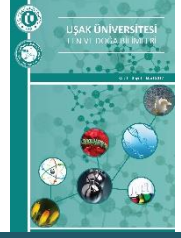




**Uşak Üniversitesi Fen ve Doğa
Bilimleri Dergisi**
Usak University Journal of Science and Natural Sciences

http://dergipark.gov.tr/usufedbid
DOI: 10.47137/usufedbid.1153202



Araştırma makalesi

**Kıyı Pancarı (*Beta vulgaris* subsp. *maritima* (L.) Arcang) Türünün
In-vitro Şartlarda Mikro Çoğaltımı**

Mehmet Kolçak¹, Ercüment Osman Sarıhan^{2*}

¹Şeker Enstitüsü Müdürlüğü, 06930 Etimesgut, Ankara, Türkiye

² Tarla Bitkileri Bölümü, Ziraat Fakültesi, Uşak Üniversitesi, Uşak, Türkiye

Geliş: 02 Ağustos 2022

Kabul: 10 Ağustos 2022 / Received: 02 August 2022

Accepted: 10 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* subsp. *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) (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/L) 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, measurements were made in characters such as callus formation rate (%), shoot formation rate (%), rooting rate (%), number of shoots per explant (number), number of roots (number) and longest root length (mm). According to the results, the best shoot formation rate (100%) was obtained from the nodal explants. The same results were obtained in all applications of this explant. 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* subsp. *maritima*, *in-vitro*, explant, plant growth regulators.

Özet

Bu çalışmada kıyı pancarı (*Beta vulgaris* subsp. *maritima* (L.) Arcang) bitkisinin *in-vitro* koşullarda farklı eksplantlarının değişik bitki büyüme düzenleyicisi (Kinetin ve Indol-3-bütirik asit) kombinasyonlarında rejenerasyon yeteneklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kinetin (KIN) (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/L) ve Indol-3-bütirik asit (IBA)'ın farklı dozları (0, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/L) ile hazırlanan besi ortamlarında hipokotil, boğum ve kotiledon eksplantlarının rejenerasyon yetenekleri belirlenmiştir. Çalışmada kallus oluşturma oranı (%), sürgün oluşturma oranı (%), köklenme oranı (%), eksplant başına sürgün sayısı (adet), kök sayısı (adet) ve en uzun kök uzunluğu (mm) gibi karakterlerde ölçümler yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre 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 kullanılabilir bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonu olduğu belirlenmiştir. Bu bitki türünün hızlı çoğaltılmasında boğum eksplantının çok uygun bir şekilde bitkinin hızlı çoğaltılmasında kullanılabilirliği tespit edilmiştir.

*Corresponding author:

E-mail: ercument.sarihan@usak.edu.tr (ORCID ID: 0000-0002-5892-1561)

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

©2022 Usak University all rights reserved.

1. Giriş

Şeker, kimyasal ismiyle sakaroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$), temel gıda ihtiyacının karşılanmasında ana besin maddelerinin başında gelmektedir. Tarımsal faaliyetler neticesinde başta şeker kamışı (*Saccharum officinarum* L.) ve şeker pancarı (*Beta vulgaris* var. *saccharifera* L.) olmak üzere, hurma ağacı (*Phoenix dactylifera* L.), şeker sorgumu (*Sorghum bicolor* L. Moench) ve akçaağaç (*Acer* ssp.) gibi bitkilerden şeker elde edilebilmektedir. Şeker kamışında % 11-16 arasında, şeker pancarında ise % 14-24 arasında şeker bulunabilmektedir [1]. Dünya’da şeker üretiminin %79’u şeker kamışından; % 21’i ise şeker pancarından elde edilmektedir [2]. Türkiye’nin iç ve geçit bölgelerinde şeker üretimi için şeker pancarı tarımı yapılmaktadır. 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; Rusya, Fransa, Almanya ve ABD ‘nin ardından 5’inci sırada yer almaktadır. Türkiye’de, kişi başına şeker tüketimi ortalaması yıllık 30,5 kg’dır. Türkiye’de 2019/2020 dönemi itibariyle, yaklaşık olarak 3,4 milyon dekar alanda, 18 milyon ton şeker pancarı üretimi yapılmaktadır [2,3] Dünya’da kültür pancarının ilk defa ön Asya’da ortaya çıktığı görüşü ilk olarak Zosimovic tarafından ortaya atılmıştır. 1747 yılında Alman kimyacı Marggraf yaptığı kimyasal analizlerle pancarlarda şeker varlığını tespit etmiştir. Bu şekerin de fiziksel ve kimyasal bakımdan kamış şekeri ile aynı olduğunu belirtmiştir. Böylece Marggraf şekerin sadece tropik iklim bitkilerinde bulunabileceği düşüncesini yıkarak; şeker pancarı tarımının da ilk temellerini atmıştır [4]. Bugünkü şeker pancarının anası kabul edilen konik şekilde kök veren, beyaz et renkli, Beyaz Silezya pancarı; şeker pancarının yabancı atalarından geliştirmiş ve ıslah edilmiştir [5,6]. Günümüzde ıslah programlarında “*Beta*” cinsine ait yabancı pancarlar çeşitli hastalıklara dayanıklılık başta olmak üzere birçok biotik ve abiotik (kurak ve tuzlu koşullara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde hali hazırda kullanılmaktadır [6].

Kültür pancarının atası olarak, *Beta vulgaris* subsp. *maritima* (L.) Arcang (Kıyı pancarı) kabul edilmektedir. Kıyı pancarı hastalıklar ve zararlılara karşı genetik dirençleri geliştirmek için ıslah çalışmalarında başarıyla kullanılmıştır [7]. 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. Varyetelerin tamamı şeker içermektedir. 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 pancarı); *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *lutea* Lam. & DC. (Sarı salatalık pancarı) gibi türler vardır. Yabancı türler, pancar ıslah çalışmalarında verim ve kalite özelliklerinin iyileştirilmesi için yapılan sürekli seleksiyon nedeniyle azalan genetik çeşitliliği artırmada önemli bir kaynaktırlar [7]. Yani klasik pancar ıslahında yabancı gen kaynakları çok önemlidir ve de mutlaka korunmalıdır. Şeker pancarı; *Beta* cinsinin, *Beta* (vulgares) seksiyonunda yer alan, *Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* alt türü içerisinde yer alır. Bu seksiyonda ayrıca; *B. vulgaris* subsp. *maritima*; *B. vulgaris* subsp. *adanensis*, *Beta macrocarpa* ve *Beta patula* türleri yer almaktadır [8].

Türkiye’de 10 adet pancar taksonu bulunmaktadır [9]. *Beta* türlerindeki biyolojik çeşitliliğin çok zengin olması, pancar ıslahında kullanılacak materyal açısından bu türlerin değerini artırmaktadır. Şeker pancarında; *Rhizomania* çok önemli bir kök hastalığıdır. *Polymyxa betae* Keskin mantarının sporları ile şeker pancarına bulaşan bir virüs hastalığıdır. Bu hastalık bulaştığı tarlada kök verimini %30-95 azaltmaktadır. Pancar tarımını ekonomik olmaktan çıkartarak, üretiminin terk edilmesine bile sebep olmaktadır [10]. Bu güne kadar *Rhizomania*’ya ya *Beta maritima*’dan sağlanan 5 dayanıklılık kaynağı bulunmuştur [7]. 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, yaprak sapları, kökler, çiçek sapları, anterler, embriyolar ve tohumlar dâhil olmak üzere şeker pancarı (*B. vulgaris*) bitkisinin çeşitli eksplantlarından kolayca kallus elde edilebilmektedir. Kalluslardan adventif sürgün oluşumu veya köklenmenin oluşturulabildiği diğer bazı araştırmacılar [11-15] tarafından bildirilmiştir. Genotipik varyasyon, kallus üretimi ve sonrasında organ oluşumu açısından da önemlidir, bazı genotipler organogenesise diğerlerinden daha yatkındır. Ayrıca bu oluşuma genç dokular, olgun dokulardan daha da duyarlıdır [13-15]. Doku kültürü ortamlarında; ortamın bitki büyüme düzenleyicisi içeriği, morfogenetik yolun belirlenmesinde çok önemlidir. Bir sitokin (genelde BAP) ve bir oksin (çoğunlukla IAA, NAA veya 2-4 D) grubun da yer alan bitki büyüme düzenleyicilerinin ilave edildiği ortamlarda kallus oluşabilmektedir [15]. Sonrasında sürgün oluşumunu teşvik için daha düşük seviyelerde bir oksin veya sitokin bulunan ortamlara aktarılması gerekmektedir [15]. 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; yapılan bazı çalışmalarında genç bitkiciklerden alınan eksplantlardan elde edilen kalluslardan yalnızca bir adet sürgün elde edilebilmişlerdir [16,17]. Yapılan bir diğer çalışma da ise yabancı pancar *Beta maritima* bitkisinin çiçek eksplantları ile *in vitro* koşullarda çoğaltma yapılmıştır [18]. MS ortamına 1.0 mg/l BAP ilavesinin yapıldığı çalışmada, çiçek sürgünlerinden, diğer alt eksplantlardan alınan eksplantlara göre çok daha iyi bir adventif sürgün elde edilmiştir. Buna ek olarak, oksin ilavesinin faydalı olmadığı, %3 sukroz içeren bir MS ortamı kullanılarak 1.0 mg/L NAA uygulanmasıyla sürgünlerde köklenmenin de sağlanabildiği belirlenmiştir [18]. Türkiye’de şeker pancarı ıslahında; bitki doku kültürü çalışmalarıyla genetik materyalin klonla [19-27], hücre kültürüyle [28], kallus kültürüyle [15], ovül kültürüyle [21,29] ve protoplast kültürüyle [30], çoğaltılmasına yönelik bir takım çalışmalar yürütülmüştür.

Bitki doku kültürü çalışmalarıyla; aynı genetik yapıya sahip birçok birey; hızlı ve sağlıklı olarak çoğaltılabilmektedir [15,19-37]. Ancak, ıslah programına dâhil edilen önemli kültür bitkilerine yakın akraba doğal türlerinin bitki doku kültürü teknikleriyle çoğaltılmasına yönelik en uygun koşulların belirlenmesi ve tespiti için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Şekerpancarı 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, 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. Bu çalışma ile şeker pancarı ıslahında şeker pancarın atası olarak nitelendirilen *B. vulgaris* subsp. *maritima* (L.) Arcang. türünün doku

kültürü çalışmalarıyla hızlı çoğaltma olanakları belirlenmeye çalışılmıştır. Türkiye’de doğal olarak yetişen *B. vulgaris* subsp. *maritima* (L.) Arcang. türünden alınmış tohumlardan elde edilen eksplantlar ile bu bitki türünün hızlı çoğaltılmasına yönelik esaslar belirlenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışma, 2019-20 yıllarında Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. (TŞFAŞ) Şeker Enstitüsü; araştırma ve uygulama laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmada, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Ulusal Gen Bankasından ve Şeker Enstitüsünden temin edilen *Beta vulgaris* subsp. *maritima* (L.) Arcang. tohumları materyal olarak kullanılmıştır. Tohumlar steril edildikten sonra MS besi ortamında çimlendirilmiş; geliştirilen 22 günlük bitki fidelerinden; hipokotil, boğum ve kotiledon eksplantları alınarak deneme de kullanılmışlardır.

2.1. Besin Ortamının Hazırlanması

Denemede MS [38] ile %3 sukroz içeren ve 3,6 Gellek Gum ile katılaştırılan besin ortamı kullanılmıştır. Ortam hazırlığında distile su kullanılmıştır. Besin ortamının pH’sı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5,8’e ayarlandıktan sonra 1,2 atm basınç altında ve 121 °C de 15 dakika da sterilizasyon sağlanmıştır. Kültürler 16 saat ışık ve 8 saat karanlık koşullarında fotoperiyotta tutulmuştur. Hazırlanan besin ortamlarına Kinetin ve İndol-3- bütirik asit bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı dozları (0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/L) Kinetin (KIN) ve (0, 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/L) İndol-3-Bütirik Asit (IBA) ilave edilmiştir.

2.2. In-vitro Çalışmalar

2.2.1. Tohumların Yüzey Sterilizasyonu

Beta vulgaris subsp. *maritima* (L.) Arcang tohumları 3-4 kez saf su ile yıkanmış ve %50 lik etil alkol içerisinde 5 dakika bekletilmiştir. Sonrasında %5 NaOCl çamaşır suyu içerisinde 1-2 damla twin 20 ilavesi yapılarak 7-8 dakika karıştırılmıştır. Tohumların 1 saat süreyle sterilizasyonu yapılmıştır. Ardından 4 kez 4'er dakika süreyle tohumlar steril saf su ile durulanmıştır. Tohumların ekimleri MS besi ortamı dökülmüş 200 cc'lik kavanozlara 5 adet tohum olacak şekilde ekilmişlerdir. Tohumlar, İklim odasında 24 °C’de çimlendirilmiştir. 22 gün süreyle bu ortamda bekletilerek fide oluşturmaları sağlanmıştır.

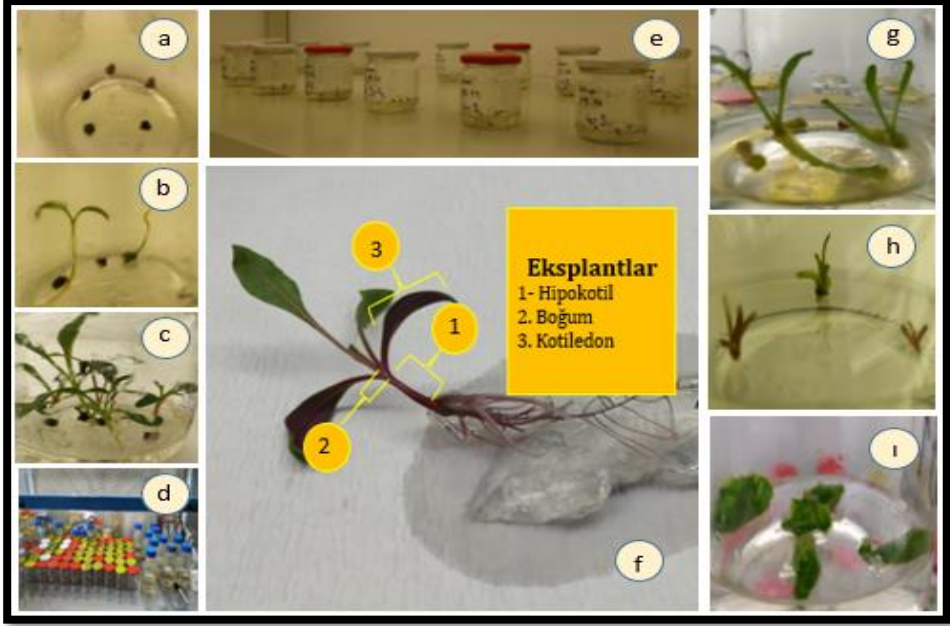
Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Çalışmada; çimlendirilen tohumlardan gelişen fidelerden hazırlanan eksplantlar, farklı dozlarda bitki büyüme düzenleyicilerinin ilave edildiği 25 farklı MS besin ortamına, 3 tekrarlamalı olarak, her uygulamada 5'er adet eksplant olacak şekilde yerleştirilmişlerdir. Eksplantların kallus oluşturma oranı (%), sürgün oluşturma oranı (%), eksplant başına sürgün sayısı (adet), eksplant başına kök sayısı (adet), köklenme oranı (%), en uzun kök uzunluğu (mm) ölçülmüştür.

2.2.2. Rejenere Olan Sürgünlerin Köklendirilmesi

Tüm uygulamalarda rejenere olan kök oluşturmamış sürgünler 10-20 mm uzunluğa ulaştığında; 400 cc'lik cam kavanozlarda 1,0 mg/L IBA içeren besi ortamlarında köklendirmeye alınmışlardır.

2.3. Bitkilerin Dış Ortama Aktarılması

Rejenere olan ve köklenen bitki fideleri bu ortamda bir süre daha gelişmelerini sürdürmeleri için tutulduktan sonra, ilk önce saksılar içerisindeki; toprak ortama alınmışlardır. Saksıdaki bu bitkilerin; iklim odasında üzerlerine şeffaf naylon poşet geçirilerek yüksek nemli ortamda toprağa alışmaları sağlanmıştır. Hazırlanan fidelerin üzerindeki naylon poşetler köşelerinden kesilerek oda ortamına uyumları sağlamıştır. Bir süre sonra ise bu poşetler çıkartılmış ve TŞFAŞ Şeker Enstitüsünün Bitki İslah Şubesi seralarına bu bitkilerin dikimleri gerçekleştirilerek dış ortama tamamen alışmaları sağlanmıştır.



Şekil 1. a,b,c,d,e) Kıyı pancrı *B. vulgaris* subsp. *maritima* tohumlarının *in-vitro* ortamda çimlendirilmesi ve eksplant elde edilen bitki fidelerinin geliştirilmesi. f) *in-vitro* 'da gelişen bitkilerden alınan eksplantlar, g) hipokotil, h) boğum, i) kotiledon eksplantların, *in vitro* ortama aktarılması

2.4. İstatistiksel Analizler

Denemede ölçülen karakterlere ilişkin varyans analizleri SPSS paket programında yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklar ise Duncan testi ile belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

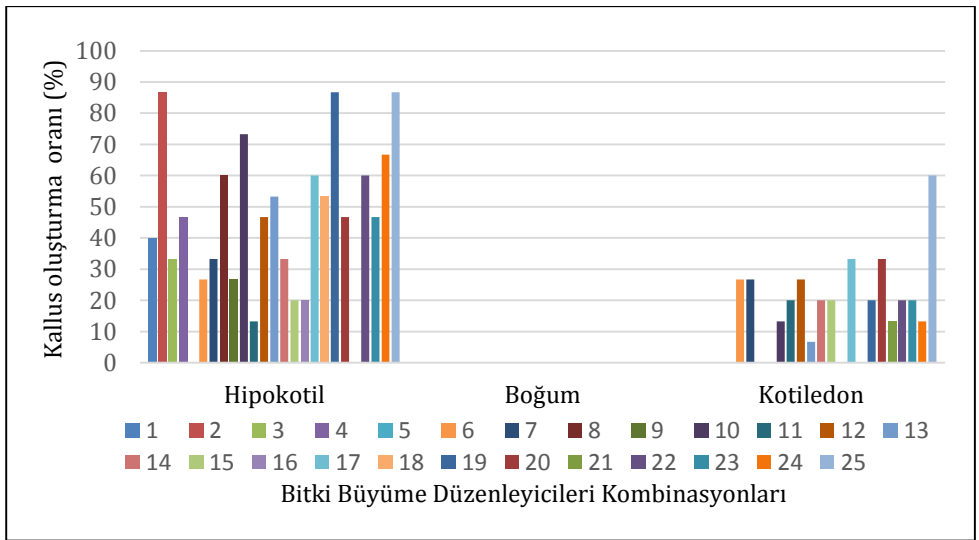
3.1. Hipokotil Eksplantı Rejenerasyonu

Hipokotil eksplantlarının yerleştirildiği 25 farklı kinetin (KIN) ve indol-3-bütirik asit (IBA) dozlarından oluşan besi ortamlarında görülen rejenerasyon durumu ve ölçümü yapılan karakterler ile bu karakterler ait ortalama değerler ve farkları Tablo'1 de sunulmuştur.

Genel anlamda bir değerlendirme yapıldığında; hipokotil eksplantlarında kallus oluşumu gözlenirken, iki uygulama hariç diğer tüm uygulamalarda hiçbir sürgün oluşumu görülmemiştir. Ancak kallus oluşturan eksplantlarda bazı KIN+IBA uygulamalarında köklenme tespit edilmiştir. Bu eksplanttan rejenere olan ve ölçümü yapılan karakterlere ilişkin değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

3.1.1. Hipokotil Eksplantı Kallus Oluşturma Oranı (%)

Bu çalışmada kullanılan hipokotil eksplantlarında; kallus oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Buna göre en yüksek kallus oluşturma oranı 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 (%86,7) elde edilmiştir. En düşük ise 0 mg/L KIN + 2.0 mg/L IBA ve 2.0 mg/L KIN + 0 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan (% 0) elde edilmiştir (Tablo 1) (Şekil 2).



Şekil 2. Farklı eksplantların kallus oluşturma durumları

3.1.2. Hipokotil Eksplantı Sürgün Oluşturma Oranı (%)

Hipokotil eksplantlarında; sürgün oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar ise istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur. Buna göre sürgün oluşturma oranı (% 0-6,67) arasında değişmiştir (Tablo 1).

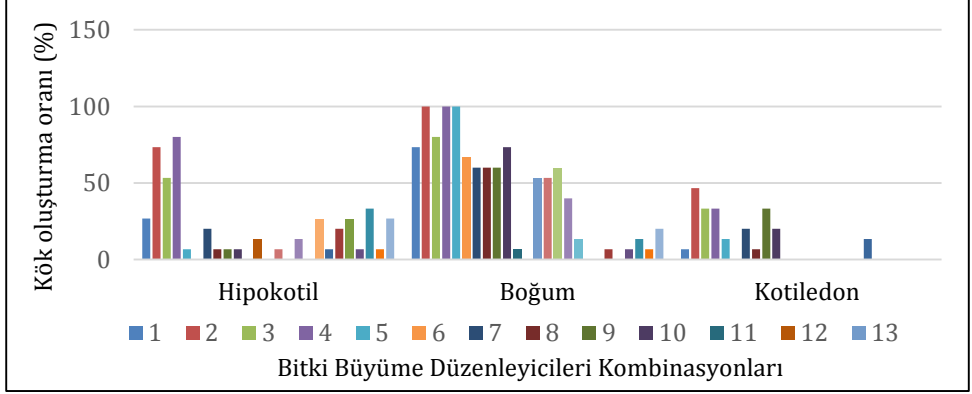
3.1.3. Hipokotil Eksplantı Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemsizdir. Eksplant başına sürgün sayısı (0-0,47 adet /eksplant) arasında değişmiştir (Tablo 1).

3.1.4. Hipokotil Eksplantı Kök Oluşturma Oranı (%)

Hipokotil eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemlidir. Buna göre en yüksek kök oluşturma

oranı 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan (%80) elde edilmiştir. En düşük ise % 0 olarak elde edilmiştir (Tablo 1) (Şekil 3).



Şekil 3. Farklı eksplantların kök oluşturma durumları

3.1.5. Hipokotil Eksplantında Eksplant Başına Kök Sayısı (adet/eksplant)

Hipokotil eksplantlarında; eksplant başına kök sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemlidir. En yüksek kök sayısı 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L dozlarının uygulandığı ortamlardan (4 adet/eksplant) elde edilmiştir. En düşük ise 0 adet/eksplant olarak; 5 farklı uygulamadan (0,5 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA; 1,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA; 1,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA; 1,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA ve 1,5 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA) elde edilmiştir (Tablo 1).

3.1.6. Hipokotil Eksplantı En Uzun Kök Uzunluğu (mm)

Hipokotil eksplantlarında en uzun kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. En uzun kök uzunluğu 30,57 mm ile 0 mg/L KIN + 1.0 mg/L IBA dozunun uygulandığı ortamlardan elde edilirken; bu uygulama, istatistiki olarak 28,60mm uzunluk elde edilen 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L IBA dozuyla aynı grupta yer almıştır. En düşük ise hiç kök oluşturmayan uygulamalardan (0 mm) elde edilmiştir (Tablo 1).

Şekil 2. incelendiğinde kallus oluşumunun tüm eksplantlarda farklı oranlarda da olsa görüldüğü anlaşılmaktadır. Ancak hipokotil eksplantı hariç diğer eksplantlarda; bir sitokinin olan kinetin (KIN) uygulamasının olmadığı ilk grup hormon kombinasyonlarında (1,2,3,4 ve 5 nolu uygulamalarda) kallus gelişiminin olmadığı görülmektedir (Tablo 1). Bu durum boğum, kotiledon, gibi eksplantlarında, kinetin oranlarının 0 mg/L olduğu uygulamalarda da tespit edilmiştir.

Tablo 1. Hipokotil eksplantlarının rejenerasyon durumları ve ölçümü yapılan karakterlere ait ortalama değerler ve duncan grupları

No	Bitki Gelişme Düzenleyicileri (BGD) Uygulamaları, (kombinasyonları)	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Eksp. Başına Sürgün Sayısı (adet)	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	40,0 efg	0,0	0,0	26,7 cd	1,33 bc	26,50 ab
2	0,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	86,7 a	0,0	0,0	73,3 a	3,67 a	23,97 abc
3	0,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	33,3 fgh	0,0	0,0	53,3 b	2,67 ab	30,57 a
4	0,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	46,7 def	0,0	0,0	80,0 a	4,00 a	28,60 a
5	0,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	0,0 j	0,0	0,0	6,7 ef	0,33 c	2,00 cd
6	0,5 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	26,7 ghi	0,0	0,0	0,0 f	0,0 c	0,0 d
7	0,5 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	33,3 fgh	0,0	0,0	20,0 cde	1,00 bc	16,83 abcd
8	0,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	60,0 bcd	0,0	0,0	6,7 ef	0,33c	1,3 d
9	0,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	26,7 ghi	0,0	0,0	6,7 ef	0,33 c	0,6 d
10	0,5 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	73,3 ab	0,0	0,0	6,7 ef	0,33 c	12,93 abcd
11	1,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	13,3 ij	0,0	0,0	0,0 f	0,0 c	0,0 d
12	1,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	46,7 def	0,0	0,0	13,3 def	0,67 bc	12,83 bc
13	1,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	53,3 cde	0,0	0,0	0,0 f	0,0 c	0,0 d
14	1,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	33,3 fgh	0,0	0,0	6,7 ef	0,33 c	2,67 cd
15	1,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	20,0 hi	0,0	0,0	0,0 f	0,0 c	0,0 d
16	1,5 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	20,0 hi	0,0	0,0	13,3 def	0,67 bc	4,23 bcd
17	1,5 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	60,0 bcd	0,0	0,0	0,0 f	0,0 c	0,0 d
18	1,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	53,3 cde	6,67	0,13	26,7 cd	1,33 bc	16,17 abcd
19	1,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	86,7 a	0,0	0,0	6,7 ef	0,33 c	1,23 d
20	1,5 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	46,7 def	0,0	0,0	20,0 cde	1,00 bc	21,2 abcd
21	2,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	0,0 j	0,0	0,0	26,7 cd	0,33 c	21,1 abcd
22	2,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	60,0 bcd	6,67	0,47	6,7 ef	0,33 c	0,67 d
23	2,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	46,7 def	0,0	0,0	33,3 c	1,67 bc	22,6 abcd
24	2,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	66,7 bc	0,0	0,0	6,7 e	0,33 c	0,57 d
25	2,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	86,7 a	0,0	0,0	26,7 cd	1,33 bc	21,1 abcd

**: 0.01 seviyesinde önemli; ÖD: önemli değil

Bir ortamda oksin grubu hormonların, sitokin 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 [20]. KWSTR-239 isimli bir şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) çeşidiyle yapılan bir çalışmada ise hipokotil eksplantlarının değişik sitokin 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 [39].

Gürel ve ark. (2001), *in vitro* koşullarda yaptıkları bir çalışmada; şeker pancarı (*Beta vulgaris*) hatlarından yetiştirdikleri bitkilerin fidelerinden hipokotil, kotiledon, yaprak sapı ve yaprak eksplantları olarak bu eksplantların rejenerasyon durumlarını incelemişlerdir [15]. 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 [15]. 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, yaprak sapı ve yaprak eksplantlarına göre daha fazla kallus oluşturduğunu belirlemişlerdir [15]. Taghipour ve ark. (2013), 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. 1C 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 sitokin olduğu; NAA'nın ise hem IAA'den, hem de 2-4 D'den daha etkili bir oksin olduğu tespit edilmiştir [40]. Yu (1989) ise *Vulgares* ve *Corollinae* seksiyonundaki türlerin *Nanae* ve *Patellares*'deki türlere göre daha büyük kallus kütlesi oluşturduklarını belirlemiştir [31].

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 2). 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), yaptıkları çalışmalarında, ön çalışmalarda en iyi sonuçları aldıkları hipokotil eksplantı ile çalışmalarını sürdürmüş ve neticelendirmişlerdir [39].

3.2. Boğum Eksplantı Rejenerasyonu

Boğum eksplantlarının yerleştirildiği besi ortamlarında görülen rejenerasyon durumları ve ölçümü yapılan karakterlerin ortalama değerleri ve farkları Tablo'2 de sunulmuştur. Boğum eksplantlarında hiçbir şekilde kallus oluşumu gözlenmemiştir (Şekil 2). Ancak tüm ortamlardaki eksplantların tamamı sürgün oluşturmuştur. Ölçümü yapılan karakterler ve buna ilişkin değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

3.2.1. Boğum Eksplantı Kallus Oluşturma Oranı (%)

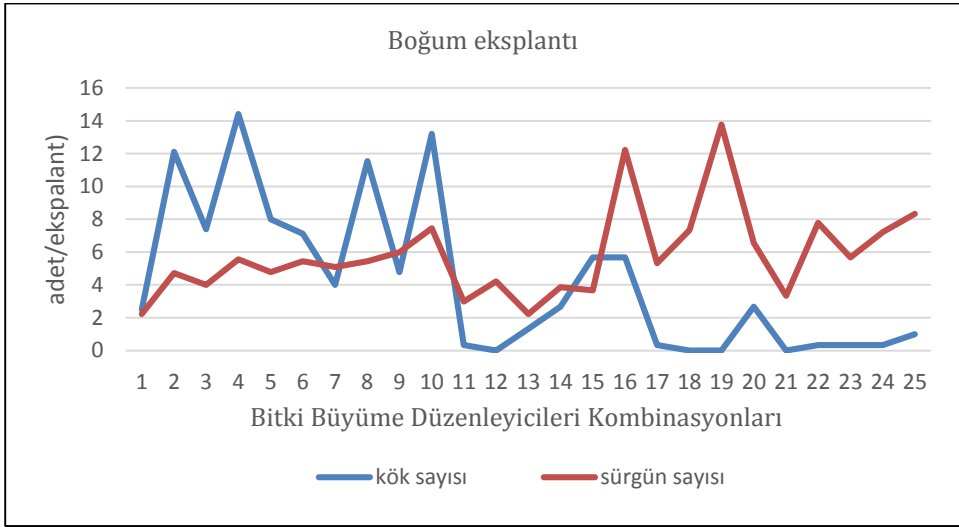
Bu çalışmada kullanılan boğum eksplantlarında; tüm ortamlarda hiçbir kallus oluşumu görülmemiştir (Tablo 2). İncelenen bu özellik açısından ortamlar arasındaki farklar istatistiki olarak önemsizdir.

3.2.2. 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 (Tablo 2).

3.2.3. Boğum Eksplantı Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar ise istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Buna göre boğum eksplantlarında; eksplant başına sürgün sayısı (2,22-13,77 adet/eksplant) arasında değişmiştir (Tablo 2)(Şekil 4).



Şekil 4. Boğum eksplantında farklı hormon kombinasyonlarında kök sayısı ve sürgün sayısında görülen değişimler

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 sitokinin grubu hormonlar ve bunların miktarlarına bağlı olarak kontrol edilebilmektedir. Genellikle adventif sürgünlerin oluşmasında; besi ortamlarına eklenecek olan oksin grubu hormonların yanında, daha yüksek dozda sitokinin grubu hormonların eklenmesi daha etkili olmaktadır [41].

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

3.2.4. Boğum Eksplantı Kök Oluşturma Oranı (%)

Boğum eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Buna göre en yüksek kök oluşturma oranı (%100 olarak); 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L; 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L ve 0 mg/L KIN + 2,0 mg/L; dozlarının uygulandığı ortamlardan elde edilmiştir. En düşük ise (%0) olarak 1,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA; 1,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA; 1,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA ve 2,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA uygulamalarından elde edilmiştir (Tablo 2) (Şekil 5).



Şekil 5. Farklı eksplantlarda gözlenen kök oluşumları

3.2.5. Boğum Eksplantında Eksplant Başına Kök Sayısı (adet/eksplant)

Boğum eksplantlarında, eksplant başına ortalama kök sayısı değerleri arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemlidir. En yüksek kök sayısı 0 mg/L KIN + 1.5 mg/L uygulamasından (14,42 adet/eksplant) elde edilmiştir. En düşük ise 0 adet/eksplant olarak 4 farklı uygulamadan (1,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA; 1,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA; 1,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA; 2,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA) elde edilmiştir (Tablo 2) (Şekil 4).

3.2.6. Boğum Eksplantı En Uzun Kök Uzunluğu (mm)

Boğum eksplantlarında, en uzun kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Buna göre en uzun kök uzunluğu 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 (Tablo 2).

Hagege ve ark (1991), *Beta vulgaris* L. ile *in vitro* şartlarda yapılan çalışmalarda; besi ortamlarına ilave edilen oksin ve sitokin grubu hormonların kritik ve özel bir öneme sahip maddeler olduğunu belirtmişlerdir [42].

Yapılan bir başka çalışmada; *Beta vulgaris* L. KWSTR-239 (şeker pancarı) kültür çeşidine ait tohumlarının *in-vitro* şartlarda çimlendirilmesi sonucu elde edilen hipokotil eksplantlarının farklı oksin ve sitokin kombinasyonlarını içeren MS besi ortamlarında adventif tomurcuk verimi ve sürgün rejenerasyon etme imkânı araştırılmıştır. 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 sitokinin kombinasyonlarını 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 [39].

Tablo 2. Boğum eksplantlarının farklı bitki büyüme düzenleyicileri konsantrasyonlarında rejenerasyon durumları ve ölçümü yapılan çeşitli karakterlerden elde edilen ortalama değerler ve duncan grupları

No	Bitki Gelişme Düzenleyicileri (BGD) Uygulamaları (kombinasyonları)	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Eksp. Başına Sürgün Sayısı (adet)	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	0,0	100,0	2,22 c	73,3 a-c	2,50 cd	13,2 ab
2	0,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	0,0	100,0	4,72 abc	100,0 a	12,11 abc	2,9 ab
3	0,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0	100,0	4,00 bc	80,0 ab	7,39 a-d	4,6 ab
4	0,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,55 abc	100,0 a	14,42 a	5,6 ab
5	0,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	0,0	100,0	4,78 abc	100,0 a	8,0 a-d	4,2 ab
6	0,5 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	0,0	100,0	5,45 abc	66,7 a-d	7,11 a-d	4,0 ab
7	0,5 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,10 abc	60,0 a-e	3,99 bcd	2,9 ab
8	0,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0	100,0	5,45 abc	60,0 a-e	11,55 abc	6,9 ab
9	0,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,98 abc	60,0 a-e	4,77 bcd	8,0 ab
10	0,5 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	0,0	100,0	7,45 abc	73,3 a-c	13,21 ab	9,4 ab
11	1,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	0,0	100,0	2,99 bc	6,7 de	0,33 c	2,7 ab
12	1,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	0,0	100,0	4,22 abc	0,0 e	0,00 c	0,0 b
13	1,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0	100,0	2,22 c	53,3 a-e	1,33 c	15,2 a
14	1,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	0,0	100,0	3,87 bc	53,3 a-e	2,67 cd	2,3 b
15	1,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	0,0	100,0	3,67 bc	60,0 a-e	5,67 a-d	4,2 ab
16	1,5 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	0,0	100,0	12,23 ab	40,0 a-e	5,67 a-d	3,0 ab
17	1,5 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	0,0	100,0	5,33 abc	13,3 c-e	0,33 c	2,7 ab

18	1,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0	100,0	7,33 abc	0,0 e	0,00 c	0,0 b
19	1,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	0,0	100,0	13,77 a	0,0 e	0,00 c	0,0 b
20	1,5 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	0,0	100,0	6,55 abc	6,7 de	2,67 cd	4,1 ab
21	2,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	0,0	100,0	3,33 bc	0,0 e	0,00 c	0,0 b
22	2,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	0,0	100,0	7,78 abc	6,7 de	0,33 c	7,4 ab
23	2,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0	100,0	5,67 abc	13,3 c-e	0,33 c	4,1 ab
24	2,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	0,0	100,0	7,22 abc	6,7 de	0,33 c	0,9 b
25	2,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	0,0	100,0	8,33 abc	20,0 b-e	1,00 c	18,7 a

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

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 IBA içeren besi ortamlarında kültüre alınan kalluslardan çok daha az bir gelişme gösterdikleri belirlenmiştir [42].

3.3. Kotiledon Eksplantı Rejenerasyonu

Kotiledon eksplantlarının kültüre alındığı besi ortamlarında görülen rejenerasyon durumu ve ölçümü yapılan karakterlere ait ortalama değerler ve farkları Tablo 3' de sunulmuştur. Kotiledon eksplantlarında, 19 nolu uygulama hariç, 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 farklılıklar neticesinde oluşmuştur. Bu eksplantlara ait ölçümü yapılan karakterler ve buna ilişkin değerlendirmeler aşağıda sunulmuştur.

3.3.1. Kotiledon Eksplantı Kallus Oluşturma Oranı (%)

Kallus oluşturma oranına (%) ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar da istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Buna göre kotiledon eksplantlarında kallus oluşturma oranı (%0-60) arasında değişmiştir. (Tablo 3). 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 (Şekil 2).

3.3.2. Kotiledon Eksplantı Sürgün Oluşturma Oranı (%)

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 oluşumu görülmemiştir. Sürgün oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler ve arasındaki farklar istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Tablo 3). Dolayısıyla tüm uygulamaların bu eksplanttan sürgün oluşumuna etkili olmadığı söylenebilir.

3.3.3. Kotiledon Eksplantı Eksplant Başına Sürgün Sayısı (adet/eksplant)

Eksplant başına sürgün sayısına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar da istatistiki olarak önemsizdir. Buna göre boğum eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı (0-0,67 adet /eksplant) arasında değişmiştir (Tablo 3).

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 sitokinin grubu hormonlar ve bunların miktarları ile kontrol edilebilmektedir. Genellikle adventif sürgünlerin oluşması; besi ortamlarına eklenecek olan oksin grubu hormonlara nazaran daha yüksek dozda sitokinin grubu hormonların eklenmesiyle gerçekleşebilmektedir [41].

3.3.4. Kotiledon Eksplantı Kök Oluşturma Oranı (%)

Kotiledon eksplantlarında kök oluşturma oranına ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Buna göre en yüksek kök oluşturma oranı (%46,7) 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA dozlarının uygulandığı ortamlardan elde edilmiştir. En düşük ise (%0) 1,0 mg/L KIN + 0 m/L IBA ve üzerindeki tüm dozlardan elde edilmiştir (Tablo 3).

3.3.5. 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. Buna göre en yüksek kök sayısı 0 mg/L KIN + 0.5 mg/L IBA uygulamasından (2,33 adet/eksplant) olarak elde edilmiştir. En düşük ise 13 farklı uygulamada 0 adet/eksplant olarak gerçekleşmiştir (Tablo 3).

3.3.6. Kotiledon Eksplantı En Uzun Kök Uzunluğu (mm)

Kotiledon eksplantlarında en uzun kök uzunluğuna ilişkin ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki olarak %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Buna göre en uzun 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 (Tablo 3). Çolak ve Tokur (1999), yaptıkları çalışmalarında; kotiledon eksplantlarında oldukça yoğun bir hücrel proliferasyon belirlediklerini ve eksplantlarda hacim artışlarının olduğunu tespit etmişlerdir [39]. 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 [39].

Tablo 3. Kotiledon eksplantlarının farklı bitki büyüme düzenleyicileri konsantrasyonlarında rejenerasyon durumları ve ölçümü yapılan çeşitli karakterlerden elde edilen ortalama değerler ve duncan grupları

No	Bitki Gelişme Düzenleyicileri (BGD) Uygulamaları (kombinasyonları)	Kallus Oluşturma Oranı (%)	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ekspl. Başına Sürgün Sayısı (adet)	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	0,0 e	0,0	0,0	6,7 cd	0,33 ab	0,63 b
2	0,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	46,7 a	2,33 a	26,77 a
3	0,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	33,3 ab	1,67 ab	15,77 ab
4	0,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	33,3 ab	1,67 ab	3,00 b
5	0,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	13,3 cd	0,67 ab	0,93 b
6	0,5 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	26,7 bc	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
7	0,5 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	26,7 bc	0,0	0,0	20,0 bc	1,0 ab	1,50 b
8	0,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	6,7 cd	0,33 ab	3,87 b
9	0,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	33,3 ab	1,67 ab	3,83 b
10	0,5 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	13,3 cde	0,0	0,0	20,0 bc	1,0 ab	2,63 b
11	1,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
12	1,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	26,7 bc	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
13	1,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	6,7 de	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
14	1,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
15	1,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
16	1,5 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
17	1,5 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	33,3 b	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
18	1,5 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	0,0 e	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
19	1,5 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	20,0 bcd	6,67	0,67	13,3 cd	0,67 ab	5,67 b
20	1,5 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	33,3 b	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
21	2,0 mg/L KIN + 0,0 mg/L IBA	13,3 cd	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
22	2,0 mg/L KIN + 0,5 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
23	2,0 mg/L KIN + 1,0 mg/L IBA	20,0 bcd	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
24	2,0 mg/L KIN + 1,5 mg/L IBA	13,3 cd	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b
25	2,0 mg/L KIN + 2,0 mg/L IBA	60,0 a	0,0	0,0	0,0 d	0,0 b	0,00 b

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

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/1) ile N6-benzil-ammopurin (1 mg/L)'den oluşan hormon kombinasyonunun 21 ± 1 günlük fidelerde içsel bitkisel hormon dengesini değiştirmek için en iyi kombinasyon olduğunu belirtmişlerdir [43]. Doku kültürü çalışmalarında, gelişen sürgünlerin *in-vitro* ortamda köklendirilmesine yönelik, çoğunlukla oksin grubu hormonların kullanıldığı kültür ortamları kullanılmaktadır [32,33,36]. 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 kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir [15]. Bu çalışmadaki eksplantlardan rejenerasyon olmuş sürgünlerin, IBA içeren MS besin ortamında, köklendirilmesi, yukarıda belirtilen literatürle uyum göstermektedir.



Şekil 6. (a,b,c,d,e,f) Sürgün oluşturan eksplantların köklendirilmesinden sonra dış ortama alıştırılması ve toprak aktarılması. (g,h) serada dış ortama alıştırılan bitkilerin tarlaya aktarılması

3.4. Dış İklim Koşullarına Alıştırma Süreci

Tüm köklenen bitkicikler ilk olarak iklim odasında dış ortam iklimine alıştırmaya alınmışlardır. Sonrasında saksılara alınarak üzerleri naylon 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. Bu çalışmada kıyı pancarı *B. vulgaris* subsp. *maritima* türünde *in-vitro* koşullarda başarılı ve güvenli bir şekilde bitki geliştirmenin protokollerini ortaya koymuştur. Bu çalışmanın şeker pancarı ıslahında sıklıkla kullanılan bu yabancı türün hızlı şekilde çoğaltılmasında yardımcı olacağını, şeker pancarı ıslahında genetik materyalin korunmasında ve çoğaltılmasında ve ticari çeşitlerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

3.5. Sonuç

B. vulgaris subsp. *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 6) . 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 köklenme görülmüştür (Şekil 5). Ancak bu eksplant da hipokotilde de olduğu gibi hiçbir şekilde sürgün oluşmamış sadece kallus gelişimi gözlenmiştir. 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. 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 yabani 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.

Teşekkür

Bu çalışma; Uşak Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tarım Bilimleri Anabilim Dalı'nda tamamlanan yüksek lisans tezinin bir kısmından hazırlanmıştır.

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan *B. vulgaris* subsp. *maritima* (L.) Arcang. bitkisi tohumlarının temin edilmesinde yardımcı olan Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsüne ve TŞFAŞ Ankara Şeker Enstitüsüne, ayrıca çalışmanın yürütülmesi sırasında laboratuvar imkânlarını bizlere sunan Şeker Enstitüsüne, çalışmada çeşitli imkânlarından faydalandığımız Uşak Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümüne teşekkürlerimizi sunarız.

Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

KAYNAKLAR

1. Er, C. Uranbey S. Nişasta Şeker Bitkileri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı. 1504:157, Ankara; 1996.
2. Anonim. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Şeker Dairesi Başkanlığı, sektörel veriler, dünya şeker sektörü pdf; erişim: https://arastirma.tarimorman.gov.tr/teppe_2022.
3. Anonim. Türkşeker, erişim: https://www.turkseker.gov.tr/data/dokumanlar/2021_Sektor_Raporu.pdf.
4. Avcı S. Dünya'da şeker sanayiinin dağılışı ve gelişmesini etkileyen unsurlar. Coğrafya Dergisi 1997; 0-5: 225-258.
5. Winner, C. Franz Carl Achard als wegbereiter einer experimentellen pflanzenbauwissenschaft und der zuckerfabrikation aus rüben geschichte der zückerrübe. 200 J Ahre Anbau und Züchtung, 1984; 22-47.
6. Erdal, M. Şeker Pancarı Islahı I, S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi. 1996; 10(13): 39-56.

7. Biancardi E, Panella LW, Lewellen RT. *Beta maritima* The Origin of Beets, Springer: New York Dordrecht Heidelberg XI,173, London, 2012.
8. Ford-Lloyd, BV. Sources of genetic variation, genus *Beta*. In Biancardi E, Campbell LG, Skaracis GN, De Biaggi M. editors. Genetics and Breeding of Sugar Beet. Science publishers, p. 25-33. Inc., Enfield (NH), USA; 2005.
9. Tubives.erişim: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=hizli_ara 2020.
10. Kutluk Yılmaz N.D. Erkan S. Şeker pancarı (*Beta vulgaris* var. *saccharifera*)'nda rhizomania hastalığı. OMÜ Zir. Fak. Dergisi. 2005;20(1):64-72.
11. Bhat SR, Ford-Llyod BV, Callow JA. Isolation of protoplasts and regeneration of callus from suspension cultures of cultivated beets. Plant Cell Rep. 1985;4:348-350.
12. Keimer B. *In vitro* vegetative multiplication of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Hereditas Suppl. 1985;3:145.
13. Mikami T, Sudoh RN, Kinoshita T. Genotypic variation in the *in vitro* morphogenesis from leaf explants of *Beta vulgaris* L. and *Beta maritima* L. Euphytica. 1989;40:271-273.
14. Gürel E. Callus and root development from leaf explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.): Variability between cultivars, plants and organs. Turk J Bot. 1997; 21: 131-136.
15. Gürel S, Gürel E, Kaya Z. Callus development and indirect shoot regeneration from seedling explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultured *in vitro*. Turk. J. Bot. 2001;25:25-33.
16. Hooker MP, Nabors MW. Callus initiation, growth and organogenesis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Z Pflanzenphysiol. 1977;84:237-246.
17. De Greef W, Jacobs M. *In vitro* culture of sugar beet: Description of a cell line with high regeneration capacity. Plant Sci Lett. 1979;17:55-61.
18. Zhong Z, Smith HG, Thomas TH. *in vitro* culture of petioles and intact leaves of sugar beet (*Beta vulgaris*). Plant Growth Regul. 1993;12:59-66.
19. Gürel E, Gürel S. Plant regeneration from leaf explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultured *in vitro*. Kükem Dergisi. 1996; 19: 29-37.
20. Gürel E, Gürel S. Plant Regeneration from unfertilized ovaries of sugar beet (*Beta vulgaris* L) cultured *in vitro*. Turkish Journal of Botany. 1998;22:233-238.
21. Gürel S, Gürel E, Kaya Z. Direct root and shoot development from seedling explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Biyoteknoloji Dergisi. 2000;24:99-106.
22. Gürel S, Topal E, Gürel E. The effect of pretreating seedlings with TDZ on direct shoot regeneration from petiole explants of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Asia Pasific Journal of Molecular Biology and Biotechnology. 2003a;11(1):57-62.
23. Gürel S, Gürel E, Kaya Z, Erdal M, Güler E. Effects of antimetabolic agents on haploid plant production from unpollinated ovules of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Biotechnology and Biotechnological Equipment. 2003b;17(2):97-101.
24. Gürel S, Baloğlu MC, Gürel E, Öktem HA, Yücel M A Two-stage pretreatment of seedlings improves adventitious shoot regeneration in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Plant Cell Tissue and Organ Culture. 2011;106(2):261-168.
25. Beyaz R, Telci Kahramanoğulları C, Alizadeh B, Gürel S, Yıldız M. 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 Kayseri. 2012; sayfa 273-274.
26. Beyaz R, Alizadeh B, Gürel S, Özcan SF, Yıldız M. Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) growth at different ploidy levels. Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics. 2013;66(1):90-95.

27. Gürel S, Gürel E. *In vitro* regeneration of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). In: Ramawat KG, Merillon JM (editors), *Bulbous Plants: Biotechnology*. CRC Press, Taylor & Francis Group. USA, 2014.
28. Gürel S, Gürel E, Kaya Z. Establishment of cell suspension cultures and plant regeneration in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Turkish Journal of Botany*. 2002a; 26:197-205.
29. Gürel S, Pazuki A, Aflaki F, Ergül A, Gürel E. Cold pretreatment improves *in vitro* gynogenesis of sugar beet (*Beta vulgaris*). *International Conference on Agronomy and Horticulture*, 27 August 2015, Shanghai, China; 2015; pages:37-38, 25.
30. Gürel S, Gürel E, Kaya Z. Protoplast fusion in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Turkish Journal of Biology*. 2002b;26:163-170.
31. Yu, M. H. Callus induction and differentiation from leaf explants of different species of the genus *Beta*. *Crop Sci*. 1989;29:205-209.
32. Yildirim MU. Micropropagation of *Origanum acutidens* (Hand.- Mazz.) Ietswaart using stem node explants. *Scientific World Journal*. 2013: ID 276464. doi:10.1155/2013/276464.
33. Ozdemir FA, Yildirim MU, Pourali Kahriz P. Micropropagation of endemic *Scutellaria orientalis* L. subsp. *bicolor* using modified MS medium & TDZ. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2015; 27: 1-7.
34. Ozdemir FA, Yildirim MU. *Scilla siberica* subsp. *armena* Yaprak Sapından İn Vitro Çoklu Sürgün Rejenerasyonu, YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi 2016 a;26(2):215- 220.
35. Ozdemir FA, Yildirim MU. *Crambe maritima* L. Hipokotilinden İn Vitro Mikroüretim, YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi 2016 b;26(2):168-173.
36. Ozdemir FA, Yildirim MU, Pourali Kahriz M 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.
37. Khawar KM, Cocu S, Parmaksiz İ, Sarihan E.O, Ozcan S. Mass proliferation of madonna lily (*Lilium candidum* L.) under in vitro conditions. *Pakistan Journal of Botany*. 2005;37(2):243-248.
38. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol plant* 1962;15:473-497.
39. Çolak G, Tokur S. *Beta vulgaris* L. (şeker pancarı) hipokotil eksplantlarının sürgün rejenerasyonu üzerine bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri. *BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*.1999;1(1):4-14.
40. Taghipour F, Janalizadeh N, Eshrati M, Hassanzadeh T, Huyop F. Callus induction and shoot organogenesis in two sugar beet (*Beta vulgaris* L.) breeding lines in vitro cultured. *Biotechnology*. 2013;12(4):168-178.
41. Gönülşen N. Bitki Doku Kültürü Yöntemleri ve Uygulama Alanları, Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın no:78,İzmir;1987.
42. Hagege D, Kevers C, Gaspar T, Thorpe T. A. Abnormal growth of habituated sugarbeet callus and cell suspensions, *In vitro Cell. Dev. Biol*. 1991;27:112-116.
43. Jaco B, Tetu T, Sangwani RS, De Laat A, Sangwan-Norreel BS. Efficient production of uniform plants from cotyledon explants of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). Plant Breeding. 1993; Volume 110, Issue 3 p. 185-191.