

## Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) Bitkisinin Olgunlaşmamış Embriyo Eksplantlarından Adventif Sürgün Rejenerasyonu ve Hızlı Çoğaltım\*

Yılmaz ERDOĞAN<sup>1</sup> Satı ÇÖÇÜ<sup>2</sup> İskender PARMAKSIZ<sup>3</sup> Cengiz SANCAK<sup>2</sup> Orhan ARSLAN<sup>1</sup>

Geliş Tarihi : 30.09.2004

**Öz:** Yüksek oranda bir adventif sürgün rejenerasyonu elde etmek için 6 farklı burçak hattına ait olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo eksenleri değişik oranlarda TDZ içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. Thidiazuron (TDZ) konsantrasyonları, hatlar ve kullanılan eksplantların sürgün rejenerasyonuna etkisi geniş bir varyasyon göstermiştir. En yüksek sürgün oluşturan eksplant oranı %90 ve eksplant başına en fazla sürgün sayısı da 22 adet olarak belirlenmiştir. Sekizinci hattın elde edilen adventif sürgünler farklı konsantrasyonlarda 6-benzilaminopurin (BAP),  $\alpha$ -naftalenasetik asit (NAA) ve Thidiazuron (TDZ) içeren ortamlarda hızlı çoğaltıma alınmıştır. Burada eksplant başına en yüksek sürgün sayısı 7.33 adet ile 2 mg/l BAP ve 0.2 mg/l NAA içeren MS besin ortamından sağlanmıştır. Gelişen sürgünler daha sonra, 2 mg/l indol-3-bütirik asit (IBA) içeren MS ortamında köklendirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Burçak, olgunlaşmamış embriyo, adventif sürgün rejenerasyonu, hızlı çoğaltım, doku kültürü

### Adventitious Shoot Regeneration From Immature Embryo Explants of Bitter Vetch (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) and Micropropagation

**Abstract:** Immature embryo explants of six bitter vetch line were cultured on MS medium supplemented with various concentrations of TDZ. It was observed that Thidiazuron (TDZ) concentrations, genotype and type of explants affected shoot production significantly. The highest frequency of shoot regeneration and the highest number of shoots per explant were determined as 90% and 22. Regenerated shoots from line 8 were micropropagated on MS medium with various combinations of BAP-NAA and TDZ. The highest number of shoot (7.33 per explant) were obtained on MS medium containing 2 mg/l BAP and 0.2 mg/l NA with 7.33. Subsequently, regenerated shoots were rooted in MS medium containing 2 mg/l IBA.

**Key Words:** Bitter vetch, immature embriyo, adventitious shoot regeneration, micropropagation, tissue culture

#### Giriş

Burçak bitkisi kurak şartlarda başarıyla yetiştirilen önemli tek yıllık baklagil tane yem bitkilerinden biridir. Diğer kültür bitkilerinin ekonomik olarak tarımının yapılamadığı alanlarda, kireççe fakir topraklarda, taşlı, yamaç tarlalarda burçak tarımı yapılabilmektedir. Köklerindeki *Rhizobium* sp. bakterilerinin yardımı ile havadaki serbest azotu toprağa aktararak toprağın verim gücünü yükseltmesi, bu bitkinin ekim nöbetindeki önemini arttırmaktadır. Ancak, kültüründeki güçlükler nedeniyle ekim alanı son yıllarda gittikçe azalma göstermiş ve ülkemizde en fazla bilinen yem bitkilerinden biri olmasına rağmen, istenilen özelliklere sahip bir çeşidimiz yoktur. Ege, Akdeniz, İç Anadolu, Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde çiftçilerin elinde yerel çeşit niteliğindeki popülasyonlar kullanılmakta ve tarımı geleneksel usullerle yürütülmektedir (Serin ve ark. 1997, Ekiz 1988). Kurağa dayanıklı olan burçak bitkisi ile yapılacak ıslah çalışmaları ile yüksek verimli ve ekonomik çeşitlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Özellikle gen aktarımı ve *in vitro* mutasyon çalışmalarında istenilen özelliğe sahip bireylerin elde edilebilmesi için öncelikle doku kültürü yöntemleriyle

düzenli bir sürgün rejenerasyonunun elde edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla bu çalışmada ülkemiz tarımı için önemli bir yem bitkisi olan burçakta rejenerasyon ve rejener edilen bitkilerin hızlı çoğaltımı amaçlanmıştır.

#### Materyal ve Yöntem

Araştırma Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüş olup çalışmada kullanılan burçak bitkisinin 7, 8, 9, 10, 11 ve 12 numaralı burçak hatlarına ait tohumlar Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Öğretim Üyelerinden Prof.Dr. Hayrettin EKİZ'den temin edilmiştir.

Henüz parlak yeşil ve yumuşak tohumları içeren baklalar tarlada yetiştirilen bitkilerden hasat edilmiştir (Özcan ve ark. 1993, Sancak 1999). Hasat edilen baklalar, içerisinde % 80'lik ticari çamaşır suyu (Axion) bulunan 500 ml'lik steril kavanozlar içerisinde 25 dakika süreyle sterilizasyona tabi tutulduktan sonra 4'er defa 5'er dakika

\* Yüksek Lisans Tezi'nden hazırlanmıştır.

<sup>1</sup> Gazi Üniv. Eğitim Fak. Biyoloji Bölümü-Ankara

<sup>2</sup> Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü-Ankara

<sup>3</sup> Gaziosmanpaşa Üniv. Fen Edb. Fak. Biyoloji Bölümü-Tokat

steril saf su ile durulama işlemi yapılmıştır. Bakladan çıkarılan olgunlaşmamış tohumların kabuğu steril bistüri yardımı ile açılarak olgunlaşmamış embriyolar izole edilmiştir. Daha sonra olgunlaşmamış kotiledonların 2/3 'lük uç kısmı kesilip atılarak 1/3 'lük kısım embriyo ekseninden kopma noktası üste gelecek şekilde %3 şeker, %0.8 agar ve 0.25-1.25 mg/l TDZ içeren rejenerasyon ortamına yerleştirilmiştir. Ayrıca embriyo eksenleri de kotiledonlardan koparıldığı kısımlar ortama temas edecek şekilde aynı ortamlarda kültüre alınmıştır. Daha sonra en iyi rejenerasyon olan 8. hattan elde edilen sürgünler boğumlarının yarım santim alt kısmından kesilerek hızlı çoğaltım için farklı oranlarda BAP (6-benzilaminopurin) ve NAA ( $\alpha$ -naftalenasetik asit) veya TDZ (Thidiazuron) ve NAA ( $\alpha$ -naftalenasetik asit) içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Rejenerasyon olan bu sürgünler 10-20 mm uzunluğa geldiklerinde kesilerek 2 mg/l IBA içeren steril cam kavanozlar içinde köklendirmeye alınmıştır. Burada köklenen sürgünler daha sonra iklim odasında saksılar içerisinde yüksek nemde (% 90) bir süre tutularak yeni bitkicinin hem ortam şartlarına uyum sağlaması, hem de kök sisteminin gelişmesi sağlanmıştır.

Ortam hazırlığında çift distile su kullanılmış olup, besin ortamının pH'sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.8'e ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 120° C'de 20 dakika tutularak sterilizasyon sağlanmıştır. Tüm kültürler beyaz floresan ışığı (35  $\mu$  Em<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) altında 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyodunda 24 °C sıcaklıkta tutulmuşlardır.

Denemeler, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup her muamele, içerisinde 10 adet eksplantın bulunduğu 3 tekerrürlü 100 X 10 mm'lik petri kutularında yapılmıştır. Elde edilen veriler "SPSS for Windows" programı yardımıyla varyans analizine tabi tutulmuş, muamele ortamlarını karşılaştırmak amacıyla MS-TATC bilgisayar programı ve duncan testi kullanılmıştır. Yüzde değerler, istatistik analizinden önce arcsin değerlerine çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran 1967).

## Bulgular ve Tartışma

**Adventif sürgün rejenerasyonu:** Çalışmada TDZ'nin değişik kombinasyonlarının hatlara göre adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi araştırılmıştır. Kültür başlangıcından yaklaşık iki hafta sonra sıkı yapılı morfojenik yeşil kalluslar meydana gelmiştir. Bir ay içerisinde de bu kalluslar üzerinde çok sayıda adventif sürgün uçlarının gelişimi gözlenmiştir (Şekil 1a, b).

**Sürgün oluşturan eksplant oranı:** Yapılan varyans analizi sonucunda hatların, eksplantların, hat x eksplant ve hat x ortam interaksyonun sürgün oluşturan eksplant yüzdesine etkisi istatistiksel olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunurken ortamların, eksplant x ortam ve hat x ortam x eksplant interaksyonu önemsiz bulunmuştur. Çizelge 1 ve Çizelge 2'den de anlaşılacağı üzere farklı TDZ konsantrasyonlarının ve eksplantların hatlara göre sürgün

gelişimine etkisinde farklılıklar gözlenmiştir. Olgunlaşmamış embriyo eksplantında sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en fazla %90 ile 8, 10, ve 11. hatlardan elde edilirken, diğer hatlarla aralarındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Olgunlaşmamış kotiledon eksplantında ise sürgün oluşturan eksplant yüzdesi en fazla %83.9 ile 9 ve 10. hatlardan elde edilmiştir. En düşük sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ise %30 ile 12. hattan elde edilmiştir.

Çizelge 2 incelendiğinde 7. hatta rejenerasyon frekansının %71.4-78.3 arasında değişirken 12 numaralı hatta %55.2-63.4 arasında değiştiği görülmektedir. Bu hatlarda TDZ konsantrasyonları arasında istatistiksel açıdan bir farklılık bulunmamıştır. 8 ve 10. hatlarda en fazla sürgün rejenerasyon frekansı %90 ile 1.25 mg/l TDZ içeren ortamdır, 9. hatta ise %90 ile 0.75 mg/l TDZ içeren ortamdır, 11. hatta ise en yüksek sürgün rejenerasyonu frekansı %90 ile 0.25 mg/L TDZ içeren ortamlardan elde edilmiştir.

**Eksplant başına sürgün sayısı:** Eksplant başına sürgün sayısı incelendiğinde eksplantların, hatların, hat x eksplant, hat x ortam, ortam x eksplant ve hat x ortam x eksplant interaksyonlarının eksplant başına sürgün sayısına etkisi 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Olgunlaşmamış embriyo eksplantında eksplant başına en fazla sürgün sayısı 7. hatta 11.33 adet ile 0.25 mg/l TDZ içeren ortamdır, 8. hatta 21 adet ile 0.75 mg/l TDZ içeren ortamdır, 9, 10, 11, ve 12. hatlarda ise sırasıyla 17 adet, 21.67, 19 ve 22 adet ile 1.25 mg/l TDZ içeren ortamdır elde edilmiştir. Olgunlaşmamış kotiledon eksplantı incelendiğinde ise, eksplant başına en fazla sürgün sayısı 7. ve 10. hatlarda 0.75 mg/l TDZ içeren ortamdır, 8, 9, 11. hatlarda 0.25 mg/l TDZ içeren ortamdır, 12 numaralı hatta ise 1.25 mg/l TDZ içeren ortamdır elde edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 1. Bazı burçak hatlarında olgunlaşmamış kotiledon ve olgunlaşmamış embriyo eksenlerinden adventif sürgün rejenerasyonu

Hatlar	Sürgün oluşturan eksplant yüzdesi (%)		
	Embriyo	Kotiledon	Ortam ort.
7	87.0 *	61.8 b	74.4
8	90.0	78.8 a	84.4
9	87.0	83.9 a	85.5
10	90.0	83.9 a	86.9
11	90.0	78.9 a	84.5
12	87.0	29.8 c	58.4
Hat. ort.	88.5	55.5	--

Aynı sütun içerisinde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında ki fark p<0.05 düzeyinde önemlidir.

\*: Aynı sütun içerisinde farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Çizelge 2. Farklı burçak hatlarında TDZ konsantrasyonlarının sürgün rejenerasyonuna etkisi

TDZ dozları (mg/l)	Sürgün oluşturan eksplant yüzdesi (%)						Ortam Ort.
	HAT 7	HAT 8	HAT 9	HAT 10	HAT 11	HAT 12	
0.25	73.4*	76.6 b	86.9 ab	83.9 ab	90.0 a	56.7*	77.9
0.75	78.3	86.6 a	90.0 a	86.9 a	83.9 ab	55.2	71.8
1.25	71.4	90.0 a	79.4 b	90.0 a	79.4 b	63.4	78.9
Hat. ort.	74.3	84.4	85.4	86.9	84.4	58.4	

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında ki fark  $p < 0.05$  düzeyinde önemlidir.

\*: Aynı sütun içerisinde farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır

Çizelge 3. Bazı burçak hatlarının olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo ekseni eksplantlarında farklı TDZ konsantrasyonlarının adventif sürgün rejenerasyonuna etkisi

TDZ dozları (mg/l)	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)											
	HAT 7		HAT 8		HAT 9		HAT 10		HAT 11		HAT 12	
	Emb.	Kotil.	Emb.	Kotil.	Emb.	Kotil.	Emb.	Kotil.	Emb.	Kotil.	Emb.	Kotil.
0.25	11.33 a	6.67 ab	12.00 b	21.33 a	10.00 b	13.67*	14.00 b	8.33*	14.67*	10.33*	9.00 b	1.67*
0.75	8.00 ab	9.00 a	21.00 a	12.33 b	12.00 b	10.00	8.00 c	9.67	16.33	7.00	21.00 a	1.67
1.25	6.67 b	4.33 b	14.67 b	13.33 b	17.00 a	10.33	21.67 a	9.67	19.00	7.67	22.00 a	4.00

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında ki fark  $p < 0.05$  düzeyinde önemlidir.

\*: Aynı sütun içerisinde farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır

Daha önce bezelye (Özcan ve ark. 1993), korunga (Özcan ve ark. 1996), koca fiğ (Sancak 1999), Macar fiği (Sancak ve ark. 2000) ve yaygın fiğ (Çöçü ve ark. 2003) gibi baklagillerde yapılan çalışmalarda olgunlaşmamış kotiledon ve embriyo ekseni eksplantlarının adventif sürgün rejenerasyonu kapasitelerinin yüksek olduğu ve baklagillerde olgunlaşmamış embriyo eksplantlarının rejenerasyon için iyi bir başlangıç materyali olarak kullanılabilirliği bildirilmiştir. Ayrıca TDZ'nin de *in vitro* kültürde sitokinin kaynağı olarak kullanılan ve sürgün rejenerasyonunu teşvik eden önemli bir büyümeyi düzenleyici olduğu ve TDZ oranının uygun bir biçimde ayarlanması ile sürgün rejenerasyonunun 8-10 kat artabileceği değişik araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Thomas ve Katterman 1986, Böhmer ve ark. 1995, Hasokawa ve ark. 1996). Bu çalışmada kullanılan TDZ konsantrasyonları hatlara göre değişmekle birlikte hem kotiledon hem de embriyo eksenlerinden olan sürgün rejenerasyonunu önemli ölçüde artırmıştır. Yine, Natali ve Cavallini (1987), bezelyede yaptıkları çalışmada sürgün rejenerasyonunu en fazla etkileyen faktörün eksplant tipi, genotip ve ortamda bulunan büyümeyi düzenleyiciler olduğunu belirtmişlerdir.

**Hızlı çoğaltım:** *In vitro* teknikleri birçok bitki türünde hızlı çoğaltıma imkan sağlamaktadır. Hızlı çoğaltım tekniği ile istenen sağlıklı genotipler kısa sürede fazla miktarda üretilmektedir. *In vitro*'da kallustan rejenerasyonda somaklonal varyasyon söz konusu olduğu için pratikte bitki

çoğaltımında apikal meristemler ve yan tomurcuklar kullanılmaktadır (George ve Sherrington 1984, Lindsey ve Jones 1989). Hızlı çoğaltım teknikleri değerli süs bitkilerinin üretiminde ve ticarete konu olan bitkilerin genetik safiyetinin korunmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Chu 1992, Huettman ve Preece 1993, Mantell ve ark. 1985, Pierik 1987). Hızlı çoğaltım çalışması 8. hatta yapılmıştır. Rejenere olan sürgünler boğumlarının yarım santim alt kısmından kesilerek hızlı çoğaltım için farklı oranlarda BAP-NAA ve TDZ-NAA içeren ortamda kültüre alınmıştır (Şekil 1c). Elde edilen sonuçlar Çizelge 4'te verilmiştir.

En yüksek sürgün oluşturan eksplant yüzdesi 2 mg/l BAP ve 0,1 mg/l NAA ile 2 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edilirken, eksplant başına en fazla sürgün adedi 4 mg/l BAP ve 0,2 mg/l NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Özgen ve ark. (1997), yoncada yaptıkları çalışmada en fazla sürgünü BAP ve NAA; Sancak (1999), korungada yaptığı çalışmada ise en fazla sürgünü BAP ve IBA içeren ortamlardan elde etmişlerdir.

Gelişen sürgünler 2 mg/l IBA içeren ortamda köklendirilerek saksılara aktarılmıştır (Erdoğan ve ark. 2004). Burada köklenen sürgünler daha sonra iklim odasında saksılar içerisinde yüksek nemde (% 90) bir süre tutularak yeni bitkicinin hem ortam şartlarına uyum sağlaması, hem de kök sisteminin gelişmesi sağlanmıştır (Şekil 1d).

Çizelge 4. Farklı Büyüme düzenleyici ve konsantrasyonlarının 8 numaralı hatta sürgün rejenerasyonuna etkisi

Büyüme düzenleyiciler (mg/l)			Sürgün oluşturan eksplant oranı (%)		Eksplant başına sürgün sayısı (adet)	
BAP	TDZ	NAA				
1	--	0.1	93.3	ab*	5.66	abc
1	--	0.2	93.3	ab	5.33	abcd
2	--	0.1	100.0	a	4.66	bcde
2	--	0.2	100.0	a	7.33	a
4	--	0.1	66.6	bc	2.00	f
4	--	0.2	93.3	ab	6.33	ab
--	0.50	0.1	73.3	abc	2.00	f
--	0.50	0.2	80.0	ab	3.00	def
--	0.75	0.1	66.6	abc	1.33	f
--	0.75	0.2	33.3	c	1.66	f
--	1	0.1	80.0	ab	5.00	abcd
--	1	0.2	86.6	ab	2.33	ef
--	1.25	0.1	66.6	bc	3.33	cdef
--	1.25	0.2	73.3	abc	4.00	bcdef

\*: Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasında ki fark  $p < 0.05$  düzeyinde önemlidir.



Şekil 1: Burçakta olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından kallus oluşumu, adventif sürgün rejenerasyonu ve hızlı çoğaltım. (a, b) kültür başlangıcından 5 hafta sonra olgunlaşmamış kotiledon olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu (bar=15mm; 9mm), c) *In vitro* elde edilen sürgünlerin hızlı çoğaltımı (bar=12mm) d) köklenme (bar=8mm)

### Teşekkür

Bu çalışma 98K120640 kodlu DPT Tarımsal Biyoteknoloji AR-GE Merkezi Projesi tarafından desteklenmiştir.

### Kaynaklar

- Böhmer, P., B. Meyer and H. J. Jacobsen, 1995. Thidiazuron – induced high frequency of shoot induction and plant regeneration in protoplast derived pea callus, *Plant Cell Rep.* 15: 26-29.
- Chu, I. Y. E. 1992. Perspectives of micropropagation industry. *Transplant Production System*, Kurata, K. and Kozai, T. (eds.), Kluwer Academic, Amsterdam, 137-150.
- Çöçü, S., S. Uranbey ve C. Sancak, 2003. Bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi* 9 (4): 445-449.
- Ekiz, H., 1988. Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Willd.) hatlarında bazı tarımsal özelliklerin karşılaştırılması, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü çalışmalarından*, Ankara, s. 2-4.
- Erdoğan, Y., S. Çöçü, İ. Parmaksız, C. Sancak ve O. Arslan, 2004. Bazı burçak (*Vicia Ervilia* (L.) Wild.) kotiledon boğum eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi* 10 (2): 206-210.
- George, E. F., P. D. Sherrington, 1984. *Plant Propagation y Tissue Culture*. Basingtoke, Exegetics Ltd., Westbury.
- Hasokawa, K., M. Nokano, Y. Oikawa and S. Yamamura, 1996. Adventitious shoot regeneration from leaf, stem and root explant of commercial cultivars of *Gentiana*, *Plant Cell Rep.*, 15: 578-581.
- Huetteman, C. A., J. E. Preece, 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 33: 105-119.
- Lindsey, K., G. K. Jones, 1989. *Plant Biotechnology in Agriculture*. Chapter 5, Consequences of Tissue Culture-Variability and Instability, Open University Press, 94-127.
- Mantel, S. H., J. A. Matthews and R. A. McKee, 1985. *Principle of Plant Biotechnology*. Blacwell Scientific Pub., Boston, 130-157.
- Natali, L., A. Cavallini, 1987. Regeneration of pea (*Pisum sativum* L.) plantlets by *in vitro* culture of immature embryos, *Plant Breed.*, 99: 172-176.
- Özcan, S., S. Firek and J. Draper, 1993. Selectable marker genes engeneered for specific expression in target cells for plant transformation, *Biotecnology*, 11: 218-221.
- Özcan, S., C. S. Sevimay, M. Yıldız, C. Sancak and M. Özgen, 1996. Prolific shoot regeneration from immature embriyo eksplant of sainfoin, *Plant Cell Rep.*, 16: 200-203.
- Özgen, M., S. Altınok, S. Özcan, C. S. Sevimay and S. Cafer, 1997. *In vitro* micropropagation of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars, *Tr. J. of Botany*, 21 (1997), 275-278
- Pierik, R. L. M. 1987, *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff, Dordrecht, 139-154 and 183-230.
- Pierik, R. L. M. 1987. *In Vitro Culture of Higher Plants*. Martinus Nijhoff, Dordrecht, 183-230
- Sancak, C. 1999. Koca fiğ (*Vicia narbonensis* L.)'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu, *G.Ü.Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 19 (2): 25-33.
- Sancak, C., S. Mirici and S. Özcan, 2000. High frequency shoot regeneration from immatüre embriyo eXplants of Hungarian vetch, *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 61: 231-235.
- Serin, Y., M. Tan and H. B. Çelebi, 1997. Erzurum yöresine uygun burçak (*Vicia ervilia* (L.) Willd.) hatlarının belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi* 6 (2): 13-22.
- Snedecor, G. W. W. G. Cochran, 1967. *Statistical Methods*, The Iowa State University Press, Iowa, USA.
- Thomas, J. C., F. R. Katterman, 1986. Cytokinin activity indused by thidiazuron, *Plant Physiol*, 81: 681-683.

### İletişim adresi:

Satı ÇÖÇÜ  
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi  
Tarla Bitkileri Bölümü-Ankara  
Tel: 0 (312) 317 05 50 / 1285