

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YULAFTA (*Avena sativa* L.) TOHUM İRİLİĞİNİN
BİTKİ REJENERASYONUNA ETKİSİ

Selcen ŞİMŞEK

151031

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2004

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. A. Murat ÖZGEN danışmanlığında, Selcen ŞİMŞEK tarafından hazırlanan bu çalışma 15/10/2004 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Temel GENÇTAN

Üye : Prof. Dr. H. Hüseyin GEÇTİ

Üye : Prof. Dr. A. Murat ÖZGEN



Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Metin OLGUN

Enstitü Müdürü

151031

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

YULAFTA (*Avena sativa* L.) TOHUM İRİLİĞİNİN BİTKİ REJENERASYONUNA ETKİSİ

Selcen ŞİMŞEK

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. A. Murat ÖZGEN

Bu çalışma 2002-2003 yıllarında A.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji laboratuvar ve serasında yürütülmüştür. Araştırmada; ikisi çeşit (Ankara 76 ve Ankara 84), sekiz hat (803, 804, 805, 821, 822, 823, 824, 825) olmak üzere toplam 10 yulaf genotipi kullanılmış, bu genotipler tane iriliklerine göre büyük ve küçük olarak iki gruba ayrılmıştır. Kallus oluşumu için 8 ml/L 2,4-D içeren sıvı MS ortamı ve bitki rejenerasyonu için 20 g/L sukroz ve 7 g/L agar içeren katı MS ortamı kullanılmıştır.

Çalışmada, kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi, kültür etkisi ve rejeneratif bitki sayısı parametreleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; iri tanelilerde kallus oluşumu % 98.3-100; kallus ağırlığı 0.84-1.84g, rejenerasyon kapasitesi % 51.17-83.3; kültür etkisi % 50.0-83.3, bitki sayısı 4.6-12.3 arasında; küçük tanelilerde ise bu değerler sırasıyla %85-100, 0.60-1.42 g, % 26.9-59.9, % 25-98.3 ve 4-9.6 olarak belirlenmiştir.

Yulafta kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna tane iriliğinin etkili olduğu, büyük tanelerin rejenerasyon kapasitesinin daha yüksek olduğu ve yulafta transgenik bitki elde etme çalışmalarında bunun önemli bir avantaj olacağı saptanmıştır.

2004, 45 sayfa

ANAHTAR KELİMELELER: Yulaf, *Avena sativa* L., tohum iriliği, kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF SEED SIZE ON THE PLANT REGENERATION IN OAT (*Avena sativa* L.)

Selcen ŞİMŞEK

Ankara University
Graduate School of National Applied Science
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. A. Murat ÖZGEN

This research was carried out at the Biotechnology Laboratory and greenglass of the Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, University of Ankara between 2002-2003 years. Ten oats genotypes containing Ankara 76 and Ankara 84 as cultivars and 803, 804, 805, 821, 822, 823, 824, 825 as lines were used as plant materials. According to the seed size these genotypes were divided into two groups as large and small samples. Liquid MS media, supplemented with 8 mg/L 2,4-D and solid MS media, supplemented with 20 g/L sucrose, 7 g/L agar were used for callus induction and plant regeneration respectively.

In this study, callus induction, callus weight, regeneration capacity, culture efficiency and regeneration plant number parameters were determined. According to the result of the research, callus induction, callus weight, regeneration capacity, culture efficiency and plant number were changed between 98.3-100 %; 0.84-1.84 g, 51.7-83.3 %, 50.0-83.3 % and %, 4.6-12.3 for large seeds, and 85-100 %; 0.60-1.42 g, 26.9-59.9 %, 25-78.3 % and 4-9.6 for small seeds respectively.

The results revealed that seed size was significantly effective on callus induction and plant regeneration in oats and regeneration capacity of large seeds were higher than small seeds. The results showed that it would be an important advantage in the studies of achievement of transgenic plants in oats.

2004, 45 pages

Key Words: Oat, *Avena sativa* L., seed size, callus induction, plant regeneration.

TEŐEKKÖR

“Yulafta (*Avena sativa* L.) tohum iriliğinin bitki rejenerasyonuna etkisi” konulu tez çalışmasını veren ve çalışmayı gerçekleştirebilmem için her tÖrlÖ deşteği sağlayan danışman hocam Prof. Dr. A. Murat ÖZGEN’e başta olmak Özere; ablam Arzu şİMŞEK, Dr. Hakan ULUKAN, Arş. Gör. Güray AKDOğAN, Dr. Melahat AVCI, Dr. Mustafa Yıldız, Zir. MÖh. Miraç şAHİN, Uzman Nihat YAQUBOV ve çalışmada emeği geçen herkese teőekkÖrlerimi sunarım.

Selcen şİMŞEK

Ankara, Ekim 2004

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	13
3.1. Materyal	13
3.2. Yöntem	13
3.2.1. Eksplant hazırlığı	13
3.2.1.1. Tohum hazırlığı.....	13
3.2.1.2. Sterilizasyon.....	15
3.2.1.2. Steril saf su hazırlanması	16
3.2.1.3. Olgun tohumlarda yüzey sterilizasyonu.....	16
3.2.3. Ortam hazırlığı.....	17
3.2.3.1. Kallus ortamının hazırlanması.....	17
3.2.3.2. Rejenerasyon ortamı hazırlığı.....	17
3.2.4.Embriyoların gevşetilmesi ve kallus ortamına yerleştirilmesi.....	17
3.2.5. Rejenerasyon çalışmaları.....	18
3.2.6. Alıştırma (Aklimatizasyon) çalışmaları.....	18
3.2.7. Sera çalışmaları.....	20
3.2.8.Fotoğraf çekimleri.....	20
3.2.9. Verilerin elde edilmesi.....	20
3.2.10. Verilerin değerlendirilmesi	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	21
4.1. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kallus Oluşumu	21
4.2. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kallus Ağırlığı	23
4.3. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Rejenerasyon Kapasitesi	25
4.4. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kültür Etkisi	28
4.5. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Çeşitlerde Toprağa Aktarılan Bitki Sayısı	29
4.6. Yulafta Olgun Küçük ve Büyük Tanelerde Endosperm Destekli Embriyo Kültüründe İncelenen Karakterler Arası İlişkiler.....	32
5. SONUÇ	37
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	45

SİMGELER DİZİNİ

2,4-D	2,4-Diklorofenoksiasetik asit
B.S.	Bitki sayısı
DNA	Deoksiribonükleik asit
GUS	β - Glucuronidase
K.O.	Kallus oluşumu
K.A.	Kallus ağırlığı
K.E.	Kültür etkisi
MS	Murashige ve Skoog besin ortamı
psi	‘Pound per square inch’ (basınç birimi)
R.K.	Rejenerasyon kapasitesi
TIBA	Triiodobenzoic acid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Yulafta küçük (a), büyük (b) ve karşılaştırmalı (c) taneler.....	14
Şekil 3.2.	Embriyoları gevşetilmiş tanelerin kallus ortamına alınması	19
Şekil 4.1.	Küçük ve büyük tanelerde 14. günde kallus oluşumu.....	22
Şekil 4.2.	Küçük (a) ve büyük (b) tanelerde bitki rejenerasyonu	26
Şekil 4.3.	Bitki rejenerasyonunun.....	30
Şekil 4.4.	Büyük (soldaki) ve küçük (sağdaki) taneli tohumların kallusundan oluşan başaklı bitkiler.....	31

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Tane iriliğine göre yulaf çeşit ve hatlarının bin tane ağırlığı (g).....	15
Çizelge 4.1.	Kallus oluşumuna ilişkin varyans analiz tablosu.....	21
Çizelge 4.2.	Tane iriliğine göre çeşitlerin kallus oluşumu ortalamalarına ilişkin duncan ve χ^2 testi sonuçları.....	23
Çizelge 4.3.	Kallus ağırlığına ilişkin varyans analizi tablosu	24
Çizelge 4.4.	Tane iriliğine göre çeşitlerin kallus ağırlıklarına ilişkin Duncan testi sonuçları	24
Çizelge 4.5.	Rejenerasyon kapasitesine ilişkin varyans analizi tablosu.....	26
Çizelge 4.6.	Tane iriliğine göre çeşitlerin rejenerasyon kapasitesi ortalamalarına ilişkin duncan ve χ^2 testi sonuçları.....	28
Çizelge 4.7.	Kültür etkisine ilişkin varyans analiz tablosu	28
Çizelge 4.8.	Tane iriliğine göre çeşitlerin kültür etkisine ilişkin Duncan ve χ^2 testi sonuçları	28
Çizelge 4.9.	Bitki sayısına ilişkin varyans analiz tablosu	32
Çizelge 4.10.	Tane iriliğine göre çeşitlerde bitki sayısına ilişkin Duncan testi sonuçları	32
Çizelge 4.11.	Küçük tanelerde incelenen karakterler arasında ilişki	33
Çizelge 4.12.	Büyük tanelerde incelenen karakterler arasında ilişki	35

1. GİRİŞ

Yulaf, buğday ve arpaya göre oldukça yeni bir kültür bitkisidir. Buğday ve arpanın kültürü çok eskiden yapılırken; yulaf uzun zamandır yabancı ot olarak bilinmiştir. Buna karşın iki bin yıllık geçmişi olan yulaf, dünya ekiliş ve üretimi bakımından serin iklim tahılları içinde üçüncü sırada; ülkemizde ise buğday, arpa ve çavdardan sonra dördüncü sırada yer almaktadır. Yulafın dünyadaki ekim alanı 15 milyon ha, üretimi 24 milyon ton ve verimi 2300 kg/ha olup ülkemizde ekim alanı 150.000 ha, üretimi 300.000 ton ve verimi 1850 kg/ha 'dır (Anonymous 2003).

Yulaf tarımı, 64 ° Kuzey-35 ° Güney enlemleri arasında yayılmıştır. Kuzey Yarıkürede 40 ° Kuzey – 55 ° Güney enlemleri arasında *A. sativa* çeşidi yaygındır. Güney yarı kürede ise yulaf ekimi azdır. Yulaf yeryüzünün önemli üretim bölgelerinde genellikle yazlık olarak ekilir. Ancak, kışlık yulafın , yazlık ekilenlerden % 40-50 daha fazla ürün sağladığı bilinmektedir. Ülkemizde ise hem yazlık hem de kışlık olarak yetiştirilebilmektedir. Yulaf tarımı kışlık olarak daha çok Akdeniz ikliminin hakim olduğu yerlerde yapılmaktadır.

Yurdumuzda tane yemlerin önemi yıldan yıla artmaktadır. Karbonhidrat içeriği (% 53-65) buğday, arpa ve çavdardan biraz düşük, ham seltüloz (% 6.12) ve kül miktarı (% 2-4) ise yüksektir. Yulaf tanesinde bulunan "*avenin*" maddesi genç organizmaların gelişmelerini ve atlarında kasların güçlenmesini sağlar. Öte yandan, yulaf samanı ise en yüksek besleme değerine sahip olan bir hayvan yemidir. Ayrıca insan beslenmesinde, yulaf unu yurdumuzda son yıllarda yaygınlaşmaya başlamıştır. Yulaf bitkisinin beslenme değerinin yüksek olmasına karşın tane dökmesi nedeniyle biçer-döverle hasada elverişli olmaması yulaf ekim alanlarının gerilemesine neden olmuştur.

Serin iklim tahılları içinde yulaf, iklim istekleri en fazla olan bir cinstir. Fazla soğuk ve sıcak olmayan, bağıl nemi yüksek olan yerlerde iyi yetişir. Sıcaklığın 4 °C'nin altına düşmediği ve 17 °C'nin üstüne çıkmadığı, bağıl nemin ise sürekli olarak % 70-80 arasında bulunduğu yerler yulaf için çok uygundur. Yulafın bir yandan serin ve nemli iklimlerden hoşlanması, öte yandan düşük sıcaklara karşı dayanıksız olması kışlık ekim

alanının gelişmesini engelleyen başlıca nedenlerdir. Yarı kurak bölgelerdeki yazlık ekimlerde yulaf düşük verim getirmektedir. Yulaf suyu çok sever. Ancak bunun yanında besin maddelerinin fazla olduğu yerlerde kuvvetli gelişeceğinden yatma sorunu olmaktadır. Kurak ve sıcak bölgelerde yulaf tarımının en önemli sorunu ise pas hastalıklarıdır.

Yulaf bitkisi, toprak seçiciliği bakımından çavdardan sonra gelmesine karşılık iklim isteği yönünden en fazla olan bir serin iklim tahılıdır (Kün 1988). Yulaf diğer serin iklim tahıllarına oranla yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanabilmektedir. Özellikle tohum bağlama devresinde toprak neminin ve nispi nemin uygun olması gerekmektedir.

Yulaf ekilişinde giderek azalma söz konusudur. Ancak, Türkiye’de yulaf ekilişinin az oluşunun başlıca nedeni, güvenilir kışlık çeşitlerin üreticiye sağlanamamasıdır. Pazarlama ve tüketim şekilleri de ekim alanının artırılmasında etkilidir. Bunun en belirgin örneğini, günümüzde giderek artmakta olan “Yulaflı” bisküvilerde görmektedir.

Türkiye’de en fazla yulaf ekiliş ve üretimi Konya ilindedir. Konya’da yulaf ekim alanı 34.977 ha ve üretimi 47 004 tondur. Bu ilimiz Türkiye yulaf ekilişinin % 22’sını, üretimin ise % 16 sağlamaktadır. Konya ilini ekim alanı bakımından Kocaeli, Çanakkale, İstanbul, Antalya ve Balıkesir; üretim bakımından Kocaeli, İstanbul, Çanakkale ve Antalya izlemektedir. Yulaf üretiminin en az olduğu il 2 ton ile Rize’dir (Anonim 2003).

İntrodüksiyon, seleksiyon, melezleme, mutasyon ve poliploidi yulaf ıslahında uygulanan klasik ıslah yöntemleridir. Bu yöntemlerle elde edilmiş ekonomik öneme sahip çok sayıda yulaf çeşidi bulunmaktadır. Öte yandan, her yöntemin de kendine özgü sorunları vardır. Bu bakımdan introdüksiyondaki en önemli sorun, yeterli adaptasyon (uyum) denemeleri yapılmadan çeşitlerin üretim alınması ve sonuçta istenilen başarının elde edilmemesidir. Seleksiyon çalışmalarında ise çeşit ıslahının uzun yıllar almasıdır. Olası bir hastalık salgınına kısa sürede çözüm üretilemez. Seleksiyon ile birlikte en fazla kullanılan yöntem olan melezlemede de bazı sorunlar

vardır. Amaca uygun ve yöreye adapte olmuş anaçların seçilmesi, istenmeyen karakterlerin döllerle geçişi, melezlemede kastrasyonda karşılaşılan çeşitli zorluklar, türler arasındaki izolasyon, akrabalık derecesi, seleksiyon işleminin uzun yıllar alması buna örnek olarak verilebilir (Demir 1975, Ulukan ve Özgen 1998, Şehrali ve Özgen 2002). Mutasyon ıslahında ise, uygulanan mutagenlerin genetik materyalde ne gibi bir değişikliğe neden olacağı kesin olarak önceden bilinemediği için, yapılan çalışmaların amaçları ve etkisi tam olarak ortaya konulamamaktadır. Bu durum ise elde edilen mutantlarda amaca uygun olarak yeniden seleksiyonların yapılmasını gerektirmekte; ayrıca birçok morfolojik ve fizyolojik aksaklıklar da ortaya çıkarak bitkide gelişim yavaşlamaktadır.

Bir başka ıslah yöntemi olan poliploidi, bitkilerin gelişmelerini etkilemektedir. Poliploidinin uygulandığı bitkilerde osmotik basıncın düşük olması hücre bölünmesinin hızını yavaşlatmaktadır. Bu da dolaylı olarak kardeşlenmenin azalması ve çiçeklenmenin gecikmesi gibi fizyolojik değişikliklere neden olmaktadır. Homolog kromozomların meyoz bölünme sırasındaki eşleşme güçlüğü kısırılık sorunu yaratırken, türler arası genetik izolasyonun da tohum bağlama oranını azaltıcı etkide bulunduğu ifade edilmektedir (Şehrali ve Özgen 2002).

Öte yandan, tarımsal istatistikler Dünya üzerindeki tarım alanlarının en son sınırına ulaştığını göstermektedir. Şurası açıktır ki artan dünya nüfusuna paralel olarak, üretimi çoğaltmanın tek yolu verimliliği artırmaktır. Bunu sağlayabilmek içinde, diğer kültür bitkilerinde olduğu gibi, yulafta da üretim düzeyinin artırılması gerekmektedir. Kuşkusuz, bunu gerçekleştirmenin bir başka ön koşulu da uygun yetiştiricilik tekniklerini uygulamak ve yüksek verimli, hastalıklara dayanıklı çeşitleri kullanmaktır. Halen günümüzde yulafta verimli ıslah çeşitlerini ortaya koyabilmek için değişik birçok ıslah yöntemlerinden yararlanılmakta, verim ve kalite artışını sağlayan çeşitler ıslah edilmektedir.

Bitkilerde klasik ıslah çalışmalarıyla çeşit ortaya koyabilmek oldukça güç olup uzun zaman almakta; ayrıca, hastalık ve zararlıların sürekli ırk değiştirmesi karşısında dayanıklılıkları kınılmaktadır. Bu ve benzeri sorunlar nedeniyle, tarla koşullarında uzun

yıllar çalışma gerektiren klasik ıslah yöntemlerine yardımcı olabilecek, farklı türlerden gen aktarımına olanak sağlayacak, ıslah süresini kısaltabilecek, daha az materyalle ve daha kontrollü bir ortamda çalışma yapılmasını sağlayabilecek genetik mühendisliğinin ve doku kültürü tekniklerinin geliştirilmesi, öteki kültür bitkilerinde olduğu gibi yulafta da önemlidir.

Günümüzde yulafin klasik ıslahındaki varolan sorunlarını aşabilmek için, doku kültürü ve biyoteknolojik yöntemlerden yararlanmak kaçınılmazdır. Genetik mühendisliği tekniklerinden yararlanılarak, gen aktarmada önemli bir adım olan, kallus oluşumu ve bitki rejenerasyon çalışmalarında ise başarının, genotipin yanında birçok etkene bağlı olduğu bilinmektedir.

Bu araştırmanın amacı, Orta Anadolu Bölgesi'ne uyum sağlamış kışlık yulafta (*Avena sativa* L.) tane iriliğinin kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna etkisini saptamaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Doku ve hücre kültürü teknikleri yüksek bitkilerle çalışma ve hücre düzeyinde manüplasyon olanağı sağlar. 1963 yılında Murashige ve Skoog tarafından kendi adlarıyla (MS) anılan yapay besin ortamının bulmasından sonra, doku kültürü ve biyoteknolojik çalışmalar hızlanmıştır. Yulafta (*Avena sativa* L.) olgunlaşmış tohumların kullanıldığı ve bunlardan geliştirilen doku kültürlerinde bitki rejenerasyonunun sağlandığı bildirilmektedir (Rines and McCoy 1881'e göre Carter vd 1967). Birçok bitkinin ıslahında olduğu gibi, yulafta ıslah çalışmalarında da araştırmacılar bu yöntemleri kullanarak önemli gelişmeler sağlamışlardır. Yulafta, buğdayda ve çeşitli tahıl türlerinde biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılarak yapılan çalışmalar tarih sırasına göre aşağıda özetlenmiştir.

Cummings vd (1976), yulafta doku kültürü uygulaması için olgun embriyo ve meristem dokularının yararlı kullanışı ve alternatif bir rejenerasyon kaynağı olduğunu, ve bu eksplantların kültür etkisi yüksek bir gen aktarımı çalışmasına dayanarak oluşturabileceğini belirtmişlerdir.

Rines ve McCoy (1981), kültür yulaflarında (*Avena sativa* L.) doku kültürü çalışmalarının yapıldığını, yulafta ilk bitki rejenerasyonunun olgun embriyolar kullanılarak Carter ve ark. tarafından 1967 yılında başlandığını bildirmişlerdir.

Rines (1982), yulaf anter kültürüyle haploid bitki kültürü ve kallus oluşumuna genotiplerin etkisini araştırdığı çalışmada; çeşitli kültür ortamlarına altı yulaf (*A. sativa* L.) çeşidinden yaklaşık 65 000 anter aldığını ve bunların 2 627 'sinden kallus elde ettiğini, Stout çeşidinden aldığı anterlerden biri haploid ($n = 3x = 21$) ve ikisi diploid ($2n = 6x = 42$) olmak üzere üç bitki geliştirdiğini, bu bitkilerin yulaftan anter kültürü yoluyla elde edilen ilk kültür bitkisi niteliğini taşıdığını belirlemiş; araştırmacı, kullanılan kültür koşullarında "Stout" ve "Clintford" çeşitlerinin anterin % 30'undan kallus oluşunu; ancak denemeye aldığı diğer genotiplerin % 6'sında ise anter kültürünün etkili olmadığını saptamıştır.

Lörz vd (1988), tahıllarda gen aktarımı ve ileri doku kültürü tekniklerini inceledikleri çalışmada, çeltik ve arpada eksplant olarak olgun embriyoları kullandıklarını; rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisinin çok düşük olduğunu belirtmişlerdir.

Bregitzer vd (1989), yulafta hücre düzeyinde genetik değişimlere uygun kallus kültürünün belirlenmesini amacıyla yapılan bu çalışmada; olgunlaşmamış embriyolardan elde edilen yulaf kalluslarının 60 g/L sukroz içeren hormonsuz MS ortamına alındığını ve kırılıcı olmayan yulaf kalluslarının elde edildiğini, 26 haftalık kırılıcı olmayan kalluslardan izole edilen embriyogenik kısımların kırılıcı kallus üretmeleri için 2 mg/L 2,4-D ve 20 g sukroz içeren MS ortamında alt kültürlerle alındığını, bu kırılıcı kallusların 60 g sukroz içeren MS ortamına transfer edildiğinde somatik embriyoların olgunlaştığını, kırılıcı kalluslar hormonsuz ve 20 g sukroz içeren MS ortamına transfer edildiğinde embriyoların sürgün verdiğini, kırılıcı kallus oluşumundan 78 hafta sonra rejenere bitkilerin elde edildiğini ve in vitro koşullarda yulafta genetik değişimlerde kırılıcı kallus kültürlerinden yararlanılabileceğini bildirmişlerdir.

Lörz (1989), tahıllarda in vitro koşullarda yürütülen bitki rejenerasyon çalışmalarında çok hücreli eksplantlarla başarıya ulaşıldığını ve tahıllara alternatif gen aktarım yöntemlerinin uygulanabileceğini belirtmiştir.

Bregitzer vd (1991), yulafta somatik embriyolardan kallus oluşturarak, çok sayıda bitki rejenerasyonu sağlandığını, yulaftan elde edilen embriyogenik kırılıcı kalluslardan oluşan süspansiyon kültüründen iriliklerine bağlı olarak alınan kallusları vortekse tabi tutarak somatik embriyolar oluşturulduğunu, iriliği 300-380 Mm olan kalluslardan en iyi somatik embriyolar elde edildiğini, elde edilen bu somatik embriyoların %55'lik kısmından tekrar kallus oluştuğunu; kalanından % 22 oranında fertil bitki rejenerasyonu sağlandığını; araştırmanın sonucunda partikül bombardımanı ile yapılacak gen aktarımında kırılıcı embriyogenik yulaf kallusundan elde edilen somatik embriyoların diğer eksplantlara göre daha uygun olduğunu saptamışlardır.

Chen vd (1994), araştırmalarında yulafda kök primordiasından kallus oluşumunu ve kök primordia-meristematik bölgesini inceleyerek; yüksek konsantrasyondaki 2,4-D'nin tohumda kök uzamasını durdurduğunu ancak; ikinci köklenmenin başlaması ve embriyogenik hücre sayısının artış gösterdiğini dolayısıyla rejenere bitki sayısının da arttığını belirtmişlerdir.

Chen vd (1995), araştırmalarında sera ortamında yulaf yaprağından elde ettikleri ekslantlarda, bu dokunun diğer olgunlaşmış kısımlarına göre oldukça hızlı bir rejenerasyon oluşturduğunu; rejenerasyon kapasitesi bakımından daha çok bitkide gelişimini tamamlamış organlara ( rneğin tohuma) yönelmenin başarılı artıracadığını, flow-cytometry tekniği ile hücre çekirdeğindeki DNA miktarı ile kallus oluşurma kapasitesi arasındaki ilişkinin belirlenebileceğini, apikal meristem'den elde edilen kallustan somatik embriyogenesi 3 farklı auxin konsantrasyonlarında denemeye alındığını; farklı ortamların aynı rejenerasyon potansiyeline sahip olduğunu ve en yüksek rejenerasyon frekansının % 60 olduğunu saptamışlardır.

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

Kiviharju vd (1997), dört farklı yulaf tür (*Avene sativa*, *A. nuda*, *A. sterilis* ve *A. byzantina* L.)' nden elde edilen yedi genotipte farklı iki besi ortamı kullanara anter kültürü yapmışlar; en yüksek kallus gelişimi % 17.3 oranıyla *A.sativa* 'dan geliştirilen Stout  eşidinin oluşturduğunu; *A. sativa* 'nın iki ve *A. nuda* 'nın bir çeşidinin hormonsuz

ortamda 2,4-D'li ortama göre 2 kat daha çok anter kültürü sağladığını; *A. sterilis* L. CAV 2648 çeşidinin ise %10 sukroz içeren 2,4-D'li katı MS ortamında beyaz ve embriyogenik yapılar oluşturarak rejenerasyon gösterdiğini; bu çeşit, düşük sucrouse konsantrasyonda auxin taşıma inhibitörü (TIBA) bulunan ortama aktarıldığında 3 yeşil [2 diploid ($2n=6x=42$) ve 1 haploid ($n=3x=21$)] ve 2 albino bitkiciğinin geliştiğini; diploid bitkilerin sera koşullarında tohum bağladığını, yulafta “androgenesis” sorununun giderilebilmesi için, anter kültüründen yararlanılabileceğini saptamışlardır.

Bered vd (1998), in vitro ortamda 9 yulaf (*A. sativa* L.) çeşidini rejenerasyon yeteneğini belirlemek amacıyla 1- 3 mm iriliğindeki olgunlaşmamış embriyoların 4 mg/L 2,4-D MS ortamına alındığını, ileriki aşamada 2,4-D kontrasyonunun azaltıldığını ve bitki rejenerasyon aşamasındayken ortamdan tamamen uzaklaştırıldığını, elde edilen kallusların, somatik embrioiit üretiminin, karakterler arası ilişkisinin ve rejenerasyonun kontrol edildiğini, tüm çeşitlerde bitki rejenerasyonunun gözlemlendiğini, embriyogenesis ve rejenerasyon aralarında düşük korelasyon saptandığını, yulafta organogenesis ve çimlenme olaylarının sonucunda bitki rejenerasyonun sağlandığını bildirmişlerdir.

Gless vd (1998), in vitro koşullarda yetiştirilen beş yulaf çeşidinin genç bitkilerin den alınan yaprak taban kısımlarını eksplant olarak kullanarak kallus oluşumu ve sürgün regenerasyonunu inceledikleri çalışmada; oksin içeren ortamda eksplantların kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu başarıyla sağladığını, rejenerasyon frekansı ve kallus oluşum kapasitesinin eksplant yaşına ve çeşide göre değiştiğini, 5 farklı yulaf genotipinde ortalama 1 eksplanttan 25 bitki üretilebildiğini, en verimli genotipte 1 eksplanttan 50 rejenere bitki üretildiğini, yüksek rejenerasyon kapasitesi nedeniyle yulaf yaprak tabanlarının transformasyon için uygun materyal olabileceğini belirtmişlerdir.

Kiviharju vd (1998), kültür ve yabani yulaflarda genotiplerin anter kültürüne etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında 5 *A. sativa* intraspesifik melezi, 2 *A. sativa* × *A. sterilis* interspesifik melezleri, 44 kültür çeşidi (*A. sativa* L.), 6 çıplak (kavuzsuz) (*A. nuda* L.) ve 15 yabani yulaf (*A. sterilis* L) genotiplerini kullanarak yaptıkları anter kültürlerinden 31 kültür çeşidinde kallus oluşumu gözlemişlerdir. Denemeye aldıkları tüm çıplak yulaflar embriyo oluşturmuştur. Yabani yulafların embriyo oluşturma hızları, çıplak

olanlarla karşılaştırıldığında yabani 15 genotipten sadece 13'ü embriyo yapısı oluşturmuştur. Bu miktar çeşitlerde ise 7 ye kadar inmiştir. Öte yandan, bitki rejenerasyonu sadece yabani yulaf çeşitlerinde sağlanmış; rejenerasyonun *A. sativa* x *A. sterilis* (Puhti x CAV 2648) 'de başarılı olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde ortamdaki oksin miktarının yulaf genotiplerinde anter kültürü oluşumunu önlediği; 2,4-D bulunan ortamda ise en iyi gelişimin çıplak, yabani ve *A. sativa* x *A. sterilis* de olduğu saptanmışlardır.

Özgen vd (1998), 12 ekmeklik buğday çeşidinde kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna eksplant türünün etkisini (olgunlaşmamış embriyo ve endosperm-destekli olgun embriyo) araştırmışlar; her iki embriyo kültüründe de rejenere bitki elde edildiğini ve kültür tepkilerinin genotiplere bağlı olduğunu, kallus oluşumu, rejenerasyon kapasitesi ve rejenere bitki sayısının birbirinden bağımsız olduğunu, olgun embriyolarda kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunun yüksek olduğunu ve yılın her döneminde kolay bulunabileceği için buğday doku kültürü çalışmalarında başarıyla kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Torbert vd (1998), olgun yulaf embriyolarının partikül bombardımanı tekniğiyle gen aktarımına uygunluğunu belirledikleri çalışmada olgun embriyoları 1, 4, 8 ve 9 hafta sürelerle kallus oluşturma ortamında bekletmişler ve ardından bombardıman yapmışlar, 8 ve 9 haftalık doku kültürlerinde transgenik doku kültürü sayısının çok yüksek olduğunu, ayrıca rejenerasyon ve fertil transgenik bitki oluşturma kapasitelerinin de yüksek olduğunu belirlemişler, 85 transgenik doku kültürünün 35 'inden fertil bitkiler rejenere etmişler, yulafa gen aktarımında olgun embriyolar kullanıldığında masraf ve işgücünün azaltılacağını bildirmişlerdir.

Cho vd (1999), yulaf (*A. sativa* L.)'ın GAF/Park-1 çeşidinin olgun embriyolarının, az ışıklı 2,4-D'li; 6-BAP'lı ve yüksek bakır sülfat'ı içeren besi ortamında embriyogenik kallus oluşturduğu, ve bu rejenerativ dokuların yulafa gen aktarımında hedef doku olarak kullanıldığını, gen tabancasıyla 327 tane eksplant, GUS (β -Glucuronidase) ve *hpt* (hygromycine phosphotransferase) genlerinin aktarıldığını, hygromasin seleksiyonu yapıldıktan sonra 84 bağımsız transgenik yapı elde edildiğini, bu transgenik yapıların

transformasyon frekansının % 26 olduğu ve % 70 'inde ise GUS geninin morfolojik olarak görüldüğünü (expression'u), transgenik olan T_0 ve T_1 bitkilerinden alınan yaprak örneklerinde izole edilen DNAlarda PCR ve DNA-blot hibridizasyon analizlerinin yapıldığını, transgenik hatlardaki bitki fertilitésinin % 63 (24 / 38) oranında olduğunu, T_1 ve T_2 generasyonlarına genlerin başarıyla geçirilebildiğini belirtmişlerdir..

Kiviharju ve Tavriunen (1999), *A. sativa* L., *A. sterilis* ve bu iki türün melezlerinde anter kültürü çalışmaları; kinetin ve 2,4-D'nin değişik konsantrasyonlarını kullandıklarını, yüksek 2,4-D dozlarının her iki çeşitte embriyo üretimini ve *A. sterilis* ve *A. sativa* x *A. sterilis* melezinde de bitki rejenerasyonunu arttırdığını, rejenerasyon ortamında kinetin düzeyi yüksek tutulduğunda ise çeşitlerde kararma oluştuğunu; ancak düşük konsantrasyonda embriyo oluşumu için kinetin son derece gerekli olduğunu, yapılan çalışmaların sonucunda 1 yeşil ve 1 albino bitki elde edildiğini, ayrıca melez hatlar test edildiğinde W_{14} tuzu içeren ortamın MS ortamından daha yüksek rejenerasyon sağladığını bildirmişlerdir.

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

Birsin vd (2001), yulafıta olgun embriyolardan kallus oluşumu ve rejenerasyon yeteneğini belirlemek için 10 yulaf çeşit ve hatını kullandıklarını, elde edilen veriler istatistik olarak değerlendirildiğinde kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi arasında önemli bir ilişkinin bulunmadığını; rejenera bitki sayısının ise doğrudan kallus oluşumuna bağılı olduğu saptanmışlardır.

Doehlert vd (2002), yulafıta tane boyutlarındaki değişimi belirlemek amacıyla; 10 adet yulaf çeşidi 4 farklı lokasyonda denemeye alındıklarını ve başakçıkları incelediklerini, bu başakçıklarda birinci, ikinci, üçüncü ve daha ileri derecedeki tanelerin ağırlığını ölçtüklerini, tane ağırlına; tanenin salkımdaki pozisyonunun, genotip ve çevrenin etkili olduğunu, üç taneli başakçıkların birinci tanesinin çift taneli başakçığın birinci tanesinden daha büyük olduğunu, üçüncü tanelerin en küçük olduğunu, üç taneli başakçıklarda daha büyük tanelerin oluşmasında çevrenin etkili olduğunu, bazı genotiplerin hiçbir lokasyonda üç taneli başakçık oluşturmadığını, karışık salkımın uçundaki tanelerin salkımın altındaki tanelerden daha büyük olduğunu belirtmişlerdir.

Lamb vd (2002), olgunlaşmış yulaf embriyolarında somatik embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu üzerinde yaptıkları çalışmada; olgun embriyoların içinde 30 mg/L sukroze ve 2 mg/L 2,4-D bulunan MS ortamına alındığını ve gelişen kallusları 21 gün süreyle alt kültürlerle aktarıldığını, daha sonra embriyogenik kallusların, sürgün rejenerasyonu ortamına transfer edildiğini ve ardından da sürgünlerden kök oluşumu amacıyla MS ortamında köklendirmeye alındığını, olgun embriyolardan oluşan somatik embriyoların in vitro bitki rejenerasyonu bakımından farklılık gösterdiğini, çalışmada kullanılan UFRGS-7 ve UFRGS-19 genotiplerinden sağlanan eksplantlarda rejenerasyon kapasitesinin yüksek olduğunu, yulafıta genetik transformasyonu sağlamada bu olanaktan yararlanılabileceğini bildirmişlerdir.

Özgen ve Birsin (2002), 2'si çeşit ve 8'i hat olmak üzere toplam 10 yulaf genotipinin endosperm destekli olgun embriyo ve olgunlaşmamış embriyolarını kullandıklarını, genotip ve eksplant türünün kallus oluşumunu ve bitki rejenerasyona etkisini araştırdıklarını; bu 10 genotipte kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi (%), kültür etkisi (%) ve 60 embriyodan elde edilen bitkicikleri toprağa aktararak,

büyüyen bitki sayısını belirlediklerini, kallus ağırlığı ve rejenerasyon kapasitesi bakımından denemeye aldıkları yulaflarda değişen değerler saptadıklarını, genelde ele alınan karakterler bakımından olgun embriyolardan aldıkları tepkilerin olgunlaşmamışlardan farklı olmadığını ancak kallus oluşum frekansının rejenere bitki sayısını artırıcı yönde etki yaptığını ve bu nedenle uygun genetik yapıya sahip çeşitleri kullanmanın önem taşıdığını vurgulamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırma, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji laboratuvarında 2002-2003 yılları arasında yürütülmüştür. Denemede 2 çeşit (Ankara 76, Ankara 84) ve 8 hat (803, 804, 805, 821, 822, 823, 824, 825) olmak üzere toplam 10 genotip kullanılmıştır. Bu çeşit ve hatların hepsi Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden sağlanmıştır. Çeşitler Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde ıslah edilmiş olup, taneleri açık sarı renkli olup, tümü kışa dayanıklıdır.

3.2. Yöntem

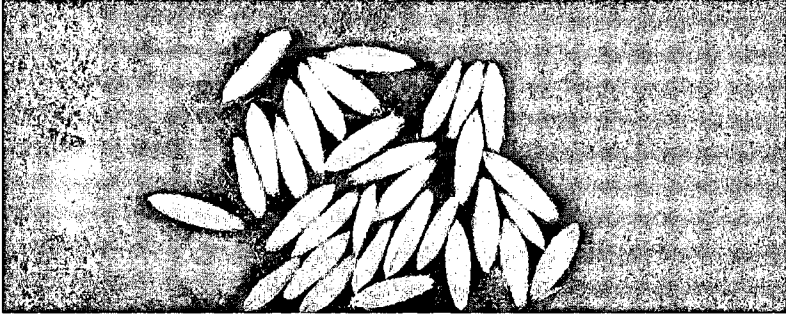
Olgun embriyolarda kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu kapasitelerinin araştırılması amacıyla yapılan bu çalışmada yöntem; eksplant hazırlığı (elde edilmesi), sterilizasyon, ortam hazırlığı, embriyoların çıkarılmaları ve kallus ortamına yerleştirilmeleri, rejenerasyon çalışmaları, sera çalışmaları ve fotoğraf çekimleri başlıkları altında ele alınmıştır.

3.2.1. Eksplant hazırlığı

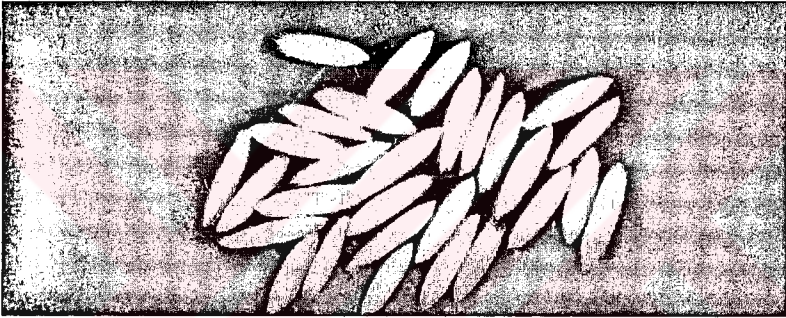
3.2.1.1. Tohum hazırlığı

Laboratuvar çalışmasının en önemli aşamalarından birini eksplant hazırlığı oluşturmaktadır. Kavuzlu olan toplam 10 yulaf genotipinde çiçek kavuzları özenle temizlenmiş, ardından küçük ve büyük taneler olmak üzere ikiye ayrılmış (Özgen vd 1998, Doehlert vd 2002) ve çalışma için gereken tohumlar hazırlanmıştır. İriliğine göre ayrılan çeşit ve hatların görüntüleri Şekil 3.1.'de bin tane ağırlıkları ise Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

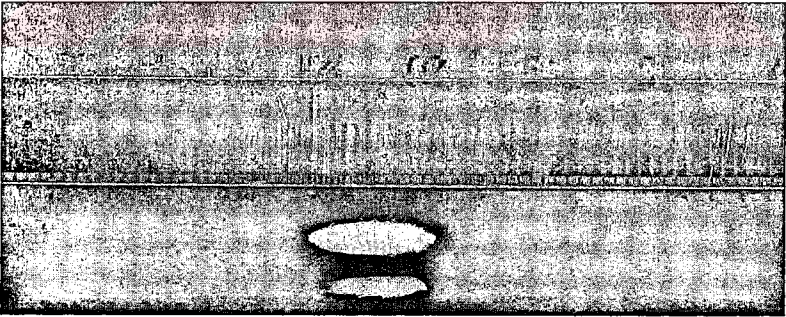
a)



b)



c)



Şekil 3.1. Yulafta küçük (a), büyük (b) ve karşılaştırmalı (c) taneler

Çizelge 3.1. Tane iriliğine göre yulaf çeşit ve hatlarının bin tane ağırlığı (g)

Çeşitler ve hatlar	Küçük tane	Büyük tane
801	18,45	36,52
802	22,09	41,09
803	23,04	41,42
804	20,25	41,51
805	21,54	43,03
821	26,39	46,87
822	19,48	40,85
823	22,52	42,41
824	28,19	48,91
825	27,49	46,00
Ortalama	22,94 ± 3,37	42,86 ± 3,55

Çizelge 3.1'de görüldüğü gibi küçük tanelerde bin tane ağırlıkları 18,45 - 28,19 g; büyük tanelerde ise 36,52 - 48,91 g arasında değişmiştir. Küçük tanelilerle büyük tanelilerin genel ortalamasına baktığımızda küçük tanelerde bin tane ağırlıkları 22,94 ± 3,37 g ile büyük tanelilerde ise 42,86 ± 3,55 g arasında değiştiği görülmüştür.

3.2.1.2. Sterilizasyon

Tüm çalışmaların yapılacağı steril kabinin, kabinde kullanılacak malzemelerin ve eksplantların sterilizasyonu yapıldı. Steril kabin her çalışma öncesinde etil alkolle silindi ve boş olarak 10 dakika çalıştırıldı. Ayrıca her çalışma sırasında kullanılacak malzemeler, eksplantlar ve saf su sterilizasyon kuralları doğrultusunda steril edildi.

Doku kültürü laboratuvarında steril kabinde bulunan ve kullanılan tüm malzemeler steril olmalıdır. Bunu sağlamak için kullanılan malzemenin özelliğine göre çalışmaya başlamadan belirli süre önce tümü steril edildi. Malzemelerin sterilizasyonunda ısı ya da buhar basıncında yapıldı ve sıcaklığa dayanıklı cam kaplar tercih edildi.

Cam kapların sterilizasyonu için kaplar, yanmaz kağıtlara sarılı olarak kuru sterilizatörde 180 °C'de 2 saat bekletildi. Bu süre sonunda kağıtlara sarılı olarak, steril kabin içinde konuldu ve çalışılacağı zaman kağıtlardan çıkarılarak kullanıldı.

Steril kabin içerisinde gerçekleştirilen bütün işlemlerde kullanılan malzemelerin steril olmasına özen gösterildi. Bu amaçla cam malzemelerin sterilizasyonundan farklı olarak kabinde kullanılan pens, bistüri ve spatula gibi malzemelerin sterilizasyonu için steril kabine yerleştirilmeden önce %70'lik etil alkolle yıkayıp, içinde %70'lik etil alkol bulunan kavanoza konuldu. Kullanım sırasında da sterilitenin devamı için sık sık alkolden ve kabinin içindeki sürekli yanan doğalgaz alevinden geçirildi.

3.2.1.2. Steril saf su hazırlanması

Musluk suyunda erimiş minerallerin olması, laboratuvar çalışmalarda kullanılan ortamlardaki besin maddesi kompozisyonunun dengesine olumsuz yönde etki yaparken, sudaki klor da toksik etkiye bulunarak kültür gelişimini engellemektedir. Öte yandan, laboratuvar çalışmalarında en çok kullanılan madde saf sudur. Musluk suyu, destilasyon yöntemiyle saflaştırılır. Suyun kaynatılıp buharının soğutulması ilkesine dayanan bu yöntemle elde edilen saf su, laboratuvar çalışmalarının her aşamasında kullanıldı.

Saf su ağzı kapatılabilen cam kaplara doldurularak otoklavlanma için hazır hale getirildi. Su buharı basıncıyla sterilizasyon prensibine dayanan otoklavda, cam kaplar ağızları gevşek şekilde 121 °C'de 15 psi basınç altında 25 dakika tutularak sterilizasyonu sağlandı ve böylece steril saf su elde edildi. 25 dakika sonunda otoklavdan çıkarılırken ağızları kapatılan sular soğuduktan sonra kullanıldı.

3.2.1.3. Olgun tohumlarda yüzey sterilizasyonu

Soyularak hazırlanan olgun tohumlarda yüzey sterilizasyonu, tamamen steril kaplarda ve steril kabinde yapıldı. Yüzey sterilizasyonu için steril kabin içerisinde manyetik karıştırıcı, steril bir beher, içerisinde steril pens ve bistüri ile % 70'lik etil alkol ya da isopropil alkol bulunan cam kavanoz ve içerisinde yine %70'lik alkol bulunan pisetlerden yararlanıldı (Özgen ve Birsin 2002).

Yüzey sterilizasyonunda ilk aşamada tohumlar manyetik karıştırıcıda ve %70'lik etil alkol içerisinde 5 dakika bekletildikten sonra 3 kez steril saf suyla durulandı. Durulama sırasında her çalkalama 30 saniyede tamamlandı. Ardından yine manyetik karıştırıcı üzerinde ticari çamaşır suyu (Sodyum hipoklorit, %53) içerisinde 25 dakika bekletildi ve 7 defa steril saf su ile durulandı. Yapılan ön deneme çalışmalarında irilikleri nedeniyle su banyosuna tabi tutulan tohumların farklı tepkiler verdiği görüldü ve bunlardan embriyoları çıkartmak güçleşti. Bu nedenle küçük taneli yulaflar oda sıcaklığındaki 30', büyük taneliler ise oda sıcaklığındaki 1 saat tutuldu.

Yüzey sterilizasyonu yapılan tohumlar, endosperm destekli embriyo kesme işleminin kolay olması için steril kabin içerisinde ve ağzı alüminyum kağıt ya da streç filmle kapatılarak saf suda yaklaşık 1 saat bekletildi. Bu şekilde eksplantların hazırlığı tamamlandı.

3.2.3. Ortam hazırlığı

3.2.3.1. Kallus ortamının hazırlanması

Kallus ortamı manyetik karıştırıcı üzerine yerleştirilen beher içerisinde hazırlandı. Olgun embriyolarda kallus oluşumu için 8 mg/L 2,4-D içeren ve pH'sı 5.8 olan sıvı ortam kullanıldı. Hazırlanan karışımlar otoklavda 121 °C'de, 15 psi basınç altında 25 dakika tutularak steril edildi. Embriyoları gevşetilen olgun tohumlar 7 ml-sıvı ortam içeren 10 cm'lik petri kaplarına konuldu.

3.2.3.2. Rejenerasyon ortamı hazırlığı

Olgun embriyolardan elde edilen kalluslardan sürgün ve kök oluşumunu ve gelişimini sağlamak amacıyla rejenerasyon ortamı hazırlandı. Manyetik karıştırıcı kullanılarak ortama 20 g/L sukroz, 7 g/L agar ile 4.43 g/L MS eklenerek pH'sı 5.8'e ayarlandı. Otoklavlanan ortam 10 cm'lik petri kaplarına döklüldü ve katılaşması beklendi.

3.2.4.Embriyoların gevşetilmesi ve kallus ortamına yerleştirilmesi

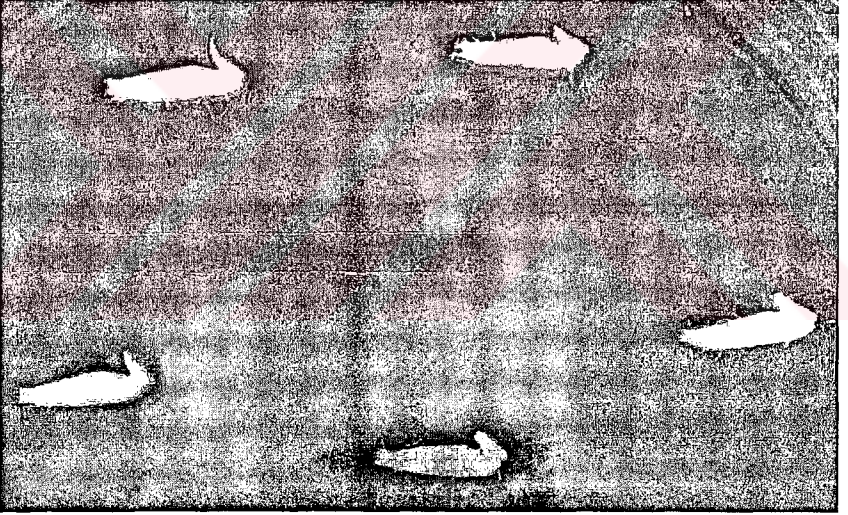
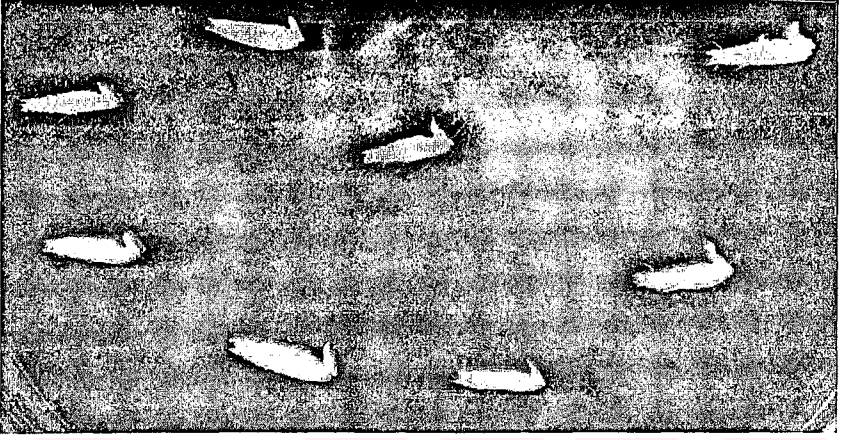
Bu çalışmada steril embriyoların endospermileriyle birlikte, steriliteri bozulmadan ve kopartılmadan alınarak önceden hazırlanmış besin ortamına aktarılması büyük önem taşımaktadır. Bu işlem küçük taneli ve büyük taneli tohumlarda benzerlik gösterse de yüzey sterilizasyonu aşamaları ve embriyoların büyüklükleri arasındaki farklılıkları nedeniyle belirgin bir değişiklik göstermektedir. Bu işlem sırasında embriyoları gevşetilmiş tohumlar, eşit aralıklarla petri kaplarına yerleştirildi (Şekil 3.2). Daha sonra 7 ml 2,4-D içeren sıvı ortam eklendi. Sıvı ortamın petrilere dökülmesi sırasında tohumların birbirine değmemesine ve tane karın çizgisinin aşağıda olmasına özen gösterildi (Özgen ve Birsin 2002).

3.2.5. Rejenerasyon çalışmaları

Kallus oluşumunu sağlamış embriyolar kültürünün 14. gününde tohumdan uzaklaştırıldı ve hormonsuz MS, sukroz ve agar içeren ortama aktarıldı ve 26 °C'de karanlıkta 3 hafta inkübatörde bekletilip, 25 ±1 °C sıcaklıkta, 16 saatlik fotoperiodda (1500 lux) 30 gün süreyle yetiştirildi. Rejenere bitkicikler 10-15 mm yüksekliğe ulaştığında Magenta kaplarına alındı ve kültür odasında ikinci bir 30 günün bekletildi ve kök gelişimi sağlayan 10-12 cm boyunda bitkicikler saksılara aktarıldı.

3.2.6.Alıştırma (Aklimatizasyon) çalışmaları

Kültürdeki bitkilerin toprağa aktarılması ve yaşamını sürdürmesi oldukça güç olduğundan kültürlerin sera ya da tarlaya aktarılmadan önce bir ara dönem ile alıştırılması (aklimatizasyonu) gerekmektedir. In vitro koşullarda yetiştirilen bitkiler normal koşullara alındığında aşırı derecede su kaybetmektedir. Bunu önlemek amacıyla bitki normal ortama alındığında aşırı nemli bir geçiş döneminde alıştırması yapılmaktadır.Kültür ortamında magenta kapları içerisinde 10-15 cm yüksekliğe ulaşan bitkicikler, iklim odasına alındı. Bitkicikler 1:1:3 oranında kum, perlit ve turba toprağı



Şekil 3.2. Embriyoları gevşetilmiş tanelerin kallus ortamına alınması

karışımından oluşan saksılara aktarılarak 26°C'de 16 saatlik fotoperiyotta 30 gün süreyle büyütüldü. % 90'la başlayan ortam nemi periyodik olarak azaltılarak, 30 gün sonunda yaşayan bitkicikler seraya alındı.

3.2.7. Sera çalışmaları

İklim odasından seraya alınan bitkiler burada da 30 gün süreyle yetiştirilerek gövde ve kök gelişimlerini, dolayısıyla uyumlarını tamamlamaları sağlandı. Bu aşama sonunda elde kalan bitkilerin bazıları başak oluşturmalarına karşın tohum bağlayamadı.

3.2.8. Fotoğraf çekimleri

Çalışmanın her aşamasında elde edilen sonuçların fotoğrafları çekildi. Çekimler sırasında özel alet ve ekipmana gerek duyulduğundan Tarla Bitkileri Bölümü Fotoğraf Odası olanaklarından yararlanıldı. Fotoğrafların çekiminde SRL (Single Lens Reflex) fotoğraf makinesi, 125 asalık siyah-beyaz ve 100 asalık renkli film kullanılmıştır.

3.2.9. Verilerin elde edilmesi

Kallus oluşumu, kültürün sonunda her petride kallus oluşturan embriyoların sayısının toplam embriyo sayısına oranlanması; kallus ağırlığı, kültürün onördördüncü gününde endospermden ayrılan kallusların tartılması; rejenerasyon kapasitesi, rejenerasyon oluşturan kallus sayısının toplam kallus sayısına oranlanması; kültür etkisi, rejenere olan kallus sayısının ortama alınan toplam embriyo sayısına oranlanması; rejenere bitki sayısı, sürgünü ve kökü olan ve toprağa aktarılan bitkilerin sayılması ile elde edildi.

3.2.10. Verilerin değerlendirilmesi

Olgun embriyoların eksplant olarak kullanıldığı denemede her petriye 20 tohum 3 tekrarlı olarak konuldu. Elde edilen verilerle istatistik analizleri, MSTAT programı kullanılarak yapıldı. Deneme faktöriyel deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Çeşitler arasındaki farklılığın belirlenmesinde varyans analizi ve Duncan testinden; eksplantlar arasındaki farklılığın belirlenmesinde ise ki-kare bağımsızlık testinden yararlanıldı (Düzgüneş vd 1983).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Yulafta (*A. sativa* L.) bitki rejenerasyonuna tohum iriliğinin etkisinin olup olmadığının belirlenmesine yönelik bu çalışmada yapılan gözlemler, elde edilen sonuçlar ile tartışma ve değerlendirmeler bu bölümde sunulmuştur.

4.1. Olgun Embriyolarda Tane İrilğine Göre Kallus Oluşumu

Kallus oluşumu, yulafta 10 (2 çeşit ve 8 hat) genotipin küçük ve büyük taneleri ayrı ayrı embriyoları gevşetilerek 8 mg/L 2,4-D içeren sıvı ortamda 26 °C de kültüre alınması ve 14 gün sonra kallus oluşturan embriyoların (Şekil 4.1) sayılıp toplam embriyo sayısına oranlamasıyla bulunmuştur. Elde edilen verilerle yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde tane iriliği, çeşit ve tane iriliği x çeşit etkileşiminin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir.

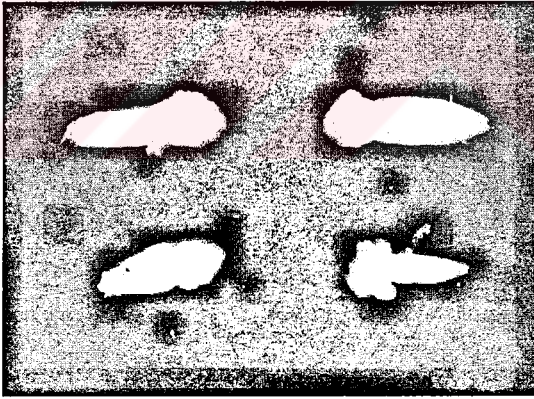
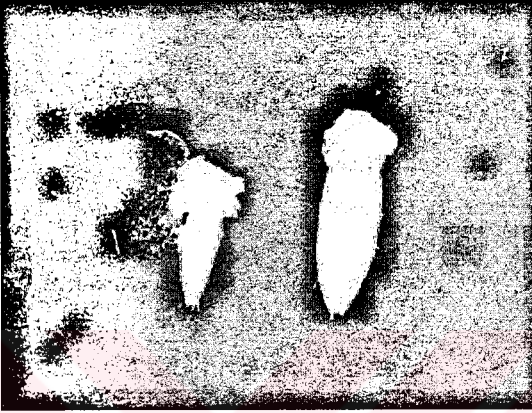
Çizelge 4.1 Kallus oluşumuna ilişkin varyans analiz tablosu

V. K.	S.D.	K.T.	K. O.	F
Genel	59	1348,3	-	
Tekerrür	2	35,8	17,9	1,71
Tane İrilği(A)	1	426,6	426,6	40,79**
Çeşit(B)	9	256,6	28,5	2,73*
AxB	9	231,6	25,7	2,46*
Hata	38	397,5	10,5	

* 0.05 düzeyinde

** 0.01 düzeyinde önemli

Tane iriliğine göre kallus oluşumu bakımından bu farkların belirlenmesi için % 5'e göre yapılan Duncan ve χ^2 testi sonuçları da Çizelge 4.2'de verilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde genotiplere ait küçük tanelerin kallus oluşum oranının % 85-100 arasında, büyük tanelerin ise % 98,3-100 arasında değiştiği görülmektedir. Buna göre küçük taneli çeşitlerde sadece 821 no'lu hatta % 100 kallus oluşumu sağlanırken büyük tanelilerde 801, 803, 804, 805, 823, 824 ve 825 no'lu hatlarda % 100 kallus oluşumu sağlanmıştır.



Şekil 4.1. Küçük ve büyük tanelerde 14. günde kallus oluşumu

Çizelge 4.2. Tane iriliğine göre çeşitlerin kallus oluşumu ortalamalarına ilişkin duncan ve χ^2 testi sonuçları

Çeşit ve Hatlar	Küçük Tane	Büyük Tane
801	93,3 bc*	100,0 a
802	85,0 d	98,3 ab
803	91,7 c	100,0 a
804	95,0 abc	100,0 a
805	95,0 abc	100,0 a
821	100,0 a	98,3 ab
822	95,0 abc	98,3 ab
823	96,7 abc	100,0 a
824	98,3 ab	100,0 a
825	91,7 c	100,0 a
Ortalama	94,17 $\pm$ 4,17	99,49 $\pm$ 0,82

*Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir

Kallus oluşumu bakımından aynı çeşidin küçük ve büyük taneleri arasındaki farklılığı belirlemek için yapılan Duncan testi sonuçlarına göre 801, 802, 803 ve 825 numaralı genotipler arasındaki farklılık % 5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Her genotip kendi arasında incelendiğinde bazı hatlarda küçük ve büyük taneliler arasındaki farklılık önemli olmasına karşın genotiplerin genel ortalamaları incelendiğinde önemli farklılığın ($\chi^2=3,03$) olmadığı görülmektedir. Bu durum tane iriliği bakımından kallus oluşumunun genotiplere göre değiştiğini göstermektedir. Öte yandan korelasyon katsayısının ($r=0,689^{**}$) önemli olması, tane ağırlığı artıkça kallus oluşumunun da arttığını açıkça göstermektedir. Nitekim, Bregitzer vd (1991) arpada, Sayar vd (1999) buğdayda tane iriliğinin ve genotipin kallus oluşumunu etkilediğini ve iri tanelilerde kallus oluşum oranının daha yüksek olduğunu; Kiviharju vd (1998), Birsin vd (2001) de yulafta genotipin kallus oluşuma etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bulgularımız bu araştırmacıların bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

4.2. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kallus Ağırlığı

Yulafta tane iriliğine göre çeşitlerin kallus ağırlığına ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde tane iriliği, çeşit, tane iriliği x çeşit etkileşiminin istatistiksel olarak önemliliği vurgulanmaktadır.

Çizelge 4.3. Kallus ağırlığına ilişkin varyans analizi tablosu

V. K.	S.D.	K.T.	K. O.	F
Genel	59	2,8	-	
Tekerrür	2	0,18	0,1	4,24
Tane İriliği(A)	1	1,1	1,1	49,13**
Çeşit(B)	9	0,8	0,9	4,19**
AxB	9	1,0	0,1	5,32**
Hata	38	0,8	0,02	

** 0.01 düzeyinde önemli

Tane iriliğine göre kallus ağırlığı bakımından bu farkların belirlenmesi için % 5’e göre yapılan Duncan testi sonuçları da Çizelge 4.4’de verilmiştir. Çizelge 4.4 incelendiğinde çeşitlere ait küçük tanelerin kallus ağırlıkları 0.60-1.31 g arasında, büyük tanelerin 0.84-1.42 g arasında değişmektedir. Öte yandan çeşitler incelendiğinde ise küçük tanelilerde en düşük değeri 803, en yüksek değeri 805; büyük tanelilerde ise düşük değeri 804, en yüksek değeri 823 numaralı hat vermiştir.

Çizelge 4.4. Tane iriliğine göre çeşitlerin kallus ağırlıklarına ilişkin Duncan testi sonuçları (g).

Çeşitler	Küçük Tane	Büyük Tane
801	0,66 h*	0,99 cdef
802	0,72 gh	1,09 bcde
803	0,60 h	1,15 bc
804	0,95 cdefg	0,84 defgh
805	1,31 ab	1,08 bcde
821	0,85 defgh	1,14 bc
822	0,76 fgh	1,11 bcd
823	0,82 efgh	1,42 a
824	0,77 fgh	1,14 bc
825	0,75 fgh	1,08 bcde
Ortalama	0,81 ± 0,19	1,10 ± 0,14

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

Yapılan korelasyon analizi de ($r=0.635^{**}$) tane iriliği arttıkça kallus ağırlığının arttığını göstermektedir. Bu durum, yulafta tane iriliği arttıkça kallus ağırlığının da önemli ölçüde arttığını açıkça göstermektedir. Bulgularımız; değişik buğday genotiplerinin olgun embriyolarıyla yaptıkları çalışmada kallus ağırlığına, dane iriliğinin etkili olduğunu ve 1000 tane ağırlığı yüksek genotiplerde kallus ağırlığının da yüksek olduğunu bildiren Rines ve McCoy (1981) ve Sayar vd (1999)'ın farklı büyüklükteki olgunlaşmamış buğday embriyolarıyla yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

4.3. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Rejenerasyon Kapasitesi

Hormonsuz besi yerine alınan kalluslar 26 °C 'de 16 saat karanlık, 8 saat aydınlık foto periyot ortamına geçirilmişlerdir. Işıklı ortama geçen kalluslarda hızla sürgün ve kök oluşumu başlamıştır (Şekil 4.2). Işıklı ortama alındıktan 4 hafta sonra rejenera olan kallusların ortama konulan toplam kallus sayısına oranlanmasıyla elde edilen rejenerasyon kapasitesine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.5'de verilmiştir. Çizelge 4.5 incelendiğinde tane iriliği, çeşit, tane iriliği x çeşit etkileşimi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

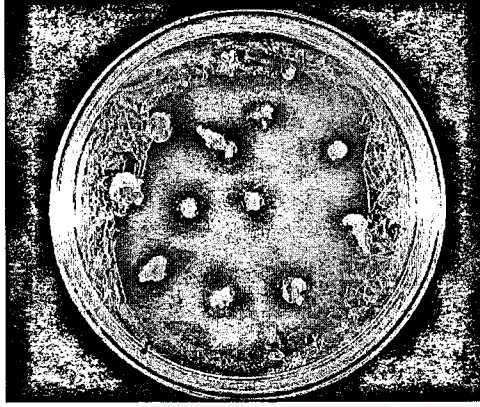
Çizelge 4.5 Rejenerasyon kapasitesine (rejenere olan kallus sayısı / toplam kallus sayısı) ilişkin varyans analizi tablosu

V. K.	S.D.	K.T.	K. O.	F
Genel	59	18516,4	-	
Tekerrür	2	4,6	2,3	0,05
Tane İriliği(A)	1	10991,7	10991,7	225,14
Çeşit(B)	9	1648,6	183,2	3,75**
AxB	9	4016,2	446,2	9,14**
Hatıa	38	1855,2	48,8	

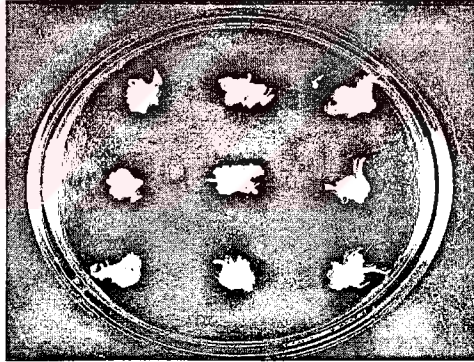
** 0.01 düzeyinde önemli

Tane iriliğine göre rejenerasyon oluşturma kapasitesi bakımından bu farkların belirlenmesi için % 5 'e göre yapılan Duncan testi ve χ^2 testi sonuçları da Çizelge 4.6' da gösterilmektedir. Çizelge incelendiğinde çeşitlere ait küçük tanelerin rejenerasyon oluşturma kapasiteleri % 26.9-59.9 arasında, büyük tanelerin ise % 51.7-83.3 arasında 801 no'lu hatta oluşurken, onu % 56.1 ile 825 no'lu hat ve % 42.3 ile 824 no'lu hat

a)



b)



Şekil 4.2. Küçük (a) ve büyük (b) tanelerde bitki rejenerasyonu

izlemiş; en düşük oran 801 no'lu hatta ortaya çıkmıştır. Büyük tanelerde en yüksek rejenerasyon kapasitesi % 83.3 ile 803 no'lu hatta oluşurken, onu % 81.5 ile 802 no'lu hat ve % 76.7 ile 804 no'lu hat izlemiş; en düşük oran %51.7 ile 825 no'lu hatta ortaya çıkmıştır. Yulaf olgun embriyolarından elde edilen rejenerasyon kapasitesinin genotipe göre değiştiğini gösteren bulgularımız; bu konuda daha önce olgun ve olgunlaşmamış embriyolarla çalışan Bregitzer vd. (1989); olgunlaşmamış embriyolarla çalışan Bered vd. (1998) ve endosperm destekli olgun ve olgunlaşmamış embriyolarla çalışan Özgen ve Birsin (2002) 'nin sonuçlarıyla uyumludur.

Rejenerasyon kapasitesi bakımından aynı çeşidin küçük ve büyük taneleri arasındaki farklılığın önemli olduğu Duncan testi sonuçlarında görülmektedir (Çizelge 4.6). Denemeye alınan toplam 8 yulaf çeşit ve hatlarında (801, 802, 803, 804, 821,822, 823 ve 824) küçük ve büyük taneliler arasında rejenerasyon kapasitesi bakımından % 5 düzeyinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık saptanmıştır. Çeşit ve hatlarda küçük ve büyük tanelilerin genel ortalamaları incelendiğinde de tane iriliği ile rejenerasyon kapasitesi arasında önemli bir fark olduğu ($\chi^2 = 13.71$) belirlenmiştir. Yapılan korelasyon analizi de ($r=0.800^{**}$) tane iriliği arttıkça rejenerasyon kapasitesinin arttığını göstermektedir.Bu durum, yulafta tane iriliği arttıkça rejenerasyon kapasitesinin de önemli ölçüde arttığını açıkça göstermektedir. Bulgularımız, buğdayda tane iriliğinin rejenerasyon kapasitesini etkilediğini bildiren Sayar vd (1999)'nin sonuçlarıyla da benzerdir

Çizelge 4.6. Tane iriliğine göre çeşitlerin rejenerasyon kapasitesi (rejenere olan kallus sayısı / toplam kallus sayısı) ortalamalarına ilişkin duncan ve χ^2 testi sonuçları

Çeşit ve Hatlar	Küçük Tane	Büyük Tane
801	26,9 h*	65,0 bcd
802	41,5 fg	81,5 a
803	38,1 gh	83,3 a
804	31,6 gh	76,7 ab
805	59,9 de	61,7 cde
821	41,7 fg	66,1 bcd
822	40,4 fg	59,3 de
823	32,7 gh	63,3 cde
824	42,3 fg	73,3 abc
825	56,1 de	51,7 ef
Ortalama	41,12 ± 10,28	68,19 ± 10,19

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

4.4. Olgun Embriyolarda Tane İriliğine Göre Kültür Etkisi

Yulafta tane iriliğine göre çeşitlerin kültür etkisine ilişkin varyans analizi sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelge 4.7 incelendiğinde tane iriliği, çeşit, tane iriliği x çeşit etkileşimi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.7. Kültür etkisine (rejenere kallus sayısının / toplam embriyo sayısı) ilişkin varyans analiz tablosu

V. K.	S.D.	K.T.	K. O.	F
Genel	59	19748,3	-	
Tekerrür	2	15,8	7,9	0,18
Tane İriliği(A)	1	12615,0	12615,0	293,34**
Çeşit(B)	9	1423,3	158,1	3,68**
AxB	9	4060,0	451,1	10,49**
Hata	38	1634,2	43,0	

** 0.01 düzeyinde önemli

Tane iriliğine göre kültür etkisi bakımından bu farkların belirlenmesi için yapılan Duncan ve χ^2 testi sonuçları Çizelge 4.8'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.8. Tane iriliğine göre çeşitlerin kültür etkisine (rejenere kallus sayısının / toplam embriyo sayısı) ilişkin Duncan ve χ^2 testi sonuçları

Çeşit ve Hatlar	Küçük Tane	Büyük Tane
801	25,0 j*	65,0 cd
802	35,0 ij	80,0 a
803	35,0 ij	83,3 a
804	30,0 ij	76,7 ab
805	56,7 def	61,7 cdef
821	41,7 ghi	65,0 bcd
822	38,3 hi	58,3 def
823	31,7 ij	63,3 cde
824	41,7 ghi	73,3 abc
825	51,7 efg	50,0 fgh
Ortalama	38,68 $\pm$ 9,72	67,66 $\pm$ 10,42

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

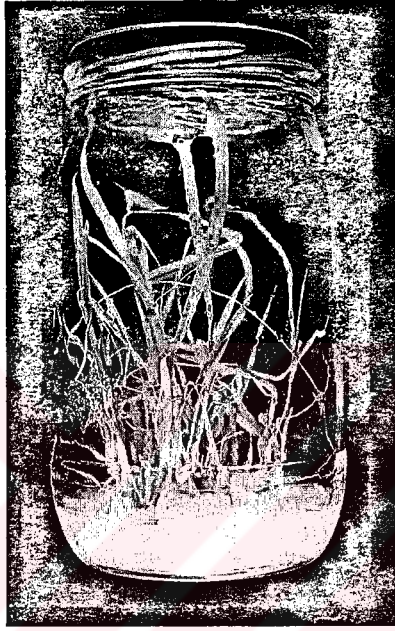
Çeşit ve hatlarda küçük ve büyük tanelilerin genel ortalamaları incelendiğinde de tane iriliği ile kültür etkisi arasında önemli bir fark olduğu ($\chi^2 = 15,72$) belirlenmiştir. Yapılan korelasyon analizi de ($r = 0.820^{**}$) tane iriliği arttıkça kültür etkisinin arttığını göstermektedir. Bu durum, yulafta tane iriliği arttıkça kültür etkisinin de önemli ölçüde arttığını açıkça göstermektedir. Kültür etkisinin genotiplere bağlı olarak değiştiğini gösteren sonuçlarımız; bu konuda daha önce buğdayda (Özgen vd. 1998) ve yulafta (Lamb 2002; Özgen ve Birsin 2002) çalışan araştırmacıların bulgularıyla uyum göstermektedir.

Öte yandan kültür etkisi bakımından genotiplerin küçük ve büyük taneleri arasındaki farklılığı belirlemek amacıyla yapılan χ^2 testi sonucunda toplam 7 genotipte (801, 802, 803, 804, 821, 823 ve 824) %1 düzeyinde fark bulunmuştur (Çizelge 4.8). Kültür etkisinin büyük tanelerde (% 50 - 83.3) küçük tanelere (% 25 - 56.7) oranla yükseldiğini gösteren sonuçlarımız; buğdayda bu oranı büyük tanelerde % 88.3 - 93.3 arasında ve küçük tanelerde % 60 - 65 arasında saptayan Sayar vd. 1999 'un sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

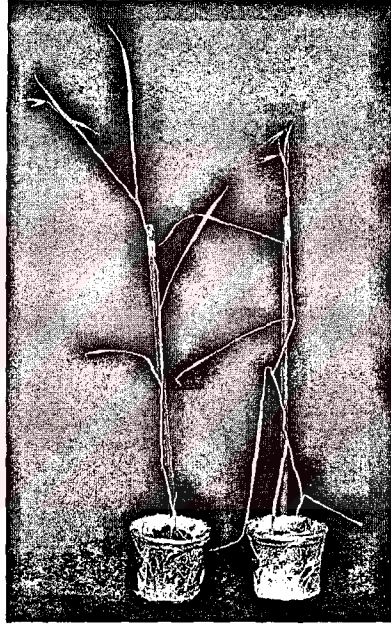
4.5. Olgun Embriyolarda Tane İrilğine Göre Çeşitlerde Toprağa Aktarılan Bitki Sayısı

Rejenerasyon ortamında 10-15 mm gelişen sürgünler kök oluşumu için cam kavonozlara (Şekil 4.3) ve bir ay sonra toprağa aktarılmıştır. Toprağa aktarılan bitkiler iklim odasında belli bir süre alıştırma aşamasında tutulduktan sonra seraya alınmışlar ve vernalizasyon gereksinimi karşılanan bitkiler başak oluşturabilmişlerdir (Şekil 4.4).

Toprağa aktarılırken sürgün ve köktü bulunan bitkiler sayılarak elde edilen verilerle yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Çizelge 4.9 incelendiğinde tane iriliği, çeşit, tane iriliği x çeşit ilişkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 4.3. Yulafta bitki rejenerasyonu



Şekil 4.4. Büyük (soldaki) ve küçük (sağdaki) taneli tohumların kallusundan oluşan başaklı bitkiler

Çizelge 4.9. Bitki sayısına ilişkin varyans analiz tablosu

V. K.	S.D.	K.T.	K. O.	F
Genel	59	408,6	-	
Tekerrür	2	3,0	1,5	0,79
Tane iriliği(A)	1	79,3	79,3	41,70**
Çeşit(B)	9	142,7	15,9	8,33**
AxB	9	111,1	12,3	6,49**
Hata	38	72,3	1,9	

** 0.01 düzeyinde önemli

Tane iriliğine göre bitki sayısı bakımından olabilecek farkların belirlenmesi için yapılan Duncan testi sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Çizelge 4.10 incelendiğinde, kullanılan genotiplerde, bitki sayısı küçük tanelerde 4,0-9,6 arasında, büyük tanelerde 4,6-12,3 arasında değiştiği görülmektedir. Küçük tanelerde en yüksek bitki sayısı 9,6 ile 805 no'lu hatta oluşmuş, onu 9,3 ile 825 no'lu hat, 7,6 ile 821 no'lu hat izlemiştir. Büyük taneler de ise en yüksek bitki sayısı 12,3 ile 802 no'lu hatta görülmüş, onu 11,3 ile 805 no'lu hat ve 10,3 ile 824 no'lu hat izlemiştir. Fakat bu genellemede 825 no'lu hatta küçük tanelerde yüksek, iri tanelerde düşük bitki sayısı vererek, genotipe özgü davranış göstermiştir. Bu genotip genel sonucu etkilememiştir. Yapılan korelasyon analizi de ($r = 0.597^*$) tane iriliği arttıkça bitki sayısının arttığını göstermektedir. Bu durum, yulafta tane iriliği arttıkça bitki sayısının da önemli ölçüde arttığını açıkça göstermektedir. Rejenere bitki sayısının genotipe göre değiştiğini gösteren bulgularımız Bregitzer vd (1989), Bregitzer vd (1991), Bered vd (1998), Torbert vd (1998) ve Cho vd (1999)'un sonuçlarıyla uyumludur.

Çizelge 4.10. Tane iriliğine göre çeşitlerde bitki sayısına ilişkin Duncan testi sonuçları

Çeşitler	Küçük Tane	Büyük Tane
801	5,0 hijk*	4,6 ijk
802	4,0 k	12,3 a
803	5,6 ghijk	8,6 cdef
804	5,6 ghijk	7,0 efghi
805	9,6 bcd	11,3 ab
821	7,6 defg	9,3 bcde
822	4,3 jk	7,3 defgh
823	5,6 ghijk	9,6 bcd
824	7,3 defgh	10,3 abc
825	9,3 bcde	6,6 fghij
Ortalama	6,39 ± 1,97	8,69 ± 2,34

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

4.6.Yulafta Olgun Küçük ve Büyük Tanelerde Endosperm Destekli Embriyo Kültüründe İncelenen Karakterler Arası İlişki

Küçük taneli olgun embriyolardan elde edilen kültür tepkileri bakımından ele alınan ögeler arasındaki ilişkiler Çizelge 4.11'de verilmiştir. Çizelge 4.11 incelendiğinde kallus ağırlığı ve rejenerasyon kapasitesi ($r = 0,507^{**}$), kallus ağırlığı ve kültür etkisi ($r = 0,522^{**}$), kallus ağırlığı ve bitki sayısı ($r = 0,519^{**}$), rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi ($r = 0,978^{**}$), rejenerasyon kapasitesi ve bitki sayısı ($r = 0,782^{**}$) ile kültür etkisi ve bitki sayısı ($r = 0,849^{**}$) arasında önemli ilişki olduğu, kallus oluşumu ve kallus ağırlığı ($r = 0,120$), kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi ($r = -0,110$), kallus oluşumu ve kültür etkisi ($r = 0,096$) ile kallus oluşumu ve bitki sayısı ($r = 0,308$) arasında ise önemsiz ilişki olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.11. Küçük tanelerde incelenen karakterler arasında ilişki

	K.O.	K.A.	R.K.	K.E.	B.S.
Kallus Oluşumu.	-	0,120	-0,110	0,096	0,308
Kallus Ağırlığı	-	-	0,507**	0,522**	0,519**
Rejenerasyon Kapasitesi	-	-	-	0,978**	0,782**
Kültür Etkisi	-	-	-	-	0,849**
Bitki Sayısı	-	-	-	-	-

** 0.01 düzeyinde öneml

Kültür tepkileri kallus oluşumu, kallus ağırlığı, bitki rejenerasyonu gibi ögeleri kullanılarak değerlendirilmektedir. Kallus oluşumu çoğu zaman in vitro çalışmalarının başlangıcı olarak kabul edilir. Kültür tepkileri sonucunda elde edilen kalluslar bize, kültürün başarısı hakkında ip uçları verebilir. Kallusların ağır olması, bunların kompak yapıda olduğunu göstermektedir. Kompak özellik arttıkça kallusların ağırlığında arttığı bilinmektedir. Kompak yapı aynı zamanda kallusların rejenerasyon yeteneğinin yüksek olduğunu göstermektedir (Mohanty ve Ghosh, 1988). Bu durum kallus ağırlığının artmasıyla rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisinin de artacağını göstermektedir. Bizim sonuçlarımızda da kallus ağırlığı ile kültür etkisi arasında ($r =$

0,522**) ve kallus ağırlığı ile rejenerasyon kapasitesi arasında ($r = 0,507^{**}$) önemli ilişkiler bulunmuştur.

Kültür tepkileri arasında rejenera bitki sayısını doğrudan etkileyen faktörler, rejenera kallusların oluşum oranıdır. Bu nedenle rejenerasyon kapasitesi arttıkça rejenera kallusların bitki sayısının da artması beklenir. Öyleki , Çizelge 4.11.'de de görüldüğü gibi, rejenerasyon kapasitesi ile rejenera bitki sayısı arasında önemli ($r = 0,782^{**}$) bir ilişki bulunmuştur. Dolayısıyla rejenerasyon kapasitesini etkileyen diğer öğelerle rejenera bitki sayısı arasındaki ilişkilerin önemli olması beklenir. Kallus ağırlığı ($r = 0,849^{**}$), kültür etkisi ($r = 0,849^{**}$) ile rejenera bitki sayısı arasındaki ilişkiler bu görüşü doğrularken kallus oluşumu ($r = 0,308$) arasında bir ilişki kurulamamıştır.

Kültür tepkilerinin önemli öğelerinden biri olan kültür verimi ise rejenera olabilen kallusların sayısının kültüre alınan embriyo sayısına bölümüyle elde edildiğinden, rejenera olabilen kallus sayısı arttıkça kültür veriminin de artması beklenir. Dolayısıyla kültür verimini etkileyen faktör kallusların rejenerasyon kapasitesidir. Rejenerasyon kapasitesinde de etkili faktör, rejenera olabilen kallusların sayısıdır. Bu nedenle iki öğe arasında önemli ($r = 0,978^{**}$) ilişki bulunmuştur. Buna karşın, kallus oluşumu ile kültür etkisi arasında önemli bir ilişki ($r = 0,096$) olmadığı bulunmuştur. Ayrıca kallus oluşumu ve kallus ağırlığı ($r = 0,120$), kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi ($r = -0,110$) ile kallus oluşumu ve bitki sayısı ($r = 0,308$) arasında önemli bir ilişki olmadığı görülmüştür.

Bu ilişkiler embriyo kültürü öğeleri bakımından bağımlılığın söz konusu olabileceğini ancak bazen karakterlerin bağımsızda çalışabileceğini göstermektedir. Birçok araştırmacı kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesinin bağımsız olduğunu bildirmişlerdir (Sears ve Deckard 1982; Chowdhury vd. 1991; Özgen vd. 1998). Nitekim, Bregitzer (1992) bir genotipin kallus oluşumu ile rejenerasyon kapasitesi arasında ilişki olmadığını belirtmiş; Ahloowalia (1987)'de benzer sonuçlar elde etmiştir.

Olgun embriyolarda büyük tanelerden elde edilen kültür tepkileri bakımından öğeler arasındaki ilişkiler Çizelge 4.12'de verilmiştir. Çizelge 4.12 incelendiğinde kallus ağırlığı ve bitki sayısı ($r = 0,409^{*}$); rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi ($r = 0,992^{*}$)

arasında önemli ilişkilerin olduğu, kallus oluşumu ve kallus ağırlığı ($r = 0,121$), kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi ($r = -0,168$), kallus oluşumu ve kültür etkisi ($r = -0,071$), kallus oluşumu ve bitki sayısı ($r = -0,037$), kallus ağırlığı ve rejenerasyon kapasitesi ($r = -0,040$), kallus ağırlığı ve kültür etkisi ($r = -0,009$), rejenerasyon kapasitesi ve bitki sayısı ($r = 0,285$) ile kültür etkisi ve bitki sayısı ($r = 0,209$) arasında ise önemsiz ilişki olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.12. Büyük tanelerde incelenen karakterler arasında ilişki

	K.O.	K.A.	R.K.	K.E.	B.S.
Kallus Oluşumu.	-	0,121	-0,168	-0,071	-0,037
Kallus Ağırlığı	-	-	-0,040	-0,090	0,409*
Rejenerasyon Kapasitesi	-	-	-	0,992**	0,285
Kültür Etkisi	-	-	-	-	0,290
Bitki Sayısı	-	-	-	-	-

* 0.05 düzeyinde

** 0.01 düzeyinde önemli

Büyük taneli yulaf embriyolarından elde edilen kültür tepkileri incelendiğinde kallus ağırlığının yüksek olmasının, bitki sayısını artırdığı düşünülebilir ($r = 0,409^*$). Rejenere kallus sayısı ve kültüre alınan embriyo sayısının etkin olduğu kültür verimi ile diğer öğelerin ilişkilerini dikkate aldığımızda artan kallus ağırlığı ($r = 0,409^*$) ve oluşan kallusların rejenerasyon kabiliyetinin yüksek olması ($r = 0,992^*$) şeklinde bir ilişki ortaya çıkmaktadır.

Kültür tepkileri bakımından küçük ve büyük taneliler karşılaştırıldığında; her iki grupta da kallus oluşumu ile diğer öğeler arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır. Küçük tanelilerde, kallus ağırlığı ile rejenerasyon kapasitesi, kültür etkisi ve bitki sayısı arasında olumlu ve önemli ilişki görülürken; büyük tanelilerde sadece kallus ağırlığı ile bitki sayısı arasında olumlu ve önemli bir ilişki ortaya çıkmıştır. Küçük tanelilerde rejenerasyon kapasitesi ile kültür etkisi ve bitki sayısı arasında; büyük tanelilerde ise sadece rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi arasında önemli ilişki bulunmuştur. Kültür etkisi ve bitki sayısı arasındaki önemli ilişki ise küçük tanelilerde ortaya çıkmıştır.

Kültür tepkileri bakımından ele alınan ögeler arasında her zaman önemli bir ilişki bulmak mümkün değildir. Bazı karakterler birbirlerinden bağımsızlık gösterebilirler. Kallus oluşumu ve kallus ağırlığı ($r = 0,121$), kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi ($r = -0,168$), kallus oluşumu ve kültür etkisi ($r = -0,071$) ile kallus oluşumu ve bitki sayısı ($r = -0,037$) arasında önemli bir ilişki ortaya çıkmamıştır. Kallus oluşum aşamasında her embriyonun kompakt kallus oluşturamaması rejenerasyon yeteneğini etkileyebilir. Nitekim, Bayliss ve Dunn (1979) ve Bregitzer (1992) kallus oluşumu ve diğer ögeler arasında hiçbir bağılılık bulmadığını belirtmişlerdir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, yulafın 2 çeşit (Ankara 76, Ankara 84) ve 8 hattında (803, 804, 805, 821, 822, 823, 824, 825) tane iriliğinin bitki rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır.

Yulaf, ülkemizde serin iklim tahılları içinde ekiliş ve üretim bakımından buğday ve arpadan sonra yer almaktadır. Yulaf, içerdği “avenin” maddesi ile genç organizmaların gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle çocuklar için yararlı bir besin maddesidir ve yulaf bisküviler ve çocuk mamaları gittikçe yaygınlaşmaya başlamıştır. Ayrıca, yulaf samanı yüksek beslenme değerine sahip olan bir hayvan yemidir. Yarış atlarına özellikle yulaf yemler verilmektedir. Yoğun tarla tarımının ekim nöbeti içinde, yulafa da yer verilirse, yurdumuzda yulaf kültürünün gelişmesi beklenebilir. Yulafta, kurağa dayanıklı ve hasatta tane dökmeyen çeşitlerin geliştirilmesi ülkemizde yulaf ekim alanlarının artmasını sağlayacaktır. Yulaf çeşit ıslahında; biyoteknoloji ve doğrudan gen aktarımından yararlanma aşamasında, çeşitlerin kallus oluşturma ve rejenerasyon özelliklerinin belirlenmesinin yulafla ilgili transgenik bitki elde etme çalışmalarında önemli bir avantaj sağlayacağı amacı, bu çalışmayı yapmamızın en önemli nedenlerindendir.

Denemede kullanılan çeşit ve hatların küçük ve büyük taneli embriyolarının (endosperm-destekli embriyo), sıvı ortamda (8mg/L 2,4-D içeren) kültüre alınmasıyla elde edilen kallus oluşumu, kallus ağırlığı ve hormonsuz ortamda sağlanan rejenerasyon kapasitesi, kültür etkisi ve toprağa aktarılan bitki sayısı gibi özellikler incelenmiş; bu öğeler bakımından elde edilen verilerle yapılan istatistik analizlere göre; tane iriliği, çeşit ve tane iriliği x çeşit etkileşimleri tüm özellikler için önemli bulunmuştur.

Kallus oluşumu bakımından genotiplere ait küçük ve büyük taneler arasında belirgin farklar olduğu görülmüştür. Küçük tanelerin kallus oluşum oranı % 85-100 arasında iken büyük tanelerin % 98,3-100 arasında olduğu; küçük taneli çeşitlerde sadece 821 nolu hatta % 100 kallus oluşumu sağlanırken büyük tanelilerde 801, 803, 804, 805, 823, 824 ve 825 nolu hatlarda % 100 kallus oluşumu sağlanmıştır. Aynı çeşidin küçük ve

büyük taneleri arasında kallus oluşumu bakımından farklılığı belirlemek için yapılan χ^2 testi sonuçlarına göre ise 801, 802, 803 ve 825 nolu çeşitler arasındaki farklılık % 1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bulgularımız tane iriliğinin ve genotipin kallus oluşumunu etkilediğini ve iri taneli genotiplerde kallus oluşum oranının daha yüksek olduğu görülmüştür.

Tane iriliğine göre kallus ağırlığı incelendiğinde genotiplere ait küçük tanelerin kallus ağırlıkları 0.60-1.31 g arasında, büyük tanelerin 0.84-1.42 g arasında değiştiği görülmüştür. Çeşitler incelendiğinde, küçük tanelerde en küçük değeri 803, en yüksek değeri 805; büyük tanelilerde ise düşük değeri 804, en yüksek değeri 823 numaralı genotipin verdiği belirlenmiştir. Kallus ağırlığına, tane iriliğinin etkili olduğu ve bin tane ağırlığı yüksek genotiplerde kallus ağırlığının da yüksek olduğu belirlenmiştir.

Genotiplerin küçük tanelerinde rejenerasyon kapasitesi % 26.9-59.9 arasında, büyük tanelerinde ise % 51.7-83.3 arasında değişmiştir. Küçük tanelerde en yüksek rejenerasyon kapasitesi % 59.9 ile 805 no'lu hatta oluşurken, onu % 56.1 ile 825 no'lu hat ve % 42.3 ile 824 no'lu hat izlemiştir; en düşük oran 801 no'lu hatta ortaya çıkmıştır. Büyük tanelerde en yüksek rejenerasyon kapasitesi % 83.3 ile 803 no'lu hatta oluşurken, onu % 81.5 ile 802 no'lu hat ve % 76.7 ile 804 no'lu hat izlemiştir; en düşük oran %51.7 ile 825 no'lu hatta ortaya çıkmıştır. Çalışmamızda yulaf olgun embriyolarından elde edilen rejenerasyon kapasitesinin genotipe göre değiştiği görülmüştür.

Tane iriliğine göre kültür etkisi ortalamalarını değerlendirildiğinde; küçük tanelerde en büyük oran % 56.7 ile 805 no'lu hattan elde edilmiş onu % 51.7 ile 825 no'lu hat, % 41.7 ile 821 ve 824 no'lu hatlar izlemiştir, en düşük oran ise % 25 ile 801 no'lu hatta ortaya çıkmıştır. Büyük tanelerde ise en büyük oran % 83.3 ile 803 No'lu hatta oluşmuş onu % 80 ile 802 ve % 76.7 ile 804 no'lu hat izlemiştir, en düşük oran da % 50 ile 825 no'lu hatta bulunmuştur. Kültür etkisinin tane iriliği ve genotiplere bağlı olarak değiştiği saptanmıştır.

Genotipler bitki sayısı bakımından incelendiğinde: küçük taneler bitki sayısının 4,0-9,6 arasında, büyük taneler ise 4,6-12,3 arasında değiştiği görülmüştür.. Küçük tanelerde en yüksek bitki sayısı 9.6 ile 805 no'lu hatta oluşmuş, onu 9.3 ile 825 no'lu hat, 7.6 ile 821 no'lu hat izlemiştir. Büyük taneler de ise en yüksek bitki sayısı 12.3 ile 802 no'lu hatta görülmüş, onu 11.3 ile 805 no'lu hat ve 10.3 ile 824 no'lu hat izlemiştir. Rejenere bitki sayısının genotipe göre değişiklik gösterebileceği bulgularımız sonucunda ortaya çıkmıştır.

Tane iriliğine göre genotipleri kültür tepkileri arasında yapılan korelasyon analizinde, bazı karakterler arasında önemli bir ilişki ortaya çıkarken bazı karakterlerin birbirinden bağımsız olduğu belirlenmiştir.

Küçük taneli olgun embriyolardan elde edilen kültür tepkileri arasındaki ilişkiler incelendiğinde kallus ağırlığı ve rejenerasyon kapasitesi ($r = 0,507^{**}$), kallus ağırlığı ve kültür etkisi ($r = 0,522^{**}$), kallus ağırlığı ve bitki sayısı ($r = 0,519^{**}$), rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi ($r = 0,978^{**}$), rejenerasyon kapasitesi ve bitki sayısı ($r = 0,782^{**}$) ile kültür etkisi ve bitki sayısı ($r = 0,849^{**}$) arasında önemli ilişki olduğu, kallus oluşumu ve kallus ağırlığı ($r = 0,120$), kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi ($r = -0,110$), kallus oluşumu ve kültür etkisi ($r = 0,096$) ile kallus oluşumu ve bitki sayısı ($r = 0,308$) arasında ise önemsiz ilişki olduğu görülmüştür.

Büyük taneli yulaf embriyolarından elde edilen kültür tepkileri arasındaki ilişki incelendiğinde de; rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi ($r = 0,992^{**}$) ile kallus ağırlığı ve bitki sayısı ($r = 0,409^{*}$) arasında önemli ilişki belirlenmiştir.

Kültür tepkileri bakımından kullanılan genotipler değerlendirildiklerinde, küçük tanelilerin büyük tanelilere oranla daha olumlu sonuçlar verdikleri görülmüştür.

Bulgularımız aynı konu üzerinde çalışan araştırmacıların bazılarıyla benzerlik gösterirken bazılarıyla da farklılık göstermektedir. Farklılık, kullanılan genotiplerin gerek biyolojik gerekse köken bakımından farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

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

Farklı büyüklükteki (küçük-büyük) embriyolardaki kültür tepkileri incelendiğinde küçük taneliler ile büyük taneliler arasında önemli bir fark olduğu, incelenen öğeler bakımından küçük tanelerin kültür tepkileri arasında olumlu ve önemli, büyük tanelerin ise; rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi ile kallus ağırlığı ve bitki sayısı arasında önemli ilişki bulunduğu saptanmıştır.

Sonuç olarak, son yıllarda olgunlaşmamış embriyolara alternatif bir yöntem olarak diğer tahıllarda başarıyla kullanılan endosperm-destekli embriyo yönteminin yulaf içinde kullanılabileceği ve bu yöntemde başarının iri endospermli tanelerin kullanılmasıyla artırılabilceği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Ahloowalia, B.S. 1987. Plant regeneration from embryo-callus culture in barley. *Euphytica*, 36; 659-665.
- Anonymous. 2003. FAO Production Year Book. <http://www.faostat.org>
- Anonim, 2003. Tarımsal Yapı 2002. T. C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü Verileri, Ankara.
- Bayliss, M.W. and Dunn, S.D.M.. 1979. Factors affecting callus formation from embryos of barley (*Hordeum Vulgare*). *Plant Science Letters*, 14; 311- 316.
- Bered, F., Sereno, M.J.C.D., De Carvalho, F., Lange, C.E., Handel, C.L., and Dornelles, A.L.C. 1998. Plant regeneration from embryonic and organogenic calli in oat. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 33 (11):1827-1833
- Birsin, M. A., Önde, S. and Özgen, M. 2001. Callus induction and plant regeneration from mature embryos of oat (*Avena sativa* L.). *Turk J Biol.*, 25; 427-434.
- Bregitzer, P., Somers, D.A. and Rines, H.W. 1989. Development and characterization of friable, Embryogenic oat callus. *Crop Sci.* 29;798-803.
- Bregitzer, P., Bushnell, W.R., Rines, H.W. and Somers, D.A. 1991. Callus formation and plant regeneration from somatic embryos of oat (*Avena sativa* L.). *Plant Cell Reports*. 10; 243-246.
- Bregitzer, P. 1992. Plant regeneration from and callus type in barley: effect of genotype and culture medium. *Crop Science*, 32;1108-1112.
- Chen, Z., Klockare, R. and Sundqvist, C. 1994. Origin of somatic embryogenesis is proliferating root primordia in seed derived oat callus. *Hereditas*. 120; 211-216

- Chen, Z.H., Zuuge, Q. and Sundquist, C. 1995. Oat leaf base- tissue with an efficient regeneration capacity. Plant Cell Reports. 14 (6); 354-358
- Cho, M. J., Jiang, W. and Lemaux P.G. 1999. High-frequency transformation of oat via microprojectile bombardment of seed-derived highly regenerative cultures. Plant Science, 148; 9-17.
- Chowdury, S.H., Kato K., Yamamoto, Y. and Hayashi, K. 1991. Varietal variation in plant regeneration capacity from immature embryo among common wheat cultivars. Jpn. J. Breed., 41; 442-450.
- Cummings, D.P., Green, C.E. and Stutman, D.D. 1976. Callus induction and plant regeneration in oats. Crop Sci. 16:465-470.
- Demir, İ. 1975. Genel Bitki Islahı. Ege Üniv. Zir. Fak. Yayınları. No: 212, 1-331, Bornova, İzmir, Türkiye.
- Doehlert, C.D., McMullen, S.M. and Riveland, N.R. 2002. Sources of variation oat kernel size. American Association of Cereal Chemists. 79 (4); 528-534.
- Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F. 1983. İstatistik Metodları 1. A. Ü.Ziraat Fakültesi Yayınları. 861. Ders Kitabı, 229, Ankara.
- Gless, C., Lörz, H. and Jahne-Gartner, A. 1998. Establishment of a highly efficient regeneration system from leaf base segments of oat (*Avena sativa* L.). Plant Cell Reports, 17; 441-445
- Kiviharju, E., Poulimatka, M. and Pehu, E. 1997. Regeneration of anther- derived plants of *Avena sterilis*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 48; 147-152

- Kiviharju, E., Puolimatka, M., Saastamoinen, M., Hovinen, S. and Pehu, E. 1998. The effect of genotype on anther culture response of cultivated and wild oats. *Agricultural and Food Science in Finland*, 7 (3); 409-422.
- Kiviharju, E.M. and Tavriainen A.A. 1999. Dichlorophenoxyacetic acid and kinetin in anther culture of cultivated and wild oats and their interspecific crosses: plant regeneration from *A. Sativa* L. *Plant Cell Reports*. 18; 582-588
- Kün, E. 1998. Serin iklim tahılları ders kitabı, Ank. Üniv. Zir. Fak. Yayınları 1032/299 syf. 239, 1-322, Ankara.
- Lamb, C.R.C., Milach, S.C.K., Pasquali, G. and Barno, R.S. 2002. Somatic embryogenesis and plant regeneration derived from mature embryos of aot. *Pesqulsa Ag. Brasil*. 37 (2); 123-130.
- Lörz, H., Göbel, E. and Brown, P. 1988. Advances in tissue culture and progress towards genetic transformation of cereals. *Plant Breeding*. 100 (1):1-25.
- Lörz, H. 1989. In vitro manipulation of cereal crops. Review of Advances in Plant Biotechnology, 1985-88. A. Mujeeb-Kazi and L. A. Stich, technical editors CIMMIYT- IRRI, Mexico D.F.
- Mohanty, B. D. and Ghosh, P. D. 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus of *Hordeum vulgare*. *Annals of Botany*, 61; 551-555.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum*. 15: 473-497.
- Özcan, S. ve Özgen, M. 1996. Bitki genetik mühendisliği. *KÜKEM Dergisi* 1-69-95

- Özgen, M., Türet, M., Altınok, S. and Sancak, C. 1998. Efficient callus introduction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum*L.) genotypes. *Plant Cell Reports*, 18: 331-335.
- Özgen, M. and Birsin, M. A. 2002. Callus induction and plant regeneration from immature and endosperm-supported mature embryos of winter oat (*Avena sativa* L.). *J. Genet. and Breed.*, 56; 339-344.
- Rines, H. W. and McCoy, T.J. 1981. Tissue culture initiation and plant regeneration in hexaploid species of oats. *Crop Science*, 21; 837- 842.
- Sayar, M. T., Birsin, M. A., Ulukan, H., and Özgen, M. 1999. Effect of seed size on the tissue culture response of callus from mature embryos of wheat species. *Wheat Information Service*, 89; 1-6.
- Sears, R.G. and Deckard, E.L. 1982. Tissue culture variability in wheat: callus induction and plant regeneration. *Crop Science*, 22; 546-550.
- Şehirali, S. ve Özgen, M. 2002. Bitki Islahı Ders Kitabı, Ank. Üniv. Zir. Fak. Yayınları No 1527/480, 1-261, Ankara Türkiye.
- Torbert, K.A., Rines, H.W. and Somers, D.A. 1998. Transformation of oat using mature embryo- derived tissue cultures. *Crop Sci.*, 38; 226- 231.
- Ulukan, H. ve Özgen, M. 1998. Bazı buğday türlerinde pasa dayanıklılıkla morfolojik karakterler arasındaki ilişkiler, Doktora Tezi, Ank. Üniv. Zir. Fak., Ankara, 1-219, Türkiye.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Ankara’da doğdu. İlk ve Ortaokulu Mareşal Fevzi Çakmak İlköğretim okulunda tamamladı. Lise öğrenimini Alparslan Süper Lisesi’nde tamamladı. 1997 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümüne girdi ve 2001 yılında Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. 2001 yılında Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Ocak 2004’de Tarım Danışmanı olarak göreve başladı. Halen aynı göreve devam etmektedir.