantlarını 2.5 mg/l 2,4-D ilave edilmiş MS ortamına alarak 4 hafta karanlıkta inkübe ettikleri araştırmada; çeşitler arasında somatik embriyogenesis ve kallus oluşumu açısından belirgin farklılıkların gözlemlendiğini, 2 mg/l kinetin+0.5 mg/l NAA içeren ortam ile 2 mg/l BAP+0.5 mg/l kinetin içeren ortamlarda bitki farklılaşma oranının yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Vennapusa vd (2015), kurağa dayanıklı AC39020 çeltik çeşidinin olgun tohumları üzerinde etkili bir kallus oluşumu ve bitki farklılaşma protokolü hazırlamak için yaptıkları araştırmada; besi ortamları arasında LS (Linsmaier & Skoog, 1965) ortamının belirgin derecede (%91.3) kallus oluşum frekansına sahip olduğunu, bitki farklılaşma frekansının ise MSBN2 ortamında belirgin derecede artmış olduğunu rapor etmişlerdir.

Din vd (2016), Panderas kır çeltik çeşidinin olgun tohumlarını eksplant kaynağı olarak kullandıkları araştırmada; 3 mg/l 2,4-D + 2 mg/l NAA ilave edilmiş MS ortamında kallus oluşum frekansının %90 olduğunu, 2,4-D ve NAA artırıldığında kallus oluşum yüzdesinin düştüğünü, tryptopan ilavesinin kallus oluşumunu hafif artırdığını, glutamin ilavesinin ise kallus oluşumuna etkisinin gözlenmediğini rapor etmişlerdir.

Rahman vd (2015), MRQ 74, MRQ 80 ve MRQ 50 aromatik çeltik çeşitlerinin kallus oluşum oranının 1 mg/l 2,4-D+10 mg/l NAA ihtiva eden MS-B5 ortamında %89 olduğunu, NAA+2,4-D içeren besi ortamındaki farklılaşmanın ise oldukça fazla olduğunu rapor etmişlerdir.

Sankepally & Singh (2016), *indica* alt grubunda yer alan 21 çeltik çeşidi ve değişik konsantrasyonlarda 2,4-D, kinetin, BAP, IAA, NAA, IBA ilave edilmiş MS ortamı kullanarak yaptıkları araştırma sonucunda; en yüksek kallus oluşumu ve farklılaşma oranının 3 mg/l 2,4-D+5 mg/l BAP ilave edilmiş MS ortamda elde edildiğini rapor etmişlerdir.

2.6. Kültür Şartları İle İlgili Genel Bilgiler

Çeltikte, kallus oluşum açısından ortam sıcaklığının genellikle 25  C olduğu (Kunanuvatchaidach vd, 1995; Houque & Mansfield, 2004), kallus oluşumu için kültür ortamının sıcaklığının, normal yetişme sıcaklığının üstüne çıkarıldığında albino bitki sayısının arttığı (Wang vd, 1978) rapor edilmiştir.

Abe & Futsufara (1984), 60  eltik çeşidinden iyi, sağlıklı 20'şer tohumu, 26  C'de, aydınlıkta, yetiştirme odasında 5-7 gün tuttuktan sonra, gelişen köklerden 1 cm uzunluğuunda eksplantlar alarak, 26  C'de farklılaşma ortamında alt kültüre almışlardır.

Khanna & Raina (1998), besi ortamına aldıkları embriyoları 26  C'de, karanlıkta, 3 hafta inkübe ettikten sonra oluşan kallusları, farklılaşma ortamında 16/8 saat fotoperiyotta alt kültüre almışlardır.

Khan vd (1999), kargo tohum ekilmiş kültür kavanozlarını, 25-27  C'de 16/8 saat fotoperiyota sahip yetiştirme odasında inkubasyona almışlardır.

Sahrawat & Chand (2001), kargo tohumları ektikleri kültür tüplerini, 2 gün karanlıkta beklettikten sonra 16/8 saat fotoperiyoda sahip ortama aktarıp, 3, 4, 5 ve 7. günde oluşan 1 cm uzunluğuundaki koleoptil segmentlerini, 24 2  C sıcaklığa ve 16/8 saat fotoperiyota sahip fide ortamına aktarmışlardır.

Rashid vd (2004), 23 2  C sıcaklık ve 16/8 saat fotoperiyota sahip yetiştirme odasında bekletilen kalluslardan oluşan sürgünleri k klenmeleri için büyüme düzenleyicisi içermeyen MS ortamına aktarmışlardır.

Hoque & Mansfield (2004), 4 farklı  eltik çeşidinin tohumlarını MS ortamına ekip, 25 1  C'de 16/8 saat fotoperiyota sahip iklim odasında beklettikten sonra 3, 5, 7 ve 9. günde oluşan köklerden 1 cm uzunluğuunda kök parçalarını eksplant kaynağı olarak kullanmışlardır.

Kurt vd (2008a), farklılaşma ortamına aktardıkları kallusları, 26  C sıcaklık ve 12/12 saat fotoperiyot sağlayan koşullarda bekletmişlerdir.

Kurt vd(2008b), çeşitli ekslant kültürlerini kallus oluşumu için inkübatörde, 28  C sıcaklık ve karanlık koşullar beklettikten sonra 26  C sıcaklık ve 16/8 saat fotoperiyota sahip farklılaşma ortamına aktarmışlardır.

Ramesh vd (2009), ½ MS ortamına ektikleri tohumları 26±2 °C sıcaklık ve karanlık ortamda 4-10 gün beklettikten sonra 4, 6, 8 ve 10 günlük fidelerden aldıkları eksplantları kallus oluşumu için 2,4-D+3.0 µM Thiamin HCL+% 3 sakkaroz+0.25 phytigel içeren LS ortamına aktarıp, 26±2 °C’de bekletildikten sonra oluşan kalluslar oksin ve sitokininlerin farklı konsantrasyonlarını içeren MS farklılaşma ortamına aktarılıp, 26±2 °C sıcaklık ve 16/8 saat fotoperiyotta sahip iklim odasında bekletmişlerdir.

Wani vd (2011), tohumları kallus oluşumu için 2,4-D ve kinetin ihtiva eden MS ortamında 25±2 °C sıcaklık ve karanlıkta kültüre almışlardır.

Sompornpailin & Chutipaijit (2012), kinetin etkisini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada; olgun tohumdan alınan embriyonik kallusları 500 mg/l glutamin+2 mg/l 2,4-D+0.5 mg/l kinetin ihtiva eden NBM besi ortama aktarmış ve karanlıkta 4 hafta bekletmişlerdir.

Puhan & Siddiq (2013), yabani, *indica* ve *japonica* alt gruplarında yer alan 12 çeltik çeşidini kullanarak yaptıkları çalışmada; 30 g/l sucrose + 8 g/l agar içeren MS ve N6 sade besi ortamlarını veya 2,4-D, BA, NAA, CH, IAA, IBA, ADS, TDZ hormonlarını içeren farklılaşma ortamlarını 25±2 °C sıcaklık ve 16/8 saat fotoperiyotta tutmuşlardır.

Ghobeishavi vd (2015), iki çeltik çeşidine ait olgun embriyoları, kallus oluşumu için 2 mg/l 2,4-D+30 g/l sucrose+7 g/l agar içeren MS ortamına ektikten sonra 25-27°C sıcaklık ve karanlık ortamda bekletmişlerdir.

Sankepally & Singh (2016), kültür ortamına ekilmiş tohumları 25±°C sıcaklık ve aydınlık ortamda 35 gün beklettikten sonra oluşan kallusları ve sürgünleri, hormon içeren MS besi ortamında alt kültüre almışlardır.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu araştırma; Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Araştırma-Uygulama Laboratuvarı ve Bitki Yetiştirme Ünitesinde yürütülmüştür.

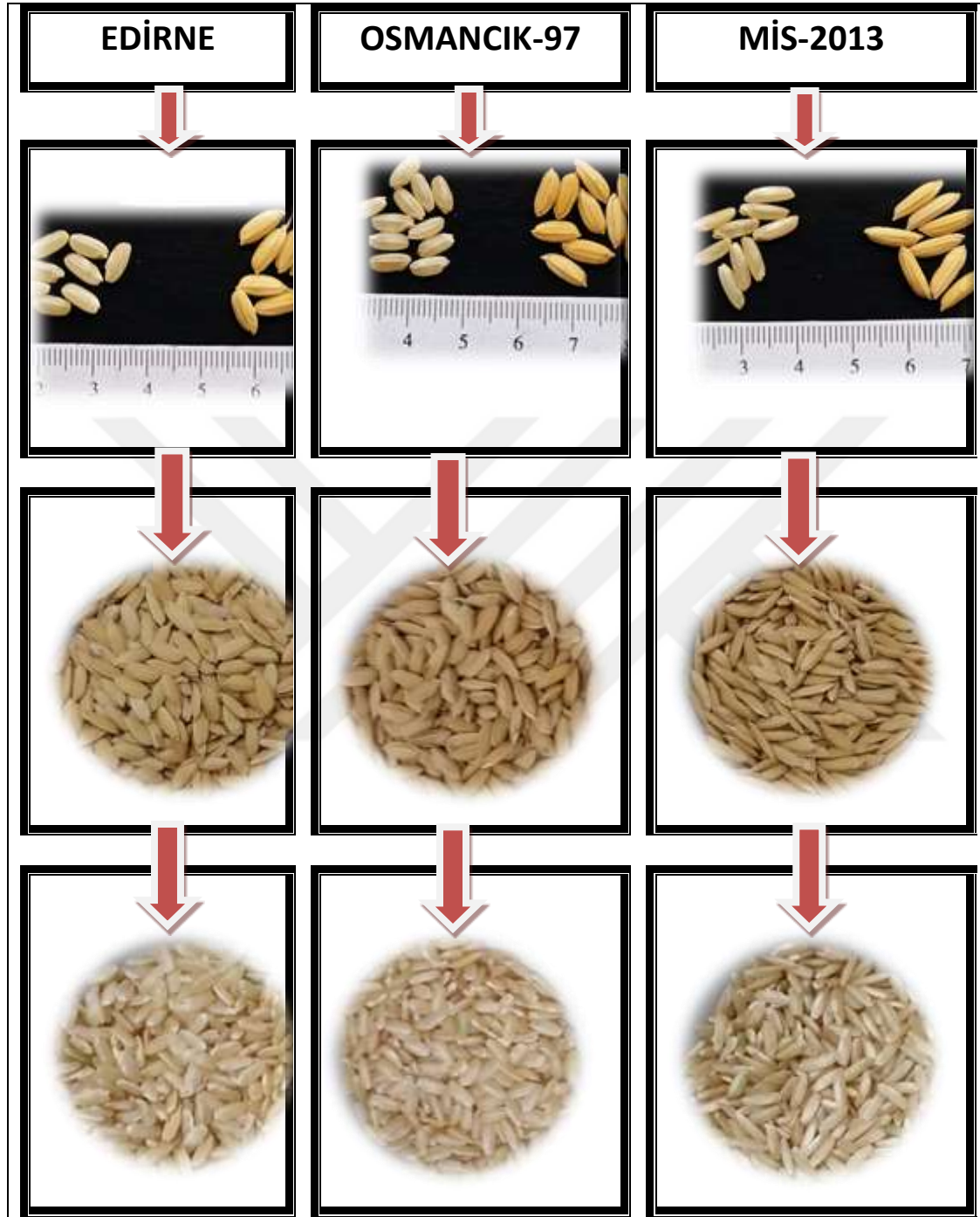
3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Araştırmada bitki materyali olarak Edirne, Osmancık-97 ve Mis-2013 çeltik çeşitleri kullanılmıştır. Kullanılan çeşitlerin tohumları, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğünden temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan çeşitlerin teknik ve tarımsal özellikleri Çizelge 3.1’de ve çeşitlere ait tohumların genel görünimleri Şekil 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3. 1. Denemede kullanılan çeltik çeşitlerinin bazı özellikleri (Anonim, 2016d).

Özellik	Edirne	Osmancık-97	Mis-2013
Orjini	Baldo XCalendal	RoccaXEuropa	YRF-204XOsmancık-97
Tescil Yılı	2004	1997	2013
Verim (Kg/da)	650-700	700-750	800-850
Kırıksız Pirinç Randımanı(%)	60-65	65	60
Olgunlaşma süresi (gün)	125-130	130-135	122
Bitki Boyu (cm)	100-105	100	98
Çeltik 1000 Dane (gr)	38-39	34-35	33.1
Çeltik Uzunluğu (mm)	9.3	8.9	10.1
Çeltik Genişliği (mm)	3.2	3.3	2.7
Pirinç Uzunluğu (mm)	6.9	6.4	7.7
Pirinç Genişliği (mm)	2.9	2.9	2.4
Çeltik Dane Özelliği	Sarı-uzun	Sarı-uzun	Sarı-Uzun
Pirinç Yapısı	Camsı	Camsı-mat	Camsı
Salkım Durumu	Yarı Yatık	Yarı Dik	Yarı Düşük



Şekil 3.1 . Araştırmada kullanılan çeşitlere ait tohumların genel görünüşleri

3.1.2. Toprak materyali

Besi ortamında gelişen bitkiler, gelişmelerini tamamlamaları için Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri deneme alanından alınan ve saksılara doldurulan tarla toprağına aktarılmışlardır. Bitkiler saksılara aktarılmadan önce 20 cm çapında ve 3 kg toprak kapasitesine sahip plastik kaplar, üst kısımda 5 cm boşluk kalacak biçimde tarla toprağı ile doldurulmuşlardır.

3.1.3. Besi ortamı

Araştırmada 3 farklı besin ortamı kullanılmıştır. Bu ortamlar:

- 1) Eksplant alınacak fide yetiştirme ortamı: Bu amaçla 7 gr/l agar ve 30 gr/l şeker ihtiva eden MS (Murashige & Skoog, 1962) ortamı kullanılmıştır.
- 2) Kallus ve sürgün oluşumu kullanılan besin ortamı: Kallus oluşumu için 7 gr/l agar ve 30 gr/l şeker ihtiva eden LS ortamına ilave olarak aşağıda verilen hormon konsantrasyonlarını içeren ortamlar kullanılmıştır.
 - i) LS
 - ii) LS +BAP (1mg/l)
 - iii) LS + 2,4-D (2.5 mg/l)
 - iv) LS+ 2,4-D (2.5 mg/l) +BAP (1mg/l)
- 3) Kök oluşumu için kullanılan besin ortamı: Köklendirme ortamı olarak 7 gr/l agar, 30 gr/l şeker ve 2 g/l IAA ihtiva eden MS ortamı kullanılmıştır.

Kullanılan besin ortamlarının içerikleri Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Besin ortamları hazırlanırken kullanılan maddelerin miktarları hassas terazi ile tartılmıştır. Tartılacak kimyasal madde çeşidinin çok sayıda ve tartılacak kimyasal madde miktarlarının az olması nedeniyle her çalışma anında maddelerin tek tek tartılması hem zor hem de çok zaman kaybına yol açacağı için çeşitli konsantrasyonlarda stok çözeltiler hazırlanmıştır.

Besin ortamı hazırlanırken bu stok çözeltilerin, ortamın gerektirdiği konsantrasyonu içerecek miktarları kullanılmıştır.

Hazırlanan stok çözeltiler, bozulmalarını önlemek için cam şişelere konulup ağızları dışarıdan hava girişini önleyecek biçimde sıkıca kapatılmış ve üzerlerine

kullanılan kimyasal madde, formülü, konsantrasyonu ve hazırlama tarihi yazılı etiketler yapıştırılarak +4 °C’de, karanlık ortamda, saklanmıştır.

Çizelge 3. 2. Araştırmada kullanılan besi ortamları ve ihtiva ettikleri kimyasal maddelere ilişkin veriler.

Kimyasal Bileşenler	Kültür Ortamlarındaki Konsantrasyonu (mg/l)	
	MS	LS
CaCl ₂ ·2H ₂ O	332.200	332.200
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025	0.025
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025	0,025
FeNaEDTA	36.700	36.700
H ₃ BO ₃	6.200	6,200
KH ₂ PO ₄	170.000	170.000
KI	0.830	0.830
KNO ₃	1,900.000	1,900.000
MgSO ₄ ·6H ₂ O	180.540	180.540
MnSO ₄ ·H ₂ O	16.900	16.900
NH ₄ NO ₃	1,650.000	1,650.000
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.250	0.250
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8.600	8.600
Glycine	2.000	
Myo-Inositol	100.000	100.000
Nicotink Asit	0.500	
Pyridoksin HCl	0.500	
Thiamin HCl	0.100	0.400
Sucrose	30,000.000	30,000.000
Agar	7,000.000	7,000.000

3.1.3.1. Stok çözeltiler

Makro stok (10x)

1 litrelik cam beher’e yaklaşık 500 ml saf su konulup, daha sonra Çizelge 3.3’ de verilen kimyasal maddeler, sırayla hassas terzide tartılarak ilave edilmiş ve manyetik karıştırıcı yardımıyla kimyasal maddelerin çözünmesi sağlanmıştır. Kimyasal maddeler çözüldükten sonra karışımın hacmi saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Stok çözeltisi içerisindeki kimyasal maddeler çökelti oluşturma eğiliminde olması sebebiyle, çökelti oluşumunu engellemek ve kullanımı öncesi stok çözeltisini karıştırmak amacıyla, stok çözeltisi içerisine manyetik balık konulmuştur. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltiden 100 ml çözelti kullanılmıştır.

Çizelge 3. 3. Makro stok çözeltisinde yer alan kimyasal maddeler ve miktarları

Kimyasal Maddeler	Miktar (gr)
Amonyum nitrat (NH_4NO_3)	16.5
Potasyum nitrat (KNO_3)	19.0
Kalsiyum klorür ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	4.4
Magnezyum sülfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	3.7
Potasyumdihidrojenfosfat (KH_2PO_4)	1.7

Mikro Stok (1000X)

100 ml cam behere yaklaşık 25 ml saf su konulup, üzerine daha sonra Çizelge 3.4' de verilen kimyasal maddeler sırayla, hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılan kimyasal maddelerin çözünmesi sağlanmıştır. Kimyasal maddeler çözündükten sonra, karışımın hacmi, saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. Stok çözeltisi içerisindeki kimyasal maddeler, çökelti oluşturma eğiliminde olması sebebiyle, çökelti oluşumunu engellemek ve kullanımı öncesi stok çözeltisini karıştırmak amacıyla, stok çözeltisi içerisine manyetik balık konulmuştur. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltiden 1 ml çözelti kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Mikro stok çözeltisinde yer alan kimyasal maddeler ve miktarlar

Kimyasal Maddeler	Miktar (mg)
Borik asit (H_3BO_3)	0.62
Manganez sülfat ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	2.23
Çinko sülfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.86
Sodyum molibdat ($\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.025
Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0.0025
Kobalt klorür ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.0025

KI stoğu (1000x)

100 ml cam behere yaklaşık 25 ml distile saf su konulup, daha sonra KI hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla maddenin çözünmesi sağlanmıştır. Madde çözündükten sonra karışımın hacmi saf su ilavesi ile 100 ml tamamlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti + 4 °C'de, karanlık ortamda

saklanmıştır. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltinin 1000 µl (1 ml)'si kullanılmıştır.

Demir stoğu (1000x)

100 ml cam behere yaklaşık 25 ml distile saf su konulup, daha sonra Demir sülfat ve Sodyum EDTA sırayla hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla maddelerin çözünmesi sağlanmıştır. Maddeler çözündükten sonra karışımın hacmi saf su ile 100 ml tamamlanmıştır. Hazırlanan stok çözelti renkli cam şişelere konduktan sonra + 4 °C'de, karanlık ortamda saklanmıştır. Demir stok çözeltisinin, ışık karşısında dayanıksız olması nedeniyle karanlıkta kalmasına dikkat edilmiştir. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltinin 1000 µl (1 ml)'si kullanılmıştır.

Çizelge 3. 5. Demir stok çözeltisinde yer alan kimyasal maddeler ve miktarlar

Kimyasal Maddeler	Miktar (gr)
Demir sülfat (FeSO ₄ .7H ₂ O)	0.278
Sodyum EDTA (Na ₂ EDTA)	0.373

Vitamin stokları

Thiamine HCl Stoğu (1000x)

100 ml'lik cam behere yaklaşık 25 ml saf su konulup, daha sonra 0.04 mg Thiamine HCL hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla maddenin çözünmesi sağlanmıştır. Madde çözündükten sonra karışımın hacmi saf su ile 100 ml tamamlanmıştır. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltinin 1000 µl (1 ml)'si kullanılmıştır.

Myo-inestol stoğu (100x)

100 ml'lik cam behere yaklaşık 25 ml saf su konulup, daha sonra 1 g Myo-inestol hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla maddenin çözünmesi sağlanmıştır. Madde çözündükten sonra karışımın hacmi saf su ile 100 ml tamamlanmıştır. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltinin 100 µl (10 ml)'si kullanılmıştır.

Hormon stokları

BAP hormon stoğu (1000X)

100 ml'lik cam behere yaklaşık 10 ml 1 M NaOH konulup, daha sonra 0.5 mg BAP hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla maddenin çözünmesi sağlanmıştır. Madde çözündükten sonra karışımın hacmi saf su ile 100 ml tamamlanmıştır. Bu stok her 1 ml'sinde 0,1 mg BAP içermektedir. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltinin 500 µl (0.5 ml)'si kullanılmıştır.

IAA Hormon stoğu (1000X)

100 ml'lik cam behere yaklaşık 10 ml 1 M NaOH konulup, daha sonra 0.5 mg IAA hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla maddenin çözünmesi sağlanmıştır. Madde çözündükten sonra karışımın hacmi saf su ile 100 ml tamamlanmıştır. Bu stok her 1 ml'sinde 0.1 mg BAP içermektedir. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltinin 500 µl (0.5 ml)'si kullanılmıştır.

2,4-D Hormon stoğu (1000x)

100 ml'lik cam behere yaklaşık 10 ml 1 M NaOH konulup, daha sonra 2.5 mg 2,4-D hassas terazide tartılarak ilave edilmiştir. Manyetik karıştırıcı yardımıyla maddenin çözünmesi sağlanmıştır. Madde çözündükten sonra karışımın hacmi saf su ile 100 ml tamamlanmıştır. Bu stok her 1 ml'sinde 0.1 mg 2,4-D içermektedir. 1000 ml besi ortamı hazırlamak için bu çözeltinin 2500 µl (2.5 ml)'si kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Besi ortamı karışımının hazırlanması

3.2.1.1. Fide ortamı

1 litrelik cam behere yaklaşık 600 ml saf su konulup, üzerine ticari olarak toz halde satılan ve MS (Murashige & Skoog, 1962) olarak adlandırılan besi ortamının makro ve mikro besin elementlerini içeren karışımından 4.40 gr eklenmiştir. Karışıma 30 gr şeker ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karışımın miktarı saf su ilavesi ile 1 litreye tamamlanmıştır. Karışımın PH'sı ayarlandıktan sonra karışıma 7 gram agar ilave edilmiştir. Karışım 1 l'lik duran şişesine aktarılmıştır. Duran

şişesinin kapağı kapatıldıktan sonra kapak üzerine otoklav bandı yapıştırılmış ve duran şişesi sterilizasyon amacıyla otoklava aktarılmıştır. Sterilizasyon işlemi 121 °C’de 30 dakika otoklavda yapılmıştır.

Sterilizasyon sonrası besi ortamının bulunduğu duran şişesi manyetik karıştırıcı üzerine alınarak, besi ortamının sıcaklığı yaklaşık 33-35 °C’ye kadar düşmesi için karıştırılarak bekletilmiştir. Otoklavda sterilize edilmiş magenta kapları, steril kabinde açılarak, her magenta kabında yaklaşık 50 ml olacak şekilde besi ortamı dökülmüştür. Magenta kaplarındaki besi ortamı soğuyup donduktan sonra magenta kaplarının kapakları kapatılmış ve ağızları streç film ile sarılmıştır. Magenta kaplarının üzerine besi ortamının adı yazıldıktan sonra besi ortamları kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.2.1.2. Kallus ve sürgün ortamı

1 litrelik cam behere yaklaşık 600 ml saf su konulup, üzerine LS (Linsmaier & Skoog, 1965) besi ortamının makro ve mikro besin elementlerini ihtiva eden stok çözeltilerinden ilave edildikten sonra Potasyum iyodür, Demir EDTA, Thiamin HCl ve Myo-inestol stok çözeltilerinden gerekli miktarlarda, sırasıyla pipet yardımıyla ilave edilip, manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra LS+1 mg/l BAP besi ortamı için BAP stok çözeltilerinden gerekli miktarda BAP, LS+2.5 mg/l 2,4-D besi ortamı için 2,4-D stok çözeltilerinden gerekli miktarda ve LS+2.5 mg/l 2,4-D+1mg/l BAP besi ortamı için gerekli miktarda 2,4-D ve BAP ilave edilerek karıştırılmıştır. Karışım sonrası ortama 30 gr şeker ilave edilerek, karışım 1 litreye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH’sı 5.8’e ayarlandıktan sonra çözeltiliye 7 gr/l agar ilave edilmiştir. Karışım 1 l’lik duran şişesine aktarılmıştır. Duran şişesinin kapağı kapatıldıktan sonra kapak üzerine otoklav bandı yapıştırılmış ve duran şişesi otoklava aktarılmıştır. Sterilizasyon işlemi 121 °C’de 30 dakika otoklavda yapılmıştır.

Sterilizasyon sonrası besi ortamının bulunduğu duran şişesi manyetik karıştırıcı üzerine alınarak, besi ortamının sıcaklığı yaklaşık 33-35 °C’ye kadar düşmesi için karıştırılarak bekletilmiştir. Etüvde sterilize edilmiş 9 cm’lik petri kapları, steril kabinde açılır ve her petri kabında yaklaşık 50 ml olacak şekilde besi ortamı dökülmüştür. Petri kaplarındaki besi ortamı soğuyup donduktan sonra petri kaplarının kapakları kapatılmış ve kenarları streç film ile sarılmıştır. Magenta

kaplarının üzerine besi ortamının adı yazıldıktan sonra besi ortamları kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.2.1.3. Köklendirme ortamı

1 litrelik cam behere yaklaşık 600 ml saf su konulup, üzerine 4.40 g MS besi ortamının makro ve mikro besin elementlerini içeren, ticari olarak toz halde satılan MS ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra IAA stok çözeltisinden 2 mg/l IAA olacak şekilde gerekli miktarlarda, pipet yardımıyla ilave edilip karıştırılmıştır. Karışım sonrası ortama 20 gr şeker ilave edilerek, karışım 1 litreye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH'sı 5.8'e ayarlandıktan sonra çözeltiye 7 gr/l agar ilave edilmiştir. Karışım 1 l'lik duran şişesine aktarılmıştır. Duran şişesinin kapağı kapatıldıktan sonra kapak üzerine otoklav bandı yapıştırılmış ve duran şişesi otoklava aktarılmıştır. Sterilizasyon işlemi 121 °C'de 30 dakika otoklavda yapılmıştır.

Sterilizasyon sonrası besi ortamının bulunduğu duran şişesi manyetik karıştırıcı üzerine alınarak, besi ortamının sıcaklığı yaklaşık 33-35 °C'ye kadar düşmesi için karıştırılarak bekletilmiştir. Otoklavda sterilize edilmiş magenta kapları, steril kabinde açılır ve her magenta kabında yaklaşık 50 ml olacak şekilde besi ortamı dökülmüştür. Magenta kaplarındaki besi ortamı soğuyup donduktan sonra magenta kaplarının kapakları kapatılmış ve ağızları streç film ile sarılmıştır. Magenta kaplarının üzerine besi ortamının adı yazıldıktan sonra besi ortamları kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.2.1.4. pH ayarı

Besi ortamlarının pH'sı otoklav öncesi besi ortamına agar ilave edilmeden önce yapılmıştır. Hazırlanan besi ortamının pH'sı ölçülmeden önce buffer solüsyonlar kullanılarak pH metrenin kalibrasyonu yapılmıştır. Kalibrasyon sonrası besin ortamlarının pH'sı, ilgili besi ortamının protokolünde belirtildiği pH aralığındaki pH derecesine (5.79–5.80) göre ayarlanmıştır. Besi ortamının pH derecesinin ayarlanmasında 1 Molar NaOH ve 1 Molar HCl stok çözeltileri kullanılmıştır.

3.2.1.5. Besi ortamı sterilizasyonu

Besi ortamının pH'sı ilgili protokolde belirtilen derecede ayarlandıktan sonra duran şişesine aktarılan besi ortamına 7 g/l olacak biçimde plant agar ilave edilmiş ve magnetik karıştırıcıda karıştırılarak besi ortamına homojen biçimde karışması sağlanmıştır. Duran şişesinin kapağı kapatıldıktan sonra kapak üzerine otoklav bandı yapıştırılmış ve duran şişesi otoklava aktarılmıştır. Sterilizasyon işlemi 121 °C'de 30 dakika otoklavda yapılmıştır.

3.2.1.6. Besi ortamı dökülecek kapların sterilizasyonu

Cam petri kapları yıkanıp, saf sudan geçirildikten sonra üçerli grup halinde gazete kağıdına sarılarak, etüvde 180 °C'de 3 saat bekletilerek sterilize edilmişlerdir. Magenta kapları ise yıkanıp, saf sudan geçirildikten sonra kapakları kapatılarak aktarılmış ve otoklavda 121 °C'de 30 dakika bekletilerek sterilize edilmişlerdir

3.2.1.7. Besi ortamının petri veya magenta kaplarına dökülmesi

Sterilizasyonu yapılan besin ortamları, sıcaklıklarının el yakmayacak şekilde, yaklaşık 33-35 °C' kadar düşmesi için manyetik karıştırıcı üzerinde, karıştırılarak bekletilmiştir. Daha sonra steril kabinde, sterilizasyonu bozmamaya dikkat edilerek hazırlanan besi ortamının kullanım amacına göre besin ortamı steril 9 cm çapındaki cam petri kaplarına (her petride 50 ml besi ortamı olacak şekilde) veya steril magenta kaplarına (her magenta kabında 50 ml besi ortamı olacak şekilde) dökülmüştür.

Dökülen kaplardaki besi ortamı soğuyup donduktan sonra kapların kapakları kapatılmış ve ağızları streç film ile sarılmıştır. Magenta kaplarının üzerine ve petri kaplarının alt yüzeyine besi ortamının adı yazıldıktan sonra besi ortamları kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.2.2. Besi ortamına ekim

3.2.2.1. Ön hazırlık

Tohum hazırlığı

Çeltik tohumlarının dış kısmında bulunan kavuzların da bulunan kısa kılçıklarının ve kavuzların yapısı nedeniyle sterilizasyon da problem oluşturduğu için kavuzları çeltik tanesinden ayrılmış ve kargo haline getirilmiştir.

Ortam hazırlığı

Steril kabin hazırlığı yapılır. Çalışmadan en az 20 dakika önce kabin ve çalışmada kullanılacak olan elektrikli sterilizatör çalıştırılmıştır. Kabin, %99.5'luk etil alkol ile düzgün bir biçimde silinmiştir. Kullanılacak cımbız ve uçları değiştirilen bistüriler elektrikli sterilizatöre konularak, 240 °C'de 20 dakika bekletilerek sterilize edilmişlerdir. Masa üstünde cımbız ve bistürülerin konacağı metal altlık, alev sterilizatörü ile sterilize edilmiştir.

Sterilizasyon hazırlığı

Sterilizasyonda kullanılan steril su, %70'lik etanol ve %20'lik NaOCl hazırlığı Kurt vd (2008a; 2008b)'nin önermiş olduğu yönetime göre aşağıdaki gibi yapılmıştır.

ı) Su sterilizasyonu: Durağan şişelere, kapasitelerinden bir miktar daha az olacak biçimde saf su doldurulduktan sonra, şişenin kapağına otoklav bandı yapıştırılmış ve şişeler otoklavda aktarılmıştır. Otoklavda 121 °C'de 30 dakika sterilize edilen durağan şişelerdeki su, soğuma bırakılmış ve soğuma sonrası kullanılıncaya kadar da laboratuvar koşullarında saklanmıştır.

ıı) %70'lik Etanol hazırlanması: %96'lık etanolden, steril kabinde 100 ml ölçü silindirine hesaplanan miktarda (%96'lık etanol 73 ml) etanol konularak üzerine steril su ilave edilerek 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan %70'lik etanol çözeltisi 100 ml kapasiteli durağan şişeye aktarılmıştır. Şişe ağzı kapatılıp, üzerine içerisindeki maddenin içeriğini, konsantrasyonunu ve hazırlandığı tarihi gösterir kağıt etiket yapıştırıldıktan sonra içindeki çözelti kullanılıncaya kadar laboratuvar koşullarında saklanmıştır.

iii) %20'lik NaOCl hazırlanması: Steril kabin içinde %50'lik NaOCl çözeltisinden steril kabinde 100 ml ölçü silindirine hesaplanan miktarda (%50'lik NaOCl çözeltisinden 40 ml) NaOCl konularak üzerine steril su ile edilerek 100 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan %20'lik NaOCl çözeltisi 100 ml kapasiteli durağan şişeye aktarılmıştır. Şişe ağzı kapatılıp, üzerine içerisindeki maddenin içeriğini, konsantrasyonunu ve hazırlandığı tarihi gösterir kağıt etiket yapıştırıldıktan sonra içindeki çözelti kullanılıncaya kadar laboratuvar koşullarında saklanmıştır.

iv) Kurutma kağıtlı petri sterilizasyonu: 9 cm çapındaki petrilerin içerisine, petrilerin kenarına değmeyecek biçimde, uygun büyüklükte kesilen kurutma kağıtları konduktan sonra petriler üçerli gruplar halinde gazete kağıtlarına sarılarak etüvde 180 °C'de 3 saat bekletilmişlerdir. Sterilizasyon sonrası etüvden alınan petriler kullanılıncaya kadar sterilizasyonları bozulmayacak biçimde +4 °C'de saklanmışlardır.

v) Petri sterilizasyonu: Steril besi ortamında yetiştirilen bitkilerden eksplant almadan önce bitkilerin aktarıldığı 9 ve 18 cm çapındaki cam petri kapları üçerli gruplar halinde gazete kağıdına sarılarak etüvde 180° de 3 saat bekletilerek sterilize edildikten sonra kullanılıncaya kadar laboratuvar koşullarında saklanmışlardır.

3.2.2.2. Tohum sterilizasyonu

i) Sıcaklık ön muamelesi: Her çeşitten kargo haline getirilmiş olan yaklaşık 80-100 adet tohum, 100 ml'lik steril duran şişe içerisine aktarıldıktan sonra şişe 52-56 °C sıcaklığa sahip su banyosunda 15 dakika bekletilerek ön muamele yapılmışlardır.

ii) Yüzey sterilizasyonu: Steril kabı içinde ön muamele yapılmış her çeşide ait kargo halindeki tohumların bulunduğu duran şişelerine, tohumların üzerini kaplayacak biçimde %70'lik etanolden ilave edilip, 1 dakika müddetçe çalkalanmıştır. Süre sonunda Etanol boşaltılmış ve tohumlar 3 kez steril su ile durulanmıştır. Duran şişe içerisine tohumların üzerini kaplayacak miktarda bir kaç damla Tween-20 ile zenginleştirilmiş %20'lik NaOCl ilave edilmiş ve duran şişeler yatay karıştırıcıda 20 dakika karıştırılmıştır. Süre sonunda duran şişe içindeki NaOCl boşaltılmış ve tohumlar 3-5 kez steril su ile durulanmıştır.

iii) Tohum dinlendirilmesi: Steril kabin içinde, yüzey sterilizasyonu tamamlanmış tohumlar içinde kurutma kağıdı bulunan 9 cm çapındaki steril petri kaplarına

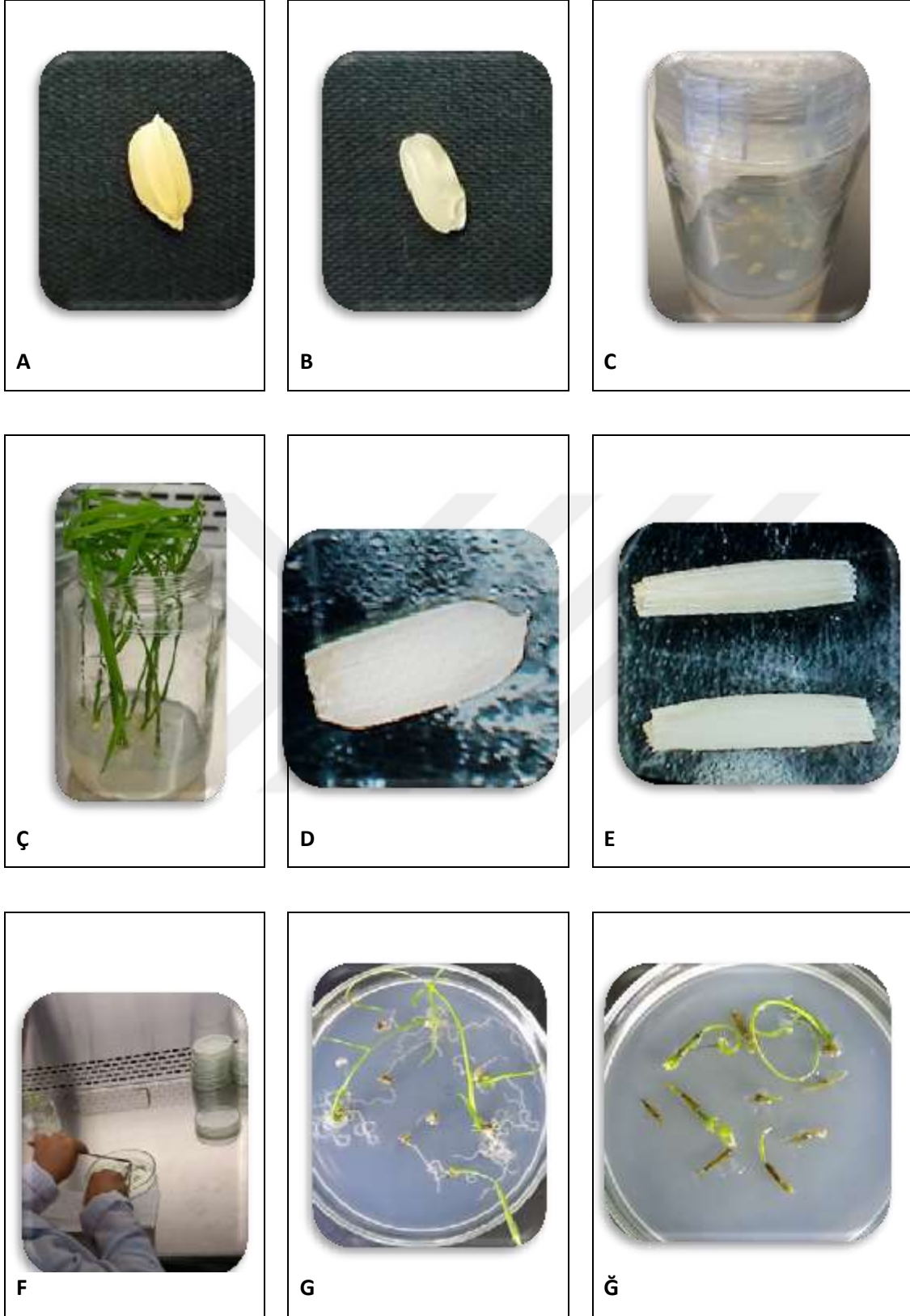
aktarılmışlardır. Tohumların üzerindeki sterilizasyon amaçlı kullanılan çözeltilerden kaynaklanan nemliliğin uzaklaşması sağlanmıştır.

3.2.2.3. Tohumların besi ortamına ekimi

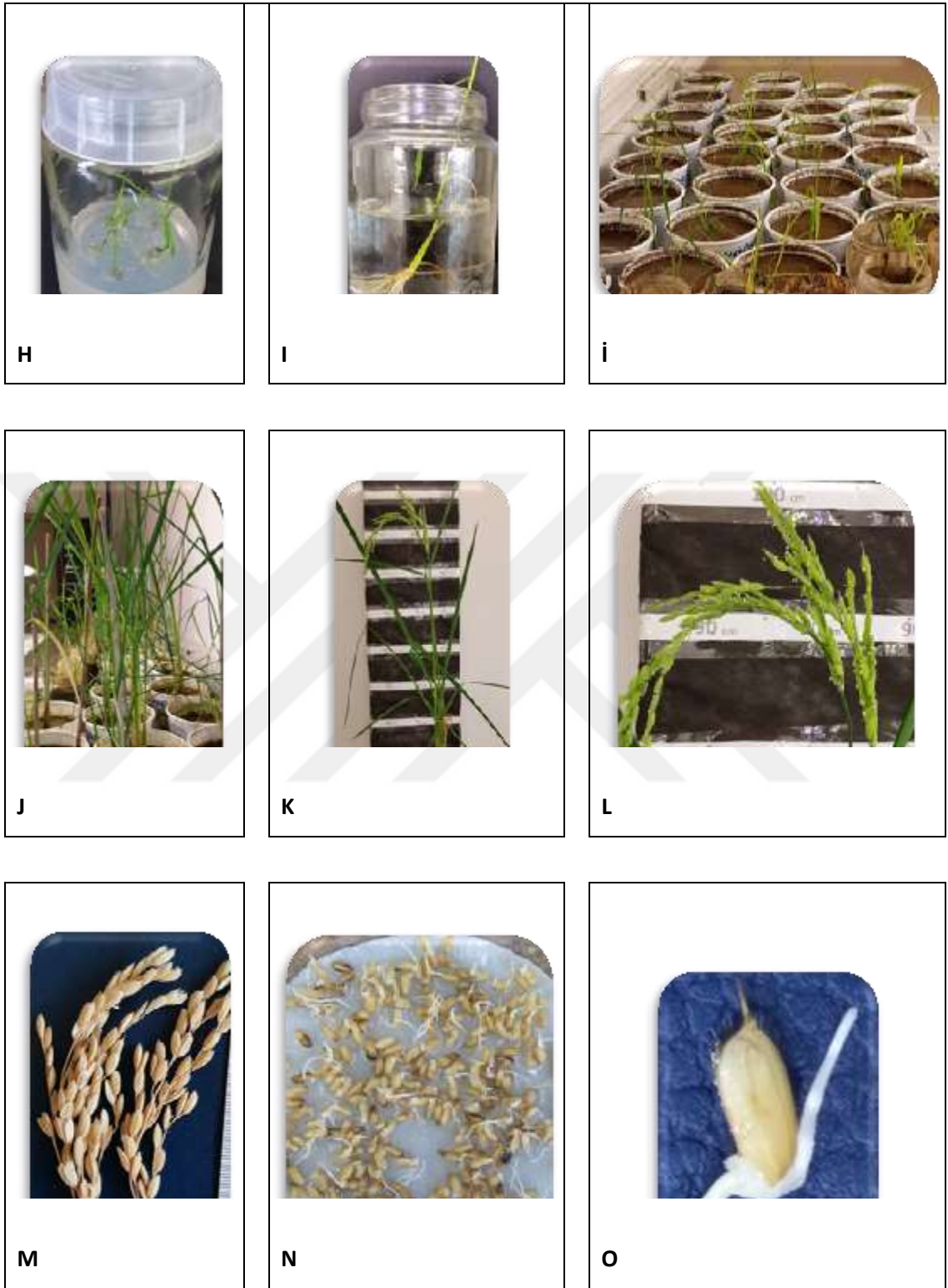
En az bir gün önceden hazırlanmış olan fide ortamının bulunduğu 6 cm çapındaki magenta kaplarına, her magenta kabında 10 tohum ve her çeşitten 4 tekerrür olmak üzere, steril kabinde ekim yapılmıştır (Şekil 3.2c). Ekim sonrası magenta kaplarının kapakları kapatılıp, ağız kısımları streç film ile sarılmış ve magenta kaplarının üzerine cam kalemi ile tarih, çeşide ait bilgiler yazılmıştır. Daha sonra magenta kapları, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak biçimde fotoperiyot sağlayan, 26 °C'deki iklim dolabına aktarılmışlardır. İklim odasında günlük kontroller yapılarak çimlenme ve fide gelişme durumu ile bulaşma olup-olmadığı kaydedilmiştir. Bulaşma durumunda tekerrür yenilenmiştir.

3.2.3. Eksplantların alınması

Fide ortamında yetiştirilen fideler 12 günlük olduklarında, steril kabin içerisinde, besi ortamından steril petri kaplarına aktarıldıktan sonra bu fidelerden steril cımbız ve bistürü yardımı ile alınan eksplantlar besi ortamına ekilmiştir. Her fideden I. boğum (kök tacı üzerinde bulunan 3-5 mm uzunluğundaki kısım) ve I. boğuması (1. boğum ile 2. boğum arasında kalan 1 cm'lik kısım) olmak üzere 2 farklı explant alınmıştır (Şekil 3. 2f). Her çeşitten 4 tekerrür olmak üzere 9 cm çapındaki her bir petri kabına 10 eksplant ekilmiştir. Ekim sonrası kapağı kapatılan petri kaplarının kapakları kapatılmış ve ağız kısımlarının etrafı pafilm ile sarıldıktan sonra petri kabının üzerine çeşit adı, eksplant tip, ekim tarihi ve tekerrür numarasını kapsayan bilgiler yazıldıktan sonra petri kapları 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak biçimde fotoperiyot sağlayan, 26 °C'deki iklim odasına aktarılmışlardır. İklim odasında günlük kontroller yapılarak bulaşma olup-olmadığı kaydedilmiştir. Bulaşma durumunda tekerrür yenilenmiştir. Ayrıca kontroller esnasında kallus ya da sürgün ortamlarında sürgün oluşturma durumu kayıt altına alınmıştır.



Şekil 3.2. Araştırmada yapılan işlemlerin iş akış şeması



Şekil 3.2. Araştırmada yapılan işlemlerin iş akış şeması (devam)

a) Kavuzlu çeltik tohumu, **b)** Kargo çeltik tohumu, **c)** MS besi ortamına ekilmiş tohumlar, **ç)** 12 günlük explant alınacak fideler, **d)** I. boğum eksplantının binoküler mikroskobu altında görünümü, **e)** I. boğumarası eksplantının binoküler mikroskobu altında görünümü, **f)** Steril kabinde eksplant alma işlemi, **g)** Sürgün veren I. boğum explantları, **ğ)** Sürgün veren I. boğum arası explantları **h)** MS+2 IAA köklendirme ortamına aktarılmış sürgünler, **ı)** Besi ortamından arındırmak için suda bekletilen fideler, **i)** Toprağa şaşırtılan fideler, **j)** 70 günlük bitkilerin genel görünümü, **k)** Çiçeklenme döneminde bir bitkinin genel görünümü, **l)** Çiçeklenme döneminde bir salkımın görünümü, **m)** Olgunlaşmış bir salkım, **n)** Çimlenen tohumların genel görünümü, **o)** Çimlenmiş bir tohumun görünümü.

3.2.4. Oluşan sürgünlerin köklendirme ortamına alınması

Rutin kontroller esnasında eksplantlardaki farklılaşmaya bağlı olarak oluşan sürgünler, steril kabin içerisinde, içerisinde köklendirme ortamı bulunan magenta kaplarına aktarılmışlardır. Aktarım sonrası magenta kapaklarının kapakları kapatıldıktan sonra ağız kısmı streç film ile sarılıp, magenta petri kabının üzerine çeşit adı, orijin aldığı ekplant kaynağı ve numarası, aktarım tarihi ve tekerrür numarasını kapsayan bilgiler yazılmıştır. Aktarım yapılan magenta kapları 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak biçimde fotoperiyot sağlayan, 26 °C'deki iklim odasına aktarılmışlardır. İklim odasında günlük kontroller yapılarak bulaşma olup-olmadığı kaydedilmiştir.

3.2.5. Köklenmesini tamamlayan bitkilerin dış ortama aktarılması ve bakım

Köklenme ortamında gelişmesini tamamlamış olan bitkicikler, besi ortamından çıkarılıp, kökleri musluk suyu ile yıkandıktan sonra içinde musluk suyu bulunan kavanozlara aktarılmışlardır. Kavanozlar, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak biçimde fotoperiyot sağlayan, 26 °C'deki iklim odasında bulunan ve oksijen alımını sağlayan yatay çalkalayıcı üzerine aktarılmışlardır.

Su içerisinde 3-5 gün bekletilen bitkicikler, süre sonunda Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri deneme alanından alınan toprakların doldurulduğu 20 cm çapında plastik kaplara şaşırtılmışlardır. Şaşırtma sonrası saksılar tekrar 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak biçimde fotoperiyot sağlayan, 26 °C'deki iklim odasına alınmışlardır.

Saksılara şaşırtılan bitkiler günlük olarak kontrol edilerek gün aşırı olacak şekilde sulanmışlardır. Ayrıca gelişme periyodu boyunca bitkilerin azot ihtiyacını karşılamak üzere her saksıya 10 g/l hesabıyla 10 ml amonyum nitrat gübre çözeltisi

ve 10 g/l hesabıyla 20 ml fosfor çözeltisi verilmiştir. İlave olarak saksıların yüzeyinde havalanma ve oksijen akışını engelleyen yosun tabakasının oluşmaması için 13-14. haftada %2 hesabıyla her saksıya 2 ml bakır sülfat çözeltisi ilave edilmiştir. Bakır sülfat uygulamasından sonra bitkilerde görülen çinko eksikliğini ortadan kaldırmak amacıyla %2 hesabıyla her saksıya 2 ml çinko sülfat çözeltisi ilave edilmiştir.

Bitkiler, saksılara şaşırtılmasından yaklaşık 13–14 hafta sonra salkım göstermiş ve tohum bağlama gözlenmiştir. Tohum bağlamasından sonra salkımlardan dökülerek tohum kaybını önlemek için salkımlar melezleme poşeti içine alınmıştır.

3.2.6. Elde edilen tohumların çimlenme testine alınması

Hasat sonrası elde edilen tohumlar, laboratuvar koşullarında çimlenme testine tabi tutulmuşlardır. Tohumlar 24 saat süre ile suda bekletilmiş ve su yüzeyine çıkan tohumlar atıldıktan sonra kalan tohumlar, içerisinde kurutma kağıtları bulunan cam petri kaplarına ekilmişlerdir. Önce petri kaplarına kurutma kağıdı konmuş ardından her petri kabına yaklaşık 20 ml steril su otomatik pipet ile ilave edilmiştir. Petri kaplarının kapakları kapatıldıktan sonra petri kapları 1 ± 20 °C sıcaklığa sahip inkübatöre aktarılmışlardır. Günlük nem durumları kontrol edilmiş ve radicle uzunluğu 1 cm olan tohumlar çimlenmiş olarak kabul edilmiş ve sayılarak kaydedilmiştir (Kurt, 2012).

3.2.7. Verilerin elde edilmesi

3.2.7.1. *In vitro* gözlem ve ölçümlerin elde edilmesi

Toplam sürgün sayısı

Besi ortamında elde edilen toplam sürgün sayısı sayılarak adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit başına sürgün sayısı

Besi ortamında her bir çeşitten elde edilen sürgün sayısı sayılarak, çeşit başına sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

Besi ortamı başına sürgün sayısı

Besi ortamında, her bir besi ortamı için ayrı ayrı olmak üzere, elde edilen sürgün sayısı sayılarak, besi ortamı başına sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

Eksplant kaynağı başına sürgün sayısı

Besi ortamında, her explant kaynağı için ayrı ayrı olmak üzere, elde edilen sürgün sayısı sayılarak, explant kaynağı başına sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

I. boğum eksplantı başına sürgün sayısı

Besi ortamında, I. boğum explantından elde edilen sürgün sayısı sayılarak, I. boğum explantı başına sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

I. boğumarası eksplantı başına sürgün sayısı

Besi ortamında, I. boğumarası explantından elde edilen sürgün sayısı sayılarak, I. boğumarası explantı başına sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Çeşit ve besi ortamı etkileşimini tespit edebilmek için, besi ortamında elde edilen sürgün sayıları sayılarak, çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Çeşit ve eksplant kaynağı etkileşimini tespit edebilmek için, besi ortamında elde edilen sürgün sayıları sayılarak, çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

Besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Besi ortamı ve explant kaynağı etkileşimini tespit edebilmek için, besi ortamında elde edilen sürgün sayıları sayılarak, besi ortamı x ekplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Çeşit, besi ortamı ve explant kaynağı etkileşimini tespit edebilmek için, besi ortamında elde edilen sürgün sayıları sayılarak, çeşit x besi ortamı x ekplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı adet olarak kaydedilmiştir.

3.2.7.2. *In vivo* gözlem ve ölçümler

Toplam bitki sayısı

Saksıda gelişen ve salkım oluşturan, toplam bitki sayısı sayılarak adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit başına bitki sayısı

Saksıda gelişen ve salkım oluşturan, her bir çeşitten elde edilen bitki sayısı sayılarak, çeşit başına bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

Besi ortamı başına bitki sayısı

Saksıda gelişen ve salkım oluşturan, her bir besi ortamı için ayrı ayrı olmak üzere, elde edilen bitki sayısı sayılarak, besi ortamı başına bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

Eksplant kaynağı başına bitki sayısı

Saksıda gelişen ve salkım oluşturan, her explant kaynağı için ayrı ayrı olmak üzere, elde edilen bitki sayısı sayılarak, explant kaynağı başına bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

I. boğum eksplantı başına bitki sayısı

Saksıda gelişen ve salkım oluşturan, I. boğum explantından elde edilen bitki sayısı sayılarak, I. boğum explantı başına bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

I. boğumarası eksplantı başına bitki sayısı

Saksıda gelişen ve salkım oluşturan, I. boğumarası explantından elde edilen bitki sayısı sayılarak, I. boğumarası explantı başına bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Çeşit ve besi ortamı etkileşiminin tespiti için, saksıda gelişen ve salkım oluşturan, bitkiler sayılmış, çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Çeşit ve eksplant kaynağı etkileşiminin tespiti için, saksıda gelişen ve salkım oluşturan, bitkiler sayılmış, çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

Besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Besi ortamı ve eksplant kaynağı etkileşiminin tespiti için, saksıda gelişen ve salkım oluşturan, bitkiler sayılmış, besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

Çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Çeşit, besi ortamı ve eksplant kaynağı etkileşiminin tespiti için, saksıda gelişen ve salkım oluşturan, bitkiler sayılmış, çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

3.2.7.3. Tarımsal karakterler

Tarımsal karakterlere ilişkin verilerin alınmasında; Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Tarımsal Değerleri Ölçme Denemeleri Teknik Talimatı (Anonim, 2003)'ndan yararlanılmıştır.

Bitki boyu (cm)

Hasat olgunluğuna gelen bitkilerin toprak seviyesi ile salkımın en uç başakçığı (kılçık hariç) arasında kalan mesafe ölçülerek, cm olarak kaydedilmiştir.

Salkım uzunluğu (cm)

Olgunlaşma devresinde bitkinin salkım boğumuyla, salkımın en uç başakçığı arasında kalan mesafe ölçülerek, cm olarak kaydedilmiştir.

Salkım başına tane sayısı

Her bitkiden alınan salkımdaki taneler sayılmış, salkımdaki tane sayısı hesaplanarak, adet olarak kaydedilmiştir.

Salkım başına tane ağırlığı (g/salkım)

Her bitkiden alınan taneler tartılmış ve salkım sayısına oranlanarak hesaplanmıştır.

1000 tane ağırlığı (g)

Bitki başına hasat edilen tohum sayısı sınırlı olduğundan, 1000 tane ağırlığının hesaplanmasında standart yöntem kullanılamamıştır. Mevcut tohum sayıları dikkate alınarak; elde edilen fertil tohumlar sayıldıktan sonra hassas terazide tartılıp, bulunan ağırlık, tane sayısına bölünmüş ve 1000 ile çarpılarak, 1000 tane ağırlığı hesaplanmıştır.

Sterilite (%)

Olgunlaşma devresinde salkımlardaki fertil ve steril başakçıklar sayılıp, oranlama yapılarak sterilite hesaplanmış ve % olarak kaydedilmiştir.

Çimlenme oranı (%)

Çimlenme testine tabi tutulan (Kurt, 2012) toplam tohum sayıları arasında çimlenen tohumların sayısı tespit edilerek çimlenmeye alınan tohum sayısına oranlanarak bulunmuştur.

3.2.7.4. Hasat ve harman

Bitkiler, salkımda bulunan başakçıkların %90-100'ünün sarardığı, tam olum döneminde hasat edilmiştir (Sürek, 2002). Hasat edilen bitkilerin salkımları elle sıyrılarak taneler salkımdan ayrılmıştır.

3.2.7.5. Değerlendirme

Verilere dayalı olarak çizelgelerin hazırlanmasında Mikrossoft Ofis Word programı ve grafiklerin hazırlanmasında Excel paket programından yararlanılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada; Edirne, Osmancık-97 ve Mis-2013 çeltik çeşidinin I. boğum ve I. boğumarası eksplantlarından, besi ortamında oluşan sürgün sayısı ve oluşan bitkicik sayısı ile toprak koşullarında hasat edilen bitkilere ait verim ve verim unsurlarına ilişkin veriler elde edilmiştir. Elde edilen bu veriler çizelge ve grafiklerle desteklenerek açıklanmıştır.

4.1. Sürgün Sayısı

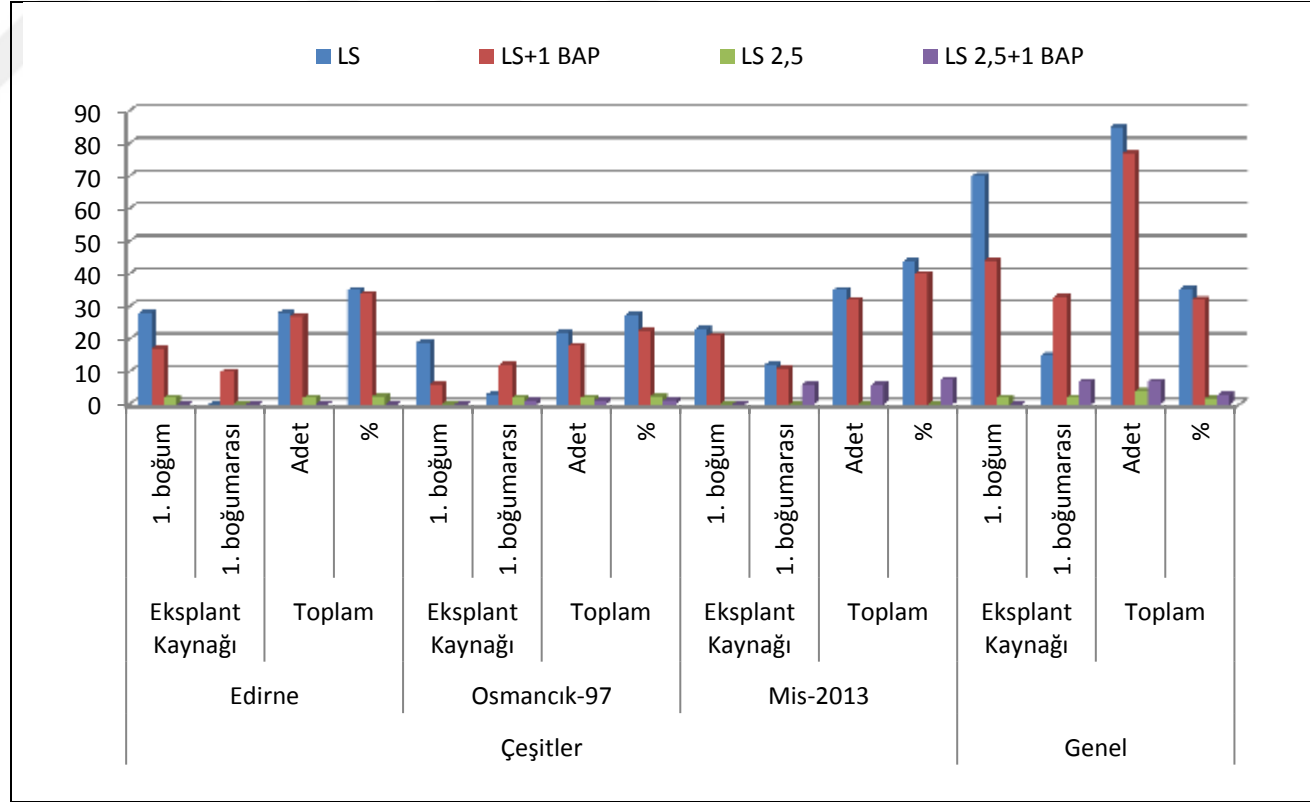
4.1.1. Toplam sürgün sayısı

MS ortamına ekilen çeltik tohumlarından oluşan 12 günlük fidelerden I. boğum ve I. boğumarası eksplantları, kallus oluşum ortamlarına ekilmişlerdir. Kallus oluşum ortamına ekilen eksplantlardan 1-3 haftalık periyotta kallus oluşumu olmadan, sürgün olduğu tespit edilmiştir. Oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oluşum oranlarına ilişkin veriler Çizelge 4. 1 ve Şekil 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4. 1 ve Şekil 4. 1’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi besi ortamına ekilen eksplantlardan toplam 173 adet sürgün oluşmuştur. Besi ortamına ekilen toplam eksplant sayısı dikkate alınarak sürgün oluşum oranı değerlendirildiğinde; sürgün oluşum oranının %18.0 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 1. Kallus oluşum ortamında oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Çeşitler												Genel			
	Edirne				Osmancık-97				Mis-2013							
	Eksplant Kaynağı		Toplam		Eksplant Kaynağı		Toplam		Eksplant Kaynağı		Toplam		Eksplant Kaynağı		Toplam	
	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%
LS	28	0	28	35.0	19	3	22	27,5	23	12	35	43.8	70	15	85	35.4
LS + 1 BAP	17	10	27	33.8	6	12	18	22.5	21	11	32	40.0	44	33	77	32.1
LS 2,5	2	0	2	2.5	0	2	2	2,5	0	0	0	0.0	2	2	4	1.7
LS 2,5 + 1 BAP	0	0	0	0	0	1	1	1,3	0	6	6	7.5	0	7	7	2.9
Toplam	47	10	57	17.8	25	18	43	13,4	44	29	73	22.8	116	57	173	18.0



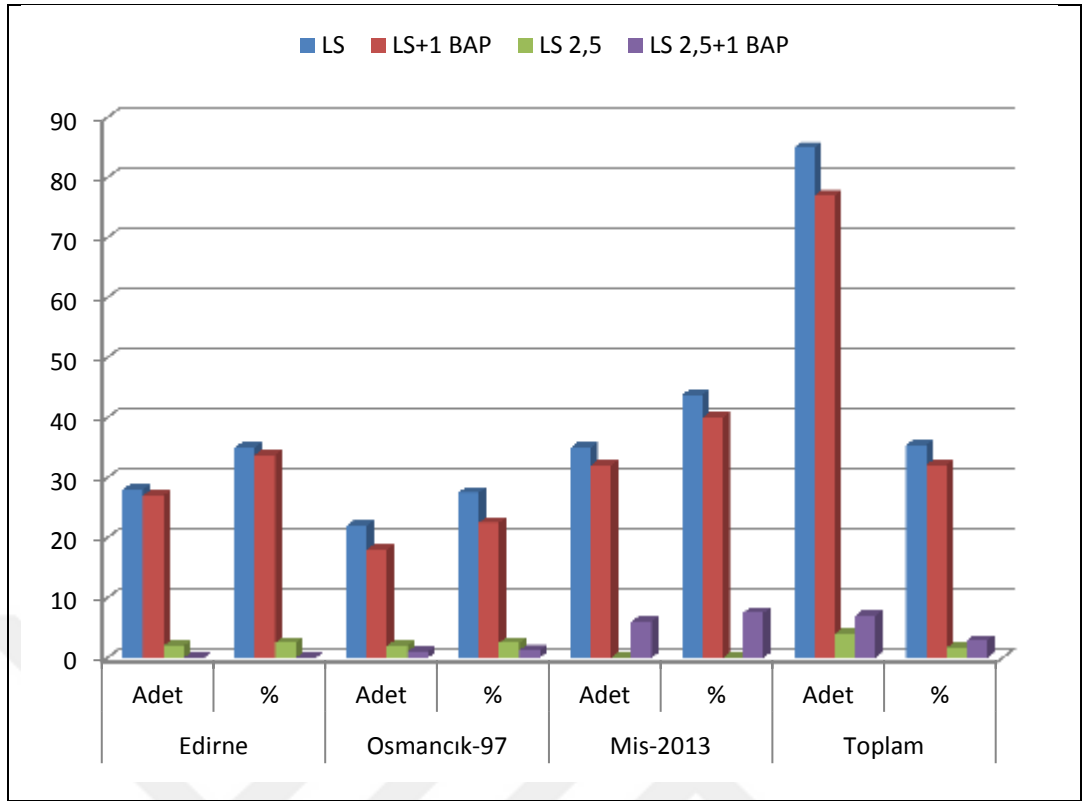
Şekil 4.1. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının dağılımı

4.1.2. Çeşit başına sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen eksplantlardan elde edilen sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarına ilişkin veriler Çizelge 4. 2 ve Şekil 4. 2’de verilmiştir. Çizelge 4. 2 ve Şekil 4. 2 incelenmesinden de anlaşılacağı gibi çeşitler dikkate alınarak değerlendirildiğinde; en fazla sürgün sayısı 73 adet ile Mis-2013 çeltik çeşidinden elde edilmiş olup, sürgün oluşum oranının %22.8 olduğu, Mis-2013 çeşidini 57 sürgün ve %17.8 sürgün oranı ile Edirne ve 43 sürgün ve %13.4 sürgün oranı ile Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin takip ettiği anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 2. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Edirne		Osmancık-97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	28	35.0	22	27.5	35	43.8	85	35.4
LS+ 1 BAP	27	33.8	18	22.5	32	40.0	77	32.1
LS 2,5	2	2.5	2	2.5	0	0.0	4	1.7
LS 2,5+ 1 BAP	0	0.0	1	1.25	6	7.5	7	2.9
Toplam	57	17.8	43	13,4	73	22.8	173	18.0



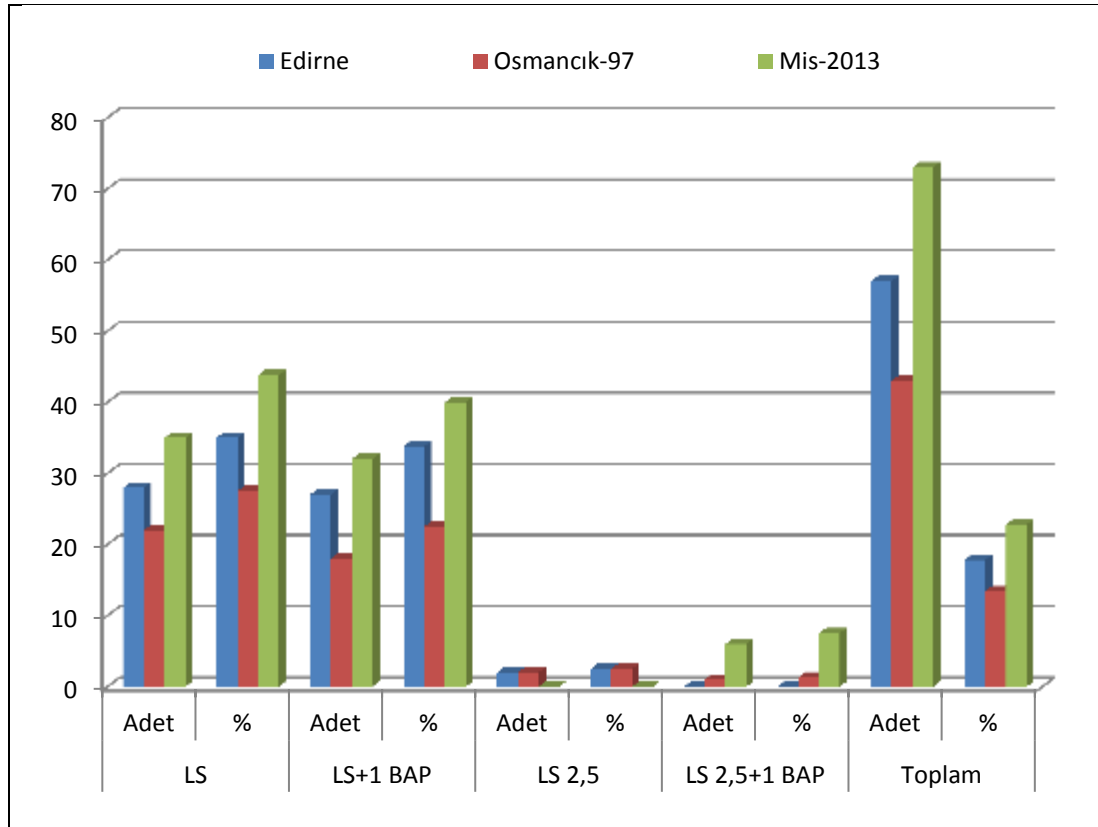
Şekil 4.2. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeltik çeşitlerine göre dağılımı

4.1.3. Besi ortamı başına sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen eksplantlardan elde edilen sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarına ilişkin veriler Çizelge 4. 2 ve Şekil 4. 2’de verilmiştir. Çizelge 4. 2 ve Şekil 4. 2’nin incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi besi ortamları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; en fazla sürgün sayısı 85 adet ile LS besi ortamında elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %34.4 olduğu, LS besi ortamını 77 adet sürgün ve eksplant başına %32.1 sürgün oranı ile LS+1 BAP besi ortamı, 7 adet sürgün ve eksplant başına %2.9 sürgün oranı ile LS 2,5+1 BAP besi ortamı ve 4 adet sürgün ve eksplant başına %1.7 sürgün oranı ile LS 2,5 besi ortamı takip ettiği anlaşılmaktadır. Besi ortamındaki farklılaşmada başarıyı belirleyen diğer bir unsur da besi ortamının içeriğidir.

Çizelge 4. 3. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler

Çeşitler	LS		LS + 1 BAP		LS 2,5		LS 2,5 + 1 BAP		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Edirne	28	35	27	33.8	2	2.5	0	0.0	57	17.8
Osmancık-97	22	27.5	18	22.5	2	2.5	1	1.3	43	13.4
Mis-2013	35	43.8	32	40.0	0	0.0	6	7.5	73	22.8
Toplam	85	35.4	77	32.1	4	1.7	7	2.9	173	18.0



Şekil 4.3. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının besi ortamlarına göre dağılımı

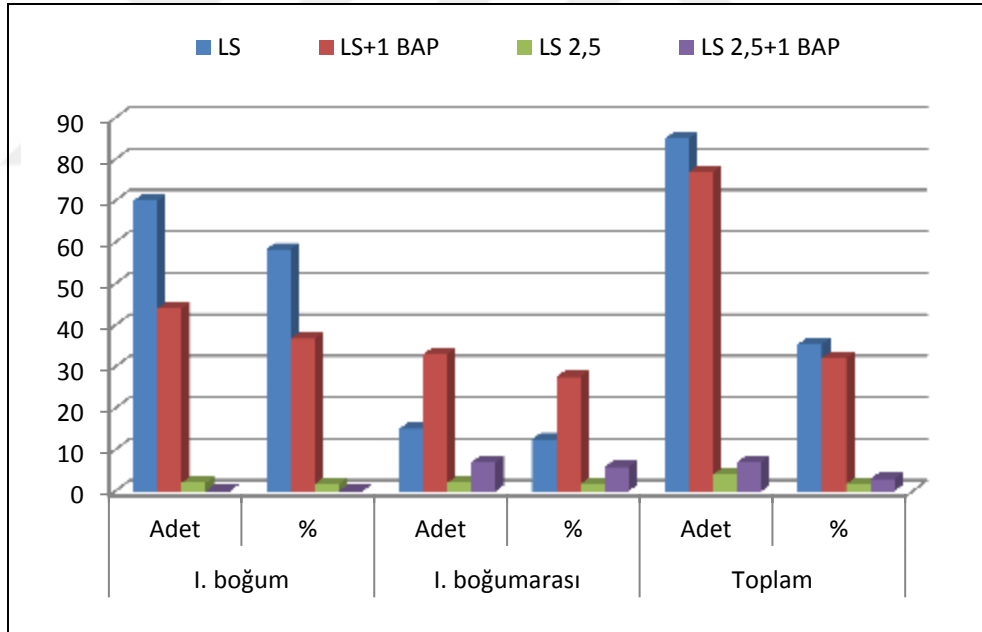
4.1.4. Eksplant başına sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen eksplantlardan elde edilen sürgün sayılarına ilişkin veriler Çizelge 4. 4. ve Şekil 4. 4’de verilmiştir. Çizelge 4. 4. ve Şekil 4. 4’ün incelenmesinden de anlaşılacağı gibi eksplant kaynakları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; I. boğum eksplantından toplam 116 adet sürgün elde edilmiş

olup, I. boğum eksplantı başına sürgün oluşum oranının %24.2 olduğu, I. boğumarası eksplantından toplam 57 adet sürgün elde edilmiş olup, I. boğumarası eksplantı başına sürgün oluşum oranının da %11.9 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 4. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğum		1. boğumarası		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	70	58.3	15	12.5	85	35.4
LS+1 BAP	44	36.7	33	27.5	77	32.1
LS 2,5	2	1.7	2	1.7	4	1.7
LS 2,5+1 BAP	0	0	7	5.8	7	2.9
Toplam	116	24.2	57	11.9	173	18.0



Şekil 4.4. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının eksplant kaynaklarına göre dağılımı

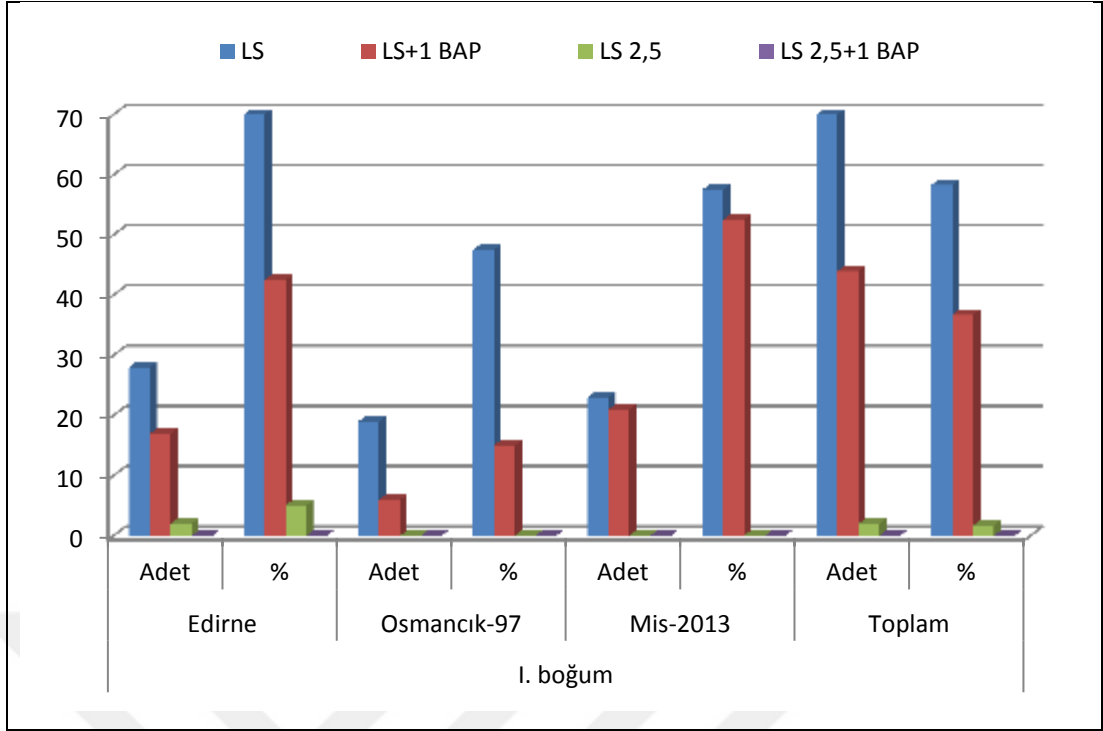
4.1.5. Explant kaynağı başına sürgün sayısı

4.1.5.1. I. boğum eksplantı başına sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen eksplantlardan elde edilen sürgün sayılarına ilişkin veriler Çizelge 4. 5. ve Şekil 4. 5’de verilmiştir. Çizelge 4. 5. ve Şekil 4. 5’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi eksplant kaynakları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; I. boğum eksplantından Edirne çeşidinden 47, Osmancık-97 çeşidinden 25 ve Mis-2013 çeşidinden 44 olmak üzere toplam 116 adet sürgün olduğu dolayısıyla ekaplant başına sürgün oluşum oranının %24.2 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 5. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğum							
	Edirne		Osmancık- 97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	28	70.0	19	47.5	23	57.5	70	58.3
LS+1 BAP	17	42.5	6	15.0	21	52.5	44	36.7
LS 2,5	2	5.0	0	0.0	0	0.0	2	1.7
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Toplam	47	29.4	25	15.6	44	27.5	116	24.2



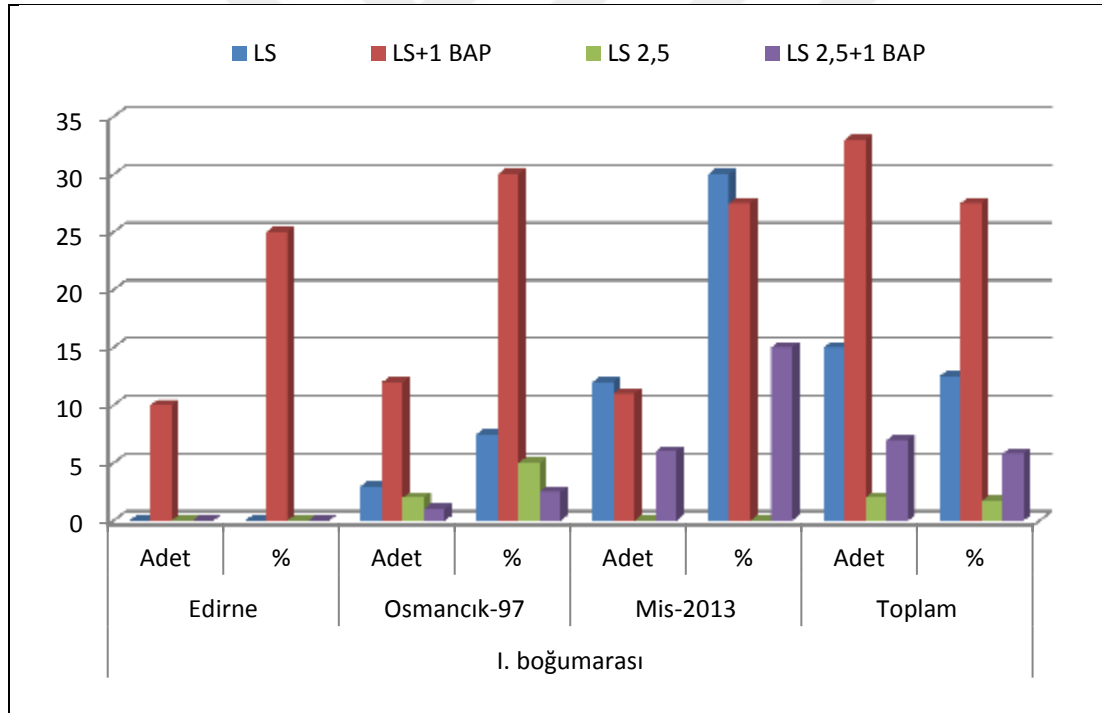
Şekil 4.5. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının I. boğum eksplant kaynağına göre dağılımı

4.1.5.2. I. boğumarası eksplantı başına sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen eksplantlardan elde edilen sürgün sayılarına ilişkin veriler Çizelge 4. 6. ve Şekil 4. 6'de verilmiştir. Çizelge 4. 6. ve Şekil 4. 6'nın incelenmesinden de anlaşılacağı gibi eksplant kaynakları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; I. boğumarası eksplantından Edirne çeşidinden 10, Osmancık-97 çeşidinden 18 ve Mis-2013 çeşidinden 29 olmak üzere toplam 57 adet sürgün olduğu dolayısıyla eksplant başına sürgün oluşum oranının %35.6 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 6. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğumarası							
	Edirne		Osmancık-97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	0	0.0	3	7.5	12	30.0	15	12.5
LS+1 BAP	10	25.0	12	30.0	11	27.5	33	27.5
LS 2,5	0	0.0	2	5.0	0	0.0	2	1.7
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	1	2.5	6	15.0	7	5.8
Toplam	10	6.3	18	11.3	29	18.3	57	11.9



Şekil 4.6. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının I. boğumarası eksplant kaynağına göre dağılımı

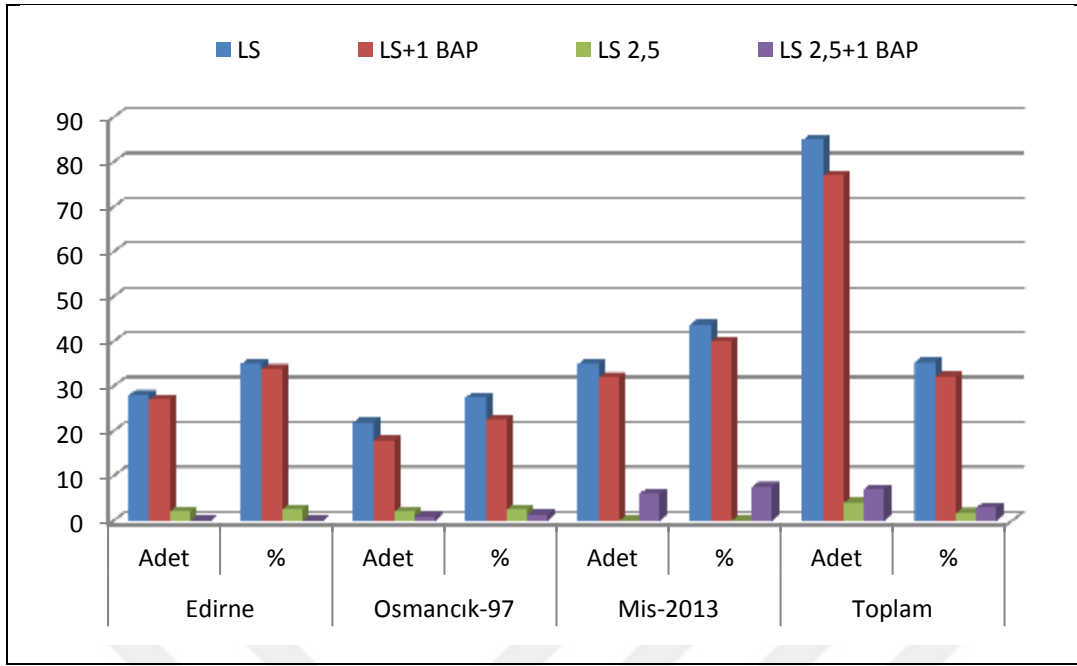
4.1.6. Çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen toplam eksplantlardan elde edilen sürgün sayılarına ve eksplant başına sürgün oluşum oranına ilişkin veriler Çizelge 4. 7. ve

Şekil 4. 7’de verilmiştir. Çizelge 4. 7. ve Şekil 4. 7’nin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi en fazla sürgün sayısı 35 adet ile Mis-2013 çeşidinin LS besi ortamında elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %43.8 olduğu, bunu sırasıyla 32 adet sürgün sayısı ve %40.0 sürgün oranı ile Mis-2013 çeşidinin LS+1 BAP besi ortamında, 28 adet sürgün sayısı ve %35.0 sürgün oranı ile Edirne çeşidinin LS besi ortamında, 27 adet sürgün sayısı ve %33.8 sürgün oranı ile Edirne çeşidinin LS+1 BAP besi ortamında, 22 adet sürgün sayısı ve %27.5 sürgün oranı ile Osmancık-97 çeşidinin LS besi ortamında, 18 adet sürgün sayısı ve %22.5 sürgün oranı ile Edirne çeşidinin LS+1 BAP besi ortamında, 6 adet sürgün sayısı ve %7.5 sürgün oranı ile Mis-2013 çeşidinin LS 2,5+1 BAP besi ortamında, 2 adet sürgün sayısı ve %2.5 sürgün oranı ile Edirne ve Osmancık-97 çeşitlerinin LS 2,5 besi ortamlarında ve 1 adet sürgün sayısı ve %1.3 sürgün oranı ile Osmancık-97 çeşidinin LS 2,5+1 BAP besi ortamında elde edilmiştir. Edirne çeşidinin LS 2,5+ 1 BAP ortamında ve Mis-2013 çeşidinin LS 2,5 besi ortamında sürgün oluşumu gözlenmemiştir

Çizelge 4. 7. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Edirne		Osmancık-97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	28	35.0	22	27.5	35	43.8	85	35.4
LS+1 BAP	27	33.8	18	22.5	32	40.0	77	32.1
LS 2,5	2	2.5	2	2.5	0	0.0	4	1.7
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	1	1.3	6	7.5	7	2.9
Toplam	57	17.8	43	13.4	73	22.8	173	18.0



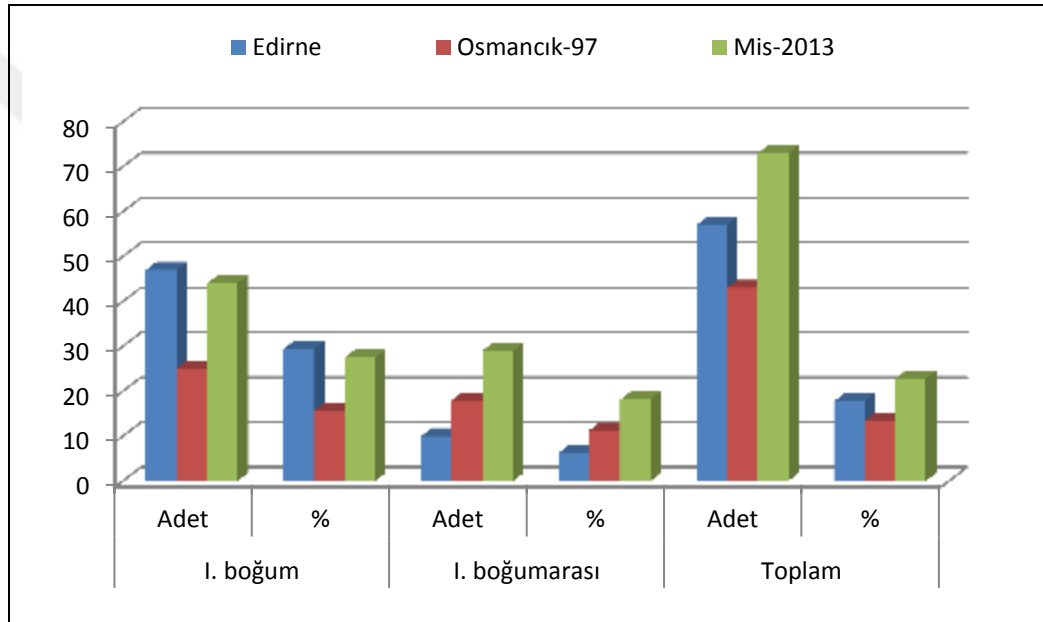
Şekil 4.7. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre dağılımı

4.1.7. Çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen toplam eksplantlardan elde edilen sürgün sayılarına ve eksplant başına sürgün oluşum oranına ilişkin veriler Çizelge 4. 8. ve Şekil 4. 8’de verilmiştir. Çizelge 4. 8. ve Şekil 4. 8’in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi en fazla sürgün sayısı 47 adet ile Edirne çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %29.4 olduğu, bunu sırasıyla 44 adet sürgün sayısı ve %27.5 sürgün oranı ile Mis-2013 çeşidinin I. boğum eksplantından, 29 adet sürgün sayısı ve %18.1 sürgün oranı ile Mis-2013 çeşidinin I. boğumarası eksplantından, 25 adet sürgün sayısı ve %15.6 sürgün oranı ile Osmancık-97 çeşidinin I. boğum eksplantından, 18 adet sürgün sayısı ve %11.3 sürgün oranı ile Osmancık-97 çeşidinin I. boğumarası eksplantından ve 10 adet sürgün sayısı ve %6.3 sürgün oluşum oranı ile Edirne çeşidinin I. boğumarası eksplantından elde edilmiştir.

Çizelge 4. 8. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler.

Çeşitler	1. boğum		1. boğumarası		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Edirne	47	29.4	10	6.3	57	17.8
Osmancık-97	25	15.6	18	11.3	43	13.4
Mis-2013	44	27.5	29	18.1	73	22.8
Toplam	116	24.2	57	11.9	173	18.0



Şekil 4.8. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeşit x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı

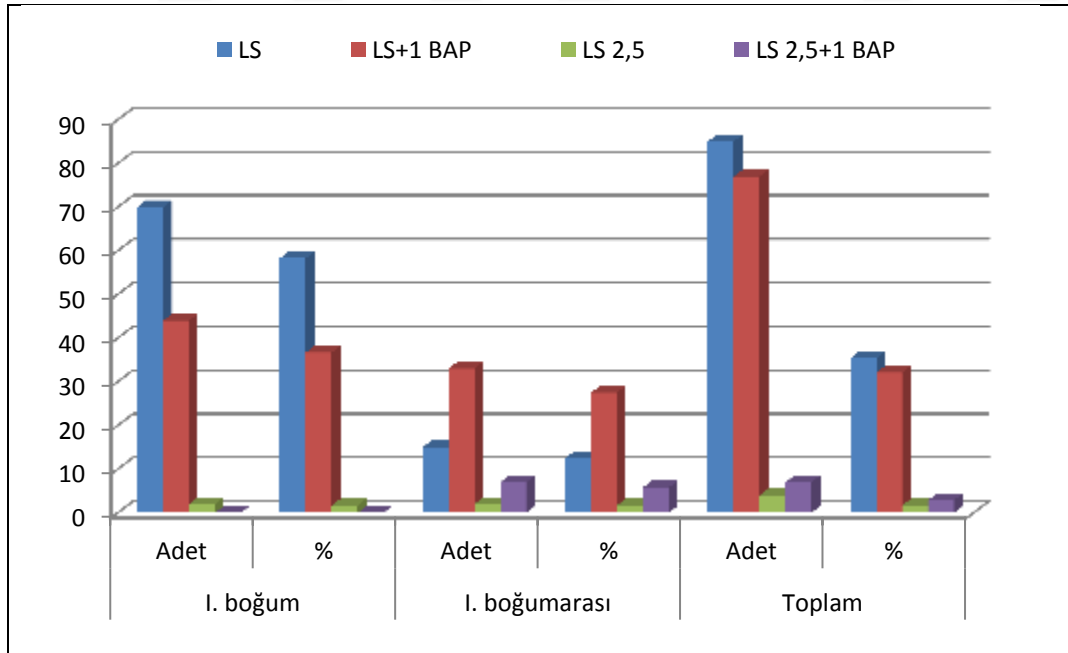
4.1.8. Besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen toplam eksplantlardan elde edilen sürgün sayılarına ve eksplant başına sürgün oluşum oranına ilişkin veriler Çizelge 4. 9. ve Şekil 4. 9'de verilmiştir. Çizelge 4. 9. ve Şekil 4. 9'un incelenmesinden de anlaşılacağı gibi en fazla sürgün sayısı 70 adet ile LS besi ortamında I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %58.3 olduğu, bunu sırasıyla 44 adet sürgün sayısı ve %36.7 sürgün oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında I. boğum eksplantında, 33 adet sürgün sayısı ve %27.5 sürgün oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında I. boğumarası eksplantından, 15 adet

sürgün sayısı ve %12.5 sürgün oluşum oranı ile LS besi ortamında I. boğumarası eksplantından, 7 adet sürgün sayısı ve %5.8 sürgün oluşum oranı ile LS 2,5+1 BAP besi ortamında I. boğumarası eksplantından, 2 adet sürgün sayısı ve %1.7 sürgün oluşum oranı ile LS 2,5 besi ortamında I. boğum ve I. boğumarası eksplantından elde edilmiştir. I. boğum eksplantından LS 2,5 + 1 BAP besi ortamında sürgün oluşumunun olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 9. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğum		1. boğumarası		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	70	58.3	15	12.5	85	35.4
LS+1 BAP	44	36.7	33	27.5	77	32.1
LS 2,5	2	1.7	2	1.7	4	1.7
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	7	5.8	7	2.9
Toplam	116	24.2	57	11.9	173	18.0



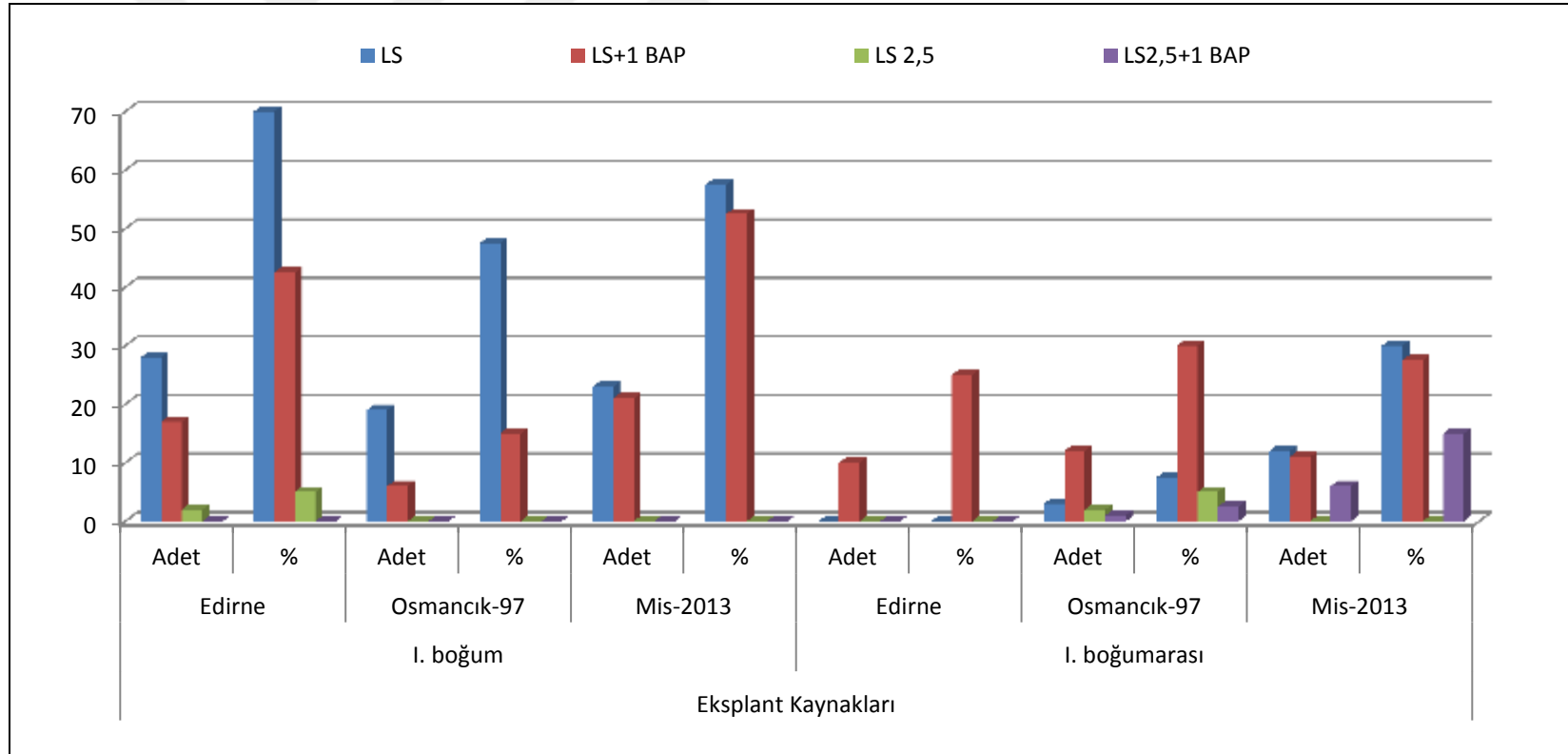
Şekil 4.9. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı

4.1.9. Çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre sürgün sayısı

Araştırma sonucu besi ortamına ekilen toplam eksplantlardan elde edilen sürgün sayılarına ve eksplant başına sürgün oluşum oranına ilişkin veriler Çizelge 4.10. ve Şekil 4.10'de verilmiştir. Çizelge 4.10. ve Şekil 4.10'ün incelenmesinden de anlaşılacağı gibi en fazla sürgün sayısı 28 adet ile LS besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %70.00 olduğu, bunu sırasıyla 23 adet sürgün sayısı ve %57.5 sürgün oluşum oranı ile LS besi ortamında Mis-2013 çeltik çeşidinin I. boğum eksplantında, 21 adet sürgün sayısı ve %52.5 sürgün oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında Mis-2013 çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından, 19 adet sürgün sayısı ve %47.5 sürgün oluşum oranı ile LS besi ortamında, Osmancık-97 çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından, 17 adet sürgün sayısı ve %42.5 sürgün oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında, Edirne çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından, 12 adet sürgün sayısı ve %30.0 sürgün oluşum oranı ile LS besi ortamında Mis-2013 çeltik çeşidinin I. boğumarası ve LS+1 BAP besi ortamında, Osmancık-97 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından, 11 adet sürgün sayısı ve %27.5 sürgün oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında, Mis-2013 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından, 6 adet sürgün sayısı ve %15.0 sürgün oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında, Osmancık-97 çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından ve LS 2,5+1 BAP besi ortamında Mis-2013 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından, 3 adet sürgün sayısı ve %7.5 sürgün oluşum oranı ile LS besi ortamında Osmancık-97 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından, 2 adet sürgün sayısı ve %5.0 sürgün oluşum oranı ile LS 2,5 besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından ve Osmancık-97 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından ve 1 adet sürgün sayısı ve %2.5 sürgün oluşum oranı ile LS 2,5+1 BAP besi ortamında Osmancık-97 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından elde edilmiştir. Araştırmada LS 2,5 besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından, LS 2,5 besi ortamında Osmancık-97 ve Mis-2013 çeltik çeşitlerinin I. boğum eksplantlarından, Edirne ve Mis-2013 çeltik çeşitlerinin I. boğumarası eksplantından, LS 2,5+1 BAP besi ortamında Edirne, Osmancık-97 ve Mis-2013 çeltik çeşitlerinin I. boğum eksplantlarından ve Edirne çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından sürgün oluşumunun olmadığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 10. Kallus besi ortamında oluşan sürgün sayılarına ve sürgün oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Eksplant Kaynakları											
	1. boğum						1. boğumarası					
	Edirne		Osmancık-97		Mis-2013		Edirne		Osmancık-97		Mis-2013	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	28	70.0	19	47.5	23	57.5	0	0.0	3	7.5	12	30.0
LS+1 BAP	17	42.5	6	15.0	21	52.5	10	25.0	12	30.0	11	27.5
LS 2,5	2	5.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	5.0	0	0.0
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	2.5	6	15.0
Toplam	47	29.4	25	15.6	44	27.5	10	6.25	18	11.3	29	18.1



Şekil 4.10. Oluşan sürgün sayıları ve sürgün oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı

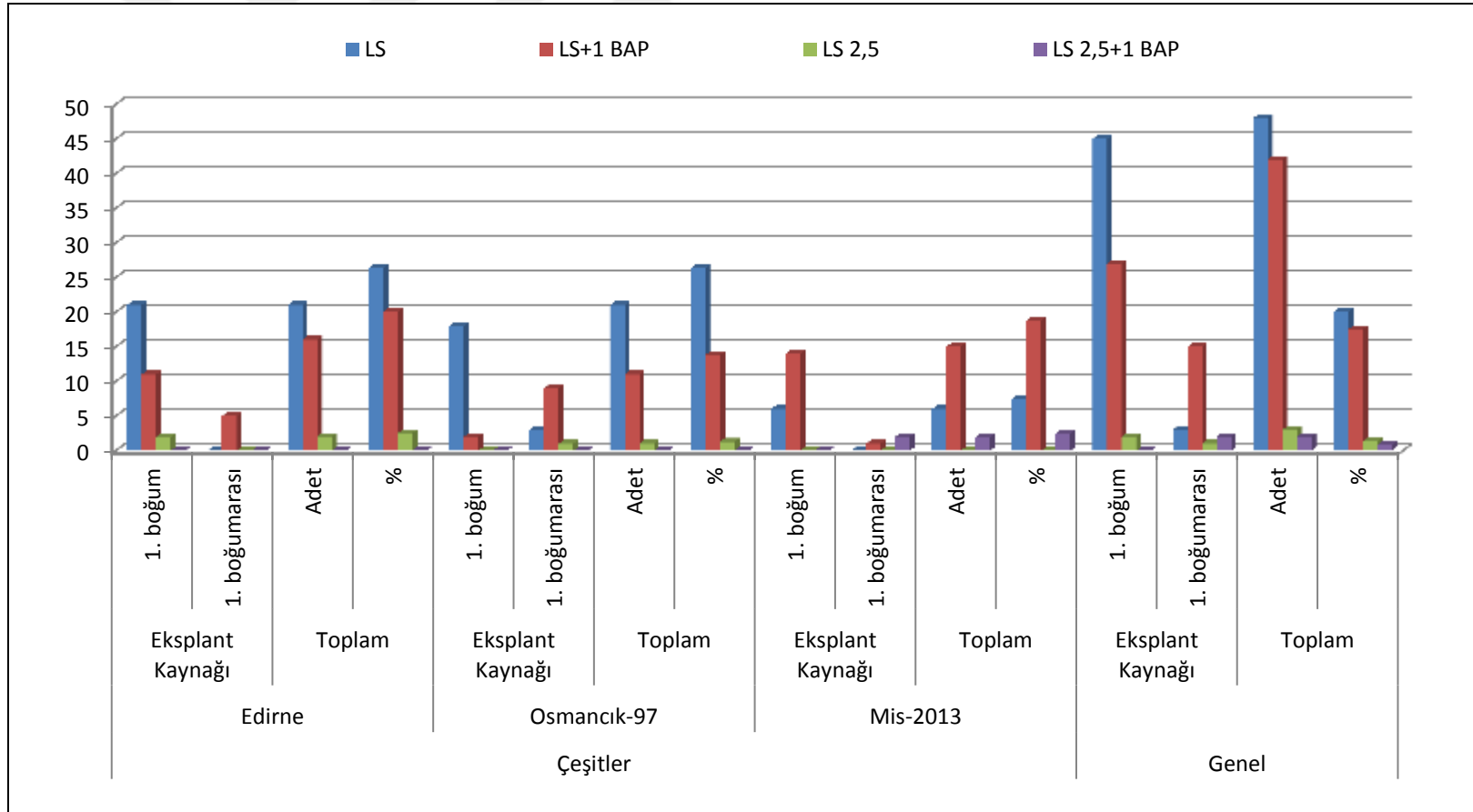
4.2. Bitki Sayısı

4.2.1. Toplam bitki sayısı

Besi ortamında köklenen sürgünler gelişmelerini tamamlamak üzere içinde toprak bulunan saksılara aktarılmışlardır. Saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler Çizelge 4.11 ve Şekil 4.11’de verilmiştir. Çizelge 4.11 ve Şekil 4.11’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi saksıda buluna toprak koşullarına toplam 95 adet bitki aktarılmıştır. Saksıda toprak koşullarına aktarılan bitki sayısı dikkate alınarak eksplant başına bitki oluşum oranı değerlendirildiğinde; eksplant başına bitki oluşum oranının %9.9 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 11. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Çeşitler												Genel			
	Edirne				Osmancık-97				Mis-2013							
	Eksplant Kaynağı		Toplam		Eksplant Kaynağı		Toplam		Eksplant Kaynağı		Toplam		Eksplant Kaynağı		Toplam	
	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%	1. boğum	1. boğumarası	Adet	%
LS	21	0	21	26.3	18	3	21	26.3	6	0	6	7.5	45	3	48	20.0
LS+1 BAP	11	5	16	20.0	2	9	11	13.8	14	1	15	18.8	27	15	42	17.5
LS 2,5	2	0	2	2.5	0	1	1	1.3	0	0	0	0.0	2	1	3	1.3
LS 2,5+1 BAP	0	0	0	0.0	0	0	0	0.0	0	2	2	2.5	0	2	2	0.8
Toplam	34	5	39	12.2	20	13	33	10.3	20	3	23	7.2	74	21	95	9.9



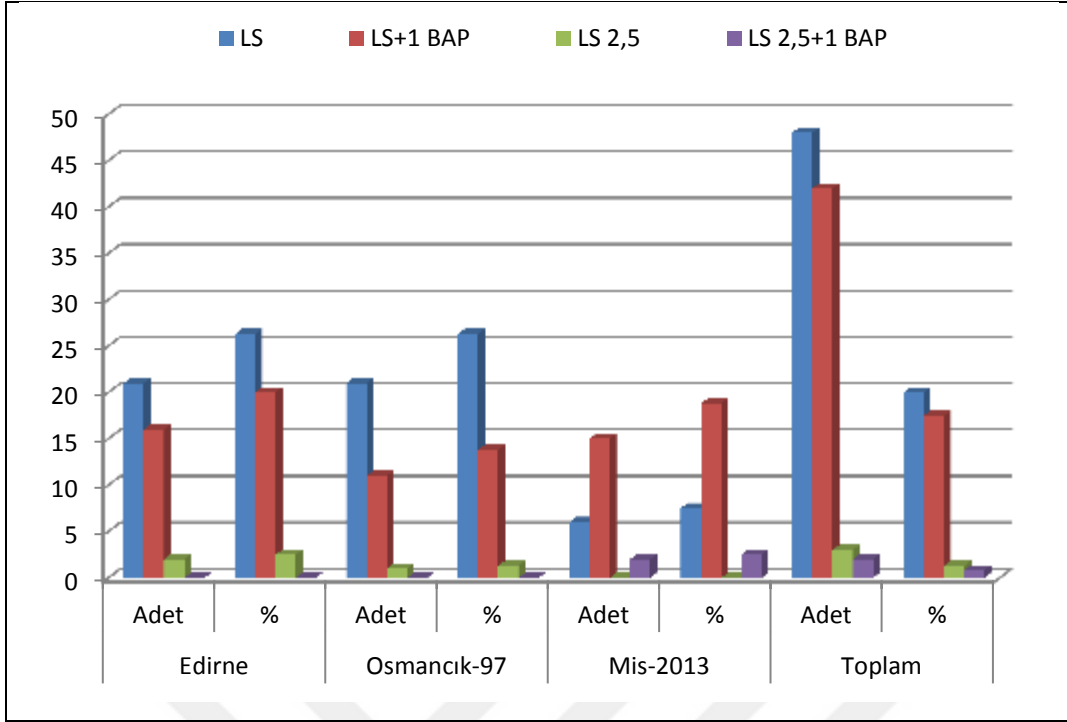
Şekil 4.11. Oluşan toplam bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının dağılımı

4.2.2. Çeşit başına bitki sayısı

Araştırma sonucu çeşit bazında saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler Çizelge 4.4.12 ve Şekil 4.12’de verilmiştir. Çizelge 4.12 ve Şekil 4.12’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi; 39 adet bitki ile en fazla bitki Edirne çeltik çeşidinden toprak koşullarına aktarılmış olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %12.2 olduğu belirlenmiştir. Edirne çeltik çeşidini sırasıyla, 33 adet bitki ve %10.3 bitki oluşum oranıyla Osmancık-97 ve 23 adet bitki ve %7.2 bitki oluşum oranı ile Mis-2013 çeltik çeşidi takip etmiştir.

Çizelge 4. 12. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Edirne		Osmancık-97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	21	26.3	21	26.3	6	7.5	48	20.0
LS+1 BAP	16	20.0	11	13.8	15	18.8	42	17.5
LS 2,5	2	2.5	1	1.3	0	0.0	3	1.3
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	0	0.0	2	2.5	2	0.8
Toplam	39	12.2	33	10.3	23	7.2	95	9.9



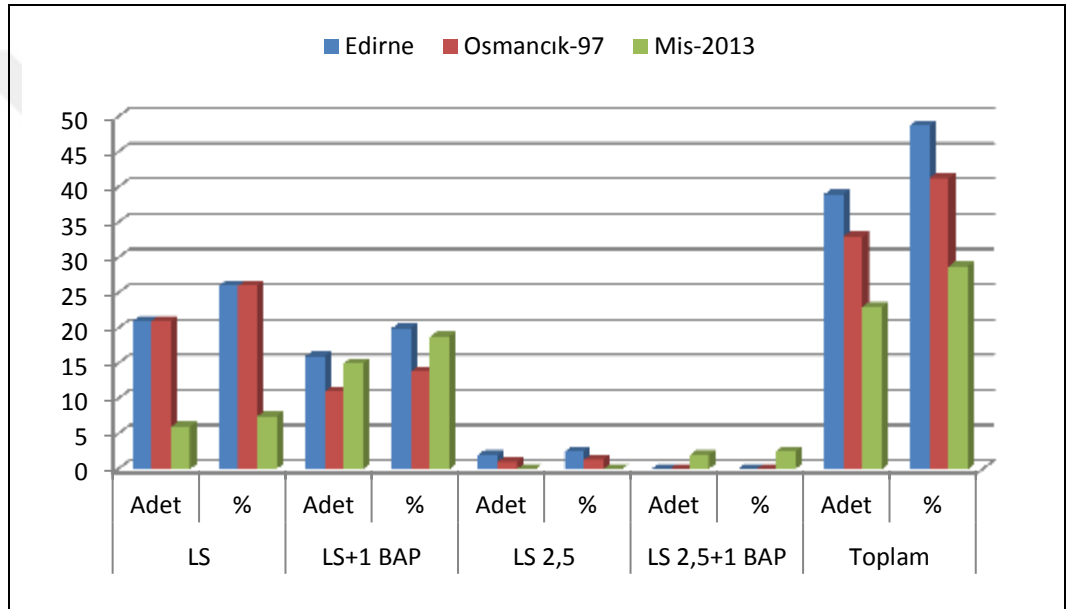
Şekil 4.12. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeltik çeşitlerine göre dağılımı

4.2.3. Besi ortamı başına bitki sayısı

Araştırma sonucu besi ortamları bazında saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler Çizelge 4.13 ve Şekil 4.13’de verilmiştir. Çizelge 4.13 ve Şekil 4.13’ün incelenmesinden de anlaşılacağı gibi; besi ortamları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; en fazla bitki sayısı 48 adet ile LS besi ortamında elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %20.0 olduğu, LS besi ortamını 42 adet bitki ve eksplant başına %17.5 bitki oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamı, 3 adet bitki ve eksplant başına %1.3 bitki oluşum oranı ile LS 2,5 besi ortamı ve 2 adet bitki ve eksplant başına %0.8 bitki oluşum oranı ile LS 2,5+1 BAP besi ortamının takip ettiği anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.13. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Çeşitler	LS		LS+1 BAP		LS 2,5		LS 2,5+1 BAP		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Edirne	21	26.0	16	20.0	2	2.5	0	0.0	39	48.8
Osmancık-97	21	26.0	11	13.8	1	1.3	0	0.0	33	41.3
Mis-2013	6	7.5	15	18.8	0	0.0	2	2.5	23	28.8
Toplam	48	20.0	42	17.5	3	1.3	2	0.8	95	9.9



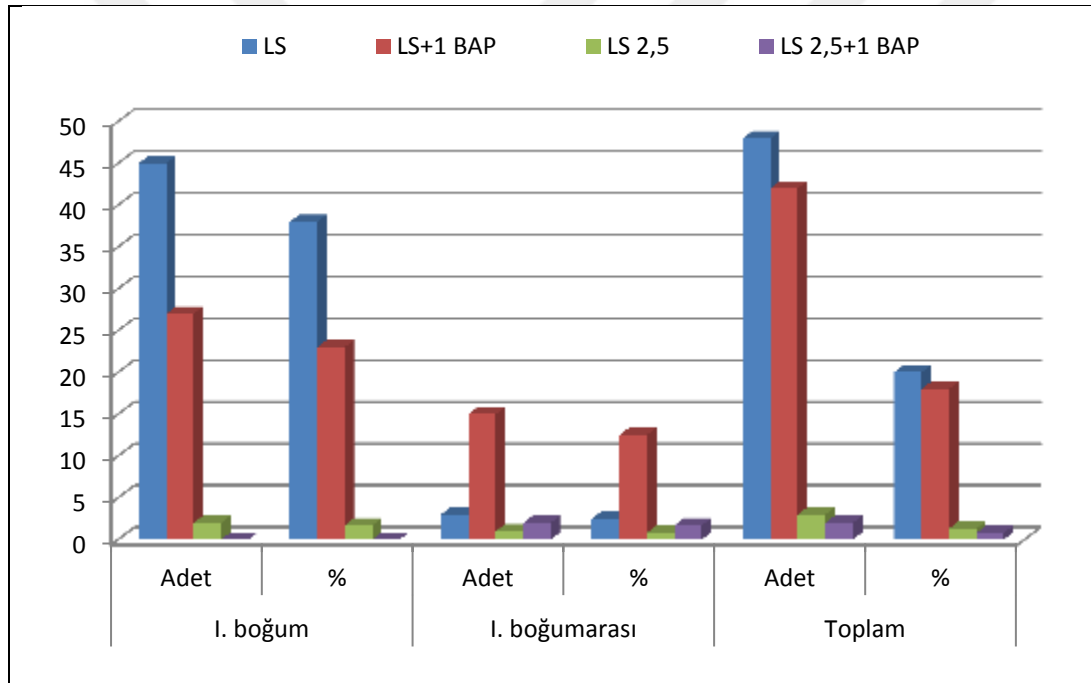
Şekil 4.13. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının besli ortamlarına göre dağılımı

4.2.4. Eksplant başına bitki sayısı

Araştırma sonucu eksplant bazında saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler Çizelge 4.14 ve Şekil 4.14’de verilmiştir. Çizelge 4.14 ve Şekil 4.14’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi; eksplant kaynakları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; I. boğum eksplantından toplam 74 adet bitki elde edilmiş olup, 1. boğum eksplantı başına bitki oluşum oranının %15.0 olduğu, I. boğumarası eksplantından toplam 21 adet bitki elde edilmiş olup, I. boğumarası eksplantı başına bitki oluşum oranının da %4.4 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 14. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğum		1. boğumarası		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	45	38.0	3	2.5	48	20.0
LS+1 BAP	27	23.0	15	12.5	42	18.0
LS 2,5	2	1.7	1	0.8	3	1.3
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	2	1.7	2	0.8
Toplam	74	15.0	21	4.4	95	9.9



Şekil 4.14. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının eksplant kaynaklarına göre dağılımı

4.2.5. Explant kaynağı başına bitki sayısı

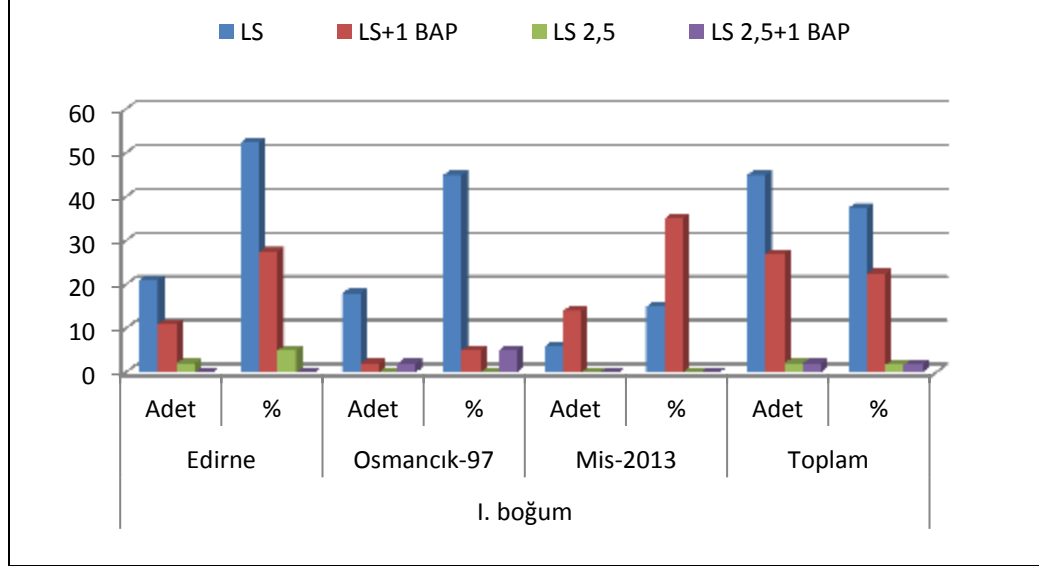
4.2.5.1. I. boğum eksplantı başına bitki sayısı

Araştırma sonucu I. boğum eksplant kaynağı bazında saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler Çizelge 4.15 ve Şekil 4.15’de verilmiştir. Çizelge 4.15 ve Şekil 4.15’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi; I. boğum eksplant kaynağı dikkate alınarak

değerlendirildiğinde; I. boğum eksplantından Edirne çeltik çeşidinden 34 adet, Osmancık-97 çeşidinden 22 adet ve Mis-2013 çeltik çeşidinden 20 adet olmak üzere toplam 76 adet bitki oluştuğu dolayısıyla I. boğum ekplantı başına bitki oluşum oranının %15.8 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 15. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğum							
	Edirne		Osmancık- 97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	21	52.5	18	45.0	6	15.0	45	37.5
LS+1 BAP	11	27.5	2	5.0	14	35.0	27	22.5
LS 2,5	2	5.0	0	0.0	0	0.0	2	1.7
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	2	5.0	0	0.0	2	1.7
Toplam	34	21.3	22	13.8	20	12.5	76	15.8



Şekil 4.15. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının I. boğum eksplant kaynağına göre dağılımı

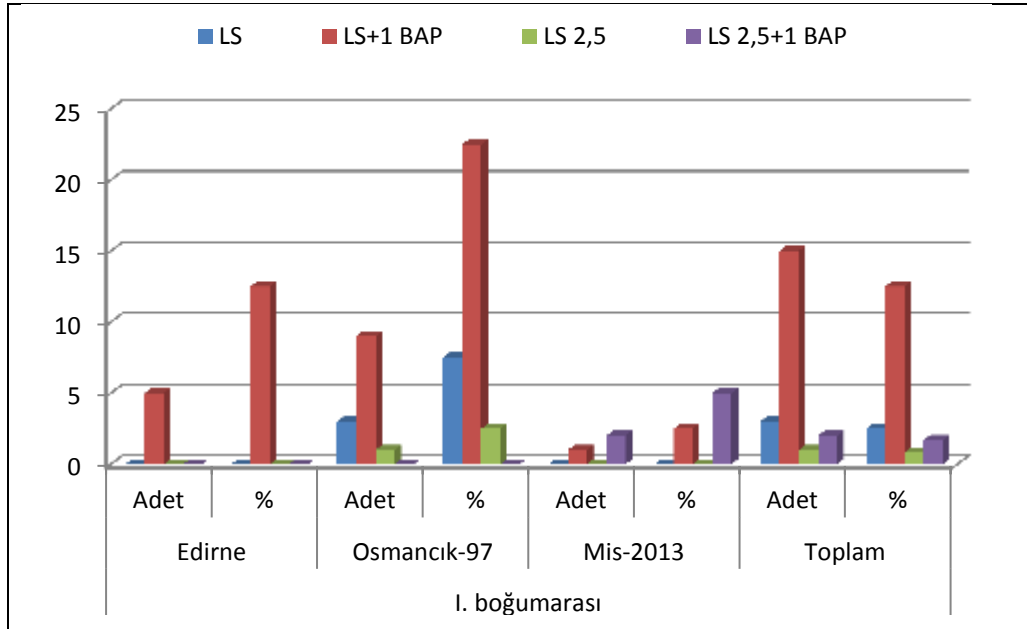
4.2.5.2. I. boğumarası eksplantı başına bitki sayısı

Araştırma sonucu I. boğumarası eksplant kaynağı bazında saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler

Çizelge 4.16 ve Şekil 4.16’de verilmiştir. Çizelge 4.16 ve Şekil 4.16’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi; I. boğumarası eksplant kaynağı dikkate alınarak değerlendirildiğinde; 1. boğumarası eksplantından Edirne çeltik çeşidinden 5 adet, Osmancık-97 çeltik çeşidinden 13 adet ve Mis-2013 çeltik çeşidinden 3 adet bitki olmak üzere toplam 21 adet bitki olduğu dolayısıyla I. boğumarası eksplantı başına bitki oluşum oranının %4.4 olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4. 16. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğumarası							
	Edirne		Osmancık- 97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	0	0.0	3	7.5	0	0.0	3	2.5
LS+1 BAP	5	12.5	9	22.5	1	2.5	15	12.5
LS 2,5	0	0.0	1	2.5	0	0.0	1	0.8
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	0	0.0	2	5.0	2	1.7
Toplam	5	3.1	13	8.1	3	1.9	21	4.4



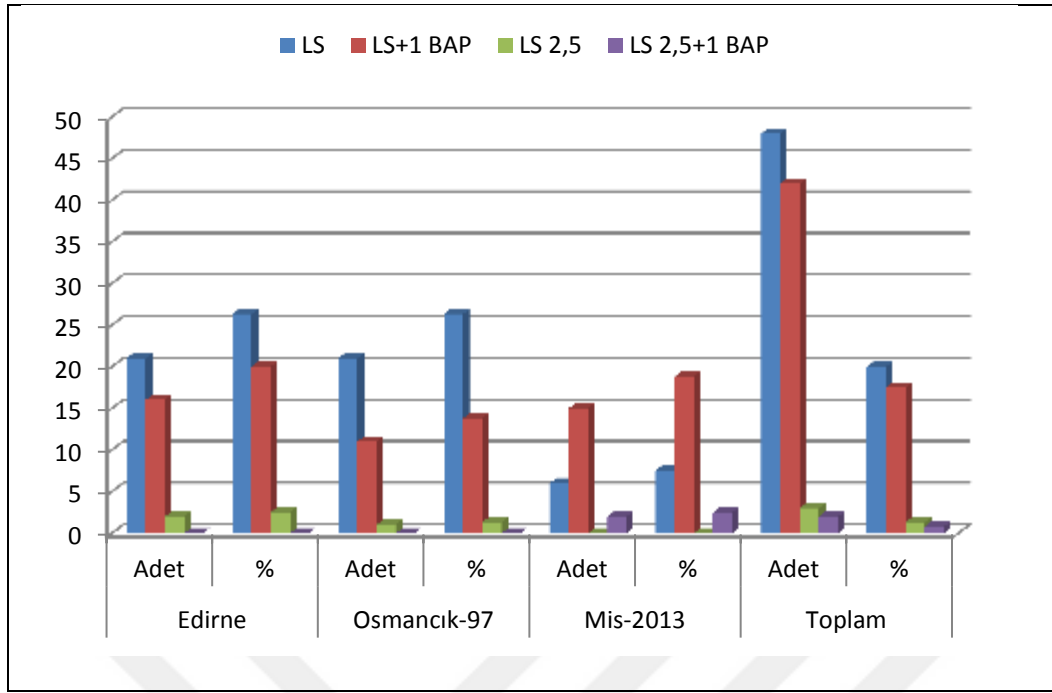
Şekil 4.16. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının I. boğumarası eksplant kaynağına göre dağılımı

4.2.6. Çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Araştırma sonucu I. boğumarası eksplant kaynağı bazında saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler Çizelge 4.17 ve Şekil 4.17’de verilmiştir. Çizelge 4.17 ve Şekil 4.17’nin incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi; en fazla bitki sayısı 21 adet ile Mis-2013 ve Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin LS besi ortamında elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %26.3 olduğu, bunu sırasıyla 16 adet bitki sayısı ve %20.0 bitki oluşum oranı ile Edirne çeltik çeşidinin LS+1 BAP besi ortamında, 15 adet bitki sayısı ve %18.8 bitki oluşum oranı ile Mis-2013 çeltik çeşidinin LS+1 BAP besi ortamında, 11 adet bitki sayısı ve %13.8 bitki oluşum oranı ile Osmancık-97 çeltik çeşidinin LS+1 BAP besi ortamında, 6 adet bitki sayısı ve %7.5 bitki oluşum oranı ile Mis-2013 çeltik çeşidinin LS besi ortamında, 2 adet bitki sayısı ve %2.5 bitki oluşum oranı ile Edirne çeltik çeşidinin LS 2,5 besi ortamında ve Mis-2013 çeltik çeşidinin LS 2,5+1 BAP besi ortamında ve 1 adet bitki sayısı ve %1.3 bitki oluşum oranı ile Osmancık-97 çeltik çeşidinin LS 2,5 besi ortamında elde edilmiştir. Edirne ve Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin LS 2,5+1 BAP ortamında ve Mis-2013 çeşidinin LS 2,5 besi ortamında bitki oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 4. 17. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Edirne		Osmancık-97		Mis-2013		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	21	26.3	21	26.3	6	7.5	48	20.0
LS+1 BAP	16	20.0	11	13.8	15	18.8	42	17.5
LS 2,5	2	2.5	1	1.3	0	0.0	3	1.3
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	0	0.0	2	2.5	2	0.8
Toplam	39	12.2	33	10.3	23	7.2	95	9.9



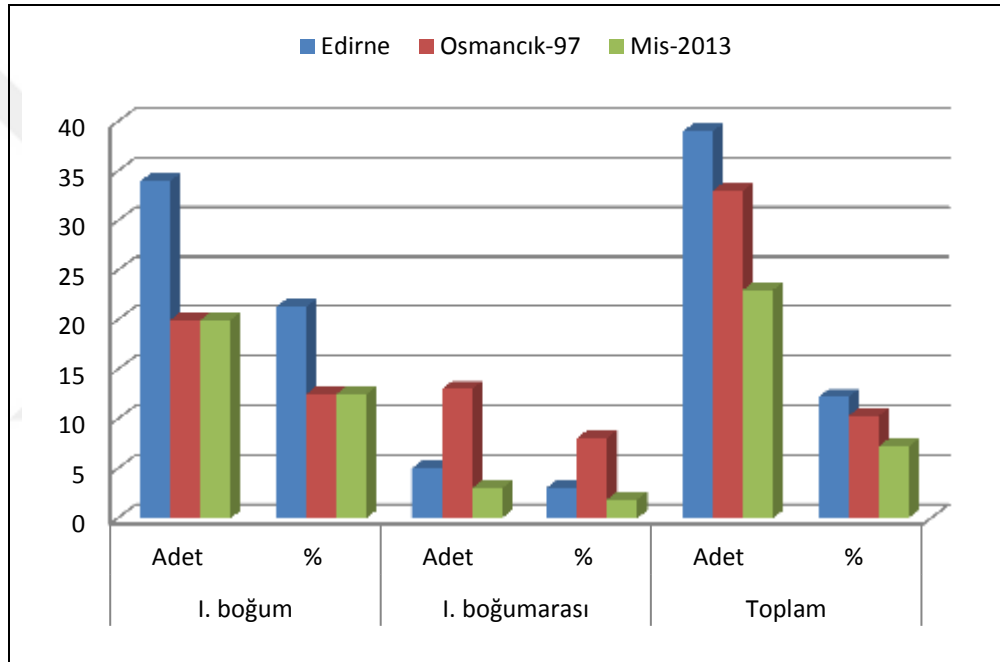
Şekil 4.17. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı kombinasyonuna göre dağılımı

4.2.7. Çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Araştırma sonucu çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler Çizelge 4.18 ve Şekil 4.18’de verilmiştir. Çizelge 4.18 ve Şekil 4.18’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi; en fazla bitki sayısı 34 adet ile Edirne çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %21.3 olduğu görülmüştür. Bunu sırasıyla 20 adet bitki sayısı ve %12.5 bitki oluşum oranı ile Osmancık ve Mis-2013 çeltik çeşitlerinin I. boğum eksplantı, 13 adet bitki sayısı ve %8.1 bitki oluşum oranı ile Osmancık-97 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantı, 5 adet bitki sayısı ve %3.1 sürgün oranı ile Edirne çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantı ve 3 adet bitki sayısı ve %1.9 bitki oluşum oranı ile Mis-2013 çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantı izlemiştir.

Çizelge 4. 18. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Çeşitler	1. boğum		1. boğumarası		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
Edirne	34	21.3	5	3.1	39	12.2
Osmancık-97	20	12.5	13	8.1	33	10.3
Mis-2013	20	12.5	3	1.9	23	7.2
Toplam	74	15.4	21	4.4	95	9.9



Şekil 4.18. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeşit x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı

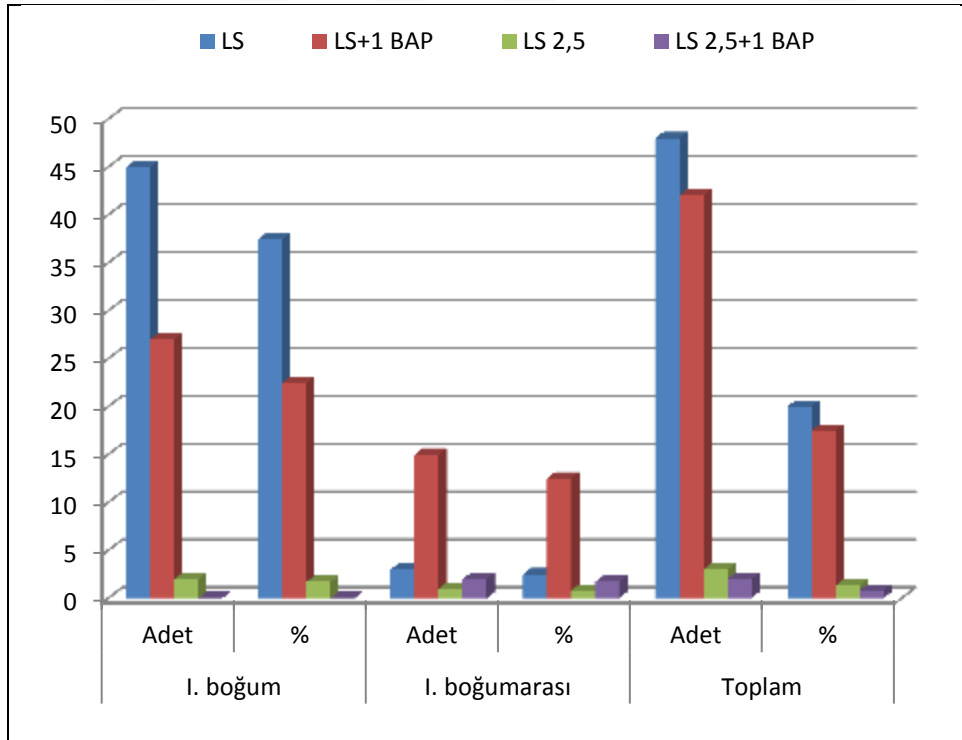
4.2.8. Besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Araştırma sonucu besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler Çizelge 4.19 ve Şekil 4.19’da verilmiştir. Çizelge 4.19 ve Şekil 4.19’un incelenmesinden de anlaşılabileceği gibi; en fazla bitki sayısı 45 adet bitki ile LS besi ortamında I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %37.5 olduğu görülmüştür. Sırası ile 27 adet bitki, %22.5 bitki oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında I. boğum eksplantından, 15 adet bitki, %12.5

bitki oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında I. boğumarası eksplantından, 3 adet bitki, %2.5 bitki oluşum oranı ile LS besi ortamında I. boğumarası eksplantından, 2 adet bitki, %1.7 bitki oluşum oranı ile LS 2,5 besi ortamında I. boğum eksplantından ve LS 2,5+1 BAP besi ortamında I. boğumarası eksplantından ve 1 adet bitki, %0.8 bitki oluşum oranı ile LS 2,5 besi ortamında I. boğumarası eksplantından elde edilmiştir.

Çizelge 4. 19. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	1. boğum		1. boğumarası		Toplam	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	45	37.5	3	2.5	48	20.0
LS+1 BAP	27	22.5	15	12.5	42	17.5
LS 2,5	2	1.7	1	0.8	3	1.3
LS 2,5+1 BAP	0	0.0	2	1.7	2	0.8
Toplam	74	15.4	21	4.4	95	9.9



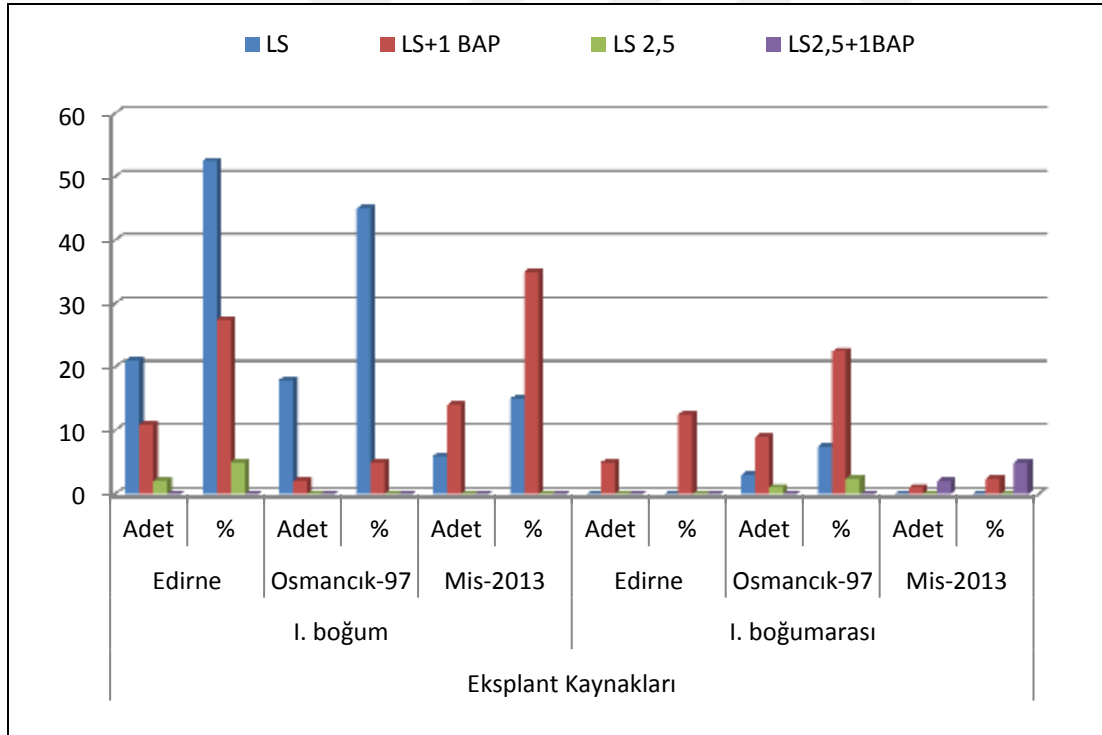
Şekil 4.19. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı

4.2.9. eşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre bitki sayısı

Araştırma sonucu çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonuna göre saksılara aktarılan bitki sayılarına ve eksplant başına bitki oluşum oranlarına ilişkin elde edilen veriler izelge 4.20 ve Şekil 4.20’de verilmiştir. Çizelge 4.20 ve Şekil 4.20’nin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi; en fazla bitki sayısı 21 adet ile LS besi ortamında Edirne eltik eşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %52.5 olduğu görölmüştür. Sırasıyla 18 adet bitki ve %45.0 bitki oluşum oranı ile LS besi ortamında Osmancık-97 eltik eşidinin I. boğum eksplantında, 14 adet bitki ve %35.0 bitki oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında Mis-2013 eltik eşidinin I. boğum eksplantından, 11 adet bitki ve %27.5 bitki oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında Edirne eltik eşidinin I. boğum eksplantından, 9 adet bitki ve %22.5 bitki oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında Osmancık-97 eltik eşidinin I. boğumarası eksplantından, 6 adet bitki ve %15.0 bitki oluşum oranı ile LS besi ortamında Mis-2013 eltik eşidinin I. boğum eksplantından, 5 adet bitki ve %12.5 bitki oluşum oranı ile LS+1 BAP besi ortamında Edirne eltik eşidinin I. boğumarası eksplantından, 3 adet bitki ve %7.5 bitki oluşum oranı ile LS besi ortamında Osmancık-97 eltik eşidinin I. boğumarası eksplantından, 2’şer adet bitki ve %5.0 bitki oluşum oranı ile LS 2,5 besi ortamında Edirne eltik eşidinin I. boğum eksplantından, LS+1 BAP besi ortamında Osmancık-97 eltik eşidinin I. boğum eksplantından ve LS 2,5+1 BAP besi ortamında Mis-2013 eltik eşidinin I. boğumarası eksplantından, 1’er adet bitki ve %2.5 bitki oluşum oranı ile LS 2,5 besi ortamında Osmancık-97 eltik eşidinin I. boğumarası eksplantından ve LS+1 BAP besi ortamında Mis-2013 eltik eşidinin I. boğumarası eksplantından elde edilmiştir. Araştırmada özellikle LS 2,5+1 BAP besi ortamında Mis-2013 eltik eşidinin I. boğumarası eksplantı hariç bütün çeşitlerin diğeri eksplant kaynaklarında bitki oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 4. 20. Saksıda toprak ortamına aktarılan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarına ilişkin veriler

Besi Ortamları	Eksplant Kaynakları											
	1. boğum						1. boğumarası					
	Edirne		Osmancık-97		Mis-2013		Edirne		Osmancık-97		Mis-2013	
	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%	Adet	%
LS	21	52.5	18	45.0	6	15.0	0	0.0	3	7.5	0	0.0
LS+1 BAP	11	27.5	2	5.0	14	35.0	5	12.5	9	22.5	1	2.5
LS 2,5	2	5.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	2.5	0	0.0
LS2,5+1BAP	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	2	5.0
Toplam	34	21.3	20	12.5	20	12.5	5	3.1	13	8.1	3	1.9



Şekil 4.20. Oluşan bitki sayıları ve bitki oluşum oranlarının çeşit x besi ortamı x eksplant kaynakları kombinasyonuna göre dağılımı

Araştırma sonucu sürgün ve bitki oluşum oranı çeşide, eksplant kaynağına, eksplantın alındığı zamandaki eksplantın fizyolojik yaşına, kullanılan besi ortamına ve kültür koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Ganeshan vd, 2003;

Deo vd, 2010). Bu araştırmada kullanılan faktörlerden biri yada birkaçı bağımsız veya kombinasyon halinde etki ederek besi ortamına ekilen eksplantlardan toplam 173 sürgün ve 95 adet bitki oluşumu sağladıkları; eksplant başına sürgün ve bitki oluşum oranının sırasıyla %18.0 ve %9.9 olduğu belirlenmiştir. Monokotiledon bitkilerde somatik dokulardan farklılaşma, dikotiledon bitkilere göre daha zor (Stewart, 2005; Kurt, 2015) olup elde edilen sürgün ya da bitki oranları kısmen daha düşüktür. Bu nedenle sürgün ve bitki oluşum oranlarının artırılmasına yönelik yeni araştırmaların yapılması ihtiyacına binaen bu araştırma gibi birçok araştırma (Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b) yapılmıştır. Monokotiledon bitkiler kendi içinde değerlendirildiğinde; bu araştırmada elde edilen sürgün ve bitki oranları, beklenen oranlara göre daha yüksektir. Diğer taraftan sürgün oluşum oranının bitki oluşum oranına göre daha fazla olması normalde beklenen bir sonuçtur. Zira oluşan her sürgün sağlıklı olarak gelişerek sağlıklı bitkiye dönüşmeyebilir. Genel olarak besi ortamından, toprak koşullarına aktarımda önemli oranda bitki kayıpları yaşanmaktadır. Bu tür kayıpların ortaya çıkmasında bitkisel faktörlerin yanında aktarım ortamının çevresel faktörleri ile yetiştirme ortamı önemli etkiye sahiptir (Jain vd, 1997; Khatun vd, 2003).

Araştırmada ele alınan üç çeltik çeşidi arasında sürgün ve bitki oluşumu bakımından az da olsa bir farklılığın olduğu belirlenmiştir. Araştırma sonucu elde edilen veriler değerlendirildiğinde; %22.8 sürgün oluşum oranı ile Mis-2013 çeşidi ilk sırada yer alırken, bu çeşidi %17.8 sürgün oluşum oranı ile Edirne ve %13.4 sürgün oluşum oranı ile Osmancık-97 çeltik çeşitleri takip ettiği, bitki oluşum oranı bakımından ise bu sıralamanın değiştiği; %12.2 bitki oluşum oranı ile Edirne çeltik çeşidinin ilk sırada yer almasına karşın bu çeşidi %10.3 bitki oluşum oranı ile Osmancık-97 ve %7.2 bitki oluşum oranı ile Mis-2013 çeltik çeşidinin takip ettiği belirlenmiştir. Mis-2013 çeltik çeşidi sürgün oluşum oranı bakımından en yüksek orana sahip olmasına karşın bitki oluşum oranı bakımından en az orana sahip olması tamamen çeşitlerin içsel faktörlere ve çevresel faktörlerdeki değişmelere verdikleri tepkilerin sonucunda ortaya çıkmış bir durumdur. Nitekim çeşitlerin gerek sürgün gerekse bitki oluştırma potansiyeli bakımından farklılık arz ettikleri (Abe & Futsufara, 1984; Chu & Croughan, 1990; Valdez vd, 1997), çevresel faktörlerin etkileşimde önemli rol oynadığı (Jain vd, 1997) kabul edilmektedir.

Araştırmada kullanılan besi ortamları arasında en fazla sürgün oluşum oranı %34.4 ile LS besi ortamında elde edildiği, bu ortamı sırasıyla %32.1 ile LS+1 BAP besi ortamının, %2.9 ile LS 2,5-D+1 BAP besi ortamının ve %1.7 ile LS 2,5- D besi ortamı takip ettiği, en fazla bitki oluşum oranının %20.0 ile LS besi ortamında elde edildiği, bu ortamı %17.5 ile LS+1 BAP besi ortamının, %1.3 ile LS 2,5- D besi ortamının ve %0.8 ile LS 2,5+1 BAP besi ortamının takip ettiği belirlenmiştir. Sürgün ve bitki oluşum bakımından en iyi responsun LS besi ortamında elde edildiği, LS besi ortamına 1 mg/l BAP veya 2.5 mg/l 2,4- D ya da 2.5 mg/l 2,4- D+1 mg/l BAP ilave edilmesinin sürgün ve bitki oluşumu üzerinde beklenen pozitif etkiyi ortaya koymadığı gibi az da olsa negatif yönde bir etki ortaya çıktığı belirlenmiştir. Araştırmada sürgün ve bitki oluşumu bakımından ortaya çıkan azalmanın LS besi ortamına 2.5 mg/l 2,4-D ilave edilmesi veya 2.5 mg/l 2,4-D+1 mg/l BAP ilave edilmesi ile daha da belirgin olduğu belirlenmiştir. Besi ortamının içeriğinin sürgün ve bitki oluşumunda önemli bir faktör olduğu (Deo vd, 2010; Sompornpailin & Chutipaijit, 2012; Vennapusa vd, 2015), bu nedenle besi ortamına ilave edilecek kimyasal maddelerin veya hormonların seçiminde genotip faktörlerin yanında diğer faktörlerin de dikkate alınması gerektiği (Jiang vd, 1998; Rueb vd, 1994) ortaya konmuştur. Besi ortamına ilave edilen oksin ve sitokininlerin farklılaşma frekansına etki ettiği (Rueb vd, 1994; Lee vd, 2002) rapor edilmiştir. Besi ortamına 2,4-D ilavesinin çeltikte kallus oluşumunu teşvik ettiği yönündeki bazı araştırma raporlarının (Ali vd, 2004; Lin & Zhang, 2005; Karthikeyan vd, 2009; Joyia & Khan, 2013) yanında, olumsuz yönde etki ortaya koyduğuna dair bazı araştırmalar (Din vd, 2016) da vardır. Bu araştırmada da elde edilen bulgular 2,4- D ilavesinin olumsuz yönde etkili olabileceği yönündeki bulguları teyit eder niteliktedir. Bu durum kullanılan çeşitlerin totipotensi yeteneklerinin farklılık göstermesinin bir sonucu olabilir. Diğer taraftan LS besi ortamının, çeltikte kullanılan besi ortamları arasında en çok kullanılan besi ortamı olduğu (Koyuncu, 2008) yönündeki rapor bu araştırma sonuçları ile de teyit edilmektedir.

Araştırmada ele alınan eksplant kaynaklarından I. boğum eksplantı %24.2 oranında sürgün oluşturmaya karşın I. boğumarası eksplantından %11.9 oranında sürgün oluşumu elde edilmiştir. Sürgün oluşumunda olduğu gibi I. boğum eksplantından %15.0 bitki oluşumu elde edilmesine karşın I. boğumarası eksplantından %4.4 oranında bitki elde edilmiştir. Sürgünlerin gelişmelerini

sürdürerek sağlıklı bitkileri oluşturmaları sürecinde başta genotip faktörü olmak üzere birçok faktör etkili olmaktadır. Her iki eksplant kaynağı için kontrol edilebilir faktörler eşit olmasına karşın, sürgünden bitkiye dönüş bakımından eksplant kaynakları arasında I. boğum eksplantı lehine önemli bir avantajın olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç; yapılacak çalışmalarda sürgünden bitkiye dönüşüm sürecinde genotip faktörün yanında eksplant kaynağının da önemli bir rolünün olduğu yönündeki savı destekler niteliktedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da farklılaşmada eksplant kaynağının orijin aldığı yapıların önemli bir etkiye sahip olduğu çeşitli araştırmacılar (Houqe & Mansfield, 2004; Wang vd, 2005; Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b) tarafından da ortaya konmuştur. Bu bölgede yer alan dokulardan yaprak, dal, çiçek sapı ve kök gibi organların çıkması bu bölgede farklı organları oluşturan farklı tipte hücrelerin bulunduğunu göstermektedir. Boğumarası ise su, besin ve hormonları bir boğumdan diğer bir boğuma taşıyan sapın bir bölümüdür. Bu şekilde değerlendirildiğinde; boğumların, boğumalarına göre daha fazla farklılaşma şansına sahip olma potansiyeline sahip olduğunu söylemek yanlış olmaz. Dolayısıyla bu araştırmada da elde edildiği gibi I. boğumun, I. boğumarasına göre daha yüksek oranda sürgün ve bitki oluşumu sağlamış olması beklenen bir sonuç olup, daha önce yapılan çalışmalarla da uyum içindedir.

Çeşit x besi ortamı etkileşimi değerlendirildiğinde; en fazla sürgün sayısı 35 adet ile Mis-2013 çeşidinin LS besi ortamında elde edilmiş olup, sürgün oluşum oranının %43.8 olduğu, en fazla bitki sayısının ise 21 adet ile Mis-2013 ve Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin LS besi ortamında elde edilmiş olup, bitki oluşum oranının %26.3 olduğu belirlenmiştir. Gerek sürgün oluşumu gerek bitki oluşumu bakımından ayrı ayrı değerlendirildiğinde besi ortamı bakımından LS ortamının ilk sırada yer almasına karşın çeşitler bazında sürgün oluşumu bakımından Mis-2013 çeltik çeşidi ilk sırada yer almasına karşın bitki oluşumu bakımında son sırada yer almaktadır. Ancak çeşit ve besi ortamı etkileşimi değerlendirildiğinde, farklı bir etkileşimin olması her zaman beklenen bir durumdur. Zira farklı etki faktörleri bir araya geldiğinde ayrı ayrı olan etkilerine göre bazen olumlu yönde bazen de zıt yönde etki ortaya koyabilmekteler. Nitekim Edirne çeşidinin LS 2.5 mg/l 2,4- D+1 mg/l BAP ortamında ve Mis-2013 çeşidinin LS 2.5 mg/l 2,4- D besi ortamında sürgün oluşumu ve Edirne ve Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin LS 2.5 mg/l 2,4- D+1 mg/l BAP ortamında ve Mis-2013 çeşidinin LS 2.5 mg/l 2,4- D besi ortamında bitki oluşumu gözlenmemiştir. Bazen ortaya konan etkinin boyutu daha şiddetli bazen de

daha hafif olabilmektedir. Bu araştırmada özellikle çeşitlerin ortaya koydukları sürgün ve betki oluşum oranlarına ilişkin verilere paralel sonuçları ortaya koymamış olmaları beklenen bir durumdur. Nitekim kallus oluşumu ve farklılaşmada birçok faktörün etkiye sahip olduğu birçok araştııcı tarafından (Rueb vd, 1994; Jiang, vd, 1998; Khanna & Raina, 1998; Doe vd, 2010) ortaya konmuş olup, bu araştırmada da elde edilen bulgular bu araştışıcıların bulgularını teyit eder niteliktedir.

eşit x eksplant kaynağı etkileşimine göre; 47 adet sürgün ve 34 adet bitki sayısı ile en fazla sürgün ve bitki sayısı Edirne eşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, sürgün oluşum oranının %29.4 ve bitki oluşum oranının %21.3 olduğu belirlenmiştir. *In vitro* koşullarda kültüre alınan hücre, doku ve organlardan sürgün ve bitki oluşumunda genotip faktörün yanında besi ortmına aktarılan eksplantın kaynağı ve yaşı gibi faktörlerin de etkili olduğu birçok araştııcı tarafından ortaya konmuştur (Ali vd, 2004; Hoque & Mansfield 2004; Khaleda & Forkan, 2006; Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b; Ramesh vd, 2009; Ghobeishavi vd, 2015; Sankepally & Singh, 2016). Bu araştırmadan elde edilen bulgulara göre çeşit ve eksplant kaynağı ayrı ayrı değerlendirildiğinde en yüksek sürgün oluşum oranı %22.8 ile Mis-2013 eltik çeşidinden elde edilmesine karşın en fazla bitki oluşum oranı %12.2 ile Edirne eltik çeşidinden elde edilmiştir. Diğer taraftan eksplant kaynağı bazında değerlendirildiğinde en yüksek sürgün ve bitki oluşum oranı I. boğum eksplantından elde edilmiştir. İki faktör bir arada değerlendirildiğinde çeşit faktörünün devreye girdiği ve buna bağlı olarak da Edirne eltik çeşidinin sürgün ve bitki oluşumu bakımından eşitxeksplant kaynağı kombinasyonundan pozitif yönde en fazla etkilendiğini ve buna bağlı olarak da en yüksek sürgün ve bitki oluşum oranını ortaya koyduğunu söylemek yanlış olmaz. Bu tip tezat sonuçlar kombinasyonlardan daima beklenen bir durumdur. Burada üzerinde durulması gereken önemli bir nokta Mis-2013 eltik çeşidinin çeşit bazında en yüksek sürgün oluşum oranını ortaya koymasına karşın bu genotipik etkisini çeşit x eksplant kaynağı etkileşiminde yeteri kadar ortaya koyamamış olmasıdır. Bu durum çeşitlerin *in vitro* alışmalara yatkınlığı bakımından farklılık gösterdiklerine bir örnek olarak verilebilir. Nitekim bazı araştışıcılar (Mikami & Kinoshita, 1988; Chu & Croughan, 1990; Kunanuvatchaidach vd, 1995; Verma vd, 2011) eltik grupları arasında *in vitro* koşullara yatkınlık bakımından farklılık arz ettiklerini ortaya koymuşlardır ki bu araştırmadan elde edilen bulgular da bu araştışıcıların savlarını destekler mahiyettedir.

Besi ortamı x eksplant kaynağı etkileşimine göre; 70 adet sürgün ve 45 adet bitki oluşumu ile en fazla sürgün ve bitki oluşumu LS besi ortamında I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %58.3 ve bitki oluşum oranının %37.5 olduğu belirlenmiştir. Besi ortamı ve eksplant kaynağı ayrı ayrı değerlendirildiğinde; en yüksek sürgün ve bitki oluşum oranı besi ortamı olarak %34.4 sürgün ve %20.0 bitki oluşum oranı ile LS besi ortamında ve eksplant kaynağı olarak da %24.2 sürgün ve %15.0 bitki oluşum oranı ile I. boğum eksplant kaynağından elde edilmiştir. Faktörlerin bir araya gelmesi durumunda etkilerinin pozitif veya negatif yönde ortaya çıkabildiği gibi etkinin boyutunda da değişkenlik gözlenebilmektedir. Nitekim bu araştırmada elde edildiği besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonunun sağlamış olduğu sürgün ve bitki oluşum oranlarının, besi ortamı veya eksplant kaynağının ayrı ayrı sağlamış oldukları sürgün ve bitki oluşum oranlarına göre daha fazladır. Besi ortamı x eksplant kaynağı etkileşiminin sürgün oluşumunda, bitki oluşumuna göre daha yüksek olduğu, bu etkinin de faktörlerin ayrı ayrı ortaya koydukları etki biçimlerini yansıtacak nitelikte olduklarını söylemek yanlış olmaz. Besi ortamı ve eksplant kaynağı kombinasyonunun bitkilerde farklılaşmada, farklı boyuttta etkiye sahip oldukları birçok araştırmacı (Khanna & Raina, 1998; Mandal vd, 2003; Hoque & Mansfield, 2004; Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b; Vennapusa vd, 2015) tarafından ortaya konmuş olup, bu araştırmada elde edilen bulgular daha önce ortaya konan bu bulgular ile de paralelik arz etmektedir.

Çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı etkileşimine göre en fazla sürgün ve bitki sayısı LS besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %70.00 ve bitki oluşum oranının %52.5 olduğu belirlenmiştir. Besi ortamına ekilen eksplantlardan elde edilen sürgün ve bitki oluşumu oranları çeltikte somatik dokulardan bitki oluşumuna yönelik daha önce yapılan çalışmalar (Chu & Croughan, 1990; Sharma vd, 2005; Stewart, 2005; Carsono & Yoshida, 2006; Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b; Vennapuusa vd, 2015) ile kıyaslandığında, önemli oranda yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum; çeltik çeşitlerinin somatik doku ya da organlarının (eksplant) uygun besi ortamında kültüre alınması durumunda, beklenen sürgün ve bitki oluşum oranlarına ulaşılabilceği yönünde önemli bir ipucu vermektedir. Nitekim başarıda birden çok faktörün etkiye sahip olduğunu (Khanna & Raina, 1998; Gözükrımı, 2011; Kurt, 2015), bu faktörler arasındaki uyumun başarıda ana etken olduğunu (Sahrawat & Chand, 2001; Sompornpailin & Chutipaijit, 2012), faktörlerin

biraraya gelen etkilerinin her zaman aynı yönde olmadığı (Khan vd, 1999; Hoque & Mansfield, 2004; Din vd, 2016), dolayısıyla yapılacak çalışmalarda standart değerlendirmelerin yapılmasının doğru olmadığı (Abe & Fusthara, 1984; Kurt vd, 2008a; Kurt vd, 2008b) çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur. Bu araştırmada ele alınan çeşit, eksplant kaynağı ve besi ortamı ayrı ayrı değerlendirildiğinde de; bitki oluşumu bakımından en uygun responsun besi ortamı olarak LS besi ortamında, eksplant kaynağı olarak I. boğum eksplantından ve çeşit olarak da Edirne çeltik çeşidinden elde edilmiştir. Kombinasyon halinde benzer etkinin elde edilmiş olması faktörlerin ayrı ayrı etkilerin bir arada değerlendirildiğinde bazen aynı yönde respons ortaya çıkabilecekleri yönündeki savı desteklemektedir. Diğer taraftan sürgün oluşum oranı bakımından ayrı ayrı değerlendirildiğinde çeşit bazında farklılığın elde edilmiş olması da faktörlerin ayrı ayrı veya birlikte değerlendirildiğinde farklı yönde etki ortaya koyabilecekleri yönündeki düşünce ile de uyum sağlamaktadır. Bazen ele alınan faktörler arasındaki uyumun etkinliği sürgün ve bitki oluşumu için etkinlikleri yetersiz kalabilir (Maliga, 2003; Stewart, 2005; Kurt, 2015). Nitekim bu araştırmada LS 2,5 besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından, LS 2,5 besi ortamında Osmancık-97 ve Mis-2013 çeltik çeşitlerinin I. boğum eksplantlarından, Edirne ve Mis-2013 çeltik çeşitlerinin I. boğumarası eksplantından, LS 2,5+1 BAP besi ortamında Edirne, Osmancık-97 ve Mis-2013 çeltik çeşitlerinin I. boğum eksplantlarından ve Edirne çeltik çeşidinin I. boğumarası eksplantından sürgün ve dolayısıyla bitki oluşumunun olmadığı tespit edilmiş olması bu düşünce ile paralellik arz etmektedir.

4.3. Tarımsal Karakterler

In vitro koşullardan, toprak ihtiva eden *in vivo* koşullara aktarılan bitkilerin gelişmelerini tamamlamalarının ardından yapılan hasat sonrası elde edilen çeşitli tarımsal özelliklerine ilişkin veriler Çizelge 4.21’de verilmiştir. Çizelge 4.21’in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi ortalama bitki boyunun Edirne çeltik çeşidinde 86.99 cm, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 97.85 cm ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 85.95 cm olduğu belirlenmiştir. Çizelge 3. 1 incelendiğinde; ebeveyn çeşitlerin ortalama bitki boyunun Edirne çeşidinde 100-105 cm, Osmancık-97 çeşidinde 100 cm olduğu Mis-2013 çeltik çeşidinde daha kısa olduğu anlaşılmaktadır. Araştırma

sonucu eksplant kaynaklarından elde edilen bitkilerin bitki boyu ortalama değerlerinin de benzer olduğu, Osmancık-97 çeşidinde bitki boyunun Edirne çeltik çeşidinden biraz fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, yetiştirme koşullarına çeşitlerin verdikleri tepkilerin farklılığından kaynaklanmış olabilir. Zira çeşitlerin genetik yapılarının farklı olması sebebiyle farklı yetiştirme koşullarında gösterdikleri performans da farklılık arz edebilir. Diğer taraftan Mis-2013 çeltik çeşidinde tıpkı ebeveynlerinde olduğu gibi diğer iki çeltik çeşidinden daha kısa olduğu tespit edilmiştir ki bu durum beklenen bir sonuçtur.

Araştırma sonucu ortalama salkım uzunluğunun Edirne çeltik çeşidinde 9.86 cm, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 10.98 cm ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 9.22 cm olduğu tespit edilmiştir. Salkım uzunluğu bakımından ebeveyn çeşitlere ilişkin veriler olmamakla birlikte çeşitlerin salkım uzunluğuna ilişkin veriler bitki boyu ile bir arada değerlendirildiğinde beklenildiği değerler arasında olduğunu söylemek mümkündür.

Araştırma sonucu ortalama salkım başına tane sayısının Edirne çeltik çeşidinde 16.25 adet, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 19.80 adet ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 25.67 adet olduğu; ortalama salkım başına tane ağırlığının Edirne çeltik çeşidinde 0.54 gr, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 0.56 gr ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 0.67 gr olduğu; ortalama bin tane ağırlığının Edirne çeltik çeşidinde 32,08 gr, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 28.06 gr ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 25.35 gr olduğu tespit edilmiştir. Salkımdaki tane sayısının salkım başına tane ağırlığını tayin eden bir unsur olduğu dikkate alındığında salkımdaki tane sayısı arttıkça tane ağırlığı da artmıştır. Ancak bu artıştaki etkinin boyutuna bakıldığında tane sayısı ile tane ağırlığı arasındaki değişimin aynı sınırlar içinde kalmadığı anlaşılmaktadır. Nitekim her iki karakter bakımından Mis-2013 çeşidi en yüksek değere sahip olmasına karşın sahip olduğu değer salkımda tane ağırlığı bakımından daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Diğer taraftan tane sayısına bağlı olarak bin tane ağırlığının değiştiği, salkım başına tane sayısı arttıkça bin tane ağırlığının azalmakta olduğu beklenen bir durumdur. Nitekim salkımda tane sayısı ve tane ağırlığı en fazla olan Mis-2013 çeltik çeşidinde 1000 tane ağırlığı diğer iki çeltik çeşidinden daha azdır. Bu normalde beklenen bir durumdur.

Araştırma sonucu ortalama sterilite oranının Edirne ve Osmancık-97 çeltiklerinde %49.92 ve Mis-2013 çeltik çeşidinde %50.30 olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 21. Besi ortamı, eksplant kaynağı ve çeltik çeşitleri kombinasyonuna göre bazı tarımsal karakterlere ilişkin veriler

Besi Ortamları	Eksplant Kaynağı	Bitki boyu (cm)	Salkım uzunluğu (cm)	Salkımbaşına tane sayısı (adet)	Salkım başına tane ağırlığı (gr)	1000 tane ağırlığı (gr)	Sterilite (%)	Çimlenme oranı (%)
EDİRNE								
LS	1. boğum	91.11	9.67	13	0.47	33.67	61.59	98.23
	1. boğumarası	-	-	-	-	-	-	
LS+1 BAP	1. boğum	86.60	11.00	16	0.59	36.94	39.43	96.4
	1. boğumarası	85.75	10.25	23	0.71	30.77	38.71	94.94
LS 2,5	1. boğum	84.50	8.50	13	0.38	26.93	59.93	97.78
	1. boğumarası	-	-	-	-	-	-	
LS 2,5+1 BAP	1. boğum	-	-	-	-	-	-	
	1. boğumarası	-	-	-	-	-	-	
Ortalama		86.99	9.86	16.25	0.54	32.08	49.92	96.84
OSMANCIK-97								
LS	1. boğum	102.17	11.33	28	0.78	26.8	38.00	90.38
	1. boğumarası	100.33	11.33	16	0.50	31.0	49.00	99.68
LS+1 BAP	1. boğum	109.00	15.00	21	0.59	29.8	70.40	91.48
	1. boğumarası	104.75	10.25	20	0.56	28.4	46.00	96.52
LS 2,5	1. boğum	-	-	-	-	-	-	
	1. boğumarası	73.00	7.00	14	0.34	24.3	46.20	92.86
LS 2,5+1 BAP	1. boğum	-	-	-	-	-	-	
	1. boğumarası	-	-	-	-	-	-	
Ortalama		97.85	10.98	19.80	0.56	28.06	49.92	94.18
MİS-2013								
LS	1. boğum	93.00	10.00	35	0.90	25.68	46.20	88.18
	1. boğumarası	-	-	-	-	-	-	
LS+1 BAP	1. boğum	84.86	9.67	24	0.70	28.44	50.60	77.31
	1. boğumarası	-	-	-	-	-	-	
LS 2,5	1. boğum	-	-	-	-	-	-	
	1. boğumarası	-	-	-	-	-	-	
LS 2,5+1 BAP	1. boğum	-	-	-	-	-	-	
	1. boğumarası	80.00	8.00	18	0.40	21.92	54.10	100.0
Ortalama		85.95	9.22	25.67	0.67	25.35	50.30	88.50

Çiçekte döllenme durumu; genetik faktörlerin yanında çevresel faktörlerin ve çevre x genetik faktörlerin etkisi sonucu ortaya çıkmaktadır (Kurt, 2015). Nitekim çeşitlerin sterilité oranları bakımından Edirne ve Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin aynı sterilité oranına sahip olmaları, Mis-2013 çeltik çeşidinin sterilité oranının da diğer çeşitlere çok yakın olması kontrollü koşullarda yetiştirilen çeşitlerin genetik yapılarını sterilité oranına kısmen yansıttıklarını göstermektedir. Sterilité oranı her üç çeşitte de %50 gibi yüksek oranda ortaya çıkmıştır. Steril besi ortamından gelen bitkilerin doğal olmayan koşullarda yetiştirilmesi durumunda, tarla koşullarında yetiştirilen bitkilere göre sterilité oranının daha yüksek olması beklenir (Kurt, 2015). Nitekim bu araştırmadan da elde edilen sonuçlar bu savı destekler şekilde olduğu belirlenmiştir.

Araştırma sonucu ortalama çimlenme oranı Edirne çeltik çeşidinde %96.84, Osmancık-97 çeltik çeşidinde %94.18 ve Mis-2013 çeltik çeşidinde %88.5 olduğu tespit edilmiştir. Ortalama çimlenme oranı her üç çeltik çeşidinde de %85.00'in üzerindedir. Bu durum; eksplant kaynaklarından elde edilen bitkilerin sağlıklı olduklarını ve sağlıklı tozlanıp, döllendiklerini ve tane doldurma süreçlerini de sağlıklı olarak atlatacak çimlenme oranı oldukça yüksek sağlıklı tohumlar oluşturduklarını göstermektedir. Hiç şüphesiz eksplant kaynaklarından sağlıklı bitkilerin elde edilmesi oldukça önemli olmasına karşın çimlenme oranı yüksek tohumların hasat edilmesi eksplant kaynaklarından sağlıklı bitkileri elde etme konusundaki başarıyı ortaya koymaktadır.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırma sonucu elde edilen veriler değerlendirildiğinde; elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1) Besi ortamına ekilen eksplantlardan toplam 173 adet sürgün elde edilmiş olup sürgün oluşum oranının %18.0 olduğu, çeşitler dikkate alınarak değerlendirildiğinde; en fazla sürgün sayısı 73 adet ile Mis-2013 çeltik çeşidinden elde edilmiş olup, sürgün oluşum oranının %22.8 olduğu, besi ortamları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; en fazla sürgün sayısı 85 adet ile LS besi ortamında elde edilmiş olup, sürgün oluşum oranının %35.4 olduğu, eksplant kaynakları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; I. boğum eksplantından toplam 116 adet sürgün elde edilmiş olup, I. boğum eksplantı başına sürgün oluşum oranının %24.2 olduğu, eksplant kaynakları dikkate alınarak değerlendirildiğinde; I. boğum eksplantından toplam 116 adet sürgün olduğu dolayısıyla ekaplant başına sürgün oluşum oranının %24.2 olduğu ve I. boğumarası eksplantından toplam 57 adet sürgün olduğu dolayısıyla eksplant başına sürgün oluşum oranının %35.6 olduğu tespit edilmiştir.

2) Kombinasyonlar bazında değerlendirildiğinde; çeşit x besi ortamı kombinasyonunda en fazla sürgün sayısı 35 adet ile Mis-2013 çeşidinin LS besi ortamında elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %43.8 olduğu, çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonunda en fazla sürgün sayısı 47 adet ile Edirne çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %29.4 olduğu, besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonunda en fazla sürgün sayısı 70 adet ile LS besi ortamında I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %58.3 olduğu, çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonunda en fazla sürgün sayısı 28 adet ile LS besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına sürgün oluşum oranının %70.00 olduğu tespit edilmiştir.

3) Saksıda bulunan toprak koşullarına toplam 95 adet bitki aktarılmış olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %9.9 olduğu, 39 adet bitki ile en fazla bitki Edirne çeltik çeşidinden toprak koşullarına aktarılmış olup, eksplant başına bitki

oluşum oranının %12.2 olduğu, 48 adet ile en fazla bitki sayısı LS besi ortamında elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %20.0 olduğu, 76 adet bitki ile en fazla bitki sayısı I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, I. boğum eksplantı başına bitki oluşum oranının %15.8 olduğu, I. boğumarası eksplantından toplam 21 adet bitki elde edilmiş olup, bitki oluşum oranının %4.4 olduğu tespit edilmiştir.

4) Kombinasyolar bazında değerlendirildiğinde; çeşit x besi ortamı kombinasyonunda en fazla bitki sayısı 21 adet ile Edirne ve Osmancık-97 çeltik çeşitlerinin LS besi ortamında elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %26.3 olduğu, çeşit x eksplant kaynağı kombinasyonunda en fazla bitki sayısı 34 adet ile Edirne çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %21.3 olduğu, besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonunda en fazla bitki sayısı 45 adet bitki ile LS besi ortamında I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %37.5 olduğu ve çeşit x besi ortamı x eksplant kaynağı kombinasyonunda en fazla bitki sayısı 21 adet ile LS besi ortamında Edirne çeltik çeşidinin I. boğum eksplantından elde edilmiş olup, eksplant başına bitki oluşum oranının %52.5 olduğu tespit edilmiştir.

5) *In vivo* koşullarında yetiştirilen bitkilerin çeşitli tarımsal özelliklerine ilişkin veriler değerlendirildiğinde; ortalama bitki boyunun Edirne çeltik çeşidinde 86.99 cm, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 97,85 cm ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 85.95 cm olduğu, ortalama salkım uzunluğunun Edirne çeltik çeşidinde 9.86 cm, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 10.98 cm ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 9.22 cm olduğu, salkım başına tane sayısının Edirne çeltik çeşidinde 16,25 adet, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 19.80 adet ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 25.67 adet olduğu; ortalama salkım başına tane ağırlığının Edirne çeltik çeşidinde 0.54 gr, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 0.56 gr ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 0.67 gr olduğu; ortalama bin tane ağırlığının Edirne çeltik çeşidinde 32.08 gr, Osmancık-97 çeltik çeşidinde 28.06 gr ve Mis-2013 çeltik çeşidinde 25.35 gr olduğu, ortalama sterilite oranının Edirne ve Osmancık-97 çeltiklerinde %49.92 ve Mis-2013 çeltik çeşidinde %50.30 olduğu ve ortalama çimlenme oranı Edirne çeltik çeşidinde %96.84, Osmancık-97 çeltik çeşidinde %94.18 ve Mis-2013 çeltik çeşidinde %88.5 olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmadan elde edilen sonuçlara dayanarak aşağıdaki öneriler yapılabilir.

- 1) Araştırmada elde edilen sürgün ve bitki sayıları dikkate alındığında; kullanılan çeşitler arasında Edirne eltik çeşitinin, besi ortamları arasında LS ortamının ve eksplant kaynakları arasında I. boğum eksplantının daha avantajlı olması sebebiyle daha sonraki çalışmalarda öncelikle kullanılmaları önerilebilir.
- 2) Araştırmadan elde edilen bulgulara dayanarak; sürgün oluşumu üzerinde eksplantların alınma yaşlarının tespit edilmesine yönelik olarak kapsamlı bir araştırma yapılması önerilebilir.
- 3) Oluşan sürgün sayısını dolayısıyla sürgün oluşum oranını artırmaya yönelik olarak, araştırmada en fazla sürgün sayısının elde edildiğı LS Besi ortamına, farklı hormonlar ilave edilerek oluşturulacak yeni besi ortamı kombinasyonları kullanarak, kapsamlı bir araştırma yapılması önerilebilir.



KAYNAKLAR

- Abe T & Sasahara T (1982). Variations in callus formation from seeds in *japonica*, *indica*, their hybrids and large grain varieties in rice. *Japanese Journal of Breeding*. 32(1):53-60
- Abe T & Futsufara Y (1984). Varietal difference of plant regeneration from root callus tissues in rice. *Japanese Journal of Breeding*. 34: 147-155
- Ahmadabadi M, Ruf S & Bock R (2007). A leaf-based regeneration and transformation system for maize (*Zea mays* L.) *Transgenic Research* 2007. 16: 437–448. DOI 10.1007/s11248-006-9046-y
- Ali S, Xue Q Z & Zhang X Y (2004). Assessment of various factors involved in the tissue culture system of rice. *Rice Science*, 11(5-6): 345-349.
- Anonim (2003). Tarımsal Değerleri Ölçme denemeleri teknik talimatı. Çeltik (*Oryza sativa* L.) T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkezi Müdürlüğü. Ankara
- Anonim (2016a). T.C. Toprak Mahsulleri Ofisi Genel müdürlüğü. <http://www.tmo.gov.tr/Upload/Document/istatistikler/tablolalar> (Erişim Tarihi: 15.08.2016)
- Anonim (2016b). Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/bitkiselapp/bitkisel.zul> (Erişim Tarihi: 15.08.2016)
- Anonim (2016c). T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü, BÜGEM Faaliyetleri. Nisan 2016. <http://www.tarim.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/BUGEM.pdf> (Erişim Tarihi: 15.08.2016)
- Anonim (2016d). T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. <http://arastirma.tarim.gov.tr/ttae/Link/1/Cesitlerimiz>. (Erişim Tarihi: 15.06.2016)
- Anonymous (2016a). Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. <http://faostat3.fao.org/home/E> (Erişim Tarihi: 15.08.2016)
- Anonymous (2016b). Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) Consensus Document On The Biology Of *Oryza Sativa* (Rice) Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 14, Aralık 1999 <https://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815658.pdf> (Erişim Tarihi: 15.08.2016)

- Anonymous (2016c). International Rice Research Institute (IRRI), The International Rice Genebank. <http://irri.org/our-work/research/genetic-diversity/international-rice-genebank> (Erişim Tarihi: 15.08.2016)
- Bajaj S & Rajam M V (1995), Efficient plant regeneration from longterm callus cultures of rice by spermidine. *Plant Cell Reports*. 14: 717–720
- Baydar H (2002). *Tarla Bitkilerine Giriş*. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Yayınları No: 11/2, Isparta
- Benkirane H, Sabounji K, Chlyah A & Chlyah, H (2000). Somatic embryogenesis and plant regeneration from fragment of immature inflorescences and coleoptiles of durum wheat. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 61, 107-113. 2000 Kluwer Academic Publishers. Netherlands
- Biswas A & Mandal A B (2007). Plant regeneration in different genotypes of *indica* rice. *Indian journal of biotechnology*, vol 6, october 2007, pp 532-540
- Carsono N & Yoshida T (2006). Identification of callus induction potential of 15 Indonesian Rice Genotypes. *Plant Production Science*. 9(1) : 65 - 70
- Castillo A M, Egan B, Sanz J M & Cistue L (1998). Somatic embryogenesis and plant regeneration from barley cultivars grown in Spain. *Plant Cell Reports* 17. 902–906.
- Chaudhury A & Qu R (2000). Somatic embryogenesis and plant regeneration of turf-type bermudagrass: Effect of 6-benzyladenine in callus induction medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 60: 113–120, 2000. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Cheng W H, Sakai K Y & Hasegawa T (2010). Combined effects of elevated [CO₂] and high night temperature on carbon assimilation, nitrogen absorption, and the allocations of C and N by rice (*Oryza sativa* L.). *Agricultural and Forest Meteorology*. 150(9): 1174-1181
- Chu C C, Wang C C, Sun C S, Hsu C, Yin KC, Chu CY & Bi F Y (1975). Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experiments on nitrogen source. *Scientia Sinica* 5: 659–668
- Chu Q R & Croughan T P (1990). Genetics of plant regeneration in immature panicle culture of rice. *Crop Science*. Vol. 30 No. 6. Crop Science Society of America.
- Croughan T P & Chu Q R (1991). Establishment of callus cultures and the regeneration of plants. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol 14:(pp 19–37). Springer Verlag, Y.P.S. Bajaj, Berlin.
- Datta K, Potrykus I & Datta S K (1992). Efficient fertile plant regeneration from protoplast of the *indica* rice breeding line IR72 (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Reports*, 11:229-233.
- Demir A, Seyis F & Kurt O (2006). Genetik yapısı değiştirilmiş organizmalar: I. Bitkiler. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 21(2): 249-260.

- Deo P C, Tyagi A P, Taylor M, Harding R & Becker D (2010). Factors affecting somatic embryogenesis and transformation in modern plant breeding. *The South Pacific Journal of Natural and Applied Sciences* 28, 27 – 40.
- Din A R J M, Ahmad F I, Wagiran A, Samad A A S, Rahmat Z, Sarmidi M R (2016). Improvement of efficient *in vitro* regeneration potential of mature callus induced from Malaysian upland rice seed (*Oryza sativa* cv. Panderas). *Saudi Journal of Biological Sciences*. (2016) 23, S69–S77 King Saud University.
- Ding Z & Friml J (2010). Auxin regulates distal stem cell differentiation in *Arabidopsis* roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 26.
- Evangelista F C, Aldemita R R & Ungson L B (2009). Callusing and regeneration potential of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes towards the development for salt tolerance. *Philippine Journal of Science*. 138 (2): 169-176, December 2009 ISSN 0031 - 7683
- Gamborg O L, Miller R A & Ojima K (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soyabean root cells. *Experimental Cell Research*. 50:151–158
- Ganeshan S, Baga M, Harvey B L, Rossnagel B G, Scoles G J & Chibbar R N (2003) Production of multiple shoots from thidiazuron-treated mature embryos and leaf-base / apical meristems of barley (*Hordeum vulgare*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 73: 57–64, 2003. Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Geçit H H, Çiftçi C Y, Emeklier H Y, İkincikarakaya S, Adak M S, Kolsarıcı Ö, Ekiz H, Altınok S, Sancak C, Sevimay C S & Kendir H (2011). Tarla bitkileri, *Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi* yayınları, yayın no:1588. Ankara.
- Ghosh Biswas C G & Zapata F J (1993). High frequency plant regeneration from protoplasts of *indica* rice (*Oryza sativa* L.) using maltose. *J. Plant Physiol.* 141:470-475
- Ghobeishavi H, Uliäie E D, Alavikia S S & Valizadeh M (2014). The effect of plant growth regulators on embryogenic callus induction and regeneration from coleoptile in rice. *International Journal of Biosciences*. ISSN: 2220-6655 (Print) 2222-5234 (Online) <http://www.innspub.net> Vol. 5, No. 2, p. 144-150, 2014
- Ghobeishavi H, Uliäie E D, Alavikia S S & Valizadeh M H (2015). Study of Factors Influencing Somatic Embryogenesis in Rice (*Oryza sativa* L.) *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 2015; 3 (1), 43-50
- Gomez S M & Kalamani A (2002). Variability analysis of traits related to callus growth and plant regeneration in drought resistant local land races of rice (*Oryza sativa* L.). *Asian journal of plant sciences*. v:1 number 5: 583-584. 2002

- Gözükırmızı N (2011). *Bitki Doku Kültürü 2*. İstanbul Üniversitesi Akademik Veri Yönetim Sistemi, Ders Notu. <http://aves.istanbul.edu.tr/nermin/dokumanlar>. (Erişim Tarihi: 20.06.2016)
- Grewal D, Gill R & Gosal S S (2006). Role of cysteine in enhancing androgenesis and regeneration of *indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regul.* 49:43–47 DOI 10.1007/s10725-006-0021-7
- Gül U (2003). *Çeltik*. Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü- Bakış. Sayı: 3, Nüsha: 15, ISSN 1303-8346.
- Hartke S & Lorz H (1989). Somatic embryogenesis and plant regeneration from various *indica* rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *J. Genet & Breed.* 43:205-214
- Hoque E & Mansfield J W (2004). Effect of genotype and explant age on callus induction and subsequent plant regeneration from root-derived callus of *indica* rice genotypes. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78: 217–223, 2004. 2004 Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Ilahi I, Bano S, Jabeen M & Rahim F (2005). Micropropagation of rice (*Oryza sativa* L. cv Swat-II) through somatic embryogenesis. *Pakistan Journal of Botany*. 37(2): 237-242, 2005.
- Jain R K, Davey M R, Cocking E C & Wu R (1997). Carbohydrate and osmotic requirements for high frequency plant regeneration from protoplast-derived colonies of *indica* and *japonica* rice varieties. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 48, No. 308, pp. 751-758.
- Jia X X, Zhang J W, Wang H N & Kong W P (2008). Efficient maize (*zea mays* L.) Regeneration derived from mature embryos *in vitro*. *Maydica*. 53 (2008): 239-248.
- Jiang W, Cho M J & Lemaux P G (1998). Improved callus quality and prolonged regenerability in model and recalcitrant barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. *Plant Biotechnology*, 15(2), 63-69 (1998).
- Joyia F A & Khan M S (2013). Scutellum-derived callus-based efficient and reproducible regeneration system for elite varieties of *indica* rice in Pakistan. *International Journal of Agriculture & Biology*. ISSN Print: 1560–8530; ISSN Online: 1814–9596 12–189/2013/15–1–27–33
- Karthikeyan A, Pandian S T K & Ramesh M (2009). High frequency plant regeneration from embryogenic callus of a popular *indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 15(4)–October, 2009.
- Khaleda L ve Forkan M A (2006). Genotypic variability in callus induction and plant regeneration through somatic embryogenesis of five deepwater rice (*Oryza sativa* L.) cultivars of Bangladesh. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (16), pp. 1435- 1440, 17 August 2006

- Khan Z I, Hussain A & Sadiq M (1999). Optimization of different media for plant regeneration from callus culture of *indica* rice (*oryza sativa*) Genotype DM. 25 *Pakistan journal of biological sciences*, 2(3):984-987, 1999
- Khanna H K & Raina S K (1998). Genotype x culture media interaction effects on regeneration response of three *indica* rice cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 52: 145–153, 1998. 1998 *Kluwer Academic Publishers. Netherlands*.
- Khatun M, Ali M H & Desamero N V (2003). Effect of genotype and culture media on callus formation and plant regeneration from mature seed scutella culture in rice. *Plant Tissue Culture* 13 (2) : 99-107, 2003.
- Khatun R, Islam S M S, Ara I, Tuteja N & Bari M A (2012). Effect of cold pretreatment and different media in improving anther culture response in rice (*Oryza sativa* L.) in Bangladesh. *Indian Journal of Biotechnology*, Vol 11, October 2012, pp 458-463.
- Koyuncu N (2008). Farklı MS dozlarının buğdayda (*Triticum* sp.) doku kültürü parametrelerine etkileri. *Tarım Bilimleri Dergisi* 2008, 14 (1) 82-86. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi
- Kunanuvatchaidach R, Godwin I D & Adkins S W (1995). High efficiency plant regeneration from callus induced on mature *indica* rice caryopses. *Australian Journal of Botany*, 1995, 43, 337-348.
- Kurt O (2015). Hücre ve doku kültürü. *Bitki Islahı Ders kitabı*, No 43 (5. Basım). Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi.
- Kurt O & Şavşatlı Y (2005). Bitkisel biyoteknolojiye genel bir bakış. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2005,20(3):126-133 *Journal of Faculty of Agriculture, OMU*, 2005,20(3):126-133.
- Kurt O, Aydın E & Seyis F (2008a). Farklı somatik explantların çeltikte (*Oryza sativa* L. cv. Taipei-309) kallus ve bitkicik oluşumuna etkisi. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 1 (1): 01-03, 2008. ISSN:1308-3961, www.nobel.gen.tr.
- Kurt O, Akay H & Gülümser A (2008b). Farklı somatik explantların çeltik (*Oryza Sativa* L. cv. Pusur)'te kallus ve bitkicik oluşumuna etkisi. *Ülkesel Tahıl Sempozyumu*, 2-5 Haziran 2008, Konya.
- Kurt O, 2012. A predictive model for the effects of temperature on the germination period of flax seeds (*Linum usitatissimum* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 36: 654-658.
- Kün E (1985). *Sıcak iklim Tahılları*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:953. Ders Kitabı:275, Ankara 1985
- Lai K L & Liu L F (1982). Induction and plant regeneration of callus from immature embryos of rice plants(*Oryza sativa* L.). *Japan journal of crop science*, 51(1):70-74 1982.

- Lee K, Jeon H & Kim M (2002). Optimization of a mature embryo-based *in vitro* culture system for high-frequency somatic embryogenic callus induction and plant regeneration from *japonica* rice cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 71: 237–244, 2002. 2002 Kluwer Academic Publishers. Netherlands.
- Lee S T & Huang W L (2014). Osmotic stress stimulates shoot organogenesis in callus of rice (*Oryza sativa* L.) via auxin signaling and carbohydrate metabolism regulation. *Plant Growth Regulation*, (2014) 73:193–204. DOI 10.1007/s10725-013-9880-x
- Lin Y J & Zhang Q (2005). Optimising the tissue culture conditions for high efficiency transformation of *indica* rice. *Plant Cell Reports*, (2005) 23:540–547 DOI 10.1007/s00299-004-0843-6 Springer-Verlag 2004
- Linsmaier E M & Skoog F (1965). Organic growth factor requirements of tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 18: 100–127
- Liu M, Yang J, Lu S, Guo Z & Lin X & Wu H (2008). Somatic embryogenesis and plant regeneration in centipedegrass (*Eremochloa ophiuroides* [Munro] Hack.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, (2008) 44:100–104. DOI 10.1007/s11627-008-9115-4
- Mandal A B, Maiti A & Biswas A (2003). Somatic Embryogenesis in root derived callus of *indica* rice. *Plant Tissue Culture*, 13 (2) : 125-133, 2003 (December).
- Maliga P (2003). Progress towards commercialization of plastid transformation technology. *Trends in Biotechnology*, Vol.21 No.1 January 2003
- Meneses A, Flores D, Muñoz M, Arrieta G & Espinoza A M (2005). Effect of 2,4-D, hydric stress and light on *indica* rice (*Oryza sativa*) somatic embryogenesis. *Revista de biologia tropical*, September 2005. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 53 (3-4): 361-368, September-December 2005
- Mikami T & Kinoshita T (1988). Genotypic effects on the callus formation from different explants of rice, *Oryza sativa* L. *Plant cell, Tissue and organ culture* 12:311-314 1988. Kluwer academic publishers, Dordrecht-Netherland.
- Muller A J & Grafe R (1978) Isolation and characterisation of cell lines of *Nicotiana tabacum* lacking nitrate reductase. *Molecular and General Genetics*, 161: 67–76
- Murashige T & Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Nishi T, Yamada Y & Takahashi E (1968). Organ redifferentiation and plant restoration in rice callus. *Nature* 219:508-509 London
- Nishi T & Mitsuoka S (1969). Occurrence of various ploidy plants from anther and ovary culture of rice plant. *The Japanese Journal of Genetics*, 44:341-346
- Nitsch J P & Nitsch C (1969). Haploid plants from pollen grains. *Science*, 163: 85-87.

- Ohira K, Ojima K & Fujiwara A (1973). Studies on the nutrition of rice cell culture. I. A simple defined medium for rapid growth in suspension culture. *Plant Cell Physiol.* 14: 1113-1121
- Oinam G S, Kothari S L (1995). Totipotency of coleoptile tissue in *indica* rice (*Oryza sativa* L. cv. ch 1039). *Plant Cell Reports*, 1995 Jan;14(4):245-8. doi: 10.1007/BF00233642.
- Panjaitan S B, Abdullah S N A, Aziz M A, Meon S & Omar O (2009). Somatic Embryogenesis from scutellar embryo of *Oryza sativa* L. var. MR219. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 32 (2): 185 - 194 (2009) Universiti Putra Malaysia Press ISSN: 1511-3701
- Peng J & Hodges T K (1989). Genetic analysis of plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). *In Vitro Cellular & Development Biology*. Vol:25, no:1. Tissue Culture Association, Inc.
- Puhan P & Siddiq E A (2013). Protocol optimization and evaluation of rice varieties response to *in vitro* regeneration. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2013, 4, 647-653
- Rademacher E H, Lokerse A S, Schlereth A, Peris C I L, Bayer M, Kientz M, Rios A F, Borst J W, Lukowitz W, Jürgens G & Weijers D (2012). Different Auxin Response Machineries Control Distinct Cell Fates in the Early Plant Embryo. *Developmental Cell* 22, 211–222, Elsevier Inc.
- Rafique M Z, Rashid H, Chaudhary M F, Chaudhry Z & Cheema N M (2011). Study on callogenesis and organogenesis in local cultivars of rice (*oryza sativa* l.). *Pakistan Journal of Botany* , 43(1): 191-203.
- Rahman Z A, Ramli A, Hosni H, Kamaruzaman R, Seman Z A, Othman A N, Zainal Z, Uddain J & Subramaniam S (2015). Efficient plant regeneration of Malaysian aromatic rice (*Oryza sativa* L.) through somatic embryogenesis. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2015.vol : 27 issue: (11): 857-863
- Raina S K , Sathish P & Sarma K S (1987). Plant regeneration from *in vitro* cultures of anthers and mature seeds of rice (*Oryza sativa* L.) cv.Basmati-370. *Plant Cell Reports* 1987 (6) :43-45 Springer -Verlag
- Rashid H, Saleem M, Chaudhury Z, Gilani S T & Qureshi AS (2004). Studies on developing a high regeneration from seed derived calli of rice (*Oryza sativa* L.) C.v. Super Basmati. *Pakistan Journal Of Biological Science*, 7 (2): 273-276, 2004
- Ramesh M, Murugiah V & Gupta A K (2009). Efficient *in vitro* plant regeneration via leaf base segments of *indica* rice (*Oryza sativa* L.). *Indian Journal Of Experimental Biology*, vol.47, january 2009, pp.68-74
- Rueb S, Leneman M, Schilperoort R A & Hensgens L A M (1994). Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus induced on mature rice embryos (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 36:259-264, 1994 Kluwer academic publishers. Netherland.

- Sah S K, Kaur A & Sandhu J S (2014). High frequency embryogenic callus induction and whole plant regeneration in Japonica rice cv. Kitaake. *Journal of Rice Research*. 2: 125.
- Saharan V, Yadav R C, Yadav N R, Chapagain B P (2004). High frequency plant regeneration from desiccated calli of *indica* rice (*Oryza Sativa* L.). *African Journal of Biotechnology*. Vol. 3 (5), pp. 256-259, ISSN 1684–5315. 2004 Academic Journals
- Sahrawat A K & Chand S (2001). High-frequency plant regeneration from coleoptile tissue of *indica* rice (*Oryza sativa* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant*. 37: 55-61. Society for *In Vitro* Biology. DOI:10.1079/IVP2000114
- Sahoo K K, Tripathi A K, Pareek A, Sopory S K & Pareek S L S (2011). An improved protocol for efficient transformation and regeneration of diverse *indica* rice cultivars. *Plant Methods* 2011, 7/1/49
- Sankepally S S R & Singh B (2016). Optimization of regeneration using differential growth regulators in *indica* rice cultivars. *3 Biotech* (2016) 6: 19 DOI 10.1007/s13205-015-0343-0
- Sezer İ, Akay H, Öner F & Şahin M (2012). Çeltik Üretim Sistemleri, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5 (2): 06-11, 2012 ISSN: 1308-0040,
- Schenk R U & Hildebrandt A C (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Canadian Journal of Botany*, 1972, 50(1): 199-204, 10.1139/b72-026
- Sharma V K, Hansch R, Mendel R R & Schulze J (2005). Mature embryo axis-based high frequency somaticembryogenesis and plant regeneration from multiple cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.) *Journal of Experimental Botany*, Vol. 56, No. 417, pp. 1913–1922.
- Siddique A B, Ara I, Islam S M S & Tuteja N (2014). Effect of air desiccation and salt stress factors on *in vitro* regeneration of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Signaling & Behavior*, 9:12, e977209, DOI: 10.4161/15592324.2014.977209
- Siriwardana S & Nabors M W (1983). Tryptophan Enhancement of Somatic Embryogenesis in Rice. *Plant Physiology*. (1983)vol: 73, 142-146
- Sompornpailin K & Chutipaijit S (2012). Enhancement of plant regeneration efficiency from mature grains of thai *indica* rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML105). *Pakistan Journal of Botany*, 44(4): 1385-1390, 2012.
- Stewart C N (2005). Monitoring the presence and expression of transgenes in living plants. *Trends in Plant Science*, vol.10 No.8 August 2005
- Sürek H (2002). Çeltik Tarımı. Hasat Yayıncılık Ltd.Şti, 18, İstanbul.

- Taşlıgil N & Şahin G (2011). Türkiye’de çeltik (*Oryza sativa* L.) yetiştiriciliği ve coğrafi dağılımı. *Adıyaman Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*. Yıl: 4, Sayı: 6.
- Valdez M, Muñoz M, Vega J F & Espinoza A M (1997). Plant regeneration of *indica* rice (*Oryza sativa*) cultivars from mature embryo-derived calli. *Revista De Biologia Tropical*, 44(3)/45(1): 13-21, 1996-1997
- Vasil I K (2007). Molecular genetic improvement of cereals: transgenic wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Cell Report* (2007) 26: 1133–1154 Springer-Verlag 2007. doi: 10.1007/s00299-007-0338-3
- Vasil I K (1999). Molecular improvement of cereal crops. *Advances in Cellular and Molecular Biology of Plants*, volume 5. Springer-science+business media, B.V. Dordrecht 1999. DOI 10.1007/978-94-011-4802-3
- Vega R, Vásquez N, Espinoza A M, Gatica A M & Melara M V (2009). Histology of somatic embryogenesis in rice (*Oryza sativa* cv. 5272). *Revista De Biologia Tropical (Internationa Journal of Tropical Biology and Conservation)*. ISSN-0034-7744) Vol. 57 (Suppl. 1): 141-150.
- Vennapusa A R, Vemanna R S, Rajashekar Reddy B H, Babitha K C, Kiranmai1 K, Nareshkumar A & Sudhakar C (2015). An efficient callus induction and regeneration protocol for drought tolerant rice *indica* Genotype AC39020. *Journal of Plant Sciences* 2015; 3(5): 248-254 doi: 10.11648/j.jps.20150305.11
- Verma D, Joshi R, Shukla A & Kumar P (2011). Protocol for *in vitro* somatik embryogenesis and regeneration of rice (*Oryza sativa* L.). *Indian Journal Of Experimental Biology*, vol.49 december 2011, pp 958-963
- Wani S H, Sofi P A, Gosal S S & Sing N B (2010). *In vitro* screening of rice (*Oryza sativa* L) callus for drought tolerance. *Communications in Biometry and Crop Science* Vol. 5, No. 2, 2010, pp. 108–105. International Journal of the Faculty of Agriculture and Biology, Warsaw University of Life Sciences, Poland.
- Wani S H, Silva J A T, Sanghera G S, Haribhushan A, Singh N B, Gosal S S (2011). Regeneration protocol for whole plants from embryogenic callus of commercial rice (*Oryza sativa* L.) variety PR 116. *International Journal of Plant Developmental Biology* 5(1), 63-66. 2011 global science book
- Wang CC, Sun CS, Chu CC & Wu SC (1978). Studied on the albino pollen plantlets of rice. *Hu H (ed) Proc. Symp. Plant Tissue Culture*, pp. 149 – 160, Science Press, Pekin.
- Wang X H, Shi X Y & Wu X J (2005). Tissue culture responses from different explants of rice. *Rice Science*, 2005, 12(3): 229 –232
- Wang L, Lin G, Zhao D, Wang F & Chen J (2011). Tissue culture system for different hybrid of *indica* rice. *Journal of Northeast Agricultural University* (English Edition) Vol. 18 No. 2 13-17 june 2011

- White P R (1934). Potentially Unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. *Plant Physiology*, vol:9 no:3 585-600
- Yamada Y, Wang Z Q & Tang D T (1986). Plant regeneration from protoplast-derived callus of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant cell reports*(1986) 5: 85-88 springer-verlag 1986
- Zuraida A R, Naziah B, Zamri Z & Sreeramanan S (2011). Efficient plant regeneration of Malaysian *indica* rice MR 219 and 232 via somatic embryogenesis system. *Acta Physiologiae Plantarum*, (2011) 33: 1913–1921 DOI 10.1007/s11738-011-0739-3



ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Selma KURT
Doğum Yeri : Samsun
Doğum Tarihi : 28/05/1969
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : İzmit Lisesi
Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri
Bölümü (1990)
Yüksek Lisans : Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Şubat
2013- Aralık 2016)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Samsun Ayvacık Hasan Uğurlu İlköğretim Okulu 1997-1998
Samsun Çarşamba Kocatepe İlköğretim Okulu 1998-2004
Samsun Çarşamba Sefalı İlköğretim Okulu 2005-2009
Samsun Çarşamba gökçeçakmak İlköğretim Okulu 2009-2012
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü Proje Yönetim Ofisi 2012-..

Yayınlar