



Araştırma/Research

Anadolu Tarım Bilim. Derg./Anadolu J Agr Sci, 30 (2015) 268-274

ISSN: 1308-8750 (Print) 1308-8769 (Online)

doi: 10.7161/anajas.2015.30.3.268-274



Eksplant kaynakları ve bitki büyüme düzenleyicilerinin ketencik (*Camelina sativa* L. Crantz)'de sürgün ve bitki oluşumuna etkileri üzerinde bir araştırma

Merve GÖRE, Orhan KURT*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, 55139 Atakum, Samsun

*Sorumlu yazar/corresponding author: orhank@omu.edu.tr

Geliş/Received 20/05/2015

Kabul/Accepted 27/11/2015

ÖZET

Bu araştırma; Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Araştırma-Uygulama Laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırmada bitki materyali olarak Vniimk-17 ve Ames-26686 ketencik çeşitleri, eksplant kaynağı olarak Kök, I. Boğumarası, II. Boğumarası, I. Yaprak ve II. Yaprak, besi ortamı olarak; fide besi ortamı (MS), kallus ve sürgün oluşum ortamı (i. MS+0.5 mg/l BAP, ii. MS+1 g/l BAP, iii. MS+0.5 g/l NAA, iv. MS+1 g/l NAA, v. MS+0.5 g/l BAP+0.5 g/l NAA, vi. MS+0.5 g/l BAP+1 g/l NAA, vii. MS+1 g/l BAP+0.5 g/l NAA ve viii. MS+1 g/l BAP+1 g/l NAA), Köklendirme ortamları (i. MS+1 g/l IAA, ii. 1/2MS+0.5 g/l IAA, iii. MS+1 g/l IBA, iv. MS+0.2 g/l IBA+4 g/l Charcol) kullanılmıştır. Araştırma sonucu oluşan kallus sayısı değerlendirildiğinde; çeşit bakımından Vniimk-17 çeşidi, Ames-26686 çeşidine göre daha fazla sayıda kallus oluşumuna sahip olduğu, eksplant bakımından her iki çeşitte de en fazla sayıda kallus oluşumunun kök eksplantından, besi ortamı bakımından en fazla sayıda kallus oluşumunun MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında, çeşit, eksplant kaynağı ve besi ortamı interaksiyonu bakımından ise en fazla sayıda kallus her iki çeşitte de kök eksplantının bütün besin ortamlarında elde edilmiştir. Sürgün sayısı değerlendirildiğinde; çeşit bakımından Ames-26686 çeşidi, Vniimk-17 çeşidine göre daha fazla sayıda sürgün oluşturduğu, eksplant bakımından her iki çeşitte de en fazla sayıda sürgün oluşumu 2. Boğumarası eksplantından, besi ortamı bakımından en fazla sayıda sürgün oluşumu Ames-26686 çeşidinde MS+1.0 mg/l NAA ve Vniimk-17 çeşidinde MS+0.5 mg/l NAA besi ortamında, çeşit, eksplant kaynağı ve besi ortamı interaksiyonu bakımından ise en fazla sayıda sürgün oluşumunun her iki çeşitte de 2. boğumarası eksplantının MS+1 mg/l NAA ihtiva eden besi ortamında elde edilmiştir.

Anahtar Sözcükler:

Explant
Kallus Oluşumu
Ketencik
Sürgün Gelişimi

Research to establish effects of explant sources and plant growth regulators on camelina (*Camelina sativa* L. Crantz) tiller and plant induction

ABSTRACT

This research was conducted in the Biotechnology and Research Application Laboratory Department of Field Crops, Faculty of Agriculture, Ondokuz Mayıs University, Samsun-Turkey. In this study Vniimk-17 and Ames-26686 camelina varieties used as a plant material. The root, first internode, 2nd internode, first leaf and 2nd leaf were used as source of explants. Three different media, for plantlets (MS), for callus and tiller induction (i. MS+0.5 mg/l BAP, ii. MS+1 g/l BAP, iii. MS+0.5 g/l NAA, iv. MS+1 g/l NAA, v. MS+0.5 g/l BAP+0.5 g/l NAA, vi. MS+0.5 g/l BAP+1 g/l NAA, vii. MS+1 g/l BAP+0.5 g/l NAA ve viii. MS+1 g/l BAP+1 g/l NAA) and rooting media (i. MS+1 g/l IAA, ii. 1/2MS+0.5 g/l IAA, iii. MS+1 g/l IBA, iv. MS+0.2 g/l IBA+4g/l Charcol) used. Research results shows that Vniimk-17 variety had produced more number of callus as compared with Ames-26686 variety. In both varieties maximum numbers of callus were observed in root explants. Maximum number of callus were counted MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA growth media in both genotypes. The data represent that in both varieties, explant sources and medium maximum number of callus were observed in root explant in all growth medium. The Ames-26686 variety produce more shoot as compared with Vniimk-17 genotype. Ames-26686 genotype produce maximum shoot in MS+1.0 mg/l NAA medium while Vniimk-17 produce maximum shoots in MS+0.5 mg/l NAA medium. Maximum number of shoot were obtained from 2nd internode in MS+1.0 mg/l NAA medium in both varieties.

Keywords:

Explant
Callus induction
Camelina
Tiller regeneration

1. Giriş

Ketencik (*Camelina sativa* L. Crantz), Brassicaceae familyası içinde yer alan ve yaygın olarak bilinen 7 *Camelina* türünden birisi olup (Davis, 1965; Göre, 2015), *Camelina* cinsi içinde ekonomik önemi olan tek türdür. Omega-3 yağ asitlerinin bitkisel kaynaklardan temin edilmesi fikrinin ön plana çıkmasıyla ketencikğin önemi, yakın yıllarda artmıştır. Yazlık çeşit tohumlarının % 42, kışlık çeşit tohumlarının ise % 45 oranında yağ ihtiva eder (Zubr, 1997). Ketencik yağındaki yağ asitlerinin % 90'ından fazlasını doymamış yağ asitleri oluşturmaktadır. Doymamış yağ asitlerinin önemli bir kısmını ise (yaklaşık % 58) çoklu doymamış yağ asitleri oluşturulan, % 35-45'ini linolenik asit (C18:3n-3; Omega-3 yağ asidi) ve % 15-20'ini linoleik asit (C18:2n-6; Omega-6 yağ asiti) oluşturmaktadır. Tekli doymamış yağ asitlerinin oranı yaklaşık % 36 olup, bu yağ asitleri öncelikle oleik asit (C18:1n-9) ve eicosenoik asit (C20:1n-9)'ten oluşmaktadır. Doymuş yağ asitlerinin oranı ise % 6 civarındadır.

Ketencik yağı, yarfıstığı ve kolzadan daha az, keten, soya fasulyesi, ayçiçeği ve pamuktan daha fazla tekli doymamış yağ asidi bulundurlar. Diğer taraftan ketencik yağı ketenden daha az, pamuk, yarfıstığı ve kolzadan daha fazla, soya fasulyesi ve ayçiçeğine yakın oranda çoklu doymamış yağ asidi ihtiva etmektedir. Ketencik yağının doymuş ve doymamış yağ asitleri kompozisyonu ayçiçeğine benzer, fakat ayçiçeğinden önemli derecede daha yüksek oranda Omega-3 ihtiva etmektedir.

Ketencik, çeşitlere bağlı olarak değişmekle birlikte yağda yüksek eicosenoik asit oranına sahiptir. Bunun potansiyel değeri veya dezavantajı, şimdilik, kesin olarak ortaya konulamamıştır. Ketencik çeşitlerinin çoğu % 2-4 erusik asit (C22:1n-9) içermekte olup, bu oran kolzada kaliteli yemeklik yağ için kabul edilen maksimum % 2 sınırından daha yüksektir. Bununla birlikte % 0 erusik asit ihtiva eden ketencik çeşitleri de son yıllarda geliştirilmiştir.

Biyoteknolojik yöntemler; klasik yöntemlerle başarısız olan birçok uygulamanın yapılabilmesine, daha kısa sürede homozigot hatların elde edilmesine ve gen ya da gen gruplarının izole edilerek organizmalar arasında aktarımını sağlayarak, ıslah sürecinin kısaltılmasına katkıda bulunmaktadır. Klasik ıslahta başarı, seleksiyona ve seleksiyon da geniş bir genetik varyasyonun oluşturulmasına bağlıdır. Bunun sağlanması için uygun özellikler taşıyan gen havuzuna ihtiyaç vardır. Gen havuzunun oluşturulmasında kullanılan önemli bir yöntemden birisi de doku kültür yöntemidir (Kurt, 2011).

Bitkilerin vejetatif ve generatif organları gibi değişik kısımları kimyasal (besin maddeleri, hormonlar ve vitaminler) ve fiziksel (ışık, sıcaklık ve nem) gereksinimler sağlandığında, in vitro koşullarda, yeni bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahiptirler. Totipotensi olarak tanımlanan bu yetenek sayesinde kültüre alınan bitki hücrelerine ya da dokularına gen aktarımı yapılabilmekte ve aktarılan geni taşıyan transgenik bitkiler elde edilebilmektedir (Arı, 2001; Kurt, 2011). Ancak sistemin sağlıklı ve verimli olarak çalışması bakımından her bitki türü için farklılaşma yeteneğinin ortaya konabileceği uygun eksplant kaynağının, gerekli hormon kombinasyonunun ve besin kompozisyonunun belirlenmesine ihtiyaç vardır. Bu düşünceden hareketle ketencik bitkisinde, bitki

organlarından alınan eksplantlardan kallus oluşumunu ve bu kalluslardan sağlıklı bitkileri elde etmesini sağlayan bir sistemi geliştirmek ve geliştirilecek bu sistemi de daha sonra yapılacak araştırmalarda, bilhassa gen transferi çalışmalarında, kullanmak amacıyla bu araştırma yapılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Araştırma-Uygulama laboratuvarında yürütülen araştırmada bitki materyali olarak Vniimk-17 ve Ames-26686 ketencik çeşitleri kullanılmıştır. Kullanılan çeşitler Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilmiştir. Araştırmada besi ortamı olarak; eksplant alınacak steril bitkileri yetiştirmek için fide besi ortamı (MS)(Murashige ve Skoog, 1962), kallus oluşumu için kallus besi ortamları (i. MS+0.5 mg/l BAP, ii. MS+1 g/l BAP, iii. MS+0.5 g/l NAA, iv. MS+1 g/l NAA, v. MS+0.5 g/l BAP+0.5 g/l NAA, vi. MS+0.5 g/l BAP+1 g/l NAA, vii. MS+1 g/l BAP+0.5 g/l NAA, viii. MS+1 g/l BAP+1 g/l NAA) ve Köklendirme ortamları (i. MS+1 g/l IAA, ii. 1/2MS+0.5 g/l IAA, iii. MS+1 g/l IBA, iv. MS+0.2 g/l IBA+4g/l Charcol) kullanılmıştır. Sterilizasyon amacıyla ketencik tohumları çok küçük olduğu için tohum sterilizasyonunda gazlı bezden yararlanılmıştır. Steril kabin içinde, gazlı beze sarılı olan tohumlar, cam petri içinde, 1 dakika % 70'lik etanol ile çalkalanmış, sonra 3 kez steril sudan geçilerek durulanmıştır. Daha sonra gazlı beze sarılı tohumlar, içerisinde % 20'lik çamaşır suyu bulunan petri içerisine aktarılıp manyetik karıştırıcı üzerinde 20 dakika karıştırılmıştır. Süre sonunda tohumlar 3-5 kez steril sudan geçilerek durulanmıştır. Durulanmış tohumlar steril kurutma kağıtlı 9 cm çapındaki petrilere konularak üzerindeki suların uzaklaştırılması sağlanmış (Kurt ve ark., 2008a; 2008b).

Sterilize edilmiş tohumlar, % 2.5 şeker, 7.6 g/l agar ve pH'sı 5.8 olan fide besi ortamına, her kavanozda 10-12 tohum olacak şekilde ve her çeşitten 8 kavanoz olmak üzere ekilmiştir. Kavanozlar, tohumların çimlenip, fidelerin 3 yaprak oluşturduğu döneme kadar 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperiyot sağlayan, 26 °C sabit sıcaklığa sahip iklim odasında bekletilmişlerdir.

Eksplant olarak 21 günlük fidelerin her birinden steril kabin içerisinde, bir bisturi yardımı ile 1) Kök (Kök tacında kesilerek bütün kök aksarı), 2) 1. Boğum arası (1. boğum ile 2. boğum arasında kalan 1 cm'lik kısım), 3) 2. Boğumarası (2. boğum hemen üzerinden alınan 1 cm'lik kısım), 4) I. Yaprak (fidedeki alttan I. Yaprak) ve 5) II. Yaprak (fidedeki alttan II. Yaprak) olmak üzere 5 farklı eksplant alınmıştır. Alınan eksplantlar, 9 cm çapında, cam petrilere ekilmiştir. Alınan eksplantlar, 9 cm çapında, cam petrilere ekilmiştir. Ekimde; her eksplant kaynağı 5 tekerrür ve her tekerrüre 10 eksplant olarak ekilmiştir. Ekim sonrası parafilm ile sarılan petrilere fide yetiştirme ortamı olarak da kullanılan iklim odasına aktarılmışlardır.

Kallus oluşum ortamında farklılaşan kallusların oluşturduğu sürgünler, magenta kaplarındaki köklendirme ortamlarına aktarılmıştır. Aktarma öncesi, bir arada bulunan sürgünler dikkatlice birbirinden ayrılmıştır. Magenta kapları etiketlendikten sonra fide yetiştirme ortamı olarak

kullanılan iklim odasına aktarılmışlardır.

2.1. Verilerin elde edilmesi

Araştırma bölünen bölünmüş parseller deneme desenine göre yürütülmüştür. Araştırmada kallus ve sürgün responslarını belirlemek amacıyla; kallus frekansı (oluşan kallus sayısı/toplam oluşan kallus sayısıX100), kallus oluşum oranı (oluşan kallus sayısı/toplam eksplant sayısıX100), sürgün frekansı (oluşan birim sürgün sayısı/toplam oluşan sürgün sayısıX100), eksplant başına sürgün oluşum oranı (oluşan sürgün sayısı/toplam eksplant sayısıX100) ve kallus başına sürgün oluşum oranı (oluşan sürgün sayısı/toplam kallus sayısıX100) belirlenmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1 Kallus responsu

Besi ortamına ekilen eksplantlardan oluşan kallus sayılarına ilişkin veriler Çizelge 1'de, kallus oluşumuna ilişkin resim Şekil 1'de verilmiştir. Çizelge 1'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi denemede besi ortamına ekilen toplam 3200 eksplanttan, toplam 3048 adet kallus oluşumu gözlenmiştir. Deneme bazında değerlendirildiğinde; kallus oluşum oranının % 95.3 (3048/3200) olduğu belirlenmiştir. Elde edilen kallus sayıları dikkate alınarak hesaplanan eksplant başına kallus oluşum oranı çeşitlere göre değerlendirildiğinde; eksplant başına kallus oluşum oranının Ames-26686 çeşidinde % 93.8 (1500/1600) ve Vniimk-17 çeşidinde % 96.8 (1548/1600) olduğu saptanmıştır.

Elde edilen kallus sayıları dikkate alınarak hesaplanan eksplant başına kallus oluşum oranı eksplant bazında değerlendirildiğinde; eksplant başına kallus oluşum oranının kök eksplantında % 99.7 (638/640), II. Boğum arası eksplantında % 95.5, I.Boğum arası eksplantında % 95.3, I. Yaprak eksplantında % 93.1 ve II. Yaprak eksplantında % 92.7 olduğu saptanmıştır. Elde edilen kallus sayıları dikkate alınarak hesaplanan eksplant başına kallus oluşum oranı besi ortamlarına göre değerlendirildiğinde; eksplant başına kallus oluşum oranının MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l /NAA besi ortamında % 99.0 (396/400), MS+0.5 mg/l BAP+0,5 mg/l NAA besi ortamında % 97.5, MS+0.5 mg/l besi ortamında % 97.3, MS+1.0 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 96.8, MS+0.5 mg/l BAP besi ortamında % 96.5, MS+0.5 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 96.3, MS+1.0 mg/l BAP besi ortamında % 95.0 ve MS+1 mg/l NAA besi ortamında % 83.8 olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen kallus sayıları dikkate alınarak hesaplanan kallus frekansı çeşitlere göre değerlendirildiğinde; kallus frekansının Vniimk-17 çeşidinde % 50.8 (1548/3048) ve Ames-26686 çeşidinde % 49.2 (1500/3048) olduğu saptanmıştır. Elde edilen kallus sayıları dikkate alınarak hesaplanan kallus frekansı eksplant durumuna göre değerlendirildiğinde; kallus frekansının kök eksplantında % 21.93, II. Boğumarası eksplantında % 20.04, I.Boğumarası eksplantında % 20.02, I.Yaprak eksplantında % 19.55 ve II. Yaprak eksplantında % 19.45 olduğu belirlenmiştir. Elde edilen kallus sayıları dikkate alınarak

hesaplanan kallus frekansı besi ortamı dikkate alınarak değerlendirildiğinde; kallus frekansının MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 12.99 (396/3048), MS+0.5 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 12.79, MS+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 12.76, MS+1.0 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 12.69, MS+0.5 mg/l BAP besi ortamında % 12.66, MS+0.5 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 12.63, MS+1.0 mg/l BAP besi ortamında % 12.46 ve MS+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 10.99 olduğu saptanmıştır.

Kallus oluşumu için en iyi besi ortamının MS ortamı olduğunu (Khatun ve ark., 2003), MS ortamına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicilerinin konsantrasyonlarının ve kombinasyonlarının bitki rejenerasyonunda rol oynadığı (Molnár ve Ördög, 2005), eşit oksin/sitokinin oranının organize olmamış hücrel çöğalmayı ve kallus oluşumunu (Yamaguchi ve ark., 2003), yüksek oksin ihtiva eden ortamların genel olarak kallus oluşumunu daha fazla teşvik ettiği (Miller ve Skoog, 1953; Nitsch, 1968; Pierik, 1987), farklı eksplant kaynaklarından kallus oluşumunda MS ortamına 1 mg/l NAA (Tattersall ve Millam, 1998; Turhan ve ark., 2009), BAP (5 mg/l) sabit tutularak 2,4-D, IAA, IBA, 2,4,5-T ve picloram gibi oksinler (0.5-2 mg/l) ilave edildiğinde eksplantlar üzerinde yalnızca kallus oluşumunun gözlendiği (Klimaszewska ve Keller, 1985), kullanılan BAP ve NAA konsantrasyonlarının bitki genotipine bağlı olarak değişkenlik gösterebileceği (Dunwell, 1981), MS+2 mg/L NAA+5 mg/L BAP besi ortamında daha fazla kallus oluşumunun gözlendiği (Akçam-Oluk ve Yürekli, 2001) ortaya konmuştur. Kallus oluşumu bakımından bu araştırmada elde edilen bulgular, bu alanda daha önce yapılan araştırmalar sonucu ortaya konan bulgular ile uyum içerisinde olduğu tespit edilmiştir.

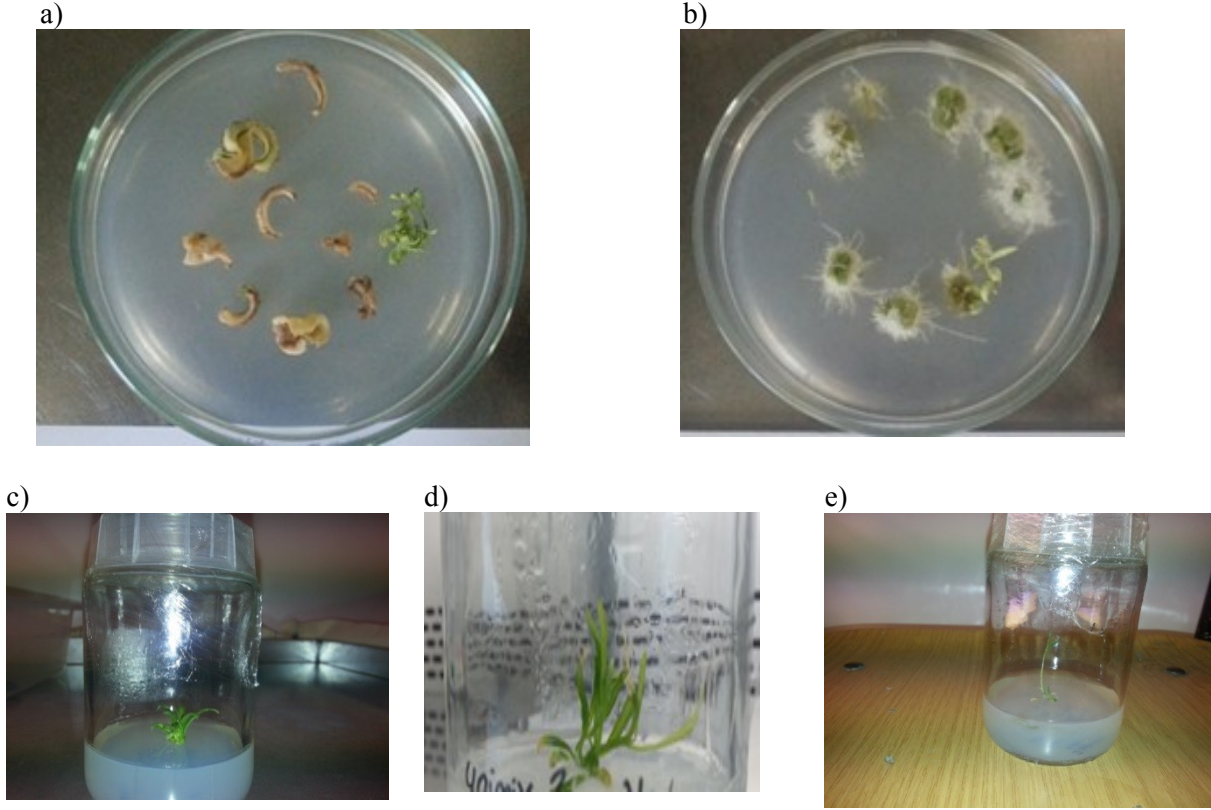
3.2 Sürgün responsu

Besi ortamına aktarılan sürgün sayılarına ilişkin veriler Çizelge 1'de, sürgün oluşumuna ilişkin resim, Resim 1'de verilmiştir. Çizelge 1'nin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi denemede besi ortamına ekilen toplam 3200 eksplanttan toplam 3048 kallus elde edilmiş olup, bu kalluslardan toplam 779 adet sürgün oluşumu gözlenmiştir. Deneme bazında değerlendirildiğinde; eksplant başına sürgün oluşum oranının % 24.3 (779/3200) olduğu saptanmıştır (Çizelge 1). Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan eksplant başına sürgün oluşum oranı çeşit bazında değerlendirildiğinde; eksplant başına sürgün oluşum oranının Ames-26686 çeşidinde % 27.8 (444/1600) ve Vniimk-17 çeşidinde ise % 21.0 (335/1600) olduğu saptanmıştır. Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan eksplant başına sürgün oluşum oranı eksplant kaynağı bazında değerlendirildiğinde; eksplant başına sürgün oluşum oranı 2. Boğumarası eksplantında % 44.0 (281/640), I. Boğumarası eksplantında % 33.1 (212/640), II. Yaprak eksplantında % 22.5 (144/640), I. Yaprak eksplantında % 15.8 (101/640), kök eksplantında % 6.4 (41/640) olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan eksplant başına sürgün oluşum oranı besi ortamı bazında değerlendirildiğinde; eksplant başına sürgün oluşum oranı MS+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 66.8 (267/400), MS+1.0 mg/l NAA besi

Çizelge 1. Ketencik çeşitlerinin kallus sayılarına (adet) ve sürgün sayılarına (adet) ilişkin veriler

Eksplant Kaynakları	ÇEŞİTLER																			
	AMES-26686						VNIIMK-17													
Kök	318*	21**	320*	20**																
1.BA	304	127	306	85																
2.BA	301	157	310	124																
1.Y	286	61	310	40																
2.Y	291	78	302	66																
Toplam	1500	444	1548	635																
Besli Ortamları																				
MS+0,5 mg/l BAP	193*	33**	193*	30**																
MS+1,0 mg/l BAP	189	21	191	20																
MS+0,5 mg/l NAA	194	123	195	144																
MS+1,0 mg/l NAA	144	134	191	79																
MS+0,5 mg/l BAP+ 0,5 mg/l NAA	194	0	196	0																
MS+0,5 mg/l BAP+ 1,0 mg/l NAA	196	43	189	13																
MS+1,0 mg/l BAP+ 0,5 mg/l NAA	192	52	195	29																
MS+1,0 mg/l BAP+ 1,0 mg/l NAA	198	38	198	20																
Toplam	1500	444	1548	635																
Eksplant KaynağıXBesi Ortamı	Kök	1BA	2BA	1Y	2Y	Kök	1BA		2BA		1Y		2Y							
							39	8	40	20	39	0	35	5	40	0	38	14	39	15
MS+0,5 mg/l BAP	40*	0**	40	10	39	7	35	2	40	0	38	7	38	10	38	3	37	0		
MS+1,0 mg/l BAP	40	0	40	10	39	7	35	2	40	0	38	7	38	10	38	3	37	0		
MS+0,5 mg/l NAA	40	11	40	45	39	51	38	15	37	1	40	14	39	36	40	39	29	37	26	
MS+1,0 mg/l NAA	40	10	26	17	32	53	16	16	32	38	40	6	36	19	39	41	36	0	40	13
MS+0,5 mg/l BAP+ 0,5 mg/l NAA	40	0	39	0	38	0	39	0	38	0	40	0	39	0	38	0	40	0	39	0
MS+0,5 mg/l BAP+ 1,0 mg/l NAA	40	0	40	16	39	12	39	9	38	9	40	0	36	2	38	4	37	4	38	3
MS+1,0 mg/l BAP+ 0,5 mg/l NAA	38	0	40	13	35	6	40	20	37	13	40	0	40	5	38	9	40	0	37	15
MS+1,0 mg/l BAP+ 1,0 mg/l NAA	40	0	40	18	39	8	40	2	39	10	40	0	40	2	40	6	40	4	38	8
Toplam	318	21	304	127	301	157	286	64	291	78	320	20	306	85	310	124	310	40	302	66

Aynı karakter için *Kallus sayısı; **Sürgün sayısı; 1BA=I. Boğumarası, 2.BA= II. Boğumarası, 1Y= I. Yaprak, 2Y= II. Yaprak



Şekil 1. Kallus ve Sürgün Oluşumu;

Kallus Oluşumu a) Vniimk-17, 2. Yaprak, MS+0.5 mg/l BAP ve b) Ames-26686 2. Boğumarası, 0.5 mg/l NAA Sürgün Oluşumu c) Vniimk-17, 2. Yaprak, MS+1.0 mg/l BAP, d) Vniimk-17, 2. Boğumarası, 0.5 mg/l BAP+1 mg/l NAA, e) Ames-26686, 2. Boğumarası, MS+0.5 mg/l NAA

ortamında % 53.3 (213/400), MS+1.0 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 20.3 (81/400), MS+0.5 mg/l BAP besi ortamında % 16.8 (67/400), MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 14.5 (58/400), MS+0.5 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 14.0 (56/400), MS+1.0 mg/l BAP besi ortamında % 10.3 (41/400) olduğu, MS+0.5 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında ise sürgün oluşumu gözlenmediği belirlenmiştir. Araştırmada kallus oluşum ortamında toplam 3048 kallus elde edilmiş olup bu kalluslardan toplam 779 tane sürgün oluşumu gözlenmiştir. Bu verilere dayanarak kallus başına sürgün oluşum oranının % 25.5 (779/3048) olduğu saptanmıştır. Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan kallus başına sürgün oluşum oranı çeşit bazında değerlendirildiğinde; kallus başına sürgün oluşum oranının Ames-26686 çeşidinde % 29.6 (444/1500) ve Vniimk-17 çeşidinde % 21.6 (335/1548) olduğu saptanmıştır. Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan kallus başına sürgün oluşum oranı eksplant bazında değerlendirildiğinde; kallus başına sürgün oluşum oranının 2. Boğumarası eksplantında % 46.0 (281/611), I. Boğumarası eksplantında % 34.8 (212/610), II. Yaprak eksplantında % 24.3 (144/593), I.Yaprak eksplantında % 17.0 (101/596) ve kök eksplantında % 6.5 (41/638) olduğu saptanmıştır. Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan kallus başına sürgün oluşum oranı besi ortamları bazında değerlendirildiğinde; kallus başına sürgün oluşum oranının MS+0,5 mg/l NAA besi ortamında % 68.6

(267/389), MS+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 63.6 (213/335), MS+1.0 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 21.0 (81/387), MS+0.5 mg/l BAP besi ortamında % 17.4 (67/386), MS+1,0 mg/l BAP+1,0 mg/l NAA besi ortamında % 14.6 (58/396), MS+0.5 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 14.5 (56/385) ve MS+1.0 mg/l BAP ortamında % 10.8 (41/380) olduğu, MS+0.5 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında sürgün oluşumu gözlenmediği belirlenmiştir.

Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan sürgün frekansı çeşitler bazında değerlendirildiğinde; sürgün frekansının Ames-26686 çeşidinde % 57.0 (444/779) ve Vniimk-17 çeşitlerinde ise % 43.0 (335/779) olduğu saptanmıştır. Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan sürgün frekansı eksplant kaynağı bazında değerlendirildiğinde; sürgün frekansının 2. Boğumarası eksplantında % 36.0 (281/779), I. Boğumarası eksplantında % 27.2 (212/779), II. Yaprak eksplantında % 18.5 (144/779), I. Yaprak eksplantında % 13.0 (101/779) ve kök eksplantında % 5.2 (41/779) olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sürgün sayıları dikkate alınarak hesaplanan sürgün frekansı besi ortamı dikkate alınarak değerlendirildiğinde; MS+0.5 mg/l NAA besi ortamında % 34.3 (267/779), MS+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 27.3 (213/779), MS+1.0 mg/l BAP+0,5 mg/l NAA besi ortamında % 10.4 (81/779), MS+0.5 mg/l BAP besi ortamında % 8.6 (67/779), MS+1,0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında % 7.4 (58/779), MS+0.5 mg/l

BAP+1.0 mg/l NAA ortamında % 7.2 (56/779) ve MS+1.0 mg/l BAP ortamında % 5.3 (41/779) olduğu, MS+0.5 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında sürgün oluşumu gözlenmediği belirlenmiştir.

Bitki rejenerasyonunda genotipler arasındaki farklılık, bitki bünyesindeki hormon seviyesindeki farklılıkla ilgili olabilir. Nitekim Bitki büyüme düzenleyicileri konsantrasyonları ve kombinasyonlarının bitki rejenerasyonunu yönettiği birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (Narasimhulu ve Chopra, 1987; Molnár ve Ördög, 2005; D'Onofrio ve Morini, 2006; Yemets ve ark., 2013). Özellikle oksin/sitokinin oranı, in vitro morfogenez işlemlerde rejenerasyonu sağlayan en önemli faktör olarak görülmektedir (Christianson ve Warnick, 1983). Nishi ve ark. (1967)'e göre oksin bulunmayan ortamda kalluslardan çok sayıda sürgün oluşumunun yulafta gözlenmesine karşın çeltikte ise sürgün oluşumu ve bütün bitki oluşumu olmadığı, sadece kök oluşumunun başarılı olduğunu, Gless ve ark. (1998) göre oksin içeren ortamda eksplantların kallus oluşumu ve sürgün rejenerasyonunu başarıyla sağladığı ortaya konmuştur. Hormonların etkilerine ilişkin bu çalışmada elde edilen bulgular, daha önceki çalışmalarda ortaya konmuş olan bulguları teyit eder niteliktedir.

4. Sonuçlar

Bu çalışma sınırlı sayıda in vitro çalışmanın yapılmış olduğu ketencik bitkisinde farklılaşma ve gelişme potansiyelini belirlemesi bakımından genotip, eksplant kaynağı, besi ortamı ve bunların ikili ya da üçlü kombinasyonlarının etkilerini ortaya koymak amacıyla yürütülmüştür. Araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibi özetlenebilir. 1) Araştırma sonucu Ames-26686 çeşidinin, Vniimk-17 çeşidine göre daha az sayıda kallus oluşumuna sahip olduğu, 2) her iki çeşitte de en fazla sayıda kallus oluşumu kök eksplantından, en az sayıda kallus II. Yaprak eksplantından elde edildiği, 3) her iki çeşitte de en fazla sayıda kallus oluşumu MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında elde edildiği, 4) çeşit, eksplant kaynağı ve besi ortamı bir arada değerlendirildiğinde; en fazla sayıda kallus her iki çeşitte de kök eksplantının bütün besin ortamlarında, iki çeşidin toplamı dikkate alındığında ise kök eksplantının sadece MS+1.0 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA ve MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamında elde edildiği, 5) Ames-26686 çeşidinde, Vniimk-17 çeşidine göre daha fazla sayıda sürgün oluşumu gözlemlendiği, 6) en fazla sayıda sürgün oluşumu her iki çeşitte de II. Boğumarası eksplantından elde edildiği, 7) her iki çeşitte de MS+0,5 mg/l BAP+0.5 mg/l NAA besi ortamında sürgün oluşumu gözlenmediği, 8) en fazla sürgün sayısı Ames-26686 çeşidinde MS+1,0 mg/l NAA besi ortamında, Vniimk-17 çeşidinde ise MS+0.5 mg/l NAA besi ortamında elde edildiği, 9) iki çeşidin toplamı dikkate alındığında en fazla sürgün sayısı kök, I. Boğumarası ve I. Yaprak eksplantlarından MS+0.5 mg/l NAA besi ortamında, II. Boğum arası ve II. Yaprak eksplantlarında ise MS+1.0 mg/l NAA besi ortamında elde edildiği, 10) en fazla sürgün sayısı II. Boğumarası eksplantının MS+1.0 mg/l NAA besi ortamında 53 adet ile Ames-26686 ve 41 adet ile Vniimk-

17 çeşidinde elde edildiği saptanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen bulgulara dayanarak aşağıdaki öneriler yapılabilir. i. Kallus oluşumu ve sürgün farklılaşması dikkate alındığında daha avantajlı olan Ames-26686 çeşidinin kullanılması, ii. Kallus oluşumu ve sürgün farklılaşması dikkate alındığında eksplant kaynağı bakımından daha avantajlı olan II. Boğumarası eksplantının kullanılması, iii. kallus oluşum ortamı olarak MS+1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l NAA besi ortamının, sürgün gelişim ortamı olarak da MS+0.5 mg/l NAA veya MS+1.0 mg/l NAA besi ortamının kullanılması ve iv. köklendirme açısından, eksplant kaynağı, hormon kompozisyonu ve bunların kombinasyonlarını ihtiva eden araştırmalar yapılması önerilebilir.

Teşekkür

Bu makale Ondokuz Mayıs Üniversitesi PYO.ZRT.1904.012. nolu proje ile ve TÜBİTAK Öncelikli Alanlar Birimi tarafından desteklenen Yüksek Lisans Tezinden hazırlanmıştır. Desteklerinden dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi ve TÜBİTAK'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Akçam, E., Yürekli, K.A. 2001. Regeneration Through Callus Cultures of *Cantharanthus roseus* (L.) G. Don. Pak. J. Pl. Sci., 7(1-2): 67-73.
- Arı, Ş., 2001. Doğrudan Gen Aktarım Teknikleri. Bitki Biyoteknolojisi II. Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., S.Ü. Basımevi, 160-189s, Konya.
- Christianson, M.L., Warnick, D.A. 1983. Competence and Determination in The Process of in Vitro Shoot Organogenesis. Dev. Biol., 95(2): 288-293.
- Davis, P.H. 1965. Flora of Turkey and East Islands Endinburg Vol 1. University of Edinburg.
- D'Onofrio, C., Morini, S. 2006. Somatic Embryo, Adventitious Root and Shoot Regeneration in in-vitro Grown Quince Leaves as Influenced by Treatments of Different Length with Growth Regulators. Scientia Horticulturæ, 107: 194-199.
- Dunwell, J.M. 1981. In Vitro Regeneration from Excised Leaf Discs of Three Brassica Species. J. Exp. Bot., 129, 789-799.
- Gless, C., Lorz, H., Jahne-Gartner, J. 1998. Transgenic Oat Plants Obtained at high Efficiency by Microprojectile Bombardment of Leaf Base Segments. J Plant Physiol., 152: 151-157
- Göre, M. 2015. Eksplant Kaynakları ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Ketencik [*Camelina sativa* (L.) Crantz]'de Sürgün ve Bitki Oluşumuna Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi., s: 1.
- Khatun, M.M., Ali, H.M., Desamero N.V. 2003. Effect of Genotype and Culture Media on Callus Formation and Plant Regeneration from Mature Seed Scutella Culture in Rice. Plant Tissue Cult., 13(2):99-107.
- Klimaszewska, K., Keller, W.A. 1985. High Frequency Plant Regeneration from Thin Cell Layer Eksplants of *Brassica napus*. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 4: 183-197.
- Kurt, O., Aydın, E., Seyis, F. 2008a. Farklı Somatik Eksplantların Çeltik (*Oryza sativa* L. cv. Taipei-309)'te Kallus ve Bitkicik Oluşumuna Etkisi. Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi, 1(1): ISSN:1308-3961.
- Kurt, O., Akay, H., Gülümser, A. 2008b. Farklı Somatik Eksplantların Çeltik (*Oryza sativa* L. cv. Pusur)'te Kallus ve Bitkicik Oluşumuna Etkisi. Ülkesel Tahıl Sempozyumu, p: 714-718 2-5 Haziran 2008, Konya.

- Kurt, O. 2011. Bitki Islahı Ders Kitabı. OMU, Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 43, Samsun.
- Miller, T., Skoog, F. 1953. In Vitro Culture of Higher Plants. Am. J. Bot., 40: 768-773.
- Molnár, Z., Ördög, V. 2005. Microalgal and Cyanobacterial Extracts in The Tissue Cultures of Higher Plants (pea, tobacco, beet). Proceedings of the 8th Hungarian Congress on Plant Physiology and the 6th Hungarian Conference on Photosynthesis, 49(1-2): 39-40.
- Murashige, T., Skoog, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol Plant., 15: 473-497.
- Narasimhulu, S.B., Chopra, V.L. 1987. Species Spesific Shoot Rejuvenation Respone of Cotylodony Eksplants of Brassicas. Plant Cell Rep., 7: 104-106.
- Nishi, T., Yamada, Y., Takahashi, E. 1967. Organ Redifferentiation and Plant Restoration in Rice Callus. Department of Agricultural Chemistry, Kyoto University, Kyoto, Japan, Nature, 219: 508-509.
- Nitsch, C. 1968. Induction in Vitro de la Floraison Chez Une Plante de Jours Courts; *Plumbago indica* L. Annls So. Nat. Bot., 9: 1-92.
- Pierik, R.L.M., 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Rev. Gen. Bot., 72. 697-792.
- Tattersall, A., Millam, S. 1998. Establishment and in Vitro Regeneration Studies of the Potential Oil Crop Species *Camelina sativa*. Plant Cell Tissue Organ Cult., 55: 147-149.
- Turhan, H., Kılıç, G., Türkmen, O.S., Egesel, C. 2009. The Effects of Some Growth Regulators on Callus Induction of Sunflower (*Helianthus annuus* L.). Proceedings of the Second International Conference on Reserach People and Actual Tasks on Multidisciplinary Sciences, Lozenec, Bulgaria, 1: 196-199.
- Yamaguchi, M., Kato, H., Yoshida, S., Yamamura, S., Uchimiya, H., Umeda, M. 2003. Control of in Vitro Orgaogenesis by Cyclin-Dependent Kinase Activities in Plants. PNAS, 100(13): 8019-8023.
- Yemets, A.I., Yu, N.B., Shysha, E.N., Rakhmetov, D.B., Blume, Y.B. 2013. Establishment of in Vitro Culture, Plant Regeneration, and Genetic Transformation of *Camelina sativa*. Cytology and Genetics, 47(3): 138-144.
- Zubr, J. 1997. Oil-seedcrop: *Camelina sativa*. Industrial Crops and Products, 6: 113-119.