

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

95708

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIŞLIK ARPADA (*Hordeum vulgare L.*) KALLUS OLUŞUMU ve BİTKİ
REJENERASYONUNA SİTOPLAZMANIN ETKİSİ

Yücel KEŞLİ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2000

**TC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Her hakkı saklıdır

2009

[illegible]

Prof. Dr. Murat Özgen danışmanlığında, Yücel Keşli tarafından hazırlanan bu çalışma, 5.12.2000 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr.Ekrem KÜN

İmza

Üye : Prof.Dr.Sezen ŞEHİRALİ

İmza

Üye : Prof.Dr.Murat ÖZGEN

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

(İmza)

Prof. Dr. Esma KILIÇ
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KIŞLIK ARPADA (*Hordeum vulgare* L.) KALLUS OLUŞUMU ve BİTKİ REJENERASYONUNA SİTOPLAZMANIN ETKİSİ

Yücel KEŞLİ

Ankara Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Murat Özgen

Bu araştırma 1998,1999 ve 2000 yıllarında, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlasında ve biyoteknoloji laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırmada 3 ikisıralı ve 3 altısıralı olmak üzere 6 genotip kullanılmıştır. Araştırma, kışlık arpada, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarda, kallus oluşumuna ve bitki rejenerasyon kapasitesine sitoplazmanın etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Tarla koşullarında ikisıralı (501x502-502x501, 501x503-503x501, 502x502-503x502) ve altısıralı (510x511-511x510, 511x512-512x511, 510x512-512x510) genotipler arasında karşılıklı (resiprokal) melezlemeler yapılmıştır. Bu melezlemeler sonucunda elde edilen karşılıklı (resiprok) F1 melezlerinin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyoları kültüre alınmıştır. 2 mg /l 2,4-D ilave edilmiş MS ortamı, kültür ortamı olarak kullanılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre: olgunlaşmamış embriyo kültüründe, ikisıralılar arasında ve altısıralılar arasında, kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi, rejenere bitki sayısı ve toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli farklılıklar bulunurken, olgunlaşmış embriyo kültüründe, ikisıralılar arasında ve altısıralılar arasında, kallus ağırlığı, rejenere bitki sayısı ve toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli farklılık bulunmuştur.

Karşılıklı (Resiprok) F1 melezlerinin olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu, kallus ağırlığı, rejenere bitki sayısı ve toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından sitoplazmanın etkisinin olduğu belirlenmiştir.

2000, 92 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Sitoplazmik etki, kışlık arpa, kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu, doku kültürü

ABSTRACT

Masters Thesis

CYTOPLASMIC EFFECTS ON CALLUS INDUCTION and PLANT REGENERATION IN WINTER BARLEY (*Hordeum vulgare* L.)

Yücel KEŞLİ

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Field Crops

Supervisor : Prof.Dr. Murat Özgen

This study was carried out in the years 1998, 1999 and 2000 in order to study the cytoplasmic effects on callus induction and plant regeneration of immature and mature winter barley embryos (*Hordeum vulgare* L.) at the experimental field and biotechnology laboratories of Field Crops Department of Agricultural Faculty, Ankara University. Reciprocal crossing were at field conditions made among two-rowed (501x502, 502x501, 501x503, 503x501, 502x503, 503x502) and six-rowed (510x511, 511x510, 511x512, 512x511, 510x512, 512x510) genotypes. Immature and mature embryos of F1 lines were cultured on 2 mg/L 2,4-D supplemented solid MS medium.

This study indicated that; there were significant difference between two-rowed and between six-rowed at callus induction, callus weight, number of plantlet, number of plant of transferred to soil and plant regeneration on immature winter barley embryos; between two-rowed and between six-rowed at callus weight, number of plantlet and number of plant of transferred to soil on mature winter barley embryos.

There were found cytoplasmic effects on callus induction, callus weight, number of plantlet, number of plant of transferred to soil and plant regeneration on between immature winter barley and between mature winter barley embryos.

2000, 92 pages

Key Words : Cytoplasmic effects, tissue culture, plant regeneration, callus induction, winter barley.

TEŞEKKÜR

Kışlık arpada (*Hordeum vulgare L.*) kallus oluşumunu ve bitki rejenerasyonuna sitoplazmanın etkisi konulu tez çalışmasını veren ve çalışmayı gerçekleştirebilmem için her türlü desteği sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Murat Özgen'e başta olmak üzere; istatistiki analizlerde yardımcı olan Araştırma Görevlisi Muharrem Kaya'ya, tarla ve laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan arkadaşlarım Fehmi Mert, Turgay Polat, Yaşar Doğanay, Alev Kaya, Sevim Uzun, Düriye Öztürk, Ayşe Varol'a ve çalışmamda emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

Zir. Müh. Yücel KEŞLİ
Ankara 2000

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No.
ÖZET	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
İÇİNDEKİLER	IV
SİMGELER DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	23
3.1. Materyal	23
3.2. Yöntem	24
3.2.1.Çeşit ve hatların yetiştirilmesi	24
3.2.2. Melezlemelerin yapılması	25
3.2.3. Eksplant hazırlığı	26
3.2.3.1.Olgunlaşmış embriyo eksplantlarının hazırlığı	26
3.2.3.2. Olgunlaşmamış embriyo eksplantlarının hazırlığı	27
3.2.4. Sterilizasyon	27
3.2.4.1. Malzemelerin sterilizasyonu	27
3.2.4.2. Steril saf su hazırlanması	28
3.2.4.3. Olgunlaşmış tohumlarda yüzey sterilizasyonu	28
3.2.4.4.Olgunlaşmamış tohumlarda yüzey sterilizasyonu	29
3.2.5. Besi ortamı hazırlığı	29
3.2.5.1. Kallus ortamının hazırlanması	29
3.2.5.2. Rejenerasyon ortamının hazırlanması	30
3.2.6. Embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi	30
3.2.6.1.Olgunlaşmış tohumlardan embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi	31

3.2.6.2. Olgunlaşmamış tohumlardan embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi	31
3.2.7. Rejenerasyon çalışmaları	31
3.2.8. Alıştırma (Aklimatizasyon) çalışmaları	32
3.2.9. Sera çalışmaları	32
3.2.10. Fotoğraf çekimleri	32
3.2.11. Verilerin elde edilmesi	33
3.2.12. Verilerin değerlendirilmesi	33
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	34
4.1. Kallus Oluşumu	34
4.2. Kallus Ağırlığı	38
4.3. Kallusun Rejenerasyon Kapasitesi	41
4.4. Rejenere Bitki Sayısı	45
4.5. Toprağa Aktarılan Bitki Sayısı	49
4.6. Kallus Oluşumunda Sitoplazmanın Etkisi	53
4.6.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	53
4.6.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	54
4.6.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	55
4.6.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	56
4.6.5. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	57
4.6.6. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	58
4.7. Kallus Ağırlığına Sitoplazmanın Etkisi	59
4.7.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	59
4.7.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	60
4.7.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	61
4.7.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	62
4.7.5. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	63
4.7.6. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	64
4.8. Kallusun Rejenerasyon Kapasitesine Sitoplazmanın Etkisi	65
4.8.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	65

4.8.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	66
4.8.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	67
4.8.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	68
4.8.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	69
4.8.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	70
4.9. Rejenere Bitki Sayısına Sitoplazmanın Etkisi	71
4.9.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	71
4.9.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	72
4.9.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	73
4.9.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	74
4.9.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	75
4.9.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	76
4.10. Toprağa Aktarılan Bitki Sayısında Sitoplazmanın Etkisi	77
4.10.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	77
4.10.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	78
4.10.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	79
4.10.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	80
4.10.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	81
4.10.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki	82
5. SONUÇ	84
KAYNAKLAR	87
ÖZGEÇMİŞ	92

SİMGELER DİZİNİ

2,4-D	2,4 diklor fenoksi asetik asit
IAA	İndol asetik asit
BA	Butirik asit
NAA	Naftalin asetik asit
EÖF	En küçük önemli fark
MS	Murashige ve Skoog besi ortamı
B5	B5 besi ortamı
N6	N6 besi ortamı
KO	Kareler ortalaması
KT	Kareler toplamı
SD	Serbestlik derecesi
VK	Varyasyon kaynağı
mg	Miligram
Ppm	Milyonda bir
(g)	Gram
l	Litre
*	İstatistiksel olarak 0.01 düzeyinde önemli
**	İstatistiksel olarak 0.05 düzeyinde önemli
501	İkisiralı Tokak 157/37 arpa çeşidi
502	İkisiralı Kavak 7531 arpa çeşidi
503	İkisiralı Ankara 86 arpa çeşidi
510	Altı sıralı bir arpa hattı
511	Altı sıralı bir arpa hattı
512	Altı sıralı bir arpa hattı
μ	Mikro
χ^2	Ki-kare

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 4.1 Altısıralı arpaların olgun embriyolarında kallus oluşumu	35
Şekil 4.2 Altısıralı olgunlaşmamış arpa kalluslarda rejenerasyon	42
Şekil 4.3 İkisiralı arpalarda rejenere olan bitkiciklerin cam kavanozlarda büyütülmesi	46
Şekil 4.4 Arpalarda rejenere olan bitkilerin toprağa aktarılması	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa no
Çizelge 4.1. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında, kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin varyans analizi	35
Çizelge 4.2. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında, kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin asgari önemli fark analizi	37
Çizelge 4.3. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında oluşturdıkları kallusların ağırlıklarına (%) ilişkin varyans analizi	39
Çizelge 4.4. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında oluşturdıkları kallusların ağırlıklarına (%) ilişkin EÖF analizi	40
Çizelge 4.5. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında oluşturdıkları kallusların rejenerasyon kapasitelerine (%) ilişkin varyans analizi	42
Çizelge 4.6. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında oluşturdıkları kallusların rejenerasyon kapasitelerine (%) ilişkin EÖF analizi	44
Çizelge 4.7. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında oluşturdıkları kalluslardan oluşan rejenere bitki sayılarına ilişkin varyans analizi	46
Çizelge 4.8. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında oluşturdıkları kalluslardan oluşan rejenere bitki sayılarına ilişkin EÖF analizi	48
Çizelge 4.9. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarından geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına ilişkin varyans analizi	50
Çizelge 4.10. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarından geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına ilişkin EÖF analizi	52
Çizelge 4.11. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi	54

Çizelge 4.12. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi	55
Çizelge 4.13. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi	56
Çizelge 4.14. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi	57
Çizelge 4.15. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi	58
Çizelge 4.16. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi	59
Çizelge 4.17. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi	60
Çizelge 4.18. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi	61
Çizelge 4.19. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi	62
Çizelge 4.20. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi	63
Çizelge 4.21. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi	64
Çizelge 4.22. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi	65
Çizelge 4.23. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi	66
Çizelge 4.24. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi	67
Çizelge 4.25. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi	68
Çizelge 4.26. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi	69

Çizelge 4.27. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi	70
Çizelge 4.28. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi	71
Çizelge 4.29. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	72
Çizelge 4.30. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	73
Çizelge 4.31. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	74
Çizelge 4.32. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	75
Çizelge 4.33. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	76
Çizelge 4.34. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	77
Çizelge 4.35. 501x502 ile 502x503 genotiplerinden geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	78
Çizelge 4.36. 501x503 ile 503x501 genotiplerinden geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	79
Çizelge 4.37. 502x503 ile 503x502 genotiplerinden geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	80
Çizelge 4.38. 510x511 ile 511x510 genotiplerinden geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	81
Çizelge 4.39. 510x512 ile 512x510 genotiplerinden geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	82
Çizelge 4.40. 511x512 ile 512x511 genotiplerinden geliştirilip toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi	83

1. GİRİŞ

En eski kültür bitkisi olarak bilinen arpa; ekiliş ve üretim yönünden ülkemizde buğdaydan sonra ikinci, dünyada ise buğday, mısır ve çeltikten sonra dördüncü sırada yer almaktadır. Arpanın dünyadaki ekim alanı 58.596.000 ha, üretimi 133.420.000 ton ve verimi 2277 kg/ha'dır. Türkiye'deki ekim alanı 3.770.000 ha, üretimi 9.000.000 ton ve verimi 2387 kg/ha'dır (Anonim, 1999). Başka bir deyişle, Türkiye'deki arpa verimi dünya ortalamasının üzerindedir.

Arpa, adaptasyon yeteneği yüksek olan bir tahıl cinsidir. Dünya arpa ekilişinin büyük çoğunluğu Kuzey Yarımkürededir. Norveç'te 70° kuzey enlemine, Güney Yarımkürede ise Arjantin'de 45° güney enlemine kadar yayılmaktadır. Dikey olarak en fazla çıkabildiği yükseklik, Himalaya Dağları'nın güneybatı yörelerinde 4480 metredir (Kün, 1988).

Binlerce yıldır insan ve hayvan beslenmesinde kullanılan arpa, ekmek ve çeşitli içkilerin yapımında, 4. yüzyıldan bu yana da hayvan beslenmesinde kullanılmaktadır. Önceleri insan beslenmesinde büyük payı olan arpa, bu önemini zamanla yitirmiştir. Arpanın ununda gluten bulunmaması ve hamurunun esmer rengi, ekmek yapımında kullanılmamasının baş nedenidir. Günümüzde arpa tanesi büyük çoğunlukla hayvan yemi, malt ve bira endüstrisinin hammaddesi olarak tüketilmektedir. Bunun yanında malt artığı küspe ise yeşil yem ya da kuru ot olarak hayvan beslemede kullanılmaktadır. Arpa %79 u aşan nişasta değeriyle tahıl cinsleri arasında yem değeri en üstün olanıdır.

Serin iklim tahılları içinde arpa iklim istekleri yüksek olan bir cinstir. Fazla soğuk ve fazla sıcak olmayan, bağıl nemi yüksek olan yerlerde iyi yetişir. Sıcaklığı 0°C'nin altına düşmeyen ve 18-20 °C'nin üstüne çıkmayan, bağıl nemi sürekli olarak % 70-80 arasında bulunan yerler arpa için çok uygundur. Sıcak ve kurak iklimlerde çiçeklenme zamanındaki sıcak rüzgarlar (samyelleri); döllenmeyi ve tane tutmayı azaltır, verimi düşürür. Arpa, kurağa olduğu kadar düşük sıcaklıklara da dayanamaz. Arpa çeşitlerinin çoğu -10 °C dolayındaki düşük sıcaklıklardan zarar görür. Bu nedenle, arpanın kışlık

ekimi çoğu kez sınırlıdır. Yazlık ekim ise ancak nemi yeterli ve yüksek verimli topraklarda başarılı olmaktadır.

Türkiye'de en fazla arpa ekim alanı olan il Konya'dır. Bu ilimiz Türkiye arpa ekiliş ve üretiminin %14'ünü sağlamaktadır. Konya ilimizi ekim alanı bakımından, Ankara, Şanlıurfa, Afyon ve Diyarbakır izler. En az arpa ekilişi ise Trabzon, Bitlis, Hakkari, Bingöl ve Yalova illerimizdedir..

Türkiye'de en fazla arpa üretilen il 1.131.382 ton ile Konya'dır . Konya'dan sonra arpa üretimi en fazla olan iller Ankara, Şanlıurfa, Afyon ve Diyarbakır olarak sıralanır. Arpa üretiminin en az olduğu il 34 ton ile Trabzon'dur. Bundan sonra üretimin en az olduğu iller Hakkari, Bitlis, Bingöl ve Yalova olarak sıralanır.

Öteki serin iklim tahıllarına göre daha erken hasada gelmesi ve tarlayı erken boşaltması nedeniyle, ikinci ürün tarımı yapılan ekim alanlarında ve topraktan fazla tuz kaldırdığı için tuzlu toprakların ıslahında, önemli bir ekim nöbeti bitkisidir.

İntroduksiyon, seleksiyon, melezleme, mutasyon ve poliploidi arpa ıslahında uygulanan klasik ıslah yöntemleridir. Bu yöntemlerle elde edilmiş ekonomik öneme sahip çok sayıda arpa çeşidi bulunmaktadır. Fakat her yöntemin kendine özgü sorunları vardır. İntroduksiyondaki en önemli sorun, yeterli adaptasyon (uyum) denemeleri yapılmadan çeşitlerin getirilmesi ve sonuçta da istenilen başarının elde edilememesidir. Seleksiyon çalışmalarında ise çeşit ıslahının uzun yıllar alması sorunu vardır. Olası salgın bir hastalığa karşı kısa sürede çözüm üretilemez. Seleksiyon ile birlikte en fazla kullanılan yöntem olan melezlemede de bazı sorunlar vardır. Kısırlatmadaki zorluklar, türler arasındaki izolasyon ve uzun yıllar seçmelerin yapılması bunlardan önemli olanlardır. Mutasyon ıslahında ise, yapılan çalışmaların amaçları ve etkinliği tam olarak ortaya konulamamaktadır. Çünkü uygulanan mutagenlerin genetik materyal üzerinde ne gibi bir değişikliğe neden olacağı kesin olarak önceden bilinemez. Elde edilen mutantlarda amaca uygun olarak yeniden seleksiyonların uygulanması gerekmektedir. Ayrıca mutant bitkilerde morfolojik ve fizyolojik birçok aksaklıklar da ortaya çıkabilmekte ve böylece

bitkinin gelişmesi yavaşlamaktadır.

Bir başka ıslah yöntemi olan poliploidi, bitkilerin gelişmelerini etkilemektedir. Poliploidi uygulanmış bitkilerde ozmotik 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, türlerarası genetik izolasyon da tohum bağlama oranını azaltmaktadır (Şehirli ve Özgen,1988).

Öteki önemli kültür bitkilerinde olduğu gibi, arpada da üretimin artırılması gerekmektedir. Artan dünya nüfusuna paralel olarak, arpa tüketimi artmaktadır. Üretim artışını sağlamanın hemen hemen tek yolu verimi artırmaktır. Çünkü dünya tarım alanlarını genişletme sınırlarının sonuna gelinmiştir. Verimi artırmak için kültürel önlemleri almak ve verimli ıslah çeşitlerini kullanmak gereklidir. Verimli ıslah çeşitlerini ortaya çıkarmak için birçok ıslah yönteminden yararlanılmakta, verim ve kalite artışını sağlayan çeşitler ıslah edilmektedir. Fakat bu klasik ıslah çalışmaları çok uzun zaman almaktadır. Hastalık ve zararlılar sürekli yeni biyotipler oluşturarak ıslah edilen çeşitlerin dayanıklılıklarını kırmaktadır. Bu ve buna benzer sorunlar nedeniyle, uzun yıllar tarla koşullarında çalışma gerektiren klasik ıslah yöntemlerine yardımcı olabilecek, ıslah süresini kısaltabilecek, daha az materyalle ve daha kontrollü bir ortamda çalışma yapılmasını sağlayabilecek doku kültürü tekniklerinin geliştirilmesi, öteki kültür bitkilerinde olduğu gibi arpada da önemli hale gelmiştir.

Hücre, doku ve organ gibi bitki kısımlarıyla oluşturulan kültürler kullanılarak, klasik ıslah yöntemlerine göre daha kısa sürede sonuçlar alınmıştır. Melezlerin elde edilmesi, biyokimyasal mutant seleksiyonu, aneuploidlerin elde edilmesi ve gen transferi gibi çalışmalar yapılarak transgenik bitki elde edilmesi gerçekleştirilmiştir.

Arpanın klasik ıslahındaki mevcut sorunları 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 genotipe bağlı olduğu bilinmektedir.

Bu araştırmanın amacı, Orta Anadolu Bölgesi'ne uyum sağlamış bazı kışlık arpalarda, karşılıklı (resiprokal) melezlemelerle elde edilecek F1'lerin olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarından kallus oluşturulmasında ve bitki rejenerasyonunda sitoplazmik etkinin belirlenmesidir. Böyle bir etkinin var olması halinde, embriyo kültüründe başarı oranının yükseltilmesinin yanında tek yönlü melezlemelerin yeterli olması nedeniyle, melezleme çalışmalarında kombinasyon sayısını da % 50 oranında azaltmak mümkün olacaktır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Özellikle 1963 yılında yapay besin ortamının bulunmasından sonra, doku kültürü ve biyoteknolojik çalışmalar hızlanmıştır. Birçok bitkinin ıslahında olduğu gibi, arpanın ıslah çalışmalarında da araştırmacılar bu yöntemleri kullanarak önemli gelişmeler sağlamışlardır. Arpada, buğdayda ve bazı yabani tahıl türlerinde biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılarak yapılan çalışmalar tarih sırasına göre aşağıda özetlenmiştir.

Bayliss ve Dunn (1979), arpada bir tohumdan daha fazla bitki elde etmek için olgun embriyodan kallus oluşturmışlar ve daha sonra rejenerasyonu sağlamışlar, arpanın genç yapraklarından alınan eksplantlarda meristematik hücrelerin çok fazla olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar daha sonra genç yapraklardan, fide; fide parçalarından da kallus oluşumu ve rejenerasyonu başarıyla gerçekleştirmişlerdir.

Dale ve Deambrigo (1979), arpada, en başarılı yöntemlerin başında gelen olgunlaşmamış embriyo kültüründen rejenerasyonu ilk kez gerçekleştirmişlerdir. Böylece melez kısırılığı olarak ifade edilen, embriyo ile endospermin uyuşmaması sonucu embriyoların canlılığını yitirmesi sorunu çözümlenmiştir.

Young vd (1981), uzak akrabalar arasındaki melezlemeler sonucunda dane tutma oranının çok az olduğunu belirtmiştir. Ayrıca embriyonun ilk gelişiminden olgun tohum oluşana kadar geçen süreyi azaltmak amacıyla; olgunlaşmamış embriyo kültürü yapmıştır. Bu yöntemle, *H. vulgare* L. ana olarak, *H. bulbosum* L.'yi baba olarak kullanarak melezleme yapmıştır. Döllenen yumurtadan (Zygot) embriyo gelişirken *H. bulbosum* L. kromozomları hızla elemine olmuş; bu embriyo kültüre alarak haploid *H. vulgare* L. bitkisi elde etmiştir.

Gamborg ve Eveleigh (1984), kallusun düzenli olmayan hücrelerin oluşturduğu yara dokusu olduğunu bildirerek, doku kültürleriyle yapılan çalışmaların çoğunda kallus aşamasından geçilerek başarıya ulaşılabileceğini belirtmişlerdir. Kallus dokusunun başlatılması, geliştirilmesi ve sonuçta, bunlardan yaşayabilir bitkilerin elde edilmesinin,

herhangi bir doku kültürü çalışmasında başarılması gereken ön şartlardan olduğunu belirtmişlerdir. Bu yönüyle kallus kültürlerinin, bitki doku kültürlerinin başlangıç adımını teşkil ettiğini bildirmişlerdir.

Knott ve Kasha (1984), az sayıdaki materyalden hızlı ve çok sayıda bitki elde etmek amacıyla kullanılan suspansiyon kültürlerini; mısır, çeltik ve buğdayda yapıldığı gibi arpada da başarıyla uygulayarak rejenere olabilir (totipotent) kültürler elde etmişlerdir.

Thomas ve Scott (1985), arpanın genç başaklarını rejenere olabilir (totipotent) doku ve hücre kültürlerinin oluşturulmasında eksplant olarak başarıyla kullanmışlardır.

Köhler ve Wenzel (1985), arpanın olgunlaşmamış çiçek kısımlarının kallus kültürü için çok uygun meristematik hücreler olduğunu belirtmişlerdir. Bu yaklaşımla olgunlaşmamış çiçek kültürü yapılarak; olgunlaşmamış embriyo kültüründen sonra en başarılı sonucu elde etmişlerdir. Ayrıca bu yöntemde kromozom sapmalarının görülmemesinin en büyük avantajlardan biri olduğunu da belirtmişlerdir.

Mathias vd (1985), doku kültüründe buğday kalluslarının oluşumu üzerine sitoplazmanın etkisinin olup olmadığını açıklamaya çalışmışlardır. Bu amaçla *Triticum* ve *Aegilops* genotiplerinin yabani akrabalarından 8 türü sitoplazma vericisi (ana) olarak kullanmışlardır. Çekirdek vericisi (baba) olarak heksaploid buğday (*Triticum aestivum* L.) çeşidi kullanmışlardır. Elde edilen 8 alloplazmik hat kültüre alınmıştır. Kallusların ilk oluşmaya başlamasında ve kalluslardan ilk sürgünlerin oluşturulmasında hatlar arasında farklılıklar bulunmuş, sitoplazmanın kültüre alınan dokuların davranışlarını önemli ölçüde etkilediği belirtilmiş, sitoplazmik değişikliklerin doku kültürünü nasıl etkileyeceği konusunda bilgiler vermişlerdir.

Vasil (1987), sitoplazmada bulunan bazı kalıtım faktörlerinin, başta erkek kısırlığı olmak üzere, birçok kalıtsal olayda rol oynadığını belirtmişler, genotipik bir özellik olan kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu açısından da sitoplazmanın etkisinin olabileceğini bildirmiştir.

Kothori ve Chandra (1988), arpa embriyo kalluslarından somatik embriyogenesis ve rejenerasyon elde etmişlerdir. Araştırmada 1 ve 5 mg/L 2,4-D eklenmiş MS ortamında oluşan kalluslar; 3-4 hafta sonra 0.2 mg/L kinetin, 0.5 mg/L 2,4-D içeren MS ortamına altkültür yapmak için aktarmışlardır. 4 hafta içinde embriyoidlerin görünmeye başladığını; %5'lik hindistan cevizi suyu ile 2,4-D yeniden ortama katıldığında sürgün oluşumunun başladığını açıklamışlardır. Köklenmeyi ise MS ortamına IBA veya BAA eklendiğinde sağlamışlardır.

Barcele (1989), *Hordeum x Triticum* melezinde bitki rejenerasyonu ve somatik embriyogenesisi gerçekleştirmiş, durum buğdayı ve hekzaploid *Hordeum x Triticum* melezinin olgunlaşmamış embriyolarından somatik embriyogenesis yoluyla bitkilerin rejenerasyonunu, farklı 2,4-D konsantrasyonlu MS ortamında sağlamıştır. 1-2 haftalık skutellar dokudan yüksek frekansa, iyi olarak ifade edilen şekillenmiş embriyoidlerden bitkicikler elde etmiştir. En iyi durumdaki eksplanttan 100'den fazla bitkicik elde edilmiştir. *Hordeum chilense L. x Triticum turgidum convar. Durum* melezlerinin çiçeklerinden somatik embriyogenesis yoluyla da bitkilerden rejenerasyon sağlamıştır. Bunlar hekza-amfidiploidler olarak ifade edilmiştir. 6x ve 8x *Hordeum x Triticum* amfidiploidlerinin kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasiteleri arasında farklılıklar bulunmuştur. *Hordeum chilense L. x Triticum aestivum L.*'den elde edilen amfidiploidler arasında ise çok küçük farklılıklar saptanmıştır.

Hunold (1989), farklı arpa genotiplerinde eksplantlarının hastalıklara dayanıklılık için in-vitroda seleksiyonunu gerçekleştirmiştir; *Drechlera teres*'e farklı düzeylerde dayanıklılık gösteren 10 arpa genotipini, hastalıklara dayanıklılık ve invitrodaki doku kültürü tepkilerini görmek için denemiştir. Kallus oluşum frekansı ve kültürlerin oluşturduğu toplam kallus ağırlıkları bakımından, genotipler ve kültür ortamları arasında

önemli farklılıkların ($P < 0.05$) olduğunu belirlemiştir. Yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip olgunlaşmamış embriyolar, kallus kültürlerini oluşturmak için, eksplant olarak kullanılan olgunlaşmamış çiçeklerden ve olgun embriyolardan daha uygun olduğunu saptamıştır. 5 mg/L 2,4-D içeren MS ortamında en yüksek kallus oluşturma frekansı (%57-90.3) elde etmiştir. 1mg/L benziladenin ve 0.5 mg/L NAA katılmış bir rejenerasyon ortamı, %12.2 ile %35.9 oranında sürgün oluşturmıştır. Alt kültürler yapılmasına devam edildikçe sürgün gelişim frekansı azalmıştır.

Lu ve Huang (1990), in-vitroda, *Hordeum vulgare* L.'nin olgunlaşmış embriyoların mekanik olarak kesilmesinin, kallus kültürlerindeki etkilerini araştırmıştır. Yazlık Humayi arpa çeşidinin bütün embriyolarıyla, enine ve boyuna ortadan ayrılmış 10 embriyosu kullanılarak; bunların in vitroda, sürme, kallus oluşturma ve bitki rejenerasyonları karşılaştırmıştır. Kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonda kesilen embriyolar, bütün embriyolara göre daha iyi sonuç vermiştir. Boydan boya kesilmiş yarım embriyolar normal bitkiler oluşturabilmişlerdir.

Ziauddin ve Kasha (1990), diploid arpanın uzun ömürlü kallus kültürü oluşturmada ve kallus kültürünün sürdürülmesinde oksinlerin etkisini araştırmışlardır. Bruce arpa çeşidinde embriyonik kallus başlatmak ve kültürün yaşamasını sürdürürebilmek için IAA veya NAA eklenmiş B5L ortamına göre; 2,4-D eklenmiş B5L ortamının daha iyi sonuç verdiğini ve 2 mg/L 2,4-D kallus başlatmak için en iyi ortam olduğunu saptamışlardır. Embriyonik kallusların elde edilmesi için embriyonun büyüklüğünün embriyonun yaşından daha önemli olduğunu belirlemişlerdir. 5 mg/L 2,4-D ve 10 mg/L NAA'dan daha yüksek konsantrasyonlardaki oksinlere, kallusların kısa süreli (20-40 gün) maruz bırakılması bile yeniden oluşan bitki rejenerasyonunu engellemiştir. Araştırmada uzun süreli kallus kültürlerinin sürdürülmesinde, embriyonik kallusların en iyi üretimi, 0.1 ve 1 mg/L 2,4-D eklendiğinde sağlandığı gözlenmiştir.

Komatsuda vd (1991), *Hordeum vulgare* L.'de V-v lokusuyla bağlantılı, bitki rejenerasyonunu genetik faktörlerle artırma çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. Morfolojik olarak tohum sıra sayısı için markör olan V-v lokusu, rejenerasyon kapasitesiyle bir bağının olup olmadığını araştırmak için analiz edilmiştir. İki sıralı Kanto ile altı sıralı Azumamugi kültür çeşidi arasında yapılan melezlemeden , F₁, F₂, P₁ ve P₂ bitki popülasyonlarının olgunlaşmamış embriolarından kallus oluşumu ve sürgün gelişimi sağlanmıştır. Rejenerasyon için 0.76 oranındaki kalıtım derecesinden dolayı, genetik faktörlerin kesin olarak rejenerasyonu desteklediği vurgulanmıştır. Rejenerasyon oranı dane sıra sayısı ile birlikte ele alınarak; iki sıralı çeşitlerde kromozom 2'deki v allelinin gen veya genlerle olan bağından dolayı bitki rejenerasyonunu artırdığı saptanmıştır.

Funatsiki vd (1991), arpa türlerinde somatik hibridizasyonu gerçekleştirmek amacıyla yaptığı çalışmada, elverişsiz çevre koşullarına dayanıklı yabani bir tür olan *Hordeum murinum* L.'nin olgunlaşmamış embriolarından oluşan kalluslardan sıvı kültürler hazırlamışlardır. Bu hücrelerden bitki rejenerasyon frekansı yüksek ve morfogenetik kapasitesi 1 yıldan fazla korunabilen kalluslar elde edilmiştir. Somatik hibridizasyonda, seçici markör gibi fonksiyonu olan ve değiştirilmiş bir gen içeren *Hordeum vulgare* L. hücre hatlarından süspansiyon kültürü oluşturulmuştur. *Hordeum vulgare* L. ile *Hordeum murinum* L. arasındaki protoplast füzyonu, polietilen glikol kullanılarak (PEG) yürütülmüş; füzyon ürünlerinin seçimi ve kültürün bu gelişmelere bağlı olduğu belirtilmiştir.

Ruiz vd (1991), arpada somatik embriyogenesi, bitki rejenerasyonunu ve somaklonal varyasyonu incelemişlerdir. Çalışmada olgunlaşmamış embriyo ve genç yapraklar eksplant olarak kullanılmış, çeşitlerden ikisi düşük oranda embriyonik kallus oluştururken; öteki üç çeşit yüksek oranda embriyonik kallus oluşturmuştur. Bu üç çeşitten ikisi genç yaprak eksplantlarından olgunlaşmamış embriyoya göre daha iyi embriyonik kallus oluştururken; biri olgunlaşmamış embriyodan daha iyi sonuç vermiştir. Bu sonuçlar, arpada embriyonik kallus başlatmada genotip x eksplant interaksyonunun önemli olduğunu göstermiştir. Ayrıca 1-6 aylık arpa kallus

kültürlerinden elde edilen rejenere bitkilerde somaklonal varyasyonun çok sık görülen bir olay olmadığı ifade edilmiştir.

Jaehna vd (1991), rejenerasyon kapasitesindeki tahıl doku ve hücre kültürlerinin, hücre duvarını eriten enzimlerle muamele edilmesiyle, rejenere olabilir protoplast kültürlerinin elde edebileceğini düşünerek; çeltikte, mısırdaki ve daha sonra da arpada rejenere olabilir protoplast kültürleri elde etmişlerdir.

Ohkoshi vd (1991), 181 arpa çeşidini, olgunlaşmamış arpa embriyolarından kallus oluşumu ve rejenerasyonunda, çeşitler arasında varyasyonun olup olmadığını araştırılması için, modifiye edilmiş MS ortamında kültüre almışlardır. 2 mg/l 2,4-D, 20 gr/l sakkaroz, 2gr/l jelrit, N6 makro ve mikro elementleri ve MS vitaminler eklenerek hazırlanan kültür ortamı kullanılmıştır. Eksplantların kültür ortamına aktarıldıktan sonraki 20. günde kalkancık (scutellum) büyümesinde (% 0-100 arasında) geniş bir varyasyon gözlenmiştir. Kallus oluşturan kültürlerin çapı 5.0-14.6 mm arasında, oluşan kallusların rejenerasyon oranları ise % 0-68 arasında varyasyon göstermiş, kallus oluşumundaki ve rejenerasyondaki varyasyonun genetik faktörler tarafından kontrol edildiği tahmin edilmiştir.

Taniguchi vd (1991), 176'sı altı sıralı ve 27'si iki sıralı olan, Japonya ve introduksiyon arpa çeşitleri arasındaki kallus ve rejenerasyon kapasitelerini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada; 2 mg/l 2,4-D içeren modifiye edilmiş N6 ortamında 193 çeşitten üretilen kallusların çoğu yumuşak, sulu, yarı saydam ve zayıf olmuştur. Bazı iki sıralı arpa çeşitlerinde ikincil kallus büyümesi ancak 2,4-D miktarı 5 mg/l'ye çıkarılarak sağlanabilmektedir. rejenerasyon sağlanabilen 14 çeşitten 6'sı altı sıralı, 8'i ise iki sıralı arpalardır.

Shakib (1992), Zarjom ve Valfajr arpa çeşitlerinin olgunlaşmamış embriyolarını ve genç çiçeklerini, ışık ve karanlıkta 2mg/l 2,4-D eklenmiş MS ortamında kallus oluşturma amacıyla kültüre almıştır. Araştırmada olgunlaşmamış embriyolar kallus oluştururken, genç çiçek eksplantları 2 alt kültür yapılmasına karşın hiçbir tepki

vermemiştir. Kallus oluşumunda ve zigotik embriyo gelişimindeki varyasyon çeşit ve çevre koşullarına bağlanmıştır. Kallus oluşumu karanlıkta aydınlıktakine oranla daha yüksek olmuştur. Zarjow çeşidinin kallus oluşum sürecinde ve zigotik embriyo oluşumunda Valfajr'dan daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır.

Li vd (1992), 12 arpa çeşidinin embriyolarını rejenerasyon sağlamak için kültür almışlardır. 0.5 ve 1mg/l kinetin ve 0.5 mg/l 2,4-D eklenmiş N6 ortamında, yüksek frekansta bitkicik rejenerasyonu sağlanmıştır. Kültür periyodu sırasında, kalluslar 4 morfolojik yapı içerisinde sınıflandırılmıştır. Yumuşak sulu kalluslar (WC), tombul kalluslar (CC) , yalnız kökleri rejenere olan kalluslar (RC) ve yalnız sürgünleri rejenere olanlar (SC) olarak sınıflandırılmışlardır. Tombul kalluslar rejeneratif özellikleriyle yumuşak sulu kallusların yüzeyinde çoğalmışlardır. Tombul kallusların hem organogenesis ve hem de embriyogenesis yoluyla bitki rejenerasyonunu sağlayabildiği ortaya konulmuştur. En yüksek orandaki bitkicik rejenerasyonu Haruna Nijo iki sıralı arpa çeşidinde gözlenmiştir. Denemede farklı kallus tiplerinin kullanılmasıyla peroksidaz, asteraz ve alkol dehidragenez zimogramlarında gözle görülür varyasyonlar oluşmuştur. Bunların arasında, alkol dehidragenez zimogram analizlerinin, kallus kültürleri ve süspansiyon kültürlerinde, rejeneratif hücrelerin seçilmesi için en kullanışlı yaklaşımın olabileceği belirlenmiştir. Peroksidazın, kallusların rejenerasyonunda , sürgün ve köklerde meydana gelen değişikliklerde etkili olduğu ortaya çıkmıştır. Esterozinin ise dokuların oluşmasında ve embriyonun oluşmasında etkili olduğunu belirlemiştir.

Park vd (1993), olgunlaşmamış haploid buğday embriyolarından elde edilen kalluslardan, rejenere bitkiciklerin sürgünlerle çoğaltılmasını gerçekleştirmişlerdir. Araştırmada, buğday ile arpa (*Hordeum bulbosum* L.) melezlemesinden elde edilen haploid buğday embriyolarından, içerisinde 1 ve 2 ppm 2,4-D bulunan yarım MS (0.5 MS) ortamında, kalluslar elde edilmiştir. Daha sonra 2,4-D'siz yarım MS (0.5 MS) ve Gamborg'un B5 ortamına aktararak sürgünler başlatılmıştır. Kallusların oluşumu en yüksek 1 ppm 2,4-D ile gerçekleşmiş ve her iki ortamda da en yüksek bitki rejenerasyon oranı elde edilmiştir. Yarım MS (0.5 MS) ortamında, her kallusun ürettiği sürgün sayısı

B5'ten olmasına karşın, B5 ortamındaki bitki rejenerasyonu daha iyi olmuştur. Bir kallustan oluşan rejenere sürgün sayısının 1 ile 14 arasında değiştiği belirtilmiştir.

Liu vd (1993), arpa protoplast kültüründen embriyonik kallus oluşumunu ve albino bitkicik rejenerasyonunu sağlamak amacıyla yaptıkları çalışmada; yazlık arpa çeşitlerinin tohum eksplantlarından gevrek yapıda embriyonik kalluslar oluşturmuşlardır. 3 mg/l 2,4-D, 0.2 mg/l kinetin, 200 mg/l kazein hydrolysate, 300 mg/l glutamin ve 30 gr/l sakkaroz ilave edilen MS ortamında yazlık bir arpa çeşidi olan Ruche nin tohum eksplantları kültüre alınmış, bu kültürlerden kalıcı kalluslar üretilmiştir. Bu kalluslardan elde edilen embriyonik hücre suspensiyon kültürlerinden enzimatik yollarla bol miktarda protoplast izole edilmiştir. Modifiye edilmiş MS ortamında kallus oluşumu, koloni oluşumu ve protoplastların bölünmeyi sürdürmesi sağlanmıştır.

Rikiishi ve Yasuda (1994), Okayama Üniversitesi koleksiyonundan 132 arpa çeşidinde, olgun ve olgunlaşmamış embriyoların kallus ve rejenerasyon oluşumu arasında fark olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada Etiyopya kökenli çeşitlerde düşük kallus oluşturma özelliği belirlenmiştir. Olgunlaşmış embriyolardan oluşan kalluslar, 3 Japonya kökenli çeşit dışında, genellikle sürgünler rejenerasyon özelliğini yitirmişlerdir. Olgunlaşmamış embriyolardan oluşan kalluslarda da sürgün rejenerasyon frekansı bir dereceye kadar daha yüksek bulunmuştur. Kore ve Japonya kökenli birçok çeşit ile birkaç Etiyopya ve Kuzeydoğu Asya kökenli çeşidin yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip oldukları saptanmıştır. Her iki eksplantta da kallus oluşumu genotiple ilişkilendirilmiştir. Sürgün rejenerasyon yeteneği ile köklenme yeteneği arasında bir ilişki bulunamamıştır. 2 ve 6 sıralı arpa çeşitleri arasında sürgün rejenerasyonu yeteneği yönünden bir farklılık bulunamamıştır.

Mano vd (1994), 99 arpa çeşidinin olgunlaşmamış embriyoları ile yaptıkları in-vitro çalışmasında, bitki rejenerasyonu ve kallus oluşumu açısından çeşitler arasında geniş ve sürekli bir varyasyonun bulunduğunu saptamışlardır.

Preben (1994), fertil yumurta hücrelerinin bulunduğu kısımları mekanik olarak parçalayıp; bu hücrelerden protoplastlar elde ederek kültür ortamına koymuşlar, bu kültürlerden daha sonra kallus oluşumunu ve rejenerasyonu gerçekleştirmişlerdir.

Mouritzen ve Holm (1994), arpanın mikrospor kültürlerinde kloroplast genomunun bozulmasının, ilk rejenerasyon sırasında ortaya çıkaracağı sorunları araştırmışlardır. Plastidlerdeki genom kayıplarının (delesyonlarının) neden olduğu albinizmin ilk olarak rejenerasyonda ortaya çıktığı belirtilmiştir. Aleksis arpa çeşidinin mikrospor kültürlerinden DNA'nın Southern Blot Yöntemiyle analiz edilmesi bu sonucu göstermiştir. Aleksis çeşidi mikrospor kültüründe hasta olarak tanımlanan embrioidler üretmek tepki vermiş ve düşük bir frekansta rejenere bitki oluşturabilen kalluslar oluşturmuştur. İğri çeşidinin tersine, sadece %66 yeşil ve % 61 albino bitkicik herbir anterden rejenere olmuştur. İğri çeşidinden iyi olarak ifade edilen embrioidler şekillenmiştir. Herbir anterden 11.7 yeşil bitkicik ve 0.1 albino bitkicik rejenere olmuştur. Aleksis çeşidinde, plastid genomlarının, mikrospor kültürü sırasında bozulmadan kaldığı görülmüştür. Fakat rejenerasyon başladığında yapısında bozulmalar başlamıştır. Bu gelişme yaprak oluşumu ve farklılaşmaya paralel olarak hızlanmıştır. İğri mikrospor kültürlerinde, kallusların ve albino bitkiciklerin oluşumu, yükseltelen sıcaklıkla ve özellikle kültürün ilk onuncu günündeki rejenerasyon safhası boyunca sürdüğünü bildirmişlerdir.

Kortha vd (1994), arpanın ve buğdayın genetik mühendisliği çalışmalarında kullanmak için, genetik yapısında kalıcı değişiklikler meydana getirilmiş hücre hatlarını elde etmişlerdir. Embriyonik olmayan hücre kültürleri içinde biyolistik yöntemin ortaya çıkmasıyla pRC62 plazmidi geliştirilmiş ve bu yöntemle buğday ve arpanın kalıcı değiştirilmiş hücre hatları elde edilmiştir. Enzim Tahlilleri ve Southern Hibridizasyon Tekniği, buğday ve arpa genomları içinde kalıcı bir şekilde entegre olan kimerik genleri ve fonksiyonel olanların anlamlarının olduğunu doğrulamıştır. Buğday ve arpa hücrelerine yabancı genlerin kalıcı bir şekilde geçişi ve etkili bir şekilde ortaya çıkması, buğday ve arpanın genetik mühendisliği çalışmalarındaki başarıyı arttıracakını belirtmiştir. Bununla birlikte, gen transfer edilmiş hücrelerden fertil bitkilerin

rejenerasyonu için etkili sistemin eksikliğinin en büyük problem olarak görüldüğünü bildirmiştir. Bu problem, buğday ve arpanın skuteller dokularından izole edilen eksplantlardan rejenere olan bitkilerle ve somatik embriyogenesi artırmak için geliştirilen sistemlerle çözülmeye çalışılmıştır. Skutellumlar, kendine fertil transgenik buğday bitkilerinin basit ve sürekli bir şekilde üretilmesi için gerekli bir sistemin geliştirilmesinde başarıyla kullanılmıştır. Bu sistemin kullanılmasıyla transgenik buğday bitkilerinin taşıdığı BAR, GUS ve NPT genleri üretilmiştir. Moleküler ve biyokimyasal analizlerde R0 ve R1 transgenik bitkilere transfer edilen genlerin (fonksiyonel verimli) uygun şekilde taşınması ve stabil olan bir entegrasyonun gerçekleştiği belirlenmiştir. R1 ve R2 generasyonunda BAR geninin mendel kurallarına uygun davranış gösterdiği belirlenmiştir. Sistem, transgenik arpa bitkilerinin üretimi için optimize edilmiştir. Buğday ve arpada, pratik bir gen transfer sistemin oluşması için bu sistemin geniş bir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.

Xiang vd (1995), 6 sıralı France arpa çeşidinden izole edilen mikrosporların invitro kültürünü yapmış ve bitki rejenerasyonunu gerçekleştirmiştir. France arpa çeşidinden izole edilen mikrosporlar 4°C de 4 haftalığına uygun ortamda bekletilmiştir. Daha sonra mikrosporlar, 60gr/L maltoz ve 1 mg/L BA eklenmiş MS ortamında 25°C de karanlıkta kültüre alınmıştır. 7 gün sonra bu kültürlerden kallus hücre parçaları görülmeye başlanmıştır. 3 hafta sonunda hücrelerdeki bölünme hızı en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Bu parçaların % 80'e yakını embriyo benzeri yapılar oluştururken, geride kalanlar kallus oluşturmıştır. Bu kültürler, içinde 1mg/L BA, 0,2 mg/L NAA ve 0,2 mg/L Zeatin bulunan % 50' lik MS ortamında kültüre alındığında; embriyo benzeri yapıların % 39'u yeşil bitkicikler, % 28'i albino bitkicikler oluştururken, kallusların % 18'i yeşil bitkicik ve % 44'üde albino bitkicikler oluşturmıştır.

Ganeva vd (1995), bitkilerin invivo ve invitroda yabancı oksinlere karşı tepkisinin genetiksel olarak kontrolünde, *Triticum aestivum* L.'nin 4A ve 4D ile *Hordeum vulgare* L.'nin 4H kromozomlarının etkilerini araştırmışlardır. *Hordeum vulgare* L. cv. *Betis* çeşidinden 4H kromozomu içeren 'Chinese Spring' çeşidi içindeki bir dizomik buğday hattından ve 4A ve 4D kromozomları bakımından tetrazomik 'Chinese Spring'

genotiplerinden olgunlaşmamış embriyolar elde edilmiştir. Bunların 2,4-D içeren kallus oluşturma ortamındaki davranışları araştırılmıştır. Yabancı kaynaklı 4H, 4A ve 4D kromozomlarının, embriyoyu ve yabancı kaynaklı oksinlerin kallus kültüründeki tepkilerini önemli derecede etkilediği belirlenmiştir. Sonradan ilave edilen bu kromozomların ve 2,4-D konsantrasyonunun, bu hatlardan elde edilen olgunlaşmış tohumların çimlenmesine etkisi analiz edilmiştir. İn vivo da, 4H kromozomunun kök oluşumu ve koleoptil gelişmesini teşvik ettiği belirlenmiştir. Fakat 2,4-D'ye reaksiyonda veya bireysel olarak bitki organları için kritik oksin eşığının belirlenmesinde etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. *Hordeum vulgare* L.'nin 2H ve *Triticum aestivum* L.'nin ikinci homolog kromozom grubunun, invitrodaki bitkinin dış kaynaklı oksinlere gösterdiği reaksiyona etkisini araştırmışlardır. *Hordeum vulgare* L. cv *Betjes*'ten 2H kromozomu içeren *Triticum aestivum* L. türünün 'Chinese Spring' dizomik adisyon hattından ve tetrazomik 'Chinese Spring' genotiplerinden elde edilen olgunlaşmamış embriyolar, 1 ve 2,2 mg/l 2,4-D içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Daha sonra da kallus oluşumu ve somatik embriyogenesis için değerlendirilmiştir. Sonuçlar göstermiştir ki; Homolog iki grup buğday kromozomlarının sayısının artması veya 2H kromozomunun dizomik hattı, invitroda yabancı kaynaklı oksinlere embriyonun reaksiyonunu değiştirmiştir. 2A'nın 4 dozu veya 2D kromozomları, daha düşük 2,4-D konsantrasyonlarında toplam kallusların üretimi ve embriyonik kallusların üretimini her bir tetrazomiklerle arttırmıştır. Betzes çeşidinin koleoptillerinin içsel oksin miktarı buğdayın oksin miktarından 2 kat daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar göstermiştir ki; 2H, 2A, 2B ve 2D kromozomları, in vivo da içsel kaynaklı oksin seviyesinin düzenlenmesinde kromozomların parçalarının görev almakta olduğu tespit edilmiştir. En büyük etkiyi ise 2D kromozomunun uzun kolunun yapmakta olduğu belirtilmiştir.

Hagio vd (1995), higromisine dayanıklı markörler kullanılarak transgenik fertil arpa bitkilerinin üretilmesini sağlamışlardır. GUS genleri ve higromisine dayanıklılık (hph) gösteren pBC1 plazmid, mikropjektill bombardmanı yöntemiyle 4 kültür çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarına nakledilmiştir. Daha sonra içerisinde 2 mg/l 2,4-D ve 1mg/l Benziladenin bulunan MS ortamında 1 haftalığına kültüre alınmıştır. Eksplantlar, her 4 haftada higromisin B'nin artan konsantrasyonlarını (10, 20 ve 30 mg/l) içeren

seçme ortamına transfer edilmiştir. 30 mg/L higromisin B içeren (hormonsuz MS) bitki rejenerasyon ortamında, yaşayabilir sürgünler üreten kalluslar kök gelişim (% 50'lik MS ortamı) ortamına transfer edilmiştir. 3450'den fazla olgunlaşmamış embriyodan, 18 higromisine dayanıklı bitkicik elde edilmiş ve bunlar toprağa nakledilip yaşam çemberine devam etmeleri sağlanmıştır. 'Southern Hibridizasyon' ve 'GUS' tahlilleriyle higromisine dayanıklı bitkilerde 'hph' geninin varlığı doğrulanmıştır. Daha sonra transgenik bitkiler olgunlaşabilmiş ve olgunlaşmış tohum elde edilmiştir. İki bağımsız higromisine dayanıklı bitkilerin yeni nesillerine 'hph' geninin geçtiğini Southern Hibridizasyon yöntemi doğrulamıştır.

Salmenkallio ve Kauppinen (1995), arpanın mikrospor kültürlerinden izole edilen protoplastlardan fertil bitkilerin etkili rejenerasyonu üzerinde çalışmış ve Kymppoo çeşidinin 3-4 haftalık mikrospor süspansiyon kültürlerinden protoplastlar izole etmişlerdir. Modifiye edilmiş L1 ortamında kültüre alınan protoplastlardan mikrokalluslar elde etmişlerdir. Bu mikrokalluslardan embriyonik yapılar elde edilmiştir. Bu yapılar daha sonra modifiye edilmiş MS ortamına nakledilmiştir. Bu protoplast kültürlerinden 1 ile 20 arasında değişen frekanslarda yeşil bitkicikler rejenere olmuştur. 10 cm'ye ulaşan bitkicikler toprağa aktarılmıştır.

Rikiishi vd (1995 a), 82 *H. spontaneum* L. 13 *H. agriocrithon* ve 87 kültür arpa çeşidi arasında olgunlaşmamış embriyolarından meydana gelen kalluslarda sürgün rejenerasyonunu karşılaştırmışlardır. Yabani ve kültür çeşitleri arasında sürgün rejenerasyon kapasitesi ve kültür çeşitlerinin Doğu ve Batı kökenli olması bakımından önemli farklılıkların olduğu belirtilmiştir. Fakat Doğu ve Batı kökenli yabani hatlar arasında bu farklılık belirlenmemiştir. 95 yabani hattın 85'inde rejenerasyon gözlenmiştir. Ortalama olarak, *H. spontaneum* L. da kallustan rejenere sürgün oluşturma oranı % 21.4 olurken, *H. agriocrithon* L. da % 23.9 olmuştur. Kültür çeşitlerinin 73'ünde % 3.2 ile % 85 arasında kallustan rejenere sürgün oluşmuştur. Yabani ve kültür hatları arasında, yeşil sürgün oluşturma oranları arasında da önemli farklılıklar bulunmuştur. Kültür çeşitlerinde % 86.6 iken yabanilerde % 53 olmuştur.

Köksoy (1995), kallus kültürleri diğer organ kültürlerinden farklı olarak, parankimatik dokuların hormon kapasitesine sahip olmaması nedeniyle hormona ihtiyaç duyduklarını bildirmişlerdir. Bu amaçla kullanılan hormonların IAA (İndol asetik asit), NAA (Naftalin asetik asit) ve 2,4-D (2,4 diklor fenoksi asetik asit) olduğunu bildirmişlerdir. Bu hormonların kallus gelişiminin ve hücre bölünmesinin teşvik edilmesinde esas rol oynayan faktörler olduğunu belirtmişlerdir.

Oka vd (1995), Haruna nijo arpa çeşidinin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriolarında, kallus başlatma ve morfogenezisleri üzerine histolojik incelemeler yapmıştır. 2 mg/L 2,4-D ve 5 mg/L pikloram içeren MS ortamında kalluslar oluşturulmuştur. Olgunlaşmamış embriyoda skutellar epidermisten meydana gelen gevrek kırılğan (nodüler kompakt) kallusta ve olgunlaşmış embriyolarda, yaprağın epidermal hücrelerinden veya koleoptilden meydana gelen gevrek kırılğan (nodüler kompakt) kalluslardan meristemler rejenera olmuşlardır. Eksplant kaynağı dikkate alınmısa; somatik embriyogenesis içindeki rejenerasyonun az olmasına rağmen, organogenesis içindeki rejenerasyon daha fazla olmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolardan kallus oluşturulması söz konusu olduğunda; gevrek-kırılğan (nodüler-kompakt) kallusların embriyogenik kalluslardan daha fazla önem taşıdığı belirtilmiştir.

Walmsley vd (1995), Avusturalya kökenli 7 arpa çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarıyla yaptıkları çalışmada, gen aktarımı çalışmaları için en uygun doku kültürü şartlarını belirlemeye çalışmışlardır. Bu materyallerle, bitki rejenerasyonu ve embriyonik kallus başlatılmasında uygun doku kültürü şartları test edilmiştir. Bandula, Clipper, Schooner ve Tallan arpa çeşitleri için en uygun doku kültürü şartları belirlenmiştir. Arpada genetik mühendisliği çalışmaları için rejenerasyon frekansının artırılması ve en uygun şartların belirlenmesinin çok önemli olduğu belirtilmiştir. Uygun kültür şartlarını belirlemede, 2,4-D konsantrasyonu, mineral madde kompozisyonu karbon kaynağı ve olgunlaşmamış embriyo kaynağı değişken olarak kullanılmıştır. En uygun kültür ortamı kompozisyonu kültür çeşitleri arasında farklılık göstermiştir. Skutellar dokudan izole edilen kültürden sürgün rejenerasyon oranı 4

kültür çeşidinin hepsi için düşük olmuştur. İki eşit parçaya bölünmüş embriyolarda, Clipper, Schooner ve Tallan en çok sürgünü üretmişlerdir. Bandula bütün olgunlaşmamış embriyolarında en iyi sonucu göstermiştir. Clipper (maltlık) ve Bandula (yemlik) gen aktarımı için Avusturalya kültür çeşitlerinin modeli olarak önerilmiştir. Bandula'nın olgunlaşmamış embriyolarının herbiri en uygun kültür şartlarında 5.3 adet sürgün oluşturmıştır. Clipper'in olgunlaşmamış embriyolarının herbiri ise en uygun şartlarda 10.1 adet sürgün oluşturmıştır.

Bregitzer vd (1995), (totipotent) sürgün oluşturabilen tahıl kalluslarının üretiminde ve kültür ortamında yetiştirilmesinde sentetik oksin olan 2,4-D kullanımının önemli rol oynadığını, bununla birlikte totipotansinin kaybedilmesinde de etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. 2,4-D'nin düşük konsantrasyonları ile rejenerasyon kapasitesinin uzunluğu ve yeniden oluşan yeşil bitkiciklerin sayısı arasında pozitif bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Arpada kallus başlatılması için kullanılan fenil asetik asitin, 2,4-D ile kıyaslandığında çok zayıf kaldığını bildirmişlerdir.

Dahleen (1995), arpa kallus kültürlerinden bitki rejenerasyonunu geliştirmek amacıyla farklı bakır sülfat (CuSO_4) dozlarını denemiştir. Olgunlaşmamış arpa embriyolarının kültürünün yapıldığı, kallus oluşum ortamı, kallus büyüme ortamı ve rejenerasyon ortamı gibi ortamlara bakır sülfatın (CuSO_4) farklı dozları eklenmiştir. Hektor ve Excel kültür çeşitlerinin olgunlaşmamış embriyoları, 100, 50, 10, 5, 1, 0.5 ve 0.01 μM bakır sülfat (CuSO_4) bulunan MS ortamında kültüre alınmıştır. 8. haftadan başlamak üzere 36. haftaya kadar bitkicikler rejenere olmuşlardır. Hektor çeşidi, 50 μM bakır sülfat (CuSO_4) bulunan ortamda, diğer ortamlara göre önemli derecede fazla sayıda bitkicik oluşturmıştır. Ortalama olarak her bir embriyodan 17 bitkicik oluşmuştur. 0.1 μM bakır sülfat (CuSO_4) içeren MS ortamında, Hektor için her embriyodan 5 bitkicik rejenere olmuştur. Excel için 5 μM bakır sülfat (CuSO_4) içeren ortamda, ortalama 1.4 bitkicik rejenere olarak en iyi sonuç elde edilmiştir. Fakat bu bitkiciklerden hiçbirinden rejeneratif bitki elde edilememiştir. Her iki kültür çeşidinde de en azından bir bitkiciğin rejenere olduğu embriyoların yüzdesini, artan bakır sülfat (CuSO_4) seviyeleri arttırmıştır. Bu sonuçlar, arpa kallus kültürleri için bakır sülfat (CuSO_4) seviyesinin en

uygun miktarının belirlenemediğini fakat iyi bir bitki rejenerasyonunun daha yüksek bakır konsantrasyonunda elde edilebileceği belirtilmiştir.

Sheng ve Xuegin (1995), olgunlaşmamış arpa embriyolarından elde edilen protoplastlardan yeşil bitki rejenerasyonunu sağlamak için bir çalışma yapmışlardır. Yong257 arpa çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarını bitki materyali olarak kullanılmıştır. 2-4 mg/l 2,4-D ile modifiye edilmiş B5 sıvı ortamında, olgunlaşmamış embriyolar kültüre alınmıştır. Bu kültürler 2-3 hafta sonra hücre süspansiyon kültürü için 4 mg/l 2,4-D içeren AA sıvı ortamına nakledilmiştir. Alt kültür yapıldıktan sonra meydana gelen 3-5 günlük hücre süspansiyon kültüründen protoplastlar izole edilmiştir. Daha sonra 5 dakikalığına 45°C' lik sıcaklık şokunun ardından, 10 saniye buzda tutulmuştur. Bu sırada protoplastlar, içinde 0.5 mg/l 2,4-D ve zeatin 1 mg/L NAA ve % 10 glikoz içeren ortamda kültüre alınmıştır. Rejenere hücrelerdeki ilk bölünmeler 5-7 gün sonra görülmeye başlanmıştır. 0.2-0.5 mm boyutundaki mikrokalluslar, farklı sitokinin seviyeleri olan N6 farklılaştırma ortamına transfer edilmiş ve 3-4 haftada yeşil bitkicikler rejenere olmuşlardır. Elde edilen protoplastlardan modifiye edilmiş B5 sıvı ortamında rejenerasyonun elde edildiğini belirtmişlerdir.

Bregitzer ve Paulson (1995), doku kültüründen meydana gelen arpa genotiplerinin agronomik performanslarını incelemişlerdir. Genetik manipulasyonların bitki ıslahında pratik olarak uygulanmasının, bu bitkilerin seçilememesi ve potansiyel olarak istenilmeyen somaklanol varyasyon nedeniyle engellendiği belirtilmiştir. Somaklonal varyasyonsuz, doku kültürlerinden, yeniden kültür çeşitlerini elde etmek için; potansiyeli belirlemede, altı sıralı arpa çeşitlerinin doku kültürlerinden oluşturulmuş 30 akraba hat analiz edilmiştir. Doku kültürü sırasında beklenilmeyen değişiklikler belirlenmiştir. Agronomik değişikliklerde ve sıklığında kültür çeşidine bağlı farklılıklar kaydedilmiştir. Varyasyonun en önemli kaynaklarından birinin kültür çeşitleri arasındaki akrabalıklar olduğu belirlenmiştir. Fakat soy içindeki seçimin önemli bir varyasyon kaynağı olmadığı ifade edilmiştir. Somaklonal varyasyon olmadan, doku kültüründen oluşan arpa genotiplerinin başarılı seçiminin kültür çeşitlerine bağlı olabileceği belirtilmiştir. Bu nedenle rejenere bitkilerin büyük bölümünün izlenmesinin gerekli

olabileceği ifade edilmiştir

Rikiishi vd (1995 b), lokal arpa çeşitlerinde olgunlaşmış embriyolardan meydana gelen kallusların kök oluşturma yeteneğindeki farklılıkta, çeşit varyasyonu ve coğrafik farklılıklar değerlendirilmiştir. Dünyanın farklı bölge ve ülkelerinden toplanan 269 lokal arpa çeşidinden 85'i farklı köklenme özelliği göstermiştir. Japonya, Kore, Çin, Nepal, Türkiye ve Kuzey Afrika'dan toplanan çeşitler % 1-5 oranında düşük bir oran gösterirken; Kuzeydoğu Asya, Avrupa ve Etiyopya kökenliler %13-19 gibi yüksek bir oranda varyasyon göstermişlerdir. Kırılğan olmayan başak eksenine sahip arpa çeşitleri arasında, 2 sıralı ve 6 sıralı çeşitlerle, kavuzlu ile kavuzsuz çeşitlerin ortalama köklenme yüzdelерinde farklılık görülmemiştir. Arpa çeşitlerinin kök oluşturma yeteneklerindeki varyasyonu coğrafik dağılım etkilememiştir. Ayrıca kırılğan olmayan başak sapına sahip tiplerde kök oluşturma özellikleri btBt2 genotipi ile ilgili olduğu belirtilmiştir.

Vitanova vd (1995), kültür arparının rejenerasyon kapasitelerine 2,4-D'nin etkisinin araştırmak amacıyla bu araştırma yapmıştır. Ruen çeşidinin olgunlaşmış embriyoları kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu için 28 günlüğüne BG ortamında (2-10 mg/l 2,4-D Eklenmiş BG) kültüre alınmıştır. Kallus oluşum oranının 2,4-D ile arttığı belirlenmiştir. Kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonu için en uygun 2,4-D konsantrasyonun 8 mg/L olduğu tespit edilmiştir. Bu ortamdan elde edilen kalluslardan en fazla rejenerasyon 8.7 bitkicik ile bir kültürden elde edilmiştir. Ancak bu kalluslardan elde edilen rejenere bitkilerde, kısa sap, fazladan boğumlar, kısır ve yarı kısır başaklar, şekilsiz tohumlar, uzun tohumlar, klorofillerde anormallikler ve bir kardeşten birden fazla başağın çıkması gibi anormallikler gözlenmiştir.

Mano vd (1996), arpanın bitki rejenerasyonu ve kallus oluşumunda etkili genlerin haritalarının çıkarılması amacıyla yapılan çalışmada; bu özellikleri kontrol eden lokusları (QTLs) etkileyen genleri belirlemeye çalışmışlardır. Haploid iki hat (Steptoe x Morex) melezlenmiş ve genomları katlanmıştır. Bu hatlarda sürgün ve kallus oluşumunu etkileyen 222 markör gen tespit edilmiştir. Bu hatlar arasında her iki özellik

bakımından da önemli derecede ve süreklilik gösteren farklılıklar belirlenmiştir. Bu özelliklerin multitipl tipi genler tarafından kontrol edildiği belirlenmiştir. Ayrıca bu multipl genlerin herbirinin kendi özellikleri olduğu gibi bunların bulundukları noktaya göre de bu iki özelliği etkilediği belirlenmiştir. Melez hatlarda kallus oluşumunda etkili olan genlerin Qcq olarak ifade edildiği belirtilmiştir. Melez hatlardaki kallus oluşumunda etkili iki QTLs'nin Morex'den geldiği ve Qcq1 ve Qcq2 olarak adlandırıldığı, sürgün oluşumunda görevli Qsr4 olarak adlandırılan QTLs den bir tanesi Morex'den; Qsr1, Qsr2, Qsr3 olarak adlandırılan üç QTLs nin Steptoe hattından geldiği belirlenmiştir. Bu multipl gen modelinde kallus oluşumunda etkili olan QTLs ve sürgün oluşumunda ise dört QTLs nin etkili olduğu; bunlarında populasyon içindeki varyasyonda sırasıyla %47.8 ve %49.8 oranında etkili olduğu belirtilmiştir. Yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip hatların seçiminde multipl genlerin durumlarının dikkate alınması gerektiği bu çalışmada belirtilmiştir.

Özgen vd (1996), 7 kışlık durum buğday genotipinin olgun ve olgunlaşmamış embriolarından kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunun en uygun metodunu saptamaya çalışmışlardır. Bu çalışmada olgunlaşmamış embriyolardan kallus oluşumu yönteminde, kendilerinin geliştirdiği 'çıtlatma yöntemi' kullanarak başarılı bir sonuca ulaşmışlardır. Embriyoların endospermden tam olarak değilde, hafifçe ayrılarak (çıtlatılarak) ortama konulmasının çalışmanın en önemli noktası olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmada kallus oluşum oranı ile kallusların rejenerasyon kapasitesi arasında bir ilişki olmadığı belirtilmiştir. Olgunlaşmış embriyoların düşük kallus oluşum frekansına, fakat yüksek rejenerasyon kapasitesine sahip oldukları belirtilmiştir. Hızlı, güvenilir ve her zaman bulunabilmesi göz önünde tutulduğunda; olgunlaşmış embriyo kültürünün bu şeklinin, olgunlaşmamış embriyo kültürü için alternatif bir metot olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Kachhwaha ve Kothari (1996), *H. vulgare L.* ve *H. spontaneum L.* türlerinin olgunlaşmamış embriolarından, 0.5 mg/L kinetin ve 2.5 mg/L 2,4-D eklenmiş B5 ortamında oluşan kallusların rejenerasyonun ve gelişmesinin zayıf olduğunu bildirmişlerdir. Fakat 5 ve 7 mg/L 2,4-D ilave edilen aynı B5 ortamında daha uzun

sürekli ve yüksek oranda bitki rejenerasyonu elde edildiği belirtilmiştir. Daha yüksek 2,4-D seviyesinde meydana gelen embriyonik kalluslar kültüre alındıktan sonraki 10-12 ay içinde sağlıklı yeşil bitki oluşturma potansiyellerini kaybettiklerini bildirmişlerdir. Rejenere bitkilerin köklendirilmesinde, IAA eklenmiş B5 ile sadece B5 karşılaştırılmıştır. Karşılaştırma sonucunda, IAA eklenmiş B5 ortamında daha iyi köklenme gözlenmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Denemede, iki sıralı Tokak 157/37 (501), Kavak 7531 (502) ve Ankara 86 (503) çeşitleri ile, 510, 511 ve 512 nolu hatlar materyal olarak kullanılmıştır. Bu çeşitlerin ve hatların özellikleri aşağıda verilmiştir.

Tokak 157/37 (501): Ankara tohum ıslah istasyonu tarafından 1937 yılında seleksiyonla elde edilmiş ve 1963 yılında tescil edilmiştir. Alternatif özellikte ve kışa dayanıklıdır. İki sıralı, beyaz seyrek başaklı, kışa, kurağa, başak kırılmasına ve hastalıklara dayanması iyidir. Bitki boyu 80-100 cm, başak boyu 8-10 cm ve 1000 tane ağırlığı 45-50 g olan erkenci bir arpa çeşididir.

Kavak 7531 (502) : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü tarafından 1963 yılında tescil ettirilmiştir. Bitki boyu 80-100 cm, başak boyu 8-10 cm, 1000 tane ağırlığı 55-60 g olan iki sıralı erkenci bir arpa çeşididir.

Ankara 86 (503) : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde 1982 yılında tescil seçme yöntemiyle elde edilmiştir. 1986 yılında tescil edilmiştir. Kışa ve kurağa dayanıklılığı iyi, yatmaya dayanıklılığı orta düzeyde, bitki boyu 86-95 cm, başak uzunluğu 6.8-7.9 cm, kavuz rengi açık sarı, 1000 tane ağırlığı 47.8 g olan iki sıralı erkenci kışlık bir çeşittir.

510 Hattı : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde melezleme yöntemiyle elde edilmiş, 6 sıralı, beyaz taneli, kılçıklı, yatmaya, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı, 1000 tane ağırlığı 49 g olan bir hattır.

511 Hattı : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde melezleme yöntemiyle elde edilmiş, 6 sıralı, beyaz taneli, kılçıklı, yatmaya, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı, geçici, 1000 tane ağırlığı 47 g olan bir hattır.

512 Hattı : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde melezleme yöntemiyle elde edilmiş, 6 sıralı, beyaz taneli, kılçıklı, yatmaya, hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı, 1000 tane ağırlığı 53 g olan bir hattır.

3.2. Yöntem

Bu bölüm, çeşit ve hatların yetiştirilmesi, melezlemenin yapılması, eksplant hazırlığı, olgunlaşmış embriyolarda eksplant hazırlığı, olgunlaşmamış embriyolarda eksplant hazırlığı, sterilizasyon, malzemelerin sterilizasyonu, steril saf su hazırlanması, olgunlaşmış tohumlarda yüzey sterilizasyonu, olgunlaşmamış tohumlarda yüzey sterilizasyonu, ortam hazırlığı, kallus ortamının hazırlığı, rejenerasyon ortamının hazırlığı, embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi, olgunlaşmış tohumların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi, olgunlaşmamış tohumların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi, rejenerasyon çalışmaları, alıştırma çalışmaları (aklimatizasyon), sera çalışmaları, fotoğraf çekimleri, istatistik analizi için verilerin alınması ve verilerin değerlendirilmesi başlıkları altında verilmiştir.

3.2.1. Çeşit ve hatların yetiştirilmesi

Çeşit ve hatlar, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü deneme tarlasında, ekim döneminde (15 Ekim 1997), parsellere sıraya ekim yöntemiyle ekilmiştir. Ekilen bu materyaller arasında melezlemeler yapılmıştır. Melez tohumlar dikkatle izlenerek; laboratuvar çalışmalarında kullanım zamanına kadar tarlada doğal gelişme ortamında tutulmuştur. Olgunlaşmamış embriyo eksplantları alındıktan sonra, geride kalan melez hatlar olgunlaşmış embriyo kültürleri için olgunlaşmaya bırakılmıştır.

3.2.2. Melezlemelerin yapılması

1997 ekim döneminde kışlık olarak ekilmiş olan parsellerde, 1998 yılının melezleme döneminde, (10 Mayıs) iki ve altı sıralı arpa genotipleri kendi aralarında tam diallel olarak melezlenmiştir. Melezleme sonucunda aşağıdaki 12 karşılıklı (resiprok) melez kombinasyonu oluşturulmuştur.

2 Sıralı Kombinasyonlar

Tokak 157/37 (501) x Kavak 7531(502)
Kavak 7531 (502) x Tokak 157/37 (501)
Tokak 157/37 (501) x Ankara 86 (503)
Ankara 86 (503) x Tokak 157/37 (501)
Kavak 7531 (502) x Ankara 86 (503)
Ankara 86 (503) x Kavak 7531 (502)

6 Sıralı Kombinasyonlar

510 x 511
511 x 510
511 x 512
512 x 511
510 x 512
512 x 510

Melezlemede Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünde geliştirilen kafes yöntemi kullanılmıştır. Her kombinasyonda en az 10'ar başak kısırlatılıp tozlanmıştır. Böylece 120'den fazla başak kısırlatılıp tozlanmıştır. Kısırlatma (kastasyon) sabahın erken saatlerinde yapılarak, istenilmeyen tozlanmaların engellenmesine çalışılmıştır.

Melezleme sonunda elde edilen melez daneler F1 kuşağı yetiştirmek üzere 1998 yılının Ekim ayında her kombinasyon ayrı sıraya gelecek şekilde tarlaya ekilmiştir. Olgunlaşmamış embriyo dönemini kaçırmamak için melez tohumlar ikiye ayrılarak 15 gün arayla ekilmişlerdir. 1999 yılı ilkbaharında (25-30 Mayıs), olgunlaşmamış embriyoların kültürü için uygun ana başaklar hasat edilip laboratuvara getirilmiştir. Geride kalan başaklar olgunlaşmış embriyo kültürü için tarlada olgunlaşmaya bırakılmıştır.

3.2.3. Eksplant hazırlığı

Çalışmanın laboratuvar aşaması A.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Bölümü biyoteknoloji laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Denemeler 4 tekrarlamalı olarak yürütülmüş olup, her petriye 20 embriyo konulmuştur. Olası olumsuzluklarda materyal sıkıntısı çekilmemesi için her genotipten (4x20=80) 80'den fazla embriyo elde edilmiştir. Olgunlaşmamış embriyoların elde edilmesi, yüzey sterilizasyonu, ortamların hazırlanması, kallus oluşumu ve rejenere bitkilerin yetiştirilmesi için, Lührs ve Lörz (1987), Bregitzer (1992), Ruiz vd (1992)'den ; olgun embriyoların elde edilmesi, yüzey sterilizasyonu, ortamların hazırlanması ve kallusların ve rejenere bitkilerin yetiştirilmesi için ise, Rengel (1987) ile Oka vd (1995)'den yararlanılmıştır.

3.2.3.1. Olgunlaşmış embriyolarda eksplant hazırlığı

Olgunlaşmış embriyolar, tam olarak olgunlaşmış tohumların, iri ve düzgün görünümlü olanlarından elde edilmiştir. Embriyoları çıkarılacak taneler kavuzlarının kolay soyulabilmesi ve bulaşma riskini azaltmak için, önce mekanik olarak boyuna ortadan ikiye ayrılmıştır. Ortadan ikiye ayrılan tanelerin kavuzları soyulmuştur. İkiye ayrılan ve kavuzları soyulan tanelerin embriyolu kısımları 2 saat süreyle 30°C de saf suda bekletilmiştir. Bu işlem embriyoların endospermden kolayca ayrılmasını sağlamak amacıyla yapılmıştır. Saf suda bekletilen tohum parçaları sterilizasyon için 5 dakika %70'lik etanolda ve ardından da 25 dakika süreyle ticari çamaşır suyunda (%50'lik Sodyum Hipoklorit) bekletilmiştir. Daha sonra 7 kez saf suyla çalkalanarak yıkanıp durulanmıştır. Embriyolar, yıkanan tohum parçalarından steril kabin içerisinde, bistüri ve pens yardımıyla çıkarılmıştır. Embriyolar, içerisinde önceden hazırlanan MS ortamı bulunan petri kaplarına kalkancıkları (scutellumları) ortama gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Herbir petriye 20 adet embriyo konulmuştur. Petriler 26°C de 11 gün inkübasyona alınmıştır. İnkübasyonda oluşan kalluslar hormonsuz (2,4-D'siz) fakat 2 mg/l glisin eklenmiş aynı MS ortamına (olgunlaşmamış MS ortamı) aktarılmıştır. Glisin altkültür süresince ortama eklenmiştir. Diğer tüm uygulamalar olgunlaşmamış arpadaki gibi yapılmıştır.

3.2.3.2. Olgunlaşmamış embriyolarda eksplant hazırlığı

Olgunlaşmamış embriyolar ana başaklardan elde edilmiştir. Embriyolar çiçeklenmeden sonraki 12 ile 18. günler arasında alınmıştır. Ayrıca alınan embriyolar binokülerde kontrol edilerek; 0.5-2 mm arasında olmalarına özen gösterilmiştir. Tarladan hasad edilen başaklar hemen laboratuvara getirilerek, % 70'lik etanolde 1 dakika ve ardından ticari çamaşır suyunda (sodyum hipoklorit) 30 dakika yüzey sterilizasyonu için bekletilmiştir. Daha sonra 5-6 kez steril saf sudan geçirilerek durulanmıştır. Sterilizasyon ve durulama işlemleri, daha etkili olabilmesi için, çalkalayıcı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Embriyolar steril koşullarda (steril kabinde) tohum taslaklarından ayrılarak, kalkancıklar (skutellumlar) daha önceden hazırlanan ortama gelecek şekilde yerleştirilmiştir. MS ortamı, litreye 30 g sakkaroz, 7 g agar ve 2 mg 2,4-D eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan bu ortam 121°C'de 55 dakika otoklavda kaynatılıp steril edilmiştir. Çalışmada kullanılan petripler (100x20 mm) kuru sterilizatörde 180 °C de 2 saat steril edilmiştir.

3.2.4. Sterilizasyon

Malzemelerin sterilizasyonu, steril saf su hazırlanması, olgunlaşmış tohumlarda yüzey sterilizasyonu ve olgunlaşmamış tohumlarda yüzey sterilizasyonu farklı şekillerde sağlanmıştır.

3.2.4.1. Malzemelerin sterilizasyonu

Laboratuvarda kullanılan malzemelerin sterilizasyonunun, çalışmanın başarıya ulaşmasındaki en önemli etkenlerin başında gelmektedir. Kullanılan petri kutuları ve cam kavanozlar sırasıyla, sıvı deterjanla yıkanmış, musluk suyuyla ve ardından saf suyla durulanmış, alüminyum folyolara sarılarak, 180° C'de kuru sterilizatörde (fırında) 2 saat steril edilmiştir. Steril olan kapların sıcaklığı azalınca, steril kabine alınmıştır. Kullanılan bistüri, pens, makas gibi metal malzemeler, sıvı deterjanla ve saf suyla yıkandıktan sonra %50-60'lık alkolle çalkalanarak steril kabin içerisine alınmıştır. Steril

saf su kapları kabin içerisine alınmadan önce alkollü kağıt peçetelerle silinmiştir. Kabin içinde kullanılan kağıt peçeteler alkolle ıslatıldıktan sonra kullanılmıştır. Steril kabin tabanının silinmesinde ise alkol kullanılmıştır. Metal malzemelerin kabin içinde her kullanımından sonra, alkole batırılarak kabin içindeki gaz ocağının alevine tutulup sterilizasyonları sağlanmıştır. Kabin içindeki petrilere petrilere dökülmesi sırasında, içinde besin ortamı bulunan kapların (erlenmayerlerin) ağızları alevden geçirilmiştir. Aynı işlem saf su kapları kullanılmadan önce de gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.2. Steril saf su hazırlanması

Steril saf su hazırlamada erlenmayer ve ısıya dayanıklı plastik kapaklı cam kavanozlar kullanılmıştır. Saf su cihazından alınan saf su erlenmayere konulduğunda ağızları alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Cam kavanozlara saf su konulduktan sonra kapağı hafif gevşetilmiştir. Bu kaplar otoklava konulmadan önce üzerlerine indikatör bant yapıştırılmıştır. Kaplar 121° C’de 55 dakika otoklavda tutulmuştur. Otoklavdan çıkarılan kapların üzerindeki indikatör bantlara bakılarak sterilizasyonun gerçekleştiği anlaşılmıştır. Sterilizasyon gerçekleştiğinde indikatör bantta siyah şerit oluşmuştur. Steril olan saf su kapları steril kabin içerisine alınmıştır.

3.2.4.3. Olgunlaşmış tohumlarda yüzey sterilizasyonu

Olgunlaşmış tohumlar, su banyosu cihazında, 2 saat 30°C de saf suda bekletilmiştir. Bu işlem, embriyoların endosperminden kolayca ayrılmasını sağlamak amacıyla yapılmıştır. Saf suda bekletilen tohumlar, steril kabin içinde, çalkalayıcı üzerinde, 5 dakika %70’lik alkolde (etanolda) ve ardından da ticari çamaşır suyunda (%50’lik sodyum hipoklorit) 25 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 7 kez saf suyla çalkalanarak durulanmıştır. Durulanan tanelerden steril kabin içinde embriyolar çıkarılarak, daha önceden hazırlanan besin ortamına aktarılmıştır. Bu çalışmada, Rengel (1987) ve Oka vd (1995)’ten yararlanılmıştır.

3.2.4.4. Olgunlaşmamış tohumlarda yüzey sterilizasyonu

Tarladan hasad edilen başaklar hemen laboratuvara getirilmiştir. Geç süt olum devresindeki taneler başak üzerinden tek tek ayrılmıştır. Tanelerin kavuzları soyulmuştur. Kavuzları soyulan taneler % 70'lik etanolde 1 dakika ve ardından ticari çamaşır suyunda (sodyum hipoklorit) 30 dakika yüzey sterilizasyonu için bekletilmiştir. Daha sonra 7 kez steril saf sudan geçirilerek durulanmıştır. Sterilizasyon ve durulama işlemleri, daha etkili olabilmesi için, steril kabin içinde, çalkalayıcı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Embriyolar aseptik ortamda (steril kabinde) tohum taslaklarından ayrılarak, daha önceden hazırlanan besin ortamına kalkancıklar (skutellumlar) ortama gelecek biçimde yerleştirilmiştir. Bu yöntemler, Lührs ve Lörz (1987), Bregitzer (1992), Ruiz vd (1992) ve Özgen vd (1996)'dan modifiye edilmiştir.

3.2.5. Besi ortamı hazırlığı

Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyoların kallus ve rejenerasyon ortamlarının hazırlanmasında, Lührs ve Lörz (1987), Rengel (1987), Bregitzer (1992), Ruiz vd (1991), ve Oka vd (1995)'den yararlanılmıştır.

3.2.5.1. Kallus ortamının hazırlığı

Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinde kallus ortamı olarak aynı besin ortamı kullanılmıştır. 2mg/l 2,4-D, 30 g/l sakkaroz, 7 g/l agar ilave edilmiş MS (Murashige ve Skoog (1963)) ortamı kullanılmıştır. Magnetik karıştırıcı üzerine 2 litrelik ölçü kabı konarak içerisine saf su konulmuştur. Karıştırıcı çalışırken içerisine kimyasal maddeler (hazır MS ortamı, sakkaroz, agar, 2,4-D) konulmuştur. Daha sonra istenilen miktara gelinceye kadar saf su eklenmiştir. Ortam pH'sını 5.8'e ayarlayabilmek için sodyum hidroksit (NaOH) ve hidroklorik asit (HCl) çözeltisinden yararlanılmıştır. Ortam pH'sı 5.8'e ayarlandıktan sonra, hazırlanan çözelti ağzı alüminyum folyo ile kapatılan erlenmayerlere dökülmüştür. Erlenmayerlerin üzerlerine indikatör bant yapıştırılarak ortamın istenilen miktarda kaynayıp kaynamadığı tespit edilmiştir.

Erlenmayere konulan ortamın kaynatılması ve sterilizasyonu için otoklava yerleştirilmiştir. Hazırlanan çözelti otoklavda 121°C'de 55 dakika kaynatılmıştır. Kaynayan ortam, önceden steril edilip steril kabine getirilen petrilere dökülmüştür. Sıcakken petrilere dökülen ortamın jelleşmesi için petrilere kapakları hafif aralık bırakılarak soğuması sağlanmıştır.

3.2.5.2. Rejenerasyon ortamının hazırlığı

Rejenerasyon ortamı olarak, 30 gr/L sakkaroz, 7 gr/L agar eklenmiş MS (Murashige ve Skoog 1963) ortamı kullanılmıştır. Kallus ortamından farklı olarak 2,4-D kullanılmamıştır. Magnetik karıştırıcı üzerine 2 litrelik ölçü kabı konarak içerisine saf su konulmuştur. Karıştırıcı çalışırken içerisine kimyasal maddeler (hazır MS ortamı, sakkaroz, agar) konulmuştur. Daha sonra istenilen miktara gelinceye kadar saf su eklenmiştir. Ortam pH'sını 5.8'e ayarlayabilmek için sodyum hidroksit (NaOH) ve hidroklorik asit (HCl) çözeltisinden yararlanılmıştır. Ortam pH'sı 5.8'e ayarlandıktan sonra, hazırlanan çözelti ağzı alüminyum folyo ile kapatılan erlenmayerlere dökülmüştür. Erlenmayerlerin üzerlerine indikatör bant yapıştırılarak ortamın istenilen miktarda kaynayıp kaynamadığı gözlenmiştir. Erlenmayere konulan ortamın kaynatılması ve sterilizasyonu için otoklava yerleştirilmiştir. Hazırlanan ortam, otoklavda 121°C'de 55 dakika kaynatılmıştır. Kaynayan ortam, önceden steril edilip steril kabine getirilen petrilere dökülmüştür. Sıcak olarak petrilere dökülen ortamın jelleşmesi için petrilere kapakları hafif aralık bırakılarak soğuması sağlanmıştır.

3.2.6. Embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi

Embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesinde, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış tohumların embriyolarının çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesinde bu yöntemler kullanılmıştır.

3.2.6.1. Olgunlaşmış tohumlardan embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi

Olgunlaşmış tohumlardan embriyoların çıkarılması yöntemi, olgunlaşmış embriyolarda eksplant hazırlama yöntemine göre yapılmıştır. Embriyolar ortama yerleştirilmeden önce, daha iyi temas etmesininin sağlanması için ortam yüzeyi hafifçe çizilmiştir. Embriyolar, daha önceden hazırlanan besi ortamına, kalkancıklar (skutellumlar) besi ortamına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Tüm embriyolar petriye yerleştirildikten sonra petrinin kapağı ateşten geçirilerek kapatılmıştır. Kapatılan petriler steril kabinden çıkarılmadan önce streç bantla sarılmıştır. Steril kabinden dışarı çıkarılan petriler, kallus oluşumunu sağlamak için inkübatöre (sabit sıcaklıktaki karanlık ortam) yerleştirilmiştir. Petrilerdeki embriyolar, 26° C’de 11 gün karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.6.2. Olgunlaşmamış tohumlardan embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi

Olgunlaşmamış tohumlardan embriyoların çıkarılması yöntemi, olgunlaşmamış embriyolarda eksplant hazırlama yöntemine göre yapılmıştır. Elde edilen embriyolar, daha önceden hazırlanan besi ortamına, embriyoların kalkancıkları (skutellumları) besi ortamına gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Tüm embriyolar petriye yerleştirildikten sonra petrinin kapağı ateşten geçirilerek kapatılmıştır. Kapatılan petriler steril kabinden çıkarılmadan önce streç bantla sarılmıştır. Steril kabinden dışarı çıkarılan petriler, kallus oluşumunu sağlamak için inkübatöre (sabit sıcaklıktaki karanlık ortam) yerleştirilmiştir. Petrilerdeki embriyolar, 26° C’de 11 gün karanlıkta inkübasyona tabi tutulmuştur.

3.2.7. Rejenerasyon Çalışmaları

Karanlık ortamda, (inkübatörde) 26 °C de kallus başlatmak için inkübasyona tabi tutulan embriyolardan oluşan kalluslar, 2,4-D içermeyen MS ortamında (hazır MS ortamı, sakkaroz ve agar) sürgün rejenerasyonu için, 4 hafta 26°C de, 16 saat ışık 8 saat karanlıkta (fotoperiyodda) 40 wattlık tungsten ampul ışığı altında (1500 lx) kültüre

alınmıştır. Bir haftadan sonra kalluslardan rejenere bitkicikler görülmeye başlanmıştır. Rejenere bitkiler 10-15 mm büyüklüğe ulaştığında, aynı MS ortamında (hazır MS ortamı, sakkaroz, agar) 1 aylığına cam kavanozlar içinde büyütülmeye devam edilmiştir. Bitkiler 9-10 cm büyüklüğe ulaştığında, kökleriyle birlikte saksılara aktarılmıştır.

3.2.8. Alıştırma (Aklimatizasyon) çalışmaları

Petri kutularında ve cam kavanozlarda yetiştirilen bitkiciklerin toprağa ve sera koşullarına alışabilmesi için alıştırma ortamında tutulması gerekmiştir. Alıştırma odalarının nem, sıcaklık ve ışık koşulları istenilen şekilde ayarlanmıştır. Cam kavanozlardan saksılara aktarılan bitkiler, 26°C de 10 gün yüksek nemli (%70-80) alıştırma ortamında, 16 saat ışık 8 saat karanlık ortamda, (fotoperiyodda) kültüre alınmıştır. Bu sürenin sonunda, nem % 50-60'a düşürülerek, 20 gün daha büyütülmüştür. Büyütülen bitkilerin vernalize olmaları için, 4°C de 2 hafta 16 saat ışık 8 saat karanlık ortamda (fotoperiyodda) bekletilmiştir. Vernalize olan bitkiler olgunlaşmaları için seralara aktarılmıştır.

3.2.9. Sera çalışmaları

Alıştırma odasında sera koşullarına ve toprağa alıştırılan bitkiler, olgunlaşmaları için yetiştirilmeye devam edilmiştir.

3.2.10. Fotoğraf çekimleri

Fotoğraf çekimleri profesyonel objektifli fotoğraf makinasıyla gerçekleştirilmiştir. Fotoğrafların çekilmesinde 100 asalık renkli film kullanılmıştır. Petri ve cam kavanozlardan, yansıma nedeniyle daha net resim elde edebilmek için, iki farklı ayarda fotoğraflar çekilmiştir. Saksıdaki bitkilerin fotoğraflarının çekilmesinde buna gerek duyulmamıştır.

3.2.11. Verilerin elde edilmesi

4 tekrarlı olarak yürütülen denemede, her tekrar (petri) için 20 embriyo değerlendirilmiştir. İstatistiki analiz için elde edilen değerler, yüzde (%), ağırlık (g) ve sayı (adet) olarak ifade edilmiştir. Elde edilen tüm değerler 4 tekrarın ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Verilen bazı sonuçlar ortalama bir embriyonun sonucunu gösterirken, bazılarında sonuçların çok küçük çıkmasından dolayı 20 embriyonun toplam değeri verilmiştir. Verilerin alınmasında, laboratuvarında bulunan hassas terazilerden, bitkikik boyunun ölçülmesinde cetvellerden yararlanılmıştır.

3.2.12. Verilerin değerlendirilmesi

Verilerin değerlendirilmesinde, farklı istatistiki analiz yöntemleri kullanılmıştır. Çeşitler arasındaki farklılığın irdelenmesinde, varyans analizi ve EÖF testinden, sitoplazma etkisinin irdelenmesinde ise ki-kare bağımsızlık testinden (Düzgüneş, 1963) yararlanılmıştır. Verilerin değerlendirilmesi aşamasında MSTAT bilgisayar istatistik programından yararlanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Kallus Oluşumu

Uygun ortama yerleştirilen olgunlaşmamış embriyolar 2-3 gün sonra; olgun embriyolar ise 4-5 gün sonra kallus oluşturmaya başlamışlardır (Şekil 4.1). Nitekim Baylis ve Dunn (1979) olgunlaşmış arpa embriyolarında, Dale ve Deambrigo (1979)'da olgunlaşmamış arpa embriyolarında benzer sürelerde kallus oluşumunun başladığını bildiren bulgularına uymaktadır.

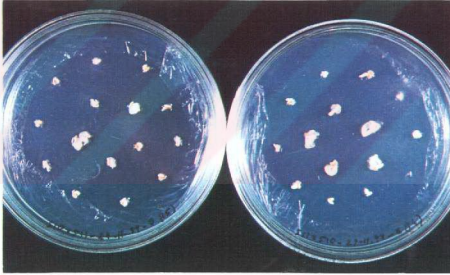
Araştırmada ele alınan 12 F1 melezi, kallus oluşumu bakımından genel olarak değerlendirildiğinde, olgunlaşmamış embriyolardan elde edilen melezler arasında önemli düzeyde ($P<0.01$) farklılık bulunurken, olgunlaşmış embriyolardan elde edilen melezler arasında önemli düzeyde ($P>0.05$) farklılık bulunmamıştır (Çizelge 4.1.). Bu durum, kallus oluşumu bakımından farklı eksplantların farklı tepkide bulunabileceğini göstermektedir. Barcele (1989)'da, eksplantlar arasında kallus oluşumu bakımından farklılık olduğunu bildirmiştir.

Farklı eksplantlar genel ortalama olarak karşılaştırıldığında ise, olgunlaşmamış embriyolarda % 60.9 oranında kallus oluşumu sağlanmasına karşın, olgunlaşmış embriyolarda bu oran % 83.1'e çıkmıştır. Bu durum, olgunlaşmış embriyoların kallus oluşturmada daha uygun olduğunu göstermektedir. Hunold (1989)'da olgunlaşmamış arpa embriyolarından ortalama % 75 oranında kallus oluşumunu sağlamıştır. Ohkoshi (1991) ise olgunlaşmamış arpa embriyolarından ortalama % 50 oranında kallus elde ettiklerini bildirmiştir. Bulgularımızın bu değerlerden farklı olması, kışlık arpa çeşidi kullanmamızdan ve genotiplerden kaynaklanabilir.

Çizelge 4.1. Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarda, kallus oluşum yüzdelereine (%) ilişkin varyans analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar				Olgunlaşmış embriyolar			
VK	SD	KT	K O	F	S D	KT	KO	F
Tekrar	3	16.9	5.6	0.1	3	103.05	34.35	0.5
Hatlar	11	10221.1	929.1	20.5**	11	1539.82	139.98	1.9
Hata	33	1499.5	45.4		33	2312.82	70.08	
Toplam	47	11737.6			47	3955.70		

***) 0.01 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.1 Altısiralı arpaların olgun embriyolarında kallus oluşumu.(Orijinal)

Melezler kallus oluşumu bakımından ayrı ayrı ele alındığında (Çizelge 4.2), ikisıralı arpaların olgunlaşmamış embriyolarında kallus oluşumunun % 26.2 ile % 75.0 arasında değiştiği, en düşük değerin 503x502, en yüksek değerin ise 502x503 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin % 59.2 olduğu saptanmıştır. Altısıralı arpaların olgunlaşmamış embriyolarında kallus oluşumunun % 47.7 ile % 82.9 arasında değiştiği; en düşük değerin 511x512, en yüksek değerin ise 510x511 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin % 62.6 olduğu saptanmıştır. Bu durum, kallus oluşumu bakımından arpalarda genotiplerin farklılık gösterebileceğini vurgulamaktadır. Nitekim, Mano vd (1994), arpada yaptıkları çalışmalar sonunda, kallus oluşumunun genotiplere bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

İkisıralı arpaların olgunlaşmış embriyolarında kallus oluşumunun % 76.5 ile % 88.7 arasında değiştiği; en düşük değerin 502x503, en yüksek değerin ise 502x501 ve 501x503 kombinasyonlarından elde edildiği; ortalama değerin % 83.8 olduğu saptanmıştır. Altısıralı arpaların olgunlaşmış embriyolarında kallus oluşumunun % 72.5 ile % 88.7 arasında değiştiği; en düşük değerin 512x510, en yüksek değerin ise 510x511, 511x510 ve 510x512 kombinasyonlarından elde edildiği; ortalama değerin % 82.4 olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.2 Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarda, kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin EÖF analizi

Genotipler	Olgunlaşmamış embriyolar	Olgunlaşmış Embriyolar
<u>İkısırılı</u>		
501x502	53.6 fg*	83.5
502x501	69.8 bc	88.7
501x503	74.7 abc	88.7
503x501	56.1 efg	85.2
502x503	75.0 ab	76.5
503x502	26.2 h	80.0
Toplam	355.4	502.6
Ortalama	59.2	83.8
<u>Altısırılı</u>		
510x511	82.9 a	88.7
511x510	65.3 cde	88.7
510x512	68.1 bcd	88.7
512x510	59.5 def	80.0
511x512	47.7 g	76.0
512x511	52.3 fg	72.5
Toplam	375.8	494.6
Ortalama	62.6	82.4
Genel Toplam	731.2	997.2
Genel Ortalama	60.9 ± 3.4	83.1 ± 4.2

*) Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.2 Kallus ağırlığı

Uygun ortama yerleştirilen embriyolardan oluşan kalluslar 1 ay sonra tartılarak ağırlıkları bulunmuştur. Özgen vd (1996)'de buğdayda yaptıkları çalışmada, kallusların bir ayın sonunda en uygun büyüklüğe ulaştıklarını bildirmişlerdir.

Araştırmada ele alınan 12 F1 melezi, kallus ağırlığı bakımından genel olarak değerlendirildiğinde, olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolardan elde edilen melezler arasında ($P<0.01$) önemli farklılık görülmüştür (Çizelge 4.3.). Bu durum, kallus ağırlığı bakımından farklı eksplantların farklı tepkide bulunabileceğini göstermektedir. Ohkoshi vd (1991) olgunlaşmamış arpa embriyolarında, Özgen vd (1996)'de buğdayda, eksplantlar arasında kallus ağırlığı bakımından farklılık olduğunu bildirmişlerdir.

Farklı eksplantlar genel ortalama olarak karşılaştırıldığında ise, olgunlaşmış embriyolarda 0.4 g kallus ağırlığı elde edilirken, olgunlaşmamış embriyolarda 0.8 g olarak bulunmuştur. Bu durum, olgunlaşmamış embriyoların kallus ağırlığının daha yüksek olduğunu göstermektedir. Özgen vd (1996), buğdayda yaptıkları çalışmada, olgunlaşmamış embriyodan 0.52 g olgunlaşmış embriyolardan ise 0.97 g ağırlığında kalluslar elde ettiklerini bildirmişlerdir. Bulgularımız bu sonuçlarla paralellik göstermemektedir. Bunun nedeni kullanılan materyallerin farklı iki cins olmasına bağlanabilir.

Çizelge 4.3 Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarda oluşturdıkları kallusların ağırlıklarına (g) ilişkin varyans analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar				Olgunlaşmış embriyolar			
VK	S D	K T	K O	F	S D	KT	KO	F
Tekrar	3	0.013	0.004	0.2	3	0.024	0.008	1.1
Hatlar	11	4.887	0.444	21.6**	11	0.424	0.039	5.3**
Hata	33	0.677	0.021		33	0.241	0.007	
Toplam	47	5.578			47	0.689		

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

Melezler kallus ağırlığı bakımından ayrı ayrı ele alındığında (Çizelge 4.4), ikisıralı olgunlaşmamış embriyolarda kallus ağırlığının 0.1 ile 1.0 g arasında değiştiği; en düşük değer 503x502, en yüksek değerin 502x503 ve 502x501 kombinasyonlarından elde edildiği; ortalama değerin 0.7 g olduğu saptanmıştır. Altısıralı arpalarda ise kallus ağırlığının 0.7 g ile 1.4 g arasında değiştiği; en düşük değerin 512x510, en yüksek değerin ise 510x511 kombinasyonundan elde edildiği görülmüştür. Bu durum kallus ağırlığı bakımından genotiplerin farklılık gösterebileceğini açıkça vurgulamaktadır. Evans vd (1981), Ohkoshi vd (1991), Mano vd (1994), Walmsley vd (1995)'de kallus ağırlığının genotiplere bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

İkisıralı arpaların olgunlaşmış embriyolarda kallus ağırlıklarının 0.3 g ile 0.4 g arasında değiştiği; en düşük değerlerin 501x503, 503x501 ve 502x503, en yüksek değerlerin ise 501x502, 502x501 ve 503x502 kombinasyonlarından elde edildiği; ortalama değerin ise 0.4 g olduğu saptanmıştır. Altısıralı arpaların olgunlaşmış embriyolarının kallus ağırlıklarının ise 0.4 ile 0.6 g arasında değiştiği; en düşük değerlerin 510x511 ve 512x511, en yüksek değerin 511x510 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin 0.5 g olduğu saptanmıştır. Bu durum kallus ağırlığı bakımından genotiplerin farklılık gösterebileceğini göstermektedir. Taniguchi vd (1991)'de altı ve ikisıralı arpa çeşitleriyle yaptıkları çalışmalarda benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Çizelge 4.4 Melez genotiplerin, olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarda oluşturdıkları kallusların ağırlıklarına (g) ilişkin EÖF analizi

Genotipler	Olgunlaşmamış Embriyolar	Olgunlaşmış Embriyolar
<u>İkisirali</u>		
501x502	0.5 e *	0.4 bc
502x501	1.0 bc	0.4 bc
501x503	0.8 cd	0.3 c
503x501	0.8 cd	0.3 c
502x503	1.0 bc	0.3 c
503x502	0.1 f	0.4 bc
Toplam	4.2	2.1
Ortalama	0.7	0.4
<u>Altısirali</u>		
510x511	1.4 a	0.4 bc
511x510	1.0 bc	0.6 a
510x512	1.2 ab	0.5 ab
512x510	0.7 de	0.5 ab
511x512	0.9 cd	0.5 ab
512x511	0.9 cd	0.4 bc
Toplam	6.1	2.9
Ortalama	1.0	0.5
Genel Toplam	10.3	5
Genel Ortalama	0.8 ± 0.07	0.4 ± 0.04

*) Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.3 Kallusun Rejenerasyon Kapasitesi

Uygun ortama yerleştirilen kalluslardan bir hafta sonra rejenere bitkicikler oluşmaya başlamıştır. (şekil 4.2). Baylis ve Dunn (1979)'da olgunlaşmış arpa embriyolarında, Dale ve Deambrigo (1979)'da olgunlaşmamış arpa embriyolarında yaptıkları çalışmada, benzer surelerde rejenere bitkiciklerin oluşmaya başladığını bildirmişlerdir.

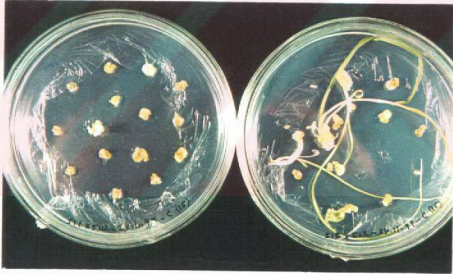
Araştırmada ele alınan 12 F1 melezi, rejenerasyon kapasitesi bakımından genel olarak değerlendirildiğinde, olgunlaşmamış embriyolar arasında önemli ($P<0.01$) farklılık bulunurken, olgunlaşmış embriyolar arasında ise ($P>0.05$) nemli farklılık görülmemiştir (izelge 4.5.). Bu durum, Barcele (1989)'ninde açıkladığı gibi rejenerasyon kapasiteleri bakımından farklı eksplantların farklı tepkide bulunabileceğini göstermektedir.

Farklı eksplantlar genel ortalama olarak karşılaştırıldığında ise, olgunlaşmış embriyolarda % 76.4 oranında rejenerasyon kapasitesi sağlanmasına karşın, olgunlaşmamış embriyolarda bu oran % 50.4 olarak bulunmuştur. Bu durum, olgunlaşmış embriyoların rejenerasyon kapasitelerinin daha uygun olduğunu göstermektedir. Ohkoshi (1991), olgunlaşmamış embriyo kalluslarından rejenerasyon kapasitesini ortalama % 34 bulmuştur. Rikishi vd (1995)'de, olgunlaşmamış embriyolarda % 86 oranında rejenerasyon kapasitesi sağlamışlardır. Bulgularımızın bu sonuçlardan farklı çıkmasını kullanılan materyallerin farklı olmasına bağlayabiliriz.

Çizelge 4.5 Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarda oluşturdıkları kallusları rejenerasyon kapasitelerine (%) ilişkin varyans analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar				Olgunlaşmış embriyolar			
VK	S D	K T	K O	F	S D	K T	K O	F
Tekrar	3	81.9	27.3	0.6	3	109.06	36.35	0.3
Hatlar	11	6268.2	569.8	11.5**	11	1134.19	103.10	0.8
Hata	33	1635.7	49.5		33	4322.21	130.97	
Toplam	47	7985.8			44	5565.47		

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.2 Altısıralı olgunlaşmamış arpa kalluslarında rejenerasyon.

Melezler kallusun rejenerasyon kapasitesi bakımından ayrı ayrı ele alındığında (Çizelge 4.6), ikisıralı olgunlaşmamış embriyolarda rejenerasyon kapasitelerinin % 37.5 ile % 79.4 arasında değiştiği; en düşük değerin 503x502, en yüksek değerin ise 502x501 ve 501x503 kombinasyonlarından elde edildiği; ortalama değerin % 60.6 olduğu saptanmıştır. Altısıralı arpalarda olgunlaşmamış embriyoların rejenerasyon kapasitelerinin % 44.6 ile % 58.7 arasında değiştiği; en düşük değerlerin 510x512 ve 512x510, en yüksek değerin 511x512 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin % 50.4 olduğu saptanmıştır. Bu durum rejenerasyon kapasitesi bakımından genotiplerin farklılık gösterebileceğini açıkça vurgulamaktadır. Mano vd (1994) rejenerasyon kapasitesinin genotiplere bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

İkisıralı arpaların olgunlaşmış embriyolarının rejenerasyon kapasitelerinin istatistiki olarak önemli olmamakla birlikte, % 62.9 ile % 78.8 arasında değiştiği; en düşük değerin 503x502, en yüksek değerin 502x501 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin % 72.6 olduğu belirlenmiştir. Altısıralılarda ise rejenerasyon kapasitesinin genotipler arasında önemli olmamakla birlikte, % 72.0 ile % 79.4 arasında değiştiği; en düşük değerin 510x511, en yüksek değerin 511x512 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin % 76.4 olduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.6 Melez genotiplerin, olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarda oluşturdıkları kallusların rejenerasyon kapasitelerine (%) ilişkin EÖF analizi

Genotipler	Olgunlaşmamış embriyolar	Olgunlaşmış embriyolar
<u>İkisıralı</u>		
501x502	51.6 bcd *	67.9
502x501	79.4 a	78.8
501x503	73.8 a	75.4
503x501	60.7 b	77.9
502x503	60.3 b	72.9
503x502	37.5 c	62.9
Toplam	363.3	435.8
Ortalama	60.6	72.6
<u>Altısıralı</u>		
510x511	51.3 bcd	72.0
511x510	50.9 bcd	73.7
510x512	44.6 de	74.9
512x510	47.4 de	78.9
511x512	58.7 bc	79.4
512x511	49.4 cd	79.2
Toplam	302.3	458.1
Ortalama	50.4	76.4
Genel Toplam	665.6	893.9
Genel Ortalama	55.5 ± 3.5	74.5 ± 5.7

*) Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.4 Rejenere Bitki Sayısı

Rejenereasyon ortamındaki kalluslardan (Walmsley vd (1995) ve Özgen vd (1996)'nin bulguları dikkate alınarak) 4 haftanın sonunda oluşan bitkicikler sayılmıştır (Şekil 4.3).

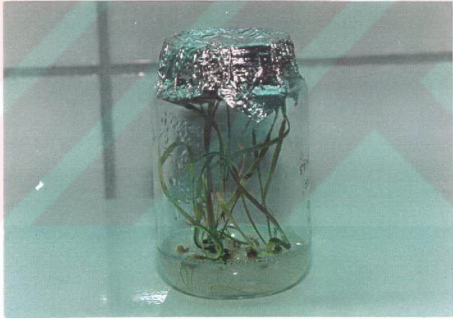
Araştırmada ele alınan 12 F1 melezi, rejenere bitki sayısı bakımından genel olarak değerlendirildiğinde, olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolardan elde edilen melezler arasında ($P<0.01$) önemli farklılık görülmüştür (Çizelge 4.7.). Bu durum, rejenere bitki sayısı bakımından farklı eksplantların farklı tepkide bulunabileceğini göstermektedir. Vitanova (1995)'da eksplantlar arasında rejenere bitki sayısı bakımından farklılık olduğunu bildirmiştir.

Farklı eksplantlar genel ortalama olarak karşılaştırıldığında ise, olgunlaşmış embriyolarda 4.3 rejenere bitki sayısına karşın, olgunlaşmamış embriyolarda bu sayı 6.0 bulunmuştur. Bu durum, olgunlaşmamış embriyoların kallus oluşturmada daha uygun olduğunu göstermektedir. Vitanova vd (1995)'de bir arpa kallus kültüründen en fazla 3.7 bitkicik elde etmişlerdir. Özgen vd (1996)'de buğdayın olgunlaşmamış embriyolarından oluşan kallusların herbirinden ortalama 0.9, olgunlaşmış embriyolardan ise 0.8 bitkicik elde etmişlerdir. Bulgularımız bu sonuçlarla paralellik göstermemektedir. Bunun nedenleri kullanılan materyale ve kültür koşullarına bağlanabilir.

Çizelge 4.7 Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarda oluşturdıkları kalluslarda oluşan rejenere bitki sayılarına (adet) ilişkin varyans analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar				Olgunlaşmış embriyolar			
VK	S D	KT	KO	F	S D	KT	KO	F
Tekrar	3	9.83	3.27	2.2	3	8.72	2.91	2.1
Hatlar	11	499.16	45.37	30.8**	11	198.56	18.05	13.2**
Hata	33	48.66	1.47		33	45.02	1.36	
Toplam	47	557.66			47	252.31		

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.3 İkisıralı arpaldan rejenere olan bitkiciklerin cam kavanozda büyütülmesi.

Melezler rejenere bitki sayısı bakımından ayrı ayrı ele alındığında (Çizelge 4.8), ikisıralı arpaların olgunlaşmamış embriyolarda rejenere bitki sayısı 1.0 ile 11.5 arasında değiştiği; en düşük değerin 503x502, en yüksek değerin ise 502x501 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin 7.0 olduğu saptanmıştır. Altısıralı arpalarda ise rejenere bitki sayısının 3.0 ile 7.7 arasında değiştiği; en düşük değerin 512x510, en yüksek değerin 510x511 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin 4.9 olduğu saptanmıştır. Bu durum rejenere bitki sayısı bakımından genotiplerin farklılık gösterebileceğini açıkça vurgulamaktadır. Özgen vd (1994)'de, buğdayda yaptıkları çalışmada, rejenere bitki sayısının genotiplere bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

Olgunlaşmış embriyolarda, ikisıralı arpaların rejenere bitki sayıları 1.0 ile 7.0 arasında değiştiği; en düşük değerin 501x502, en yüksek değerlerin 501x503 ve 503x501 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin 4.3 olduğu saptanmıştır. Altısıralı arpalarda ise rejenere bitki sayısının 1.0 ile 5.7 arasında değiştiği; en düşük değerin 512x510, en yüksek değerin ise 510x511 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin 4.3 olduğu saptanmıştır. Bu durum genotiplerin oluşan rejenere bitki sayılarını etkilediğini göstermektedir. Li (1992), iki ve altısıralı arpa çeşitleriyle yaptığı çalışmada benzer sonuçlar elde etmiştir.

Çizelge 4.8 Melez genotiplerin, olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarda oluşturdıkları kalluslardan oluşan rejenere bitki sayılarına ilişkin EÖF analizi

Genotipler	Olgunlaşmamış embriyolar	Olgunlaşmış embriyolar
<u>İkısıralı</u>		
501x502	4.2 c *	1.0 e
502x501	11.5 a	2.2 de
501x503	11.0 a	7.0 a
503x501	4.2 c	7.0 a
502x503	10.2 a	3.7 cd
503x502	1.0 d	5.0 bc
Toplam	42.1	25.9
Ortalama	7.0	4.3
<u>Altısıralı</u>		
510x511	7.7 b	5.7 ab
511x510	6.7 b	5.5 abc
510x512	4.7 c	5.5 abc
512x510	3.0 c	5.2 abc
511x512	4.0 c	2.7 d
512x511	3.5 c	1.0 e
Toplam	29.6	25.6
Ortalama	4.9	4.3
Genel Toplam	71.7	51.5
Genel Ortalama	6.0 ± 0.6	4.3 ± 0.6

*) Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.5 Toprağa Aktarılan Bitki Sayısı

Cam kavanozlarda büyütülen bitkicikler 1 ay sonra alıştırma odasında toprağa aktarılmıştır (Şekil 4.4). Vitanova vd (1995) arpa kalluslarından, Walmsley vd (1995) arpa kalluslarından ve Özgen vd (1996)'de buğday kalluslarından elde ettikleri bitkiciklerin benzer zamanlarda toprağa aktarıldığını bildirmişlerdir.

Araştırmada ele alınan 12 F1 melezi, toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından genel olarak değerlendirildiğinde, olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolardan elde edilen melezler arasında önemli ($P<0.01$) farklılık görülmüştür (Çizelge 4.9). Bu durum, toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından farklı eksplantların farklı tepkide bulunabileceğini göstermektedir. Nitekim, Barcele (1989)'de arpa eksplantları arasında toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından farklılık olduğunu bildirmiştir.

Farklı eksplantlar genel ortalama olarak karşılaştırıldığında ise, olgunlaşmış embriyolarda 0.3 oranında toprağa aktarılan bitki sayısına karşın, olgunlaşmamış embriyolarda bu oran 0.5 olarak bulunmuştur. Bu durum, olgunlaşmamış embriyolardan elde edilen bitkiciklerden toprağa aktarılan bitki sayısının daha fazla olduğunu göstermiştir. Walmsley vd (1995), 7 Avusturalya kökenli arpa çeşidinin olgunlaşmamış embriyolarıyla yaptıkları çalışmada, çeşitler arasındaki toprağa aktarılan bitki sayıları arasında önemli farklılıklar bulmuşlardır. Vitonava vd (1995)'de, kültür arpalarının rejenerasyon kapasitelerini araştırdıkları çalışmalarında, bir kallus kültüründen en fazla 8.7 adet bitkicik toprağa aktarmışlardır. Dahlen (1995), arpa çeşitlerinin olgunlaşmamış embriyo kültürleriyle yaptığı çalışmada, ortalama olarak 1,4, 5, ve 17 adet bitki toprağa aktarmışlardır. Bulgularımız bu sonuçlarla paralellik göstermemektedir. Bunun nedenlerini, kullanılan materyale ve yöntemle bağlamak mümkündür.

Çizelge 4.9 Melez genotiplerin, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarında, toprağa aktarılan bit sayısına ilişkin varyans analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar				Olgunlaşmış embriyolar			
VK	S D	K T	K O	F	S D	K T	K O	F
Tekrar	3	0.029	0.01	1.1	3	0.038	0.013	1.9
Hatlar	11	1.757	0.16	18.5**	11	1.400	0.127	18.9**
Hata	33	0.285	0.01		33	0.222	0.007	
Toplam	47	2.072			47	1.659		

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.4 Arpalarda rejenere olan bitkilerin toprağa aktarılması.

Melezler toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından ayrı ayrı ele alındığında (Çizelge 4.10), iksirali arpaların olgunlaşmamış embriyolarda toprağa aktarılan bitki sayısının 0.1 ile 0.7 arasında değiştiği; en düşük değerin 503x502, en yüksek değerlerin ise 502x503, 501x503 ve 502x501 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin 0.5 olduğu saptanmıştır. Altısirali arpalarda ise toprağa aktarılan bitki sayısının 0.4 ile 0.7 arasında değiştiği; en düşük değerin 512x510, en yüksek değerin ise 511x510 kombinasyonundan elde edildiği; ortalama değerin 0.6 olduğu saptanmıştır. Bu durum toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından genotiplerin farklılık gösterebileceğini açıkça vurgulamaktadır. Mano vd (1994) toprağa aktarılan bitki sayısının genotiplere bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

İksirali arpaların olgunlaşmış embriyolarının toprağa aktarılan bitki sayısının 0.1 ile 0.5 arasında değiştiği; en düşük değerin 501x502, en yüksek değerlerin 501x503 ve 503x501 kombinasyonlarından elde edildiği; ortalama değerin 0.3 olduğu belirlenmiştir. Altısirali arpalarda ise toprağa aktarılan bitki sayısının 0.1 ile 0.4 arasında değiştiği; en düşük değerin 512x511, en yüksek değerlerin 510x511, 511x510, 510x512 ve 512x510 kombinasyonlarından elde edildiği; ortalama değerin 0.3 olduğu saptanmıştır. Bu durum, toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından genotipler arasında farklılık olduğunu belirtmektedir. Nitekim, Özgen vd (1996), buğdayda yaptıkları çalışmada benzer sonuçlar elde etmişlerdir.

Çizelge 4.10 Melez genotiplerin, olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarında, toprağa aktarılan bitki sayısına ilişkin EÖF analizi

Genotipler	Olgunlaşmamış embriyolar	Olgunlaşmış embriyolar
İkisıralı		
501x502	0.5 bc*	0.1 d
502x501	0.7 a	0.2 cd
501x503	0.7 a	0.5 a
503x501	0.4 c	0.5 a
502x503	0.7 a	0.3 bc
503x502	0.1 d	0.4 ab
Toplam	3.1	2.0
Ortalama	0.5	0.3
Altıııııııı		
510x511	0.6 ab	0.4 ab
511x510	0.7 a	0.4 ab
510x512	0.5 bc	0.4 ab
512x510	0.4 c	0.4 ab
511x512	0.5 bc	0.2 cd
512x511	0.6 ab	0.1 d
Toplam	3.3	1.9
Ortalama	0.6	0.3
Genel Toplam	6.4	3.9
Genel Ortalama	0.5 ± 0.04	0.3 ± 0.04

*) Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.6 Kallus Oluşumunda Sitoplazmanın Etkisi

Sitoplazmada bulunan bazı kalıtım faktörlerinin, başta erkek kısırlık olmak üzere birçok kalıtsal olayda rol oynaması ve bu nedenle, genotipik bir özellik olan kallus oluşumunda sitoplazmanın etkisinin olabileceği düşüncesiyle; bazı kışlık arpa hatları arasında karşılıklı (resiprokal) melezlemeler yapılarak, bunların kallus oluşum oranları değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmeler her karşılıklı melez kombinasyonu için aşağıda ayrı başlıklar halinde verilmiştir.

4.6.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x502 ile 502x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.11'de verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi, 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdeleri bakımından, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ($P<0.01$, $X^2=14.0$) ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$, $X^2=5.8$) fark gözlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşturma yüzdeleri bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=21.0$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 502 çeşidinin olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyo kültüründe ana olarak kullanılması, 501 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre, daha iyi kallus oluşturmıştır. Eksplantlar arasında ise, olgunlaşmış embriyoların daha iyi sonuç vermesi nedeniyle, arpada yapılacak benzer çalışmalarda kallus oluşumu bakımından daha iyi sonuç alabilmek için olgunlaşmış embriyo kültürünün kullanılmasının uygun olacağı belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare değeri
501x502	65	13.9**	96	5.8*
502x501	87		100	
Ortalama (%)	76		98	
Ortalama Ki-kare değeri	21.0**			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.6.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x503 ile 503x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi (Çizelge 4.12) sonuçlarına göre, 501x503 ile 503x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdeleri bakımından, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli ($P<0.01$, $X^2=22.2$) fark belirlenirken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında ($P>0.05$, $X^2=0.7$) fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşturma yüzdeleri bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=20.4$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 501x503 ile 503x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 501 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürünün kallus oluşumunda ana olarak kullanılması, 503 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolar arasında ise, kallus oluşumu bakımından önceki kombinasyonda olduğu gibi olgunlaşmış embriyoların daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır.

Çizelge 4.12. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare değeri
501x503	91	22.2**	100	0.7
503x501	68		98	
Ortalama (%)	79		99	
Ortalama ki-kare değeri	20.4**			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.6.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

502x503 ile 503x502 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.13’de verilmiştir. Buna göre, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin, kallus oluşum yüzdeleri bakımından, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli ($P<0.01$, $X^2=61.6$) fark belirlenirken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.3$) fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşturma yüzdeleri bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=36.0$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 502 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürünün kallus oluşumunda ana olarak kullanılması, 503 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre, daha iyi sonuç vermiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolar arasında ise, yine olgunlaşmış embriyoların daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.13. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare değeri
502x503	91	61.6**	93	0.3
503x502	20		94	
Ortalama (%)	55		93	
Ortalama ki-kare değeri	36.0**			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.6.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x511 ile 511x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.14'de verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin, kallus oluşum yüzdeleri bakımından, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P < 0.01$, $X^2 = 12.5$) fark belirlenirken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşturma yüzdeleri bakımından da önemli düzeyde ($P < 0.01$, $X^2 = 12.6$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 510 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürünün kallus oluşumunda ana olarak kullanılması, 511 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre, daha iyi sonuç vermiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolar arasında ise, olgunlaşmış embriyolardan yüksek değer elde edilmiştir.

Çizelge 4.14. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x511	97	12.5**	100	0.1
511x510	82		100	
Ortalama (%)	89		100	
Ortalama Ki-kare değeri	12.6**			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.6.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x512 ile 512x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.15'de verilmiştir. Buna göre; 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdelere, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($p<0.05$, $X^2=4.7$) fark gözlenirken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.2$) fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşturma yüzdelere bakımından da önemli düzeyde ($P<0.05$, $X^2=4.3$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 510 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürünün kallus oluşumunda ana olarak kullanılması, 512 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre, daha iyi sonuç vermiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolar arasında ise, olgunlaşmış embriyoların daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.15. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x512	85	4.6*	90	0.2
512x510	72		88	
Ortalama (%)	78		89	
Ortalama ki-kare değeri	4.3*			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.6.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

511x512 ile 512x511 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizine (Çizelge 4.16) göre; 511x512 ile 512x511 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus oluşum yüzdeleri bakımından, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ($P>0.05$, $X^2=1.1$) fark gözlenmezken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$, $X^2=5.5$) fark belirlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşturma yüzdeleri bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=43.0$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 511x512 ile 512x511 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 511 çeşidinin olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyo kültürünün kallus oluşumunda ana olarak kullanılması, 512 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolar arasında ise, olgunlaşmış embriyoların diğerine oranla önemli düzeyde kallus oluşturduğu saptanmıştır.

Çizelge 4.16. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin kallus oluşum yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
511x512	55	1.1	100	5.5*
512x511	62		94	
Ortalama (%)	58		97	
Ortalama Ki-kare değeri	43.0**			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.7. Kallus Ağırlığına Sitoplazmanın Etkisi

Arpa genotiplerinde, değişik kombinasyonlara ilişkin kallus ağırlıkları, her kombinasyon için ayrı başlıklar halinde aşağıda verilmiştir.

4.7.1 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x502 ile 502x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.17'de verilmiştir. Buna göre, 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin kallus ağırlıkları (%) arasında önemli düzeyde fark ($P < 0.01$, $X^2 = 20.5$) bulunurken; olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin ortalama kallus ağırlıkları arasında da önemli düzeyde ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) fark bulunmamıştır. 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 502 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürlerinde ana olarak kullanılması, 501 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Bu hatlarla yapılacak embriyo kültüründe, 502 çeşidinin ana olarak kullanılmasının kallus ağırlığı bakımından daha iyi sonuç verebileceği belirlenmiştir.

Çizelge 4.17. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x502	33	20.5**	50	0.1
502x501	66		50	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama ki-kare değeri	0.1			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.7.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x503 ile 503x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.18'de verilmiştir. Buna göre, 501x503 ile 503x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin, olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=0.1$) ve olgunlaşmış ($P<0.05$, $X^2=0.1$) embriyo kültürlerinin kallus ağırlıkları arasında önemli düzeyde fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus ağırlıkları bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. Bu durum, 501 veya 502 genotiplerinin ana veya baba olarak kullanılmasının kallus ağırlığına etkisinin olmadığını belirtmiştir.

Çizelge 4.18. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x503	50	0.1	50	0.1
503x501	50		50	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

4.7.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

502x503 ile 503x502 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.19'da verilmiştir. Buna göre, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin kallus ağırlıkları arasında ($P<0.01$, $X^2=124.8$) ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$, $X^2=3.9$) fark gözlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus ağırlığı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. Bu durum, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 502 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültüründe, 503 çeşidinin ise olgunlaşmış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının daha iyi sonuç vereceğini belirtmiştir.

Çizelge 4.19. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
502x503	90	124.8**	43	3.9*
503x502	10		57	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.7.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x511 ile 511x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.20'da verilmiştir. Buna göre, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarında, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ($P<0.05$, $X^2=5.1$) ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=8.1$) fark gözlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus ağırlıkları bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. Bu durum, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 510 genotipinin olgunlaşmamış, 511 genotipinde olgunlaşmış embriyo kültürlerinde ana olarak kullanılmasının daha iyi sonuç vereceğini belirtmiştir. Bu materyallerle yapılacak embriyo kültürlerinde, kullanılan genotiplerin ana veya baba olarak kullanılması önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.20. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare Değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x511	58	5.1*	40	8.1**
511x510	42		60	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama ki-kare değeri	0.1			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.7.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x512 ile 512x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.21’de verilmiştir. Buna göre, 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarında, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=13.5$) fark bulunurken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus ağırlığı bakımından da önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. Bu durum, 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 510 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 512 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiğini belirtmektedir.

Çizelge 4.21. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare Değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x512	63	13,5**	50	0.1
512x510	37		50	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

***) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.7.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

511x512 ile 512x511 melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.22’de verilmiştir. Buna göre, 511x512 ile 512x511 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin kallus ağırlıklarında, olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=0.1$) ve olgunlaşmış ($P>0.05$, $X^2=2.0$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus ağırlıkları bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. Bu durum, 511 veya 512 genotiplerinin ana veya baba olarak kullanılmasının kallus ağırlığına bir etkisinin olmadığını göstermiştir.

Çizelge 4.22. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin kallus ağırlıklarına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare Değeri	(%)	Ki-kare Değeri
511x512	50	0.1	55	2.0
512x511	50		45	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

4.8. Kallusun Rejenerasyon Kapasitesine Sitoplazmanın Etkisi

Arpa genotipleri ve değişik kombinasyonlara ilişkin bitki rejenerasyonu değerleri her kombinasyon için ayrı başlıklar halinde verilmiştir.

4.8.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x502 ile 502x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon yüzdelerine (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.23'de verilmiştir. Buna göre, 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon oranlarında (%), olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ($P<0.01$, $X^2=30.3$) ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$, $X^2=5.8$) fark gözlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenerasyon oranları bakımından da önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=3.3$) fark bulunmamıştır. Bu durumda, 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 502 çeşidinin olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyo kültürlerinin rejenerasyonunda ana olarak kullanılması, 501 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Bu hatlarla yapılacak embriyo kültüründe, 502 çeşidinin ana olarak kullanılmasının bitki rejenerasyonu bakımından daha iyi sonuç verebileceği belirlenmiştir.

Çizelge 4.23. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x502	61	30.3**	82	5.8*
502x501	93		93	
Ortalama (%)	77		87	
Ortalama Ki-kare değeri	3.2			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.8.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x503 ile 503x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon yüzdelerine (%) ilişkin ki-kare analizi (Çizelge 4.24) sonuçlarına göre ise, 501x503 ile 503x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon oranlarında (%), olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli ($P<0.05$, $X^2=6.6$) fark gözlenirken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.7$) fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenerasyon oranları bakımından da önemli düzeyde ($P<0.05$, $X^2=4.3$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 501x503 ile 503x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 501 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin rejenerasyonunda ana olarak kullanılması, 503 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ise, olgunlaşmış embriyoların rejenerasyon oranı bakımından daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.24. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare Değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x503	90	6.6*	91	0.7
503x501	75		94	
Ortalama (%)	82		92	
Ortalama Ki-kare değeri			4.3*	

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

4.8.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

502x503 ile 503x502 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon yüzdelerine (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.25’de verilmiştir. Buna göre, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon oranlarında, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ($P<0.01$, $X^2=30.9$) ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P<0.05$, $X^2=3.8$) fark gözlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşturma yüzdeleri bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=17.2$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 502 çeşidinin olgunlaşmamış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin rejenerasyonunda ana olarak kullanılması, 503 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Olgunlaşmış embriyoların ortalama rejenerasyon oranı ise, olgunlaşmamışlara oranla daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 4.25. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
502x503	76	30.9**	88	3.8*
503x502	37		78	
Ortalama (%)	56		83	
Ortalama Ki-kare değeri	17.2**			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.8.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x511 ile 511x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon yüzdelere (%) ilişkin ki-kare analizi (Çizelge 4.26) sonuçlarına göre, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon oranları bakımından, olgunlaşmış ($P>0.05$, $X^2=0.2$) ve olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=0.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenerasyon oranları bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=19.7$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin rejenerasyonunda, çeşitlerin ana veya baba olarak kullanılması önemli bir fark oluşturmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyoların ortalama kallus oluşumunda ise, olgunlaşmış embriyo kültürleri daha iyi bir sonuç vermiştir.

Çizelge 4.26. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x511	61	0.02	88	0.2
511x510	60		89	
Ortalama (%)	60		88	
Ortalama Ki-kare değeri	19.7**			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.8.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x512 ile 512x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon yüzdelerine (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.27’de verilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi, 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon oranları bakımından, olgunlaşmış ($P>0.05$, $X^2=0.1$) ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ($P>0.05$, $X^2=1.1$) fark gözlenmemiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenerasyon oranları bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=42.0$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, olgunlaşmamış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin rejenerasyonunda, çeşitlerin ana ya da baba olarak kullanılmasında önemli bir fark bulunmamıştır.

Çizelge 4.27. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x512	49	1.1	94	0.1
512x510	56		93	
Ortalama (%)	52		93	
Ortalama ki-kare değeri	42.0**			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.8.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

511x512 ile 512x511 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon yüzdelereine (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.28’de verilmiştir. Buna göre, 511x512 ile 512x511 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenerasyon oranları bakımından, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli ($P<0.05$, $X^2=4.9$) fark bulunurken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli ($P>0.05$, $X^2=0.3$) düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenerasyon oranları bakımından da önemli düzeyde ($P<0.01$, $X^2=22.6$) fark bulunmuştur. Bu durumda, 511x512 ile 512x511 karşılıklı (resiprok) melezlemesinde, 511 çeşidinin olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin bitki rejenerasyonunda ana olarak kullanılması, 512 çeşidinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç vermiştir. Bu hatlarla yapılacak embriyo kültüründe, olgunlaşmış embriyoların olgunlaşmamışlara göre daha sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.28. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin rejenerasyon oranına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
511x512	72	4.9*	91	0.3
512x511	57		93	
Ortalama (%)	64		92	
Ortalama ki-kare değeri	22.6**			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.9. Rejenere Bitki Sayısına Sitoplazmanın Etkisi

Arpa genotiplerinde değişik kombinasyonların rejenere bitki sayısı, her kombinasyon için ayrı başlıklar halinde aşağıda verilmiştir.

4.9.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x502 ile 502x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.29'da verilmiştir. Buna göre, 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P<0.01$, $X^2=46.1$) ve olgunlaşmış ($P<0.01$, $X^2=32.0$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenere bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 501x502 ile 502x501 melezlemesinde, 502 genotipinin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 501 genotipinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.29. 501x502 ile 502x501 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare Değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x502	26	46.1**	30	32.0**
502x501	74		70	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama ki-kare değeri	0.1			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.9.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x503 ile 503x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.30'da verilmiştir. Buna göre, 501x503 ile 503x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarında, olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde ($P < 0.01$, $X^2 = 38.7$) fark bulunurken, olgunlaşmış ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenere bitki sayıları bakımından önemli düzeyde ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) fark bulunmamıştır. 501x503 ile 503x501 melezlemesinde, 501 genotipinin olgunlaşmamış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 503 genotipinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.30. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x503	72	38.7**	50	0.1
503x501	28		50	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama ki-kare değeri			0.1	

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.9.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

502x503 ile 503x502 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.31’de verilmiştir. Buna göre, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P<0.01$, $X^2=128.0$) ve olgunlaşmış ($P<0.05$, $X^2=3.9$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenere bitki sayıları bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 502x503 ile 503x502 melezlemesinde, 502 genotipinin olgunlaşmamış embriyo kültüründe 503 genotipinin ise olgunlaşmış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.31. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
502x503	90	128.0**	43	3.9*
503x502	10		57	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.9.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x511 ile 511x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.32'de verilmiştir. Buna göre, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=0.7$) ve olgunlaşmış ($P>0.05$, $X^2=0.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında da, ortalama rejenere bitki sayıları bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 510x511 ile 511x510 melezlemesinde, genotiplerin olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyo kültürlerinde ana veya baba olarak kullanılmasının rejenere bitki sayısına önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Çizelge 4.32. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x511	53	0.7	51	0.1
511x510	47		49	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

4.9.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x512 ile 512x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.33’de verilmiştir. Buna göre, 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P < 0.01$, $X^2 = 9.7$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunurken, olgunlaşmış ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenere bitki sayıları bakımından da önemli düzeyde ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) fark bulunmamıştır. 510x512 ile 512x510 melezlemesinde, 510 genotipinin olgunlaşmamış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 512 genotipinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.33. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x512	61	9.7**	51	0.1
512x510	39		49	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir

4.9.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

511x512 ile 512x511 melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.34’de verilmiştir. Buna göre, 511x512 ile 512x511 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin rejenere bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=0.7$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmazken, olgunlaşmış ($P<0.01$, $X^2=38.7$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenere bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 511x512 ile 512x511 melezlemesinde, 511 genotipinin olgunlaşmış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 512 genotipinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Bu durum, rejenere bitki sayısında, genotiplerin ana veya baba olarak kullanılmasının etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.34. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin rejenere bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
511x512	53	0.7	72	38.7**
512x511	47		28	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.10. Toprağa Aktarılan Bitki Sayısında Sitoplazmanın Etkisi

Arpa genotiplerinde, değişik kombinasyonların toprağa aktarılan bitki sayıları, her kombinasyon için ayrı başlıklar halinde aşağıda verilmiştir.

4.10.1. 501 ve 502 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x502 ile 502x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.35’de verilmiştir. Buna göre, 501x502 ile 502x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P<0.05$, $X^2=5.1$) ve olgunlaşmış ($P<0.01$, $X^2=23.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 501x502 ile 502x501 melezlemesinde, 502 genotipinin olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 501 genotipinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Bu durum, benzer çalışmalarda, 502 genotipinin ana olarak kullanılmasının, toprağa aktarılan bitki sayısında etkili etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.35. 501x502 ile 502x503 genotiplerinin toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x502	42	5.1*	33	23.1**
502x501	58		67	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.10.2. 501 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

501x503 ile 503x501 melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.36'da verilmiştir. Buna göre, 501x503 ile 503x501 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P < 0.01$, $X^2 = 15.7$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunurken, olgunlaşmış ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P > 0.05$, $X^2 = 0.1$) fark bulunmamıştır. 501x503 ile 503x501 melezlemesinde, 501 genotipinin olgunlaşmamış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 503 genotipinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Bu durum, genotiplerin ana veya baba olarak kullanılmasının, toprağa aktarılan bitki sayılarında etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.36. 501x503 ile 503x501 genotiplerinin toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
501x503	64	15.7**	50	0.1
503x501	36		50	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama ki-kare değeri	0.1			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.10.3. 502 ve 503 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

502x503 ile 503x502 melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.37’de verilmiştir. Buna göre, 502x503 ile 503x502 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P<0.01$, $X^2=87.1$) ve olgunlaşmış ($P<0.05$, $X^2=5.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 502x503 ile 503x502 melezlemesinde, 502 genotipinin olgunlaşmamış embriyolarda, 503 genotipinin ise olgunlaşmış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Bu durum, genotiplerin ana veya baba olarak kullanılmasının, toprağa aktarılan bitki sayılarında etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.37. 502x503 ile 503x502 genotiplerinin toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
502x503	88	87.1**	42	5.1*
503x502	12		58	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

*) 0.05 düzeyinde önemlidir.

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

4.10.4. 510 ve 511 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x511 ile 511x510 melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.38'de verilmiştir. Buna göre, 510x511 ile 511x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=1.3$) ve olgunlaşmış ($P>0.05$, $X^2=0.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 510x511 ile 511x510 melezlemesinde, genotiplerin ana veya baba olarak kullanılmasında önemli düzeyde bir etkiye sahip olmadıkları belirlenmiştir. Bu durum, embriyo kültürlerinde, 510 ve 511 genotiplerinin ana veya baba olarak kullanılmasının, toprağa aktarılan bitki sayılarında etkili olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.38. 510x511 ile 511x510 genotiplerinin toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x511	46	1.3	50	0.1
511x510	64		50	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama ki-kare değeri	0.1			

4.10.5. 510 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

510x512 ile 512x511 melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.39’da verilmiştir. Buna göre, 510x512 ile 512x510 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=2.1$) ve olgunlaşmış ($P>0.05$, $X^2=0.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmamıştır. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında da, ortalama toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. Bu durum, 510x512 ile 512x510 melezlemesinde, genotiplerin ana veya baba olarak kullanılmasında önemli bir farklılık bulunmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.39. 510x512 ile 512x510 genotiplerinin toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
510x512	55	2.1	50	0.1
512x510	45		50	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama ki-kare değeri	0.1			

4.10.6. 511 ve 512 genotipleri arasındaki melezlerde sitoplazmik etki

511x512 ile 512x511 melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarına (%) ilişkin ki-kare analizi Çizelge 4.40'da verilmiştir. Buna göre, 511x512 ile 512x511 karşılıklı (resiprok) melezlemesinden elde edilen genotiplerin toprağa aktarılan bitki sayılarında, olgunlaşmamış ($P>0.05$, $X^2=2.1$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmazken, olgunlaşmış ($P<0.01$, $X^2=20.5$) embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından önemli düzeyde ($P>0.05$, $X^2=0.1$) fark bulunmamıştır. 511x512 ile 512x511 melezlemesinde, 511 genotipinin olgunlaşmış embriyo kültüründe ana olarak kullanılmasının, 512 genotipinin ana olarak kullanılmasına göre daha iyi sonuç verdiği belirlenmiştir. Bu durum, benzer çalışmalarda, genotiplerin ana veya baba olarak kullanılmasının, toprağa aktarılan bitki sayılarında etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.40. 511x512 ile 512x511 genotiplerinin toprağa aktarılan bitki sayısına (%) ilişkin ki-kare analizi

	Olgunlaşmamış embriyolar		Olgunlaşmış embriyolar	
	(%)	Ki-kare değeri	(%)	Ki-kare Değeri
511x512	45	2.1	66	20.5**
512x511	55		34	
Ortalama (%)	50		50	
Ortalama Ki-kare değeri	0.1			

**) 0.01 düzeyinde önemlidir.

Matzinger ve Burk (1984)'un arpa embriyolarıyla yaptıkları çalışmada, ilk sürgün oluşturma kapasitesinin sitoplazmik köken tarafından kontrol edildiği belirtilmiştir. Fakat sitoplazmanın, ilk sürgün oluşumundan sonraki gelişmeyi kontrol edecek bir etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir. Mathias vd (1985)'de, (*Triticum aestivum* L.) ekmeklik buğday çeşidini baba olarak, *Triticum* ve *Aegilops* genuslarının 8 yabani türünde sitoplazma vericisi olarak kullanarak; alloplazmik genotipler elde etmişlerdir. Bu genotiplerin olgunlaşmış embriyolarını kültüre almışlardır. Kültüre alınan embriyolardan oluşan kallusların ilk oluşmaya başlamasında ve ilk sürgünlerin oluşmasında sitoplazmanın etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Bulgularımız, farklı doku kültürü tepkileri bakımından, bu çalışmalardan elde edilen sitoplazmik etkiye benzer sonuçlar göstermiştir.

5. SONUÇ

Kışlık arpada (*Hordeum vulgare* L.) kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna sitoplazmanın etkisini belirlemek amacıyla olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarda, 3 adet ikisıralı (6 kombinasyon) ve 3 adet de altısıralı (6 kombinasyon) arpa genotipleriyle yapılan bu çalışmada; kullanılan karşılıklı (resiprok) 12 melez genotipin olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, kallus oluşum oranları bakımından önemli farklılık bulunurken; olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli farklılık bulunmamıştır. Genotiplerin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşumu bakımından da önemli düzeyde farklılıklar bulunmuştur. Olgunlaşmamış embriyolarda; ikisıralı ve altısıralı arpa genotiplerinin kallus oluşumları arasında farklılık bulunurken; olgunlaşmış embriyolar arasındakiler de önemli farklılık bulunmamıştır.

Kallus ağırlığı bakımından genotipler değerlendirildiğinde; olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli farklılığın bulunduğu belirlenmiştir. Genotiplerin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin ortalama kallus ağırlıkları arasında da önemli düzeyde farklılık bulunmuştur. Olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarda; ikisıralı ve altısıralı arpa genotiplerinin kallus ağırlıkları arasında önemli farklılık bulunmuştur.

Kallusun rejenerasyon kapasitesi incelendiğinde; genotiplerin olgunlaşmamış embriyoları kültürleri arasında önemli farklılıklar belirlenirken, olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli farklılık belirlenmemiştir. Genotiplerin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin ortalama rejenerasyon kapasiteleri arasında da önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmamış embriyolarda; ikisıralı ve altısıralı arpa genotiplerinin kalluslarının rejenerasyon kapasiteleri arasında farklılık bulunurken; olgunlaşmış embriyolar arasındakiler de önemli farklılık bulunmamıştır.

Rejenere bitki sayısı bakımından melez genotipler değerlendirildiğinde; olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli

düzeyde farklılık bulunmuştur. Genotiplerin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin ortalama rejenere bitki sayıları arasında da önemli farklılık belirlenmiştir. Olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarda; ikisıralı ve altısıralı arpa genotiplerinin rejenere bitki sayıları arasında farklılık bulunmuştur.

Toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından genotipler değerlendirildiğinde; olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında önemli farklılık belirlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin ortalama toprağa aktarılan bitki sayıları arasında da önemli düzeyde farklılık bulunmuştur. Olgunlaşmamış ve olgunlaşmış embriyolarda, ikisıralı ve altısıralı arpa genotiplerinin kallus oluşumları arasında farklılık bulunmuştur.

Sitoplazmanın kallus oluşumu üzerine etkisi incelendiğinde; olgunlaşmamış altısıralı embriyo kültürleri arasında ve ikisıralı embriyo kültürleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama kallus oluşumu bakımından da önemli farklılıklar bulunmuştur.

Sitoplazmanın kallus ağırlığı üzerine etkisi incelendiğinde; olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark belirlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinin ortalama kallus ağırlıkları arasında ise önemli düzeyde fark bulunmamıştır.

Karşılıklı (resiprok) melezleme sonucu elde edilen genotipler, kallusların rejenerasyon kapasitesine sitoplazmanın etkisi bakımından incelendiğinde; olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark gözlenmiştir. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama rejenerasyon oranları bakımından da önemli düzeyde fark bulunmuştur.

Karşılıklı (resiprok) melezleme sonucu elde edilen genotiplerde, sitoplazmanın rejenere bitki sayısı üzerine etkisi incelendiğinde; olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir.

Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolar arasında ortalama rejenere bitki sayısı bakımından ise önemli farklılık bulunmamıştır.

Sitoplazmanın toprağa aktarılan bitki sayısı üzerine etkisi incelendiğinde; olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında ve olgunlaşmış embriyo kültürleri arasında önemli düzeyde fark bulunmuştur. Olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında, ortalama toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından ise önemli düzeyde farklılık belirlenmemiştir.

Araştırmada kullanılan 6'sı ikisiralı 6'sı altısiralı, toplam 12 karşılıklı melez kombinasyonlarının olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürleri arasında; kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi, rejenere bitki sayısı ve toprağa aktarılan bitki sayısı bakımından farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Karşılıklı (resiprok) melezleme sonucu elde edilen ikisiralı ve altısiralı genotiplerin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyo kültürlerinde; sitoplazmanın kallus oluşumuna, bitki rejenerasyonuna, kallus ağırlığına, rejenere bitki sayısına ve toprağa aktarılan bitki sayısına etkisinin olduğu belirlenmiştir. Genotiplerin, melezlemelerde, ana veya baba bitki olarak kullanılması, yapılan doku kültürü çalışmalarından elde edilen değerleri doğrudan etkilemiştir. Doku kültürü teknikleri kullanılarak yapılacak ıslah çalışmalarında, kullanılan genotiplerin sitoplazmik etkilerinin gözönünde bulundurulması ve özellikle melezlemede kullanılacak genotipin ana veya baba olarak kullanılmasının, başarı oranını etkileyeceği belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Anonim, 1999. FAO Production Year Book.
- Baillie, A.M.R., Rossnagel, B.G. and Kartha, K.K. 1993. Evaluation of 10 Canadian barley (*H. vulgare* L.) cultivars for tissue culture response. Canadian Journal of Plant Science, 73:1, 171-174.
- Bayliss, M. ve Dunn, S., 1979. Factors affecting callus formation from embryos of barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Science Lett., 14: 311-316.
- Barcele, P., Vazquez, A., Mattin, A., 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration from tritordeum. Plant Breeding, 103: 3, 235-240.
- Bregitzer, P. 1992. Plant regeneration and callus type in barley: effects of genotype and culture medium. Crop Science, 32:5, 1108-1112.
- Bregitzer, P., Cambell, R.D., Wu, Y. and Wu, Ying. 1995. Plant regeneration from barley callus: effects of 2,4-Diclorphenoxyacetic acid and phenylacetic acid. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 43: 3, 229-235.
- Bregitzer, P. and Poulson, M. 1995. Agronomic performance of barley lines derived from tissue culture. Crop Science, 35.4, 1144-1148.
- Dahleen, L. 1995. Improved plant regeneration from barley callus cultures by increased copper levels. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 43: 3, 267-269.
- Dale, P.J. ve Deambrigo, E., 1979. A comparasion of callus induction ant plant regeneration from different explants of *Hordeum vulgare* L. L.Z. Pfl. 94: 65-77.
- Funatsuki, H., Lazzeri, P.A., Löhrz, H., 1991. Somatic hibridization in *Hordeum* species. Phy. Plantarum. 82: 1, A22.
- Gamborg, O.L. and Eveleigh, D.E., 1984. Culture methods and detection of glucanases in suspension cultures of wheat and barley. Can. J. Biocem. 45: 417-421.
- Ganeva, G., 1995. Effects of 4H *Hordeum vulgare* L., and 4D *Triticum aestivum* L. chromosomes on the genetic control of invitro and invivo plant response to exogenous auxins. Cereal-Research Com. 23:1-2, 27-33.
- Hagio, T., 1995. Production of fertil transgenic barley (*Hordeum vulgare* L.) plant using the higromycin-resistance marker. Plant Cell Rep. 14: 5, 329-334.

- Hang, A. and Bregitzer, P. 1993. Chromozosomal variations in immature embriyoderived calli from six barley cultivars. *Journal of heredity*, 84:2, 105-108.
- Hanzel, J.J., Miller, P., Brinkman, A. and Fendos, E. 1985. Genotype and media effectson callus formation and regeneration in barley . *Crop Science*, 25:27-31.
- Hunold, R., Cramer, R., Mingerzahn, I., Hartleb, E., 1989. Effect of culture medium and level of ploidy barley callus sensitivity to toxin. *Archiv-fur-Phytopathologie-und-Pflanzenschutz*. 25: 6, 545-554.
- Hunold, R. 1989. Suitability of genotypes and explants of barley (*Hordeum vulgare L.*) for invitro selection for disease resistance. *Archiv-Fur-Phytopathologie-und-Pflanzenschutz*, 25: 2, 155-165.
- Jaehna, A., Lazzeri, P.A. and Lörz, H., 1991. Regeneration fertile plants from protoplast derived from embryonic cell suspensions of barley (*Hordeum vulgare L.*). *Plant Cell Rep.* 10: 1-6.
- Kachhwaha, S. ve Kothari, S.L. 1996. Plant regeneration from immature enbryo explants of *Hordeum spontaneum L.* and *Hordeum vulgare L.* *Cereal Research Communications*, 24:1, 27-32.
- Knott, L.S. and Kasha, K.J., 1984. İnitiation and morfolojikal development of somatic embryoides from barley cell cultures. *Can. J. Bot.* 62: 1245-1249.
- Kortha, K.K., Nehra, N.S., Chippar, R.N., 1994. Genetic engineering of wheat and barley. *Plenum Publishing Corporation*, New York, U.S.A., 21-30.
- Kothari, S.L.and Chandra, N. 1988. Somatic embryogenesis and plant regeneration from seed callus of barley (*H. vulgare L.*). *Current Science*, 57:24 1351-1352.
- Komatsuda, T., Lee, W.B., Sato, H., Annaka, T., Enomoto, S., Kang, M., Oka, S., 1991. A genetical factor enhancing plant regeneration linked with the V-v locus in *Hordeum vulgare L.* *Japanese Journal Of Breeding*. 41: 4, 661-664.
- Köhler, F. and Wenzel, G., 1985. Regeneration of isalated barley microspors in conditional media and trials to characterize the responsible factor. *J.Plant Phy.* 121:181-191.
- Köksoy, N.F., 1995. Tahıllarda doku kültürü çalışmaları üzerine araştırmalar. *Seminer notları*. A.Ü.Z.F. Tarla Bitkileri Anabilim DalıYayınları, Ankara.
- Kün, E., 1998. Serin İklim Tahılları AÜZF Yayınları, No: 1032, Ankara.

- Li, M., Abe, T., Futsuhara, Y., 1992. Changes in isozyme patterns associated with the development of calli derived from mature embryo culture of barley (*Hordeum vulgare* L.). Japanese Journal of Breeding, 42: 3, 535-543.
- Liu, B., Wu, Q.S. and Liu, D.J. 1993. Barley protoplast culture : Embryonic callus formation and albino plantlet regeneration. Acta agronomica Sinica, 19:6, 520-522.
- Lu, R.J., Huang, J.H., 1990. Effect of embryo cutting on mature embryo culture of *Hordeum vulgare* L. invitro. Acta-Agriculturae-Shanghai. 6: 3, 20-22.
- Lührz, R. and Lörz, H., 1987. Plant regeneration in vitro from embryogenic cultures of spring and winter type barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. Theor. Appl. Genet., 75: 18-25.
- Mano, Y., Rikiishi, K. and Yasuda, S. 1994. Genetical studies on callus growth and plant regeneration from immature barley embryos in barley. Bulletin of the research institute for bioresources, Okayama University, 2:1, 43-53.
- Mano, Y., Takahashi, H., Sato, K. ve Takeda, K. 1996. Mapping genes for callus growth and shoot regeneration in barley (*H. vulgare* L.). Breeding Science, 46: 2, 137-142.
- Mathias, R.J., Fukui, K. and Law, C.N. 1985. Cytoplasmic effects on the tissue culture response of wheat (*Triticum aestivum*) callus. Theor. Appl. Gene. 72: 70-75.
- Mouritzen, P., Holm, P.B., 1994. Chloroplast genome breakdown in microspore cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.) occurs primarily during regeneration. Journal Of Plant Phy. 144: 4-5, 586-593.
- Ohkoshi, S., Komatsuda, T., Enomoto, S., Taniguchi, m. and Ohyama, K., 1991. Variations between varieties in callus formation and plant regeneration from immature embryos of barley. Bulletin of National Enstitute of Agrobiological Resources, 6:189-207.
- Oka, S., Saito, N. ve Kawaguchi, H. 1995. Histological observation on initiation and morphogenesis in mature and immature embryo derived callus of barley (*H. vulgare* L.). Annals of Botany, 76: 5, 487-492.

- Özgen, M., Türet, M., Özcan, S. and Sancak, C. 1996. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes. *Plant Breeding*, 115: 455-458.
- Park, K.G., Kang, Y.S., Ha, Y.W., 1993. Multi-shooting of plantlets regenerated in callus induced from immature haploid wheat embryo. *RDA-Journal-of-Agricultural-Science,-Biotechnology*, 35: 1, 201-205.
- Preben, B.H., 1994. Rejuvenation of fertile barley plants from mechanically isolated protoplast of fertilized egg cell. *The Plant Cell*, 6: 531-543.
- Rengel, Z., 1987. Embryogenic callus induction and plant regeneration from cultured *Hordeum vulgare* L. mature embryos. *Plant Phys. Biochem.*, 1: 43-48.
- Rikiishi, K., Takeda, K. ve Yasuda, S. 1995 a. Comparison between shoot regeneration ability in calli derived from immature embryos of wild and cultivated barley. *Bulleting of the research institute for bioresources, Okayama University*, 3: 1, 55-62.
- Rikiishi, K., Takeda, K. ve Yasuda, S. 1995 b. Geographical differentiation and varietal variation in root differentiation ability of calli derived from mature embryos in local barley varieties. *Breeding Science*, 45:2, 212-215.
- Rikiishi, K. and Yasuda, S. 1994. Comparison of regenerative ability of callus derived from mature and immature embryos in barley varieties. *Bulleting of the research institute for bioresources, Okayama University*, 2:1, 33-42
- Ruiz, M.L., Rueda, R., Peleaz, M.I., Espino, F.J. and Candela, M. 1991. Somatic embryogenesis, plant regeneration and somaclonal variation in barley. *Plant Cell, Tissue and Organ culture*, 28:97-101.
- Salmenkallio, M.M. and Kauppinen, V., 1995. Efficient regeneration of fertile plants from protoplasts isolated from microspore cultures of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Cell Reports*. 14: 4, 253-256.
- Şehirali, S. ve Özgen, M., 1988. Bitki Islahı Ders Kitabı, AÜZF Yayınları No: 1059, Ankara.
- Shakib, A.M. 1992. Study of callus induction in barley. *Seed and Plant*, 7:3-4, 23-27.

- Sheng, G. and Xuegin, Z. 1995. Immature embryos of barley cv. Yong257, ZRW initially cultured in modified B5 liquid medium with 2,4-D, 2,4-NG/l and NR transferred. *Acta-agricultureae-Sinica* No: 2, 89-93.
- Taniguchi, M., Enomoto, S., Komatsuda, T., Nakajima, K. and Ohyama, K. 1991. Varietal differences in the ability of callus formation and plant regeneration from mature embryo in barley (*H. vulgare L.*). *Japanese Journal of Breeding*, 41:4, 571-579.
- Thomas, M.R. and Scot, K.J., 1985. Plant regeneration by somatic embryogenesis from callus initiated from immature embryos and immature inflorescence of barley (*Hordeum vulgare L.*). *J. Plant Physiol.* 121: 159-169.
- Vasil, I.K., 1987. Developing cell and tissue culture systems for the improvement of cereal and grass crops. *J. Plant Physiol.*, 128: 193-218.
- Vitanova, Z., Vitanov, V., Trifonova, A., Savavo, D. and Atanassov, A. 1995. Effects of 2,4-D precultivation on regeneration capacity of cultivated barley. *Plant Cell Reports*, 14:7, 437-441.
- Walmsley, A.M., Henry, J.R. ve Birch, R.G. 1995. Optimisation of tissue culture conditions for transformation studies using immature embryos of Australian barley cultivars. *Australian Journal of Botany*, 43: 5, 499-504.
- Young, Q.S., Zhang, X., Shi, J., Li, J., Yan, Q.S. Zhang, X.Q. and Liu, J.M. 1981. Green plant regeneration from protoplasts of barley (*H. vulgare L.*) *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2, 89-93.
- Xiang, Y., Liu, J., Ruan, Y., Yuan, A., Ruan, Y.L., Yuan, A.M. and Xiang, Y.B. 1995. Establishment of embryogenic cell suspension cultures from mature embryos of barley (*Hordeum vulgare L.*) and plantlet regeneration. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 5:4, 213-219.
- Ziauddin, A., Kasha, K.J., 1990. Long term callus cultures of diploid barley (*Hordeum vulgare L.*). Auxin effects on culture initiation and maintenance. *Euphytica*, 48: 2, 171-176.

ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında İçel'in Erdemli ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini burada tamamladı. 1993 yılında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünü kazandı. 1997 yılında bu bölümden mezun oldu. Aynı yıl yüksek lisans öğrenimine başladı. 1997-1998 yıllarında Dr. TARSA Tarım ve Sanayi Tic. Lim. Şirketi 'nde çalıştı. 1998 yılından bu yana M.T.A Genel Müdürlüğünde çalışmaktadır.