

T.C.  
UŞAK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARIM BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

KIYI PANCARININ (*Beta vulgaris* var. *maritima*) İN-VİTRO KOŞULLARDA  
MİKRO ÇOĞALTIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet KOLÇAK

AĞUSTOS, 2022

UŞAK

T.C.  
UŞAK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

KIYI PANCARININ (*Beta vulgaris* var. *maritima*) İN-VİTRO KOŞULLARDA  
MİKRO ÇOĞALTIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mehmet KOLÇAK

UŞAK, 2022



*Anneme ve babama*

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

**Mehmet KOLÇAK**



**KIYI PANCARININ (*Beta vulgaris* var. *maritima*) İN-VİTRO KOŞULLARDA  
MİKRO ÇOĞALTIMI**

**(Yüksek Lisans Tezi)**

**Mehmet KOLÇAK**

**UŞAK ÜNİVERSİTESİ**

**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**Tarım Bilimleri Ana Bilim Dalı**

**Ağustos 2022**

**ÖZET**

Bu çalışma, kıyı pancarı (*Beta vulgaris* var. *maritima* (L.) Arcang.) bitkisinin, farklı bitki explantları ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerinden oluşan besi ortamlarındaki rejenerasyon yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Denemede 5 farklı explantın (hipokotil, kotiledon, yaprak, petiol ve boğum) rejenerasyon yeteneği Gellan Gum (Gellex®) + MS (Murashige ve Skoog) ortamına ilave edilen kinetin (KIN) ve indole 3- butyric acid (IBA) (0, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/L) dozlarının etkileri incelenmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Denemede kullanılan farklı explantların kallus oluşturma (%), sürgün oluşturma (%), kök oluşturma (%) ve kök uzunluğu (mm) gibi özellikleri incelenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, hipokotil explantlarında kallus oluşumu çok daha iyi olurken, boğum explantlarında ise sürgün oluşumunun çok belirgin şekilde olduğu gözlenmiştir. En yüksek kallus oluşum oranı hipokotil explantlarında (%0-86.7) arasında değişmiştir. Hipokotil explantlarının farklı dozlarda KIN ve IBA ilavesi yapılan ortamlarda, kallus oluşumunun çok daha fazla olduğu tespit edilmiştir. En iyi sürgün oluşturma oranı (%100) boğum eksplantlarından elde edilmiştir. Bu eksplantın

tüm uygulamalarında aynı sonuç elde edilmiştir. Bu eksplantın sürgünlerinin kök oluşum oranı kinetinsiz ortamda, 0.5, 1.5 ve 2.0 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlarda %100 olarak gerçekleşmiştir. Elde edilen sonuçlara göre boğum eksplantında 0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA dozunun bu bitki türünün *in-vitro* çoğaltılmasında en etkili şekilde kullanılacak bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonu olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler** : Kıyı pancarı, *Beta vulgaris* var. *maritima*, *in-vitro*, explant, bitki büyüme düzenleyicileri

**Sayfa Adedi** :63

**Tez Yöneticisi** : Prof. Dr. Ercüment Osman SARIHAN

**MICROPROPRIATION OF SEA BEET (*Beta vulgaris* var. *maritima*) SPECIES  
IN-VITRO CONDITIONS**

**(M.Sc. Thesis)**

**Mehmet KOLÇAK**

**UŞAK UNIVERSITY**

**GRADUATE EDUCATION INSTITUTE**

**Department of Agricultural Sciences**

**August 2022**

**ABSTRACT**

In this study, it was aimed to determine the regeneration abilities of different plant growth regulators (Kinetin and Indole butyric acid) combinations on different explants of sea beet (*Beta vulgaris* var. *maritima* (L.) Arcang) plant under *in-vitro* conditions. Determination of hypocotyl, node and cotyledon explants in MS media prepared with different doses of kinetin (KIN) and Indole-3-butyric acid (IBA) (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/L). regeneration capabilities were determined. In the study, callus formation rate (%), shoot formation rate (%), rooting rate (%), number of shoots per explant (number). The root formation rate of the shoots of this explant was 100% in the medium without kinetin, where 0.5, 1.5 and 2.0 mg/l IBA doses were applied. According to the obtained results, it was determined that 0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA doses was most effective application in the node explant for *in-vitro* propagation of this plant species. It was determined that in the rapid reproduction of this plant species, the node explant can be used very conveniently for the rapid reproduction of the plant.

**Keywords** : Sea beet, *Beta vulgaris* var. *maritima*, *in-vitro*, explant, plant growth regulators.  
**Number of Page** : 63  
**Advisor** : Prof. Dr. Ercüment Osman SARIHAN

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli yardım ve katkılarını benden esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Ercüment Osman Sarıhan'a, tezimin yürütülmesi sürecinde görüşlerinden faydalandığım Doç. Dr. M. Uğur Yıldırım ve Prof. Dr. Khalid Mahmood Khawar, Prof. Dr. Songül Gürel, Prof. Dr. Ekrem Gürel, Prof. Dr. Mehmet Cengiz Baloğlu hocalarıma şükranlarımı sunarım.

Çalışmanın laboratuvar ve tarla koşullarında verdikleri desteklerden dolayı başta Biyolog Ayşe Kangal olmak üzere Bitki Islah Şubesinde görevli tüm çalışma arkadaşlarıma da teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bu çalışmada materyal olarak kullanılan *B. vulgaris* var. *maritima* (L.) Arcang. bitkisi tohumlarının temin edilmesinde yardımcı olan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsüne ve TŞFAŞ Şeker Enstitüsüne, çalışmanın yürütülmesi sırasında laboratuvar imkânlarını bana sunan TŞFAŞ Şeker Enstitüsüne, çalışmada çeşitli imkanlarından faydalandığımız Uşak Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümüne de teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Mehmet KOLÇAK

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	17
3.1. MATERYAL.....	17
3.2. YÖNTEM.....	17
3.2.1. Çimlenme testleri.....	17
3.2.2. Doku kültürü denemeleri .....	18
3.2.2.1. Besi ortamlarının hazırlanması.....	18
3.2.3. <i>İn –vitro</i> çalışmalar.....	18
3.2.3.1 Tohumların yüzey sterilizasyonu.....	18
3.2.3.2 Eksplantların hazırlanması .....	19
3.2.4. Verilerin elde edilmesi .....	20
3.2.4.1 Çimlenme oranı (%).....	20
3.2.4.2 Kallus oluşturma oranı (%).....	20
3.2.4.3 Sürgün oluşturma oranı (%).....	20
3.2.4.4 Eksplant başına sürgün sayısı (adet).....	21
3.2.4.5 Kök oluşturma oranı (%).....	21
3.2.4.6. Eksplant başına kök sayısı (adet).....	21
3.2.4.7 Kök uzunluğu (mm).....	21
3.2.5. Rejenere olan sürgünlerin köklendirilmesi.....	21
3.2.6. İstatistiksel analizler.....	21
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	22

4.1.	Hipokotil eksplantı rejenerasyonu.....	22
4.1.1.	Hipokotil eksplantı kallus oluşturma oranı (%).....	22
4.1.2.	Hipokotil eksplantı sürgün oluşturma oranı (%).....	24
4.1.3.	Hipokotil eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant).....	24
4.1.4.	Hipokotil eksplantı kök oluşturma oranı (%).....	24
4.1.5.	Hipokotil eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant).....	26
4.1.6.	Hipokotil eksplantı kök uzunluğu (mm).....	27
4.2.	Boğum eksplantı rejenerasyonu.....	28
4.2.1.	Boğum eksplantı kallus oluşturma oranı (%).....	29
4.2.2.	Boğum eksplantı sürgün oluşturma oranı (%).....	29
4.2.3.	Boğum eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant).....	30
4.2.4.	Boğum eksplantı kök oluşturma oranı (%).....	32
4.2.5.	Boğum eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant).....	32
4.2.6.	Boğum eksplantı kök uzunluğu (mm).....	34
4.3.	Kotiledon eksplantı rejenerasyonu.....	35
4.3.1.	Kotiledon eksplantı kallus oluşturma oranı (%).....	35
4.3.2.	Kotiledon eksplantı sürgün oluşturma oranı (%).....	36
4.3.3.	Kotiledon eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant).....	37
4.3.4.	Kotiledon eksplantı kök oluşturma oranı (%).....	38
4.3.5.	Kotiledon eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant).....	39
4.3.6.	Kotiledon eksplantı kök uzunluğu (mm).....	40
4.4.	Petiol eksplantı rejenerasyonu.....	41
4.4.1.	Petiol eksplantı kallus oluşturma oranı (%).....	41
4.4.2.	Petiol eksplantı sürgün oluşturma oranı (%).....	42
4.4.3.	Petiol eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant).....	43
4.4.4.	Petiol eksplantı kök oluşturma oranı (%).....	44
4.4.5.	Petiol eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant).....	44
4.4.6.	Petiol eksplantı kök uzunluğu (mm).....	46
4.5.	Yaprak eksplantı rejenerasyonu.....	46
4.5.1.	Yaprak eksplantı kallus oluşturma oranı (%).....	47
4.5.2.	Yaprak eksplantı sürgün oluşturma oranı (%).....	48
4.5.3.	Yaprak eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant).....	49

4.5.4	Yaprak eksplantı kök oluşturma oranı (%).....	49
4.5.5	Yaprak eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant).....	51
4.5.6	Yaprak eksplantı kök uzunluğu (mm).....	51
4.6.	Dış iklim koşullarına alıştırma süreci.....	53
5.	SONUÇ.....	54
6.	KAYNAKLAR.....	57
7.	ÖZGEÇMİŞ.....	63



## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	Hipokotil eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları.....	22
Çizelge 4.2.	Hipokotil eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları.....	23
Çizelge 4.3.	Hipokotil eksplantı sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları.....	24
Çizelge 4.4.	<u>Hipokotil eksplantı eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları.....</u>	24
Çizelge 4.5.	Hipokotil eksplantı eksplant başına kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları.....	25
Çizelge 4.6.	Hipokotil eksplantı kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerler ve farklılık gruplandırmaları.....	25
Çizelge 4.7.	Hipokotil eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	26
Çizelge 4.8.	Hipokotil eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları.....	27
Çizelge 4.9.	Boğum eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları.....	30
Çizelge 4.10.	Boğum eksplantı eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	31
Çizelge 4.11.	Boğum eksplantı kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları....	32
Çizelge 4.12.	Boğum eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerler ve farklılık gruplandırmaları.....	33
Çizelge 4.13.	Boğum eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	33
Çizelge 4.14.	Boğum eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları.....	34
Çizelge 4.15.	Kotiledon eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları.....	36
Çizelge 4.16.	Kotiledon eksplantı sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları.....	36

Çizelge 4.17.	Kotiledon eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları.....	37
Çizelge 4.18.	Kotiledon eksplantı eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	38
Çizelge 4.19.	Kotiledon eksplantı eksplant başına kök oluşturma oranı varyans analiz tablosu.....	38
Çizelge 4.20.	Kotiledon eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerler ve farklılık gruplandırmaları.....	39
Çizelge 4.21.	Kotiledon eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.22.	Kotiledon eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları.....	40
Çizelge 4.23.	Petiol eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları...	42
Çizelge 4.24.	Petiol eksplantı sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları...	42
Çizelge 4.25.	Petiol eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları.....	43
Çizelge 4.26.	Petiol eksplantı eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	44
Çizelge 4.27.	Petiol eksplantı kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları.....	44
Çizelge 4.28.	Petiol eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	45
Çizelge 4.29.	Petiol eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve en uzun kök uzunluğu (mm) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları.....	45
Çizelge 4.30.	Petiol eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları.....	46
Çizelge 4.31.	Yaprak eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları..	47
Çizelge 4.32.	Yaprak eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları.....	48
Çizelge 4.33.	Yaprak eksplantı sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları	49
Çizelge 4.34.	Yaprak eksplantı eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	49
Çizelge 4.35.	Yaprak eksplantı kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları....	49

Çizelge 4.36.	Yaprak eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları.....	50
Çizelge 4.37.	Yaprak eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları.....	51
Çizelge 4.38.	Yaprak eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları.....	51



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.	Farklı eksplantların sürgün oluşturma oranlarının karşılaştırılması.....	29
Şekil 4.2.	Boğum eksplantlarında farklı hormon kombinasyonlarında kök sayısı ve sürgün sayısında görülen değişimler.....	31
Şekil 4.3.	Farklı eksplantların köklenme durumlarının kümülatif grafikte gösterimi..	54
Şekil 4.4.	Farklı eksplantların kallus oluşturma durumlarının kümülatif grafikte gösterimi.....	55



## RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1.	Tohumların çimlenme oranlarının belirlenmesi.....	18
Resim 3.2.	MS ortamında çimlendirilen kıyı pancarı tohumlarından gelişen fidelerin eksplant alacak büyüklüğe getirilmesi.....	19
Resim 3.3.	(a,b,c,d,f) Kıyı pancarı <i>B. vulgaris</i> var. <i>maritima</i> tohumlarının in-vitro ortamda çimlendirilmesi ve eksplant elde edilecek bitki fidelerinin elde edilmesi. e) <i>in-vitro</i> 'da gelişen bitkilerden alınan eksplantlar g) kotiledon, h) boğum, ı) petiol j) yaprak eksplantlarının <i>in-vitro</i> ortama aktarılması.....	20
Resim 4.1.	Hipokotil eksplantında en fazla köklenme oranı, eksplant başına kök sayısının ve en uzun kök boyunun görüldüğü uygulamalar.....	26
Resim 4.2.	(a,b,c,d,e,f) sürgün oluşturan eksplantların köklendirilmesinden sonra dış ortama alıştırılması ve toprak ortama aktarılması, (g,h)serada dış ortama alıştırılan bitkilerin tarlaya aktarılması.....	53

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
mg/L	Miligram/Litre
g/L	Gram/Litre

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
g	gram
mg	miligram
MS	Murashige and Skoog bitki besi ortamı
KIN	Kinetin
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
IBA	İndol-3-butycic acid
IAA	Indole -3- acetic acid
BA	6-Benzyladenine
BAP	6- Benzylaminopurine
TDZ	Thidiazuron
GA3	Giberellic acid
2,4-D	2,4- dichlorophenoxyacetic acid
2,4,5-T	2,4,5-T-Trichlorophenoxyacetic acid
TIBA	Triiodobenzoic acid
PGR	Çimlenme büyüme ve rejenerasyon ortamı
pH	Asitlik ve bazlık değeri
FAO	Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
S.D	Sapma Değeri

<b>K.O</b>	Kareler Ortalaması
<b>dk</b>	Dakika
<b>ml</b>	Mililitre, litrenin binde biri
<b>L</b>	Litre
<b>PPM</b>	Bitki Doku Kùltürü Karışımı için Koruyucu



## 1. GİRİŞ

Şeker, kimyasal ismiyle sakaroz ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ), temel gıda ihtiyacının karşılanmasında ana besin maddelerin başında gelmektedir. Tarımsal faaliyetler neticesinde başta şeker kamışı (*Saccharum officinarum* L.) ve şeker pancarı (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* var. *altissima* L.) olmak üzere, hurma ağacı (*Phoenix dactylifera* L.), şeker sorgumu (*Sorghum bicolor* L. Moench.) ve akçağaç (*Acer* ssp.) gibi bitkilerden şeker elde edilebilmektedir. Şeker kamışında %11-16 oranlarında, şeker pancarında ise %14-24 oranlarında şeker bulunabilmektedir (Er ve Uranbey, 1996). Dünya’da şeker üretiminin %78 i’ şeker kamışından; % 22’si ise şeker pancarından elde edilmektedir (Anonim, 2021a). Şeker pancarı, tarımsal bir ürün olması yanında, stratejik önemi de olan bir üründür. Tarıma dayalı olan sanayinin gelişmesine, taşımacılığa, hayvan beslemesine, alkol sanayine ve daha birçok alana katkı sağlayan ve istihdam oluşturan bir üründür. Günümüzde; dünya çapında şeker pancarından şeker üretimi gerçekleştiren ülkeler arasında önemli bir yere sahip olan Türkiye; ABD, Rusya, Fransa ve Almanya’nın ardından 5., sırada yer almaktadır. Ülkemizde, kişi başına şeker tüketimi ortalaması yaklaşık yıllık 30 kg’dır. Tüketilen bu şeker, Doğu Karadeniz, Ege, Akdeniz’in sahil şeridi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi dışında kalan diğer tüm bölgelerde yapılan şeker pancarı tarımıyla karşılanmaktadır. 2019/2020 dönemi itibariyle, yaklaşık olarak 3,4 milyon dekar alanda, 18 milyon ton şeker pancarı üretimi yapılmışken; 2021/2022 döneminde 86.296 üretici ile 3.023.553 dekar alandan elde edilen şeker pancarı miktarı 17.767.086 ton bu pancarın işlenmesi ile elde edilen şeker 2,55 milyon ton olmuştur (Anonim, 2021a; Anonim, 2021b). *Beta vulgaris*’in kültür formlarının orijini; *vulgares* seksiyonundaki *Beta vulgaris* var. *maritima*’dan köken almıştır. İlk pancarlar Küçük Asya’da yaprakları için yetiştirilmiştir. Ortaçağın başlarında bu bitkinin köklerinden yararlanılmaya başlanmıştır (Knap,1958; Erdal, 1996). 1608 yılında Oliver de Serres, kırmızı sebzelik pancardan elde edilen usarenin, şeker şurubuna benzediğini ve aynı özelliğin yem pancarında da bulunduğunu belirlemiş ve bu usareyi arıların beslenmesinde kullanmıştır (Erdal, 1996). 1747 yılında Alman kimyacı Marggraf yaptığı kimyasal analizlerle pancarlarda şeker varlığını tespit etmiştir. Bu şekerin de fiziksel ve kimyasal bakımdan kamış şekeri ile de aynı olduğunu belirtmiştir. Böylece Marggraf şekerin sadece tropik iklim bitkilerinde bulunabileceği

düşüncesini yıkararak şeker pancarı tarımın ilk temelini atmıştır. Achard, Prusya sınırlarında aşığı Silezya'nın Cunern kasabasında, dünyadaki ilk pancardan şeker üreten fabrikasını kurmuştur. Bugünkü şeker pancarının anası kabul edilen konik şekilde kök veren, beyaz et renkli, beyaz silezya pancarını; şeker pancarının yabancı atalarından geliştirmiş ve ıslah etmiştir (Winner, 1984; Erdal, 1996). Fransa'da Luis de Vilmorin, beyaz silezya pancarında seleksiyonlar yapmış, 1837 yılında pancar ıslahında döl kontrolü metodunu geliştirmiştir. O dönemde %7-9 olan şeker oranı 1850'lerde özel ağırlık ölçümünün ve 1862'de polarimetrenin bulunmasıyla da hızlı bir şekilde artırılmıştır (Winner, 1984; Erdal, 1996). 1900'lü yıllarda %16 ve 1920'lerde %16-19 şeker varlığı olan çeşitler geliştirilmiştir (Erdal, 1996).

Pancar türleri içinde kültürü yapılan tek tür *Beta vulgaris*'dir. *Beta vulgaris* türünün ilk kültüre alınan varyetesi hayvan pancarı, en son kültüre alınan varyetesi ise şeker pancarıdır. Kültür pancarı ve pazılarının (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*) içerisinde, *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *cicla* (Yaprak pazısı), *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *flavescens* Lam. & DC. (Sap damar pazısı); *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *altissima* Döll. (Şeker pancarı); *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *crassa* Alef. (Hayvan Pancarı); *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *conditiva* Alef. (Kırmızı salatalık pancar); *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *lutea* Lam. & DC. (Sarı salatalık pancar) gibi türler bulunmaktadır. Varyetelerin tamamı şeker içermektedir (Er ve Uranbey, 1996). Kültür pancarının atası olarak *Beta vulgaris* var. *maritima* (L.) Arcang (Kıyı pancarı) kabul edilmektedir. Kıyı pancarı hastalıklar ve zararlılara karşı genetik dirençleri geliştirmek için ıslah çalışmalarında başarıyla kullanılmıştır. Günümüzde Dünya'da pancar yetiştiriciliğinin yapıldığı birçok ülkede; yabancı gen kaynaklarında bulunan ve korunan bir takım özelliklerin geri kazanılması olmadan, şeker pancarı kültürünün ve ıslahının yapılabilmesi neredeyse imkânsızdır (Biancardi ve ark., 2012). Yani klasik pancar ıslahında, yabancı gen kaynakları çok önemlidir. Şeker pancarının bulunduğu vulgares seksiyonunda ayrıca *B. vulgaris* subsp. *maritima*; *B. vulgaris* subsp. *adanensis*, *Beta macrocarpa* ve *Beta patula* türleri de yer almaktadır (Ford-Loyd, 2005). Yabancı türler, ıslah çalışmalarında verim ve kalite özelliklerinin iyileştirilmesi için sürekli seleksiyona tabi tutulması nedeniyle genetik çeşitliliği azalan kültür formlarının, genetik çeşitliliğini artırmada önemli birer kaynaktırlar (Biancardi ve ark., 2012). Munerati ve arkadaşları tarafından, 1913 yılında Şeker pancarına,

Cercospora yaprak lekesi hastalığına dayanıklılık özelliğinin *Beta vulgaris* var. *maritima* türünden aktarılmış olması başarılı ilk örnektir. (Biancardi ve ark., 2012). *Beta vulgaris* var. *maritima* tuza toleranslı bir tür olup gen kaynağı olarak kullanılabilir özellikte sahiptir (Biancardi ve ark., 2012). Şeker pancarında; *Rhizomania*, *Polymyxa betae* Keskin mantarının sporları ile şeker pancarına bulaşan çok önemli virüs etmenli bir kök hastalığıdır. Bu hastalık bulaştığı tarlada kök verimini %30-95 azaltmaktadır. Pancar tarımını ekonomik olmaktan çıkartarak, üretiminin terk edilmesine bile sebep olmaktadır (Kutluk Yılmaz ve Erkan 2005). Bu hastalığa karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde; ayrıca tuza ve kuraklığa dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde, bu yabancı türler büyük önem taşımaktadır. Şeker pancarı, karakteristik olarak tuza ve kuraklığa dayanıklı olmasına rağmen, tuza ve kuraklık stresine uzun süreli ve sürekli maruz kaldığında, veriminde önemli düşüşler görülebilmektedir. Bundan dolayı, dayanıklı pancar çeşitlerinin geliştirilmesi gereklidir (Yolcu ve ark., 2021). Bu güne kadar *Rhizomania*'ya *Beta vulgaris* var. *maritima*'dan sağlanan 5 dayanıklılık kaynağı bulunmuştur (Biancardi ve ark., 2012).

Türkiye'de 10 adet pancar taksonu bulunmaktadır. *Beta* türlerindeki biyolojik çeşitliliğin çok zengin olması, pancar ıslahında kullanılacak materyal açısından bu türlerin değerini artırmaktadır. Doğu Anadolu, Batı Anadolu'nun dağlık kesimleri, Toroslar, Kuzeyde Bolu ve Kastamonu'nun iç kesimleri ile Eskişehir ve çevresi pancarın değişik formları ve tipleri bakımından önemli bölgelerimiz arasındadır (Tubives 2020). Şeker pancarı ıslahında, hastalıklara ve abiotik stres koşullarına dayanıklı yeni çeşitleri geliştirebilmek için yabancı türlere ihtiyaç vardır. Melezlemelerde, kültür şeker pancarı çeşitleri ile beraber kullanılan yabancı türlerin, korunması ve hızlı çoğaltılması bu yüzden oldukça önemlidir. İstenilen özellikleri taşıdığı belirlenen yabancı türlerinin hızlı çoğaltılmasında bitki doku kültürü tekniklerinin kullanılması bitki ıslahı çalışmalarında gerekli materyalin hızlı şekilde çoğaltılması açısından önem taşımaktadır. Şeker pancarı bitkisinde; hipokotiller, kotiledonlar, yapraklar, petioller, kökler, çiçek sapları, anterler, embriyolar ve tohumlar dâhil olmak üzere şeker pancarı (*B. vulgaris*) bitkisinin çeşitli eksplantlarından kolayca kallus elde edilebilmektedir. Kalluslardan adventif sürgün oluşumunun sağlanabildiği veya köklenmenin oluşturulabildiği (Bhat ve ark., 1985; Keimer, 1985; Mikami ve ark., 1989; Gürel, 1997; Gürel ve ark., 2001) tarafından bildirilmiştir. Genotipik varyasyon,

kallus üretimi ve sonrasında organ oluşumu açısından da önemlidir. Bazı genotipler, organogenesisise diğerlerinden daha yatkındır. Ayrıca bu oluşuma genç dokular, olgun dokulardan daha da duyarlıdırlar (Mikami ve ark., 1989; Gürel, 1997; Gürel ve ark., 2001). Doku kültürü ortamlarında, ortamın bitki büyüme düzenleyicisi içeriği de morfogenetik yolun belirlenmesinde çok önemlidir. Bir sitokin (genelde BAP) ve bir oksin'in (çoğunlukla IAA, NAA veya 2-4 D) yer aldığı ortamlarda kallus oluşturabilmektedir. Sonrasında sürgün oluşumunu teşvik için daha düşük seviyelerde bir oksin veya sitokin bulunan ortamlara aktarım yapılması gerekmektedir (Gürel ve ark., 2001). Köklenme için ise daha yüksek dozlarda oksin bulunan ortamlar kültür için gerekmektedir. Az sayıda da olsa kalluslardan adventif sürgünlerin veya köklerin elde edilebileceği birkaç araştırmacı tarafından belirtilmiştir. Örneğin; Hooker ve Nabors, (1977); De Greef ve Jacobs, (1979) yaptıkları çalışmalarında genç bitkiciklerden alınan eksplantlardan elde edilen kalluslardan yalnızca bir adet sürgün elde edilebilmişlerdir. Zhong ve ark. (1993a) yaptıkları çalışmalarında, yabani pancar *Beta vulgaris*. var. *maritima* bitkisinin çiçek eksplantları ile *in vitro* koşullarda çoğaltma yapmışlardır. Araştırmacılar, MS ortamına 1.0 mg/L BAP ilavesinin yapıldığı uygulamada çiçek sürgünlerinden diğer alt eksplantlardan alınan eksplantlara göre çok daha iyi bir adventif sürgün elde edilmiştir. Buna ek olarak oksin ilavesinin faydalı olmadığını, %3 sukroz içeren bir MS ortamı kullanılarak 1.0 mg/L NAA uygulanmasıyla sürgünlerde köklenmenin de sağlanabildiğini belirtmişlerdir. Türkiye'de şeker pancarı ıslahında bitki doku kültürü çalışmalarıyla genetik materyalin klonla (Gürel ve Gürel, 1996; Gürel ve Gürel, 1998; Gürel ve ark., 2000; Gürel ve ark., 2003a,b; Gürel ve ark., 2011; Beyaz ve ark., 2012; Beyaz ve ark., 2013; Gürel ve Gürel, 2014), hücre kültürüyle (Gürel ve ark., 2002a), kallus kültürüyle (Gürel ve ark., 2001), ovül kültürüyle (Gürel ve ark., 2000; Gürel ve ark., 2015) ve protoplast kültürüyle (Gürel ve ark., 2002b) çoğaltılmasına yönelik bir takım çalışmalar yürütülmüştür.

Bitki doku kültürü çalışmalarıyla, aynı genetik yapıya sahip birçok birey hızlı ve sağlıklı olarak çoğaltılabilmektedir (Yu, 1989; Gürel ve Gürel, 1996; Gürel ve Gürel, 1998; Gürel ve ark., 2000; Gürel ve ark., 2001; Gürel ve ark., 2002a,b; Gürel ve ark., 2003a,b; Gürel ve ark., 2011; Beyaz ve ark., 2012; Beyaz ve ark., 2013; Gürel ve Gürel, 2014; Gürel ve ark., 2015; Yıldırım, 2013; Özdemir ve ark., 2015; Özdemir ve Yıldırım, 2016 a,b; Khawar ve ark., 2005). Ancak, ıslah programına dâhil edilen önemli kültür

bitkilerine ait doğal türlerinin bitki doku kültürü teknikleriyle çoğaltılmasına yönelik en uygun koşulların belirlenmesi ve tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Şeker pancarı bitkisinde, kültürü yapılan çeşitlerle yapılmış birçok doku kültürü çalışması söz konusudur. Ancak, yabancı türleriyle ilgili yapılan çalışma sayısı ise oldukça azdır. Türkiye’de doğal olarak yetişen şeker pancarı türlerinin doku kültürü teknikleriyle *in-vitro* ortamda çoğaltılmasına yönelik yapılacak çalışmalar şeker pancarı ıslahı için oldukça değerli sonuçların elde edilmesine olanak sağlayacaktır. Birçok kültür bitkisinde olduğu gibi şeker pancarında da genetik materyallerin en önemlilerinden birisi bu bitkinin doğal yabancı türleridir. Bu türler, şeker pancarında görülen birçok hastalık ve zararlıya, kuraklığa ve tuza dayanıklılık genlerini taşıyabilmektedirler. Bu genetik materyallerin, gerek korunmasında gerekse de ıslah programlarında kullanılmasında, hızlı çoğaltılmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışma ile şeker pancarı ıslahında şeker pancarın atası olarak nitelendirilen *B. vulgaris* var. *maritima* (L.) Arcang. türünün doku kültürü çalışmalarıyla hızlı çoğaltılması belirlenmeye çalışılmıştır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Günümüzde kaybolma riskiyle karşı karşıya olan bitki türlerinin korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin üretiminde çeşitli doku kültürü teknikleri başarıyla uygulanmaktadır. Ayrıca yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitler içerisinde genetik varyasyon oluşturmak için de doku kültürü teknikleri kullanılmaktadır. Bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi bitki kısımları; yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin üretiminde kullanılabilir (Babaoğlu ve ark., 2001). Bitki doku kültürü teknikleri; bitki ıslahında, embriyo kültüründe, anter ve ovül kültüründe, somaklonal varyasyon oluşturmada, *in-vitro* seleksiyon, *in-vitro* döllenme ve *in-vitro* germplazm muhafazasında, somatik hücre melezlemelerinde ve gen transferlerinde kullanılmaktadır. Bitki doku kültürleri bitki ıslahı çalışmaları dışında, hastaliksız bitki elde edilmesi için meristem kültüründe, mikro-çoğaltımda, sentetik tohum üretiminde, sekonder metabolit üretiminde ve kimeralarda kullanılmaktadır (Babaoğlu ve ark., 2001).

Bitki doku kültürü ile bitki çoğaltılmasına önemli katkılar sağlayan bazı çalışmalara göz atacak olursak; 1902 yılında Haberlandt tarafından izole edilen hücrelerin kültürü yapılmıştır. 1904'te olgun embriyoların kültürü Hanning tarafından gösterilmiştir. 1922 yılında Kotte ve Robbins tarafından kök ve sürgün uçlarının laboratuvar ortamında çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. 1934 yılında ilk kallus kültürleri Gautheret tarafında elde edilmiştir. 1946 yılında sürgün uçlarından ilk bitki eldesi Ball tarafından ortaya konulmuştur. 1954 yılında Muir ve ark. tarafından hücre süspansiyonlarından ilk bitki eldesi gerçekleştirilmiştir. 1962 yılında Murashige ve Skoog tarafından MS besin ortamı geliştirilmiştir. 1965 yılında Vasil ve Hilderbrandt tarafından tek hücreden bitki rejenerasyonu gerçekleştirilmiştir. 1967 'de anter polen kültürü ile ilk haploid bitki elde edilmiştir. 1978 yılında Melchers ve ark. tarafından cinsler arası ilk somatik melezle gerçekleştirilmiştir. 1983 yılında ilk transgenik bitki (tütünde) elde edilmiştir (Pierik, 1993; Kung, 1993; Endress, 1994; Babaoğlu ve ark., 2001).

Günümüzde yürütülen bitki doku kültürü çalışmalarında kullanılan besi ortamlarına çeşitli maddeler konulmaktadır. Bunlar; su, makro ve mikro elementler,

vitaminler, şekerler, yarı-katılaştırıcılar, bitki büyüme düzenleyiciler, tamponlar, aminoasitler ve kimyasal olarak tanımlanamayan bazı maddelerdir (George, 1993; Franklin ve Dixon, 1994; Gamborg ve Philips, 1995; Babaoğlu ve ark., 2001). Doku kültürü için oluşturulan bir besin ortamında çoğunlukla 8-9 değişik grupta yer alan; 20-30 bileşen ve bunların farklı dozlarından oluşan kombinasyonlar kullanılabilir (Babaoğlu ve ark., 2001).

Bitki büyüme düzenleyicileri doku kültürü ortamlarının en önemli unsurlarından sürgün kök ve kallus gelişiminde etkili olmaktadır ancak bitki tür ve çeşitlerine göre değişmekle birlikte, bu maddelerin ortamdaki uygun olmayan konsantrasyonları genellikle ortaya hiçbir etki de çıkarmamaktadır. En çok kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri oksinler, sitokininler, giberellinler, absisik asit ve etilendir. Elde edilen sürgünlerin köklendirilmesinde kullanılan oksinler; köklendirme, fotoperiyodizm, apikal dominans, yan sürgün gelişiminin engellenmesi ve hücre gelişiminde etkili olup doku kültürlerinde tek başına kullanılırsa kallus uyarımı, somatik embriyo oluşumunun uyarımı, hücre süspansiyonlarının elde edilmesinde, sitokininlerle birlikte ise sürgün rejenerasyonu, somatik embriyo oluşumunun uyarılması, kallus oluşumunu sağlayabilirler. IBA, IAA, NAA, 2,4-D, 2,4,5-T oksinler grubunda yer alan bitki gelişme düzenleyicileridir. Bitkilerde rejenerasyon ve sürgün çoğaltımında etkili olan (Smith, 1992) sitokininler; hücre bölünmesinde, yeniden farklılaşma, yaşlanmayı geciktirme, sürgünlerde köklenmeyi ve embriyogenesi engelleme gibi özelliklere sahiptirler. (Babaoğlu ve ark., 2001 )

Kinetin ve BAP gibi bitki büyüme düzenleyicileri ise sitokininler grubunda yer alırlar. Besin ortamlarında oksininin, sitokinine göre ortamda yüksek olması kök oluşumunu, aynı ortamda sitokinin oksine göre yüksek olması sürgün oluşumunu ve arada olan oranların ise kallus oluşumunu desteklediği bildirilmiştir. Bu yaklaşım sonucu *in-vitro* sürgünler ve/veya kökler oluşturan yüzlerce bitki türü elde edilmiştir (Gürel, 1998; Gürel ve Uçar Türker 2001).

Etkin bir organ oluşumunun yerine getirilebilmesi için uygun eksplantın ve uygun bir besin ortamının seçilmesi ayrıca fiziksel çevre koşullarının kontrolü önemlidir (Murashige, 1974; Evans ve ark, 1981; Ammirato, 1983). Normal şartlarda,

herhangi bir bitki parçası organogenesis çalışmalarında eksplant olarak kullanılabilir (Gürel ve Uçar Türker 2001).

Bir bitkiden alınan ve tam bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip tohum, kök, gövde, sürgün, embriyo, kallus, tek bir hücre vb. bitki kısımlar daha çok bu amaç için kullanılır. Bu eksplantlardan yapay besin ortamlarında, steril koşullar altında yeni bitkilerin elde edilmesine mikro-çoğaltım denilmektedir. Eğer bitkilerin uygun besin maddeleri ihtiyacı, hormon ve kültür istekleri yeterince biliniyorsa mikro-çoğaltım teknikleri kullanılarak tüm bitki türlerinin üretilmesini mümkün olabileceği belirtilmiştir (Hartman ve Kester, 1975; Mansuroğlu ve Gürel, 2001).

Mikro-çoğaltım sayesinde, hastalık ve zararlılardan arı bitkisel materyaller elde etmek mümkündür. Bu yöntemler ile homojen nitelikte bitkilerin kısa kültür sürelerinde elde edilmesi sağlanır. Ayrıca zor üretilen bazı türlerin çok daha kolay üretilmesi mümkündür. Bu sayede seçilen genotiplerden hızlı bir şekilde daha az anaç materyal kullanılarak bitki üretimi gerçekleştirilebilir. Ayrıca çalışmalar sırasında ortaya çıkacak somaklonal varyasyonlardan dolayı da yeni genotipler elde edilmesi mümkün olabilmektedir. Mikro-çoğaltımda en çok seçilen eksplantlar tepe ve koltukaltı tomurcuklardır, farklı organlarda eksplant olarak kullanılır (Mansuroğlu ve Gürel, 2001).

Doku kültürü ortamlarında; ortamın bitki büyüme düzenleyicisi içeriği, morfogenetik yolun belirlenmesinde önemlidir. Bir sitokin (genelde BAP) ve bir oksinin (çoğunlukla IAA, NAA veya 2-4 D) yer aldığı ortamlar kallus oluşturabilmektedir. Sonrasında sürgün oluşumunu teşvik için daha düşük seviyelerde bir oksin veya sitokin bulunan ortamlara aktarılması gerekmektedir (Gürel ve ark. 2001).

Köklenme için ise daha yüksek dozlarda oksin bulunan ortamlar kültür için gerekmektedir. Az sayıda da olsa kalluslardan adventif sürgünlerin veya köklerin elde edilebileceği birkaç araştırmacı tarafından belirtilmiştir. Örneğin; Hooker ve Nabors (1977) ve De Greef ve Jacobs, (1979) yaptıkları çalışmalarında genç bitkiciklerden alınan eksplantlardan elde edilen kalluslardan yalnızca bir adet sürgün elde edebilmişlerdir. Şeker pancarı bitkisinde; hipokotiller, kotiledonlar, yapraklar, petioller,

kökler, çiçek sapları, anterler, embriyolar ve tohumlar dâhil olmak üzere şeker pancarı (*B. vulgaris*) bitkisinin çeşitli eksplantlarından kolayca kallus elde edilebildiğini belirtmişlerdir. Kalluslardan adventif sürgün oluşumu veya köklenmenin oluşturulabildiği (Bhat ve ark., 1985; Keimer, 1985; Mikami ve ark., 1989; Gürel, 1997; Gürel ve ark., 2001) tarafından bildirilmiştir.

Gürel ve ark. (2001), yaptıkları çalışmalarında; kallus üretimi için, *in vitro* koşullarda yetiştirdikleri farklı şeker pancarı (*Beta vulgaris*) hatlarının fidelerinden aldıkları; kotiledon, hipokotil, petiol ve yaprak eksplantlarını kullanmışlardır. MS kültür ortamına BAP veya KIN ile NAA veya 2,4-D'nin kontrol, 0.5 veya 1.0 mg/L dozlarına ait kombinasyonlarından oluşan muameleler ile 0.5 mg/L BAP veya 0.5 mg/L KIN dozlarının kombinasyonlarında, bütün eksplant tiplerinde, diğer ortamlara göre daha fazla miktarda kallus oluşumu izlenmiştir.

Gürel ve ark. (2001), bütün şeker pancarı hatlarının ortalamaları dikkate alındığında; hipokotil ve kotiledon eksplantlarının, petiol ve yaprak eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşturduğu belirlenmiştir. Çalışmada genellikle, iki tip kallusun olduğu tespit edilmiştir. Büyük hücrelerden oluşan, beyaz renkli ve gevşek yapılı kalluslar (Tip I) ve küçük hücrelerden oluşan, yeşil renkli, sıkı yapılı kalluslar (Tip II) olarak gözlenmiştir. Çalışmada, Tip I kallusların bir kısmı sürgün üretimi için, karanlık ortamda 4 °C'de iki haftalık bir soğuk ön işlemi uygulandıktan sonra, diğer kısımları ise ön işlem uygulanmadan 2.5 mg/L TDZ veya 1.0 mg/L BAP ile 0.3 mg/L IAA'nın kombinasyonlarını içeren MS ortamlarında kültüre alınmışlardır. Soğuk ön uygulaması yapılan kalluslardan daha fazla sayıda sürgün elde edilmiştir. Daha sonrasında büyüyen bu sürgünler 3.0 mg/L IBA içeren MS ortamında kolayca köklenmişlerdir.

Taghipour ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada; *in vitro* koşullarda MS ortamına ilave edilen farklı büyüme ve gelişme düzenleyicilerinin farklı tip kallus oluşumuna ve bu kalluslardan sürgün geliştirmesine etkilerini incelenmişlerdir. *In vitro* koşullarda kültüre alınan, 436 nolu genotipin yaprak eksplantlarında 0.1 mg/L NAA ve 1mg/L TDZ içeren ortamda en yüksek kallus oluşumu izlenmişlerdir. Hipokotil eksplantlarında IC genotipinde en yüksek kallus oluşumu 0.1 mg/L NAA ve 0.3 mg/L 6-Benzilaminopürin (BAP) uygulamasından elde etmişlerdir. Kotiledon eksplantlarında ise IC genotipinde en yüksek kallus oluşumu 0.3 mg/L TDZ ve 0.1 mg/L NAA

uygulamasından elde etmişlerdir. Sonuç olarak pancar rejenerasyonunda TDZ'nin BAP'tan daha etkin bir sitokinin olduğu; NAA ise hem IAA'den, hem de 2-4 D'den daha etkili bir oksin olduğunu belirlemişlerdir.

Pedersen ve ark. (1993), Pancar bitkisinin petiolundan alınan protoplastların izolasyonu ve kültürü ile ilgili metodu açıklayan bir çalışma yapmışlardır. Petiolundan elde edilen protoplastların kontrol uygulamalarına göre iki kat daha fazla kaplama randımanına sahip olduğunu belirlemişlerdir. En uygun koşullarda kültüre alınan yaprak protoplastları % 0.5'lik bir kaplama sağlarken, petiolden alınan protoplastlarda bu oran %12-15 olmuştur.

Yu, (1989), *Vulgares* ve *Corollinae* seksiyonundaki türlerin *Nanae* ve *Patellares*'deki türlere göre daha büyük kallus kütlesi oluşturduklarını belirlemişlerdir. Ayrıca, araştırmacı çalışmasının sonunda *Beta* germplasmalarıyla yapılacak yeni çalışmalarda BA ve NAA'nın ilavesiyle yapılacak yeni çalışmaların yapılmasını ve bu büyüme düzenleyicilerinin etkilerinin belirlenmesi gerektiğini ifade etmiştir.

Zhongxian ve ark. (1993), yaptıkları çalışmada, petiollerden veya bozulmamış yaprak eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu oranı, donör bitkilerin kaynağından, sitokinin tipinden (BAP veya KIN) ve konsantrasyondan ve çeşitten etkilenmiştir. Adventif sürgünler, doğrudan petiollerin tabanında oluşan kallustan üretilenmiş, %3 sakaroz ve 1.0 mg l-1 NAA ile en yüksek köklenme oranını, yarı-kuvvetli MS ortamı kullanılarak elde etmişlerdir.

Detrez ve ark. (1988), yaptıkları çalışmalarında, test edilen 10 farklı şeker pancarı yetiştirme hattının petiol ve ince tabaka eksplantlarında yüksek frekanslı tomurcuk rejenerasyonu gözlemlemişlerdir. Organogenez, 3.0 mg dm-3 naftalin asetik asit (NAA), 3.0 mg dm-3 6-benzilaminopurin (BAP) ve yarı-kuvvetli Murashige ve Skoog ortamı (MS) üzerinde büyütülen 8 günlük fidelerden kesilen petiol eksplantlarında oluşmuştur. 1.0 mg dm-3 2,3,5, triiyodobenzoik asit (TIBA) 3.0 mg dm-3 NAA ve 3.0 mg dm-3 BAP ile MS besi ortamlarında kültüre almışlardır. 0.9 mg dm-3 BAP veya 1.0 mg dm-3 indol butirik asit (IBA) ile desteklenmiş MS ortamında kültürlenmiş sürgün uçlarından izole edilen ince hücre tabakası şeritleri, 0.5 mg dm-3 NAA + 5.0 mg BAP dm-3 içeren MS ortamında adventif tomurcuklar oluşturmuştur.

Jacq ve ark. (1993), yaptıkları çalışmalarında; *Beta vulgaris* L.'de rejeneratif potansiyeli geliştirmek için kotiledon türevli kalluslardan verimli bitki rejenerasyonu için kültür ortamları oluşturmuşlardır. Altı şeker pancarı hattı ile %8-59 sıklıkta organojenik kallus elde etmişlerdir. 2,3,5 triiyodobenzoik asit (0.5 mg/L) ile ilişkili N6-benzil-ammopurin (1.0 mg/L),  $21 \pm 1$  günlük fidelerde endojen fitohormonal dengeyi değiştirmek için en iyi kombinasyon olarak bulmuşlardır.

Gürel ve ark. (2000) kallus üretimi için, farklı şeker pancarı ıslah hatlarının fidelerinden alınan hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak eksplantlarını, BAP veya KIN ile NAA veya 2,4-D nin 0.0, 0.5, veya 1.0 mg/L düzeyindeki kombinasyonlarını içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Her iki oksininde 0.5 mg/L BAP veya 0.5 mg/KIN ile kombinasyonları, bütün eksplant tiplerinde daha fazla miktarda kallus oluşturmuş fakat bütün hatların ortalamaları dikkate alındığında, hipokotil ve kotiledon eksplantları petiol ve yaprak eksplantlarından daha fazla kallus oluşturmuştur. Dört farklı şeker pancarı (*Beta vulgaris*) ıslah hattından alınan hipokotil, kotiledon petiol ve yaprak ayası eksplantları, doğrudan kök ve sürgün oluşumu bakımından değerlendirmişlerdir. 0.5 ve 1.0 mg/L NAA kök oluşumunu teşvik ederken; 2,4-D bütün uygulamalarda engellemiştir. BAP kök gelişimini önlemiş fakat KIN, NAA ile birlikte kullanıldığında kök oluşumu üzerinde olumlu bir etki göstermiştir.

Gürel ve ark. (2011), Fidelere iki aşamalı hormonal ön muamelenin sürgün rejenerasyon kapasitesi üzerindeki etkileri, iki şeker pancarı yetiştirme hattından izole edilen iki farklı eksplant türü kullanılarak araştırmışlardır. Her iki yetiştirme hattında da petiol eksplantları, daha yüksek organojenik kapasite frekanslarına sahip yaprak eksplantlarından önemli ölçüde daha fazla sürgün geliştirmiştir. Sürgün rejenerasyon kapasitesi için üç farklı çimlenme ortamı karşılaştırıldığında, PGR içermeyen ortamın hem üreme hatlarında hem de eksplant tiplerinde en az etkili olduğu bulmuşlardır. Kültür ortamı 0.5 mg/L BA ile desteklendiğinde, eksplant başına daha yüksek ortalama sürgün sayısı ve daha yüksek organojenik eksplant sıklığı elde etmişlerdir. Sürgün rejenerasyon kapasitesi için altı farklı yetiştirme ortamı karşılaştırıldığında PGR içermeyen ortamın hem üreme hatlarında hem de eksplant türlerinde yine en az verimli olduğu bulmuşlardır. Hem eksplant başına ortalama sürgün sayısı hem de sürgün gelişen eksplantların sıklığı açısından, BA'nın 0.5'ten 3.0 mg/L'ye artan

konsantrasyonlarının belirgin bir teşvik edici etkisinin olmadığını gözlemlemişlerdir. Uygulamaların çoğunda, 0.25 mg/L BA ve 0.10 mg/L IBA'nın bir kombinasyonunu içeren ortam, daha yüksek organojenik eksplant sıklığı ile önemli ölçüde daha fazla sürgün üretmiştir.

Gürel ve ark. (2003a), Üç şeker pancarı ıslah hattı (*Beta vulgaris* L.) tohumları 1, 3 veya 5 mg/L TDZ içeren MS bazal ortamda çimlendirmiş ve sonrasında bu çimlenen bitkilerden yaprak eksplantları almışlardır. Bu eksplantları iki farklı rejenerasyon ortamında (0.5 mg/L BAP ve 0.1 mg/L NAA içeren RGL ortamı ve 1.0 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren RGH ortamı) kültüre almışlardır. 1.0 mg/L TDZ ile ön işleme tabi tutulmuş fidelerden alınan petiol eksplantlarının; 3 veya 5 mg/L TDZ ile ön işleme tabi tutulmuş fidelerden alınanlara göre önemli ölçüde daha fazla sürgün ürettiğini belirlemişlerdir. Daha düşük BAP ve NAA içeren RGL ortamı, doğrudan sürgün üretiminde, daha yüksek BAP ve NAA içeren RGH ortamına göre önemli ölçüde daha etkili olduğunu görmüşlerdir. Rejenere sürgünlerin %42,6'sı 3 mg/L NAA içeren ortamda kök geliştirirken, sürgünlerin sadece %19,3'ü 1.0 mg/L NAA içeren ortamda köklenmiştir.

Son zamanlardaki başarılarla ve *in vitro* gelişmelere rağmen çok sayıda bitkinin doku kültürü çalışmasında olumlu sonuçların alındığı uygulamalar, şeker pancarı için çok uygun değildir (Gürel ve Gürel, 2013). Rutin olarak uygulanan haploid induksiyon yöntemleri de pancar için uygun değildir (Aflaki ve ark., 2017). *In vitro* tekniklere tabi tutulan allogam türler, genotipik ve intergenotipik varyasyonlardan muzdariptir (Gürel, 1997). Varyasyonlar nedeniyle, farklı genotiplerin aynı yonteme verdiği yanıtlar farklılık göstermektedir (Pazuki ve ark. 2018 a, b). Bu nedenle istenilen şeker pancarı genotipleri, her zaman yeterli ve verimli bir şekilde çoğaltılamamaktadır.

Zhong ve ark. (1993b), yaptıkları çalışmalarında yabani pancarın (*Beta maritima*) çiçek parçalarından rejenerasyon yeteneğini araştırmak için, adventif sürgün oluşumunda büyüme düzenleyicileri, genotipi, eksplant kaynağını ve bitki gelişim aşamasını ve *in vitro* köklenme durumlarını ve ardından serada transplantasyon gibi aşamaları test etmişlerdir. Adventif sürgünler; sub-apikal segmentlerden çok daha sürgün uçlarından geliştiğini tespit etmişlerdir. En iyi mikro çoğaltıma, bir 1.0 mg/L BAP ile desteklenmiş Murashige ve Skoog (MS) ortamında ulaşmışlardır. Adventif

sürgünlerin indüksiyon hızı genotipe bağlı olduğundan; bitki gelişim aşamalarından da etkilenmiştir. En yüksek indüksiyon oranı 1.0 mg/L BAP ortamında inkübasyondan 6 hafta sonra gözlemlenmiştir. Eksplantlardan adventif sürgün indüksiyonu, eksplantların alındığı bitkilerin gelişim aşamasından büyük ölçüde etkilenmiştir. Köklenme, kök uyarıcı bir ortama transferden 2-3 hafta sonra başlamıştır. En yüksek köklenme oranları %3 sükröz ile takviyesi yapılmış bir MS ortamından (%80,5) elde etmişlerdir.

Gürel ve ark. (2011) fidelere iki aşamalı hormonal ön muamelenin sürgün rejenerasyon kapasitesi üzerindeki etkileri, iki şeker pancarı yetiştirme hattından izole edilen iki farklı eksplant türü kullanılarak araştırmışlardır. Her iki yetiştirme hattında da petiol eksplantları, daha yüksek organojenik kapasite frekanslarına sahip lamina eksplantlarından önemli ölçüde daha fazla sürgün geliştirmiştir. Sürgün rejenerasyon kapasitesi için üç farklı çimlenme ortamı karşılaştırıldığında, PGR içermeyen ortamın hem üreme hatlarında hem de eksplant tiplerinde en az etkili olduğu bulunmuştur. Kültür ortamı 0.5 mg/L BA ile desteklendiğinde, eksplant başına daha yüksek ortalama sürgün sayısı ve daha yüksek organojenik eksplant sıklığı elde etmişlerdir. Sürgün rejenerasyon kapasitesi için altı farklı yetiştirme ortamı karşılaştırıldığında. En verimli sonuç, besiyerinin hem hatlarda hem de eksplant tiplerinde 0.25 mg/L BA ve 0.10 mg/L IBA kombinasyonunu içerdiği zaman elde etmişlerdir. Her iki yetiştirme hattında da, petiol eksplantları, daha yüksek organojenik kapasite frekanslarına sahip yaprak eksplantlarından önemli ölçüde daha fazla sürgün üretmiştir. Farklı çimlenme, büyüme ve rejenerasyon ortamlarının genel karşılaştırmalarında, çimlenme ortamı 0.5 mg/L 6 benziladenin (BA) ile desteklendiğinde en etkili olurken, hem büyüme hem de rejenerasyon ortamı 0.25 mg/L BA ve 0.10 mg/L indol-3- butirik asit (IBA). kombinasyonu içerdiğinde en verimli olduğunu görmüşlerdir.

Ergül ve ark. (2018), yaptıkları çalışmalarında, Taksonomik açıdan Beta ve Corollinea bölümlerinde yer alan farklı türlerin *in vitro* çoğaltılmasında genotip ve büyüme düzenleyicilerin etkisinin araştırıldığı çalışmada kotiledon, boğum eksplantları kullanmışlardır. Uygulanan BAP, GA3 ve TDZ büyüme düzenleyicileri arasında BAP'ın çoğaltılan sürgün sayısı üzerindeki etkisi en yüksek olmuştur. Genotiplerin sürgün sayısı ve kök rejenerasyonu açısından etkileri önemli bulmuşlardır.

Nofouzi ve ark. (2015), yaptıkları çalışmalarında, ticari bir pancar çeşidine ait tohumlardan uygun boya gelen fideciklerden kotiledonlarını uzaklaştırarak kotiledon boğum eksplantını farklı dozlarda BAP içeren MS ortamında kültüre almışlar ve en fazla sürgün sayısını 3.0 mg/L BAP içeren MS ortamından elde etmişlerdir.

*Beta vulgaris* tohumlarından geliştirilen bitkilerden elde edilen petiol ve yaprak eksplantları ile *Beta maritima*'nın çiçek salkımlarının kullanıldığı bir çalışmada; kültür ortamındaki hormon konsantrasyonunun sürgün oluşturmadaki etkisi araştırılmıştır. Mikro-çoğaltım, sitokin kaynağı olarak kinetin ile karşılaştırıldığında BA ile desteklenmiş ortamın daha başarılı olduğu bulunmuştur. Çoğu eksplantın tüm BA konsantrasyonlarında, petiollerin tabanında sert yeşil veya beyaz ufalanabilir kallusların geliştiği belirlenmiştir. Adventif sürgünler esas olarak petiolün içbükey yüzeyinden, bazen de doğrudan kallustan gelişmiştir. Bitkicikler % 3 sakkaroz ve 1.0 mg/L NAA içeren bir MS ortamına alındıkların da ise % 70 başarı ile kök oluşturmuşlardır (Mash ve ark., 1994).

Altınok ve Er, (2013), 3 şeker pancarı hattına ait petiol ve yaprak eksplantlarında adventif sürgün rejenerasyonu ve kararma kapasiteleri belirlemek üzere yaptıkları çalışmada; farklı dozlarda benzil amino pürin (BAP), naftalen asetik asit (NAA) ve indol-3-bütirik asit (IBA) kullanmışlardır. Petiol eksplantlarında en yüksek sürgün rejenerasyon kapasitesi (% 15.00) 2.0 mg/L BAP; 0.2 mg/L NAA ve 10 g/L sukroz içeren MS ortamına yerleştirilen ELK 345 hattına ait eksplantlarda elde etmişlerdir. En yüksek sürgün rejenerasyonu 0.5 mg/L BAP ve 0.2 mg/L NAA içeren MS ortamına yerleştirilen ÇBM 315 hattına ait petiol eksplantlarında (% 9.66) tespit etmişlerdir.

Gürel ve Gürel, (1996), Şeker Pancarı (*Beta vulgaris* L.) ticari çeşitlerinden alınan yaprak eksplantlarını 1.0 mg/L NAA veya 2.0 mg/L BAP içeren MS ortamlarda kültüre aldıklarında şeker pancar çeşitleri arasında hem kök hem de kallus oluşumu yönünden farkların bulunduğunu belirtmişlerdir. Evita çeşiti 2.0 mg/L BAP içeren ortamda kültüre alındığında %39 oranında adventif sürgün oluşturmuş ve bu sürgünlerin üçte ikisi 1.0 mg/L NAA içeren MS ortamında kolayca köklendiğini açıklamışlardır.

Bezo ve Engelhardt, (1999), yaptıkları çalışmalarında; şeker pancarının (*Beta vulgaris* L.) sitoplazmik erkek kısır (CMS) hatlarında (SI 76 S, SI 74 S, SI 62 S, KWS

R 4533) ve O-tiplerinde (SI 76 O, SI 74 O, K 17 O) sürgün elde etme yöntemlerini açıklamışlardır. Çoğaltma için en uygun BAP (benzilaminopurin) konsantrasyonunun 0.3 mg/L olduğunu, en iyi köklenmenin ise MS ortamına + 1.0 mg/L alfa-naftilasetilik asit (NAA) eklenmiş besi ortamlarından elde edildiğini belirtmişlerdir. Sürme ve köklenme genotiplere farklılık göstermiştir. En iyi sürgün R 4533 genotipinde (eksplant başına 12) ve en iyi köklenme oranı ise SI 74 O genotipinde (mikro ve makro elementlerin yarı konsantrasyonu + 1.0 mg/L NAA ile 1/2 MS ortamında %93,3) gözlemiştir.

Ticari şeker pancarı çeşidi ile yapılan bir başka çalışmada ise serada yetiştirilen 4-6 haftalık bitkilerden alınan petioller ve yaprak orta damarları; kallus, somatik embriyo ve bitki rejenerasyonu elde etmek için kullanılmıştır. 4 farklı büyüme düzenleyicisinin (KIN, 2,4 D, BA ve NAA), 5 farklı kombinasyonunda (KIN+2,4 D, BA+2,4 D, BA+NAA, NAA+BA ve NAA+KIN) ve her bir kombinasyonun 4 farklı dozunu içeren Murashige and Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. Yirmi farklı sitokinin ve oksin içeren hormon uygulamasının sadece yedisinde petiol ve yaprak orta damar eksplantlarından kallus elde edilmiştir. Petiol eksplantlarından en yüksek kallus oluşumu 0.5 mg/L BA+0.2 mg/L NAA uygulamasından elde edilmiş, yaprak orta damarı eksplantlarında kallus oluşumu incelendiğinde uygulamalar arasındaki farklılıklar petiol eksplantlarına paralellik göstermiştir. Her iki eksplant tipinde de kallus elde edilen ortamlardan sadece 0.5 mg/L BA+0.2 mg/L NAA, 0.5 mg/L BA+0.8 mg/L NAA ve 4.0 mg/L NAA+1.0 mg/L BA içeren ortamlarda somatik embriyo oluşumu gözlenmiştir (Sakallı 2017).

Mukherjee ve ark. (2022) şeker pancarı bitkisinin, doğrudan transformasyon yöntemleri, yani parçacık bombardımanı, polietilen-glikol aracılı, somatik hibridizasyon, sonikasyon ve elektroporasyon ile birlikte *Agrobacterium* spp. kullanılarak dolaylı yöntemlerle genetik olarak değiştirilebilir olduğunu, bu biyoteknolojik araştırmaların, herbisite, tuzluluğa, don ve nem stresine dayanıklı, Rhizomania, Cercospora yaprak lekesi ve nematoda dirençli hatların geliştirilmesini, içsel sekonder metabolitleri arttırmayı hedeflediğini bildirmektedir.

Bouchma ve ark. (2022) *Beta vulgaris* var. *maritima* yapraklarının özlerinin, kansere ve diyabete karşı ilaçların geliştirilmesi için kullanılabilir değerli bir besin ve

doğal biyoaktif molekül kaynağı oluşturduğunun ortaya konmuş olduğunu bildirmektedir.

Yolcu ve ark. (2021) pancarda en çok çalışılan başlıca abiyotik stresler tuz ve kuraklık olduğunu belirtmişlerdir. Pancarın, karakteristik olarak tuza ve kuraklığa dayanıklı olmasına rağmen, tuza ve kuraklık stresine uzun süreli ve sürekli maruz kalma, pancar veriminde önemli bir düşüşe neden olduğunu, bu yüzden dayanıklı pancar çeşitlerinin gerekli olduğunu ifade etmişlerdir.

Bitki doku kültürü çalışmalarıyla; aynı genetik yapıya sahip birçok birey; hızlı ve sağlıklı olarak çoğaltılabilmektedir. Ancak, ıslah programına dâhil edilen önemli kültür bitkilerine ait doğal türlerinin bitki doku kültürü teknikleriyle çoğaltılmasına yönelik en uygun koşulların belirlenmesi ve tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Şekerpancarı bitkisinde de kültür çeşitleriyle yapılan bitki doku kültürü çalışma söz konusudur. Ancak, yabani türleriyle ilgili yapılan çalışma sayısı oldukça azdır. Türkiye’de doğal olarak yetişen şeker pancarı türlerinin doku kültürü teknikleriyle *in-vitro* ortamda çoğaltılmasına yönelik yapılacak çalışmalar şeker pancarı ıslahı için oldukça değerli sonuçların elde edilmesine olanak sağlayacaktır. Birçok kültür bitkisinde olduğu gibi şeker pancarında da genetik materyallerin en önemlilerinden birisi de bitkinin doğal yabani türleridir. Bu türler şekerpancarında görülen birçok hastalık ve zararlıya, kuraklığa ve tuza dayanıklılık genlerini taşıyabilmektedirler. Bu genetik materyallerin gerek korunmasında gerekse de ıslah programlarında kullanılmasında hızlı çoğaltılmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Şekerpancarının kültür formları ve çeşitleri ile yapılan birçok doku kültürü çalışması söz konusudur. Ancak, yabani türleri ile ilgili çalışmalar sınırlıdır.

Bu çalışma ile şeker pancarı ıslahında şeker pancarın atası olarak nitelendirilen *Beta vulgaris* var. *maritima* türünün doku kültürü çalışmalarıyla hızlı çoğaltılması belirlenmeye çalışılmıştır. Türkiye’de doğal olarak yetişen *B. vulgaris* var. *maritima* türlerinden alınmış tohumlardan elde edilen eksplantlar (hipokotil, kotiledon, boğum, petiol ve yaprak) ile bu bitki türünün hızlı çoğaltılmasına yönelik usul ve esaslar belirlenmeye çalışılmıştır. Ayrıca, şeker pancarı ıslah çalışmalarında; gerekli görüldüğü hallerde, doku kültürü çalışmalarının da ıslah programının içerisinde etkin şekilde kullanılmasının yolu açılmıştır.

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

Bu çalışma, 2019-20 yıllarında Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. (TŞFAŞ) Şeker Enstitüsü araştırma ve uygulama laboratuvarlarında yürütülmüştür.

#### **3.1. MATERYAL**

Çalışmada, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Ulusal Gen Bankasından ve TŞFAŞ Şeker Enstitüsünden temin edilen *Beta vulgaris* var. *maritima* (L.) Arcang. tohumları materyal olarak kullanılmıştır.

Tohumlar steril edildikten sonra MS besi ortamında çimlendirilmiş ve 22 günlük fidelerden; hipokotil, boğum, kotiledon, yaprak ve petiol eksplantları alınarak denemede materyal olarak kullanılmıştır.

#### **3.2. YÖNTEM**

##### **3.2.1. Çimlenme testleri**

Tohum numunesinden alınan 400 adet tohum, tohum yıkama ünitesinde 4 saat yıkanmış oda sıcaklığında 24 saat kurutulduktan sonra pileli kağıtlara (Whatman®) her pilede 2 tohum olacak şekilde 40 ml saf su eklenerek kapağı şeffaf plastik kaplara x 4 tekerrür olacak şekilde ekilmiş, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ve 20 °C şartlarındaki çimlendirme odalarında 14 gün tutulmuş ve ortalama çimlenme oranı (%) elde edilen 4 tekerrür değerlerin ortalaması alınarak belirlenmiştir.



**Resim 3.1.** Tohumların çimlenme oranlarının belirlenmesi

### **3.2.2. Doku kültürü denemeleri**

#### **3.2.2.1. Besi ortamlarının hazırlanması**

Denemede, %3 sukroz içeren ve 3,6 Gellex Gum ile katılaştırılan MS (Murashige ve Skoog 1962) besi ortamı kullanılmıştır. Ortam hazırlığında distile su kullanılmıştır. Besi ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5,8'e ayarlandıktan sonra otoklavda 1,2 atm basınç altında ve 121 °C'de de 15 dakika sterilize edilmiştir.

Kültürler 16 saat ışık ve 8 saat karanlık olacak şekilde fotoperiyot uygulanmıştır. Hazırlanan besi ortamlarına KIN ve IBA bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı dozları (0; 0.5; 1.0; 1.5 ve 2.0 mg/L) olacak şekilde toplam 25 farklı ortam oluşturulmuştur.

#### **3.2.3. *İn Vitro* Çalışmalar**

##### **3.2.3.1. Tohumların yüzey sterilizasyonu**

İlk olarak denemede materyal olarak temin edilen *Beta vulgaris var. maritima* (L.) Arcang. tohumları musluk suyu ile cam kavanozda 3-4 kez yıkanmıştır. Sonrasında %50'lik etil alkol içerisinde 5 dakika süreyle bekletilmiştir. Bu işlemden sonra tohumlar, %5'lik çamaşır suyu (NaOCl) içerisinde 1-2 damla twin ilave edilerek 7-8 dakika karıştırılarak 1 saat sterilize edilmiştir. Ardından 4 defa 4'er dakika süreyle tohumlar steril saf su ile steril kabin içerisinde durulanmıştır. Steril kabin içerisinde saf

su ile yine 1 gün bekletilen tohumların ekimden önce suları süzölmüş PPM (Preservative for Plant Tissue Culture Mixture)'li saf suda 5 dakika bekletilmiş ve tohumların bu şekilde sterilizasyonu tamamlanmıştır.

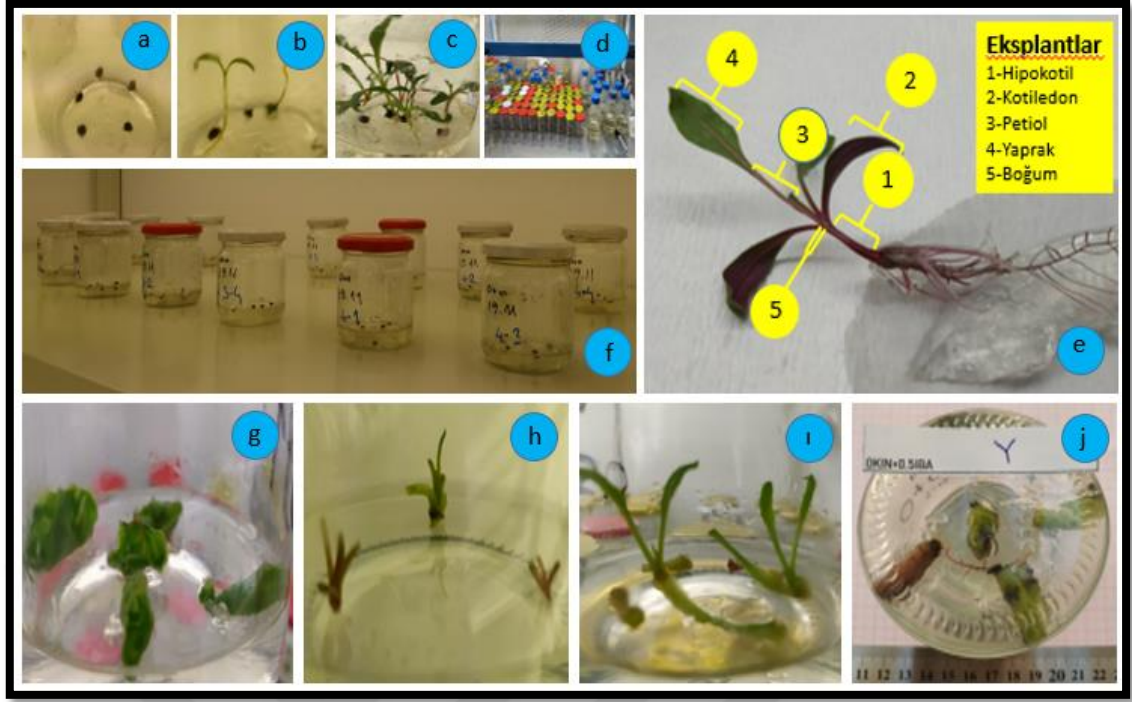


**Resim 3.2.** MS ortamında çimlendirilen kıyı pancarı tohumlarından gelişen fidelerin eksplant alacak büyüklüğe getirilmesi

Steril edilen tohumlar MS besi ortamı dökölmüş 200 ml'lik kavanozlara 5 adet tohum olacak şekilde ekilmişlerdir. Tohumların, iklim odasında 20 °C'de çimlenmeleri sağlanmışır. Bu ortamda 22 gün fideciklerin gelişmesi sağlanmışır. (Resim 3.2).

### **3.2.3.2. Ekplantların hazırlanması**

Gelişen fidelerden hipokotil, kotiledon, boğum, yaprak ve petiol olmak üzere 5 farklı eksplant alınmışır. Gelişen fidelerden hazırlanan eksplantlar, farklı dozlarda bitki büyüme düzenleyicilerinin ilave edildiği 25 farklı MS besin ortamına, 3 tekrarlamalı olarak, her uygulamada 5'er adet eksplant olacak şekilde yerleştirilmişlerdir (Resim 3.3).



**Resim 3.3.** (a,b,c,d,f) Kiyı pancarı *B. vulgaris* var. *maritima* tohumlarının in-vitro ortamda çimlendirilmesi ve eksplant elde edilecek bitki fidelerinin elde edilmesi. e) *in-vitro*'da gelişen bitkilerden alınan eksplantlar g) kotiledon, h) boğum, i) petiol ve j) yaprak eksplantlarının *in-vitro* ortama aktarılması

### 3.2.4. Verilerin elde edilmesi

**3.2.4.1. Çimlenme oranı (%)** Tohum numunesinden alınan 100'er adet tohum x 4 tekrerrülü olarak (toplam 400 tohum) pileli kâğıt arasında 20 °C sıcaklıkta 14 gün süreyle çimlendirilmiş ve ortalama çimlenme oranı (%) elde edilen 4 tekerrür değerlerin ortalaması alınarak belirlenmiştir.

**3.2.4.2. Kallus oluşturma oranı (%)** Her uygulamada kullanılan 5 adet eksplantın kallus oluşturma durumları incelenerek 5 eksplanttan kallus oluşturanların % değeri hesaplanarak belirlenmiştir.

**3.2.4.3. Sürgün oluşturma oranı (%):** Her uygulamada kullanılan 5 adet eksplantın sürgün oluşturma durumları incelenerek 5 eksplanttan sürgün oluşturanların % değeri hesaplanarak belirlenmiştir.

**3.2.4.4. Eksplant başına sürgün sayısı (adet)** Her uygulamada kullanılan 5 adet eksplantın sürgün sayısı sayılarak belirlenmiş ve 5 eksplanttan elde edilen sürgün sayısı mevcut eksplant sayısına bölünerek, eksplant başına ortalama sürgün sayısı değeri adet olarak hesaplanmıştır.

**3.2.4.5. Kök oluşturma oranı (%)** Her uygulamada kullanılan 5 adet eksplantın kök oluşturma durumları incelenerek 5 eksplanttan kök oluşturan eksplant sayısı ile sonrasında köklenme ortamına alınan eksplantlardan da köklenenlerin sayılarının bunlara ilavesiyle köklenme oranı değeri % olarak hesaplanmıştır.

**3.2.4.6. Eksplant başına kök sayısı (adet)** Her uygulamada kullanılan 5 adet eksplantın kök oluşturan eksplantlarda gelişen kök sayısı sayılarak belirlenmiştir. Eksplant başına kök sayısı ise toplam kök sayılarının mevcut eksplant sayısına bölünerek ortalama kök sayısı değeri (adet/eksplant) hesaplanmıştır.

**3.2.4.7. Kök uzunluğu (mm)** Kök oluşturan eksplantlarda en uzun kök (mm) ölçülmüş, elde edilen değerlerin toplamı, köklenen toplam eksplant sayısına bölünerek ortalama kök uzunluğu (mm) değeri belirlenmiştir.

### **3.2.3. Rejenere olan sürgünlerin köklendirilmesi**

Tüm uygulamalarda rejenere olan kök oluşturmamış sürgünler 10-20 mm uzunluğa ulaştığında, 400 ml'lik cam kavanozlarda 1.0 mg/L IBA içeren besi ortamlarında köklendirmeye alınmışlardır.

### **3.2.4. İstatistiksel analizler**

İncelenen karakterlere ilişkin varyans analizleri SPSS paket programında yapılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan testi ile belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada ilk olarak tohumların çimlenme durumları incelenmiş ve materyal olarak temin edilen tohumların %85'in üzerinde çimlendikleri tespit edilmiştir. *İn –vitro* şartlarda yürütülen bu araştırmada incelenen karakterlere ilişkin ortalama değerler ve farklı bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonlarının etkilerine yönelik değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

### 4.1. Hipokotil eksplantı rejenerasyonu

Hipokotil eksplantının konulduğu 25 farklı besi ortamında; kinetin (KIN) ve indol-3-butirik asit (IBA) dozlarının farklı kombinasyonlarıyla oluşturulmuş olan besi ortamlarında görülen rejenerasyon durumu ve bu karaktere ilişkin ölçümlere ait ortalama değerler ve farkları Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Genel olarak bir değerlendirildiğinde; hipokotil eksplantlarının kallus oluşturduğu gözlenmiştir. Ancak bu eksplantın, iki uygulaması haricinde, diğer tüm uygulamalarında, hiçbir sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Kallus oluşturan eksplantlarda bazı bitki büyüme düzenleyicisi (KIN +IBA) uygulamalarında köklenmelerin olduğu tespit edilmiştir. Bu eksplantlardan rejenerasyon olan ve ölçümü yapılan karakterlere ilişkin değerlendirmeler aşağıda ayrı ayrı sunulmuştur.

#### 4.1.1. Hipokotil eksplantı kallus oluşturma oranı (%)

Bu çalışmada kullanılan hipokotil eksplantlarında; kallus oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler ve arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Hipokotil eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	44138	1839,11	17,242 **
Hata	50	5333	106,67	
Toplam	74	49472		

\*\* : 0,01 seviyesinde önemli

**Çizelge 4.2.** Hipokotil eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
		**	ÖD	ÖD
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	40,0 efg	0,00	0,00
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	86,7 a	0,00	0,00
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	33,3 fgh	0,00	0,00
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	46,7 def	0,00	0,00
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 j	0,00	0,00
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	26,7 ghı	0,00	0,00
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	33,3 fgh	0,00	0,00
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	60,0 bcd	0,00	0,00
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	26,7 ghı	0,00	0,00
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	73,3 ab	0,00	0,00
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	13,3 ij	0,00	0,00
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	46,7 def	0,00	0,00
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	53,3 cde	0,00	0,00
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	33,3 fgh	0,00	0,00
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	20,0 hı	0,00	0,00
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	20,0 hı	0,00	0,00
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	60,0 bcd	0,00	0,00
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	53,3 cde	6,67	0,13
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	86,7 a	0,00	0,00
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	46,7 def	0,00	0,00
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 j	0,00	0,00
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	60,0 bcd	6,67	0,47
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	46,7 def	0,00	0,00
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	66,7 bc	0,00	0,00
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	86,7 a	0,00	0,00

\*\* : 0,01 seviyesinde önemli; ÖD: önemli değil. Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak fark yoktur

En yüksek kallus oluşturma oranı %86,7 ile 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA; 1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA ve 2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan elde edilmiştir. En düşük (%0) ise 0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA ve 2.0 mg/L KIN + 0 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

#### 4.1.2. Hipokotil eksplanti sürgün oluşturma oranı (%)

Hipokotil eksplantlarında, sürgün oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.3). Buna göre sürgün oluşturma oranı (% 0-6,67) arasında değişmiştir (Çizelge 4.2).

**Çizelge 4.3.** Hipokotil eksplanti sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	245	10,22	0,958 ÖD
Hata	50	533	10,67	
Toplam	74	779		

ÖD: önemli değil

#### 4.1.3. Hipokotil eksplanti eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.4). Eksplant başına sürgün sayısı (0-0,47 adet /eksplant) arasında değişmiştir (Çizelge 4.2)

**Çizelge 4.4.** Hipokotil eksplanti eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	0,663	0,028	0,978 ÖD
Hata	50	1,413	0,028	
Toplam	74	2,077		

ÖD: önemli değil

#### 4.1.4. Hipokotil eksplanti kök oluşturma oranı (%)

Hipokotil eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). Buna göre en yüksek kök oluşturma oranı 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan (%80) elde edilmiştir (Resim 4.1). En düşük ise % 0 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.6).

**Çizelge 4.5.** Hipokotil eksplantı eksplant başına kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

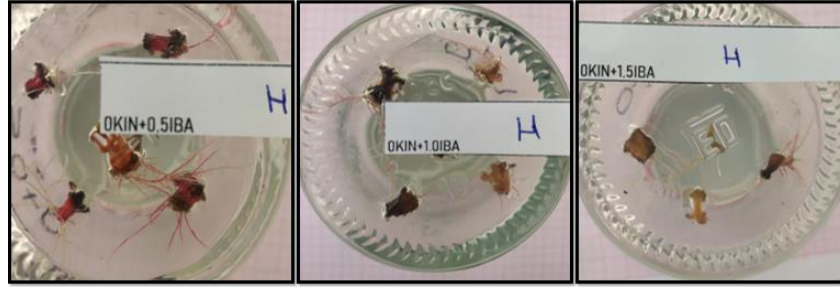
Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	34133	1422,22	15,686 **
Hata	50	4533	90,67	
Toplam	74	38667		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

**Çizelge 4.6.** Hipokotil eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerler ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kök Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (mm)
		**	**	**
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	26,7 cd	1,33 bc	26,50 ab
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	73,3 a	3,67 a	23,97 abc
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	53,3 b	2,67 ab	<b>30,57 a</b>
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	<b>80,0 a</b>	<b>4,00 a</b>	<b>28,60 a</b>
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	6,7 ef	0,33 c	2,00 cd
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 f	0,00 c	0,00 d
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	20,0 cde	1,00 bc	16,83 abcd
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	6,7 ef	0,33 c	1,30 d
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	6,7 ef	0,33 c	0,60 d
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	6,7 ef	0,33 c	12,93 abcd
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 f	0,00 c	0,00 d
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	13,3 def	0,67 bc	12,83 bc
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 f	0,00 c	0,00 d
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	6,7 ef	0,33 c	2,67 cd
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 f	0,00 c	0,00 d
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	13,3 def	0,67 bc	4,23 bcd
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 f	0,00 c	0,00 d
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	26,7 cd	1,33 bc	16,17 abcd
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	6,7 ef	0,33 c	1,23 d
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	20,0 cde	1,00 bc	21,20 abcd
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	26,7 cd	0,33 c	21,10 abcd
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	6,7 ef	0,33 c	0,67 d
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	33,3 c	1,67 bc	22,60 abcd
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	6,7 e	0,33 c	0,57 d
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	26,7 cd	1,33 bc	21,10 abcd

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli



**Resim 4.1.** Hipokotil eksplatında en fazla köklenme oranı, eksplant başına kök sayısının ve en uzun kök boyunun görüldüğü uygulamalar

Kök oluşturma oranının oksin grubu (IBA) bitki büyüme düzenleyicisi içeren ancak sitokin (KIN) içeriğinin olmadığı uygulamalarda daha fazla görüldüğü görülmektedir. Bu da IBA'nın köklenme üzerindeki olumlu etkisinden kaynaklanmaktadır. Diğer uygulamalarda içsel hormon dengesinin oksinden, sitokine doğru değişmesi köklenmeyi sınırlandırmıştır. Hiçbir hormon uygulaması yapılmayan kontrol uygulamasında % 26, olan köklenme oranı dengenin IBA lehine değişmesiyle birlikte 2., 3., ve 4. uygulamada 2-3 kat artış göstermiştir. Ancak IBA'nın yüksek dozunda 5. uygulama ise kontrol uygulamasından da daha düşük olmuştur.

#### 4.1.5. Hipokotil eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant)

Hipokotil eksplantlarında; eksplant başına kök sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistik olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7).

**Çizelge 4.7.** Hipokotil eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	87	3,636	5,244 **
Hata	50	34	0,693	
Toplam	74	121		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

En yüksek kök sayısı 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L dozlarının uygulandığı ortamlardan (4 adet/eksplant) elde edilmiştir (Çizelge 4.6) (Şekil 4.2). En düşük ise (0 adet/eksplant olarak) 6, 11, 13, 15 ve 17 nolu 5 farklı uygulamada belirlenmiştir. (Çizelge 4.6). Hipokotil eksplantında, eksplant başına kök sayısı ortalaması köklenme oranında da olduğu gibi sadece IBA dozlarının olduğu uygulamalarda en yüksek değerlere

ulaşmıştır. Bu da IBA'nın köklenme oranını artırdığı kadar; kök sayısında da artışa yol açtığını göstermektedir.

#### 4.1.6. Hipokotil eksplantı kök uzunluğu (mm)

Hipokotil eksplantlarında kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.8).

**Çizelge 4.8.** Hipokotil eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	8737	364,07	4,975 **
Hata	50	3658	73,17	
Toplam	74	12396		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Kök uzunluğu 30,57 mm ile 0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA dozunun uygulandığı ortamlardan elde edilirken; bu uygulama, istatistiki olarak 28,60 mm uzunluk elde edilen 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L dozuyla aynı grupta yer almıştır. Hipokotil eksplantında sadece IBA uygulamasının yapıldığı 3 ve 4 nolu uygulamalarda en uzun kök ölçülmüştür.

Bir ortamda oksin grubu hormonların, sitokinin grubu hormonlara oranla daha yüksek seviyede olması; kök oluşumunu uyarırken; bunun aksi durumlarda ise gövde-sürgün oluşumunun söz konusu olduğu belirtilmektedir. Birçok bitki türünde oksinlerin adventif kök oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (Gürel ve Gürel, 1998). KWSTR-239 isimli şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) çeşidiyle yapılan bir çalışmada, hipokotil eksplantlarının değişik sitokinin ve oksin kombinasyonları içeren MS besi ortamlarında adventif tomurcuk ve sürgün oluşturma durumu araştırılmıştır. Araştırmacılar oksin olarak 2,4-D içeren besi ortamlarını kullanmışlardır. Kültüre aldıkları hipokotil eksplantlarının hiç birinde adventif tomurcuk oluşumuna rastlamamışlardır. Ancak tüm ortamlarda, kültüre alınan bu eksplantlar da kallus oluşumu gözlemişlerdir (Çolak ve Tokur, 1999). Gürel ve ark. (2001) *in vitro* koşullarda yaptıkları bir çalışmada, şeker pancarı (*Beta vulgaris*) hatlarından yetiştirdikleri bitkilerin fidelerinden hipokotil, kotiledon, petiol ve yaprak eksplantları olarak bu eksplantların rejenerasyon durumlarını incelemişlerdir. BAP veya KIN ile NAA veya 2,4-D'nin (kontrol, 0.5 ve 1.0 mg/L

dozlarını) ekleyerek oluşturdukları MS kültür ortamlarında bu eksplantları kültüre almışlardır. 0.5 mg/l BAP veya 0.5 mg/L KIN dozlarının yer aldığı kombinasyonlarda bütün eksplant tiplerinde, diğer ortamlara göre daha fazla miktarda kallus oluşumu tespit etmişlerdir. Bütün şeker pancarı hatlarının ortalamaları dikkate alındığında ise hipokotil ve kotiledon eksplantlarının, petiol ve yaprak eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşturduğunu belirlemişlerdir (Gürel ve ark., 2021). Taghipour ve ark. (2013) yaptıkları çalışmalarında ise 1C genotipinden aldıkları hipokotil eksplantlarında, en yüksek kallus oluşumunun 0.1 mg/L NAA ve 0.3 mg/L 6-Benzilaminopürin (BAP) uygulamasında olduğunu tespit etmişlerdir. IC genotipinden alınan kotiledon eksplantlarında ise en yüksek kallus oluşumunun 0.3 mg/L TDZ ve 0.1 mg/L NAA uygulamasında olduğunu belirtmişlerdir. Sonuçta pancar bitkisinde rejenerasyon yeteneğinin açısından TDZ'nin BAP'tan daha etkin bir sitokinin olduğu; NAA'nın ise hem IAA'den, hem de 2-4 D'den daha etkili bir oksin olduğu tespit edilmiştir (Taghipour ve ark., 2013). Yu (1989) ise *Vulgares* ve *Corollinae* seksiyonundaki türlerin *Nanae* ve *Patellares*'deki türlere göre daha büyük kallus kütlesi oluşturduklarını belirlemiştir.

Bu çalışmada da hipokotil eksplantından sadece kallus geliştiği, sürgün oluşmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, hipokotil eksplantlarında, çalışmada kullanılan diğer eksplantlara göre çok daha fazla kallus oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 4.4). Hipokotil eksplantlarında 25 farklı bitki büyüme ve gelişme düzenleyicisi kombinasyonlarıyla içsel bitki hormonlarının dengesinin değiştirilmesinde en iyi kombinasyonun 0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA; 1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA ve 2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar diğer araştırmacıların tespit ettikleri sonuçlarla uyumludur. Ancak, Çolak ve Tokur, (1999) en iyi sonuçları aldıkları hipokotil eksplantı ile çalışmalarını sürdürmüş ve neticelendirmişlerdir.

#### **4.2. Boğum eksplantı rejenerasyonu**

Farklı dozlarda bitki büyüme ve gelişme düzenleyicisi kombinasyonlarından oluşan besi ortamlarına konulan boğum eksplantlarında görülen rejenerasyon durumları ve ölçümü yapılan karakterlere ait ortalama değerler ve farkları Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.12'de sunulmuştur. Genel olarak bir değerlendirme yapıldığında, boğum eksplantlarında hiçbir şekilde kallus oluşumu gözlenmemiştir (Şelil 4.4). Ancak tüm

ortamlardaki eksplantların tamamının sürgün oluşturduğu belirlenmiştir. Ölçümü yapılan karakterler ve buna ilişkin değerlendirmeler ise ayrı ayrı aşağıda sunulmuştur.

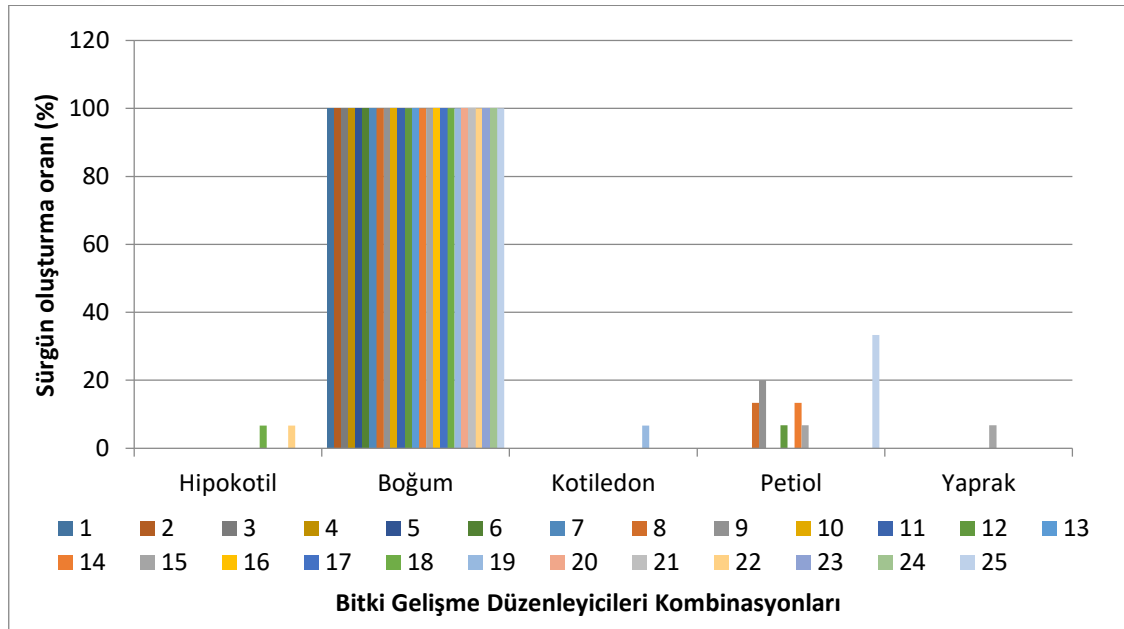
#### 4.2.1. Boğum eksplantı kallus oluşturma oranı (%)

Bu çalışmada kullanılan boğum eksplantlarında; tüm ortamlarda hiçbir kallus oluşumu görülmemiştir.

#### 4.2.2. Boğum eksplantı sürgün oluşturma oranı (%)

Boğum eksplantlarında; sürgün oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar da istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Denemede tüm ortamlarda %100 oranında sürgün oluşumu gözlenmiştir (Çizelge 4.9)

Boğum eksplantlarının konulduğu uygulamaların tamamında tüm eksplantların sürgün oluşturduğu belirlenmiştir. Her ne kadar bu eksplant açısından uygulamalar arasında bir fark tespit edilememişse de tüm eksplantları kıyasladığımızda boğum eksplantının sürgün oluşumunda diğerlerine göre çok daha iyi sonuç verdiği görülmektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.1. Farklı eksplantların sürgün oluşturma oranlarının karşılaştırılması

**Çizelge 4.9.** Boğum eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
		ÖD	ÖD	**
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0	100,0	2,22 c
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0	100,0	4,72 abc
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0	100,0	4,00 bc
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,55 abc
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0	100,0	4,78 abc
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0	100,0	5,45 abc
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,10 abc
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0	100,0	5,45 abc
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,98 abc
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0	100,0	7,45 abc
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0	100,0	2,99 bc
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0	100,0	4,22 abc
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0	100,0	2,22 c
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0	100,0	3,87 bc
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0	100,0	3,67 bc
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0	100,0	12,23 ab
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,33 abc
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0	100,0	7,33 abc
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0	100,0	13,77 a
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0	100,0	6,55 abc
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0	100,0	3,33 bc
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0	100,0	7,78 abc
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0	100,0	5,67 abc
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0	100,0	7,22 abc
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0	100,0	8,33 abc

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli; ÖD: önemli değil

#### 4.2.3. Boğum eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant)

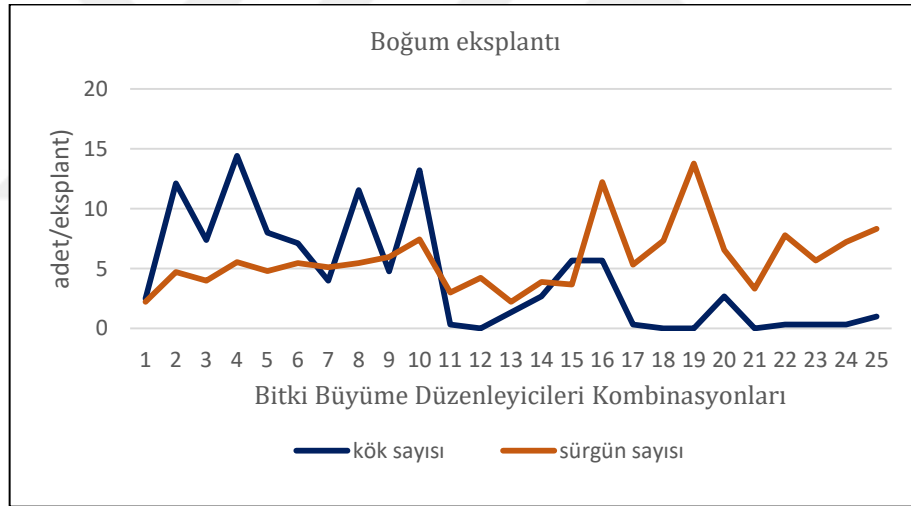
Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar ise istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.10). Buna göre boğum eksplantlarında; eksplant başına sürgün sayısı (2,22-13,77 adet/eksplant) arasında değişmiştir (Çizelge 4.9).

**Çizelge 4.10.** Boğum eksplanti eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	708	29,51	8,075**
Hata	50	182	3,65	
Toplam	74	891		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Doku kültürü çalışmalarında, bitki büyüme düzenleyicilerini farklı kombinasyon ve dozlarda kullanarak; yönlendirme yapmak mümkün olabilmektedir. Özellikle de *in vitro* şartlarda sürgün oluşturma oranı besi ortamlarına eklenecek bazı sitokin grubu hormonlar ve bunların miktarlarına bağlı olarak kontrol edilebilmektedir. Genellikle adventif sürgünlerin oluşmasında; besi ortamlarına eklenecek olan oksin grubu hormonların yanında, daha yüksek dozda sitokin grubu hormonların eklenmesi daha etkili olmaktadır (Gönülşen, 1987).



**Şekil 4.2.** Boğum eksplantında farklı hormon kombinasyonlarında kök sayısı ve sürgün sayısında görülen değişimler

Bu çalışmada, boğum eksplantlarında gelişen kök ve sürgün sayılarının birlikte kıyaslaması yapıldığında; sitokin (KIN) dozunun, oksin grubu (IBA) hormon dozlarına göre daha düşük olduğu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı uygulamalarda kök sayısının daha fazla olduğu görülmüştür. Sonraki uygulamalarda ise sitokin dozunun artmasıyla birlikte sürgün sayılarının kök sayılarının üzerine çıktığı belirlenmiştir (Şekil 4.2; Çizelge 4.9 ve 4.12). Bu durum önceki çalışmalarda bulunan sonuçlar ile uyumludur.

#### 4.2.4. Boğum eksplanti kök oluşturma oranı (%)

Boğum eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11). Buna göre en yüksek kök oluşturma oranı (%100 olarak); 2, 4 ve 5 nolu uygulamalardan elde edilmiştir. En düşük ise (%0) olarak 12, 18, 19 ve 21 nolu uygulamalardan edilmiştir (Çizelge 4.12).

**Çizelge 4.11.** Boğum eksplanti kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	89525	3730	6,029 **
Hata	50	30933	618	
Toplam	74	120458		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Boğum eksplantlarında da hipokotil eksplantlarında olduğu gibi, köklenmenin IBA dozların fazla olduğu uygulamalarda fazla olduğu görülmektedir. IBA dozlarının yüksek olduğu uygulamalarda köklenmenin fazla olduğu, KIN dozlarının yüksek olduğu uygulamalarda ise daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.2).

#### 4.2.5. Boğum eksplanti eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant)

Boğum eksplantlarında, eksplant başına ortalama kök sayısı değerleri arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemlidir (Çizelge 4.13). En yüksek kök sayısı 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA uygulamasından (14,42 adet/eksplant) elde edilmiştir. En düşük ise 0 adet/eksplant olarak 12, 18, 19 ve 21 nolu 4 farklı uygulamadan elde edilmiştir (Çizelge 4.12).

**Çizelge 4.12.** Boğum eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerler ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kök Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (mm)
		**	**	**
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	73,3 a-c	2,50 cd	13,2ab
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	100,0 a	12,11 abc	2,9 ab
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	80,0 ab	7,39 abcd	4,6 ab
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	100,0 a	14,42 a	5,6 ab
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	100,0 a	8,0 abcd	4,2 ab
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	66,7 a-d	7,11 abcd	4,0 ab
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	60,0 a-e	3,99 bcd	2,9 ab
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	60,0 a-e	11,55 abc	6,9 ab
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	60,0 a-e	4,77 bcd	8,0 ab
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	73,3 a-c	13,21 ab	9,4 ab
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	6,7 de	0,33 c	2,7 ab
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 e	0,00 c	0,0 b
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	53,3 a-e	1,33 c	15,2 a
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	53,3 a-e	2,67 cd	2,3 b
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	60,0 a-e	5,67 abcd	4,2 ab
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	40,0 a-e	5,67 abcd	3,0 ab
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	13,3 c-e	0,33 c	2,7 ab
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 e	0,00 c	0,0 b
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 e	0,00 c	0,0 b
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	6,7 de	2,67 cd	4,1 ab
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,00 c	0,0 b
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	6,7 de	0,33 c	7,4 ab
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	13,3 c-e	0,33 c	4,1 ab
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	6,7 de	0,33 c	0,9 b
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	20,0 b-e	1,00 c	18,7 a

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

**Çizelge 4.13.** Boğum eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	1534	63,94	4,370**
Hata	50	731	14,63	
Toplam	74	2266		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Bu çalışmada boğum eksplantlarında gelişen kök ve sürgün sayılarının birlikte kıyaslaması yapıldığında; sitokin (KIN) dozunun oksin grubu (IBA) hormon dozlarına göre daha düşük olduğu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 numaralı uygulamalarda kök sayısının daha fazla olduğu; sonraki uygulamalarda sitokin dozunun artmasıyla sürgün sayılarının kök sayılarının üzerine çıktığı görülmektedir (Şekil 4.2) (Çizelge 4.12) Bu durum önceki çalışmalarda bulunan sonuçlar ile uyumludur.

#### 4.2.6. Boğum eksplantı kök uzunluğu (mm)

Boğum eksplantlarında, kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.14).

**Çizelge 4.14.** Boğum eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	1642	68,43	1,778 *
Hata	50	1924	38,49	
Toplam	74	3566		

\*: 0.05 seviyesinde önemli

Buna göre en uzun kök 15,2 mm ile 1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA dozunun uygulandığı ortamlardan elde edilirken, en düşük ise hiç kök oluşturmayan uygulamalardan elde edilmiştir (Çizelge 4.12).

Yaptıkları çalışmada Çolak ve Tokur, (1999) *Beta vulgaris* L. cv. KWSTR-239 tohumlarının *in-vitro* şartlarda çimlendirilmesi sonucu elde edilen hipokotil eksplantlarının farklı oksin ve sitokin kombinasyonları içeren MS besi ortamlarında adventif tomurcuk verimi ve sürgün rejenere etme imkânını araştırmışlardır. Çalışmada oksin grubundan farklı dozlarda 2,4-D içeren besi ortamlarına konulan hipokotil eksplantlarının hiç birinde adventif tomurcuk oluşumu tespit edilmemiştir. Buna karşılık; her iki besi ortamında kültüre alınan eksplantlarda kallus oluştuğu belirlenmiştir. Bu durum 1 mg/L 2,4-D ve 2 mg/L K içeren MS besi ortamında (MS1) % 42.4, 0.2 mg/L 2,4-D ve 2 mg/L K içeren MS besi ortamında (MS2) % 9.3 oranında gerçekleşmiştir. Aynı oksin ve sitokin kombinasyonları içeren taze MS besi ortamlarında 3'er hafta ara ile toplam üç alt kültür gerçekleştirilmesine rağmen 2,4-D içeren besi ortamlarında (MS1, MS2) gelişen kallus dokularında hiçbir zaman

organogen bir oluşum belirlenmemiştir. Çalışmada kullanılan oksin-sitokin kombinasyonları arasında adventif tomurcuk oluşumunda ve sürgün gelişiminde en iyi sonucu bir sitokin grubu hormon olan BAP'ın kullanıldığı besi ortamları vermiştir. Bu ortamlardan 0.5 mg/L NAA ve 3 mg/L BAP içeren MS4 besi ortamında hipokotil eksplantlarında % 80.7 oranında sürgün gelişimi sağlamıştır.

Hagege ve ark (1991), yaptıkları çalışmalarında; oksin ve sitokin içeren ve içermeyen besi ortamlarında şeker pancarı kallus dokularını karşılaştırmışlardır. Oksin ve sitokin içermeyen besi ortamlarında kültüre alınan kallus dokularının ve hücre süspansiyonlarının; 0.1 mg/L 2.4- D ve 0.1 mg/L BA içeren besi ortamlarında kültüre alınan kalluslardan çok daha az bir gelişme gösterdikleri belirlemiştir.

Yukarıdaki araştırmacıların da belirttiği gibi oksin ve sitokin grubu hormonların dengesinin eksplantlarda rejenerasyon yeteneği üzerinde özel ve etkili bir etkiye sahip olduğu, bu çalışmada da belirlenmiştir.

### **4.3. Kotiledon eksplantı rejenerasyonu**

Kotiledon eksplantlarının kültüre alındığı besi ortamlarında görülen rejenerasyon durumu ve ölçümü yapılan karakterlere ait ortalama değerler ve farkları Çizelge (4.17)'de sunulmuştur. Kotiledon eksplantlarında hiçbir sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Ancak sitokin (KIN) oranının artışıyla birlikte, farklı hormon kombinasyonlarında kallus oluştuğu görülmektedir. Sitokin hiç olmadığı veya oksine (IBA) göre daha az seviyede olduğu hormon kombinasyonlarında, kotiledon eksplantlarında köklenme görülmüştür. Bunun aksine yüksek sitokin (KIN) dozlarında ise hiçbir şekilde köklenmenin olmadığı belirlenmiştir. Bu durum içsel hormon dengelerindeki farklıklar neticesinde oluşmuştur. Bu eksplantlara ait ölçümü yapılan karakterler ve buna ilişkin değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

#### **4.3.1. Kotiledon eksplantı kallus oluşturma oranı (%)**

Kallus oluşturma oranına (%) ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar da istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.15).

**Çizelge 4.15.** Kotiledon eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	16074	669,78	13,954 **
Hata	50	2400	48,00	
Toplam	74	18474		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Buna göre kotiledon eksplantlarında kallus oluşturma oranı (%0-60) arasında değişmiştir (Çizelge 4.17). En yüksek kallus oluşturma oranlarının artan sitokin (KIN) dozuna paralel olarak artış gösterdiği görülmektedir. 2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA uygulamasında en yüksek kallus oluşumu gözlenirken; hiç KIN bulunmayan hormon kombinasyonlarında ise kallus oluşumu görülmemiştir (Çizelge 4.17).

#### 4.3.2. Kotiledon eksplantı sürgün oluşturma oranı (%)

Sürgün oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler ve arasındaki farklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.16).

**Çizelge 4.16.** Kotiledon eksplantı sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	0,00	0,00	ÖD
Hata	50	0,00	0,00	
Toplam	74	0,00	0,00	

ÖD: önemli değil

Bu çalışmada kullanılan kotiledon eksplantlarında; 1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA ilavesi yapılan ortamda sadece %6,7 kadar sürgün oluşurken diğer tüm ortamlarda sürgün gelişmemiştir. Uygulamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemsiz olduğu için tüm uygulamaların bu eksplant için sürgün oluşumunda etkili olmadığı söylenebilir.

**Çizelge 4.17.** Kotiledon eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
		**	ÖD	ÖD
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	26,7 bc	0,0	0,0
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	26,7 bc	0,0	0,0
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	13,3 cde	0,0	0,0
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	26,7 bc	0,0	0,0
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	6,7 de	0,0	0,0
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	33,3 b	0,0	0,0
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	20,0 bcd	6,67	0,67
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	33,3 b	0,0	0,0
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	13,3 cd	0,0	0,0
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	13,3 cd	0,0	0,0
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	60,0 a	0,0	0,0

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli; ÖD: önemli değil

#### 4.3.3. Kotiledon eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar da istatistiki olarak önemsizdir (Çizelge 4.18). Buna göre kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı (0-0,67 adet /eksplant) arasında değişmiştir (Çizelge 4.17).

**Çizelge 4.18.** Kotiledon eksplanti eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	0,00	0,00	ÖD
Hata	50	0,00	0,00	
Toplam	74	0,00	0,00	

ÖD: önemli değil

Doku kültürü çalışmalarında bitki büyüme düzenleyicilerini farklı kombinasyon ve dozlarda kullanarak; isteğe bağlı bir şekilde yönlendirme yapmak mümkün olabilmektedir. Özellikle de *in vitro* şartlarda sürgün oluşturma oranı besi ortamlarına eklenecek bazı sitokin grubu hormonlar ve bunların miktarları ile kontrol edilebilmektedir. Genellikle adventif sürgünlerin oluşması; besi ortamlarına eklenecek olan oksin grubu hormonlara nazaran daha yüksek dozda sitokin grubu hormonların eklenmesiyle gerçekleşebilmektedir (Gönülşen, 1987).

#### 4.3.4. Kotiledon eksplanti kök oluşturma oranı (%)

Kotiledon eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.19).

**Çizelge 4.19.** Kotiledon eksplanti eksplant başına kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	14101	587,56	13,771 **
Hata	50	2133	42,67	
Toplam	74	16234		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Buna göre en yüksek kök oluşturma oranı (% 46,7); 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L dozlarının uygulandığı ortamlardan elde edilmiştir. En düşük ise % 0 olarak 0.5 mg/L KIN + 0 mg/L IBA ile 1.0 mg/L KIN + 0 mg/L IBA üzerindeki dozlardan elde edilmiştir (Çizelge 4.20). Sadece 1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA dozunda %13,3 köklenme olmuştur.

**Çizelge 4.20.** Kotiledon eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerler ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kök Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	En Uzun Kök Uzunluğu (mm)
		**	ÖD	ÖD
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	6,7 cd	0,33 ab	0,63 b
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	46,7 a	2,33 a	26,77 a
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	33,3 ab	1,67 ab	15,77 ab
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	33,3 ab	1,67 ab	3,00 b
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	13,3 cd	0,67 ab	0,93 b
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	20,0 bc	1,00 ab	1,50 b
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	6,7 cd	0,33 ab	3,87 b
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	33,3 ab	1,67 ab	3,83 b
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	20,0 bc	1,00 ab	2,63 b
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	13,3 cd	0,67 ab	5,67 b
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 b	0,00 b

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli; ÖD: önemli değil

#### 4.3.5. Kotiledon eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant)

Kotiledon eksplantlarında eksplant başına kök sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.21).

**Çizelge 4.21.** Kotiledon eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	35,253	1,469	2,203 **
Hata	50	33,333	0,667	
Toplam	74	68,587		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Buna göre en yüksek kök sayısı 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA uygulamasından (2,33 adet/eksplant) elde edilmiştir. En düşük ise 13 farklı uygulamada 0 adet/eksplant olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4. 20).

#### 4.3.6. Kotiledon eksplantı kök uzunluğu (mm):

Kotiledon eksplantlarında kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %5 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.22).

**Çizelge 4.22.** Kotiledon eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	2637	109,91	2,148*
Hata	50	2559	51,18	
Toplam	74	5197		

\* : 0.05 seviyesinde önemli

Buna göre kök uzunluğu (26,77 mm) 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA dozunun uygulandığı besi ortamlarından elde edilirken, en düşük (0 mm) ise hiç kök oluşturmamış uygulamalardan elde edilmiştir (Çizelge 4.20). Çolak ve Tokur (1999), yaptıkları çalışmalarında; kotiledon eksplantlarında oldukça yoğun bir hücrel proliferasyon belirlediklerini ve eksplantlarda hacim artışlarının olduğunu tespit etmişlerdir (Çolak ve Tokur 1999). Ayrıca, adventif tomurcuk oluşumunun kısmen de olsa sağlandığını ancak bunun hipokotil eksplantından elde edilenlere göre çok zayıf olduğu sürgün uzamasının da çok yavaş gerçekleştiğini belirtmişlerdir (Çolak ve Tokur). Jaco ve ark. (1993) yaptıkları çalışmalarında, *Beta vulgaris* L.'de rejeneratif potansiyeli geliştirmek için kotiledondan türetilen kalluslardan verimli bitki rejenerasyonu için kültürel koşullar oluşturmuşlardır. Altı şeker pancarı hattı ile yaptıkları çalışmalarında, %8-59 arasında değişen organojenik kallus oluşumu belirlemişlerdir. 2,3,5 triiyodobenzoik asit (0.5 mg/L) ile N6-benzil-aminopurin

(1 mg/L)'den oluşan hormon kombinasyonunun  $21 \pm 1$  günlük fidelerde içsel bitkisel hormon dengesini değiştirmek için en iyi kombinasyon olduğunu belirtmişlerdir (Jaco ve ark., 1993). Doku kültürü çalışmalarında, gelişen sürgünlerin in-vitro ortamda köklendirilmesine yönelik, çoğunlukla oksin grubu hormonların kullanıldığı kültür ortamları kullanılmaktadır (Yıldırım 2103; Özdemir ve ark., 2014; Özdemir ve ark., 2015). Gürel ve ark., (2001), yaptıkları çalışmalarında sitokinin (genelde BAP) ve oksin (çoğunlukla IAA, NAA veya 2-4 D) içeren besi ortamlarında kallus gelişiminin olduğunu; sürgün oluşturmak için ise daha düşük dozlarda bir oksin veya sitokinin içeren besi ortamlarının kullanılmasını gerektiğini belirtmişlerdir (Gürel ve ark. 2001). **Bu çalışmadaki eksplantlardan rejenera olmuş sürgünlerin, IBA içeren MS besin ortamında, köklendirilmesi, yukarıda belirtilen literatürle uyum göstermektedir.**

#### **4.4. Petiol eksplantı rejenerasyonu:**

Petiol eksplantlarının farklı besi ortamlarında gösterdikleri rejenerasyon durumları ve bu eksplanttan ölçümü yapılan karakterlere ait ortalama değerler ve farkları Çizelge (4.27)'de verilmiştir. Petiol eksplantlarında bir kaç hormon kombinasyonu 8, 9, 12, 14, 15 ve 25 nolu uygulamalar hariç diğerlerinde sürgün oluşumu gözlenmemiştir. Sitokinin (KIN) oranının artışıyla, farklı hormon kombinasyonlarında kallus oluşumunun arttığı görülmektedir (Çizelge 4.25). Sitokinin hiç olmadığı veya oksine (IBA) göre daha az seviyede olduğu hormon uygulamalarında, petiol eksplantlarında köklenme görülmüştür. Bunun aksine yüksek sitokinin (KIN) dozlarında ise hiçbir şekilde köklenmenin olmadığı belirlenmiştir. Bu içsel hormon dengelerindeki değişimler neticesinde ortaya çıkan bir durumdur. Petiol eksplantına ait ölçümü yapılan karakterler ve buna ilişkin değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

##### **4.4.1. Petiol eksplantı kallus oluşturma oranı (%)**

Petiol eksplantında kallus oluşturma oranına (%) ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar da istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.23).

**Çizelge 4.23.** Petiol eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	40192	1674,67	24,154**
Hata	50	3466	69,33	
Toplam	74	43658		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Buna göre petiol eksplantlarında kallus oluşturma oranı (%0-73,3) arasında değişmiştir (Çizelge 4.25). En yüksek kallus oluşturma 1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA uygulamasından elde edilmiştir (%73,3). Artan sitokin (KIN) dozuna paralel olarak kallus oluşturma oranında artış olduğu görülmektedir (Çizelge 4.25). KIN uygulaması bulunmayan hormon kombinasyonları ile 0 IBA dozu olan uygulamalarda kallus oluşumu görülmemiştir (Çizelge 4.25).

#### 4.4.2. Petiol eksplantı sürgün oluşturma oranı (%)

Petiol eksplantında sürgün oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler ve arasındaki farklar istatistiki olarak %1 önemli bulunmuştur (Çizelge 4.24).

**Çizelge 4.24.** Petiol eksplantı sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	4812	200,89	7,533**
Hata	50	1333	26,67	
Toplam	74	6154		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Bu çalışmada kullanılan petiol eksplantlarında en yüksek sürgün oluşturma oranı; 2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA uygulamasından (% 33) elde edilmiştir. En düşük sürgün oluşum oranı ise % 0 olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 4.25).

**Çizelge 4.25.** Petiol eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
		**	**	**
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	20,0 de	0,0 c	0,0 d
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	26,7 cd	13,3 bc	1,0 bc
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	46,7 bc	20,0 b	0,2 d
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	33,3 cd	0,0 c	1,4 b
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	40,0 cd	6,7 c	0,0 d
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	26,7 cd	0,0 c	0,6 cd
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	20,0 de	13,3 bc	0,0 d
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	60,0 ab	6,7 c	0,2 d
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,07d
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	33,3 cd	0,0 c	0,0 d
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	73,3 a	0,0 c	0,0 d
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	46,7 bc	0,0 c	0,0 d
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	26,7 cd	0,0 c	0,0 d
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	33,3 cd	0,0 c	0,0 d
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 e	0,0 c	0,0 d
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	66,7 a	33,3 a	2,8 a

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

#### 4.4.3. Petiol eksplantı eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistik olarak % 1 önemlidir (Çizelge 4.26). Buna göre petiol eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı (0-2,8 adet/eksplant) arasında değişmiştir (Çizelge 4.25). Petiol eksplantında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.25).

**Çizelge 4.26.** Petiol eksplanti eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	29,021	1,209	11,524**
Hata	50	5,247	0,105	
Toplam	74	34,267		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

#### 4.4.4. Petiol eksplanti kök oluşturma oranı (%)

Kotiledon eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.27).

**Çizelge 4.27.** Petiol eksplanti kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	11861	494,22	11,583**
Hata	50	2133	42,67	
Toplam	74	13994		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Petiol eksplantında köklenme oranı en yüksek % 46,7 ile 0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA uygulamasından elde edilirken, 16 farklı uygulamada hiçbir köklenme olmamıştır. Yukarıda rejenerasyon durumları açıklanan diğer eksplantlarda da görüldüğü gibi artan sitokin (KIN) dozlarında köklenmenin azaldığı hatta hiç görülmediği söylenebilir (Çizelge 4.29).

#### 4.4.5. Petiol eksplanti eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant)

Petiol eksplantlarında eksplant başına kök sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.28). Petiol eksplantında eksplant başına kök sayısı 0-2 adet/eksplant arasında değişmiştir (Çizelge 4.29).

**Çizelge 4.28.** Petiol eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	22,880	0,953	1,663 ÖD
Hata	50	28,667	0,573	
Toplam	74	51,547		

ÖD: önemli değil

**Çizelge 4.29.** Petiol eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kök Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (mm)
		**	ÖD	**
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	40,0 ab	2,00	26,20 a
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	13,3 cd	0,67	1,77 b
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	26,7 bc	1,33	18,90 a
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	6,7 d	0,33	0,93 b
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	13,3 cd	0,00	4,33 b
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	46,7 a	1,67	2,03 b
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	13,3 cd	0,67	0,0 b
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	6,7 d	0,33	0,53 b
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	6,7 d	0,33	6,83 b
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00	0,0 b

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli; ÖD: önemli değil

#### 4.4.6. Petiol eksplantı kök uzunluğu (mm)

Petiol eksplantlarında kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.30).

**Çizelge 4.30.** Petiol eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	2898	120,76	6,447**
Hata	50	936	18,73	
Toplam	74	3834		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Buna göre kök uzunluğu (26,20 mm) 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA dozunun uygulandığı besi ortamlarından elde edilirken, en düşük (0 mm) ise hiç kök oluşturmamış uygulamalardan elde edilmiştir (Çizelge 4.29). Doku kültürü çalışmalarında, gelişen sürgünlerin in-vitro ortamda köklendirilmesine yönelik, çoğunlukla oksin grubu hormonların kullanıldığı kültür ortamları kullanılmaktadır (Yıldırım 2013; Özdemir ve ark. 2014; Özdemir ve ark. 2015). Gürel ve ark. (2001), yaptıkları çalışmalarında sitokinin (genelde BAP) ve oksin (çoğunlukla IAA, NAA veya 2-4 D) içeren besi ortamlarında kallus gelişiminin olduğunu; sürgün oluşturmak için ise daha düşük dozlarda bir oksin veya sitokin içeren besi ortamlarının kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir (Gürel ve ark. 2001). **Bu çalışmadaki eksplantlardan rejener olmuş sürgünlerin, IBA içeren MS besin ortamında, köklendirilmesi, yukarıda belirtilen literatürle uyum göstermektedir.**

#### 4.5. Yaprak eksplantı rejenerasyonu

Farklı besi ortamında yaprak eksplantları kültüre alınmıştır. Kinetin (KIN) ve indol-3-butirik asit (IBA) bitki büyüme düzenleyicisi hormonların değişik dozlarıyla oluşturulan besi ortamlarında bu eksplantın rejenerasyon durumu incelenmiş ve bu eksplanttan gelişen kallus, sürgün ve kök gibi organların gelişim durumları ile ilgili ölçümler yapılmıştır. Bu ölçülen karakterler ve farkları Çizelge 4.32’de sunulmuştur. Genel çapta bir değerlendirme yapıldığında yaprak eksplantlarının artan sitokin (KIN) dozlarıyla kallus oluşumunun olduğu görülmektedir. Bu eksplantın, sürgün oluşturmadığı

da tespit edilmiştir. Kallus oluşturan eksplantların düşük sitokinin (KIN) ve artan oksin (IBA) dozlarında köklendikleri belirlenmiştir. Bu eksplantın rejenere olan ve ölçümü yapılan karakterleri ve bunlara ortalama değerler aşağıda ayrı ayrı sunulmuştur.

#### 4.5.1. Yaprak eksplantı kallus oluşturma oranı (%)

Bu çalışmada yaprak eksplantından; kallus oluşum oranına ait ortalama değerler ve bunlar arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemlidir (Çizelge 4.33).

**Çizelge 4.31.** Yaprak eksplantı kallus oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar (KIN+IBA)	24	44138	1839,11	17,242 **
Hata	50	5333	106,67	
Toplam	74	49472		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Buna göre en yüksek kallus oluşturma oranı 1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamdaki (%80) elde edilmiştir. En düşük ise 1, 2, 4, 5, 16 ve 21 nolu uygulamalardan (% 0) elde edilmiştir (Çizelge 4.32).

**Çizelge 4.32.** Yaprak eksplantında kallus ve sürgün oluşturma oranları (%) ve eksplant başına sürgün sayısı (adet) ortalama değerleri ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet)
		**	ÖD	ÖD
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 f	0,0	0,0
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 f	0,0	0,0
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	13,3 ef	0,0	0,0
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 f	0,0	0,0
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 f	0,0	0,0
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	20,0 ef	0,0	0,0
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	20,0 ef	0,0	0,0
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	13,3 ef	0,0	0,0
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	40,0 d	0,0	0,0
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	46,7 cd	0,0	0,0
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	20,0 ef	0,0	0,0
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	60,0 bc	0,0	0,0
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	13,3 ef	0,0	0,0
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	13,3 ef	0,0	0,0
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	13,3 ef	6,7	0,13
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 f	0,0	0,0
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	33,3 de	0,0	0,0
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	13,3 ef	0,0	0,0
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	66,7 ab	0,0	0,0
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	80,0 a	0,0	0,0
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 f	0,0	0,0
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	13,3 ef	0,0	0,0
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	20,0 ef	0,0	0,0
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	6,7 f	0,0	0,0
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	13,3 ef	0,0	0,0

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli; ÖD: önemli değil

#### 4.5.2. Yaprak eksplantı sürgün oluşturma oranı (%)

Yaprak eksplantlarında; sürgün oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar ise istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.33). Buna göre sürgün oluşturma oranı (% 0-6,7) arasında değişmiştir (Çizelge 4.32).

**Çizelge 4.33.** Yaprak eksplanti sürgün oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	245	10,22	0,958 ÖD
Hata	50	533	10,67	
Toplam	74	778		

ÖD: önemli değil

#### 4.5.3. Yaprak eksplanti eksplant başına sürgün sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler ve aralarındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.34). Eksplant başına sürgün sayısı (0-0,13 adet /eksplant) arasında değişmiştir (Çizelge 4.32).

**Çizelge 4.34.** Yaprak eksplanti eksplant başına sürgün sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	0,663	0,028	0,978 ÖD
Hata	50	1,413	0,028	
Toplam	74	2,077		

ÖD: Önemli Değil

#### 4.5.4. Yaprak eksplanti kök oluşturma oranı (%)

Yaprak eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemlidir (Çizelge 4.35).

**Çizelge 4.35.** Yaprak eksplanti kök oluşturma oranına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	34133	1422,22	15,686 **
Hata	50	4533	90,67	
Toplam	74	38666		

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

**Çizelge 4.36.** Yaprak eksplantında kök oluşturma oranı (%), eksplant başına kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (mm) ortalama değerler ve farklılık gruplandırmaları

No	Bitki Gelişim Düzenleyicileri	Kök Oluşturma Oranı (%)	Eksplant Başına Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (mm)
		**	**	**
1	0.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
2	0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	53,3 b	2,67 ab	20,3 a
3	0.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	13,3 d	0,67 c	7,8 abc
4	0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	20,0 cd	<b>1,00 bc</b>	9,3 abc
5	0.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	33,3 c	1,67 bc	7,8 abc
6	0.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
7	0.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	33,3 c	1,67 bc	16,8 ab
8	0.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
9	0.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	13,3 d	0,67 c	2,5 c
10	0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	80,0 a	4,00 a	9,3 abc
11	1.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	6,7 d	0,67 c	1,7 c
12	1.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
13	1.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
14	1.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
15	1.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
16	1.5 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
17	1.5 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
18	1.5 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
19	1.5 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
20	1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	13,3 d	0,67 c	3,5 bc
21	2.0 mg/L KIN + 0.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
22	2.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
23	2.0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
24	2.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA	0,0 d	0,00 c	0,0 c
25	2.0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA	6,7 d	0,33 c	4,3 bc

\*\* : 0.01 seviyesinde önemli

Buna göre en yüksek kök oluşturma oranı 0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan (%80) elde edilmiştir. En düşük ise % 0 olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.36). Bu eksplanta ait değerlerde incelendiğinde diğer eksplantlarda da görüldüğü gibi sitokin (KIN) dozlarının olmadığı ya da düşük olduğu, oksin (IBA) dozlarının ise fazla olduğu uygulamalarda daha çok köklenmenin olduğu görülmektedir. Diğer uygulamalarda içsel hormon dengesinin sitokininin lehine doğru değişmesi bu eksplanta, diğer eksplantlarda da olduğu gibi köklenmeyi sınırlandırmıştır. Kontrol

uygulamasında ise hiçbir köklenme olmamıştır. Köklenme oranı dengeyin IBA lehine değişmesiyle birlikte 2, 3, 4 ve 5 nolu uygulamalarda belirgin artış göstermiştir.

#### 4.5.5. Yaprak eksplantı eksplant başına kök sayısı (adet/eksplant)

Hipokotil eksplantlarında; eksplant başına kök sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemlidir (Çizelge 4.37).

**Çizelge 4.37.** Yaprak eksplantı eksplant başına kök sayısına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	87	3,63	5,244 **
Hata	50	34	0,69	
Toplam	74	121		
**: 0.01 seviyesinde önemli				

En yüksek kök sayısı 0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan (4 adet/eksplant) elde edilmiştir (Çizelge 4.38) En düşük ise (0 adet/eksplant) olarak 1, 6, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23 ve 24 nolu 15 farklı uygulamadan elde edilmiştir (Çizelge 4.36). Yaprak eksplantında, eksplant başına kök sayısı ortalaması köklenme oranındaki gibi yalnızca IBA dozlarının olduğu uygulamalarda en yüksek değerlere ulaşmıştır. IBA'nın köklenme oranını artırdığı kadar; kök sayısında da artırdığı görülmektedir.

#### 4.5.6. Yaprak eksplantı kök uzunluğu (mm)

Yaprak eksplantlarında kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerleri ve bunların arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.38).

**Çizelge 4.38.** Yaprak eksplantı kök uzunluğuna ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
Dozlar	24	8737	364,07	4,975 **
Hata	50	3658	73,17	
Toplam	74	12396		
**: 0.01 seviyesinde önemli				

Kök uzunluğu 20,3 mm ile 0.0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA dozunun uygulandığı ortamlardan elde edilmiştir. En düşük ise hiç kök oluşturmayan 1, 6, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23 ve 24 nolu uygulamalardan (0 mm) elde edilmiştir (Çizelge 4.36).

Oksin grubu hormonların besi ortamlarında olması veya diğer grup bitki büyüme düzenleyicilerine göre daha fazla oranda oluşu kök oluşumunu uyarmaktadır. Gürel ve Gürel (1998), oksin grubu bitki büyüme düzenleyicilerinin adventif kök oluşumunu etkilediğini belirtmişlerdir. Gürel ve ark. (2001), *in vitro* koşullarda yaptıkları bir çalışmada; şeker pancarı (*Beta vulgaris*) hatlarından yetiştirdikleri bitkilerin fidelerinden hipokotil, kotiledon, petiol ve yaprak eksplantları olarak bu eksplantların rejenerasyon durumlarını incelemişlerdir. Farklı kombinasyonlarda; 0.5 mg/L BAP veya 0.5 mg/L KIN dozlarının yer aldığı kombinasyonlarda bütün eksplant tiplerinde, diğer ortamlara göre daha fazla miktarda kallus oluşumu tespit etmişlerdir. Bütün şeker pancarı hatlarının ortalamaları dikkate alındığında ise; hipokotil ve kotiledon eksplantlarının, petiol ve yaprak eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşturduğunu belirlemişlerdir (Gürel ve ark. 2021).

Bu çalışmada da yaprak eksplantından sadece kallus geliştiği, sürgün oluşmadığı belirlenmiştir. Yaprak eksplantlarında 25 farklı bitki büyüme ve gelişme düzenleyicisi kombinasyonu içerisinde 20 nolu (1.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA) uygulamanın en iyi kallus oluşumunu sağladığı görülürken; en iyi köklenmeyi ise 10 nolu (0.5 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA) uygulamanın sağladığı belirlenmiştir.

#### 4.6. Dış iklim koşullarına alıştırma süreci

Denemede tüm köklenen bitkicikler ilk olarak iklim odasında; doku kültürüne alındıkları Aralık 2020 tarihinden yaklaşık 5 ay sonrasında Nisan 2021'den itibaren dış ortam iklimine alıştırılmaya alınmışlardır. İlk olarak bitkicikler saksı içerisinde toprak ortama aktarılmış ve üzerleri naylon ile kapatılarak, yüksek nemli ortamda gelişmeleri takip edilmiştir. Çalışma, doku kültürü çalışmalarının başladığı andan itibaren 20-24 hafta geçtikten sonra köklenen ve saksılarda gelişen bitkilerin tarlaya transfer edilmesiyle son bulmuştur (Resim 4.2).

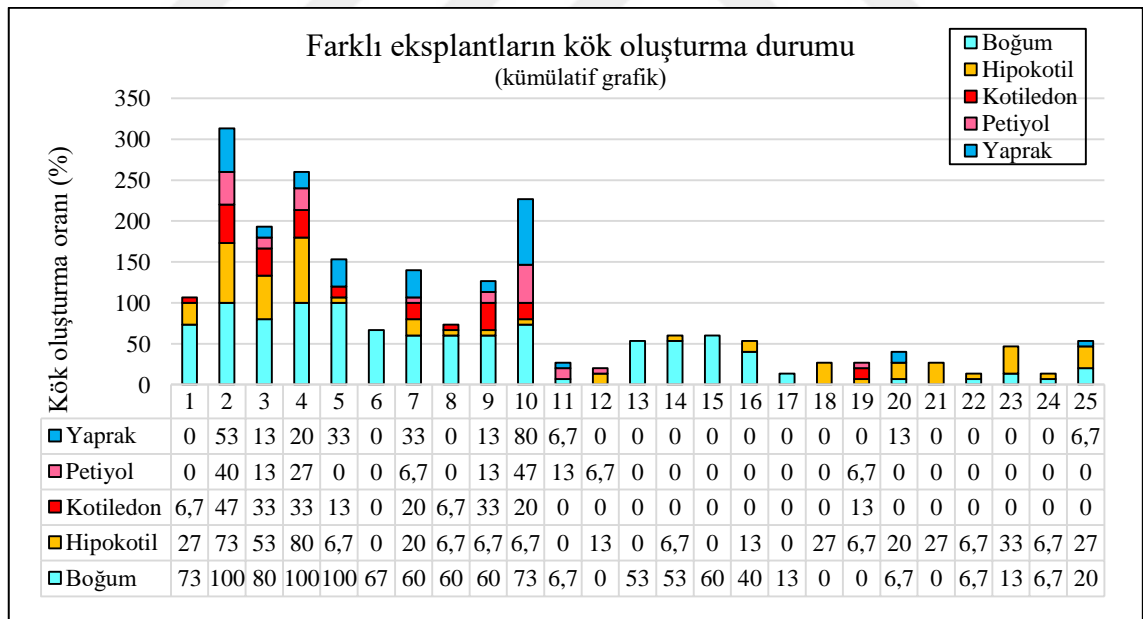


**Resim 4.2.** (a,b,c,d,e,f) sürgün oluşturan eksplantların köklendirilmesinden sonra dış ortama alıştırılması ve toprak ortama aktarılması. g,h) serada dış ortama alıştırılan bitkilerin tarlaya aktarılması

## 5. SONUÇ

Bu çalışmada rejenerasyon yetenekleri araştırılan tüm eksplantlardan gelişen köklü bitkilere ait ortalama değerler birlikte değerlendirildiğinde 25 farklı bitki büyüme düzenleyici kombinasyonunda 5 farklı eksplantın (hipokotil, boğum, kotiledon, petiyol ve yaprak) kıyaslamasını Şekil 4.3’de gözlemlemek mümkündür.

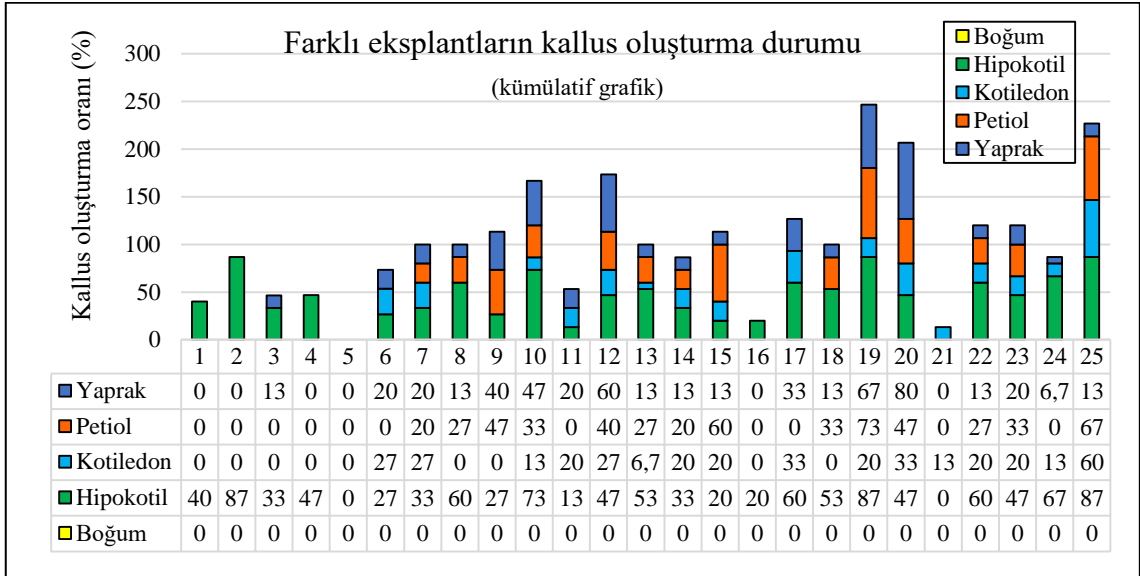
Her uygulamanın değerlerinin kümülatif verildiği grafikte, 2 nolu (0 KIN + 0.5 IBA) dozun tüm eksplantlar için köklenme oranı açısından en iyi sonucu verdiği görülmektedir. Yine en iyi köklenmenin mavi renk ile gösterilen boğum eksplantlarında olduğu da grafikten anlaşılmaktadır. Son olarak sitokinin (KIN) dozlarının olmadığı ya da az olduğu, IBA dozlarında ise köklenmenin daha fazla olduğu net şekilde görülmektedir. Sitokinin dozlarının artmasıyla köklenme oranlarında tüm eksplantlarda düşüşler görülmektedir (Şekil 4.3). Bu sonuçlar yukarıda bahsedilen daha önce yapılmış çeşitli çalışmalar ile uyumludur (Gürel ve ark. 2000, Gürel ve ark. 2003 a, Ergül ve ark. 2018, Mash ve ark. 1994).



**Şekil 4.3.** Farklı eksplantların köklenme durumlarının kümülatif grafikte gösterimi

Kallus oluşumunun boğum eksplantı hariç tüm eksplantlarda farklı oranlarda da olsa görüldüğü anlaşılmaktadır. Ancak hipokotil eksplantı dışında kalan diğer eksplantlarda; bir sitokinin olan kinetin (KIN) uygulamasının olmadığı ilk grup hormon kombinasyonlarında 1, 2, 3, 4 ve 5 nolu uygulamalarda kallus gelişiminin nerdeyse hiç

olmadığı görülmüştür(Şekil 4.4). Gürel ark. (2001), Bütün şeker pancarı hatlarının ortalamaları dikkate alındığında; hipokotil ve kotiledon eksplantlarının, petiol ve yaprak eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşturduğu belirlenmiştir. *B. vulgaris* var. *maritima* (L.) Arcang. türünün doku kültürü çalışmalarıyla hızlı çoğaltımı hususlarının araştırıldığı bu çalışmada hipokotil, boğum ve kotiledon eksplantlarından *in-vitro* koşullarda bitki çoğaltması mümkün olmuştur. Hipokotil eksplantlarında kallus oluşumu diğer eksplantlara göre daha fazla görülürken, boğum eksplantında tüm uygulamalarda sürgün oluşumu tespit edilmiştir. Bu durum bu bitki türünde sadece MS ortamında dahi boğum eksplantlarından sürgün geliştirilebileceğini göstermektedir. Sonrasında da bu sürgünlerin başarıyla köklendirilerek dış ortama aktarımı mümkün olmuştur (Şekil 4.3). Kotiledon eksplantlarında ise sitokin ve oksin grubu hormonların etkisiyle içsel bitki hormon düzeylerindeki değişimler neticesinde düzenli olmayan ve diğer eksplantlardan daha az sayıda ve oranda köklenmeler görülmüştür (Şekil 4.3). Ancak bu eksplant da hipokotilde de olduğu gibi hiçbir şekilde sürgün oluşmamış sadece kallus gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.4). Elde edilen sonuçlara göre boğum eksplantında 0.0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA dozunun bu bitki türünün *in-vitro* çoğaltılmasında en etkili şekilde kullanılabilecek bir uygulama olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 4.4.** Farklı eksplantların kallus oluşturma durumlarının kümülatif grafikte gösterimi

Bu bitki türünün hızlı çoğaltılmasında boğum eksplantının çok uygun bir şekilde bitkinin hızlı çoğaltılmasında kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Şeker pancarı ıslahında genetik ıslah materyali olarak çok sık kullanılan bu türün, doğada yayılış gösteren yabancı formlarından kültür hat ve çeşitlerine klasik ıslah yöntemleriyle bir takım dayanıklılık genleri aktarılmaktadır. Burada ihtiyaç duyulacak bitkilerin hızlı şekilde çoğaltılması ve istenilen genetik materyalin korunması ve muhafazasında bu çalışmada elde edilen sonuçlar önemli katkı sağlayacaktır. Bu çalışmada kıyı pancarı *B. vulgaris* var. *maritima* türünden *in-vitro* koşullarda başarılı ve güvenli bir şekilde bitki geliştirmenin protokolleri ortaya koyulmuştur. Şeker pancarı ıslahında genetik materyalin korunmasında, hızlı çoğaltılmasında ve şeker pancarında yeni ticari çeşitlerin geliştirilmesine de katkı sağlayacaktır.

## KAYNAKLAR

- Aflaki, F., Pazuki, A., Gürel, S., Stevanato, S., Biancardi, E., Gürel, E. (2017). Doubled haploid sugar beet: an integrated view of factors influencing the processes of gynogenesis and chromosome doubling. *Int Sugar J* 119: 884-895.
- Altınok, A., Er, C. (2013). Bazı şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) Hatlarında *In Vitro* Adventif Sürgün rejenerasyonu *Anadolu J. Of AARI* 23(2) 2013, 27-35.
- Ammirato, P.V. (1983). Embryogenesis. In: Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV, Yamado Y (eds) *Handbook of Plant Cell Culture*, vol 1, pp:82-123, Macmillan, New York.
- Anonim, 2021a [www.turkseker.gov.tr/data/dokumanlar/2021a0\\_Sektor\\_Raporu.pdf](http://www.turkseker.gov.tr/data/dokumanlar/2021a0_Sektor_Raporu.pdf) (Erişim Tarihi:11.08.2022).
- Anonim, 2021b [https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Haziran 2021](https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Haziran%202021) (Erişim Tarihi; 11.08.2022).
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., Akbudak, M.A., (2001). Doku Kültürü: Temel Laboratuvar Teknikleri, Bitki Biyoteknolojisi I. (editors) Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, S.Ü.Basımevi, ss:374, Konya.
- Bezo, M., Engelhardt, M. (1999). Micropropagation of cytoplasmic male sterility lines and O-types of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) *Acta Fytotechnica et Zootechnica Slovak Republic*.
- Beyaz, R., Telci, Kahramanoğulları, C., Alizadeh, B., Gürel, S., Yıldız, M. (2012). Vegetative and generative development of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) genotypes at different ploidy levels. 1st International Anatolian Sugar Beet Symposium, 20-22 Eylül 2012, Sayfa 273-274, Kayseri.
- Beyaz, R., Alizadeh, B., Gürel, S., Özcan, S.F., Yıldız, M. (2013). Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) growth at different ploidy levels. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, 66 (1): 90-95.
- Bhat, S. R, Ford-Llyod B.V., Callow, J.A. (1985). Isolation of protoplasts and regeneration of callus from suspension cultures of cultivated beets. *Plant Cell Rep* 4: 348–350.
- Biancardi, E., Panella L.W., Lewellen R.T. (2012). *Beta maritima* The origin of beets Springer XI,173,New York Dordrecht Heidelberg London.
- Bouchmaa, N., Mrid, R.B., Kabach, I., Zouaoui, Z. (2022). *Beta vulgaris* subsp. *maritima*: A Valuable Food with High Added Health Benefits *Appl. Sci*, 12(4), 1866; <https://doi.org/10.3390/app12041866>.

- Çolak, G., Tokur, S. (1999). *Beta vulgaris* L. (şeker pancarı) hipokotil eksplantlarının sürgün rejenerasyonu üzerine bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri, *BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 1(1): 4-14.
- De Greef, W, Jacobs M. (1979). *In vitro* culture of sugar beet: Description of a cell line with high regeneration capacity. *Plant Sci Lett.* 17: 55–61.
- Detrez, C., Tetu., Sangwan, R.S, Sangwan-Norrsel., B.S. (1988). Direct Organogenesis from Petiole and Thin Cell Layer Eksplants in Sugar Beet Cultured *In Vitro*. *Journal of Experimental Botany* Vol: 39 No 204, pp 917-926.
- Er, C., Uranbey, S. (1996). Nişasta şeker bitkileri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, (1504):167. Ankara.
- Erdal, M. (1996). Şeker pancarı ıslahı I, *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi* 10(13): 39-56.
- Ergül, A., Khabbazi S. D., Oğuz, M. Ç., Özmen C. Y., Gürel, S., Gürel, E. (2018). *In-vitro* multiplication of wild relatives in genus *Beta* conserves the invaluable threatened germplasms *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (PCTOC) 134:169–175.
- Endress, H.R. (1994). Basic techniques. In *Plant Cell Biotechnologies* pp: 16-17, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Evans, D.A., Sharp, W.R., Flick, C.E. (1981). Growth and behavior of cell cultures. In: Thorpe, T.A. (ed), *Plant Tissue Culture-Methods and Applications in Agriculture*, pp: 45-113. Academic Press, New York.
- Franklin, C.I., Dixon, R.A. (1994). Initiation and maintenance of callus and cell suspension cultures. In: Dixon, R.A., Gozales, R.A. (eds), *Plant cell culture- A Practical Approach, Second Edition*, pp: 1-27, Oxford University Press, Oxford, UK.
- Ford-Lloyd B.V. (2005). Sources of genetic variation genus *Beta* in Biancardi E. Campbell L.G. Skaracis G.N. De Biaggi M (eds), *Genetics and breeding of sugar beet*. Science Publishers, pp: 25-33, Enfield.
- Gamborg, O.L. Phillips, G.C. (1995). Laboratory facilities, operation, and management. In: Gamborg, O.L., Phillips, G.C.(eds), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Fundamentals methods*, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- George, E.F. (1993). *Plant propagation by tissue culture. Part I. The technology*, second edition, ss:574 Exegetics Ltd. England.
- Gürel, E., Gürel, S. (1996). Plant regeneration from leaf eksplants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultured *in vitro*. *Kükem Dergisi*, 19: 29-37.

- Gürel, E., Gürel, S. (1996). *In vitro* şartlarında kültüre alınmış şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) yaprak eksplantlarından bitki rejenerasyonu, *Kükem Dergisi* Cilt19,Sayı:1,Sayfa 29-37.
- Gürel, E. (1997). Callus and root development from leaf eksplants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) variability between cultivars, plants and organs. *Turk J Bot* 21: 131–136.
- Gürel, E. (1998). Bitki hücre ve doku kültürlerinin güncel uygulama alanları *Kükem Dergisi* 21:17-24.
- Gürel, E., Gürel, S. (1998). Plant regeneration from unfertilized ovaries of sugar beet (*Beta vulgaris* L) cultured *in vitro*. *Turkish Journal of Botany*, 22: 233-238.
- Gürel, S., Gürel, E., Kaya, Z.(2000). Direct root and shoot development from seedling eksplants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Biyoteknoloji Dergisi*, 24: 99-106.
- Gürel, E., Uçar Türker, A. (2001), Organogenesis, Bitki Biyoteknolojisi, I, Bitki Biyoteknolojisi I. Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. (eds), Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, S.Ü. Basımevi, ss:374,Konya.
- Gürel, S., Gürel E., Kaya Z. (2001). Callus development and indirect shoot regeneration from seedling eksplants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultured *in vitro*. *Turk. J. Bot.* (25):25-33
- Gürel, S., Gürel, E., Kaya, Z. (2002a). Establishment of cell suspension cultures and plant regeneration in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Turkish Journal of Botany*, 26: 197-205.
- Gürel, S., Gürel, E., Kaya, Z. (2002b). Protoplast fusion in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Turkish Journal of Biology*, 26: 163-170.
- Gürel S., Topal, E., Gürel, E. (2003a). The effect of pretreating seedlings with TDZ on direct shoot regeneration from petiole eksplants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.), *Asia Pasific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 11(1): 57-62.
- Gürel, S., Gürel, E., Kaya, Z., Erdal, M., Güler, E. (2003b). Effects of antimetabolic agents on haploid plant production from unpollinated ovules of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 17(2): 97-101.
- Gürel, S., Baloğlu, M.C., Gürel, E, Öktem, H.A., Yücel, M. (2011). A two-stage pretreatment of seedlings improves adventitious shoot regeneration in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 106(2): 261-168.
- Gürel, S., Gürel, E. (2013). *In vitro* regeneration of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). In: Ramawatand KG, Merillon JM, editors. *Bulbous Plants: Biotechnology*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, pp. 113-151.

- Gürel, S., Gürel, E. (2014). *In-vitro* regeneration of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). In: Ramawat KG, Merillon JM (editors), *Bulbous Plants: Biotechnology*. CRC Press, Taylor & Francis Group, USA.
- Gürel, S., Pazuki, A., Aflaki, F., Ergül, A., Gürel, E. (2015). Cold pretreatment improves *in-vitro* gynogenesis of sugar beet (*Beta vulgaris*). *International Conference on Agronomy and Horticulture*, page 37-38, 25-27 August 2015, Shanghai, China.
- Gönülşen, N. (1987). Bitki doku kültürü yöntemleri ve uygulama alanları, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın no: 78, İzmir.
- Hagege, D., Kevers, C., Gaspar, T., Thorpe, T. A.,(1991). Abnormal growth of habituated sugar beet callus and cell suspensions, *In-vitro Cell. Dev. Biol.*, 27: 112-116.
- Hartman, H.T., Kester, D.E. (1975). *Plant propagation-Principles and practices*. Prentice-Hall. Inc. New Jersey.
- Hooker, M. P., Nabors, M.W. (1977). Callus initiation, growth and organogenesis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Z Pflanzenphysiol* 84: 237–246.
- Jaco, B., Tetu T., Sangwani R.S., De Laat, A., Sangwan-Norreel (1993). Efficient production of uniform plants from cotyledon eksplants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) *Plant Breeding Volume* 110, Issue 3 p. 185-191.
- Keimer, B. (1985). *In vitro* vegetative multiplication of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Hereditas Suppl* 3: 145.
- Khawar KM, Cocu S., Parmaksiz, İ., Sarıhan, E.O., Özcan, S. (2005). Mass proliferation of Madonna lily (*Lilium candidum* L.) under *in-vitro* conditions, *Pakistan Journal of Botany*, 37 (2): 243-248.
- Knapp, E. (1958). Beta-Rüben bes. zuckerrüben in handbuch der pflanzenzüchtung 2 Aufl. Band III. 196-280. Verlag Paul Parey, Berlin.
- Kung, S-D. (1993). Introduction: from green revolution to gene revolution *Transgenic plants vol 2: Present Status and social and economic impacts* pp: 146-177, Academic press.
- Kutluk Yılmaz, N.D., Erkan, S. (2005). Şeker Pancarı (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*)’nda Rhizomania Hastalığı, *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 20(1):64-72.
- Mansuroğlu, S., Gürel, E., (2001). Mikro-çoğaltım, Bitki Biyoteknolojisi, I, Bitki Biyoteknolojisi I. Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan, S. (eds), Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, S.Ü. Basımevi, ss:374,Konya.

- Mash, A., Staden, J., Thomas, T., Zhongxian, Z.,(1994). *In vitro* adventitious shoot production of *Beta vulgaris* and *Beta maritima* Lumsden, P.J., Nicholas, J.R, Davies W.J., *Physiology, Growth and Development of Plants in Culture*, 261-266.
- Mikami, T, Sudoh, R. N, Kinoshita T (1989). Genotypic variation in the *in vitro* morphogenesis from leaf eksplants of *Beta vulgaris* L. and *Beta maritima* L. *Euphytica* 40: 271–273.
- Mukherjee, E., Gantait, S. (2022). *Genetic Transformation in Sugar Beet (Beta vulgaris L.): Technologies and Applications” - Sugar Tech, – Springer.*
- Murashige, T. (1974). Plant propagation through tissue culture. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25-135-166.
- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol plant* 15, 473-497.
- Nofouzi, F., Oğuz M. Ç., Vaziri, P., A., Rezaei, F., Gürel, S., Ergül, A. (2015). Şeker Pancarında (*Beta vulgaris*) Kotiledon Boğum Eksplantlarından Bitki Rejenerasyonu, Ulusal tarım Kongresi-29-31 Ekim 2015.
- Özdemir, F.A, Yildirim, M.U, Pourali, Kahriz, M. (2014). Efficient micropropagation of highly economic, medicinal and ornamental plant *Lallemantia iberica* (Bieb.) Fisch. and C. A. Mey. *BioMed. Research International*. 2014: ID 476346. doi:10.1155/2014/476346.
- Özdemir, F.A, Yildirim, M.U, Pourali, Kahriz, P. (2015). Micropropagation of endemic *Scutellaria orientalis* L. subsp. *bicolor* using modified MS medium & TDZ. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 27: 1-7.
- Özdemir, F, A.,Yıldırım, M.U. (2016 a). *Scilla siberica* subsp. *armena* petiolundan *In-vitro* çoklu sürgün rejenerasyonu, *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi* 26(2): 215- 220.
- Özdemir, F.A., Yıldırım, M.U. (2016 b). *Crambe maritima* L. hipokotilinden *in-vitro* mikro-üretim, *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi* 26(2): 168-173.
- Pazuki, A., Aflaki, F., Gürel, S., Ergül, A., Gürel E., (2018 a). The effects of proline on *in vitro* proliferation and propagation of doubled haploid sugar beet (*Beta vulgaris*) *Turk J Bot* (2018) 42: 280-288.
- Pazuki, A., Aflaki, F., Gürel, E., Ergul, A., Gürel, S. (2018 b). Gynogenesis induction in sugar beet (*Beta vulgaris*) improved by 6-benzylaminopurine (BAP) and synergized with cold pretreatment. *Sugar Tech* 20: 69-77.
- Pedersen C., Hall, R.D., Kren F.A. (1993). Petioles as the tissue source for isolation and culture of *Beta vulgaris* and *B. maritima* protoplasts. *Plant Science*. vol:95, issue:1, 89-97.

- Pierik, RLM. (1993). Micropropagation: Technology and opportunities. IN: Prakash, J., Pierik, RLM (eds) Plant Biotechnology. Commercial Prospects and Problems. P. 9, Intercept Ltd. UK.
- Sakallı, Z. (2017). Şeker pancarında (*Beta vulgaris* var. *sacherifera*) somatik embriyogenesis ve in-vitro çoğaltım, Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Smith, R. (1992). Plant tissue culture techniques and experiments. pp:1-27, Academic Press Inc, UK.
- Taghipour, F., Janalizadeh, N., Eshrati, M., Hassanzadeh, T., Huyop, F. (2013). Callus induction and shoot organogenesis in two sugar beet (*Beta vulgaris* L.) breeding lines *in vitro* cultured. *Biotechnology*, 12 (4): 168–178.
- Winner, C. (1984). Franz Carl Achard als Wegbereiter einer experimentellen Pflanzenbauwissenschaft und der Zuckerfabrikation aus Rüben, Geschichte der Zuckerrübe. 200 *Jahre Anbau und Züchtung*, 22-47.
- Yıldırım, M.U. (2013). Micropropagation of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Letswaart using stem node eksplants. *Scientific World Journal*. 2013: ID 276464. doi:10.1155/2013/276464.
- Yolcu, S., Alavilli, H., Ganesh, P., Panigrahy, M., Song K. (2021). Salt and Drought Stress Responses in Cultivated Beets (*Beta vulgaris* L.) and Wild Beet (*Beta maritima* L.) *Plants* 10(9), 1843; <https://doi.org/10.3390/plants10091843>.
- Yu, M. H. (1989). Callus induction and differentiation from leaf eksplants of different species of the genus *Beta*. *Crop Sci.* 29: 205–209.
- Zhongxian, Z., Smith, H.G., Thomas, H.T. (1993). *In vitro* culture of Petioles and Intact Leaves of Sugar Beet (*Beta vulgaris*). *Plant Growth Regulation* 1225:59-66. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- Zhong, Z., Smith, H.G., Thomas, T.H. (1993a). *In vitro* culture of petioles and intact leaves of sugar beet (*Beta vulgaris*). *Plant Growth Regul.* 12: 59–66.
- Zhong, Z., Smith, H.G., Thomas, H. T., (1993b). Micropropagation of wild beet (*Beta maritima*) from inflorescence pieces *Plant Growth Regulation* 12: 53-57.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Mehmet KOLÇAK

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Lisans	A.Ü. Ziraat Fakültesi/Tarla Bitkileri Bölümü	1994
Lise	Tosya Lisesi	1988

### Mesleki Deneyim

Yıl	Yer	Görev
1997-	T.Ş.F.A.Ş	Ziraat Mühendisi

### Yabancı Dil

İngilizce