



**TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN BAZI  
ARPA ÇEŞİTLERİNİN EMBRİYOLARINDA  
FARKLI OKSİN HORMONLARININ  
KALLUS ÜRETİMİ VE BİTKİ  
REJENERASYONUNA ETKİLERİ**

**Fatmagül GÜVEN**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tarla Bitkileri Anabilim Dalı**

**Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR**

**2015**

**Her hakkı saklıdır**

**T.C.  
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TÜRKİYE’DE ÜRETİLEN BAZI  
ARPA ÇEŞİTLERİNİN EMBRİYOLARINDA  
FARKLI OKSİN HORMONLARININ  
KALLUS ÜRETİMİ VE BİTKİ  
REJENERASYONUNA ETKİLERİ**

Fatmagül GÜVEN

TOKAT

2015

Her hakkı saklıdır

Bu tez çalışması;

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından 2011/70 nolu proje ile desteklenmiştir.

Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR danışmanlığında, Fatmagül GÜVEN tarafından hazırlanan bu çalışma 03/08/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Başkan: Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR**

imza:

**Üye: Prof. Dr. Mehmet Ali SAKİN**

imza:

**Üye: Yrd. Doç. Dr. Duran KATAR**

imza:


**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Mehmet Ali SAKİN**  
**Enstitü Müdürü**

11.08.2015

## TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkasının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

  
**Fatmagül GÜVEN**  
**11.08.2015**

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### TÜRKİYE'DE ÜRETİLEN BAZI ARPA ÇEŞİTLERİNİN EMBRİYOLARINDA FARKLI OKSİN HORMONLARININ KALLUS ÜRETİMİ VE BİTKİ REJENERASYONUNA ETKİLERİ

Fatmagül GÜVEN

Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü  
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR

Bu çalışmada, Türkiye'de üretimi yapılan 18 arpa çeşidi ve doku kültürü için standart kabul edilen Golden Promise çeşidinin olgunlaşmamış embriyoları kullanılarak, farklı oksin hormonlarının kallus üretimi ve bitki rejenerasyonuna etkileri incelenmiştir. Dört farklı oksin hormonu [2,4-D (2,4-dichlorophenoxy asetik asit), dicamba (3,6-dichloro-o-anisic acid), NAA (1-naphthalene asetik asit) ve IAA (indol-3-asetik asit)] 3 mg/l düzeyinde kullanılmıştır. Embriyolardan elde edilen kalluslar doğrudan veya alt-kültür yapıldıktan sonra 1 mg/l kinetin (sitokinin) ve 0,25 mg/l 2,4-D (oksin) içeren besi ortamında sürgün gelişimine teşvik edilmiştir. Çalışma sonucunda embriyodan en yüksek kallus oluşum oranı ve embriyodan en yüksek kallus üretim miktarı dicamba ile, alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı, kallustan doğrudan ve alt-kültür sonrası rejenerasyon oranı 2,4-D ile sağlanmıştır. Kalluslardan doğrudan ve alt-kültür sonrası elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı da en yüksek 2,4-D ortamında geliştirilen bitkilerde olduğu görülmüştür. Kallus oluşum oranları bakımından tüm çeşitler standart çeşit Golden Promise ile yaklaşık değerler gösterirken, kallustan doğrudan veya alt-kültür sonrası rejenerasyon ve geliştirilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı bakımından Golden Promise çeşidi diğer tüm çeşitleri geride bırakmıştır. Türk çeşitleri içinde Cumhuriyet 50, Şerifehanım 98 ve Çatalhöyük 2001 çeşitleri kallustan doğrudan veya alt-kültür sonrası rejenerasyon oluşturma kapasitesi bakımından yüksek performans göstermişlerdir. Çalışmamızda ayrıca çeşit x oksin hormonu interaksiyonunun incelenen tüm değişkenlerde önemli olması farklı çeşitlerde farklı oksin hormonu uygulanması gerektiğine işaret etmiştir. Sonuç olarak herhangi bir çeşitle yapılacak olan genetik transformasyon çalışmalarının Golden Promise çeşidi ile yapılması, ancak yerli çeşitlerden birinin kullanılması gerektiği durumlarda Çatalhöyük 2001, Cumhuriyet 50 ve Şerifehanım 98 çeşitlerinden birinin seçilmesi gerektiği belirlenmiştir.

2015, 41 Sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Arpa, *Hordeum vulgare* L., embriyo kültürü, oksin, bitki rejenerasyonu, kallus.

## ABSTRACT

M. Sc. Thesis

### EFFECT OF DIFFERENT AUXIN HORMONES ON CALLUS PRODUCTION AND PLANT REGENERATION IN EMBRYOS OF SOME BARLEY CULTIVARS PRODUCED IN TURKEY

Fatmagül GÜVEN

Gaziosmanpaşa University Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR

In the present study, effects of different auxin hormones on callus production and plant regeneration were studied on 18 barley cultivars grown in Turkey and on cv. Golden Promise, tissue culture standard of barley. Four different auxin hormones (2,4-D, Dicamba, NAA and IAA) were used at the rates of 3 mg/l. Calli produced directly from embryos or after a sub-culture were placed on a medium containing 1 mg/l kinetin, a cytokinin, and 0,25 mg/l 2,4-D to promote shoot regeneration. IAA was excluded since it produced almost no callus. The highest callus production percentage and highest amount of callus production from embryo were obtained from dicamba, while the highest amounts of callus production per embryo after subculture, and direct and indirect regeneration rates after sub-culture were obtained from 2,4-D. Rate of successful transplantation to soil of plantlets developed from callus produced directly from embryo or after a sub-culture was highest in 2,4-D. In terms of callus production percentage, all cultivars were similar to Golden Promise, while plant regeneration from callus produced from embryos or after a sub-culture, and success of plantation of plantlets to soil were better in Golden Promise compared to other cultivars. Of the Turkish cultivars, Cumhuriyet 50, Şerifehanım 98 and Çatalhöyük 2001 had good regeneration capacity from callus produced directly from embryo or after a sub-culture. Significant cultivar x auxin interactions determined in all variables studied indicated the necessity to use different auxin hormones in different cultivars. It was concluded that cv. Golden Promise should be used in genetic transformation studies when the choice of cultivar does not matter. However, when a Turkish cultivar needs to be used, one of Çatalhöyük 2001, Cumhuriyet 50 and Şerifehanım 98 cultivars should be employed.

2015, 41 Pages

**Key Words:** Barley, *Hordeum vulgare* L., embryo culture, auxin, plant regeneration, callus.

## ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen, meslek hayatımda her zaman örnek alacağım danışman hocam Prof. Dr. Nejdet KANDEMİR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca benim bugünlere gelmemde büyük emeği olan değerli aileme, Ziraat Mühendisliği mesleğini tercih etmemde katkısı olan ve ilerleyen eğitim hayatımda fikirlerinden istifade ettiğim lise okul müdürüm İsa IŞIK hocama, tez çalışmamın yürütülmesinde ve laboratuvar çalışmalarımda büyük özveri ile bana yardımcı olan Arş. Gör. İbrahim SAYGILI'ya, Ziraat Yüksek Mühendisi Fatma Rüveyda ALKAN'a, Ziraat Mühendisi Ayşe DEMİR'e çok teşekkür ederim.

Fatmagül GÜVEN  
Ağustos 2015

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	vii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ</b> .....	3
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b> .....	8
<b>3.1. MATERYAL</b> .....	8
<b>3.2. YÖNTEM</b> .....	9
3.2.1. Embriyo Kültüründe Kullanılacak Bitkilerin Yetiştirilmesi.....	9
3.2.2. Sterilizasyon İşlemleri.....	10
3.2.3. Embriyo Kültürü İçin Besi Ortamının Hazırlanması.....	10
3.2.4. Olgunlaşmamış Arpa Embriyolarından Kallus Elde Edilmesi.....	12
3.2.5. Kalluslardan Bitki Rejenerasyonu.....	13
3.2.6. Oluşan Sürgünlerin Geliştirilmesi ve Köklendirilmesi.....	14
3.2.7. Çalışmada İncelenen Özellikler.....	15
3.2.7.1. Kallus oluşum oranı.....	15
3.2.7.2. Embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı.....	15
3.2.7.3. Alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı....	15
3.2.7.4. Rejenerasyon oranı.....	15
3.2.7.5. Alt-kültürden sonra rejenerasyon oranı.....	16
3.2.7.6. Embriyo orijinli kalluslardan elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı.....	16
3.2.7.7. Alt-kültürden elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı.....	16
3.2.8. Deneme Deseni ve Verilerin Değerlendirilmesi.....	16
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....	17
4.1. Kallus Oluşum Oranı.....	17
4.2. Embriyo Başına Ortalama Kallus Üretim Miktarı.....	20
4.3. Alt-kültürden Sonra Embriyo Başına Ortalama Kallus Üretim Miktarı....	23
4.4. Rejenerasyon Oranı.....	26
4.5. Alt-kültürden Sonra Rejenerasyon Oranı.....	29
4.6. Embriyo Orijinli Kalluslardan Elde Edilen Bitkilerin Toprağa Şaşırtılma Başarısı.....	31
4.7. Alt-kültürden Elde Edilen Bitkilerin Toprağa Şaşırtılma Başarısı.....	33
<b>5. SONUÇLAR</b> .....	35
<b>6. KAYNAKLAR</b> .....	37
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b> .....	41

## SİMGE VE KISALTMALAR

<u>Kısaltma/Simge</u>	<u>Açıklama</u>
2,4-D	2,4-dichlorophenoxy asetik asit
NAA	1-naphthalene asetik asit
Dicamba	3,6-dichloro-o-anisic acid
IAA	indol-3-asetik asit
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
L	Litre
°C	Santigrat Derece
cm	Santimetre
MS	Murashige ve Skoog
ha	Hektar

## ŞEKİL LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 3.1. Kontrollü sera şartlarında yetiştirilen arpaların, olgunlaşmamış embriyo kültürü için uygun dönemdeki başaklarına ait bir görünüm.....	9
Şekil 3.2. Embriyo kültürü için hazırlanan besi ortamları.....	11
Şekil 3.3. Sterilizasyon işlemine tabi tutulmuş arpa tohumlarının pens ve bisturi yardımıyla embriyodan izole edilmesi işlemi.....	12
Şekil 3.4. Olgunlaşmamış arpa embriyolarından geliştirilen kalluslara ait bir görünüm.....	13
Şekil 3.5. Kalluslardan sürgün gelişimi.....	14
Şekil 3.6. Sürgünlerin geliştirilmesi ve köklendirilmesi.....	15
Şekil 4.1. Çeşit x farklı oksin hormonlarının kallus oluşum oranına (%) etkisi.....	20
Şekil 4.2. Çeşit x farklı oksin hormonlarının embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisi.....	23
Şekil 4.3. Çeşit x farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisi.....	26
Şekil 4.4. Çeşit x farklı oksin hormonlarının rejenerasyon oranına (%) etkisi.....	29
Şekil 4.5. Çeşit x farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra rejenerasyon oranına (%) etkisi.....	31

## ÇİZELGE LİSTESİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan arpa çeşitleri ve tescil edildiği yerler.....	8
Çizelge 3.2. Modifiye Murashige ve Skoog (MS) ortamı.....	11
Çizelge 4.1. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının kallus oluşum oranına (%) etkisine ait varyans analiz tablosu.....	18
Çizelge 4.2. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının kallus oluşum oranına (%) etkisi.....	19
Çizelge 4.3. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisine ait varyans analiz tablosu.....	21
Çizelge 4.4. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı (mg) etkisi.....	22
Çizelge 4.5. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisine ait varyans analiz tablosu.....	24
Çizelge 4.6. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisi.....	25
Çizelge 4.7. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının rejenerasyon oranına (%) etkisine ait varyans analiz tablosu.....	27
Çizelge 4.8. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının rejenerasyon oranına (%) etkisi.....	28
Çizelge 4.9. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra rejenerasyon oranına (%) etkisine ait varyans analiz tablosu.....	30
Çizelge 4.10. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra rejenerasyon oranına (%) etkisi.....	30
Çizelge 4.11. Embriyo orijinli kalluslardan elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı (%).....	32
Çizelge 4.12. Alt-kültürden elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı (%).....	34

## 1. GİRİŞ

Arpa (*Hordeum vulgare* L.) Türkiye’de ve dünyada önemli tahıllardan biridir. Yem ve bira sanayinde kullanımının yanı sıra gıda sanayinde de kullanılmaya başlanmıştır. Arpada yapılan klasik ıslah çalışmaları ile yem ve malt kalitesinin artırılması, patojenlere dirençlilik ve stres koşullarına dayanıklılık gibi özellikler ticari çeşitlere aktarılmaktadır. Son yıllarda bitki biyoteknolojisinde meydana gelen gelişmelerle birlikte biyoteknolojik metotların bitki ıslahındaki önemi artmaya başlamıştır. Genetik mühendisliği ve ıslah materyalinin hızlı çoğaltımı etkili bir rejenerasyon sistemine bağlıdır (Aydın ve ark., 2009; Bezirganoğlu, 2006). Türk arpa çeşitlerinde gerçekleştirilecek olan biyoteknolojiye dayalı ıslah işlemlerinin başarısı için çeşitlerin rejenerasyon kapasitesinin belirlenmesi ve etkili bir rejenerasyon sisteminin oluşturulması gereklidir.

Transgenik teknolojisi sayesinde çok farklı kaynaklardan gelen genlerin kültür bitkilerine aktarılabilmesi söz konusudur. Bu durum bitki ıslahçıları için sınırları kaldırmaktadır. Ayrıca ıslah çok kısa sürelerde yapılabilmektedir. Fakat transgenik teknolojinin kullanılabilmesi ilgili türde etkin bir rejenerasyon sistemini gerektirmektedir (Chang ve ark., 2003). Doku kültürü teknikleri transgenik teknolojinin uygulanmasını sağlama yanında, haploid bitkiler ve embriyo kültürü yoluyla bitki ıslahını hızlandırma, mikroçoğaltım yoluyla tohum üretimini hızlandırma gibi önemli bitki ıslahı uygulamalarına sahiptirler (Dahleen ve Bregitzer, 2002). Bu nedenle etkin bir doku kültürü çoğaltım sisteminin bulunması bir kültür bitkisinde modern ıslah metotlarının etkili kullanımı için bir ön şart durumundadır.

Tahıllarda rejenerasyon amaçlı olarak en etkili şekilde kullanılan teknik embriyo kültürleridir. Hem doğrudan gen transferi tekniklerinde (Karakaş, 2005) ve hem de mikroçoğaltım işlemlerinde (Babaoğlu ve ark., 2002) yaygın olarak bu teknik kullanılmaktadır. Embriyo kültürü tekniğinde başarı diğer faktörler yanında, genotipten de önemli ölçüde etkilenmektedir (Cho ve ark., 2002). Buğdayda gen aktarımı için önemli bir adım olan kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu çalışmalarında genotipin en

önemli faktör olduğu belirtilmiştir (Aydın ve ark., 2009). Arpada da gen aktarım frekansının artırılmasına yönelik bazı çalışmalarda ise, genotipin kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunu etkileyen en önemli faktör olduğu anlaşılmıştır (Karakaş, 2005). Harrington ve Morex çeşitlerinin kullanıldığı bir çalışmada, optimum 2,4-D konsantrasyonunun genotipe spesifik olduğu sonucuna varılmış, ancak 3 mg/l dozunun çoğu çeşit için uygun olabileceği belirtilmiştir (Bregitzer ve ark., 1998). Yapılan başka bir çalışmada ise hem olgun embriyo kültüründe hem de olgunlaşmamış embriyo kültüründe kallus oluşum sıklığı genotipten etkilenmiştir (Abumhadi ve ark., 2005). Bu nedenle hızlı ve etkili bir ıslah çalışması yapılacağı zaman kullanılacak olan çeşitlerin kallus oluşturma ve rejenerasyon oranlarının belirlenmesi önemlidir.

Tahıl embriyolarının kültüre alınması ve onlardan elde edilen kalluslardan bitki rejenerasyonu üzerine bitki büyüme düzenleyicileri de önemli bir yere sahiptir. Arpa embriyolarından kallus dokusu elde etmek için oksin grubu bitki büyüme düzenleyicilerinin kullanımı gereklidir. Yapılan bir çalışmada kallus oluşumu için 2,4-D, dicamba ve picloram kullanılmış, bu üç oksin tipi karşılaştırıldığında 2,4-D içeren ortamda yüksek rejenerasyon oranı ve kallus oluşumu görülmüştür (Serhantova ve ark., 2004). Olgun arpa embriyolarında yapılan başka bir çalışmada 1 ile 5 mg/l 2,4-D içeren ortamlarda kallus gelişimi gözlenmiş, en yüksek kallus üretim sıklığı 3 mg/l dozunda 2,4-D içeren ortamdan elde edilmiştir (He ve Jia, 2008). Yapılan çalışmalarda farklı oksin tiplerinin ve konsantrasyonlarının rejenerasyon üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Aydın ve ark., 2009).

Arpada modern bitki ıslah metotları için gerekli olan etkin rejenerasyon sistemini belirleme amacı taşıyan bu çalışmada Türk arpa çeşitlerinin farklı hormon uygulamalarına tepkileri araştırılmıştır. Böylece arpada gen aktarım frekansının artırılmasına yönelik transformasyon çalışmaları için kullanılacak arpa çeşitleri önceden belirlenmiş olacak ve hemen kullanılacaktır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Arpa (*Hordeum vulgare* L.) malt sanayinde, hayvan yemi olarak ve az miktarda gıda sanayinde kullanılan önemli bir tahıldır. Dünya’da 55,9 milyon ha alanda 139,9 milyon ton arpa üretimi yapılırken (Anonim, 2014), Türkiye’de 2,72 milyon ha alanda 7,90 milyon ton arpa üretimi yapılmaktadır (Anonim, 2013). Tahıllar arasında üretim bakımından dünyada dördüncü ve Türkiye’de ise buğdaydan sonra ikinci sırada yer almaktadır. Ancak ülkemizin yemlik ve maltlık arpalarının verimi ve kalitesi yeterli değildir. Arpada verim ve kalite özelliklerinin iyileştirilmesi gerekmektedir. Verim ve kalitenin artırılması uygun tarım tekniklerin kullanımı yanında, yüksek verim ve kalite potansiyeline sahip çeşitlerin geliştirilmesi ile mümkün olacaktır. Klasik ıslah yöntemleri kullanılarak yapılan birçok çalışma mevcuttur, fakat son yıllarda bu amaçla gen aktarım tekniklerinden de faydalanılmaktadır. Arpada yapılan gen aktarım çalışmalarının başarısı, etkili ve sürdürülebilir kallus sistemleri sayesinde daha da artmaktadır. Fakat arpada yapılan rejenerasyon çalışmaları yeterli düzeyde değildir. Bu amaçla kullanılmak üzere etkili bir kallus oluşumu ve bitki rejenerasyon sisteminin kurulmasına yönelik çalışmalar önem kazanmaktadır (Mendoza ve Kaeppler, 2002).

Tarımsal üretimde halen kullanılmakta olan klasik ıslah yöntemler hem uzun zaman almakta ve hem de verim ve kaliteyi arttırmada yetersiz kalmaktadır. Gelişen modern biyoteknolojik yöntemlerden bitki doku kültürü tekniklerinin klasik ıslahla birlikte kullanılması ıslahın hızını ve etkilerini arttırmaktadır. Bitkilerde kullanılan bitki doku kültürü teknikleri; kallus kültürü, embriyo kültürü, anter ve mikrospor kültürü, somatik embriyogenesis, protoplast kültürü gibi yöntemlerdir. Bu yöntemlerden embriyo kültürü tekniği, arpada yapılan doku kültürü çalışmalarında yaygın olarak kullanılan yöntemden biridir. Bu amaçla olgunlaşmış veya olgunlaşmamış embriyolar kullanılmaktadır. Explant kaynağı olarak rejenerasyon yeteneği bakımından en elverişli olan olgunlaşmamış embriyolar üzerinde yoğun olarak çalışılmaktadır (Ahloowalia, 1987; Koyuncu ve Özgen, 2005). Genel olarak hücrelerin rejenerasyon yeteneğinin başarısı; genotipe, bitki gelişme düzenleyicilerine, kültür şartlarına ve besi ortamı içeriğine

bağlıdır (Bregitzer, 1992). Ayrıca yüksek oranda rejenerasyon elde edilmesi, kullanılacak olan uygun doku kültürü teknikleri sayesinde mümkündür (Goldstein ve Kornstad, 1986).

Doku kültürü yöntemlerinden kallus kültürü tekniği, arpada yapılan rejenerasyon çalışmalarında kullanılmaktadır. Farklılaşmamış hücrelerden meydana gelen kallus dokusunun oluşturulması, yapılan çalışmaların başarılı olması için gereken önemli bir aşamadır. Mutasyon çalışmaları ve gen aktarım tekniklerinde kullanımlarının yanı sıra sahip oldukları genetik varyabilite özelliklerinden dolayı da kallus kültürlerinden faydalanılmaktadır. Kallus kültüründe eksplant kaynağı olarak embriyo, sürgün ucu ve mikrospor gibi bitki parçaları kullanılmaktadır. Kallus kültüründe kullanılan eksplantlardan kallus elde edildikten sonra, üretilen bu kalluslar parçalanarak sürekli alt kültüre alınmakta ve böylece rejenerasyon sağlanmaktadır. Alt-kültüre alınan kalluslarda, amaca uygun bitki büyüme düzenleyicilerinden (oksin, sitokinin vs.) besi ortamına eklenerek kök ve sürgün gelişimi teşvik edilmektedir (Kumlay ve Eryiğit, 2011).

Doku kültüründe besi yerlerine ilave edilen en önemli bileşenler oksinler ve sitokininlerdir. Bu iki bitki büyüme düzenleyicisinin besi ortamına ilave edilen konsantrasyonuna göre kallus, kök ve sürgün oluşumu teşvik edilmektedir. Oksinler doku kültürü çalışmalarında tek başlarına yüksek konsantrasyonda kullanıldığı zaman hızlı bölünen embriyogenik hücreler elde edilmektedir. Oksin grubundaki bazı önemli bitki büyüme düzenleyicileri 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxy asetik asit), Dicamba (3,6-Dichloro-o-anisic acid), Picloram, NAA (1-Naphthalene asetik asit) ve IAA (İndol-3-asetik asit)'dir (Westwood, 1993). Bunlardan 2,4-D ve dicamba tahıl doku kültürü çalışmalarında başarılı sonuçlar veren ve hücre bölünmesini teşvik eden bitki büyüme düzenleyicileridir (Serhantova ve ark., 2004; Satyavathi ve ark., 2004). Kallus oluşumu ve devamlılığını sağlamada etkili bir rejenerasyon için dicamba, 2,4-D ve picloram kullanılarak yapılan bir araştırmada en iyi embriyogenik kallus oluşumu dicamba içeren besi ortamında gözlemlenmiştir (Castillo ve ark., 1998). Önemli bir biralık arpa çeşidi olan Morex'de etkili bir bitki rejenerasyon sistemi kurmak için olgunlaşmamış embriyolarının kültüre alındığı bir çalışmada, 2,4-D ve dicambanın 3 mg/l dozundaki

uygulamasının embriyogenik kallus oluşumu için en uygun ortam olduğu sonucuna varılmıştır (Chang ve ark., 2003).

Sitokininler hücre farklılaşmasında ve bitki doku kültürü çalışmalarında organogenesisde önemli rol oynayan bitki büyüme düzenleyicisi grubudur. Hücre bölünmesi, yeniden farklılaşma ve bitki rejenerasyonunu teşvik ederler. Ayrıca besi yerinde kullanılan oksin/sitokinin oranı çok önemlidir. Etkili bir rejenerasyon elde etmek amacıyla oluşturulan kalluslardan sürgün gelişimini teşvik etmek için besi ortamına ilave ettiğimiz belli orandaki sitokinin, sürgün rejenerasyonunu sağlayacaktır. Böylece kallusları parçalara ayırıp sitokinin içeren ayrı besi yerlerinde tek bir kallustan yüzlerce sürgün elde edilebilmektedir. Kinetin doku kültürü çalışmalarında kullanılan önemli bir sitokinidir. Golden Promise, Dissa ve Igrı çeşitleri kullanılarak yapılan olgunlaşmamış embriyoların kullanıldığı bitki rejenerasyon çalışmasında, embriyogenik kalluslardan geliştirilen sürgünlerin 0,5 mg/l kinetin ortamında köklendirmenin uygun olduğu belirlenmiştir (Tiwari ve ark., 2014).

Kullanılan besi yeri bileşenleri ve bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisinin yanında, kullanılan bitkinin genotipi en etkili unsurdur. Przetakiewicz ve ark. (2003), buğday arpa ve tritikalede yaptıkları rejenerasyon çalışmasında olgunlaşmamış embriyolardan kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonun genotipe göre farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Arpada yapılan gen aktarım çalışmalarında genelde kullanılan standart çeşit Golden Promise'dir (Gubisova ve ark., 2012; Dahleen ve Manoharan, 2007). Olgunlaşmamış arpa embriyolarında yapılan başka bir rejenerasyon çalışmasında da Golden Promise çeşidinin transformasyon çalışmalarında kullanılabilecek yüksek rejenerasyon yeteneğine sahip bir arpa çeşidi olduğu belirtilmiştir (Dahleen ve Bregitzer, 2002). Bazı ticari arpa çeşitlerinde (Morex, Harrington ve Hector) yapılan bir araştırmada ise, genotipe özel uygulamaların geliştirilmesinin etkili ve sürdürülebilir bir rejenerasyon sistemi için gerekli olduğu vurgulanmıştır (Bregitzer ve ark., 1998).

Rejenerasyon yeteneği yüksek kallusların elde edilmesi ise %85-100 oranında genotip ve bitki büyüme düzenleyicilerinin interaksiyonuna bağlıdır (Serhantova ve ark., 2004). Bregitzer (1992), Golden Promise çeşidini kullanarak yaptığı bir çalışmada embriyogenik kallus oluşumunda genotip x hormon etkileşiminin önemli olduğunu

belirtmiştir. Ayrıca altı arpa genotipinin kullanıldığı embriyogenik kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu çalışmasında, kallus ve sürgün oluşumu ile rejenerasyon yeteneğinin başarısının genotipe, kullanılan bitki büyüme düzenleyicisi ve genotip x bitki büyüme düzenleyicisi etkileşimine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (Hussein ve ark., 2004).

Etkili rejenerasyon sistemlerinin oluşturulmasına yönelik çalışmalar sayesinde, gen aktarım tekniklerinde yararlanmak üzere üretilen kalluslar gen transfer tekniklerinde kullanılmaktadır. Arpada gen aktarım frekansını arttırmaya yönelik çalışmalarda aktif bölünen ve rejenerasyon yeteneği yüksek kalluslar kullanılarak, verim ve kaliteyi arttırmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Arpada yapılan transformasyon çalışmalarında daha çok partikül bombardıman ve *Agrobacterium tumefaciens* aracılığı ile gen aktarım tekniği kullanılmaktadır. Golden Promise çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarının kullanıldığı bir çalışmada, elde edilen kalluslara partikül bombardıman tekniği uygulanarak fertil transgenik bitkiler elde edilmiştir (Wan ve Lemaux, 1994). Olgunlaşmamış embriyoların kullanıldığı başka bir araştırmada da yine partikül bombardıman tekniğini kullanılarak fertil transgenik arpalar elde edilmiştir (Ritala ve ark., 1994). Monaharan ve Dahleen (2002), partikül bombardıman tekniğini kullanılarak arpada herbisite dirençli transgenik bitkiler elde etmişlerdir. Golden Promise çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarının kullanıldığı bir başka çalışmada da higromisin antibiyotikine dirençli fertil transgenik bitkiler elde edilmiştir (Hagio ve ark., 1995). Arpada *Agrobacterium tumefaciens* aracılığıyla yapılan bir transformasyon çalışmasında explant kaynağı olarak olgunlaşmamış Golden Promise embriyoları kullanılmış ve Golden Promise çeşidinin *Agrobacterium*'a dayalı gen transferi ve transgenik bitki üretimi için son derece yatkın bir çeşit olduğunu belirtmişlerdir (Hansel ve ark., 2008). Arpada olgunlaşmamış embriyolar kullanılarak yapılan bir başka transformasyon çalışmasında ise; Golden Promise çeşidinin transformasyon etkisinin, çalışmada kullanılan diğer kültür çeşitlerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Marthe ve ark., 2015).

Arpada gen aktarım frekansını arttırmaya yönelik yapılan çalışmaların başarısını, etkin ve sürdürülebilir bir kallus oluşumu ve bitki rejenerasyon sistemlerinin varlığı olumlu yönde etkilemektedir. Yapılacak çalışmalarda bu amaçla kullanılacak arpa genotiplerinin doku kültürüne verdiği tepkilerin ve rejenerasyon kapasitesi bakımından

optimum koşulların belirlenmesi, transgenik teknolojisinin etkili kullanımından önce gerçekleştirilmelidir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. MATERYAL

Bu çalışmada, Türkiye’de üretimi yapılan 18 arpa çeşidi (Çizelge 3.1) ile birlikte dünyada doku kültürü çalışmalarında standart olarak kullanılan Golden Promise çeşidi kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan Türk çeşitleri; Tokak 157/37, Cumhuriyet 50, Bülbül 89, Tarm-92, Efes-3, Yesevi 93, Orza 96, Kalaycı-97, Kırıl-97, Anadolu 98, Efes 98, Şerifehanım 98, Angora, Çetin 2000, Çumra 2001, Çatalhöyük 2001, Aydanhanım ve Zeynel Ağa’dır.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan arpa çeşitleri ve tescil edildiği yerler

No	Çeşit Adı	Başak Yapısı	Tescil Edildiği Yer
1	Tokak 157/37	İki sıralı	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
2	Cumhuriyet 50	İki sıralı	Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd.
3	Bülbül 89	İki sıralı	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
4	Tarm-92	İki sıralı	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
5	Efes-3	İki sıralı	Anadolu Biracılık Malt ve G. Sn. A. Ş.
6	Yesevi 93	İki sıralı	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
7	Orza 96	İki sıralı	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
8	Kalaycı-97	İki sıralı	Anadolu Tarımsal Arş. Ens. Müd.
9	Kırıl-97	Altı sıralı	Bahri Dağdaş Ulus. Tar. Ar. Ens. Müd.
10	Anadolu 98	İki sıralı	Anadolu Biracılık Malt ve G. Sn. A. Ş.
11	Efes 98	İki sıralı	Anadolu Biracılık Malt ve G. Sn. A. Ş.
12	Şerifehanım 98	İki sıralı	Ege Tarımsal Arş. Ens. Müd.
13	Angora	İki sıralı	Anadolu Biracılık Malt ve G. Sn. A. Ş.
14	Çetin 2000	Altı sıralı	Tarla Bitkileri Mrk Arş. Ens. Müd.
15	Çumra 2001	İki sıralı	Anadolu Efes Bir. ve Malt San. A. Ş.
16	Çatalhöyük 2001	İki sıralı	Anadolu Efes Bir. ve Malt San. A. Ş.
17	Aydanhanım	İki sıralı	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
18	Zeynel Ağa	İki sıralı	Tarla Bitkileri Mrk. Arş. Ens. Müd.
19	Golden Promise	İki sıralı	İngiltere

## 3.2. YÖNTEM

Çalışma, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Moleküler Biyoteknoloji ve Doku Kültürü Laboratuvarı'nda ve serasında yürütülmüştür.

### 3.2.1. Embriyo Kültüründe Kullanılacak Bitkilerin Yetiştirilmesi

Embriyo kültüründe kullanılacak bitkiler gündüz 18-22 °C sıcaklık ve 16 saat ışık, gece 14-16 °C sıcaklıkta ve 8 saat karanlıkta kontrollü sera şartlarında tutulmuşlardır (Şekil 3.1). Bitkiler 3 litrelik saksılarda  $\frac{1}{4}$  yanmış ahır gübresi,  $\frac{1}{4}$  perlit,  $\frac{1}{4}$  torf ve  $\frac{1}{4}$  toprak karışımında yetiştirilmiştir. Her saksıya 1 adet bitki olacak şekilde, her arpa çeşidinden 10 bitki yetiştirilmiştir. Bitkiler Hoagland besin çözeltisi ile gübrenlenmiştir (Çavuşoğlu ve ark., 2007). Bitkiler döllendikten 16-20 gün sonra, başaklar embriyo kültüründe kullanılmak üzere hasat edilmiştir.



Şekil 3.1. Kontrollü sera şartlarında yetiştirilen arparın, olgunlaşmamış embriyo kültürü için uygun dönemdeki başaklarına ait bir görünüm

### 3.2.2. Sterilizasyon İşlemleri

Sterilizasyon in vitro koşullarda yapılan çalışmalarda önemli bir işlemdir. Serada yetiştirilecek bitkilerin, besin ortamının, petri kaplarının, çalışılacak ortamın ve alet-ekipmanın steril olması oldukça önemlidir.

Kullanılan besin ortamlarının sterilizasyonu otoklavda 121 °C'de 1,1 atm basınç altında yapılmıştır (Seyrani, 2006). Embriyo kültürünün yapıldığı Laminar akış kabini kullanımdan en az 2 saat önce çalıştırılmaya başlanmıştır ve çalıştırmadan önce kabinin iç yüzeyleri %70'lik etil alkol ile temizlenmiştir. Kullanılan aletler (bisturi, pens vb.) kullanmadan önce etil alkol ile muamele edilip sonra alkol alevine tutularak steril hale getirilmiştir (Babaoğlu ve ark., 2002).

Kontrollü sera şartlarında yetiştirilen arpa çeşitlerinden uygun dönemde aldığımız olgunlaşmamış embriyolar önce %70'lik etil alkol içerisinde 1 dakika, hafifçe karıştırılarak sterilize edilmiştir. Daha sonra %1 Tween-20 içeren %20'lik ticari çamaşır suyu (sonuç çözelti konsantrasyonu yaklaşık %1 sodyum hipoklorit) çözeltisinde 15 dakika yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuş (Bürün ve Poyrazoğlu, 2002) ve laminar akış kabini içerisinde 3-4 kez steril saf su ile durulanmıştır.

### 3.2.3. Embriyo Kültürü İçin Besi Ortamının Hazırlanması

Kültür ortamı olarak farklı oksin hormonları içeren ticari hazırlanmış MS (Murashige ve Skoog, 1962) salt karışımı (Murashige ve Skoog Basal Salt Mixture, Sigma-Aldrich: M5524) kullanılmıştır. Hazırlanan ortamın pH'sı 5,8 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra bu ortamlar sterilizasyon işlemin ardından 10 cm'lik petri kaplarına dökülmüş (Şekil 3.2) ve katılaşmaya kadar steril kabinde bekletilmiştir (Ahmet ve Adak, 2007).

Besi ortamı içeriği Çizelge 3.2'de verilmiştir. Dahleen (1995), arpada yaptığı bir çalışmada besi ortamında  $CuSO_4$  kullanımının kallus oluşumunu ve rejenerasyonu

olumlu yönde etkilediğini belirtmiştir. Yaptığımız bu çalışmada besi ortamına Çizelge 3.2’de belirtilen miktarda  $\text{CuSO}_4$  ilave edilmiştir.

Çizelge 3.2. Modifiye Murashige ve Skoog (MS) ortamı

<b>Kimyasallar</b>	<b>Miktarlar</b>
MS Salt (Sigma-Aldrich: M5524)	4,31 g/l
Sucrose	30 g/l
Thiamine	1 mg/l
Nicotinic acid	500 $\mu\text{g/l}$
Pyridoxine	500 $\mu\text{g/l}$
Myo-inositol	250 $\mu\text{g/l}$
Phytigel/Gelrite	3 g
$\text{CuSO}_4$	1,245 mg/l
$\text{H}_3\text{BO}_3$	40,15 mg



Şekil 3.2. Embriyo kültürü için hazırlanan besi ortamları

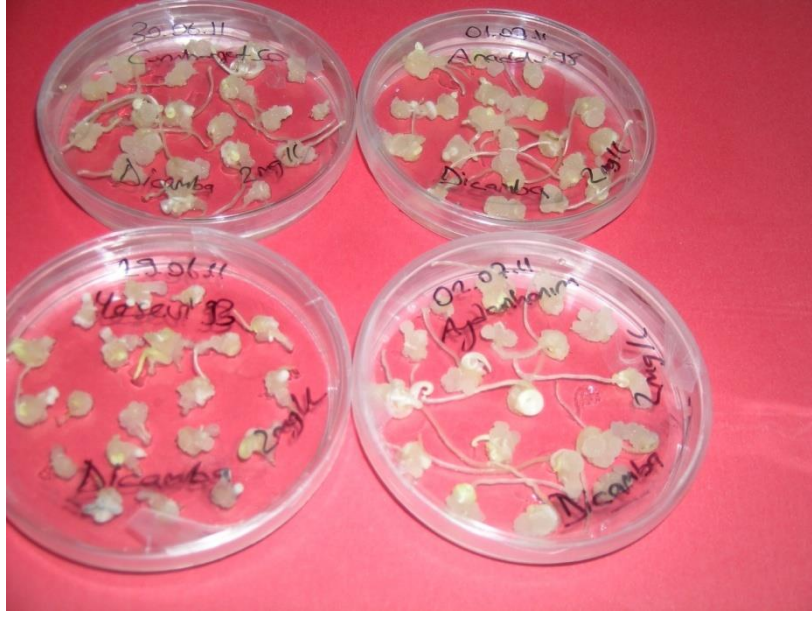
Embriyo kültürü için hazırlanan MS ortamlarında dört farklı oksin hormon tipi [2,4-D (2,4-dichlorophenoxy asetik asit), dicamba (3,6-dichloro-o-anisic acid), NAA (1-naphthalene asetik asit) ve IAA (indol-3-asetik asit)] kullanılmıştır. Oksin hormonları doku kültürü ortamlarına 3 mg/l (Zapata ve ark., 2004) düzeyinde uygulanmıştır. Her hormon  tekrarlamalı olarak incelenmiştir.

### 3.2.4. Olgunlaşmamış Arpa Embriolarından Kallus Elde Edilmesi

Olgunlaşmamış embriyolar sterilizasyon işleminden sonra, kullanıma hazır hale getirilen laminar akış kabininde steril pens ve bisturi yardımıyla tohumdan ayrılmıştır (şekil 3.3). İzole edilen embriyolar, kallus gelişimini teşvik etmek amacıyla embriyo eksenini boyunca kesilerek ve bir petri kabına 20 parça (10 adet embriyo) yarım embriyo skutellum üst kısıma gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Embriyoların kültüre alınmasından 21 gün sonra gelişen kalluslardan (şekil 3.4) bitki rejenerasyonu sağlamak amacıyla bir alt kültür yapılmıştır. Her uygulama için bir petri kabı bir tekerrür oluşturmuştur ve her uygulama  kez tekrarlanmıştır. Kallus gelişimi sonrası yapılan alt kültür esnasında her petri kabına 10 adet kallus parçası (yaklaşık ½ cm çapında) konulmuştur. Kültürler, kallus gelişimi için  $25 \pm 2$  °C sıcaklık şartlarında ve karanlıkta tutulmuştur.



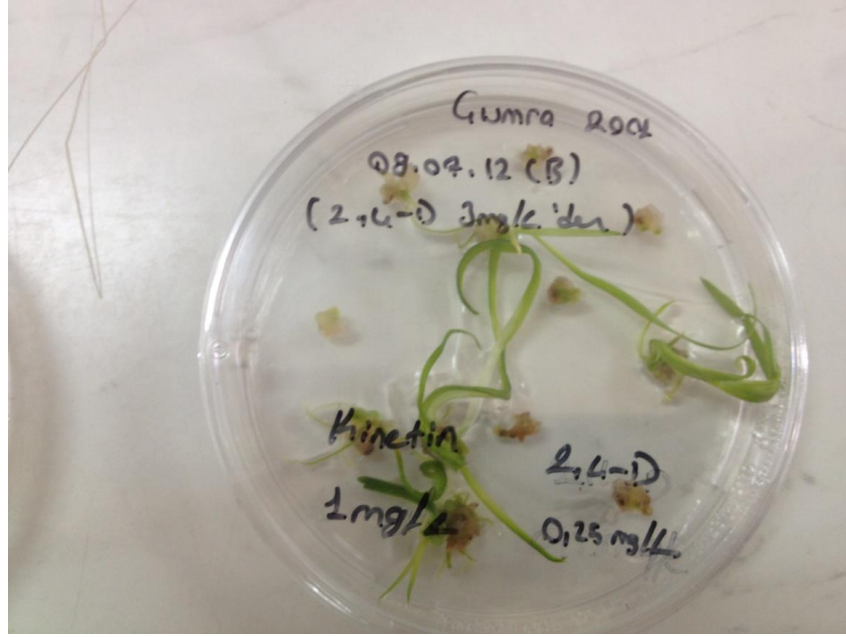
şekil 3.3. Sterilizasyon işlemine tabi tutulmuş arpa tohumlarının pens ve bisturi yardımıyla embriyodan izole edilmesi işlemi



Şekil 3.4. Olgunlaşmamış arpa embriyolarından geliştirilen kalluslara ait bir görünüm

### 3.2.5. Kalluslardan Bitki Rejenerasyonu

Kalluslardan bitki rejenerasyonu için olgunlaşmamış arpa embriyolarından elde edilen kalluslar kullanılmıştır. Embriyolardan elde edilen kalluslar doğrudan veya ikinci alt-kültür yapıldıktan sonra 1 mg/l kinetin (sitokinin) ve 0,25 mg/l 2,4-D (oksin) içeren besi ortamında sürgün gelişimine teşvik edilmiştir (Şekil 3.5). Sürgün rejenerasyonu için besi ortamları, yaklaşık 18-20 °C gündüz (16 saat ışık) ve 14-16 °C gece (8 saat karanlık) şartlarında tutulmuştur (Koyuncu, 2008).



Şekil 3.5. Kalluslardan sürgün gelişimi

### 3.2.6. Oluşan Sürgünlerin Geliştirilmesi ve Köklendirilmesi

Gelişen sürgünler 2 cm boya ulaştıklarında fide gelişimini ve köklenmeyi sağlamak için hormonsuz MS ortamı içeren magenta kaplarına aktarılmıştır (Şekil 3.6). Yaklaşık 8-10 cm boya gelen köklenmiş fideler 2-3 cm torf içeren suya doyurulmuş saksılara şaşırtılmıştır. Toprak içeren saksılara şaşırtılan fidelerin üzeri streç film ile kapatılarak ve ilk iki gün su spreyleyerek nispi nem artırılmıştır. Daha sonra spreyleme durdurulmuş ve üçüncü günden itibaren streç filmde küçük delikler açılmıştır. 4. ve 5. gün bu delikler büyütülmüş ve altıncı gün ise streç film tamamen kaldırılarak iklimlendirme tamamlanmıştır.



Şekil 3.6. Sürgünlerin geliştirilmesi ve köklendirilmesi

### 3.2.7. Çalışmada İncelenen Özellikler

**3.2.7.1. Kallus oluşum oranı (%):** Embriyolar kültüre alındıktan 20 gün sonra kallus oluşturan eksplantların % olarak oranı şeklinde belirlenmiştir.

**3.2.7.2. Embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı (mg):** Kallus üreten embriyolardaki toplam kallus ağırlığı kallus üreten embriyo sayısına bölünerek belirlenmiştir.

**3.2.7.3. Alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı (mg):** Alt-kültür yapıldıktan sonra üretilen toplam kallus ağırlığının alt-kültür yapılan parça sayısına oranı ile belirlenmiştir.

**3.2.7.4. Rejenerasyon oranı (%):** Embriyolardan elde edilen kalluslar rejenerasyon ortamına konduklarında elde edilen toplam sürgün sayısının rejenerasyon ortamına yerleştirilen embriyo parçası sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

**3.2.7.5. Alt-kültürden sonra rejenerasyon oranı (%):** Alt kültürden sonra elde edilen kalluslar rejenerasyon ortamına konduklarında elde edilen toplam sürgün sayısının rejenerasyon ortamına yerleştirilen kallus parçası sayısına oranı ile belirlenmiştir.

**3.2.7.6. Embriyo orijinli kalluslardan elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı (%):** Embriyodan elde edilen kalluslardan elde edilen ve toprağa başarı ile şaşırtılan bitki sayısının kallus veren embriyo sayısına oranı ile hesaplanmıştır.

**3.2.7.7. Alt-kültürden elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı (%):** Alt-kültürlerden elde edilen kalluslardan geliştirilen ve toprağa başarı ile şaşırtılan bitki sayısının kallus veren embriyo sayısına oranı ile belirlenmiştir (Seyrani, 2006).

### **3.2.8. Deneme Deseni ve Verilerin Değerlendirilmesi**

Çalışma tesadüf parsellerinde faktöriyel deneme desenine uygun olarak yürütülmüştür. Tüm istatistikî analizlerde MSTAT istatistiksel analiz programı kullanılmıştır (Freed ve Eisensmith, 1986). % oranlar açı transformasyonuna tabi tutularak istatistik analiz yapılmış orijinal değerleri verilmiştir. Ortalamalar arası farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmada kallus oluşturmak amacıyla aynı dozlarda dört farklı oksin hormon tipi kullanılmıştır. Fakat IAA neredeyse hiç kallus üretmemesi nedeniyle istatistik analizden ve diğer değerlendirmelerden çıkarılmıştır.

### 4.1. Kallus Oluşum Oranı (%)

Çeşitler ve oksin tipleri arasında kallus oluşum oranı (%) bakımından farklılıklar istatistiksel anlamda  $P < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). İstatistiksel değerlendirmeye alınan oksin tipleri bakımından en yüksek kallus oluşum oranı %96,47 ile dicambadan elde edilmiş, bunu %86,74 oranıyla 2,4-D ve %32,32 ile NAA takip etmiştir (Çizelge 4.2). Çalışmamızda elde ettiğimiz kallus oluşturma oranının dicambadan 2,4-D'ye göre daha iyi sonuç alındığı bulgusu Halamkova ve ark., (2004) tarafından da bildirilmiştir.

Çeşit ortalamalarına göre Angora çeşidi %80,59 ile en yüksek kallus oluşum oranına sahipken, %56,70 ve %56,91 sırasıyla Kalaycı-97 ve Orza 96 en düşük kallus oluşumu göstermiştir (Çizelge 4.2). Angora çeşidini sırasıyla Zeynel Ağa, Cumhuriyet 50, Çatalhöyük 2001 ve Bülbül 89 çeşitleri takip etmiştir. Türkiye'de üretimi yapılan bazı çeşitlerde kallus oluşum oranının standart çeşit olarak kullanılan Golden Promise (Bregitzer ve Poulson, 1995) çeşidinden istatistiksel anlamda daha yüksek olması dikkat çekicidir.

Kallus oluşum oranı bakımından çeşit ve oksin hormon tipleri arasındaki interaksiyon önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1). Bu interaksiyon çeşitlerin farklı hormon tiplerine verdikleri tepki seviyesi farkından kaynaklanmıştır. 2,4-D ve dicamba hormonlarının sağladığı ortalama kallus oluşum oranları arasında tüm çeşitlerin ortalaması olarak %10'luk bir fark bulunmasına rağmen, Orza 96 çeşidinde bu iki hormon arasındaki fark

%40 olmuş, Efes 98 çeşidinde %26 ve Çumra 2001 çeşidinde ise %20 civarında gerçekleşmiştir (Çizelge 4.2). Öte yandan Çatalhöyük 2001, Tokak 157/37, Bülbül 89, Tarm-92, Kırıl-97, Şerifehanım 98, Angora, Zeynel Ağa ve Golden Promise çeşitlerinde ise bu fark neredeyse ortadan kalkmıştır.

Çizelge 4.1. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının kallus oluşum oranına (%) etkisine ait varyans analiz tablosu

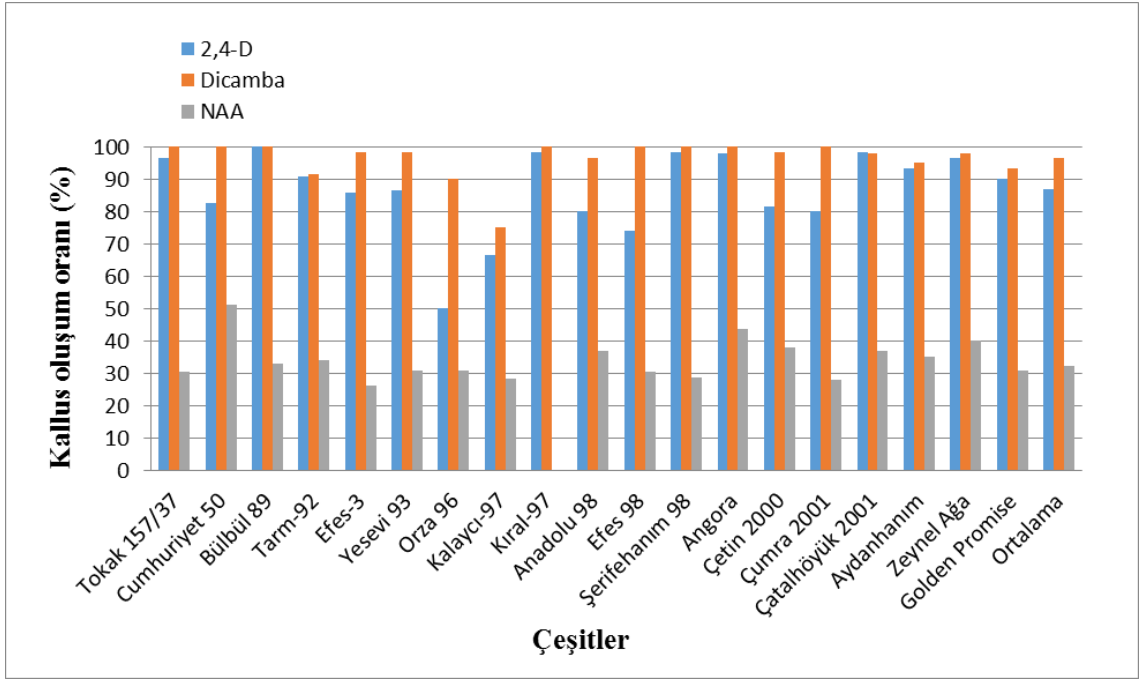
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit	18	6617,0	367,61	6,71**
Oksin	2	79630,7	39815,34	726,59**
Çeşit x oksin int.	36	9336,4	259,35	4,73**
Hata	114	6247,0	54,80	
Genel	170	101831,1		

\*\* %1 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.2. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının kallus oluşum oranına (%) etkisi

Çeşitler	Oksin hormonları				Ortalama
	2,4-D	Dicamba	NAA		
Tokak 157/37	96,67 AB**	100,00 A	30,48 H		75,71 A-D**
Cumhuriyet 50	82,63 B-E	100,00 A	51,17 FGH		77,93 A-D
Bülbül 89	100,00 A	100,00 A	32,93 H		77,64 AB
Tarm-92	90,83 A-E	91,67 A-D	34,03 H		72,18 A-D
Efes-3	85,97 A-E	98,33 AB	26,32 H		70,21 A-D
Yesevi 93	86,67 B-E	98,33 AB	30,93 H		71,98 A-D
Orza 96	50,00 FGH	90,00 A-E	30,74 H		56,91 E
Kalaycı-97	66,67 EFG	75,00 DEF	28,43 H		56,70 E
Kıral-97	98,33 AB	100,00 A	0,00 I		66,11 DE
Anadolu 98	80,00 CDE	96,67 AB	37,04 GH		71,23 A-D
Efes 98	73,90 DEF	100,00 A	30,53 H		68,14 BCD
Şerifehanım 98	98,23 AB	100,00 A	28,70 H		75,64 A-D
Angora	98,13 AB	100,00 A	43,60 GH		80,59 A
Çetin 2000	81,67 B-E	98,33 AB	37,97 GH		72,66 A-D
Çumra 2001	80,00 B-E	100,00 A	28,07 H		69,36 A-D
Çatalhöyük 2001	98,33 AB	98,15 AB	36,78 GH		77,76 ABC
Aydanhanım	93,33 ABC	95,00 ABC	35,22 H		74,51 A-D
Zeynel Ağa	96,67 AB	98,15 AB	40,16 GH		78,32 ABC
Golden Promise	90,00 A-E	93,25 A-D	30,90 H		71,38 CD
Ortalama	86,74 B**	96,47 A	32,32 C		

\*\* %1 düzeyinde önemlidir. Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsizdir.



Şekil 4.1. Çeşit x farklı oksin hormonlarının kallus oluşum oranına (%) etkisi

#### 4.2. Embriyo Başına Ortalama Kallus Üretim Miktarı (mg)

Embriyo başına ortalama kallus üretim miktarları (mg) bakımından çeşitler ve oksin tipleri arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda  $P < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3). Değerlendirmeye alınan üç oksin tipi arasında hormon ortalamaları bakımından en yüksek değeri 101,40 mg ile dicamba vermiştir. Onu 74,72 mg ile 2,4-D izlemiş ve en düşük değer 37,19 mg ile NAA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Yüksek kallus üretiminde dicambanın daha etkili bir oksin tipi olduğu başka araştırmacılar tarafından da belirtilmiştir (Satyavathi ve ark., 2004).

Çeşit ortalamaları olarak en iyi sonucu 91,78 mg ile Çetin 2000 çeşidi vermiştir (Çizelge 4.4). Çumra (87,67 mg), Tokak 157/37 (87,56 mg), Orza 96 (79,78 mg), Efes 98 (78,33 mg) çeşitleri de sırasıyla takip etmektedir. Kalaycı-97 ise 47,33 mg ile en düşük ortalama kallus üretim miktarına sahip olmuştur. Kallus oluşum oranında olduğu gibi embriyo başına ortalama kallus üretim miktarında da, Türkiye'de üretimi yapılan

çeşitlerin birçoğu standart çeşit olarak kullanılan Golden Promise (Bregitzer ve Poulson, 1995) çeşidinden istatistiksel anlamda daha yüksek miktarda kallus üretmiştir.

Çeşit ve oksin hormon tipleri arasındaki interaksiyon önemli bulunmuştur (Çizelge 4.3). Bu interaksiyon çeşitlerin farklı hormon tiplerine verdikleri tepki farklılıklarından kaynaklanmıştır. Kallus üretim miktarı bakımından 2,4-D ve dicamba hormonlarının ortalamaları arasında 25 mg'lık bir fark bulunmasına rağmen, Tokak 157/37 ve Orza 96 da bu fark 80 mg'ın, Bülbül 89, Anadolu 98, Çatalhöyük 2001 ve Golden Promise çeşitlerinde de 50 mg'ın üzerindedir. Öte yandan Tarm 92, Çetin 2000 ve Zeynel Ağa çeşitlerinde ise hemen hemen fark bulunmamaktadır. Cumhuriyet 50, Tarm-92, Angora, Çetin 2000 ve Aydanhanım çeşitlerinin ise, 2,4-D'ye dicambadan daha yüksek tepki verdiği görülmektedir.

Çizelge 4.3. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisine ait varyans analiz tablosu

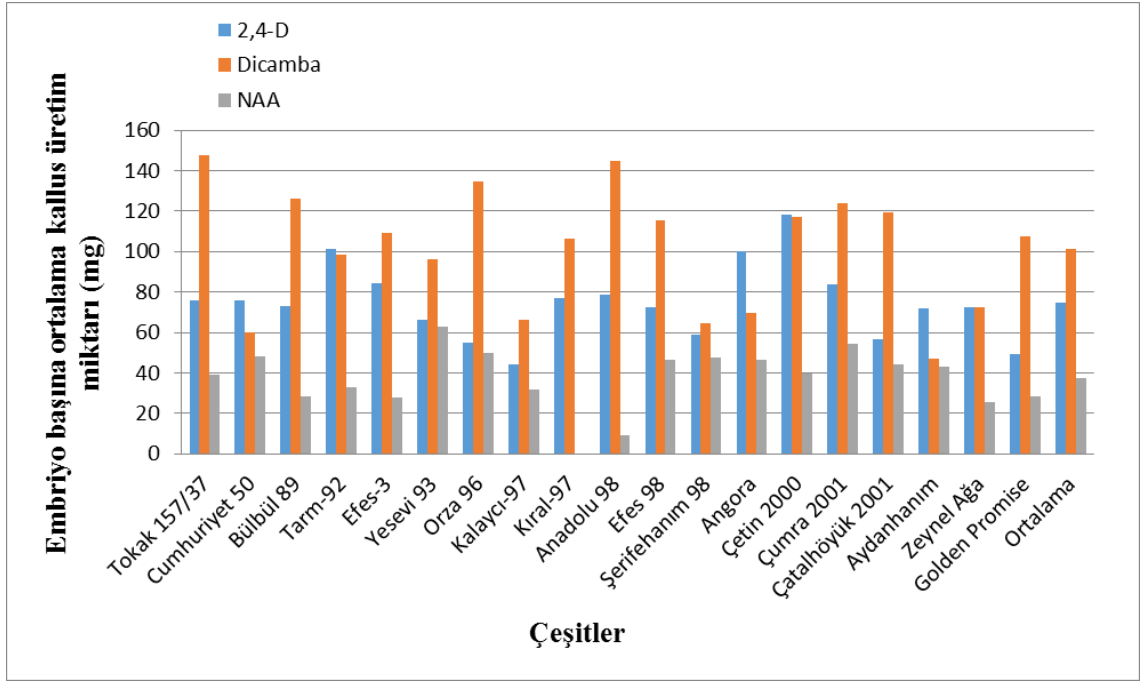
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareler ortalaması	F değeri
Çeşit	18	24909,8	1383,88	4,29**
Oksin	2	118563,3	59281,66	183,79**
Çeşit x oksin int.	36	54716,9	1519,91	4,71**
Hata	114	36770,0	322,54	
Genel	170	234960,0		

\*\* %1 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.4. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisi

Çeşitler	Oksin hormonları			
	2,4-D	Dicamba	NAA	Ortalama
Tokak 157/37	75,80 E-O**	147,50 A	39,17 M-S	87,56 AB**
Cumhuriyet 50	75,75 E-O	60,10 J-Q	48,21 M-R	61,33 CD
Bülbül 89	73,13 F-P	126,20 A-D	28,30 O-S	75,89 ABC
Tarm-92	101,30 B-K	98,25 C-K	32,85 N-S	77,44 ABC
Efes-3	84,27 D-M	108,90 A-I	27,84 P-S	73,33 ABC
Yesevi 93	66,03 I-Q	96,37 C-L	62,90 I-Q	75,11 ABC
Orza 96	55,07 K-R	134,60 ABC	49,56 L-R	79,78 ABC
Kalaycı-97	44,35 M-S	66,24 I-Q	31,89 N-S	47,33 D
Kıral-97	77,24 E-N	106,40 A-J	0,00 S	61,11 CD
Anadolu 98	78,57 E-N	144,50 AB	8,97 RS	77,33 ABC
Efes 98	72,56 F-Q	115,60 A-H	46,72 M-R	78,33 ABC
Şerifehanım 98	58,64 K-Q	64,50 I-Q	47,59 M-R	57,00 CD
Angora	99,95 B-K	69,89 H-Q	46,24 M-R	72,00 A-D
Çetin 2000	118,30 A-F	117,07 A-G	39,65 M-S	91,78 A
Çumra 2001	83,68 D-M	124,10 A-D	54,63 K-R	87,67 AB
Çatalhöyük 2001	56,40 K-Q	119,20 A-E	44,34 M-S	73,44 ABC
Aydanhanım	71,90 G-Q	47,00 M-R	43,05 M-S	54,00 CD
Zeynel Ağa	72,40 F-Q	72,61 F-Q	25,30 QRS	56,89 CD
Golden Promise	49,23 L-R	107,40 A-I	28,53 O-S	61,89 BCD
Ortalama	74,42 B**	101,40 A	37,19 C	

\*\* %1 düzeyinde önemlidir. Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsizdir.



Şekil 4.2. Çeşit x farklı oksin hormonlarının embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisi

#### 4.3. Alt-Kültürden Sonra Embriyo Başına Ortalama Kallus Üretim Miktarı (mg)

Çeşitler ve oksin tipleri arasında alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı (mg) bakımından istatistiksel anlamda önemli farklılıklar ( $P < 0,01$ ) bulunmuştur (Çizelge 4.5). Alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına bakıldığında, hormon ortalamaları bakımından 2,4-D ortalama 92,84 mg ile en yüksek değere sahiptir. Onu 84,51 mg ile dicamba ve 50,65 mg ile NAA takip etmektedir.

Çeşit ortalamalarına olarak Tokak 157/37, 106,90 mg kallus üretim miktarı ile en yüksek değere sahiptir (Çizelge 4.6). Arpada gen aktarım frekansını artırılmasına yönelik bir çalışmada da, Tokak varyetesinin 4 mg dicamba içeren MS besisi ortamında kallus oluşturan ortalama embriyo sayısının daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Karakaş, 2005). Bunu sırasıyla; Bülbül 89 (97,44 mg), Efes-3 (95,89 mg), Golden Promise (91,67 mg), Çumra 2001 (91,00 mg) ve Anadolu 98 (89,44 mg) çeşitleri takip

etmiştir. Kalaycı-97 çeşidi ise 35,44 mg ile çeşit ortalamaları bakımından en düşük değere sahiptir.

Çeşit x farklı oksin hormonlarının interaksyonu önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). Bazı çeşitlerde 2,4-D daha yüksek alt kültür sonrası kallus üretimi sağlarken (Cumhuriyet 50, Yesevi 93, Efes 98, Angora, Çumra 2001, Aydanhanım ve Golden Promise) bazı çeşitlerde dicamba daha yüksek değerler sağlamıştır (Tokak 157/37, Bülbül 89, Tarm-92, Orza 96, Anadolu 98 ve Çetin 2000), bazı çeşitlerde ise iki oksinin etkileri benzer düzeyde olmuştur (Efes 3, Kalaycı-97, Kırıl-97, Şerifehanım 98, Çatalhöyük 2001 ve Zeynel Ağa). NAA'da ise bazı çeşitler (Kırıl-97, Aydanhanım, Kalaycı-97 ve Çetin 2000) çok düşük değerler vermiştir. Bu farklılıklar interaksyonların önemli çıkmasında etkili olmuştur.

Çizelge 4.5. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisine ait varyans analiz tablosu

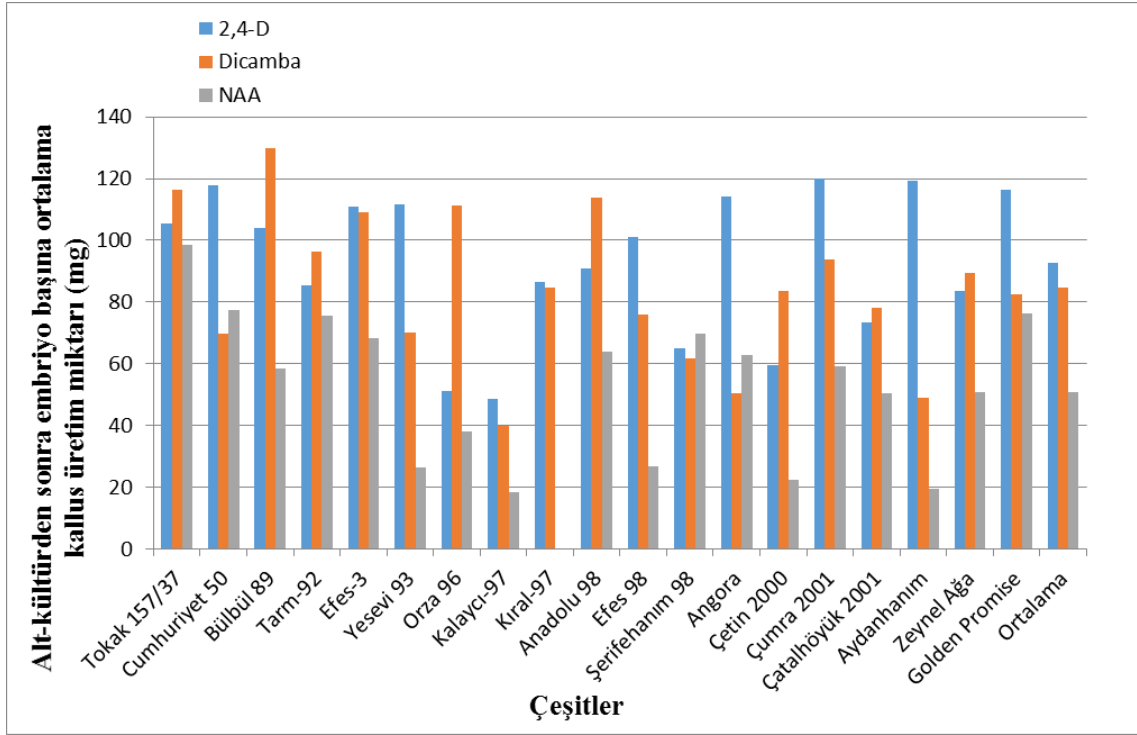
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareleri ortalaması	F değeri
Çeşit	18	51276,2	2848,68	10,39**
Oksin	2	56927,2	28463,60	103,86**
Çeşit x oksin int.	36	48771,9	1354,78	4,94**
Hata	114	31242,7	274,06	
Genel	170	188218,0		

\*\* %1 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.6. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisi

Çeşitler	Oksin hormonları			Ortalama
	2,4-D	Dicamba	NAA	
Tokak 157/37	105,30 A-H**	116,50 A-D	98,62 A-J	106,90 A**
Cumhuriyet 50	117,80 A-D	69,85 F-N	77,38 B-N	88,22 A-E
Bülbül 89	104,00 A-I	130,00 A	58,44 J-Q	97,44 AB
Tarm-92	85,30 B-L	96,18 A-J	75,39 D-N	85,67 A-F
Efes-3	110,80 A-G	109,10 A-G	68,45 G-O	95,89 AB
Yesevi 93	111,50 A-G	69,93 F-N	26,42 O-R	69,22 C-G
Orza 96	51,33 K-Q	111,10 A-F	37,90 N-R	67,22 D-G
Kalaycı-97	48,64 L-Q	39,71 M-R	18,29 QR	35,44 H
Kıral-97	86,67 B-L	84,75 B-L	0,00 R	57,11 G
Anadolu 98	90,76 A-L	113,90 A-E	63,88 H-P	89,44 A-D
Efes 98	101,10 A-J	75,89 D-N	26,73 O-R	67,67 D-G
Şerifehanım 98	65,14 H-P	61,70 I-P	69,79 F-N	65,44 EFG
Angora	114,10 A-E	50,54 K-Q	62,75 H-P	75,89 B-G
Çetin 2000	59,55 J-Q	83,46 B-L	22,50 PQR	55,33 GH
Çumra 2001	120,20 AB	93,78 A-K	59,19 J-Q	91,00 ABC
Çatalhöyük 2001	73,27 E-N	78,17 B-N	50,24 K-Q	67,11 D-G
Aydanhanım	119,20 ABC	48,80 L-Q	19,53 QR	62,56 FG
Zeynel Ağa	83,53 B-L	89,58 A-L	50,93 K-Q	74,78 B-G
Golden Promise	116,30 A-E	82,42 B-M	76,18 C-N	91,67 ABC
Ortalama	92,84 A**	84,51 B	50,65 C	

\*\* %1 düzeyinde önemlidir. Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsizdir.



Şekil 4.3. Çeşit x farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarına (mg) etkisi

#### 4.4. Rejenerasyon Oranı (%)

Çeşitler ve oksin tipleri arasında rejenerasyon oranı bakımından istatistiksel anlamda önemli farklılıklar bulunmuştur ( $P<0,01$ ) (Çizelge 4.7). Rejenerasyon oranlarında, hormon ortalamaları bakımından %21,86 ile 2,4-D en yüksek, %6,25 ile NAA en düşük değeri almıştır. Arpada bitki rejenerasyonu bakımından 2,4-D'nin daha etkili olduğu yapılan başka rejenerasyon çalışmalarında da ortaya koyulmuştur (Vitanova ve ark., 1995; Zapata ve ark., 2004).

Çeşitlerin rejenerasyon oranları %0,00 ile %31,29 arasında değişmiştir (Çizelge 4.8). En yüksek değer %31,29 ile Golden Promise çeşidine aittir. Tarm-92 %25,92 ve Çatalhöyük 2001 %24,89 ortalama ile Golden Promise'yi takip eden çeşitler olmuştur. Orza-96 çeşidinden hiç rejenerasyon sağlamazken, Çetin 2000 çeşidi %1'in altında rejenerasyona sahip olmuştur.

Önemli olduğu belirlenen çeşit x farklı oksin hormonlarının interaksiyonunda 2,4-D'ye göre dicamba da daha yüksek rejenerasyon veren Aydanhanım çeşidi ile benzer tepkiler veren Tarm-92, Şerifehanım 98 ve Golden Promise çeşitleri etkili olmuş görünmektedir (Çizelge 4.8). Golden Promise çeşidinin üç oksin tipinde yüksek rejenerasyon oranına sahip olması da bu interaksiyonda etkili olmuş olabilir.

Çizelge 4.7. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının rejenerasyon oranına (%) etkisine ait varyans analiz tablosu

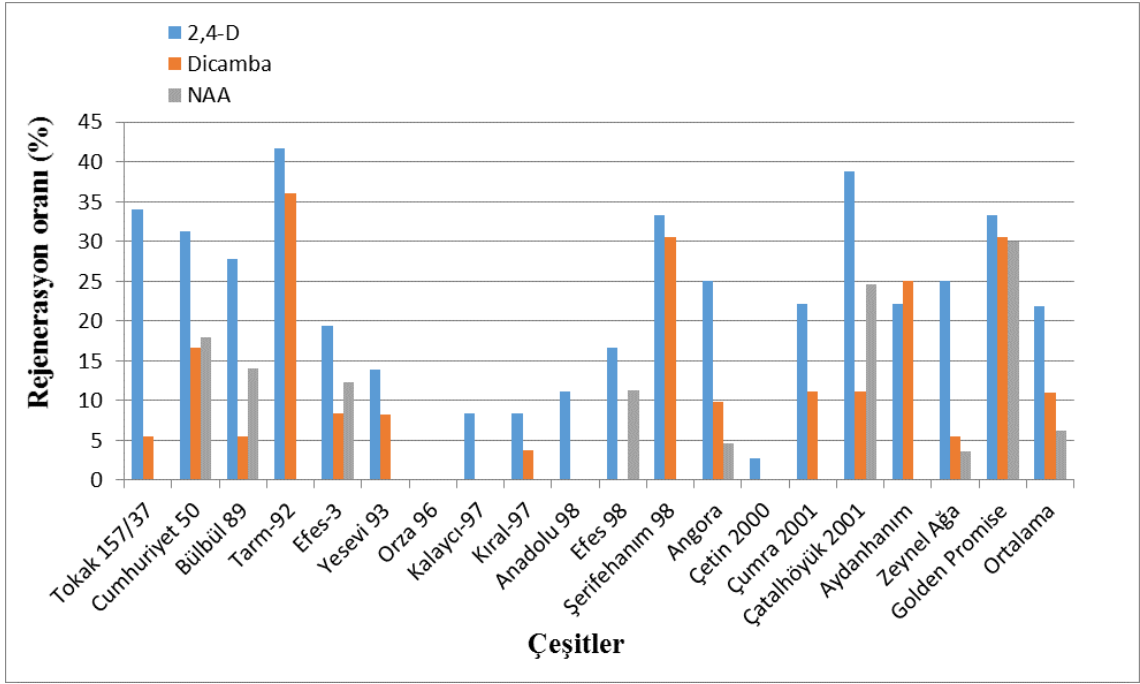
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareleri ortalaması	F değeri
Çeşit	18	13978,3	776,57	10,16**
Oksin	2	8475,7	4237,85	55,46**
Çeşit x oksin int.	36	7837,0	217,69	2,85**
Hata	114	8711,5	76,42	
Genel	170	39002,5		

\*\* % 1 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.8. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının rejenerasyon oranına (%) etkisi

Çeşitler	Oksin hormonları			Ortalama
	2,4-D	Dicamba	NAA	
Tokak 157/37	34,10 A-D**	5,53 E-H	0,00 H	13,21 BCD**
Cumhuriyet 50	31,33 A-E	16,67 A-H	18,00 A-G	22,00 AB
Bülbül 89	27,77 A-E	5,53 E-H	14,00 A-H	15,77 BC
Tarm-92	41,67 A	36,10 ABC	0,00 H	25,92 AB
Efes-3	19,47 A-G	8,33 C-H	12,33 B-H	13,38 BC
Yesevi 93	13,90 A-H	8,30 B-H	0,00 H	7,40 CDE
Orza 96	0,00 H	0,00 H	0,00 H	0,00 E
Kalaycı-97	8,33 D-H	0,00 H	0,00 H	2,78 DE
Kıral-97	8,33 E-H	3,70 FGH	0,00 H	4,01 DE
Anadolu 98	11,10 A-H	0,00 H	0,00 H	3,70 DE
Efes 98	16,67 A-H	0,00 H	11,33 B-H	9,33 CDE
Şerifehanım 98	33,30 A-D	30,53 A-E	0,00 H	21,28 ABC
Angora	25,00 A-F	9,90 C-H	4,67 FGH	13,19 BCD
Çetin 2000	2,77 GH	0,00 H	0,00 H	0,92 E
Çumra 2001	22,23 A-G	11,10 A-H	0,00 H	11,11 BCD
Çatalhöyük 2001	38,87 AB	11,13 B-H	24,67 A-F	24,89 AB
Aydanhanım	22,23 A-G	25,03 A-F	0,00 H	15,76 BC
Zeynel Ağa	25,03 A-F	5,53 E-H	3,67 FGH	11,41 BCD
Golden Promise	33,30 A-D	30,57 A-E	30,00 A-E	31,29 A
Ortalama	21,86 A**	10,95 B	6,25 C	

\*\* %1 düzeyinde önemlidir. Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsizdir.



Şekil 4.4. Çeşit x farklı oksin hormonlarının rejenerasyon oranına (%) etkisi

#### 4.5. Alt-Kültürden Sonra Rejenerasyon Oranı (%)

Çeşitler ve oksin tipleri arasında alt-kültürden sonra rejenerasyon oranı bakımından farklılıklar istatistiksel anlamda  $P < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9). Alt-kültürlerden sonra rejenerasyon oranı bakımından en yüksek değer %9,64 ile 2,4-D'den elde edilmiş, bu oksini %5,42 ile dicamba ve %2,20 ile NAA takip etmiştir (Çizelge 4.10). NAA oksini ile elde edilen kalluslar sadece dört çeşitte alt kültür sonrası rejenerasyon oluşturabilmiştir.

Çeşit ortalamaları bakımından karşılaştırdığımızda, Golden Promise çeşidinin %17,74 ile en yüksek alt kültürden sonra rejenerasyon oranına sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.10). Cumhuriyet 50 (%10,56), Çatalhöyük 2001 (%10,11) ve Şerifehanım 98 (%10,03) çeşitleri Golden Promise çeşidini izlemiştir.

Çeşit x farklı oksin hormonlarının interaksyonu da önemli bulunmuştur (Çizelge 4.9). Bu etkinin hormonların çeşitlere verdiği tepkinin etki şiddetinin farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Şerifehanım 98, Aydanhanım ve Golden Promise

çeşitlerinde dicambada, 2,4-D ortamından daha yüksek rejenerasyon oranına sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.9. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra rejenerasyon oranına (%) etkisine ait varyans analiz tablosu

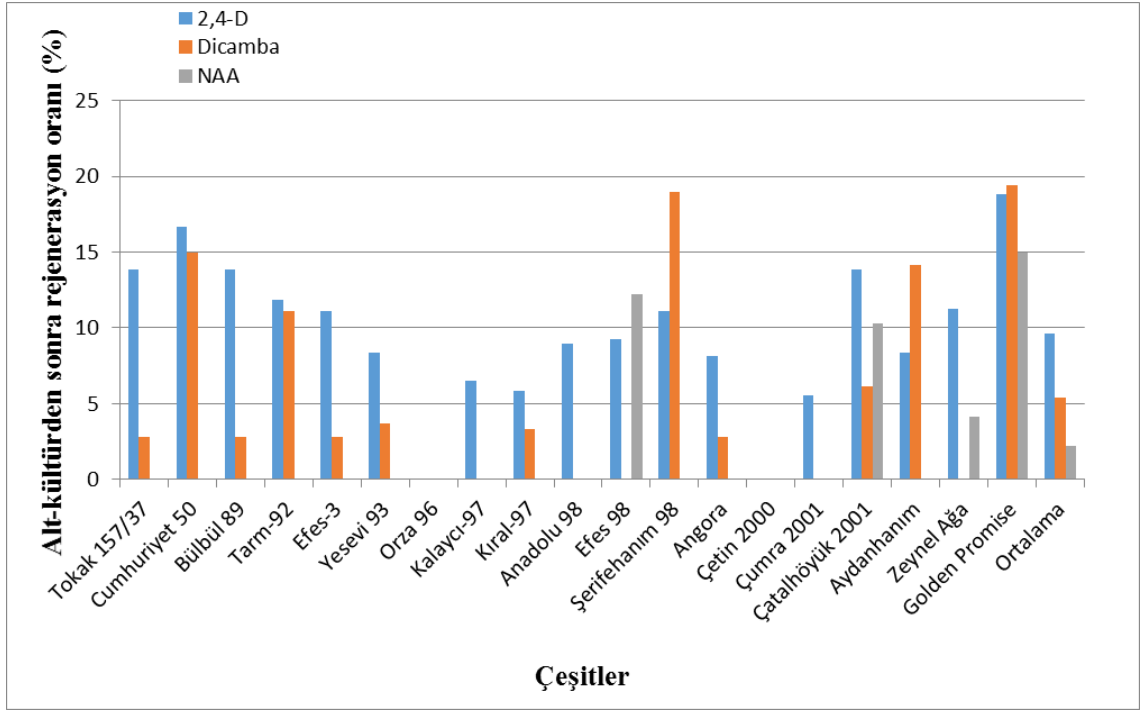
Varyasyon kaynağı	Serbestlik derecesi	Kareler toplamı	Kareleri ortalaması	F değeri
Çeşit	18	5635,2	313,07	5,90**
Oksin	2	4482,6	2241,28	42,21**
Çeşit x oksin int.	36	4037,5	112,15	2,11**
Hata	114	6053,8	53,10	
Genel	170	20209,0		

\*\* % 1 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.10. Arpa çeşitlerinde farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra rejenerasyon oranına (%) etkisi

Çeşitler	Oksin hormonları				Ortalama
	2,4-D	Dicamba	NAA		
Tokak 157/37	13,89 A-E**	2,78 DE	0,00 E		5,56 B-E**
Cumhuriyet-50	16,67 A-D	15,00 A-D	0,00 E		10,56 ABC
Bülbül-89	13,89 A-D	2,78 DE	0,00 E		5,56 B-E
Tarm-92	11,82 A-E	11,11 A-E	0,00 E		7,64 BCD
Efes-3	11,11 A-E	2,78 DE	0,00 E		4,63 B-E
Yesevi-93	8,33 A-E	3,70 B-E	0,00 E		4,01 B-E
Orza-96	0,00 E	0,00 E	0,00 E		0,00 E
Kalaycı-97	6,48 A-E	0,00 E	0,00 E		2,16 DE
Kıral-97	5,81 A-E	3,33 CDE	0,00 E		3,05 B-E
Anadolu-98	8,93 A-E	0,00 E	0,00 E		2,98 CDE
Efes-98	9,26 A-E	0,00 E	12,22 A-E		7,16 B-E
Şerifhanım-98	11,11 A-E	18,97 ABC	0,00 E		10,03 ABC
Angora	8,12 A-E	2,78 DE	0,00 E		3,63 B-E
Çetin-2000	0,00 E	0,00 E	0,00 E		0,00 E
Çumra-2001	5,55 A-E	0,00 E	0,00 E		1,85 DE
Çatalhöyük-2001	13,89 A-D	6,11 A-E	10,32 A-E		10,11 AB
Aydanhanım	8,33 A-E	14,14 A-D	0,00 E		7,49 BCD
Zeynelağa	11,24 A-E	0,00 E	4,17 A-E		5,13 B-E
Golden Promise	18,79 AB	19,45 A	15,00 A-E		17,74 A
Ortalama	9,64 A**	5,42 B	2,20 C		

\*\* %1 düzeyinde önemlidir. Aynı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel anlamda önemsizdir.



Şekil 4.5. Çeşit x farklı oksin hormonlarının alt-kültürden sonra rejenerasyon oranına (%) etkisi

#### 4.6. Embriyo Orijinli Kalluslardan Elde Edilen Bitkilerin Toprağa Şaşırtılma Başarısı (%)

Bazı çeşitlerde hiç bitki elde edilmediği için ve elde edilenlerde de sayılar az olduğu için bu değişkende varyans analizi yapılmamış, sonuçlar sadece ortalama olarak verilmiştir. Embriyo orijinli kalluslardan elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma yüzdeleri Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Oksin yüzdelerinin ortalamaları karşılaştırıldığında, 2,4-D ortamından elde edilen kalluslardan geliştirilen bitkilerin toprağa şaşırtılma yüzdesi daha fazladır (Çizelge 4.11). Bunu dicamba ve NAA sırasıyla izlemektedir. Çünkü 2,4-D ortamından elde edilen kallus oluşum oranı daha yüksek olduğundan (Zapata ve ark., 2004), bu ortamdan gelen kallusların fazla olması (Çizelge 4.6) sürgün rejenerasyonu ortamına konulan ve köklendirilen bitkilerin fazla olmasına neden olmuştur.

Çeşitler bakımından değerlendirildiğinde, standart çeşit olarak kullanılan Golden Promise çeşidinde üç oksin tipinde de bitki rejenerasyonu sağlanmıştır. Aynı şekilde Türk çeşitlerinden Efes-3, Bülbül 89, Cumhuriyet, Angora ve Çatalhöyük 2001 çeşitlerinde de her üç oksin tipinden geliştirilen kalluslardan bitki rejenerasyonu sağlanmıştır. Çeşitler Golden Promise ile karşılaştırıldığında, Bülbül 89 çeşidinin toprağa şaşırtılma başarısının Golden Promise'e çok yakın olduğu, Efes-3, Angora ve Çatalhöyük 2001 çeşitleri de biraz daha düşük olmakla birlikte bu çeşitlere yakın toprağa şaşırtılma başarısı gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. Embriyo orijinli kalluslardan elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı (%)

Çeşitler	Oksin hormonları			Ortalama
	2,4-D	Dicamba	NAA	
Tokak 157/37	50,00	100,00	-	50,00
Cumhuriyet 50	54,50	66,70	60,00	60,40
Bülbül 89	60,00	100,00	100,00	86,66
Tarm-92	53,30	61,50	-	38,26
Efes-3	66,70	66,70	100,00	77,80
Yesevi 93	80,00	66,70	-	48,90
Orza 96	-	-	-	-
Kalaycı-97	100,00	-	-	33,33
Kıral-97	100,00	100,00	-	66,66
Anadolu 98	75,00	-	-	25,00
Efes 98	66,70	-	100,00	55,56
Şerifehanım 98	66,70	72,70	-	46,46
Angora	77,80	50,00	100,00	75,93
Çetin 2000	100,00	-	-	33,33
Çumra 2001	87,50	100,00	-	62,50
Çatalhöyük 2001	85,70	75,00	60,00	73,56
Aydanhanım	75,00	66,70	-	47,23
Zeynel Ağa	100,00	100,00	-	66,66
Golden Promise	83,30	72,70	100,00	85,33
Ortalama	72,75	57,83	32,63	

#### **4.7. Alt-Kültürden Elde Edilen Bitkilerin Toprağa Şaşırtılma Başarısı (%)**

Bazı çeşitlerde alt kültürden sonra hiç rejenerasyon olmadığı için ve olanlarda da sayıları az olduğundan bu değışkende varyans analizi yapılmamış, sonuçlar sadece ortalama olarak verilmiştir. Alt-kültürden elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma yüzdeleri Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Oksin tipleri bakımından karşılaştırıldığında 2,4-D ortamından elde edilen alt-kültürlerin kalluslarından geliştirilen bitkilerin toprağa şaşırtılma yüzdeleri daha fazladır (Çizelge 4.12). Bunu sırasıyla dicamba ve NAA izlemektedir. Çünkü 2,4-D ortamından alt-kültüre alınan kalluslar daha fazla olduğundan (Vitanova ve ark., 1995), bu ortamdan gelen kallusların fazla olması (Çizelge 4.6) sürgün rejenerasyonu ortamına konulan ve köklendirilen bitkilerin fazla olmasına neden olmuştur.

Çeşitler bakımından değerlendirildiğinde, standart çeşit olarak kullanılan Golden Promise çeşidinden her üç oksin ortamından elde edilen alt-kültürlerin kalluslarından bitki rejenerasyonu sağlanmıştır. Türk çeşitlerinden ise, sadece Çatalhöyük 2001 çeşidinde her üç oksin tipinde de bitki rejenerasyonu sağlanmıştır. Çeşitlerin başarısına bakıldığında; Çatalhöyük 2001, Şerifehanım 98, Angora, Tokak 157/37, Bülbül 89 ve Yesevi 93 çeşitlerinin Golden Promise çeşidine yakın değerler verdiği görülmektedir.

Çizelge 4.12. Alt-kültürden elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı (%)

Çeşitler	Oksin hormonları			Ortalama
	2,4-D	Dicamba	NAA	
Tokak 157/37	80,00	100,00	-	60,00
Cumhuriyet 50	83,30	80,00	-	54,43
Bülbül 89	80,00	100,00	-	60,00
Tarm-92	100,00	50,00	-	50,00
Efes-3	75,00	100,00	-	58,33
Yesevi93	100,00	100,00	-	66,66
Orza 96	-	-	-	-
Kalaycı-97	50,00	-	-	16,66
Kıral-97	50,00	100,00	-	50,00
Anadolu 98	50,00	-	-	16,66
Efes98	66,70	-	100,00	55,56
Şerifehanım 98	100,00	80,00	-	60,00
Angora	100,00	100,00	-	66,66
Çetin-2000	-	-	-	-
Çumra 2001	50,00	-	-	16,66
Çatalhöyük 2001	60,00	100,00	50,00	70,00
Aydanhanım	66,70	100,00	-	55,56
Zeynel Ağa	75,00	-	100,00	58,33
Golden Promise	66,70	100,00	50,00	72,23
Ortalama	65,97	58,42	15,79	

## 5. SONUÇLAR

Türkiye’de üretimi yapılan bazı arpa çeşitlerinin olgunlaşmamış embriyolarını kullanarak yapılan bu çalışmada, farklı oksin hormonlarının kallus üretimi ve bitki rejenerasyonuna etkileri incelenmiştir. Dünyada yapılan doku kültürü çalışmalarında standart olarak kullanılan Golden Promise çeşidi bu çalışmada da standart olarak kullanılmıştır. Bu arpa çeşitlerinin olgunlaşmamış embriyolardan kallus oluşturmak amacıyla, dört farklı oksin hormon tipi [2,4-D (2,4-dichlorophenoxy asetik asit), dicamba (3,6-dichloro-o-anisic acid), NAA (1-naphthalene asetik asit) ve IAA (indol-3-asetik asit)] 3 mg/l düzeyinde kullanılmıştır. Fakat IAA neredeyse hiç kallus üretmemesi nedeniyle istatistik analizden ve diğer değerlendirmelerden çıkarılmıştır.

Çalışmada kallus oluşum oranı, embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı, alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı, rejenerasyon oranı, alt-kültürden sonra rejenerasyon oranına etkisi ile embriyo orijinli kalluslardan elde edilen bitkilerin ve alt-kültürden elde edilen bitkilerin toprağa şaşırtılma başarısı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre embriyoların kallus oluşturma oranı ve embriyo başına üretilen kallus miktarı en yüksek dicamba uygulamasından; alt-kültürden sonra kallus üretim miktarı, rejenerasyon oranı ve alt kültürden sonra rejenerasyon oranı en yüksek 2,4-D uygulamasından elde edilmiştir.

Kallus oluşum oranları, embriyo başına üretilen ortalama kallus miktarı ve alt kültürden sonra embriyo başına üretilen ortalama kallus miktarı bakımından incelenen çoğu çeşitler standart çeşit Golden Promise’e benzer veya daha iyi değerlere sahipken, rejenerasyon oranı bakımından Golden Promise çeşidi kendisini izleyen en iyi çeşitlerden bile yaklaşık %20 daha yüksek oranda rejenerasyon sağlamıştır. Yerli çeşitler içinde Tarm-92, Çatalhöyük 2001, Cumhuriyet 50 ve Şerifehanım 98 en yüksek değerlere sahip olmuştur. Alt kültürden sonra rejenerasyon oranı bakımından Golden Promise çeşidinin üstünlüğü daha da belirgin olmuş ve bu çeşit alt-kültür sonrası rejenerasyon bakımından en yüksek değerlere sahip yerli çeşitler olan Çatalhöyük 2001, Cumhuriyet 50 ve Şerifehanım 98’den yaklaşık %75 daha yüksek değerlere sahip

olmuştur. Golden Promise çeşidi elde edilen sürgünlerin başarılı şekilde toprağa şaşırtılmasında da diğer çeşitlere göre yüksek performans göstermiştir.

Çeşit x farklı oksin hormonlarının interaksiyonları kallus oluşum oranı, embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı, alt-kültürden sonra embriyo başına ortalama kallus üretim miktarı, rejenerasyon oranı ve alt-kültürden sonra rejenerasyon oranı bakımından önemli bulunmuştur. Bu durum farklı çeşitler için farklı hormon uygulamalarının en iyi sonucu verdiğini ve çeşitlere göre farklı hormonların kullanılması gerektiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, arpada transgenik bitki üretimi ve diğer ıslah amaçları için kullanılacak olan kallus kültürlerinin başarısı konusunda, embriyoların kallus oluşturma oranı ve kallus üretim miktarı bakımından çeşitlere göre değişmekle birlikte genel olarak dicamba hormonu daha iyi iken, alt kültürden sonra kallus üretimi ve rejenerasyon bakımından 2,4-D daha üstün bulunmuştur. Yerli çeşitlerin çoğunun kallus üretimi bakımından standart çeşit kabul edilen Golden Promise kadar iyi, hatta daha iyi olduğu belirlenmiştir. Ancak rejenerasyon özellikleri bakımından Golden Promise çeşidi belirgin şekilde daha iyi performans göstermiştir. Bu nedenle herhangi bir çeşitle yapılacak olan genetik transformasyon çalışmalarının Golden Promise çeşidi ile yapılması, ancak yerli çeşitlerden birinin kullanılması gerektiği durumlarda Çatalhöyük 2001, Cumhuriyet 50 ve Şerifehanım 98 çeşitlerinden birinin seçilebileceği belirlenmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- Abumhadi, N., Kamenarova, K., Todorovska, E., Dimov, G., Trifonova, A., Gecheff, K., ve Atanassov, A., 2005. Callus induction and plant regeneration from barley mature embriyos (*Hordeum vulgare* L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 19 (3), 32-38.
- Ahloowalia, B.S., 1987. Plant regeneration from embryo-callus culture in barley. *Euphytica*, 36, 659-665.
- Ahmet, H. ve Adak, M.S., 2007. Irak'ta yetiştirilen bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu. *Ankara Üniversitesi. Tarım Bilimleri Dergisi*, 13 (3), 285-292.
- Anonim, 2014. Food And Agriculture Organization. [www.fao.org](http://www.fao.org).
- Anonim, 2013. Türkiye İstatistik Kurumu. [www.tuik.gov.tr](http://www.tuik.gov.tr).
- Aydın, M., Haliloğlu, K. ve Tosun, M., 2009. Buğday doku kültüründe alternatif eksplant kaynağı: olgun embriyo. Süleyman Demirel Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Dergisi, 4 (2), 34-35.
- Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan S., 2002. Bitki Biyoteknolojisi-1- Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 s, Konya.
- Bezirganoğlu, İ., 2006. Çavdarda (*Secale cereale* L.) Olgun Embriyodan Kallus Oluşumunu ve Bitki Rejenerasyonunu Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Atatürk Üniversitesi. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum.
- Bregitzer, P., 1992. Plant regeneration and callus type in barley: effect of genotype and culture medium. *Crop Science*, 32,1108-1112.
- Bregitzer, P., Dahleen, L.S. ve Campebell R.D., 1998. Enhancement of plant regeneration from embryogenic callus of commercial barley cultivars. *Plant Cell Reports*, 17, 941-945.
- Bregitzer, P. ve Poulson, M., 1995. Agronomic performance of barley lines derived from tissue culture. *Crop Science*, 35, 1144-1148.
- Bürün, B. ve Poyrazoğlu E. Ç., 2002. Embryo culture in barley (*Hordeum vulgare* L.). *TÜBİTAK Turkish Journal of Biology*, 26, 175-180.
- Castillo, A.M., Egana, B., Sanz, J.M. ve Cistue, L., 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration from barley cultivars grown in Spain. *Plant Cell Reports*, 17, 902-906.
- Chang, Y., Zitzewitz, J.V., Hayes, P.M. ve Chen, T.H.H., 2003. High frequency plant regeneration from immature embryos of an elite barley cultivar (*Hordeum vulgare* L.cv. Morex). *Plant Cell Reports*, 21(8), 733-738.

- Cho, M.-J., Choi, H.W., Bregitzer, P., Zhang, S. ve Lemaux, P.G., 2002. Transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) and chromosomal variation. Testing for Genetic Manipulation in Plants Molecular Methods of Plant Analysis, Vol. 22, 169-188.
- Çavuşoğlu, K., Kılıç, S. ve Kabar, K., 2007. Arpa tohumlarının çimlenmesi sırasında gibberellik asit, kinetin ve etilen ile tuz stresinin hafifletilmesinde bazı morfolojik ve anatomik gözlemler. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Dergisi, 2 (1), 27-40.
- Dahleen, L.S., 1995. Improved plant regeneration from barley callus cultures by increased copper levels. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 43, 267-269.
- Dahleen, L.S. ve Bregitzer, P., 2002. An improved media system for high regeneration rates from barley immature embryo-derived callus cultures of commercial cultivars. Crop Science, 42, 934-938.
- Dahleen, L.S. ve Manoharan, M., 2007. Recent advances in barley transformation. In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant, 43, 493-506.
- Freed, R. ve Eisensmith, S.P., 1986. MSTAT - Statistical Software for Agronomists. Agronomy Abstract.
- Goldstein, C.S. ve Kronstad, W.E., 1986. Tissue culture and plant regeneration from immature embryo explants of barley, *Hordeum vulgare*. Theoretical and Applied Genetics, 71 (4), 631-636.
- Gubisova, M., Mihálik, D. ve Gubiš, J., 2012. Optimization of barley mature embryo regeneration and comparison with immature embryos of local cultivars. Nova Biotechnologica et Chimica, 11 (1), 57-62.
- Hagio, T., Hirabayashi, T., Machii, H. ve Tomotsune, H., 1995. Production of fertile transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) plants using the hygromycin-resistance marker. Plant Cell Reports, Vol. 14 (5), 329-334.
- Halamkova, E., Vagera, J. ve Ohnoutkova, L., 2004. Regeneration capacity of calli derived from immature embryos in spring barley cultivars. Biologia Plantarum, Vol. 48 (2), 313-316.
- Hansel, G., Valkov, V., Middlefell-Williams, J. ve Kumlehn, J., 2008. Efficient generation of transgenic barley: The way forward to modulate plant-microbe interactions. Journal of Plant Physiology, Vol. 165 (1), 71-82.
- He, T. ve Jia, J. F., 2008. High frequency plant regeneration from mature embryo explants of highland barley (*Hordeum vulgare* L. Var. Nudum Hk. f.) under endosperm – supported culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 95, 251-254.
- Hussein, E.H.A., Madkour, M.A., Assem, S.K. ve Radwan, A.M.A., 2004. Embryogenic callus formation and plant regeneration from immature embryos of some barley genotypes (*Hordeum vulgare* L.). Arab Journal of Biotechnology, Vol. 7, No. (1), 111-122.
- Karakaş, Ö., 2005. Arpada Gen Aktarım Frekansının Artırılmasına Yönelik Çalışmalar. (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Koyuncu, N., 2008. Farklı MS Dozlarının buğdayda (*Triticum* sp.) doku kültürü parametrelerine etkileri. Ankara Üniversitesi. Tarım Bilimleri Dergisi, 14 (1), 82-86.
- Koyuncu, N. ve Özgen, M., 2005. Olgunlaşmış arpa (*Hordeum vulgare* L.) embriyolarına partikül bombardımanı tekniği ile markör gen aktarımı. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18(2), 191-194.
- Kumlay, A.M. ve Eryiğit, T., 2011. Bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyici maddeler: bitki hormonları. Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi / Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology, 1(2), 47-56.
- Manoharan, M. ve Dahleen, L.S., 2002. Genetic transformation of the commercial barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivar Conlon by particle bombardment of callus. Plant Cell Reports, 21, 76-80.
- Marthe, C., Kumlehn, J. ve Hensel, G., 2015. Barley (*Hordeum vulgare* L.) transformation using immature embryos. Methods in Molecular Biology, 1223, 71-83.
- Mendoza, M.G. ve Kaeppler, H.F., 2002. Auxin and sugar effects on callus induction and plant regeneration frequencies from mature embryos of wheat (*Triticum aestivum*). In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant, 38, 39-45.
- Murashige, T. ve Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15, 473-497.
- Przetakiewicz, A., Orczyk W. ve Nadolska – Orczyk , A , 2003. The effect of auxin on plant regeneration of wheat, barley and triticale. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 73, 245-256.
- Ritala, A., Aspegren K., Kurten, U., Salmenkallio-Marttila, M., Mannonen, L., Hannus, R., Kauppinen, V., Teeri, T. H. ve Enari, T. M., 1994. Fertile transgenic barley by particle bombardment of immature embryos. Plant Molecular Biology, Vol. 24 (2), 317-325.
- Satyavathi, V.V., Jauhar, P.P., Elias, E.M. ve Rao, M.B., 2004. Effects of growth regulators on in vitro plant regeneration in durum wheat. Crop Science, 44, 1839-1846.
- Serhantova, V., Ehrenbergerova, J. ve Ohnoutkova, L., 2004. Callus induction and regeneration efficiency of spring barley cultivars registered in the Czech Republic. Plant, Soil Environment, 50 (10), 456-462.
- Seyrani, S., 2006. Bazı Buğday (*Triticum aestivum* L.) Çeşitlerinde Meristematik Doku Parçaları Kullanarak Etkin Bitki Regenerasyon Sisteminin Kurulması. (Yüksek Lisans Tezi), Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Tiwari, V.K., Cocking, E.C. ve Davey, M.R., 2014. Plant regeneration from immature embryo-derived callus of barley (*Hordeum vulgare* L.): effect of auxins and cytokinins. Journal of Cell and Tissue Research, Vol., 14(3), 4621-4626.
- Wan, Y. ve Lemaux, P.G., 1994. Generation of large numbers of independently transformed fertile barley plants. Plant Physiology, 104, 37-48.

- Westwood, M.N., 1993. Hormones and Growth Regulators, Temperate Zone Pomology: Physiology and Culture, Timber Press Inc, Portland, Oregon, USA.
- Vitanova, Z., Vitanov, V., Trifonova, A., Savova, D. ve Atanasov, A., 1995. Effect of 2,4-D precultivation on regeneration capacity of cultivated barley. Plant Cell Reports, Vol. 14 (7), 437-441.
- Zapata, J.M., Sabater, M. ve Martin, M., 2004. Callus induction and in vitro regeneration from barley mature embryos. Biologia Plantarum, 48 (3), 473-476.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

**Adı:** Fatmagül  
**Soyadı:** Güven  
**Doğum Yeri:** Balıkesir  
**Medeni Hali:** Bekar  
**Yabancı Dili:** İngilizce  
**Telefon:** 0 538 702 32 64  
**e-mail:** [fatmagulguven1988@hotmail.com](mailto:fatmagulguven1988@hotmail.com)

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2015
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2009
Lise	Atatürk Çok Programlı Lisesi (Düz Lise Bölümü)	2005

Ayrıca 11.10.2012'den itibaren Iğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.