

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KARABUĞDAYDA (*Fagopyrum esculentum* Moench.) DOKU KÜLTÜRÜ
TEKNİKLERİYLE BİTKİ REJENERASYONU

Bahar ERGELDİ

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2025

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

KARABUĞDAYDA (*Fagopyrum esculentum* Moench.) DOKU KÜLTÜRÜ TEKNİKLERİYLE BİTKİ REJENERASYONU

Bahar ERGELDİ

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Melehat AVCI BİRSİN

Bu çalışmada, karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench.) farklı eksplantlarında kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisi araştırılmıştır. Materyal olarak tescilli Aktaş ve Güneş karabuğday çeşitlerinden elde edilen hipokotil, kotiledon, yaprak sapı ve yaprak eksplantları kullanılmıştır. Eksplantlar, kallus oluşumu için 2,4-D (2, 4, 6, 8 mg/L) ve BAP (0.5, 1, 1.5, 2 mg/L) farklı doz ve kombinasyonlarını içeren MS besisi ortamına alınmıştır. Kültürün ikinci haftasında oluşan kalluslar, TDZ (0.5, 1, 1.5, 2 mg/L), BAP (0.5, 1, 1.5, 2 mg/L) ve NAA (0.25, 0.5, 0.75, 1 mg/L) kombinasyonlarını içeren ortamda rejenerasyona aktarılmış, gelişen sürgünler ise IBA (0.5, 1 mg/L) içeren ortamda köklendirilmiştir. Kültür tepkilerinin belirlenmesinde kallus oluşumu, rejenerasyon oranı, petri başına sürgün sayısı, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün başına kök sayısı ve kök uzunluğu verileri değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre en yüksek kallus oranı, Aktaş çeşidinde yaprak sapı eksplantlarında 2 ve 8 mg/L 2,4-D ile 1.5 mg/L BAP (%100), Güneş çeşidinde ise hipokotil, kotiledon ve yaprak eksplantlarında 2 ve 8 mg/L 2,4-D ile 1.5–2 mg/L BAP kombinasyonlarında (%100) elde edilmiştir. En yüksek rejenerasyon oranı ise Aktaş'ta TDZ (0.5, 1 mg/L) + NAA (0.5, 0.75 mg/L) ve Güneş'te TDZ (1, 2 mg/L) + NAA (0.5, 1 mg/L) ile BAP (1.5, 2 mg/L) + NAA (0.25, 1 mg/L) kombinasyonlarında (%100) saptanmıştır. Sonuç olarak, kallus oluşumu ve rejenerasyon oranının genotip, eksplant türü ve hormon kombinasyonlarına bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca, abiyotik streslere karşı hassas olan karabuğdayda dayanıklılığı artırmak amacıyla etkili bir rejenerasyon protokolünün geliştirilmesi, genetik mühendisliği çalışmalarında zaman, emek ve maliyet açısından büyük önem taşımaktadır.

Eylül 2025, 156 sayfa

Anahtar Kelimeler: Karabuğday, Doku kültürü, Bitki Rejenerasyonu, Bitki büyüme Düzenleyiciler

ABSTRACT

PhD Thesis

PLANT REGENERATION BY TISSUE CULTURE TECHNIQUES IN BUCKWHEAT (*Fagopyrum esculentum* Moench.)

Bahar ERGELDI

Ankara University
Graduate School of Natural Applied Sciences
Department of Field Crops

Supervisor: Prof. Dr. Melehat AVCI BIRSIN

In this study, the effect of plant growth regulators on callus formation and plant regeneration in different explants of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) was investigated. Hypocotyl, cotyledon, petiole, and leaf explants obtained from the registered Aktaş and Güneş buckwheat varieties were used as material. The explants were placed in MS medium containing different doses and combinations of 2,4-D (2, 4, 6, 8 mg/L) and BAP (0.5, 1, 1.5, 2 mg/L) for callus formation. Callus formed in the second week of culture was transferred to a medium containing TDZ (0.5, 1, 1.5, 2 mg/L), BAP (0.5, 1, 1.5, 2 mg/L), and NAA (0.25, 0.5, 0.75, 1 mg/L) combinations. The developing shoots were rooted in a medium containing IBA (0.5, 1 mg/L). Callus formation, regeneration rate, number of shoots per Petri dish, number of shoots per explant, number of roots per shoot, and root length data were evaluated to determine culture responses. According to the results, the highest callus rate was observed in leaf stalk explants of the Aktaş variety with 2 and 8 mg/L 2,4-D and 1.5 mg/L BAP (100%), while the highest callus rate in the Güneş variety was obtained in hypocotyl, cotyledon, and leaf explants with 2 and 8 mg/L 2,4-D combined with 1.5–2 mg/L BAP (100%). The highest regeneration rate was detected in Aktaş with TDZ (0.5, 1 mg/L) + NAA (0.5, 0.75 mg/L) and in Güneş with TDZ (1, 2 mg/L) + NAA (0.5, 1 mg/L) and BAP (1.5, 2 mg/L) + NAA (0.25, 1 mg/L) combinations (100%). In conclusion, it was determined that callus formation and regeneration rates vary depending on the genotype, explant type, and hormone combinations. Furthermore, the development of an effective regeneration protocol to increase the resistance of buckwheat, which is sensitive to abiotic stresses, is of great importance in terms of time, labor, and cost in genetic engineering studies.

September 2025, 156 pages

Key Words: Buckwheat, Tissue culture, Plant regeneration, Plant growth regulators

TEŞEKKÜR

Tez çalışmasının konusunun belirlenmesi ve yürütülmesinde bana yardımcı olan, doktora tezimin başından sonuna kadar laboratuvar çalışmalarım ve istatistiki analizler de dahil olmak üzere bana büyük destek olan, bilgi ve deneyimlerinden çok faydalandığım değerli danışmanım Ankara Üniversitesi Tarla Bitkileri Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Melehat AVCI BİRSİN‘ e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Tezimin izleme komitesinde yer alan Sayın Prof. Dr. M. Sait ADAK ve Sayın Prof. Dr. Nusret ZENCİRCİ‘ye ayrıca çalışmalarım süresince teknik ve manevi desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Saime ÜNVER İKİNCİKARAKAYA‘ya sonsuz teşekkür ederim. Tezimin istatistik analizlerindeki önemli katkılarından dolayı Sayın Doç. Dr. Berk BENLİOĞLU‘na çok teşekkür ederim. Tarla Bitkileri bölümü teknikeri olan Sayın Mutlu GÜNEŞ‘e tez çalışmam süresince verdiği desteklerden dolayı teşekkürü bir borç bilirim. Doktora tezim süresince daima destek olan sevgili annem Zeliha ERGELDİ‘ye, sevgili kardeşim Pınar ERGELDİ‘ye ve canım kızım Zeynep Çağla ÇEKİÇ‘e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamı aynı başlık ve “FDK-2022-2690” proje numarası ile destekleyerek gerekli sarf malzemelerini sağlayan Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinasyon Birimi‘ne teşekkür ederim.

Bahar ERGELDİ

Ankara, Eylül 2025

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
1.1 Karabuğdayın Dünyada ve Türkiye’de Üretimi	1
1.2 Karabuğdayın, Taksonomisi ve Morfolojik Özellikleri.....	3
1.3 Karabuğdayın Önemi	7
1.3.1 Ekonomik önemi	7
1.3.2 Tarımdaki önemi.....	8
1.3.3 İnsan beslenmesindeki yeri ve önemi	10
1.3.4 Hayvan beslenmesindeki önemi	14
1.4 Karabuğdayda Doku Kültürü Çalışmaları.....	15
2. KAYNAK ÖZETLERİ	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	34
3.1 Materyal.....	34
3.1.1 Karabuğday çeşitlerinin morfolojik ve tarımsal özellikleri	34
3.2 Yöntem	35
3.2.1 Stok çözeltilerin hazırlanması.....	35
3.2.2 Steril saf suyun hazırlanması	36
3.2.3 MS besin ortamlarının hazırlanması.....	36
3.2.4 Ekipmanların sterilizasyonu	36
3.2.5 Eksplantların sterilizasyonu.....	37
3.2.6 Eksplantların besi yerlerine aktarılması.....	39
3.2.7 Verilerin değerlendirilmesi	40

4. BULGULAR VE TARTIŞMA	42
4.1 Kallus Oluşumu	42
4.1.1 Hipokotil eksplantlarından kallus oluşumu	45
4.1.2 Kotiledon eksplantlarından kallus oluşumu	51
4.1.3 Yaprak eksplantlarından kallus oluşumu	56
4.1.4 Yaprak sapı eksplantlarından kallus oluşumu	60
4.2 Rejenerasyon Oluşumu	65
4.2.1 Hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı	66
4.2.2 Kotiledon eksplantlarında rejenerasyon oranı	72
4.2.3 Yaprak eksplantlarında rejenerasyon oranı	78
4.2.4 Yaprak sapı eksplantlarında rejenerasyon oranı	84
4.3 Toplam Sürgün Sayısı	89
4.3.1 Hipokotil eksplantlarında toplam sürgün sayısı	89
4.3.2 Kotiledon eksplantlarında toplam sürgün sayısı	95
4.3.3 Yaprak eksplantlarında toplam sürgün sayısı	101
4.3.4 Yaprak sapı eksplantlarında toplam sürgün sayısı	107
4.4 Eksplant Başına Sürgün Sayısı	113
4.4.1 Hipokotil eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı	113
4.4.2 Kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı	119
4.4.3 Yaprak eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı	124
4.4.4 Yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı	128
4.5 Kök Oluşumu	134
4.5.1 Aktaş ve Güneş çeşidinin eksplantlarında sürgün başına kök sayısı	134
4.5.2 Aktaş ve Güneş çeşidinin eksplantlarında ortalama kök uzunluğu	139
5. SONUÇ	144
KAYNAKLAR	148
ÖZGEÇMİŞ	156

SİMGELER DİZİNİ

AgNO₃

Gümüş Nitrat

NaClO

Sodyum Hipoklorit

Kısaltmalar

2 IP

N6- (3-metilbut-2-enil) Adenin

2,4-D

2, 4-Dichlorophenoxyacetic Asit

AÖF

Asgari Önemli Fark

BA

Benzil Adenin

BAP

Benzil Amino Purin

DNA

Deoksiribo Nükleik Asit

IAA

İndole-3-Asetik asit

IBA

İndol-3-Butirik Asit

KIN

Kinetin

MS

Murashige ve Skoog Ortamı

NAA

Naphthaleneacetic Acid

PCR

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PSI

İnçkare Başına Libre

RAPD

Rastgele Büyütülmüş Polimorfik DNA

RNA

Ribo Nükleik Asit

SDS-PAGE

Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektroforez

STS

Dizi Etiketli Siteler

TİBA

Triiodobenzoik asit

TDZ

Tidiazuron

ZR

Zeatin Ribosid

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Tatar karabuğdayı ile yaygın karabuğday bitkileri arasındaki morfolojik farklılıklar	5
Şekil 1.2 Karabuğday taneleri a) Yaygın karabuğday, b) Tatar karabuğdayı.....	5
Şekil 1.3 Karabuğday taneleri, tohum kabuğu ve yabani karabuğday tanesi	6
Şekil 1.4 Karabuğdayın taç yaprakları beyaz ve pembe olan çeşitleri.....	6
Şekil 1.5 Karabuğdayın çiçeklenme dönemi.....	7
Şekil 1.6 Karabuğday'ın beslenmede kullanılan tohumları	11
Şekil 3.1 Eksplantların toplanması ve sterilizasyo.....	38
Şekil 4.1 Eksplantların sağlandığı bitkiler (a,b), yüzey strelizasyonu (c) ve hazırlık(d)	43
Şekil 4.2 Kallus ortamlarına alınma aşaması	44
Şekil 4.3 Hipokotil eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması.....	47
Şekil 4.4 Hipokotil eksplantlarında kallus oluşumu	48
Şekil 4.5 Kotiledon eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması.....	53
Şekil 4.6 Kotiledon eksplantlarında kallus oluşumu.....	54
Şekil 4.7 Yaprak eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması	58
Şekil 4.8 Yaprak eksplantlarında kallus oluşumu	59
Şekil 4.9 Yaprak sapı eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması.....	63
Şekil 4.10 Yaprak sapı eksplantının kallus oluşumu	64
Şekil 4.11 Gelişen kallusların rejenerasyon ortamlarına alınması	66
Şekil 4.12 Rejenerasyon kültür ortamları.....	66
Şekil 4.13 Hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması	69
Şekil 4.14 Hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oluşumu	70
Şekil 4.15 Kotiledon eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması.....	75
Şekil 4.16 Kotiledon eksplantlarında rejenerasyon oluşumu.....	76
Şekil 4.17 Yaprak eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması	81
Şekil 4.18 Yaprak eksplantında rejenerasyon oluşumu	82
Şekil 4.19 Yaprak sapı eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması.....	86
Şekil 4.20 Yaprak sapı eksplantlarında rejenerasyon oluşumu.....	87

Şekil 4.21 Hipokotil eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalaması	92
Şekil 4.22 Hipokotil eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu.....	93
Şekil 4.23 Kotiledon eksplantlarında petri başına sürgün sayısı ortalaması	98
Şekil 4.24 Kotiledon eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu	99
Şekil 4.25 Yaprak eksplantlarında petri başına sürgün sayısı ortalaması	104
Şekil 4.26 Yaprak eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu	105
Şekil 4.27 Yaprak sapı eksplantlarında petri başına sürgün sayısı ortalaması.....	110
Şekil 4.28 Yaprak sapı eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu.....	111
Şekil 4.29 Hipokotil eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması.....	116
Şekil 4.30 Hipokotil eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu.....	117
Şekil 4.31 Kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması	121
Şekil 4.32 Kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu	122
Şekil 4.33 Yaprak eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması	126
Şekil 4.34 Yaprak eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu	127
Şekil 4.35 Yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması.....	131
Şekil 4.36 Yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu.....	132
Şekil 4.37 Eksplantların sürgün başına kök sayısı ortalaması	136
Şekil 4.38 Eksplantlarda kök oluşumu.....	137
Şekil 4.39 Eksplantların sürgün başına kök uzunluğu ortalaması	141
Şekil 4.40 Eksplantların kök uzunluğu	142

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Yıllara göre Dünya karabuğday ekim, üretim ve verim	2
Çizelge 1.2 Dünya ve başlıca ülkelerin 2023 yılı karabuğday ekiliş, üretim ve verimleri	3
Çizelge 1.3 Karabuğdayın sınıflandırılması (Campbell 1997)	3
Çizelge 1.4 Karabuğday tanelerinin kimyasal içeriği	12
Çizelge 3.1 Kallustan bitki rejenereasyonu oluşumu için farklı oksin ve sitokinin kombinasyonları.....	40
Çizelge 4.1 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	45
Çizelge 4.2 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları	46
Çizelge 4.3 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	51
Çizelge 4.4 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları	52
Çizelge 4.5 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	56
Çizelge 4.6 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları	57
Çizelge 4.7 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	61
Çizelge 4.8 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları	62
Çizelge 4.9 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	67
Çizelge 4.10 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları	68
Çizelge 4.11 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	73
Çizelge 4.12 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	74
Çizelge 4.13 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi	79
Çizelge 4.14 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	80
Çizelge 4.15 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	84
Çizelge 4.16 Aktaş ve çeşidinin yaprak sapı eksplantının rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	85

Çizelge 4.17 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	89
Çizelge 4.18 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	91
Çizelge 4.19 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	95
Çizelge 4.20 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalaması.....	97
Çizelge 4.21 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi	101
Çizelge 4.22 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	103
Çizelge 4.23 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	108
Çizelge 4.24 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	109
Çizelge 4.25 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	113
Çizelge 4.26 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	115
Çizelge 4.27 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	119
Çizelge 4.28 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	120
Çizelge 4.29 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	124
Çizelge 4.30 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	125
Çizelge 4.31 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	129
Çizelge 4.32 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	130
Çizelge 4.33 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının sürgün başına kök sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları.....	134
Çizelge 4.34 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının sürgün başına kök sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları	135
Çizelge 4.35 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının ortalama kök uzunluğuna ilişkin varyans analizi sonuçları	139
Çizelge 4.36 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının kök uzunluğu ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları.....	140

1. GİRİŞ

Ekonomik açıdan gelişmiş toplumlarda insanların fiziksel etkinliklerinin yanında ekmek ve diğer tahıl ürünlerinin tüketim miktarları da önemli düzeyde azalmıştır. İnsanların ihtiyaç duydukları günlük enerjinin büyük kısmını et, yağ ve şeker içeriği yüksek gıdalardan tedarik etmeye başlamaları ile birlikte obezite, kalp rahatsızlıkları, diyabet ve bağırsak hastalıkları gibi bazı hastalıklarda artış gözlemlenmektedir. Buna karşılık da günlük besinlerde lif içeriği yüksek gıdaların bulundurulması önerilmektedir. Bu amaçla, sağlıklı gıdalara olan ilginin ve bilincin artmasıyla birlikte karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench.) beslenmedeki önemi daha da artmıştır (Dizlek vd. 2009).

Karabuğday'ın en önemli özelliği tanesinin gluten içermemesi nedeniyle çölyak hastaları için güvenilir bir besin kaynağı olmasıdır. Karabuğday proteinleri albumin ve globulin bakımından zengindir. Ancak glutelin ve prolamin içeriği bakımından fakirdir. Bu nedenle, karabuğday unundan hazırlanan besinlerin gluten içeriği düşüktür. Bunun için gluten hassasiyeti olan bireyler için karabuğday tanesi ve içeriğinde karabuğday yer alan ürünler önerilmektedir. Karabuğday üretiminin artmasıyla birlikte çölyak hastaları için ucuz ve güvenilir besin sağlanabilecektir. Ayrıca karabuğday, yeşil gübre olarak, erozyon kontrolü, hayvan beslenmesi ve bal özü bitkisi vb. alanlarda da kullanılmaktadır (Okudan ve Kara 2015).

1.1 Karabuğdayın Dünyada ve Türkiye’de Üretimi

Yaygın karabuğday türü (*Fagopyrum esculentum* Moench.) ve tatar karabuğdayı (*Fagopyrum tartaricum* Gaerth.) gıda kaynağı olarak en çok yetiştirilen karabuğday türleri olup, tatar karabuğdayı daha çok Çin’in güney batısında; yaygın karabuğday türü ise Çin’in kuzeyinde yetiştirilmektedir. Ülkemizde ekim alanı çok az olan karabuğday, dünyanın birçok ülkesinde üretilmektedir. Karabuğday, ekonomik değeri yüksek, aynı zamanda tüketimi her geçen gün artan ve çok yönlü kullanım alanına sahip bir bitkidir. Karabuğdayın güçlü adaptasyon yeteneği olması nedeniyle farklı iklim koşullarında yetişebilir fakat anavatanı Çin olduğu için kuzey yarımküre ve Rusya, Ukrayna,

Kazakistan, Polonya, Fransa gibi Avrupa ülkeleri ile Brezilya, ABD, Kanada'da yetiştirilmektedir.

Yıllara göre Dünya karabuğday ekiliş, üretim ve verim değerleri Çizelge 1.1'de verilmiştir. Çizelge 1.1'de görüldüğü gibi; 2013 – 2023 yılları arasında Dünya karabuğday ekim alanı 1,9 milyon hektar ile 2,9 milyon hektar arasında değişmiş, en yüksek ekim alanı 2017 yılında yaklaşık 3 milyon hektar; aynı dönemde üretimi ise yaklaşık 3 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Dünya birim alan verimi de ortalama 98 kg/da'dır. (Anonymous 2025a).

Çizelge 1.1 Yıllara göre Dünya karabuğday ekim, üretim ve verim

Yıllar	Ekim (Ha)	Üretim (Ton)	Verim (Kg/Da)
2013	2 263 608	2 263 764	100
2014	1 997 523	1 920 366	96
2015	2 025 169	1 923 740	95
2016	2 474 608	2 589 785	105
2017	2 940 573	3 036 091	103
2018	2 114 691	1 945 554	92
2019	1 838 204	1 723 879	94
2020	1 855 059	1 805 936	97
2021	1 984 755	1 868 692	94
2022	2 232 857	2 231 443	100
2023	2 187 546	2 204 015	101

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Dünya ve başlıca ülkelerin 2023 yılı karabuğday ekiliş, üretim ve verim değerleri Çizelge 1.2'de verilmiştir. Çizelge 1.2 incelendiğinde; 1 milyon hektarlık ekim alanı ile Rusya'nın ilk sırada yer aldığı görülmektedir. Rusya'yı, 624 bin hektar ile Çin ve 148 bin hektar ekim alanı ile de Ukrayna izlemiştir. 2023 yılında en fazla üretimi de yaklaşık 1.15 milyon ton ile Rusya gerçekleştirmiştir. Rusya 2023 yılı toplam üretimi ile dünya üretiminin (1.03 milyon ton) yaklaşık 1/2'sini tek başına sağlamıştır. Bunu sırasıyla yaklaşık 624 bin ton ve 148 bin ton üretim yapan Çin ve Ukrayna takip etmiştir (Anonymous 2025a). Ülkemizde yeni olan karabuğday bitkisinin 2023 yılı itibarıyla üretim miktarı 253 ton civarındadır (Anonymous 2025b). Günümüzde karabuğdaya olan

ilgi sağlıklı bir gıda olması ve organik tarım için alternatif bir ürün olarak kullanılabilmesi nedeniyle artmıştır.

Çizelge 1.2 Dünya ve başlıca ülkelerin 2023 yılı karabuğday ekiliş, üretim ve verimleri

Ülkeler	Ekim (Ha)	Üretim (Ton)	Verim (Kg/da)	Üretim, %
Rusya	1 037 110	1 149 067	111	47.41
Çin	624 246	504 266	81	28.54
Ukrayna	147 900	210 720	142	6.76
Kazakistan	114 484	83 491	73	5.23
Kanada	13 493	11 715	87	0.62
Dünya	2 187 546	2 204 015	101	100

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

1.2 Karabuğdayın, Taksonomisi ve Morfolojik Özellikleri

Karabuğday, kuzukulağıgiller (Polygonaceae) familyasından *Fagopyrum* cinsine dahil, vejetasyon dönemi kısa, geniş yapraklı, tek yıllık otsu bir bitki türüdür (Kara ve Telli 2016). *Fagopyrum* cinsinin, dünyanın farklı bölgelerine dağılmış yaklaşık 15 türe sahip olduğu bilinmektedir. Yaygın karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench.) ve Tatar karabuğdayı (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) bu bilinen türler arasında sınıflandırılmaktadır (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3 Karabuğdayın sınıflandırılması (Campbell 1997)

Sınıflandırma	Adı
Alem	<i>Plantae</i> – Bitkiler
Altalem	<i>Tracheobionta</i> – Vasküler Bitkiler
Üst Bölüm	<i>Spermatophyta</i> – Tohum Bitkileri
Bölüm	<i>Magnoliophyta</i> – Çiçekli Bitkiler
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i> – Dikotiledonlar
Altsınıf	<i>Caryophyllidae</i>
Takım (Sıra)	<i>Caryophyllales</i>
Familya	<i>Polygonaceae</i>
Cins	<i>Fagopyrum</i> Mill.
Tür	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench.

Bu iki önemli tür dışında daha az bilinen ve daha az yetiştirilen *Fagopyrum cymosum* türü ise özellikle Asya'da geleneksel olarak kullanılır ve uzun karabuğday olarak adlandırılır. Yaygın karabuğdayın yetişmesi için kuzey yarım kürenin ılıman bölgeleri uygunken Tatar karabuğdayı için ise genelde daha yüksek bölgeler elverişlidir (İnanır vd. 2019).

Buğday, çeltik ve arpa gibi tarımı fazla yapılan tahıllardan farklı bir bitki olan karabuğday, tahıllarla hem benzerlik hem de farklılık gösteren pseudo-cereal (tahıl benzeri) grubunda yer almaktadır (Hayıt ve Gül 2008). Karabuğdayı serin iklim (buğday, arpa, çavdar, yulaf) ve sıcak iklim (mısır, çeltik ve darılar) tahıllarından ayıran temel farklılık çift çenekli (dikotiledon) olmasıdır.

Karabuğday; tohum boyutu ve şekli, perikarp rengi, çiçek rengi, bitki boyu, yaprak boyutu ve şekli gibi birçok özellikte büyük değişiklik göstermektedir. Şekil 1.1'de görüldüğü gibi tatar karabuğdayı ile yaygın karabuğday türünün yaprak boyut ve şekil farklılıkları bulunmaktadır. Ancak her iki türde de yaprak sapı her zaman tabanda bir kılıf ile çevrilidir. Yaygın karabuğday bitkisi geniş yapraklı, kısa kalın gövde yapısına sahiptir ve kısa saçak kökleri mevcuttur. Ancak tatar karabuğdayının yaprakları daha dar, gövdesi daha ince, uzun ve uzun saçak kökleri vardır.



Şekil 1.1 Tatar karabuğdayı ile yaygın karabuğday bitkileri arasındaki morfolojik farklılıklar

Şekil 1.2.a ve b’de görüldüğü gibi karabuğdayın taneleri (tohumları) büyük üçgen prizma şeklinde ve köşeli olup, kabukla (perikarp) kaplıdır. Çeşitlere göre değişmekle birlikte 4 mm genişlik ve 6 mm uzunluk ile 2 mm genişlik ve 4 mm uzunluk arasındadır. Tane iriliği genoslara göre farklıdır. Bin tane ağırlığı 25-35 gr arasında değişmektedir. 25 gramın altında olanlar küçük taneli, 25-30 gr orta, 30-35 gr büyük, 35 gr üstü ise çok büyük taneli olarak ayrılmaktadır. Kabuğu çıkartılmış karabuğday tanelerine “groat” denilmekte ve kimyasal kompozisyonu ve görünüşü ile tahıl tanelerine benzemektedir (Kan 2014).



Şekil 1.2 Karabuğday taneleri a) Yaygın karabuğday, b) Tatar karabuğdayı

Şekil 1.3’de görüldüğü gibi karabuğday tohum kabuğunun şekli, büyüklüğü ve rengi bitkinin türlerine göre değişiklik gösterebilmekte ve tohum kabukları parlak, mat kahverengi, siyah veya gri olabilmektedir. Yaygın karabuğday türü; daha büyük tohum yapısı, kolay soyulabilen kabuk ve lezzetlidir. Bu nedenle, tatar karabuğdayından daha çok tüketilmektedir. Aksine, tatar karabuğdayı ise daha küçük bir tohuma, zor soyulan kabuğa ve acı bir tada sahip olması ile karakterize edilmektedir (Dizlek vd. 2009). Tanedeki toplam kuru maddenin; çeşitlere göre değişmekle birlikte %59-70’i nişasta, %11-15’i protein ve %1.5-3.7 yağlardan oluşmaktadır (Campbell 1997). Karabuğdayın en önemli kalite kriterleri; rengi ve lezzetidir. Yeni hasat edilmiş karabuğday tohumları açık yeşil renklidir (Dizlek vd. 2009).



Şekil 1.3 Karabuğdayı taneleri, tohum kabuğu ve yabani karabuğday tanesi

Karabuğday bitkisinin çiçek rengi genellikle Avrupa, Kuzey Amerika ve Japonya’da beyaz ancak Güneydoğu Asya ve Güney Çin’de genellikle pembedir. Karabuğday bitkileri, ekimden 3 ila 6 hafta sonra çiçek açmaya başlar ve birkaç hafta boyunca sürekli çiçek açar. Karabuğday yabancı döllendir, çiçekler kendine kısırdır ve dölleme için böcekler veya rüzgara ihtiyacı vardır. Şekil 1.4’de görüldüğü gibi beyaz veya pembe olan çiçekleri kokulu olup, bal arıları için de oldukça çekici bir bitkidir (Anonim 2008).



Şekil 1.4 Karabuğdayın taç yaprakları beyaz ve pembe olan çeşitleri

Karabuğday bitkisinin boyu yetiştirme koşullarına göre 60-120 cm arasında değişen, dallanan ve yapraklar düz olmayan üçgen şeklinde bir görünüme sahiptir. Karabuğday 8-12 hafta arasında vejetasyon süresini tamamlar ve bitki üzerindeki ana, orta ve alt dallarda olgunlaşma heterojenlik gösterir. Şekil 1.5’de görüldüğü gibi karabuğdayda olgunlaşma alt dallardan başlar, yukarıya doğru devam eder ve aynı zamanda çiçeklenme de devam eder ve üniform olgunlaşma olmaz, hasat zamanında bitki üzerinde çiçekler, yeşil ve olgun taneler aynı anda bulunur (Kara ve Gürbüz 2017).



Şekil 1.5 Karabuğdayın çiçeklenme dönemi

1.3 Karabuğdayın Önemi

1.3.1 Ekonomik önemi

Son yıllarda tahıl ve sebze kadar değerli bir gıda ürünü haline gelen Karabuğdayın üretimi birçok ülkede artmıştır. Yüksek besin değerlerine sahip olmasının yanı sıra zor koşullar altında yetiştirilebilme olanakları da tarımını yaygınlaştırmaktadır. Karabuğday, marjinal topraklarda düşük girdi maliyeti ile yüksek birim alan verimine sahiptir. Karabuğdayın çevresel faydalarının belirlenebilmesi zor olsa da, ikinci ürün olarak maliyet açısından etkin olduğunu göstermek için bazı çalışmalar yapılmıştır.

Gül ve Birer (2017) 47 çiftçi ile yaptıkları çalışmada, Karabuğday çiftçilerinin sosyo-ekonomik durumları ve teknik alt yapılarını tespit etmek için yapılan ankette, üretim maliyeti ile karlılık baz alınmış ve çiftçilerin koşullarında karabuğday üretiminin karlı olduğu ortaya çıkarılmıştır. Sürdürülebilir karabuğday tarımı için çiftçilerin gereksinim duyduğu teknik bilgilerin ve devlet ve sivil toplum kuruluşları tarafından sağlanmasının uygun olacağı bildirilmiştir.

1.3.2 Tarımdaki önemi

Karabuğday bitkisinin pek çok toprak yapısında kolaylıkla yetişebilme özelliği nedeniyle geniş bir adaptasyon kabiliyetine sahip olduğu bilinmektedir.

Karabuğday; tarımında yoğun tarımsal girdi kullanılmaması, tahıllara göre daha kısa vejetasyon süresine sahip olması ile birlikte münavebeye uygun bir bitki olması gibi önemli tarımsal avantajlara sahip bir bitkidir. Karabuğday bitkisinin tarımı tahıl ve baklagil bitkilerine benzerlik gösterdiği için tarımı ülkemizde daha kolay yaygınlaşabilecektir.

Hızlı gelişme özelliğine sahip olan karabuğday bitkisi, vejetasyon süresi kısa olan bölgeler için önemli bir alternatif kültür bitkisi olmasının yanı sıra vejetasyon süresi uzun olan bölgeler için de ikinci ürün bitkisi olarak faydalanma imkânı sağlamaktadır. Kullanım alanları çok çeşitli olan karabuğday bitkisinin tohumları insan ve hayvan beslenmesinde kullanıldığı gibi tarımsal üretimde iyi bir örtü ve yeşil gübre bitkisi olarak aynı zamanda tıbbi amaçlarla da faydalanılabilmektedir (Katar ve Katar 2017).

Özellikle bu bitkinin su tüketiminin düşük olması, su kaynaklarının yetersiz olduğu bölgelerde yetiştirilmesi açısından önemli görülmektedir. Ülkemiz için yüksek katma değer potansiyeline sahip karabuğday bitkisinin hem ova hem de yayla ekolojik koşullarında üretilmesi ülke tarımına katma değer sağlaması açısından önem arz etmektedir. Konya ovası ekolojik koşullarında bitki ile yapılan çalışmalarda yeterli miktarda tohum verimi (ortalama 100 kg/da) alınabileceğini göstermiştir (Acar vd.

2011). İlerleyen dönemlerde ülkemizde üretilip işlenmesi planlanan karabuğdayın yurt içi talebin karşılanması ötesinde ithalat potansiyelinin olabileceği de tahmin edilmektedir.

Karabuğdayın karbon sekestrasyon mekanizmaları için önemli olan fitolit ve fitolit-tikalı organik karbon içerdiği ve bu nedenle, karabuğday yetiştiriciliğinin bir fitolit karbon havuzu potansiyeli olduğu ve karbon döngüsü düzenlemesinde önemli bir rol oynayabileceği belirtilerek, yaygın ve tartary karabuğdayının fitolit karbon sekestrasyonunun karasal çalı bitki örtüsüne eşit olduğu tahmin edilmektedir. Bu sebeble, karabuğday tarımının fitolit karbon yutağı olarak iklim değişikliğiyle mücadelede rol oynayabileceği düşünülmektedir (Wang ve Sheng, 2022)

Karabuğdayın toprak seçiciliğinin çok az olması ve fakir topraklarda kolay yetişmesi, hızlı büyümesi ve toprağı kaplaması nedeniyle yeşil gübre olarak diğer bitkilerin yetiştirilemediği yerlerde alternatif olabilir. Yeşil gübre olarak kullanılması tercih edildiğinde 2. ürün olarak ekilmesi daha yararlı olacaktır. Karabuğday topraktaki fosfordan iyi yararlanıp biriktirmesiyle de bir sonraki bitkiye besin maddesi bakımından zengin bir toprak bırakmaktadır. Ekimden 4-5 hafta ve çiçeklenmeden bir hafta on gün sonra yeşil gübre olarak toprağı karıştırılmalıdır. Toprağı karıştırılması gecikirse tohumlar fizyolojik olumunu tamamlamış olabilir, bu da tarlaya gelecek sonraki ürün açısından sorun oluşturabilecektir. Karabuğday yararlı bir yeşil gübre bitkisidir. Önemli miktarda kuru madde üretir. Uygun şartlarda hektar başına kuru madde miktarı üç ton olarak saptanmıştır. Yeşil gübreleme toprağın organik madde miktarını artırarak toprağın besin ve nem içeriğini artıracaktır.

Yabancı ot ilaçlarının kullanılmaması gereken alanlarda (organik tarım uygulamalarında), rekabet gücünün yüksek olması ve hızlı gelişmesi, sık dal ve yapraklarının gölge oluşturması gibi nedenlerle karabuğdayın ekim nöbetine alınması yararlı olacaktır ve böylece organik karabuğday üretimi de teşvik edilecektir. Yabancı ot gelişimini engellemek için sık ekim yapılması da önemlidir. Hızlı gelişip toprağı kaplama özelliğı, arazi su ve rüzgar erozyonuna karşı koruyacaktır. Karabuğdayın topraktaki kurşun gibi ağır metalleri toplayıcı özelliğinin, toprakların iyileşmesini

sağladığı ve ağır metallerin bitkiye zarar vermediği, yaprak, dal ve köklerde biriktiği bildirilmektedir.

1.3.3 İnsan beslenmesindeki yeri ve önemi

Karabuğday insan beslenmesinde ya direkt taneleri ya da taneden elde edilen un ve unlu mamuller olarak kullanılmaktadır. Diğer karabuğday ürünleri karabuğday filizi, karabuğday çiçek balı, yeşil karabuğday çayı, karabuğday birası, karabuğday sirkesi ve sebze olarak da tüketilebilmektedir (Dizlek vd. 2009).

Karabuğdayın yaygın olarak bilinen üç farklı formu vardır:

- Kabuğu alınmış karabuğday taneleri (groats): Bunlar, ısıtılma işlemine tabi tutulmamış çiğ karabuğday taneleridir. Bu taneler kırılmış veya bütün, yenilmeyen dış siyah kabukları alınmış haldedir. İşlenmemiş beyaz taneler biraz acıdır, bu nedenle pişirilmeden önce birkaç dakika az yağla kavrulursa bu acı tat gider ve hoş bir tat alır.
- Karabuğday kahvaltılık gevreği: Karabuğdayın iri taneler haline getirilmiş bir formudur. Genel olarak kahvaltılarda kullanılır. Bu amaçla ısıtılma işlemine tabi tutulmuş karabuğday tanelerinin doğal acılığının yağda kavrulmak suretiyle giderilmesi ve tatlı hoş bir lezzet alması ile “Kasha” olarak nitelenen karabuğday ürünü hazırlanır. “Kasha”nın üretimi Avrupa ve Amerika’da çok yaygındır.
- Kabuğu alınmamış karabuğday taneleri: Bu taneler filizlendirme için kullanılır.

Karabuğdayın en çok unu kullanılmaktadır. Karabuğday unu; kek, ekmek, makarna, erişte, şehriye, muffin, kraker, kurabiye, krep ve tortilla gibi unlu mamullerin yapımında kullanılır. Kahvaltılık gevreği olarak yenildiği gibi değirmenlerde parçalanıp Amerika’da “porridge” denilen yulaf lapası, Kore’de “naengmyeon” ismi verilen karabuğday unu ile yapılan soğuk şehriye çorbası ve İtalya’nın kuzey bölgelerinde “pizzoccheri” yapımında kullanılır. Çorbalarda, pudinglerde, tatlılarda, dondurma külahı yapımında kullanılır.

Japonya’da karabuğday çoğunlukla “soba” ya da “sobakiri” (karabuğday eriştesi) üretiminde kullanılır. “Soba” karabuğday unu ile buğday ununun karıştırılmasıyla ticari ya da ev koşullarında hazırlanan bir üründür. Ayrıca, yine Japonya’da bitkinin genç yaprakları sebze olarak tüketilir. Rus ordusunda karabuğday tereyağla pişirilerek (Kasha) askerlerin beslenmesinde kullanılır. Hem “Kasha” hem de “groat” fırında, buharda ya da kaynatılarak pişirmek suretiyle patates ve pirince alternatif olarak kullanılır. Almanya’da sebzeli yemeklerin kıvamının artırılması amacıyla kullanılır, ayrıca tatlılara ve diğer gıdalara ilave edilir. “Crumpet” denilen ve Hollandalı çocuklar tarafından çok sevilen çok besleyici ve hazmedilebilir olduğu söylenen bir tür pasta yapımında kullanılır. Karabuğday tanelerinden bira yapılır. Amerika Japonya’ya karabuğday birası ihraç etmektedir. Çiçekleri kahverengi boya yapımında kullanılır.

Karabuğday tohumları (şekil 1.6), Japonya’da çoğunlukla erişte olarak kullanılırken Avrupa ve Kuzeyde Amerika’da karabuğday unu genellikle krep hazırlamak için buğday unu ile karıştırılarak ve ayrıca bisküvi, erişte, tahıl ve et sulandırıcı olarak da kullanılmaktadır. Rusya ve Polonya’da yulaf lapası ve çorba yapmak için kabuğu çıkarılmış tane ve unu kullanılmakta, İsveç’te ise balık doldurmak için kullanılmaktadır. Karabuğday, Güneydoğu Asya’da pek çok engebeli alanda temel bir besin kaynağı olup, mayasız ekmek denilen *chapattis* yapmak için kullanılmakta ve ayrıca su ile karıştırılarak gevrek bir *pakora* kızartmak için de kullanılmaktadır. *Parathas* yapmak için unu patateslerle karıştırılabilmektedir. Alkollü içki ve özellikle Çin’de sirke üretiminde kullanılan Karabuğdayın likörünün tıbbi nitelikte olduğu da belirtilmiştir (Campbell 1997).



Şekil 1.6 Karabuğday’ın beslenmede kullanılan tohumları

Karabuğday tanesinin kimyasal içeriği Çizelge 1.4’de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi; genel kimyasal kompozisyonu insan vücudunun yapı taşı olan bileşenleri içermektedir.

Karabuğday unu vücuda gerekli mineral içeriği bakımından da çok iyi bir kaynaktır. İşleme ile bu bileşenlerini kaybetmemesi eklendiği ürünü besinsel ve fonksiyonel olarak zenginleştirmektedir. Makro elementlerden fosfor (P) potasyum (K), magnezyum (Mg) ve kalsiyum (Ca) miktarı kuru ağırlıkta 100 mg/kg’dan fazladır. Mikro elementler makro elementlerle karşılaştırıldığında daha az bulunmaktadır.

Çizelge 1.4 Karabuğday tanelerinin kimyasal içeriği

BİLEŞEN	MİKTAR (%)
NEM	9.6 -13.8
NİŞASTA	55-75
PROTEİN	10- 12.5
LİF	7 -10.7
LİPİD	1.4- 4.7
KÜL	1.3- 2.3
DİĞER BİLEŞENLER	15- 20

Kaynak: Dizlek vd. 2009

Mikro elementlerden; Demir (Fe), manganez (Mn) ve çinko (Zn) miktarı diğerlerine oranla fazladır. Vitamin çeşitliliği bakımından da zengin olan karabuğday, A (karotenoidler), B1 (tiamin), B2 (riboflavin), B3 (niasin), B5 (pantotenik asit), B6 (piridoksin), C (askorbik asit) ve E (tokoferoller) vitaminlerini içermektedir. B1, B2, B3, B5 ve B6 vitaminlerinin konsantrasyonları sırasıyla 0.22, 0.1, 1.8, 1.1 ve 0.17 mg/100g, (E Vitamini, doğal olarak oluşan tüm tokoferol formlarını temsil eder) toplam tokoferol konsantrasyonu ise 1.43 – 5.5 mg/100g olarak bildirilmiştir (Bobkov 2016). Yaygın karabuğday tanelerinde toplam flavonoid içeriği yaklaşık 10 mg/g iken *Fagopyrum tataricum*'da toplam flavonoid içeriği dört kat daha fazladır (Bobkov 2016).

Tohumları diğer karabuğday çeşitlerine göre en yüksek biyoflavonoid rutin içeriğine sahip olduğundan ilaç sektöründe ilgi çekmiştir. Rutin olarak bilinen Quercetin 3-O-β

rutinoside büyük oranda antioksidan, antihipertansif ve antiinflamatuvar potansiyele sahiptir (Dar vd. 2018).

Tahıllarla karşılaştırıldığında, bütün temel aminoasitler (özellikle lizin, treonin, triptofan) bakımından yüksek konsantrasyona sahip olmasından dolayı ve bünyesinde bulundurduğu sülfür içeren aminoasitler ile birlikte dengeli aminoasit kompozisyonu bakımından karabuğday proteini yüksek besin kalitesine sahiptir. Karabuğday proteinleri albumin ve globulin bakımından zengin iken glutelin ve prolamin içeriği bakımından fakirdir. Bu nedenle karabuğday unu ya da kırmısı ile hazırlanan hamurlarda öz (gluten) oluşmaz. Lizin ve arginin bakımından zengin olan aminoasit kompozisyonu sebebiyle karabuğday proteini yüksek biyolojik değere sahiptir (Dizlek vd. 2009).

Çölyak hastalarına alternatif bir ürün olarak ön plana çıkan karabuğdayın besin öğeleri, biyoaktif bileşenleri, sağlık üzerine olumlu etkileri ve fonksiyonel özellikleri üzerine yapılmış pek çok bilimsel araştırma vardır. Çölyak hastaları için uygun gıdaların besleyici değerinin arttırılmasında karabuğdayın, amarant ve kinoa kullanımı, umut verici olarak görülmektedir. Buğday yerine kullanılan bu tahılların teknolojik ve besleyici özellikleri incelendiğinde çölyak hastalarının protein, demir, kalsiyum ve diyet lifi gereksinimlerine önemli katkısı olduğu saptanmıştır (Türksoy ve Özkaya 2006).

İnsan sağlığına olan önemli etkileri ve besleyici içeriği sayesinde alternatif bir gıda maddesi olarak değerlendirilen karabuğdayın hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarında da yüksek kolesterol, hipertansiyon ve diyabeti engellediğini görülmüştür (Hayıt ve Gül 2008).

Karabuğday, diğer tahıl ürünlerine kıyasla daha fazla antioksidan, antiinflamatuvar ve antikanserojen özelliklere sahip bir rutin olan kuersetin-3-rutinosid içermekte olup, insanlarda hemorajik hastalıklarla ilişkili kan damarlarının kırılabilirliğini da azaltabileceği belirtilmiştir (Baumgertel vd. 2003)

Karabuğdayın genç sürgünleri ile çiçek ve yeşil yaprakları, rutin olarak bilinen glikozit içeriği nedeniyle, retinal kanamaya yol açabilen beyindeki damarların yırtılması ile sonuçlanan hipertansiyon ve kardiyovasküler bozuklukların tedavisi için ya da bu durumu önlemek için kullanılmaktadır. Ayrıca bu glikozitin böbrek kanaması, kalıtsal hemorojik lezyonlar, hemofili ve bazı hemerojik hastalıkların tedavisinde kullanımının da başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Rajbhandari 2004).

Karabuğday bitkilerinin sadece tohumları değil aynı zamanda diğer kısımları da biyolojik değeri yüksek bileşikler bakımından zengindir. Karabuğdaydaki genotipik varyasyonun toplam biyoaktif bileşikleri çevre açısından önemli rol oynamaktadır. Karabuğday çeşitlerinde, gıda ve tıbbi kullanım için geniş ölçüde yararlanılabilecek yüksek biyoaktif bileşik çeşitliliği mevcuttur (Sytara vd. 2016). Özellikle *Fagopyrum cymosum* türü Çin tıbbında önemli bir yere sahip olmuştur (İnanır vd. 2019).

İnsanlarda görülen bazı hastalıkların önlenmesinde karabuğdayın yararlı etkilerine dair çeşitli raporlara rağmen, farklı karabuğday genetik kaynaklarında biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerin değişkenliğine çok az ilgi gösterilmiştir. Karabuğday bitkilerinin bitkisel kütlelerinde biyolojik olarak bulunan aktif bileşiklerin (fitosteroller, flavonoidler, fagopirinler, fenolik asitler, lignanlar ve vitaminler) yüksek içeriği genetik kaynakların seçiminde gelecekteki ana hedef haline gelme ve beslenme etkilerine yönelik üreme açısından önemlidir (Sytara vd. 2016).

1.3.4 Hayvan beslenmesindeki önemi

Karabuğday küçük ve büyükbaş hayvan ile yumurta tavukçuluğunda yem olarak kullanılmaktadır. Çeşitli araştırmalarda da rasyonlara katılabileceği, toplam karışımın 1/3'ü kadar ilave edilebileceği belirtilmiştir (Acar 2009). Yem bitkilerinde, yüksek yeşil ve kuru ot verimi bitkilerin tercih edilmesi için önemli bir özelliktir. Özellikle yem açığının giderilmesinde verim, kaliteden daha önceliklidir. Bunun yanında kalitesinin (protein, karbonhidrat ve mineraller) yüksek olması, yetiştiriciliğinin kolay olması, ekstrem koşullarda yetişebilmesi ve hızlı gelişmesi yem değerini yükseltmektedir. Diğer

bitkilerde olduğu gibi karabuğdayda da verim; çevre koşullarına, yetiştirme tekniklerine, çeşide, hasat zamanına ve üretim amacına göre değişmektedir.

Karabuğdayın yeşil ve kuru ot veriminin korunga, fiğ ve çavdardan yüksek, yonca, mısır, sorgum x sudanotu melezi, buğday, arpa, tritikale ve yulaftan düşük olduğu; ancak çiçeklenme başlangıcında düşük olan yeşil ve kuru ot veriminin, hasat dönemi geciktikçe yükseldiğı saptanmıştır (Kara ve Yüksel 2014).

Karabuğdayda hasat dönemine kadar çiçeklenme devam etmektedir, bu nedenle yeşil ot amacıyla dane hasadından 10-15 gün önce biçim yapılmaktadır. Kara ve Yüksel (2014), karabuğdayın %50 tane oluşum döneminde yeşil ot veriminin 2 847.3 kg/da ve kuru ot veriminin 890 kg/da olduğunu ve bu dönemde bitki üzerinde çiçeklenmenin devam ettiğini ve bitkinin yeşilliğini koruduğunu bildirmiştir. Ayrıca hayvancılık yapan işletmelerde ekim nöbetine alınarak birim alanın daha etkili kullanımını ve daha ucuz yem elde edilmesini sağlayabilir.

1.4 Karabuğdayda Doku Kültürü Çalışmaları

Bitki doku kültürü, aseptik koşullarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri) doku (çeşitli bitki kısımları = eksplant) veya organ (apikal meristem, kök vb.) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki ya da bitkisel ürünlerin (metabolitler gibi) üretilmesidir. 20. yüzyılın ortalarından bu yana, doku kültürü tekniğinin birçok bitki türü için hızla gelişimiyle birlikte hücre biyolojisi çalışmasında ve pratik kullanımda büyük fırsatlar yaratmıştır (Suvorova 2016).

Bitki genetik kaynaklarının korunmasında da biyoteknolojik yöntemler (moleküler biyoloji, doku kültürü vb.) ön plana çıkmaktadır (Özgen vd. 2005). Biyoteknolojik yöntemler arasında en önemli yöntemlerden biri olan bitki doku kültüründe; eksplant seçimi, besin maddelerinin miktarı, kullanılacak hormonların dozları ve

kombinasyonları ile uygun mikro çoğaltım tekniğinin kullanılması başarının en önemli parametreleridir (Özgen vd. 2000).

Bitkilerde büyümeyi düzenleyen maddeler bitkiler tarafından oluşturulabildiği gibi çok düşük miktarlarda bitkiye dışarıdan da verilebilmektedir. Bahse konu bu hormonlar, bitkideki büyüme, gelişme ve diğer fizyolojik olayları tek başına ya da farklı hormonlarla birlikte olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Sadece oluşturdukları dokularda değil aynı zamanda bitkinin diğer kısımlarına da taşınabilen ve etkilerini diğer organlarda da gösterebilen organik maddelerdir (Kumlay ve Eryiğit 2011).

Bu maddelerden stimülatör adı verilen ve bitki büyüme ve gelişmesini uyarıp hızlandıran gruba oksin ve sitokinin denilmektedir. Doku kültürü çalışmalarında en çok kullanılan oksinler, NAA (Naftalen asetik asit), 2,4-D, IBA ve sitokininler ise TDZ (Tidiazuron), BAP (6-Benzil Amino Purin) olarak bilinmektedir. Oksinler; tarımda en önce kullanılan hormonlardır (Halloran ve Kasım, 2002). Bunlar; hücre uzaması, doku gelişimi ve kök oluşumunun teşvik edilmesi için hücre genişlemesi ve büyümeye neden olan maddelerdir. Oksin, bitkiler tarafından sentezlenir ve en çok bulunan oksin formu ise Indol-3-asetik asit (IAA)'tır (Grunewald vd. 2009). Sitokininler; bitki dokularında hücre bölünmeleri esnasında ortaya çıkan, diğer hormonların aksine, hem bitkilerde, hem de hayvanlarda bulunan kinin yapısındaki organik maddelerdir. Sentetik phenylurea türevleri, thidiazuron (TDZ) ve N-(2-chloro-4-pyridyl)-N'- phenylurea (CPPU) olarak bilinen 1-phenyl-3-(1,2,3-thiadiazol-5-yl) üre ve doğal olarak meydana gelen adenin türevleri kinetin (KIN) ve 6-benzyladenine (BA) olarak ikiye ayrılırlar. Sentetik türev olan TDZ adenin türevlerinden daha yüksek etki düzeyine sahiptir (Te-chato vd. 2008). Sitokinin grubundan olan BAP sürgün oluşumunda ve oksin grubunda olan IBA köklenme aşamasında etkilidir (Pierik 1997).

Bitki hücre ve doku kültürleri, gelişmiş bitki çeşitlerinin elde edilişinde önemli bir rol oynamaktadır. Mikro çoğaltmanın bir parçası olan bitki rejenerasyon sistemleri ve Karabuğdayda bitki gelişimine yol açan moleküler yaklaşımlar çok önemlidir (Park ve Park 2018).

Son yıllarda, karabuğday, insan sağlığına sayısız faydası ve glüten içermemesi nedeniyle umut vaat eden bir fonksiyonel gıda kaynağı olarak giderek daha fazla ilgi görmektedir. Ayrıca, karabuğday türleri, habitatları ve biyolojik çeşitliliği artıran çeşitli özelliklere sahip olmaları nedeniyle bu da onu çevre dostu bir ürün haline getirmektedir (Small, 2017). Buna ek olarak, karabuğday, aşırı kuraklık koşullarında buğdaya alternatif olarak kabul edilmektedir (Martínez-Goñi vd. 2023). Bu gerçekler göz önüne alındığında, karabuğdayın potansiyelini tam olarak gerçekleştirmek için kapsamlı moleküler doku kültürü çalışmaları yürütülmesi gerekmektedir.

Karabuğdayın; kendine uyumsuzluğu (Neskoviç vd. 1995), çiçek dökümü (Morris 1951), düşük tohum oluşumu ve tohum kırılması (Oba 1998), tuz stresi altında çimlenme performansının azalması ve fide büyümesinin yavaşlaması (Chen vd. 2020, Ergeldi ve Avcı Birsin 2025) ve toprak tuzunun tane verimini etkilemesi (Chen vd. 2008), ilk gelişme dönemindeki sıcaklık hassasiyeti, ilkbahar ve sonbahar donlarına karşı duyarlılığı gibi nedenlerle üretiminde istenen artışlar yapılamamaktadır. Bitkilerde klasik ıslah yöntemleri kullanılarak verim ve kalitesi yüksek çeşitler geliştirilebilmektedir. Klasik ıslah çalışmalarında ortaya çıkan sorunların çözülmesinde doku kültürü ve genetik mühendisliği teknikleri bir seçenek oluşturmaktadır. Doku kültürü, genetik mühendisliği çalışmalarına taban oluşturma ve bu uygulamaları tamamlayıcısı rolünü üstlenmektedir. Gen aktarım çalışmalarında amaca ulaşmak için etkili bir bitki rejenerasyonu protokolünün önceden belirlenmesi gerekmektedir. Gen aktarım öncesinde kallus kültürü ile uygun dokuyu oluşturmak ve sonrasında rejenere bitki elde etmek, çalışmaların en çok zaman harcanan kısmını oluşturmaktadır. Doku kültüründe kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu; eksplantın türüne, genotipe ve ortamda bulunan bitki hormonları ve besin maddelerine göre değişmektedir (Özgen vd. 1996;1998). Karabuğdayda doku kültürü çalışmalarında; fide bölümleri, apikal ve aksiller meristemler, olgunlaşmamış embriyolar, anterler ve mikrosporlar gibi çeşitli eksplantlar kullanılmıştır. Kallus ve hücre kültürleri sadece model nesneler olarak değil, aynı zamanda biyoaktif bileşikler sentezi için bir sistem olarak da kurulmuştur. Bu nedenle doku kültürü yaklaşımları karabuğday için hem pratik ıslahta hem de temel araştırmada kullanılmak üzere geliştirilmiştir (Suvorova 2016).

Doku kültüründe kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu; eksplantın türüne, genotipe ve ortamda bulunan bitki hormonları ve besin maddelerine göre değişmektedir. Bu araştırmada; karabuğdayda kültür tepkilerinin belirlenerek; kallus oluşumu, rejenerasyon oranı, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün başına kök sayısı ve kök uzunluğuna ilişkin veriler elde edilerek, uygun rejenerasyon protokolünün ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Yamane (1974), karabuğdayda kotiledon ve hipokotil eksplantlarını; 2,4-D, IAA ve kinetinin farklı dozlarını içeren 18 farklı besi yerinde kültüre almış ve 5mg/L den fazla 2,4-D eklenen ortamlarda kallus oluşumunun kolay ve oranının yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu araştırma karabuğdayda doku kültürü ile ilgili yapılan ilk çalışmalardan biridir.

Srejavic ve Neskovic (1981), tarafından yapılan bu çalışmada, karabuğdayın Pennquad çeşidinin tetraploid hattına ait tohumlarının kotiledon eksplantlarından in vitro koşullarda bitki rejenerasyonunun mümkün olup olmadığı araştırılmıştır. Hücre bölünmesi için 5 mg/L 2,4-D ve 0.1 mg/L KIN içeren ortamlarda kültürlen kotiledon eksplantlarının boyutlarının yaklaşık iki katına çıktığı, daha sonra 1 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L KIN ilave edilmiş besin ortamlarında kallusların en iyi şekilde geliştiği ve gelişen kalluslardan IAA (10^{-6} M) + BAP (10^{-5} M) kombinasyonu ile sürgün oluşumunda en iyi sonuçlar alındığı ve en başarılı kök gelişiminin ise 1 mg/L IBA içeren ortamlarda gözlemlendiğini belirtilmiştir.

Takahata ve Jumonji (1985), yaptıkları çalışmada, *Fagopyrum esculentum*'un yerel bir çeşidi olan 'Iwate-zairai Akisoba' tohumlarından elde edilen hipokotil eksplantlarını kullanmışlar ve 1 ve 2 mg/l 2,4-D ve 0.5 mg/l 6-BA içeren ortamlarda kallus oranının arttığı, 2 mg/l 2,4-D ve 2 mg/l 6-BA içeren MS ortamına aktarılan kallusların çok sayıda sürgün oluşturduğu, bu sürgünlerin, 1 mg/l IBA içeren hormonsuz MS ortamına aktarıldığı ve sonrasında köklenen bitkilerin saksılara dikildiği belirtilerek karabuğdayın hipokotil eksplantından yüksek başarı oranı ile rejenerasyon elde edilebileceğini bildirmişlerdir.

Bohanec (1987) yaptığı çalışmada, mikro çoğaltmanın tohumdan başlatıldığındaki gelişmelere odaklanmıştır. Deneylerinde, Karabuğday çeşitleri olan Darja ve Siva tohumlarında indüksiyon fazı olarak kullanılan (BAP 2 mg/L ve IAA 5.5 mg/L) sitokinin konsantrasyonunun (değişmeyen ortamda) daha düşük sitokinin

konsantrasyonuna göre (BAP 1 mg/L ve IAA 5.5 mg/L) daha fazla bazal kallus oluşumunu gerçekleştirdiğini belirtmiştir.

Adachi vd. (1989), yaygın karabuğdayın, hipokotil eksplanlarında yaptıkları protoplast kültürü çalışmalarında, kallus oluşumunun en iyi sonuç verdiği hormon kombinasyonun 1 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L BAP içeren MS besin ortamı olduğunu ve kök gelişiminin en iyi sonuç verdiği kombinasyonun ise 0.1 mg/L NAA ve 2 mg/L BAP içeren MS besin ortamları olduğunu bildirilmişlerdir.

Neskovic vd. (1990), tarafından yapılan çalışmalarda, karabuğdayın 'Pennquad' ve 'Siva' çeşitlerinin mikro çoğaltma yoluyla veya aseptik olarak çimlendirilmiş tohumlarından elde edilen bitkilerin saplarında açılan yara üzerine *A. tumefaciens* veya *A. rhizogenes* hücrelerinin yoğun bir bulamacı sürülerek bakteri aşılması yapılmıştır. Fideler, agar ile katılaştırılmış yarı-güçlü B5 tuz ortamı içeren test tüplerine aktarılmıştır. Bakterilerin neden olduğu tümörler geliştiğinde, çoğalan doku kesilerek kültürlenmiş ve aynı hormonsuz ortamda *A. rhizogenes* inokülasyonundan kök uçları hormonsuz ortam içeren petri kaplarına aktarılmıştır. Çalışma sonunda, *A. tumefaciens* ve *A. rhizogenes* toprak bakterilerinin plazmid DNA'sının bitki genomuna yerleştirilmesinin tümör ve saçak köklenmeye neden olduğunu belirten araştırmacılar, genetik mühendisliğinde, plazmidleri taşıyan bu DNA'nın vektör olarak kullanılabileceğini ve bu sonuçlara dayanarak karabuğdayın *Agrobacterium*'a duyarlı ve transgenik bitkilerin elde edilmesine yönelik projelerde uygulanabilir bitkiler listesine eklenmesi gerektiğini belirtilmişlerdir.

Rajbhandari vd. (1995) yaptıkları çalışmada karabuğdayın iki farklı genotipinden (9002 ve 90151) alınan yaprak ve gövde eksplantları kullanılmıştır. Farklı hormon konsantrasyonlarını içeren MS besin ortamlarında kültüre alınarak kallus oluşumu ve rejenerasyon potansiyelleri araştırılmıştır. Kallus oluşumu için 1 mg/L 2,4-D en yüksek başarıyı sağlamış, gövde eksplantlarında oranlar %20–98, yapraklarda ise %28–92 arasında değiştiği, kallusların farklılaşmasında 4 mg/L BAP ve hücre bölünmesinde 0.2 mg/L IAA + 2 mg/L BAP dozlarının en iyi sonuçları verdiği, rejenerasyonda ise yine 0.2 mg/L IAA + 2 mg/L BAP kombinasyonunda genotipe de bağlı olarak %52–60

oranında gerçekleştiği belirtilmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda, hormon çeşidi ve konsantrasyonlarının kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerinde belirleyici olduğu, ayrıca genotiplerin doku kültürü çalışmalarında anlamlı farklılıklar gösterdiği bildirilmiştir

Tanaka vd. (1996) tarafından yapılan çalışmada, saksılarda yetiştirilen *F. esculentum*'un yaprakları, *A. rhizonogenes* retilmiş sıvı ortamın içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra yapraklar, antibiyotik ve 0.5 mg/L IBA içeren ½ MS ortamına transfer edilerek kültürlenmiş ve 3-4 hafta içinde segmentlerden saçak kök oluşumu gözlenmiştir. Oluşan saçak kökler kesilerek fitohormonsuz bakteri öldüren antibiyotik içeren ½ MS ortamında kültürlenmiştir. Bakteri uzaklaştırıldıktan sonra saçak köklerde elektroforez ile opinler tespit edilmiştir. Çalışma sonucu elde edilen altı saçak kök klonundan biri, tarlada yetiştirilen bitkilerin köklerinden 10 kat fazla olan kuru ağırlığın %0.24' oranında flavonoid rutini sentezlemiştir. Flavanoln biyosentetik çalışmaları ve bu bitkideki flavon metabolizması için de bu kök kültürlerinin yararlı olabileceği belirtilmiştir.

Murthy vd. (1998) tarafından yapılan bu derleme çalışmasında, TDZ (Thidiazuron; N-fenil-N'-1,2,3-tiadiazol-5-ilre) adlı fenilüre türevi bir bileşiğin farklı bitki türleri üzerindeki in vitro morfogeneze etkileri ele alınarak farklı bitki eksplantlarında (hipokotil, kotiledon, yaprak, protoplast, anter vb.) yapılan deneysel çalışmalar değerlendirilmiştir. TDZ'nin tek başına ya da farklı bitki büyüme düzenleyicileri (zellikle NAA ve 2,4-D gibi oksinler) ile birlikte uygulandığı in vitro kültür sistemlerinde; morfogeneze etkileri, farklı türlerdeki uygulama dozları, uygulama süreleri, kültür ortamı bileşimleri ve gözlemler (sürgün oluşumu, kallus oluşumu, somatik embriyogeneze vs.) analiz edilmiştir. TDZ'nin, diğer sitokininlerden farklı olarak hem sitokinin hem de oksin benzeri etkiler gösterdiği, birçok bitki türünde çok düşük dozlarda bile kallus, sürgün ve somatik embriyogeneze oluşturduğu, somatik embriyogeneze oksin sentezini de uyurabileceği belirtilmiştir. Bu makalede, TDZ'nin bitki doku kültürü uygulamalarında oldukça güçlü bir bitki büyüme düzenleyici olarak kullanılabileceği, fakat bu etkinin tür, çeşit, eksplant tipi ve doz gibi değerşkenlere duyarlı olduğu ortaya koyulmaktadır. Ayrıca, TDZ'nin etki mekanizmasına dair halen

tam olarak açıklanamamış pek çok yönü bulunduğu, ancak eldeki verilerin bu bileşiğin hücresel düzeyde çok yönlü bir düzenleyici rolü oynadığı vurgulanmıştır.

Berbec ve Doroszewska (1999), yaptıkları bu çalışmada, Polonya orijinli diploid Kora ve Hruszowska ile tetraploid Emka olmak üzere üç karabuğday çeşidini kullanmışlardır. Tohumlar yarı kuvvetli hormonsuz MS ortamında çimlendirildikten sonra elde edilen fidelerden alınan kotiledon ve hipokotil parçaları eksplant olarak kullanılmıştır. Rejenerasyon çalışmalarında; BAP ve IAA içeren ortamlarda rejenerasyon oranı düşük kalmış, ancak TDZ ve IAA kombinasyonlarının kullanıldığı ortamlarda %30–50 arasında sürgün oluşumunun gözlemlendiği bildirilmiştir. Özellikle Kora çeşidinin, en yüksek sürgün rejenerasyon potansiyeline sahip olduğu ve TDZ'nin tek başına etkisinin sınırlı kaldığı, ancak IAA ile birlikte kullanıldığında etkili sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Elde edilen sonuçların, karabuğdayda etkili bir in vitro rejenerasyon protokolünün geliştirilmesine katkı sağlayacağı bildirilmiştir.

Çolak vd. (1999), yaptıkları çalışmada, Beta vulgaris L. cv. KWSTR-239 (şeker pancarı) tohumlarını in vitro koşullarda çimlendirilmiş ve hipokotil eksplantları izole edilmiştir. Eksplantlar, MS besin ortamına 8 farklı oksin (NAA, 2,4-D) ve sitokinin (BAP, kinetin) kombinasyonu eklenerek kültüre alınmıştır. 2,4-D içeren ortamlar kallus oluşturmuş ancak sürgün oluşumu sağlamamıştır. En yüksek sürgün rejenerasyonu %80.7 oranıyla 0.5 mg/L NAA + 3 mg/L BAP kombinasyonunda elde edilmiş, bunu %63,6 ile 0,5 mg/L NAA + 6 mg/L BAP ve %53.3 ile 1 mg/L NAA + 3 mg/L BAP takip etmiştir. Sonuçlar, şeker pancarı hipokotil eksplantlarında sürgün rejenerasyonunun hormon tipine ve konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiğini göstermiştir. BAP içeren ortamlar kinetine göre daha yüksek organogenez sağlamış, özellikle NAA + BAP kombinasyonu en etkili bulunmuştur. Yüksek NAA konsantrasyonları (1 mg/L) sürgün rejenerasyonunu azaltmıştır. Bulgular ışığında, hipokotil eksplantlarının mikroçoğaltım ve genetik çalışmalar için uygun bir materyal olduğu bildirilmiştir.

Park vd. (1999), yaptıkları çalışmada, Kore karabuğday çeşidi olan Suwon 1'in yaprak ve gövde eksplantlarının genç dokularında somatik embriyogenez ve morfogenez

incelenmiştir. Yaprak eksplantlarında kallus oluşum oranı, 2,4-D (1 veya 3 mg/L) içeren MS ortamında sırasıyla %90 ve %79 iken, gövde eksplantlarında kallus oluşum oranının aynı konsantrasyonlarda 2,4-D içeren MS ortamında %73 ila %76 arasında değiştiği belirtilmiştir. Bitki rejenerasyon oranlarının, hormonsuz MS ortamlarında yapraktan elde edilen kalluslarda %1.6 ile %5.6 arasında bulunduğu, yapraktan elde edilen kalluslardan ise değişen sayıda kök ile tek veya çoklu sürgünlerin gelişiminin gözlemlendiği bildirilmiştir.

Woo vd. (2000), yaptıkları bu çalışma ile *Fagopyrum esculentum* (karabuğday)'ın kotiledon eksplantlarından bitki rejenerasyonunu sağlamak amacıyla *F. esculentum* cv. Miyazaki zairai çeşidinin kabukları soyulmuş tohumlarını kullanmışlardır. Tohumlar nemli steril filtre kağıtlarında inkübe edilmiş ve sonrasında çimlenen tohumların kotiledonlarının, 2,4-D (2 mg/L) ve KIN (0.2 mg/L) içeren besi yerinde %100 oranında kallus oluşumu sağlandığı belirtilmiştir. En yüksek rejenerasyon oluşumu 2 mg/L BAP ve 0.2 mg/L KIN içeren ortamda elde edilmiş ve rejenere bitkilerde yaprak, çiçek çapı ve tohum özelliklerinde varyasyon gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu protokolün, karabuğdayda genetik transformasyon ve hücre seleksiyonu gibi ileri biyoteknolojik uygulamalara olanak sağlayabilecek etkili bir sistem olarak değerlendirildiği belirtilmiştir.

Arya vd. (2001), tarafından *Celastrus paniculatus*'un (önemli bir tehdit altındaki tıbbi bitki) kitlesel çoğaltılması için nodal sürgün segmentleri eksplant olarak kullanılarak bir protokol geliştirilmiştir. İn vitro üretilen sürgünler, 0.8 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA içeren MS besiyerinde alt kültürleme yoluyla çoğaltılmış ancak çoğaltılan kültürlerde aşırı hidrasyon ve kallus oluşumu görülmüştür. Bunlar, BAP konsantrasyonlarını 0.25 mg/L ve NAA konsantrasyonlarını 0.01 mg/L'ye düşürerek kontrol edildikten sonra sürgünlerin her biri %83 oranında ex vitroda köklendirilmiş ve köklenen fideler saksılara aktarılmıştır. Geliştirilen protokolün, *C. paniculatus*'un germplazmasının klonlanması ve korunması için yararlı olabileceği bildirilmiştir.

Yui ve Yoshida (2001), üç Japon karabuğday çeşidi olan Mogami-wase, Hashikami-wase ve Kitawase-soba'nın kallus oluşturma yeteneklerini araştıran bir çalışma

yapmışlardır. Çalışmada, üç Japon çeşidinin tohumlarının kültür saksılarına ekilmiş, eksplant olarak kullanmak üzere anterler toplanmış ve bu çeşitler arasında Kitawase-soba'nın %43.3 oran ile diğerlerinden daha yüksek kallus üretme kabiliyeti gösterdiği belirtilerek her çeşidin genetik arka planının kallus oluşumu yeteneğini etkilediği bildirilmiştir.

Jin vd. (2002), yaptıkları çalışma ile *Fagopyrum esculentum* bitkisinin hipokotil eksplantlarından yüksek verimli bir bitki rejenerasyon sistemi geliştirmeyi amaçlamışlardır. Hipokotil eksplantlarının, 2,4-D (1,2 mg/L) ve BAP (1.5 mg/L) içeren MS besiyerine yerleştirilerek kallus oluşumunun sağlandığı, bu kallusların, BAP (2 mg/L) ve KT (1 mg/L) içeren besiyerine aktararak sürgün oluşumunun teşvik edildiği ve elde edilen sürgünlerin ise, NAA (0.2 mg/L) ve IBA (0.2 mg/L) içeren MS besiyerinde köklendirildiği belirtilmiştir. Çalışmanın sonucunda; 2,4-D ve BAP kombinasyonunun kallus indüksiyonunda etkili olduğu, BAP ve KT içeren besiyerinde sürgün oluşum oranının %80'in üzerinde gerçekleştiği, NAA ve IBA içeren besiyerinde köklenmenin başarılı olduğu ve rejenere bitkilerin toprağa adapte edilebildiği bildirilmiştir.

Woo vd. (2004) yaptıkları çalışmada, yaygın karabuğdayın yaprak eksplantlarından kallus kültürü yoluyla sürgün oluşumu ile bitki rejenerasyonu araştırılmıştır. Genç bitkilerin yaprakları MS besin ortamında farklı büyüme düzenleyicileri kombinasyonları ile kültüre alınmıştır. En yüksek kallus oluşumu, 2 mg/L 2,4-D + 0.2 mg/L kinetin kombinasyonunda, embriyojenik kallus oluşumu ise 2 mg/L BAP + 0.2 mg/L KIN kombinasyonunda %50 oranında elde edilmiştir. Kallus oluşumu ve rejenerasyon oranı genotip ve hormon kombinasyonlarına bağlı olarak değişmiş olup, bu bulgular ile, Yaprak eksplantı kullanılarak elde edilen kallus kültüründen yüksek verimle bitki elde edilebileceğini belirterek bu sistemin genetik transformasyon çalışmalarında kullanılabilecek etkili bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir.

Klčová vd. (2008), yaptıkları çalışmada, Slovak Cumhuriyeti, Piešťany'deki gen bankası tarafından temin edilen üç karabuğday çeşidinin (Špačinska, Bogatyr ve Idel) hipokotil ve kotiledon eksplantları kullanılmıştır. 1 mg/L 2,4-D, 2 mg/L IBA ve 0.2 mg/L IAA

içeren MS ortamına aktarılan Bogatyr çeşidine ait hipokotil eksplantının kallus oluşumu için en iyi eksplant olduğu, 1mg/L BAP içeren MS besiyerinde en verimli rejenerasyonun elde edildiği ve ayrıca 1 mg/L IBA eklenmiş MS ortamlarında köklenme oranının arttığını saptamışlardır.

Lee vd. (2009), yaptıkları çalışmada bitki rejenerasyon protokolü oluşturmak için karabuğdayda, farklı sitokinin konsantrasyonlarının (BAP, kinetin ve TDZ) sürgün verimliliği üzerine etkisini araştırılmışlardır. Elde edilen fidelerin kotiledonları BAP, kinetin ve TDZ içeren MS bazal ortamında kültüre almışlardır. Sürgün rejenerasyonunun iyileşmesi için farklı gümüş nitrat konsantrasyonları (0,1,3,7,10.2 mg/L AgNO₃), 4 mg/L BAP ile desteklenmiş MS ortamında test edilmiştir. BAP ile muamele edilen karabuğday kotiledon eksplantlarında önemli ölçüde sürgün rejenerasyonu uyarılmıştır. Ayrıca Kinetin sürgün rejenerasyonunu desteklemiş ancak etkisi BAP'tan çok daha düşük olmuştur. BAP konsantrasyonunun 4 mg/L'ye yükselmesi ile rejenerasyon hızı, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunun da arttığı ve eksplant başına en yüksek sürgün sayısı ile en iyi sürgün uzunluğunun 4 mg/l BAP içeren MS ortamında elde edildiği belirtilmiştir. Bu protokol, farklı eksplantlar kullanılarak yapılan diğer raporlarla karşılaştırıldığında, kotiledon eksplantının bitki rejenerasyonunu daha basit, etkili ve hızlı hale getirdiğini bildirilmişlerdir.

Slawinska vd. (2009), yaygın karabuğdayda serada yetiştirilen bitkilerden büyümekte olan yaprak ve yaprak saplarını eksplant olarak kullandıkları in vitro çalışmalarında, en yüksek sürgün oluşumunun, 1 mg/L BAP, 2İP ve TİBA içeren ortamlardan (%84) elde edildiği, kullanılan hormon kombinasyonlarının eksplant başına sürgün sayısında etkili olduğu hatta tek başına BAP'ın düşük ve yüksek kombinasyonlarının sürgün oluşumu üzerinde önemli etkileri olduğu belirtilerek rejenere bitkilerin, tohumdan gelişen bitkilere göre daha düşük tohum dökme oranı gösterdiği ve bunun da biyoteknolojinin karabuğdayda düşük tohum tutma problemini çözmek için bir yöntem sağlayabileceğini belirtmişlerdir.

Bueno vd. (2010), bu çalışmada, *Salvia hispanica* L. (chia) bitkisinin genç yaprakları, kotiledonları ve iki aksiller tomurcuk içeren uninodal segmentleri eksplant olarak

kullanılmıştır. Yaprak ve kotiledonlar kültürde başarı göstermemiş, en yüksek sürgün oranı %78 ile nodal segmentlerde elde edilmiştir. 0.75 ve 1 mg/L BAP uygulamaları daha iyi sürgün sağ kalımı ve yaprak sayısı artışı sağlamış; 1 mg/L BAP ile tomurcuk başına ortalama 6.63 sürgün elde edilmiştir. Sonuçlar; eksplant tipi ve büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının in vitro yanıt üzerinde belirleyici olduğunu göstermiştir. BA konsantrasyonu arttıkça sürgün oluşumu artmış, özellikle 0.75–1 mg/L BAP, hem sürgün hem de yaprak sayısı bakımından en verimli seviyeleri oluşturmuştur. Çalışma, chia'nın hızlı ve uniform bitki üretimi için doku kültürüyle çoğaltılabileceğini ortaya koymuştur.

Han vd. (2011), dünyada ilk defa tatar karabuğday hipokotillerinden somatik embriyogenez çalışmalarını yapmışlardır. Çimlendirilen tohumlar, 20 kombinasyonda oksin ve sitokinin konsantrasyonlarında test edilmiştir. Hipokotil eksplantları farklı kombinasyonlarda BA, 2,4-D, KIN, 2 İP, ZR, TDZ içeren ortamlarda kallus oluşumuna bırakılmıştır. Rejenerasyon için kallus parçaları BA, KIN, IAA ve TDZ içeren MS ortamına alınmıştır. Bu deneylerde, adventif tomurcuğun farklılaşmasının nispeten yüksek seviye 2,4-D gerektirdiği ve kallus oluşumu için BAP uygulaması ile birleştirilmesi halinde de tatar karabuğdayının hipokotillerinden bitki rejenerasyonunun başarıyla elde edilebileceği ortaya konulmuştur. Karabuğdayda rejener bitkilerin üretimi olası bir dönüşüm protokolü olarak kullanılabileceği ve tatar karabuğdaydaki yararlı bileşiklerin moleküler ve metabolik düzenlenmesini incelemek için yeni fırsatlar yaratabileceği belirtilmiştir.

Mohajer vd. (2012) yaptıkları çalışmada, İran kaynaklı sainfoin (*Onobrychis sativa*) tohumlarından elde edilen fidelerden yaprak, kök ve gövde eksplantları kullanılmıştır. Eksplantlar, farklı oranlarda BAP ile NAA veya IBA kombinasyonları içeren MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Toplam 98 hormon kombinasyonu denenmiş; en yüksek kallus oluşumu ve embriyogenez başarısı yaprak ve kök eksplantlarında 2.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA; kök ve gövde de ise 2.5 mg/L BAP + 1.5 mg/L IBA ile elde edilmiştir. Bazı hormon kombinasyonları doğrudan sürgün rejenerasyonu sağlamış; özellikle 3 mg/L BAP + 2 mg/L IBA (yaprak) ve 0.5 mg/L BAP + 2.5 mg/L IBA (gövde) kombinasyonları sırasıyla ortalama 21 ve 27 sürgün ile en yüksek değeri

vermiştir. Bu farklılıklar, eksplant tipine özgü fizyolojik ve hormonal yanıtlarla açıklanmıştır.

Kwon vd. (2013), tarafından yapılan çalışmada, yazlık olarak yetiştirilen yaygın karabuğday çeşidinin tohumları kullanılmıştır. Tohumlar bazal sıvı MS ortamına yerleştirilmiştir. Hipokotil eksplantları toplanarak in vitro ortamda kallus oluşumu sağlanmıştır. Bitki rejenerasyonu ve somatik embriyogenez çalışmasında maksimum kallus oluşumu, 2,4-D (2 mg/L), BA (1 mg/L) ve %3 sukroz kombinasyonu olan MS ortamında elde edildiği bildirilmiştir. Bu embriyogenez sisteminin genetik değişim için oldukça yenileyici bir sistem sunabileceği ve bu tekniğin seçkin karabuğday genotiplerinin yayılmasında uygulanabilir olabileceği belirtilmiştir.

Hou vd. (2014), araştırmalarında kullandıkları karabuğdayın ‘Jiujiangkuqiao’ (JJ) ve ‘Wenshatianqiao’ (WS) çeşitleri, Shanxi Tarım Bilimleri Akademisi, Taiyuan’dan toplanmıştır. Tohumlar, MS besiyerinde kültürlenmiş ve büyütülen bitkilerden hipokotil eksplantları kesilerek farklı konsantrasyonlarda 2,4-D ve naftil asetik asit (NAA) içeren MS besiyerinde kallus oluşumuna bırakılmıştır. Kalluslar, farklı BAP ve NAA hormon konsantrasyonları içeren MS besiyerinde yetiştirilmiştir. Oluşan kalluslarda, adventif tomurcuk ve kök büyümesi ölçülmüştür. En başarılı sonuçlar; kallus oluşumunda 3 mg/L 2,4-D + 0.5,1 mg/L BA kombinasyonlarıyla JJ (F. tataricum) çeşidinde, rejenerasyonda ise JJ’de 0.5 mg/L BA + 1 mg/L NAA kombinasyonu ile %73'lük bir sürgün oluşumu ile sağlanmıştır. Bu çalışma ile farklı karabuğday türlerinin hormonlara verdiği morfolojik ve genetik yanıtların farklı olduğu belirtilerek geliştirilen rejenerasyon sisteminin karabuğdayda genetik transformasyon uygulamaları için temel teşkil edeceği bildirilmiştir.

Wang vd. (2016) tarafından yapılan araştırmada, tatar karabuğdayının Yuanzi ve Xichang olmak üzere iki farklı çeşidi incelenmiştir. Yapılan çalışmada; Yuanzi'nin çeşidinin rejenerasyon kabiliyetinin Xichang’a göre daha iyi olduğu, hipokotil eksplantlarından kotiledonlara göre daha iyi rejenerasyon sonuçları alındığı ve kallus indüksiyonu için en uygun ortamın 2 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L KIN ilave edilmiş MS besin ortamı olduğu belirtilmiştir. Kallusların, 2 mg/L BAP ve 1 mg/L KIN ilave

edilmiş MS bazal ortamında en yüksek seviyede rejenere olduğu, ayrıca, en yüksek çoklu sürgün indüksiyonun Yuanzi çeşidinin aktarıldığı 3 mg/L BAP ve 1 mg/L TDZ ilave edilmiş MS bazal besiyerinde gözlemlendiği, en iyi kök indüksiyonunun, 1 mg/L IBA ilave edilmiş 1/2 MS bazal besiyerinden elde edildiği ve bu bitkilerin tarla koşullarında toprağa aktarıldıktan sonra %75 oranında hayatta kaldığının gözlemlendiği bildirilmiştir.

Betekhtin vd. (2019), tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada, *F. tataricum*' un olgunlaşmamış embriolarından elde edilen kallus hatları Polonya'nın Katowice kentindeki Silesia Üniversitesi Bitki Anatomisi ve Sitoloji Bölümü'nde elde edilmiştir. Çalışma, *F. tataricum*'a ait farklı morfojenik potansiyele sahip kallusların (morfojenik kallus ve morfojenik olmayan kallus) kararlılık ve kararsızlık süreçlerini hücresel ve moleküler düzeyde karşılaştırmakta olup, morfojenik kallusların uzun süreli kültürlerde genom dayanıklılığını koruyabildiği, buna karşın morfojenik olmayan kallusların morfolojik özelliklerini kaybettiği, hızlı yaşlandığı ve yüksek oksidatif stres altında olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada özellikle hücre duvarı yapısında yer alan hidroksiprolin-zengin glikoproteinler, etilen biyosentezi ile ilgili genler ve telomer kompleksine bağlı genlerin ekspresyon düzeyleri gerçek zamanlı PCR ile analiz edilmiştir. Morfojenik kallusların dokularında Arabinogalaktan proteinleri antikoru embriyojenik hücreleri işaretlerken, Arabinogalaktan proteinleri (glikoproteinler) antikoru yalnızca morfojenik kalluslarda saptanmış ve morfojenik kalluslar için pozitif bir biyolojik durum veya koşulların ölçülebilir bir göstergesi olarak önerilmiştir. Buna karşılık, morfojenik olmayan kalluslarda aminosiklopropan-1-karboksilik asit sentez enzimleri ve etilen tepki faktörü genlerinin aşırı etkisi, etilen sentezinin ve buna bağlı olarak hızlı yaşlanma süreçlerinin göstergesi olarak yorumlanmıştır. Bu çalışmanın, Tatar karabuğdayı doku kültürü sistemlerinde somatik hücrelerdeki varyasyon, hücre yaşlanması ve morfojenik kapasite üzerine etkili mekanizmaların anlaşılmasına katkı sunduğunu ve aynı zamanda kallusların yapısının belirlenmesinde kullanılabilecek spesifik biyolojik belirteçler önerdiği belirtilmiştir.

Fei vd. (2019), bu çalışma karabuğdayın hipokotil ve kotiledon eksplantlarında bitki rejenerasyonu için bir protokol geliştirmeyi amaçlamıştır. Kallus oluşumu için 1.2 ve 3

mg/L BA ile farklı dozlarda (0.5,1 ve 1.5 mg/L) KT veya TDZ eklenmiş MS ortamı kullanılmıştır. Kalluslar, 1 mg/L BAP ve 0.5 mg/L TDZ ile farklı dozlarda (0.5,1 ve 1.5 mg/L) NAA veya IAA kombinasyonlarında rejenere edilmiştir. İlk kallus oluşumunun, 2 mg/L 2,4-D ve 1.5 mg/L BAP içeren MS bazal besi ortamında sağlandığı, kalluslardan 1 mg/L BAP ve 0.5 mg/L TDZ içeren MS ortamında başarılı bir rejenerasyon elde edildiği belirtilerek karabuğdayda gen aktarma çalışmaları için önemli bir protokol olacağı bildirilmiştir.

Saraswat ve Kumar (2019), yaygın karabuğdayda (*F. esculentum*) rejenerasyon protokolu oluşturmak için steril koşullarda çimlendirdikleri tohumların fidelerinden aldıkları kotiledon ve hipokotil eksplantlarında 2,4-D (0.5,1,2mg/L) ve BAP (0.2,0.5,1 mg/L) kullanarak yaptıkları çalışmada; karbon kaynağı olarak sukrozun kullanıldığı 0.5 mg/L 2,4-D ve 0.2 mg/L BAP kombinasyonunda her iki eksplantın da en yüksek somatik embrogenez oluşturduğunu; bu kombinasyonda hipokotil eksplantlarının %100 kallus oluşumu ve % 83,33 somatik embriyo oluşumu gösterdiğini; hormon uygulamalarının somatik embriyo oluşumunda etkilerinin farklı olduğunu; hipokotillerin in vitro rejenerasyon için önemli ölçüde daha iyi eksplantlar ve sukrozun en iyi karbon kaynağı olduğunu; % 2'lik sukroz içeren MS ortamında en iyi bitkicik gelişimi olduğunu; 0.25 mg/L IBA kullanıldığında en iyi kök gelişiminin ortaya çıktığını saptamışlardır.

Gabr vd. (2022), yaptıkları bu çalışmalarında, Dr. Oksana Sytar'dan, Bitki Biyolojisi Bölümü, Eğitim ve Bilim Merkezi “Biyoloji ve Tıp Enstitüsü”, Taras Shevchenko Kiev Ulusal Üniversitesi, Kiev, Ukrayna'dan alınan Yaygın karabuğdayın (*F. esculentum* Moench) tohumları kullanılmıştır. Karabuğdayın in vitro kültürlerinde rutin ve kuersetin gibi biyoaktif fenolik bileşiklerin üretimini artırmak için farklı renkte ışık kaliteleri (beyaz, mavi, yeşil, kırmızı) ve besin ortamı bileşenlerinin (kinetin, aktif kömür) etkilerini değerlendirilmiştir. MS besiyerinde çimlenen tohumlar hormon içermeyen MS besiyerinde kültürlenmiştir. Karabuğday fidelerinden üç hafta sonra MS (4.4 g/l), KIN (0.25 mg/l ve 0.5 mg/l), sukroz (25 mg/l), agar (9 mg/l) ve 0.5 g/l aktif kömür içeren ve içermeyen besiyerlerinde doku kültürü sorunları olmayan yüksek çoğalma oranına sahip stok bitki materyali elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda; mavi ışık, rutin ve kuersetin

üretimini en çok artıran ışık kaynağı olduğunu, aktif kömür içeren ortamların hiperhidrisiteyi önleyerek daha sağlıklı sürgün gelişimini sağladığı belirtilerek bu stratejinin, farmasötik ve nutrasötik endüstrilerde kullanılabilecek yüksek verimli bir in vitro üretim seçeneği sunabileceği bildirilmiştir.

Tomasiak vd. (2022), bu derleme makalesinde karabuğday (*Fagopyrum esculentum* ve *Fagopyrum tataricum*) çeşitlerinin doku kültürü çalışmalarını kapsamlı bir şekilde incelemişlerdir. Karabuğdayın; kallus oluşumu için yapılan deneylerde farklı eksplantlar (hipokotil, kotiledon, yaprak, kök, olgunlaşmamış çiçek salkımı ve olgunlaşmamış embriyo) farklı doz ve kombinasyonlarında kallus için 2,4-D, BAP, KT içeren MS ve B5 besin ortamlarında kültüre alındığını belirterek hipokotil eksplantından 1 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L BAP hormon kombinasyonunda en iyi sonuçların alındığını, hipokotil ve kotiledon eksplantlarının kallus oluşumunda en uygun eksplantlar olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca bazı araştırmacıların da aynı eksplantlarla farklı hormon konsantrasyonları kullanarak da iyi sonuçlar aldıklarını, kallus oluşumunda karabuğdayın genotipine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Aynı şekilde rejenerasyon için yapılan çalışmalarda da hipokotil, kotiledon, yaprak, kök, olgunlaşmamış çiçek salkımı ve olgunlaşmamış embriyo eksplant olarak kullanılmıştır. Bu eksplantlar farklı doz ve kombinasyonlarda 2,4-D, NAA, BAP, IAA, TDZ, KT, AgNO₃, TIBA gibi hormon içeren MS ve B5 besin ortamlarına alınmış ve 1 mg/L IAA, 1 mg/L KT, 2 mg/L BAP ve 0.5 mg/L TDZ eklenmiş olan ortamlarda orta sıklıkta rejenerasyon gerçekleştiğini, 2 mg/L BAP ve 1 mg/L KT içeren MS besin ortamlarında %56 oranında rejenerasyon olduğunu ve 3 mg/L BAP ve 1 mg/L TDZ ilave edilmiş MS ortamlarında da %69 oranında sürgün oluşumu gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Köklendirme çalışmalarında ise 1 mg/L IBA içeren (½) MS besin ortamlarında köklendirilen bitkilerin tarla ekildikten sonra %75'nin hayatta kaldığı bildirilmiştir. Derleme sonucunda, bitki büyüme düzenleyicileri (oksin ve sitokininler) kullanılarak yapılan çalışmalardan iyi sonuçlar alındığı ve özellikle tatar karabuğdayının organik bileşiklerin üretimi açısından daha avantajlı olduğu belirtilmiştir.

Dennis vd. (2023), çalışmalarında, Himalayalar'da yetişen ve yüksek rutin içeriğiyle bilinen tatar karabuğdayının yaprak eksplantlarından dolaylı organogenez yoluyla

yüksek frekanslı bitki rejenerasyonu için etkili bir protokol sunmayı amaçlamışlardır. Araştırmada kullanılan tohumlar, Nepal Tarım Araştırma Konseyi'nden (NARC) temin edilmiştir. Tohumlar, besin ortamında yetiştirilmiş ve kallus indüksiyonu için, fidelerin yaprakları eksplant olarak kullanılmıştır. Bu eksplantlardan en iyi kallus oluşumu, 2 mg/L 2,4-D ve 0.1 mg/L BAP içeren MS besin ortamında %90,67 verimle sağlanmış ve 3 mg/L BAP ve 0.5 mg/L NAA içeren ortam en yüksek sürgün sayısını (35.2 ± 1.83) ve uzunluğunu üretmiştir. Köklendirme, 3 mg/L IBA içeren MS ortamında en iyi sonucu vermiş ve saha transferinde %100 başarı sağlanmıştır. Bu protokolün, genetik manipülasyon ve hücre seleksiyonu çalışmaları için temel oluşturduğu belirtilmiştir.

Zaranek vd. (2023), yaptıkları çalışmada, morfojenik kallus indüksiyonu ve etiyollü hipokotillerin geliştirilmesi için ticari olarak temin edilebilen karabuğdayın Panda çeşidinin tohumları (Malopolska Bitki Yetiştirme, Polonya) kullanılmıştır. Protoplast izolasyonu için iki farklı morfojenik kallus hattı (L1 ve NL2) ve etiyole hipokotillerden izole edilmiştir. Protoplastalar, Kao ve Michayluk besi ortamında kültüre alınmıştır. Kallus hatları; 2 g/L N-Zamin A, 2 mg/L 2,4-D, 0.2 mg/L KIN, 0.5 mg/L IAA, 0.5 mg/L NAA, içeren B5 besin ortamında elde edilmiştir. Bu kalluslar, 3 mg/L BAP ve 1 mg/L TDZ ile 2 mg/L BAP ve 1 mg/L KIN içeren rejenerasyon ortamlarına ve hormon içermeyen köklendirme ortamlarına aktarılmıştır. Somatik embriyogenez ve organogenez yoluyla bitki rejenerasyonu gözlemlenmiş ve sonra köklendirme için sera koşullarına adapte edilmiştir. Rejenerasyonun, TDZ içeren ortamlarda daha verimli olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın, karabuğday için etkili bir protoplast-bitki rejenerasyon sistemi geliştirdiği, morfojenik kallus kaynaklı protoplastların, yüksek rejenerasyon potansiyelleri sebebiyle tercih edilebilir kaynaklar olarak öne çıktığı, fitosülfokin ve TDZ gibi büyüme düzenleyicilerinin, protoplast kültürlerinin başarısını artırdığı belirtilerek, bu yöntemin, genetik mühendisliği ve somatik melezleme çalışmaları için önemli bir temel oluşturacağı bildirilmiştir.

Zhao vd. (2023), tarafından yapılan çalışmada, dünyanın farklı bölgelerinden toplanan tatar karabuğdayının çeşitleri kullanılmıştır. Tatar karabuğdayının tohumları, 1/2 MS besiyerine yerleştirilmiştir. Kültürlenen fidelerin hipokotilleri eksplant olarak kullanılmıştır. Bitki hormonlarının kallus oluşumu üzerindeki etkisinin araştırıldığı

çalışmada; Tatar karabuğdayının C14 genotipinde ile 2 mg/L 2,4-D ve 1.5 mg/L 6-BA kombinasyon ve dozlarını içeren A5 ortamında kallus büyümesi oldukça başarılı olmuştur. Bu çalışmanın, sadece yüksek kallus oluşumu potansiyeline sahip tatar karabuğdayının genotiplerini tanımlamakla kalmadığı, aynı zamanda moleküler düzeyde kallus oluşumunun altında yatan mekanizmaların da ortaya çıktığı belirtilerek, bu verilerin, tatar karabuğdayı için daha etkili bir rejenerasyon ve genetik transformasyon sisteminin geliştirilmesine olanak sağlayacağı bildirilmiştir.

Sala-Cholewa vd. (2024), tarafından yapılan çalışmada, *F. esculentum*' un embriyojenik kallusları ve *F. tataricum*' un morfojenik kallusları protoplast kaynakları olarak kullanılmış olup, elektrofüzyon yöntemiyle oluşturulan hibritlerinde hücre duvarının yeniden yapılanması karşılaştırılmıştır. Kallus hatları her iki türün olgunlaşmamış embriyolarından ve Gamborg'un ortamının tipik mineral tuzları içeren bir RX ortamına; 2 mg/L tiamin HCl, 1 mg/L piridoksin HCl, 1 mg/L nikotinik asit, 2000 mg/L kazein hidrolizat, 2 mg/L 2,4-D, 0.5 mg/L IAA, 0.5 mg/L NAA, 0.2 mg/L KIN, %2.5 sakaroz ve % 0.8 agar eklenmiş ortamlardan elde edilmiştir. Protoplastlar, *F. tataricum* ve *F. esculentum* 'un tohumlarından sağlanan embriyo kaynaklı kalluslardan izole edilmiş ve bu türler arasında somatik melez protoplastlar elektrofüzyon yöntemiyle elde edilmiştir. Protoplastlar belirli antikorlarla işaretlenmiş ve hücre duvarının yeniden oluşumu izlenmiştir. Mikroskopik görüntüleme sonucunda hücreler kültüre alınmış ve gelişimleri hem ebeveyn hem de melez gruplar için analiz edilmiştir. Yapılan değerlendirmeler sonucunda, hibrit protoplastlarda hücre duvarının yeniden yapılanmasının ana hatlarıyla ebeveyn türlere benzer olduğu, ancak bazı epitopların niceliksel ve niteliksel farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmanın, karabuğday türlerinde somatik hibritlerin geliştirilmesi için önemli bir temel oluşturacağı bildirilmiştir.

Tomasiak vd. (2024), tarafından yapılan çalışmada, Rusya'nın Saint Petersburg kentindeki N.I. Vavilov Bitki Genetik Kaynakları Enstitüsü'nün koleksiyonundan temin edilen *F. Tataricum*' un, sample k-17 tohumlarının kullanıldığı bu çalışmada, *F. tataricum*' un morfojenik ve morfojenik olmayan kallus dokularında H3K4me3 histon modifikasyonunun hücre duvarı genlerindeki rolü incelenmiştir. Kalluslar; Gamborg B5, 2 g/l N-Z amin A, 2 mg/l 2,4-D, 0.2 mg/l KIN, 0.5 mg/l IAA, 0.5 mg/l NAA içeren

besiyerine aktararak inkübe edilmiştir. Çalışma sonucunda, H3K4me3'ün kallus gelişimi sırasında hücre duvarı genlerinin düzenlenmesindeki kritik rolünün olduğu, elde edilen bulguların bitki hücrelerinin yeniden programlanması ve morfogenez süreçlerinde epigenetik mekanizmaların önemli olduğunun açığa çıkarılması, bitkilerde bazı durumlarda hücre duvarı biyosentezi ile ilgili genlerin ekspresyonunu düzenlemede histon işaretlerinin rolü için kullanılan N-ChIP protokolünün, *F. tataricum* gibi yüksek fenolik içeriğe sahip bitkilerde epigenetik çalışmalar için yeni bir metodolojik yaklaşım sunduğu belirtilerek, bu araştırmanın bitki kallus dokularında epigenetik ve hücre duvarı dinamikleri arasındaki ilişkiyi anlamak için önemli bir adım teşkil ettiği bildirilmiştir.

Zaranek vd. (2025), yaptıkları çalışmada; *F. tataricum* ve *F. esculentum*'un morfojenik ve embriyonik kallusuna yönelik protoplast kaynaklı kültürlerin gelişiminde belirgin farklılıklar olduğunu ve protoplast kültürlerinde, hücrelerin gelişimi sırasında somatik embriyogenezle ilgili proteinlerin birikimi ve hücre duvarı bileşenlerinin dağılımını incelemeyi amaçlamışlardır. Protoplastlar, *F. tataricum* ve *F. esculentum*' dan izole edilmiştir. Kallus hatları da zigotik embriyodan elde edilmiştir. *F. esculentum*' un sadece somatik embriyogenez yoluyla rejenerasyon gösterdiği ve *F. tataricum*' un ise hem organogenez hem de somatik embriyogenez yoluyla rejenerasyon gösterdiği gözlemlenmiştir. Çalışmanın, *Fagopyrum* protoplastından üretilen kültürlerin gelişimini kapsamlı bir şekilde analiz ederek, hücre bölünmesinden koloni oluşumu ve kallus gelişimine kadar olan sürecin izlenmesini sağladığı ve *Fagopyrum* türlerinde protoplast kültürlerinin rejenerasyon potansiyelini artırmak için moleküler ve hücresel mekanizmalara ışık tuttuğu belirtilmiştir.

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümünün Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda 2023-2025 yılları arasında yürütülmüştür.

3.1 Materyal

Araştırmada, Milli çeşit listesinde yer alan tescilli iki karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench.) çeşidinin (Aktaş ve Güneş) tohumları kullanılmıştır.

3.1.1 Karabuğday çeşitlerinin morfolojik ve tarımsal özellikleri

Aktaş Çeşidi: Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 2014'te tescil ettirilmiştir. Çiçekleri beyaz renklidir. Bitki boyu 80-95 cm olup, tane verim potansiyeli çevre ve iklim koşullarına göre değişmekle birlikte 80-160 kg/da arasındadır. Bin tane ağırlığı 20-29g, hektolitre ağırlığı 58-65 kg arasındadır. Protein oranı %11-14 aralığındadır. Un ve bulgur yapımında kullanılmaktadır. Ülkemizin her bölgesinde yetiştirilebilir. Dekara 5 kg tohum atılması tavsiye edilmektedir. Ana ürün olarak yetiştirilecekse 15 Nisan-15 Mayıs, ikinci ürün olarak yetiştirilecekse 15-30 Temmuz tarihlerinde ekimi yapılmalıdır.

Güneş Çeşidi: Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından 2014 yılında tescil ettirilen bir çeşittir. Çiçek rengi beyazdır. Bitki boyu 85-100 cm uzunluğunda, tane verimi 100-180 kg/da arasında değişmektedir. Hektolitre ağırlığı 60-68 kg, bin tane ağırlığı 22-30 g, protein oranı ise %11-14 arasında değişmektedir. Un ve bulgur yapılmaktadır. Ülkemizin hemen her bölgesinde yetiştirilmeye uygundur. Dekara 5 kg tohum atılması tavsiye edilmektedir. Ana ürün olarak yetiştirilecekse 15 Nisan-15 Mayıs, ikinci ürün olarak yetiştirilecekse 15-30 Temmuz tarihlerinde ekim yapılması uygundur.

3.2 Yöntem

3.2.1 Stok çözeltilerin hazırlanması

Araştırmada kullanılacak olan her bir çözelti için öncesinde stok çözeltiler hazırlanmış olup bunların hazırlanış şekilleri aşağıda verilmiştir. Stok çözelti her seferinde aynı yöntemle bittikçe yenilenmiştir.

- 2,4-D'nin 2 mg/ml (1:1) oranında stok çözeltisinin hazırlanmak için 0.05 g 2,4-D hassas terazide tartılmış ve falcon tüpüne aktarılmıştır. Tartılan 2,4-D üzerine NaOH eklenerek vorteks içinde çözülmüştür. Tüpte bulunan çözelti 50 ml'ye tamamlanarak 2,4-D için stok çözelti hazırlanmıştır.
- BAP'ın 2 mg/ml (1:1) oranında stok çözeltisinin hazırlanmak için 0.05 g BAP hassas terazide tartılmış ve falcon tüpüne aktarılmıştır. Tartılan BAP üzerine NaOH eklenerek vorteks içinde çözülmüştür. Tüpte bulunan çözelti 50 ml'ye tamamlanarak BAP için stok çözelti hazırlanmıştır.
- TDZ'nin 2 mg/ml (1:1) oranında stok çözeltisinin hazırlanmak için 0.05 g TDZ hassas terazide tartılmış ve falcon tüpüne aktarılmıştır. Tartılan TDZ üzerine NaOH eklenerek vorteks içinde çözülmüştür. Tüpte bulunan çözelti 50 ml'ye tamamlanarak TDZ için stok çözelti hazırlanmıştır.
- NAA'in 2 mg/ml (1:1) oranında stok çözeltisinin hazırlanmak için 0.05 g NAA hassas terazide tartılmış ve falcon tüpüne aktarılmıştır. Tartılan NAA üzerine saf aseton eklenerek vorteks içinde çözülmüştür. Tüpte bulunan çözelti 50 ml'ye tamamlanarak NAA için stok çözelti hazırlanmıştır.
- IBA'nın 2 mg/ml (1:1) oranında stok çözeltisinin hazırlanmak için 0.05 g IBA hassas terazide tartılmış ve falcon tüpüne aktarılmıştır. Tartılan IBA üzerine alkol eklenerek vorteks içinde çözülmüştür. Tüpte bulunan çözelti 50 ml'ye tamamlanarak IBA için stok çözelti hazırlanmıştır.

2,4-D, BAP, TDZ ve NAA hormonları otoklav öncesinde hazırlanan MS besin ortamlarına eklenmiştir. Ancak, IBA (indol bütirik asit) hormonu içeriği, ısıdan

etkilendiği için MS besin ortamı otoklavda steril edildikten sonra besin ortamı içine milipore filtre ile eklenmiştir.

3.2.2 Steril saf suyun hazırlanması

Doku kültürü çalışmalarında, musluk suyunun kaynatılması sonucu oluşan su buharının soğutulması esasına dayanarak çalışan distilasyon cihazından elde edilen saf su kullanılmaktadır. Bunun sebebi, hazırlanan besiyeri ortamlarının formülasyonundaki hassas dengelerin bozması ve aynı zamanda musluk suyundaki klorun kültür gelişimini engellemesidir. Bu engelleyici faktörleri ortadan kaldırmak için besiyeri hazırlanmasında ve eksplantların yüzey sterilizasyonunda kullanılan durulanmasında, 121°C’de 15 psi basınç altında 25 dakika süreyle steril edildikten sonra distile su kullanılmaktadır.

3.2.3 MS besin ortamlarının hazırlanması

Denemelerde, saf su, MS, sukroz, agara ek olarak; kallus oluşumu için stok çözeltileri hazırlanmış olan 2,4-D ve BAP çözeltileri, rejenerasyon oluşumu için stok çözeltileri hazırlanmış olan TDZ, BAP ve NAA çözeltileri ve köklendirme aşaması stok çözeltileri hazırlanmış olan IBA için kullanılmıştır.

3.2.4 Ekipmanların sterilizasyonu

Doku kültürü yapılan laboratuvar çalışmalarında kullanılan bütün ekipmanların özelliklerine göre sterilizasyonu yapılması, kullanılan tekniklerin başarılı sonuçlar vermesinde önemli bir unsur teşkil etmektedir.

Yapılan çalışmada kullanılan cam malzemeler (shot şişeleri, jarlar, petriler vb.) 200 °C sıcaklığa ayarlanmış olan etüvde 1 saat 45 dakika boyunca steril edilmiştir. Eksplant sterilizasyonu ve eksplantların ortamlara aktarılması esnasında kullanılan çelik bistüri, pens vb. aletler %70’lik etil alkol bulunan kavanozlarda bekletilmiş ve kullanılmadan

nce alevde yakılarak steril edilmiştir. alışmalar i yüzeyi %70'lik etil alkol ile temizlenmiş steril kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.5 Eksplantların sterilizasyonu

Çalışmada kullanılacak olan karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench.), Aktaş ve Güneş eşitlerinin tohumları saksılara ekilmiş ve saksılarda kısa sürede imlenen bu tohumlardan (şekil 3.1 a,b). araştırma konusu eksplantlar (hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak sapı) uygun gelişme dönemlerinde ayrı ayrı izole edildikten sonra (şekil 3.1 c) %70'lik etil alkol bulunan jarlarda (şekil 3.1 d) 3 dakika manyetik karıştırıcıda çalkalanıp ardından üç kere steril saf su ile durulanmış ve %50 saf su ile seyreltilmiş %5'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dakika süresince manyetik karıştırıcıda çalkalanıp, ardından steril saf su ile 5 kez durulanarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır.



Şekil 3.1 Eksplantların toplanması ve sterilizasyonu

a) Hipokotil ve kotiledon eksplantlarının toplanması aşaması. b) Yaprak ve yaprak sapı eksplantlarının toplanması aşaması. c) Eksplantlarının toplanması aşaması. d) Eksplantlarının sterilizasyon aşaması

3.2.6 Eksplantların besi yerlerine aktarılması

Yüzey sterilizasyonu yapılan eksplantlar (hipokotil ve kotiledon ile yaprak ve yaprak sapı toplandıkları kendi dönemlerinde olmak üzere) steril kabin içerisinde pens ve bistüri kullanılarak uygun büyüklüklerde kesilmiş ve kallus oluşumu için farklı kombinasyonlarda 2,4-D [2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic Asit) ve BAP (Benzil Amino Purin) (Yamane,1974; Takata ve Jumonji,1985; Rajbhandari vd. 1995; Park vd. 1999; Kwon vd.2013; Saraswat ve Kumar, 2019) içeren pH'sı 5.6-5.8 arasında ayarlanarak, 121°C'de 15psi basınçta 20 dakika otoklavlanmış olan MS ortamlarının bulunduğu cam petri kaplarına, her bir petri kabına 5 eksplant gelecek şekilde ve her bir doz için 3 tekrar olacak şekilde Çizelge 6.1'de verilen 16 farklı besiyerine alınmıştır. Daha sonra cam petri kapları streç film ile sarılarak izole edilmiştir.

İzole edilen kültür ortamları, kallus indüksiyonu için $25\pm1^{\circ}\text{C}$ de inkübatörde yaklaşık 15-20 gün bırakılmıştır. Kallus oluşumu tamamlanan eksplantlar, rejenerasyon için farklı kombinasyonlarda ve Çizelge 6.1'de görülen dozlarda TDZ, BAP ve NAA içeren MS ortamlarının bulunduğu cam petri kaplarına aktarılmıştır. Araştırmada kullanılan besin ortamlarının pH'sı 5.6-5.8 arasında ayarlanarak, 121°C'de 15psi basınçta 20 dakika otoklavlanmıştır. Bu kültür ortamları iklim odasına alınarak 24°C ve 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık fotoperiyotta $35\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ floresan ışığında 3-4 hafta bekletilmiştir.

Rejenere olan bitkiler köklendirme için IBA'nın (İndol-3-Butirik Asit) farklı dozlarını (0.5 ve 1 mg/L) içeren MS ortamında baby-jarlarda köklendirmeye alınmıştır. Bu kültür ortamları iklim odasına alınarak 24°C ve 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık fotoperiyotta $35\mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ floresan ışığında 3-4 hafta bekletilmiştir.

Tüm doku kültürü çalışmaları steril kabin içerisinde yapılarak, kullanılan alet ve ekipman önceden steril edilmiştir. Araştırmada kullanılan tüm büyümeyi düzenleyiciler, uygun çözücülerde çözülerek, saf su ile istenilen miktarda ve oranda hacimleri ayarlanarak stok çözeltileri hazırlanmıştır. Isıdan etkilenen büyüme düzenleyicilerden IBA (indol bütirik asit) hormonu, ortam otoklavda steril edildikten sonra ilave edilmiştir.

Çizelge 3.1 Kallustan bitki rejenerasyonu oluşumu için farklı oksin ve sitokinin kombinasyonları

Kombinasyon	Kallus		Rejenerasyon		Rejenerasyon	
	2,4-D mg/l	BAP mg/l	BAP mg/l	NAA mg/l	TDZ mg/l	NAA mg/l
Kontrol						
1	2.00	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25
2	2.00	1.00	0.50	0.50	0.50	0.50
3	2.00	1.50	0.50	0.75	0.50	0.75
4	2.00	2.00	0.50	1.00	0.50	1.00
5	4.00	0.50	1.00	0.25	1.00	0.25
6	4.00	1.00	1.00	0.50	1.00	0.50
7	4.00	1.50	1.00	0.75	1.00	0.75
8	4.00	2.00	1.00	1.00	1.00	1.00
9	6.00	0.50	1.50	0.25	1.50	0.25
10	6.00	1.00	1.50	0.50	1.50	0.50
11	6.00	1.50	1.50	0.75	1.50	0.75
12	6.00	2.00	1.50	1.00	1.50	1.00
13	8.00	0.50	2.00	0.25	2.00	0.25
14	8.00	1.00	2.00	0.50	2.00	0.50
15	8.00	1.50	2.00	0.75	2.00	0.75
16	8.00	2.00	2.00	1.00	2.00	1.00

3.2.7 Verilerin değerlendirilmesi

Çalışmalarda deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre, her bir petride 5 eksplant olacak şekilde üç tekrarlamalı olarak yürütülmüştür. Kültür tepkileri; Özcan vd. (1996), Lee vd. (2009), Saraswat ve Kumar, (2019)’dan yararlanılarak elde edilmiştir. İncelenen özellikler aşağıdaki gibidir.

“Kallus oluşum oranı”, kallus ortamına bırakılan eksplantlarda kallus oluşturan eksplant sayısının petrideki toplam eksplant sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur.

“Rejenerasyon oranı”, rejenerasyon ortamına alınan kalluslu eksplantlardan sürgün oluşturanların sayısı belirlenip, petrideki toplam eksplant sayısına oranlanarak bulunmuştur.

“Sürgün sayısı”, petrideki her eksplantın oluşturduğu sürgünler ayrı ayrı sayılarak “eksplant

başına sürgün sayısı” ve bu sayılar toplanarak “petri başına sürgün sayısı” bulunmuştur.

“Sürgün başına kök sayısı”, baby-jarlarda köklendirme ortamına alınan sürgünlerin oluşturduğu kökler sayılarak bulunmuştur.

“Kök uzunluğu”, sürgünlerden gelişen kökler cetvelle ölçülerek elde edilmiştir.

Elde edilen verilerin tesadüf parselleri deneme desenine göre, MSTAT-C bilgisayar programı kullanılarak varyans analizleri yapılacaktır. Ortalama değerler arasındaki fark LSD testi ile karşılaştırılacaktır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

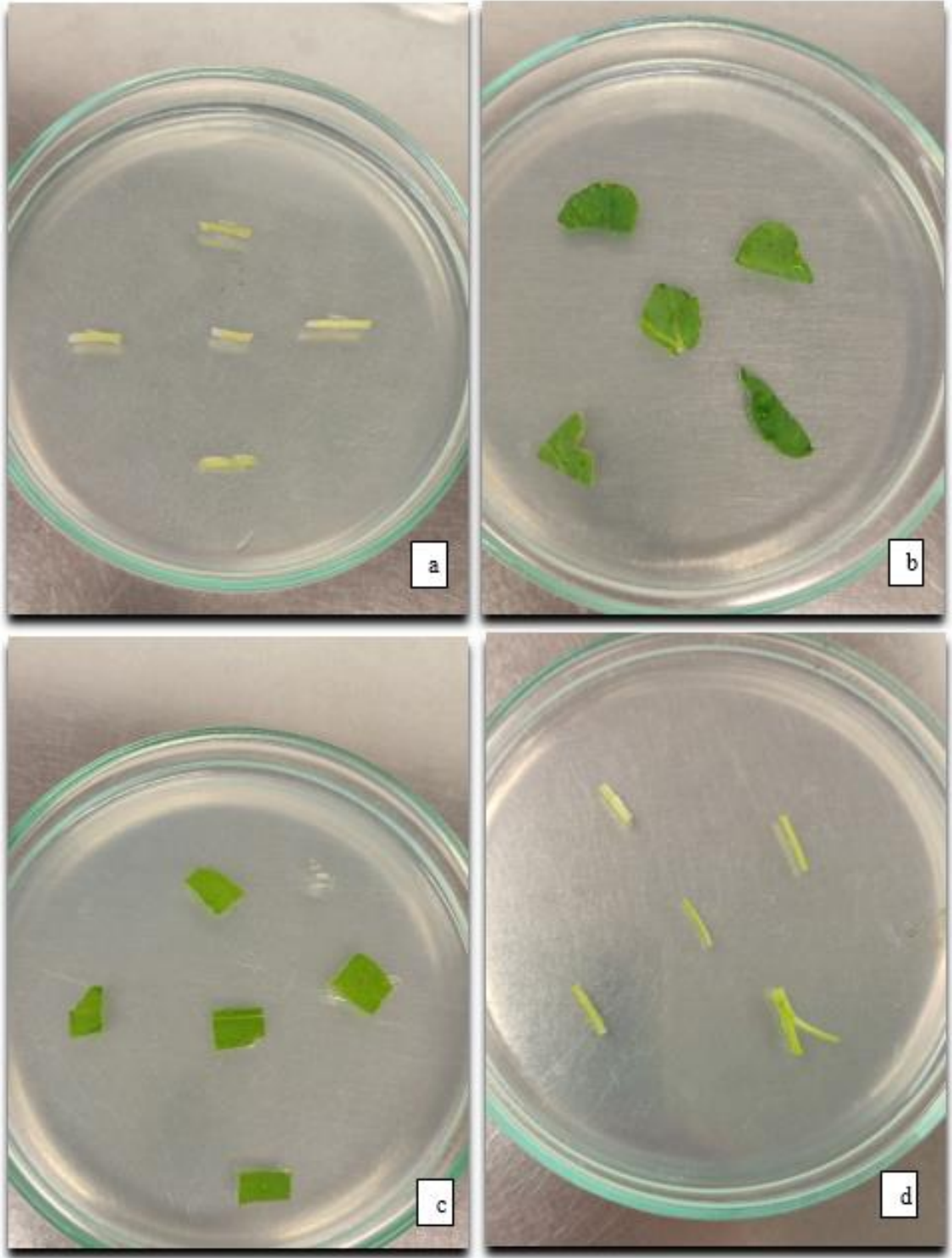
4.1 Kallus Oluşumu

Farklılaşmış doku ve organların yaralarında ortaya çıkan tümör dokusu olarak tanımlanan kallus (Pierik 1997) oluşumunu sağlamak için çalışmada dört farklı eksplant (Hipokotil, kodiledon, yaprak ve yaprak sapı) kullanılmıştır. Bu eksplantlar, Aktaş ve Güneş çeşitlerinin iklim odasında saksılarda çimlendirilip geliştirilen bitkiciklerinden elde edilmiştir.

Çimlenmeden 12-15 gün sonra alınan bitki kısımlarına yüzey sterilizasyonu yapılmış ve eksplantlar hazırlanmıştır (Şekil 4. 1). Ardından 2,4-D ve BAP'ın farklı kombinasyon ve dozlarını içeren MS besi ortamlarına, her petriye beş eksplant olacak şekilde yerleştirilmiştir. Eksplantların yerleştirildiği petriler kallus oluşumu için $25\pm1^{\circ}\text{C}$ de inkübatörde yaklaşık 15-20 gün bırakılmıştır (Şekil 4. 2).



Şekil 4.1 Eksplantların sağlandığı bitkiler (a,b), yüzey strelizasyonu (c) ve hazırlık(d)



Şekil 4.2 Kallus ortamlarına alınma aşaması

a) Hipokotil eksplantı b) Kotiledon eksplantı c) Yaprak eksplantı d) Yaprak sapı eksplantı

4.1.1 Hipokotil eksplantlarından kallus oluşumu

Farklı hormon kombinasyonları içeren ortama alınan Aktaş ve Güneş çeşitlerinin hipokotil eksplantlarında kallus oluşumu, kültürün 3.-4. gününden itibaren başlamıştır. Kültürün 14-15. gün de petriler ayrı ayrı incelenip, kallus oluşturan eksplant sayıları alınmış ve petrideki toplam eksplant sayısına oranlanarak kallus oranı verileri elde edilmiştir (Şekil 4.4). Elde edilen kallus oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.1 incelendiğinde; iki çeşitte de hipokotil eksplantlarında oluşan kallus oranları arasında önemli farklılıklar olduğu; 2,4-D dozları ve 2,4-D ve BAP dozlarının etkileşiminin %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.1 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
2,4-D Dozları	3	510.243**	517.187**
BAP Dozları	3	189.410ns	238.021ns
2,4-D Dozları*BAP Dozları	9	659.780**	397.743**
Hata	32	96.354	84.896
CV: Aktaş için %12.32; Güneş için %11.44; **:p<0.01 düzeyinde önemli, ns: not significant.			

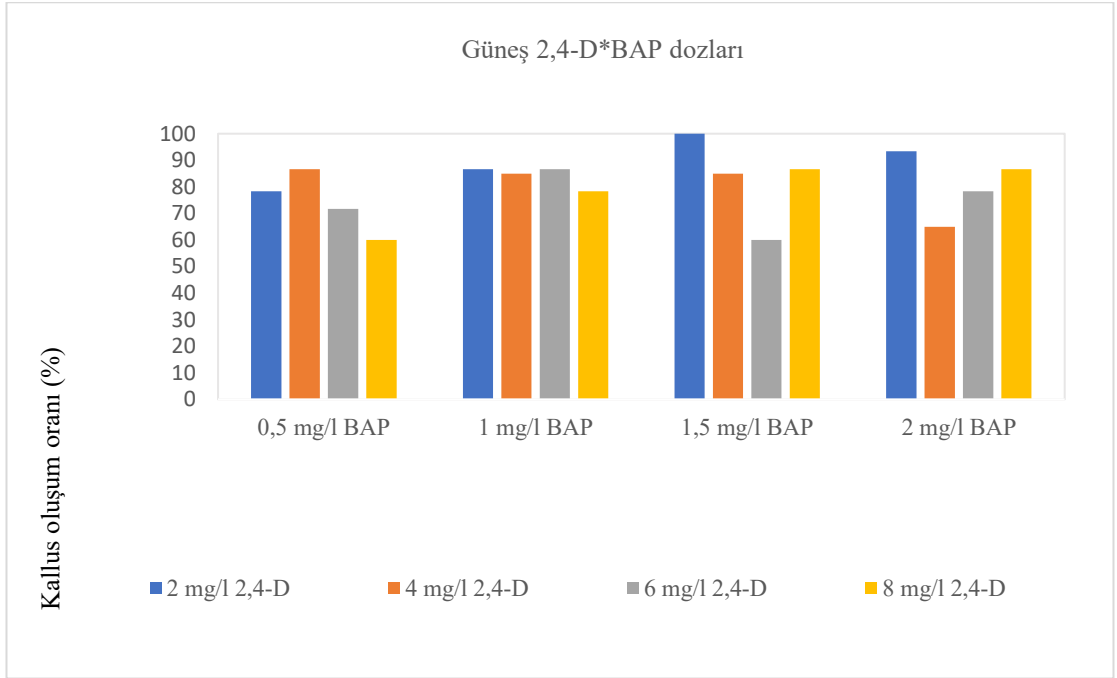
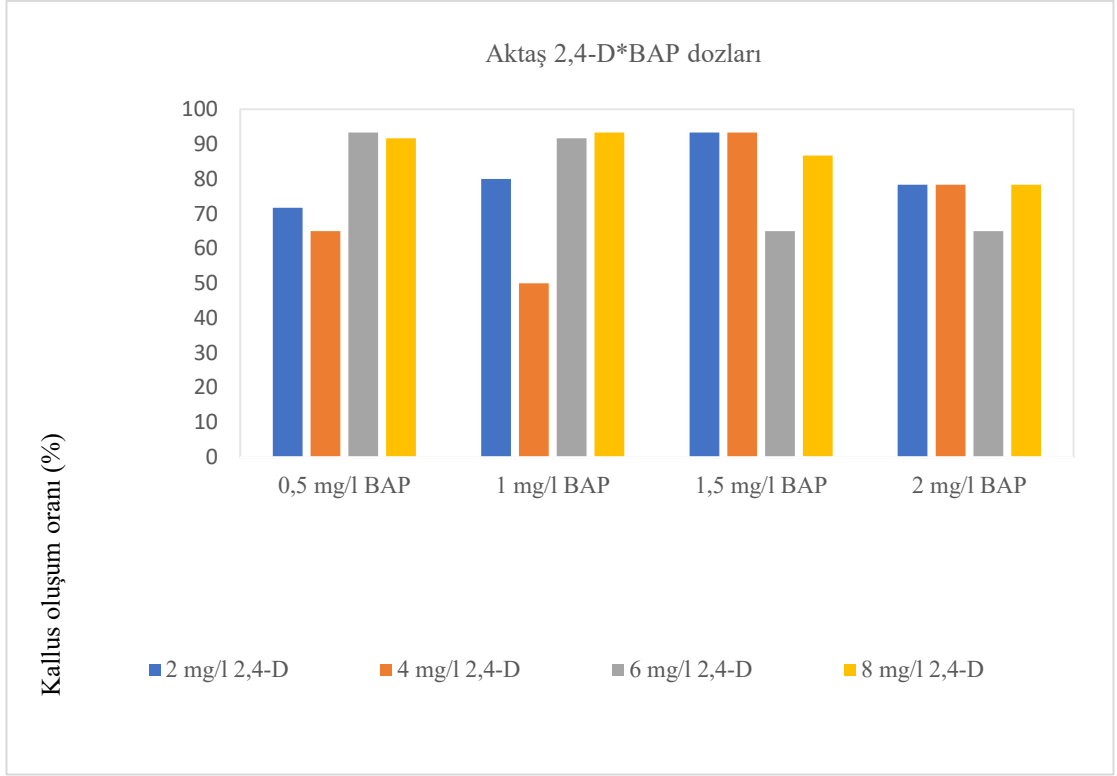
Kallus oranı bakımından, 2,4-D ve BAP etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.2’de verilmiştir. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi, hipokotil eksplantlarında kallus oranı Aktaş çeşidinde % 93.33 ila %50 arasında; Güneş çeşidinde ise %100 ila % 60 arasında değişmiştir. Aktaş çeşidinde en yüksek kallus oranı; 2,4-D’nin 6 -8 mg/L dozları ve BAP’ın 0,5- 1mg/L dozları ile 2,4-D’nin 2-4 mg/l dozları ve BAP’ın 1.5- 2 mg/L doz kombinasyonları arasında % 93,33 olarak ortaya çıkarken; en düşük kallus oranı ise 2,4-D’nin 4 mg/L ve BAP’ın 1 mg/L doz kombinasyonunda % 50 bulunmuştur.

Güneş çeşidi hipokotil eksplantlarında en yüksek kallus oranı, 2 mg/L 2,4-D + 1,5 mg/L BAP %100 ve 2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP (%93.33) kombinasyonlarında gerçekleşirken, en düşük kallus oranı 6 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP ve 8 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP kombinasyonlarında % 60 olarak ortaya çıkmıştır (Çizleğe 4.2 ve Şekil 4.3)

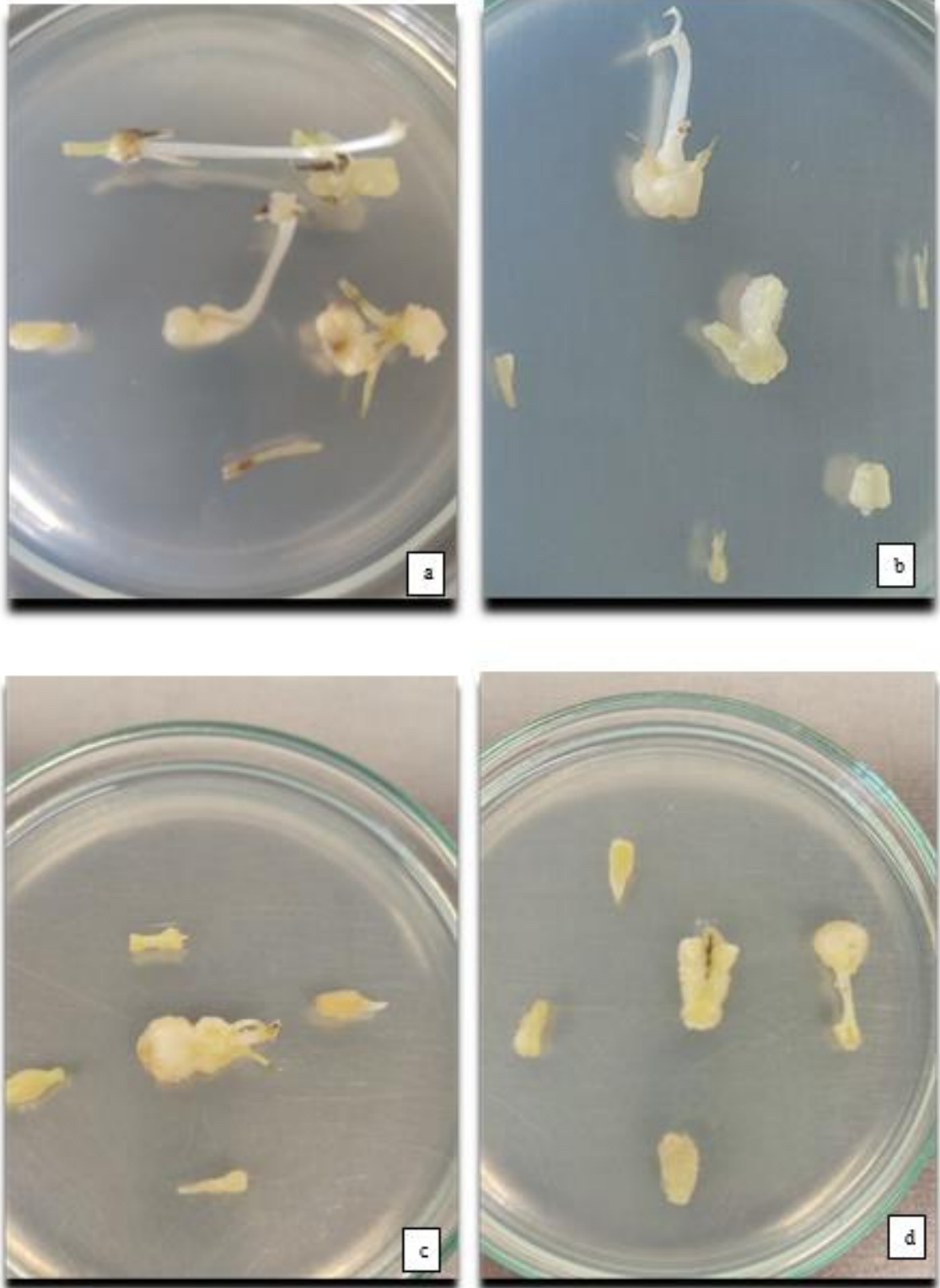
Çizelge 4.2 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	71.67 bc	80.00 abc	93.33 a	78.33 abc
4	65.00 cd	50.00 d	93.33 a	78.33 abc
6	93.33 a	91.67 a	65.00 cd	65.00 cd
8	91.67 a	93.33 a	86.67 ab	78.33 abc
AÖF: 16.36				
G Ü N E Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	78.33 bcd	86.67 abc	100.00 a	93.33 ab
4	86.67 abc	85.00 abc	85.00 abc	65.00 de
6	71.67 cde	86.67 abc	60.00 e	78.33 bcd
8	60.00 e	78.33 bcd	86.67 abc	86.67 abc
AÖF: 15.26				

*) Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.



Şekil 4.3 Hipokotil eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması



Şekil 4.4 Hipokotil eksplantlarında kallus oluşumu

a) Aktaş 6 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP; b) Aktaş 8 mg/L 2,4-D+1 mg/L BAP; c) Güneş 2 mg/L 2,4-D+1.5 mg/L BAP; d) Güneş 2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP

Aktaş ve Güneş çeşidi hipokotil eksplantlarının farklı oksin (2,4-D) ve sitokinin (BAP) dozlarında oluşturduğu kallus oranı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin 2,4-D'nin düşük dozlarının (2 ve 4mg/L) - BAP'ın yüksek dozu (1.5mg/L) ile kombinasyonu ve 2,4-D'nin yüksek dozlarının (6 ve 8 mg/L) - BAP'ın küçük dozları (0.5 ve 1 mg/L) etkileşiminin daha yüksek kallus oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek kallus oranı 2,4-D'nin küçük dozu (2 mg/L) ile BAP'ın yüksek dozlarının (1.5 ve 2 mg/L) kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.2)

Doku kültüründe yapılan önceki çalışmalar incelendiğinde; 2,4-D'nin kallus oluşumu için pek çok bitkide; buğdayda (Özgen vd.1996;1998), adaçayında (Marconi Patrica vd., 2013), biberde (Venkataiah, vd.2016), kadife çiçeğinde (Espinoza vd. 2017) ve arpada (Benlioğlu vd.2025) kullanıldığı görülmektedir. Karabuğdayda da doku kültürü çalışmaları 2,4-D tek başına (Gumerova vd. 2003) ya da BAP gibi oksin grubu bitki büyüme düzenleyicilerin farklı doz kombinasyonlarını ile birlikte (Yamane, 1974; Woo vd. 2000; Klçova ve Gubisova, 2008; Fei vd. 2019; Dennis vd. 2023) kullanılmıştır.

Çalışmamızda olduğu gibi, karabuğday hipokotil eksplantlarından kallus oluşumunu sağlamak için Yamane (1974), Jin vd. (2002), Klçova ve Gubisova (2008), Han vd (2011, Kwon vd. (2013), Saraswat ve Kumar (2019), Fei vd. (2019), Zaranek vd. (2023), Zhao vd. (2023)'da 2, 4-D ve BAP'ın farklı doz ve kombinasyonlarını kullanmışlardır. 2,4-D'nin küçük dozları (2 ve 4 mg/L) ve BAP'ın yüksek dozlarının kombinasyonlarında yüksek kallus oranının ortaya çıktığını gösteren bulgularımız; Klçova ve Gubisova (2008), Han vd (2011), Kwon vd. (2013), Hou vd. (2014), Saraswat ve Kumar (2019), Fei vd. (2019)'nin sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Kuşkusuz bu araştırmacıların kullandıkları materyal ve besiyeri içeriklerinde farklılıklar vardır.

Known vd. (2013), yaygın karabuğday (*Fagopyrum esculentum*)'ın hipokotil eksplantlarının 2 mg/L 2,4-D ve 1 mg/L BAP içeren MS ortamında, kallus oluşumunun yüksek olduğunu, beyazımsı renk ve yuvarlak şeklindeki kallusların, rejenerasyon ortamına aktarıldığında, sürgün ve kök gelişimini sağladığını belirtmişlerdir.

Fei vd.(2019), Tatar karabuğdayının C14 genotipinin hipokotil eksplantlarını kullandığı araştırmada en yüksek kallus oranını, 2 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP içeren kombinasyondan elde ettiğini, oluşan kallusların açık sarı renkte ve kallus gelişiminin çok sağlıklı olduğunu bildirmişlerdir.

George vd. (2008), bitki doku kültürü çalışmalarında hormon etkileşimlerinin dikkate alınması gerektiğini, diğer yüksek organizmalar gibi bitkilerinde organizma içi iletişim sistemine sahip olduklarını ve sinir sistemi olmayan bitkilerin iletişim sistemlerinin hormonlara bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Oksinler ve sitokininlerin, bitki gelişiminin hücre döngüsü ve hücre bölünmesi ile hücre uzaması olmak üzere 2 ana süreçte etkili olduğunu ve oksin/sitokinin oranının hücre fenotipinin oluşumunda ve hücre bölünmesi sürecinin başlaması ve sürdürülmesinde önemli bir sinyal sistemi oluşturduklarını bildirmişlerdir.

Ikeuchi vd. (2013), genel olarak oksin ve sitokininlerin orta düzeydeki oranlarının kallus oluşumunu teşvik ettiğini ancak yüksek 2,4-D dozlarının bazı kombinasyonlarından kallus kalitesini olumsuz etkileyebildiğini belirterek hormon dengesinin önemini vurgulamıştır. Ayrıca, hücre bölünmesini teşvik eden sitokininlerin tek başına yeterli olmadığını ancak oksinler ile birlikte etkili olduğunu belirtmişlerdir

Çalışmamızda kullandığımız Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantları 2,4-D'nin yüksek dozları (6,8 mg/L) ve BAP'ın küçük dozları (0.5,1 mg/L) kombinasyonlarında da yüksek kallus oranı oluşturmuştur. Karabuğdayda ilk hipokotil ve kotiledon eksplantlarından kallus oluşumu sağlayan Yamane (1974)'de *Fagopyrum esculentum*'un "Shinano-1" çeşidinin hipokotil eksplantlarında 2,4-D ve Kintin'in farklı doz kombinasyonlarını kullanmış ve 10 mg/L dozunun en iyi sonucu verdiğini bildirmiştir.

Han vd. (2011)'nin tatar karabuğdayının hipokotil eksplantları ile yaptıkları çalışmada 2,4-D'nin 4-8 mg/L dozları +1 mg/L BAP dozu ile birlikte kullanılmışlar, 4mg/L 2,4-D+ 1mg/L BAP kombinasyonundan en iyi sonucun alındığı açıklanmıştır. Hou vd. (2014), Tatar karabuğdayı (*Fagopyrum tataricum*) ve yaygın karabuğdayın (*Fagopyrum*

esculentum) çeşitlerinin hipokotil eksplantlarını kullanarak yaptıkları çalışmada; kallus oluşumu bakımından Tatar karabuğdayı çeşidi 3 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP kombinasyonunda en iyi sonucu verirken; yaygın karabuğday çeşidinin 3 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP kombinasyonunda en iyi sonucu verdiğini saptamışlardır.

Doku kültüründe; kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunda kullanılan genotiplerinin etkisinin önemli olduğu, buğday (Özgen vd. 1998), karabuğday (Gumerova vd. 2003), arpa (Benlioğlu vd. 2025) gibi pek çok bitkide ortaya konulmuştur. Gumerova vd. (2003) aynı eksplantların farklı büyüme düzenleyici kombinasyonlarında optimum kallus oluşturduğunu ve bu durumun karabuğdayın tür ve genotip özelliklerine bağlı olduğunu bildirmişlerdir.

4.1.2 Kotiledon eksplantlarından kallus oluşumu

Farklı hormon kombinasyonları içeren ortama alınan Aktaş ve Güneş çeşitlerinin kotiledon eksplantlarında kallus oluşumu incelenip, kallus oranı verileri elde edilmiştir (Şekil 4.6). Elde edilen kallus oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.3’de verilmiştir. Çizelge 4.3 incelendiğinde; iki çeşitte de kotiledon eksplantlarında oluşan kallus oranları arasında önemli farklılıklar olduğu; 2,4-D dozları ve 2,4-D ve BAP dozlarını etileşiminin %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.3 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları

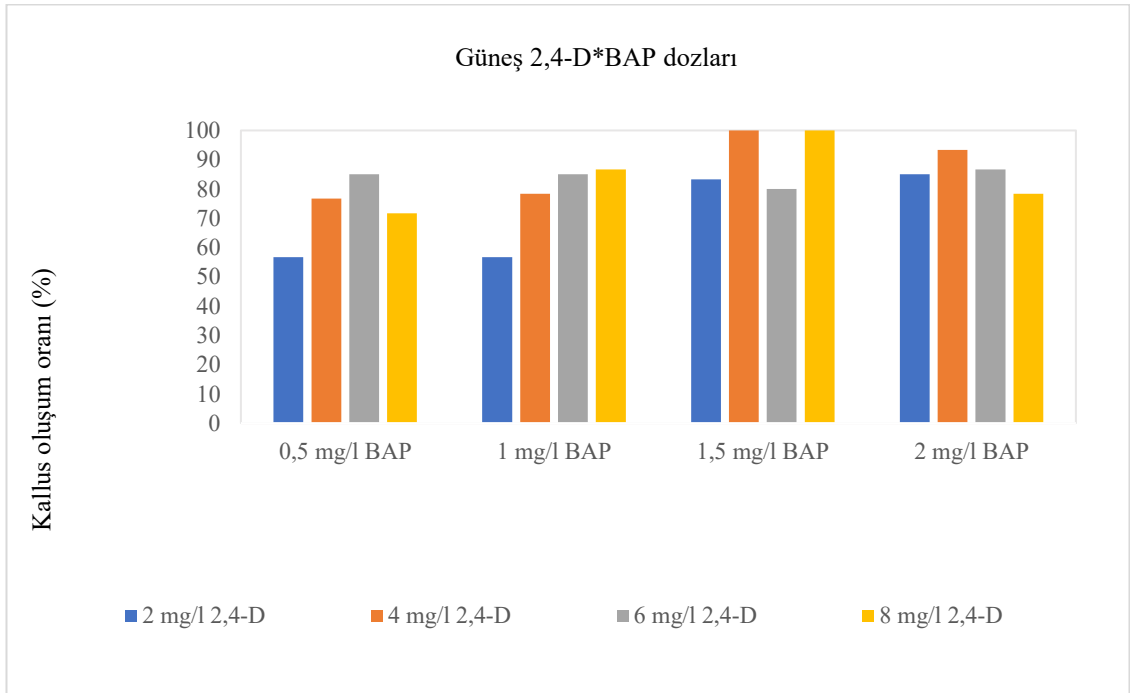
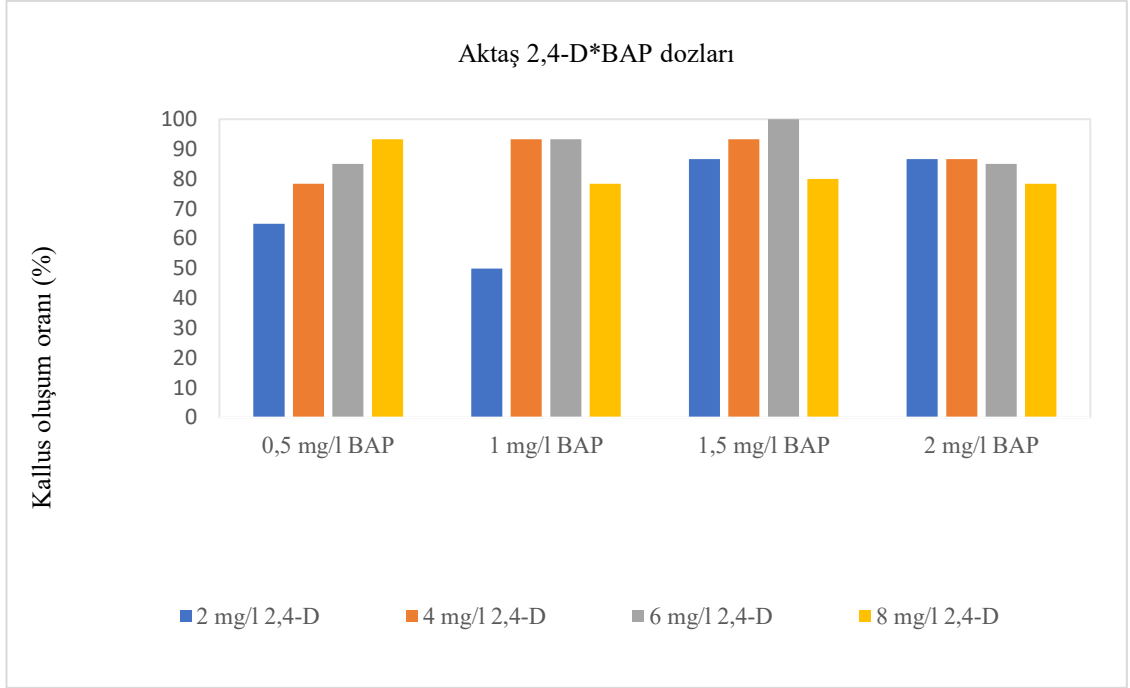
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
2,4-D Dozları	3	818.056**	672.916**
BAP Dozları	3	298.611*	840.972**
2,4-D Dozları*BAP Dozları	9	377.778**	259.953**
Hata	32	92.708	83.333
CV: Aktaş için %11.55; Güneş için %11.20; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *:p<0.05 düzeyinde önemli.			

Kallus oranı bakımından, 2,4-D ve BAP etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.4’de verilmiştir. Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi, kotiledon eksplantlarında kallus oranı Aktaş çeşidinde % 100 ila %50 arasında; Güneş çeşidinde ise %100 - % 56.67 arasında değişmiştir. Aktaş çeşidinde en yüksek kallus oranı; 2,4-D’nin 6 mg/L ve BAP’ın 1.5 mg/L doz kombinasyonunda % 100 olarak ortaya çıkarken; en düşük kallus oranı ise 2,4-D’nin 2 mg/L ve BAP’ın 1 mg/L doz kombinasyonunda % 50 bulunmuştur. Güneş çeşidi kotiledon eksplantlarında en yüksek kallus oranı, 4-8 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP (%100) doz kombinasyonlarında gerçekleşirken, en düşük kallus oranı 2 mg/L 2,4-D + 0.5-1 mg/L BAP doz kombinasyonlarında % 56.67 olarak ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.5)

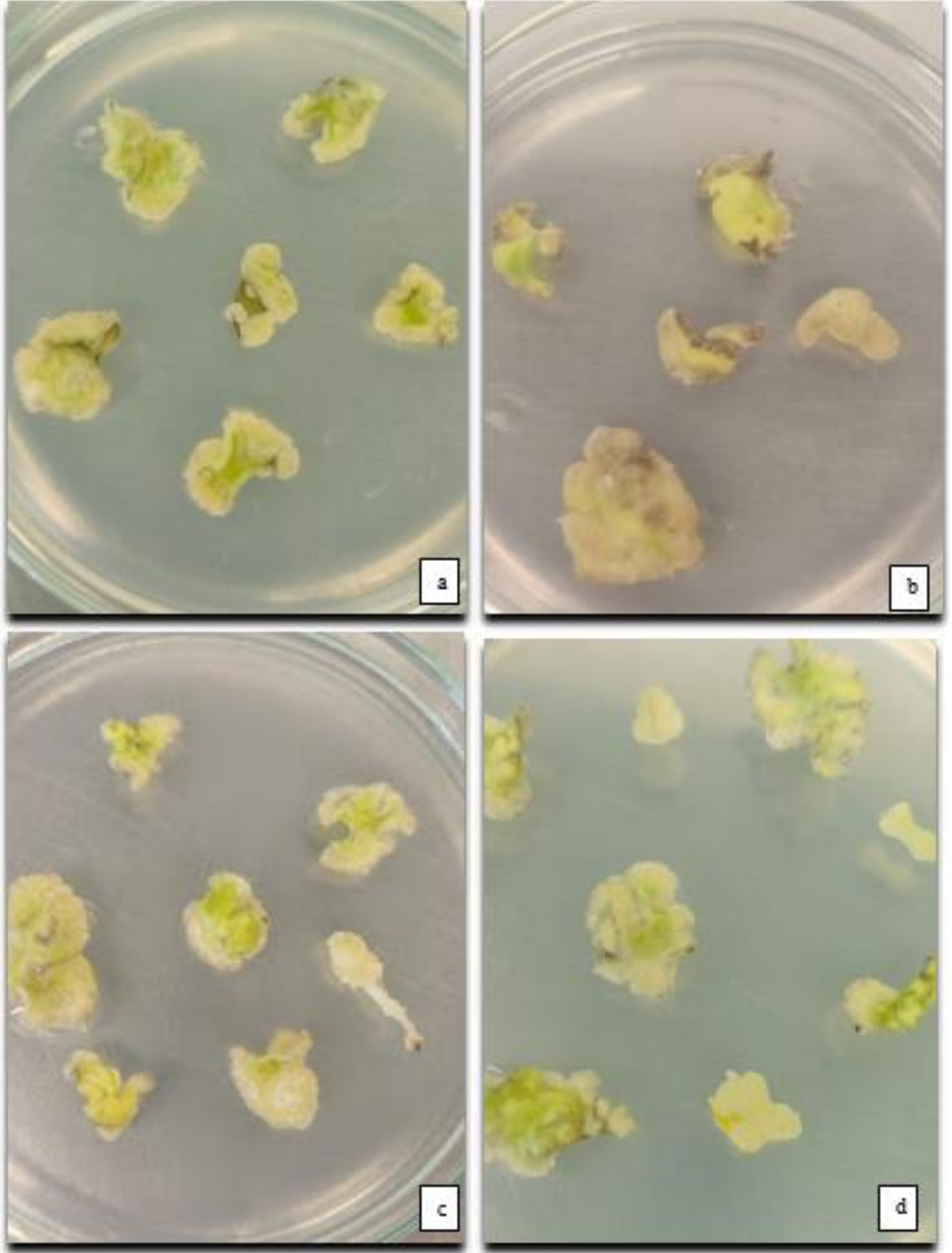
Çizelge 4.4 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	65.00 cd	50.00 d	86.67 ab	86.67 ab
4	78.33 bc	93.33 ab	93.33 ab	86.67 ab
6	85.00 ab	93.33 ab	100.00 a	85.00 ab
8	93.33 ab	78.33 bc	80.00 bc	78.33 bc
AÖF: 16.04				
G Ü N E Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	56.67 d	56.67 d	83.33 bc	85.00 abc
4	76.67 c	78.33 bc	100.00 a	93.33 ab
6	85.00 abc	85.00 abc	80.00 bc	86.67 abc
8	71.67 cd	86.67 abc	100.00 a	78.33 bc
AÖF: 15.19				

*) Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.



Şekil 4.5 Kotiledon eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması



Şekil 4.6 Kotiledon eksplantlarında kallus oluşumu

a) Aktaş 6 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP; b) Aktaş 8 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP; c) Güneş 8 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP; d) Güneş 4 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP

Aktaş ve Güneş çeşidi kotiledon eksplantlarının farklı oksin (2,4-D) ve sitokinin (BAP) dozlarında oluşturduğu kallus oranı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin 2,4-D'nin yüksek dozlarının (6 mg/L) ve BAP'ın yüksek dozlarının (1.5 mg/L) kombinasyonunda daha yüksek kallus oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek kallus oranı 2,4-D'nin orta ve yüksek dozu (4-8 mg/L) ile BAP'ın yüksek dozlarının (1.5 mg/L) kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.4)

Yamane (1974), Hao vd. (1998), Woo vd. (2000), Klcova ve Gubisova (2008) ve Fei vd. (2019) gibi araştırmacılar da çalışmamız konusu olan karabuğdayın kotiledon eksplantlarından kallus oluşumunu sağlamak için 2,4-D ve BAP'ın farklı doz ve kombinasyonlarını içeren besin ortamları kullanmışlardır. 2,4-D'nin ve BAP'ın yüksek dozlarının kombinasyonlarında yüksek kallus oranının ortaya çıktığını gösteren bulgularımız; Yamane (1974) ve Woo vd. (2000)'nun sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir. Ancak yapılan birçok araştırmada, kallus oluşturma yeteneğinin her bitkinin genetik alt yapısına bağlı olduğu ortaya konmuştur (Yui ve Yoshida 2001).

Yamane (1974), karabuğday kotiledon eksplantlarında 5 mg/L'den fazla 2,4-D içeren ortamlarda kallus oluşumunun kolay ve yüksek oranda gerçekleştiğini bildirmiştir; bu sonuçlar çalışmamızla uyumludur. Ancak Woo ve ark. (2000), en yüksek kallus oranını 2 mg/L BAP içeren ortamda, Hao ve ark. (1998) ise 2 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L 6-BA kombinasyonunda elde ettiklerini rapor etmiştir. Bu bulgular, bizim yüksek doz uygulamalarında elde ettiğimiz yüksek kallus oluşum oranlarıyla örtüşmemektedir.

Fei vd.(2019), Tatar karabuğdayının kotiledon eksplantlarını kullandığı araştırmada en yüksek kallus oranını, 1 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP içeren kombinasyondan elde ettiğini, oluşan kallusların açık sarı renkte ve kallus gelişiminin çok sağlıklı olduğunu bildirmişlerdir. Klcova ve Gubisova (2008) yaptıkları deneyler sonucunda kotiledon eksplantlarından 1 mg/L 2,4-D içeren MS besin ortamlarından kallus oluşumu sağladığını belirtmişlerdir.

4.1.3 Yaprak eksplantlarından kallus oluşumu

Farklı hormon kombinasyonları içeren ortama alınan Aktaş ve Güneş çeşitlerinin yaprak eksplantlarında kallus oluşumu incelenip, kallus oluşturan eksplant sayıları alınmış ve pertideki toplam eksplant sayısına oranlanarak kallus oranı verileri elde edilmiştir (Şekil 4.8). Yaprak eksplantlarından elde edilen kallus oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.5’de verilmiştir. Çizelge 4.5 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak eksplantlarında oluşan kallus oranları arasında önemli farklılıklar olduğu; BAP dozlarının ve Aktaş çeşidinde 2,4-D ve BAP dozları etkileşiminin %1 düzeyinde ve 2,4-D dozlarının her iki çeşitte ve Güneş çeşidinde 2,4-D ve BAP dozlarını etkileşiminin %5 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.5 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
2,4-D Dozları	3	361.632*	346.226*
BAP Dozları	3	1 488.021**	1 616.781**
2,4-D Dozları*BAP Dozları	9	421.354**	183.088*
Hata	32	100.521	81.836
CV: Aktaş için %13.10; Güneş için %10.80; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *:p<0.05 düzeyinde önemli.			

Kallus oranı bakımından, 2,4-D ve BAP etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.6’da verilmiştir. Çizelge 4.6’da görüldüğü gibi, yaprak eksplantlarında kallus oranı Aktaş çeşidinde % 93.33 ile %50 arasında; Güneş çeşidinde ise %100 - % 53.33 arasında değişmiştir. Aktaş çeşidinde en yüksek kallus oranı; 2,4-D’nin 2-4-8 mg/L dozları ve BAP’ın 1-1.5 mg/L dozları kombinasyonları arasında % 93.33 olarak ortaya çıkarken; en düşük kallus oranı ise 2,4-D’nin 4 mg/L ve BAP’ın 1 mg/L doz kombinasyonunda % 50 bulunmuştur. Güneş çeşidi yaprak eksplantlarında en yüksek kallus oranı, 4-8 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP (%100) kombinasyonlarında gerçekleşirken, en düşük kallus oranı 6

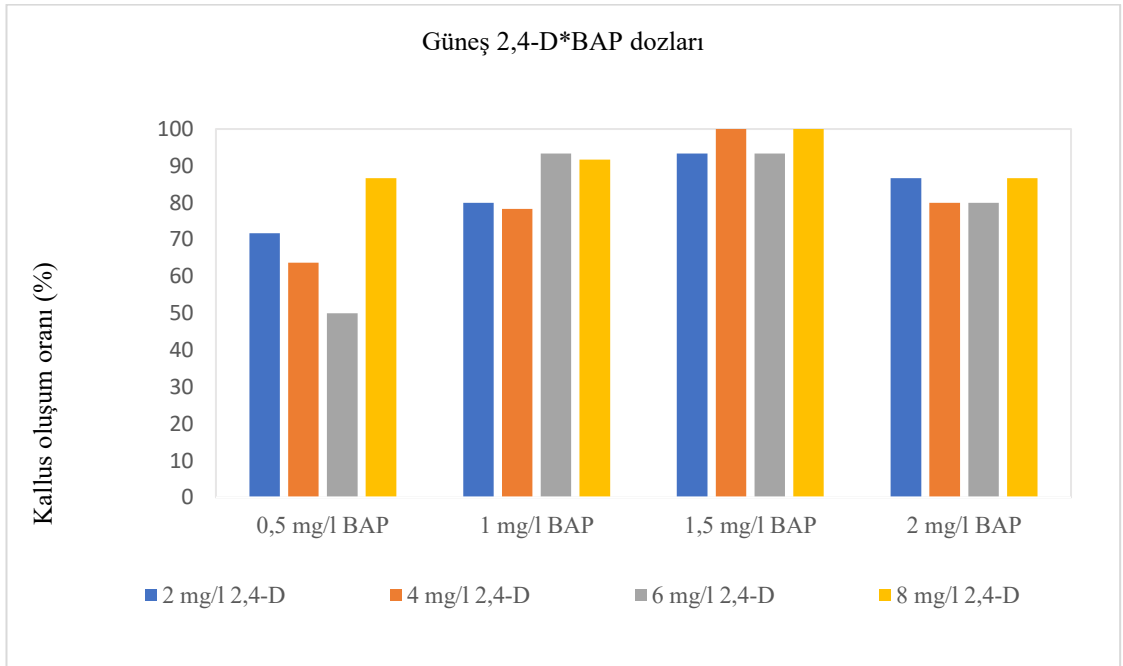
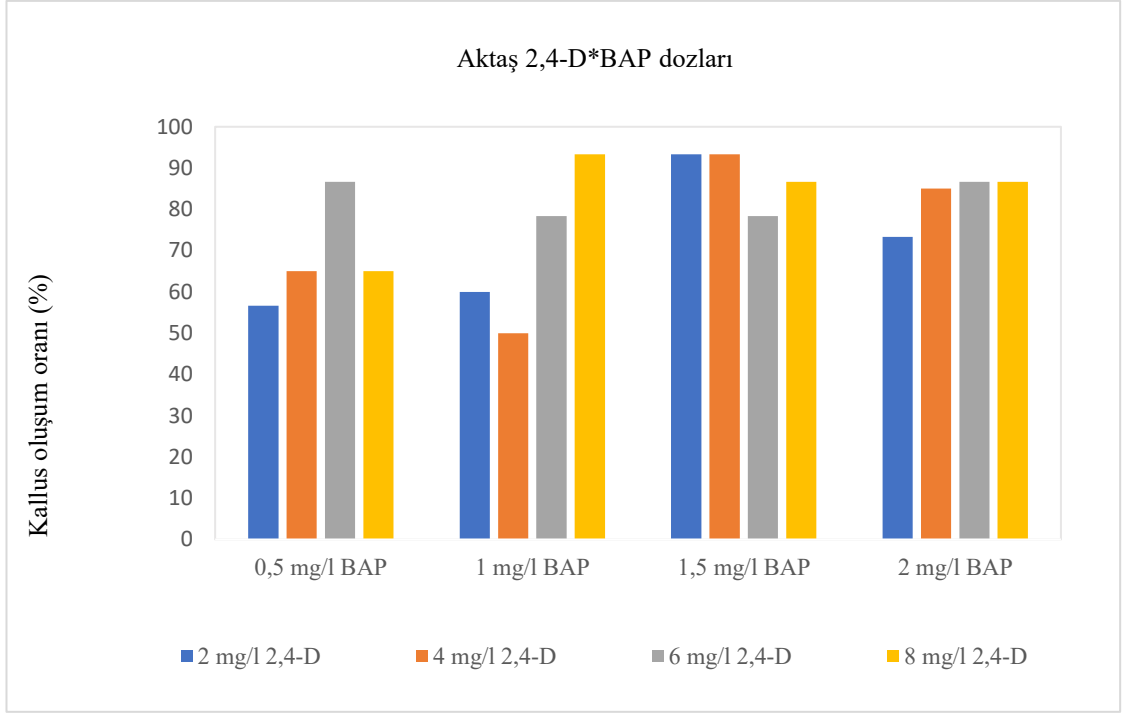
mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP (%53.33) kombinasyonunda gerçekleşmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.7).

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak eksplantlarının farklı oksin (2,4-D) ve sitokinin (BAP) dozlarında oluşturduğu kallus oranı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin 2,4-D'nin düşük, orta ve yüksek dozlarının (2-4 ve 8 mg/L) ve BAP'ın orta ve yüksek dozlarının (1-1.5 mg/L) kombinasyonunda daha yüksek kallus oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek kallus oranı 2,4-D'nin orta ve yüksek dozu (4-8 mg/L) ile BAP'ın yüksek dozlarının (1.5 mg/L) kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.6)

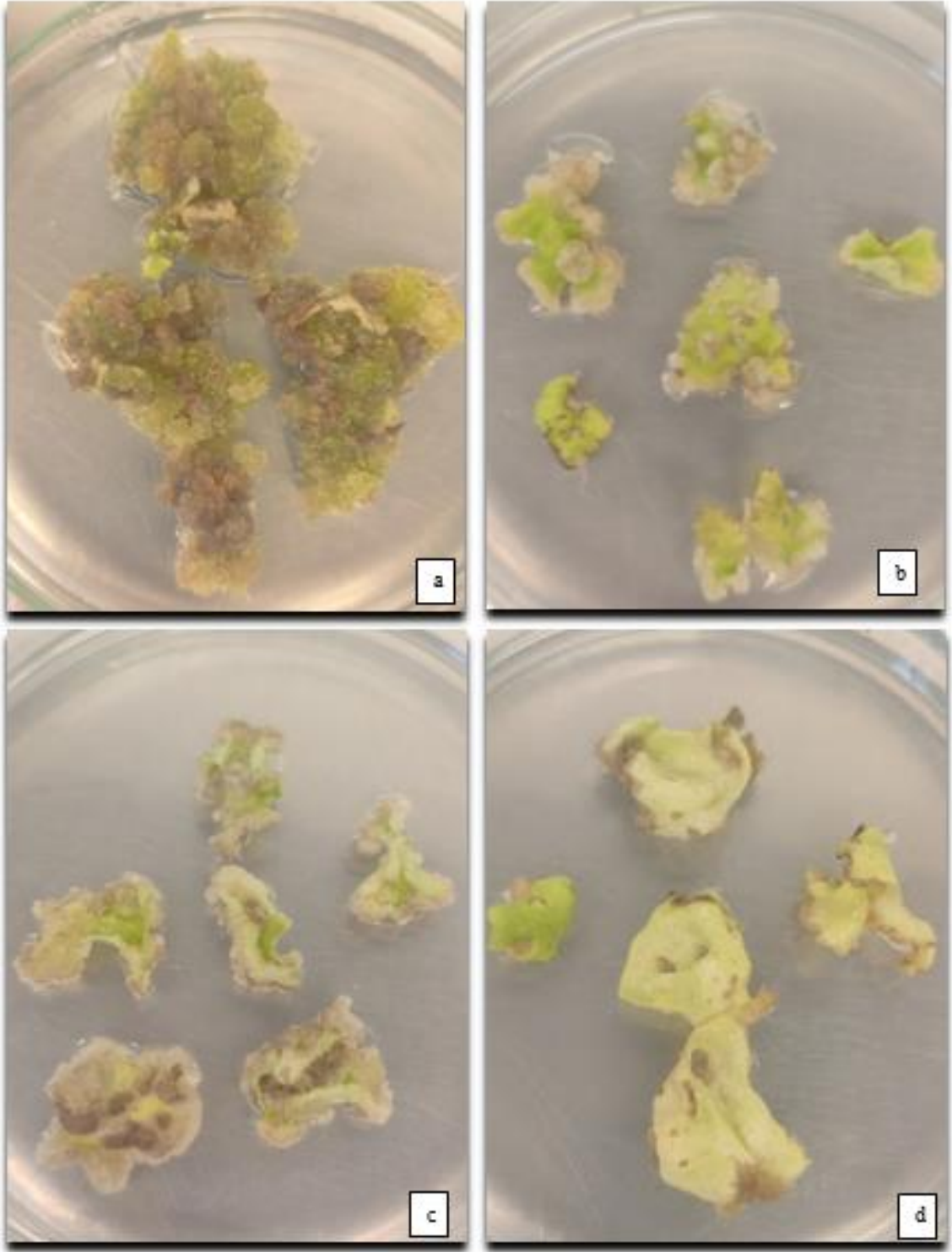
Çizelge 4.6 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	56.67 bc	60.00 de	93.33 a	73.33 bcd
4	65.00 cde	50.00 e	93.33 a	85.00 ab
6	65.00 cde	78.33 abc	78.33 abc	86.67 ab
8	65.00 cde	93.33 a	86.67 ab	86.67 ab
AÖF:16.71				
G Ü N E Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	71.67 cd	80.00 bcd	93.33 ab	86.67 abc
4	65.00 de	78.33 bcd	100.00 a	80.00 bcd
6	53.33 e	93.33 ab	93.33 ab	80.00 bcd
8	86.67 abc	91.67 ab	100.00 a	86.67 abc
AÖF: 15.07				

*) Aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.



Şekil 4.7 Yaprak eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması



Şekil 4.8 Yaprak eksplantlarında kallus oluşumu

a) 2 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP, b) 4 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP, c) 6 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP, d) 8 mg/L 2,4-D 1.5 mg/L BAP

Her iki çeşitte de yaprak eksplantlarında en yüksek kallus oranını 2,4-D'nin 2,4,6 ve 8 mg/L dozları ile BAP'ın 1.5 mg/L dozu olan kombinasyonlarında ortaya çıkmıştır. Bu sonuç, *F. tataricum*'da yaprak eksplantları ile çalışan Dennis vd. (2023)'nin sonuçları ile uyumlu değildir. Dennis vd. (2023) tatar karabuğdayında yaptıkları çalışmada yaprak eksplantlarını kullanmışlar ve 2 mg/L 2,4-D ve 0.1 mg/L BAP kombinasyonunda %90.67 oranında kallus elde etmişlerdir. Bu veriler doku kültürü çalışmalarında kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunda genotipin etkisinin önemini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Çalışma materyalimiz olan karabuğdayın yaprak eksplantlarından kallus oluşumunu sağlamak amacıyla 2,4-D ve BAP'ın farklı doz ve kombinasyonlarını Rajbhandari vd. (1995), Park vd. (1999), Woo vd. (2004) ve benzeri araştırmacılar da kullanmışlardır. BAP'ın tek başına veya 2,4-D ile kombinasyon halinde kallus oluşumunu artırdığı bilinmekle birlikte (Dennis vd. 2023), bu çalışmada yüksek BAP dozlarının (1–1.5 mg/L) daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Rajbhandari vd. (1995), karabuğday yaprak eksplantlarında 1 mg/L 2,4-D ile %28–92 kallus oluşumu elde ettiklerini, Park vd. (1999) ise 1 ve 3 mg/L 2,4-D ile sırasıyla %73 ve %76 oranlarına ulaştıklarını bildirmiştir. Woo vd. (2004) ise en yüksek kallus oranını 2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP kombinasyonunda elde etmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda orta ve yüksek dozlarda 2,4-D (4–8 mg/L) kullanarak elde ettiğimiz yüksek kallus oluşum oranlarıyla farklılık göstermektedir.

4.1.4 Yaprak sapı eksplantlarından kallus oluşumu

Farklı hormon kombinasyonları içeren ortama alınan Aktaş ve Güneş çeşitlerinin yaprak sapı eksplantlarında kallus oluşumu incelenerek, kallus oluşturan eksplant sayıları alınmış ve petrideki toplam eksplant sayısına oranlanarak kallus oranı verileri elde edilmiştir (Şekil 4.10). Yaprak sapı eksplantlarından elde edilen kallus oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.7'de verilmiştir. Çizelge 4.7 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak sapı eksplantlarında oluşan kallus oranları arasında

önemli farklılıklar olduğu; 2,4-D, BAP dozları ve 2,4-D ve BAP dozlarının etkileşiminin %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.7 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında oluşan kallus oranına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
2,4-D Dozları	3	606.076**	964.583**
BAP Dozları	3	1 518.576**	1 059.028**
2,4-D Dozları*BAP Dozları	9	264.873**	393.75**
Hata	32	81.771	98.958
CV: Aktaş için %11.25; Güneş için %13.84; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			

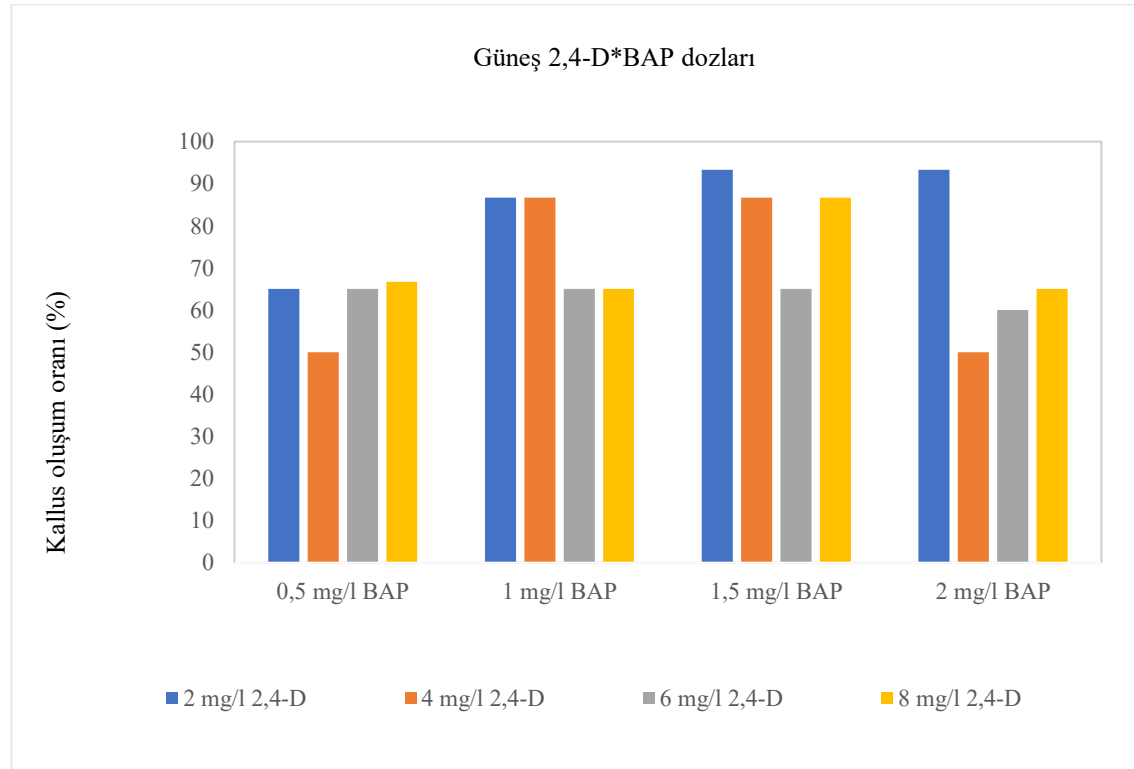
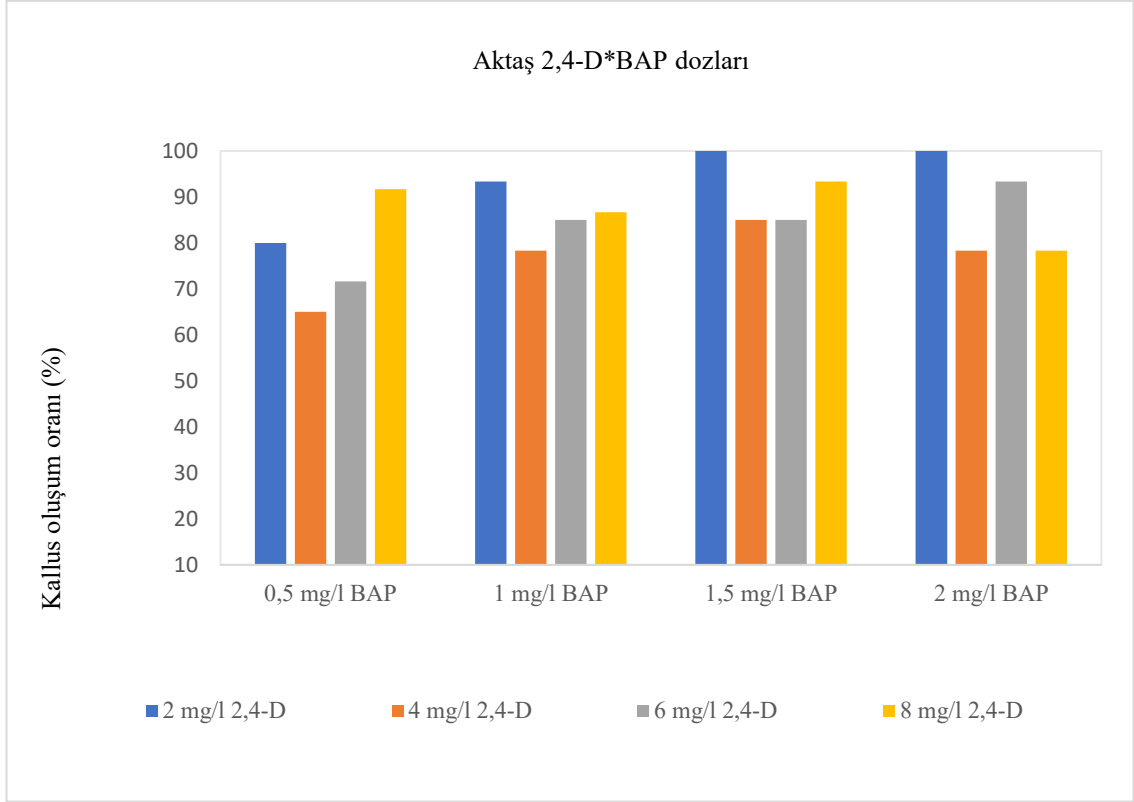
Kallus oranı bakımından, 2,4-D ve BAP etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.7’de verilmiştir. Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi, yaprak sapı eksplantlarında kallus oranı, Aktaş çeşidinde % 100 ile %50 arasında; Güneş çeşidinde ise %93.33 - % 50 arasında değişmiştir. Aktaş çeşidinde en yüksek kallus oranı; 2,4-D’nin 2-8 mg/L dozları ve BAP’ın 1.5 mg/L dozları kombinasyonları arasında % 100 olarak ortaya çıkarken; en düşük kallus oranı ise 2,4-D’nin 2 mg/L ve BAP’ın 0.5 mg/L doz kombinasyonunda % 50 bulunmuştur.

Güneş çeşidi yaprak sapı eksplantlarında en yüksek kallus oranı, 2 mg/L 2,4-D + 1.5-2 mg/L BAP (%93.33) kombinasyonlarında gerçekleşirken, en düşük kallus oranı 4 mg/L 2,4-D + 0.5-2 mg/L BAP (%50) kombinasyonunda gerçekleşmiştir (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.10).

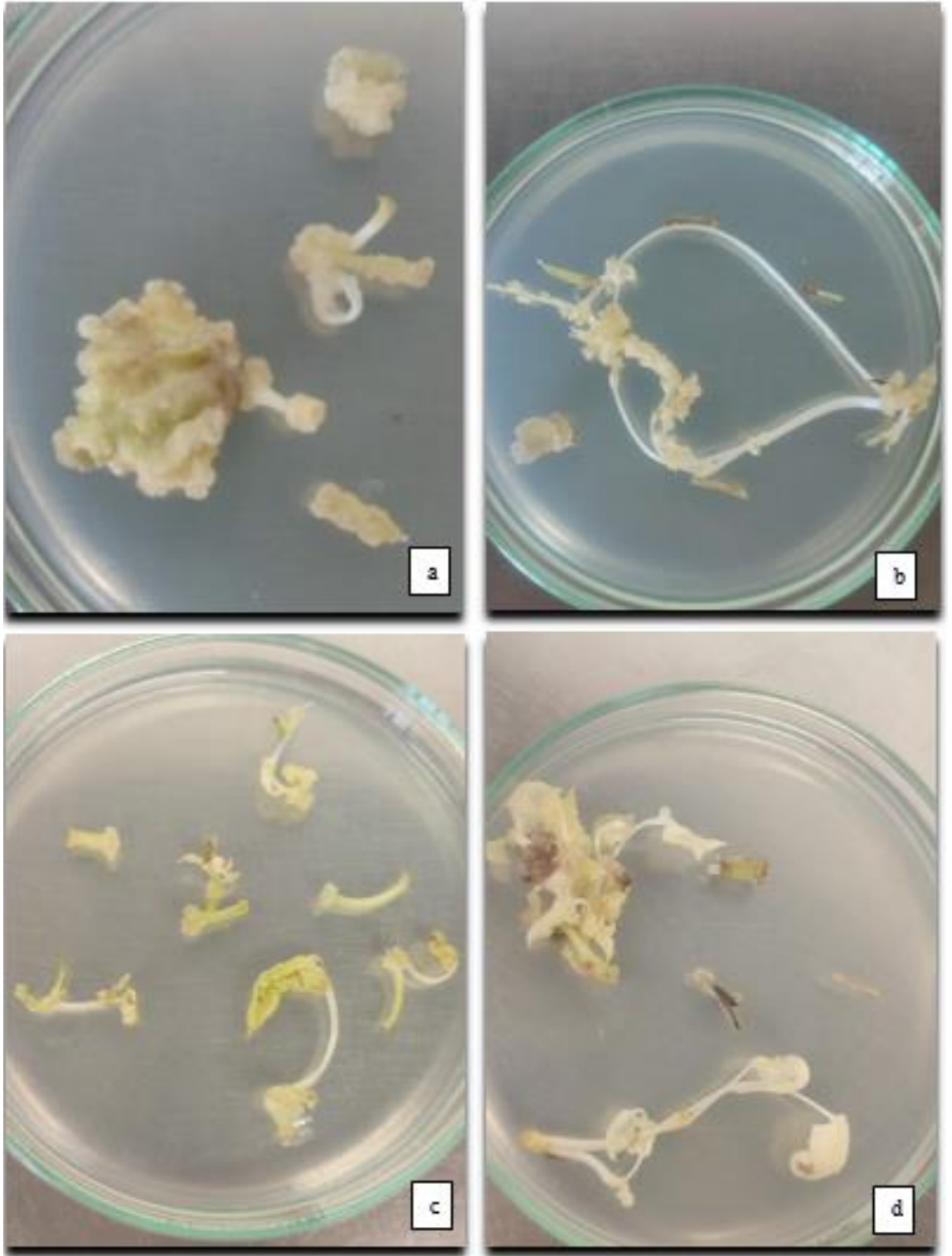
Çizelge 4.8 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında ortaya çıkan kallus oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	50.00 e	78.33 bcd	100.00 a	65.00 de
4	65.00 de	78.33 bcd	93.33 ab	78.33 bcd
6	71.67 cd	85.00 abc	93.33 ab	93.33 ab
8	91.67 ab	86.67 abc	100.00 a	78.33 bcd
AÖF: 15.06				
G Ü N E Ş				
2,4-D Dozları (mg/L)	BAP Dozları (mg/L)			
	0.5	1	1.5	2
2	65.00 bc	86.67 a	93.33 a	93.33 a
4	50.00 c	86.67 a	86.67 a	50.00 c
6	65.00 bc	65.00 bc	65.00 bc	60.00 bc
8	66.67 b	65.00 bc	86.67 a	65.00 bc
AÖF: 16.55				

*) Aynı harf taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli değildir.



Şekil 4.9 Yaprak sapı eksplantlarında kallus oluşum oranı ortalaması



Şekil 4.10 Yaprak sapı eksplantının kallus oluşumu

a) Aktaş 2 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP, b) Aktaş 8 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP, c) Güneş 2 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP, d) Güneş 2 mg/L 2,4-D + 2 mg/L BAP

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak sapı eksplantlarının farklı oksin (2,4-D) ve sitokinin (BAP) dozlarında oluşturduğu kallus oranı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin 2,4-D'nin düşük ve yüksek dozlarının (2-8 mg/L) ve BAP'ın orta ve yüksek dozlarının (1.5 mg/L) kombinasyonu etkileşiminin daha yüksek kallus oranı oluşturduğu gözlemlenmiştir. Güneş çeşidinde ise en yüksek kallus oranı 2,4-D'nin düşük dozu (2 mg/L) ile BAP'ın yüksek dozlarının (1.5-2 mg/L) kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.8)

Rajbhandari vd. (1995), karabuğday gövde eksplantlarında 1 mg/L 2,4-D içeren ortamlarda %20–98 oranında kallus oluşumu elde ettiklerini rapor etmiştir. Bu çalışmada ise, yaprak sapı eksplantları kullanılarak 2 ve 8 mg/L 2,4-D + 1.5 mg/L BAP içeren ortamlarda %100 kallus oluşumu sağlanmıştır. Elde edilen bulgular, kallus oluşum oranlarının genotipe bağlı olarak değişebileceğini ve farklı hormon kombinasyonlarının bu sonuç üzerinde belirleyici rol oynayabileceğini göstermektedir.

Mohajer vd. (2012), korunga'nın yaprak, yaprak sapı ve kök eksplantlarını kullandıkları kallus oluşumu çalışmalarında; 0.5 BAP dozunun ve yaprak sapı eksplantlarının en iyi sonuçları verdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmamızda elde ettiğimiz farklı sonuçlar da, eksplant kaynağı, genotip farklılığı ve besin ortamı hormon ilavelerine bağlı olarak değişmiştir.

4.2 Rejenerasyon Oluşumu

Gelişen kalluslar, rejenerasyon için Çizelge 4.1'de farklı kombinasyonları verilen sitokinin [TDZ (Tidiazuron), BAP (Benzil Amino Purin)] ve oksin [NAA (Naftalen asetik asit)] kombinasyonlarını (Takata ve Jumonji,1985; Klcova ve Gubisova, 2008; Lee vd. 2009; Slawinska vd. 2009; Wang vd.2016; Fei vd.2019; Saraswat ve Kumar, 2019) içeren besiyerlerine aktararak (Şekil 4.11) kültür ortamlarına (Şekil 4.12) alınmıştır.



Şekil 4.11 Gelişen kallusların rejenerasyon ortamlarına alınması



Şekil 4.12 Rejenerasyon kültür ortamları

4.2.1 Hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının rejenerasyon oranları (Şekil 4.14) incelenmiştir. Hipokotil eksplantlarından elde edilen rejenerasyon oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir. Çizelge 4.9 incelendiğinde; iki çeşitte de hipokotil eksplantının rejenerasyon oranı arasında önemli farklılıklar

olduğu; TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.9 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	1 032.056**	825.500**
NAA Dozları	3	688.389**	1 073.889**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	498.000**	429.574**
Hata	32	143.417	69.292
CV: Aktaş için %14.57; Güneş için %11.11; **:p>0.01 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	225.188ns	63.688ns
NAA Dozları	3	209.354ns	980.910**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	762.113**	310.576**
Hata	32	135.646	74.250
CV: Aktaş için %13.90; Güneş için %12.48; **:p<0.01 düzeyinde önemli, ns: not significant.			

Rejenerasyon oranı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.10'da verilmiştir. Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi, hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı Aktaş çeşidinde % 100 ila %55.67 arasında; Güneş çeşidinde ise %100 ila % 50 arasında değişmiştir.

Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek rejenerasyon oranları; 1 mg/L TDZ + 0.25-0.5 mg/L NAA ile 0.5 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA ve 1.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (%100.00) doz kombinasyonlarında gerçekleşirken, 1.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (%55.67) ve 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (%53.33) kombinasyonlarında düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında ise en yüksek rejenerasyon oranları; 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (%100.00) ve 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (%91.67) kombinasyonlarında gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 0,25 mg/L NAA (%53.33) ve 2

mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (%50.00) kombinasyonlarında daha düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir.

Aktaş ve Güneş çeşidi hipokotil eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu rejenerasyon oranı verileri incelendiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin düşük dozlarının (1 mg/L) - NAA'nın düşük dozu (0.25-0.5mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın düşük ve orta dozlarının (0.5-1.5 mg/L) - NAA'nın orta dozları (0.5-0.75 mg/L) etkileşiminin daha yüksek rejenerasyon oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek rejenerasyon oranı TDZ'nin orta dozu (1 mg/L) ile NAA'nın düşük dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın orta dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.14)

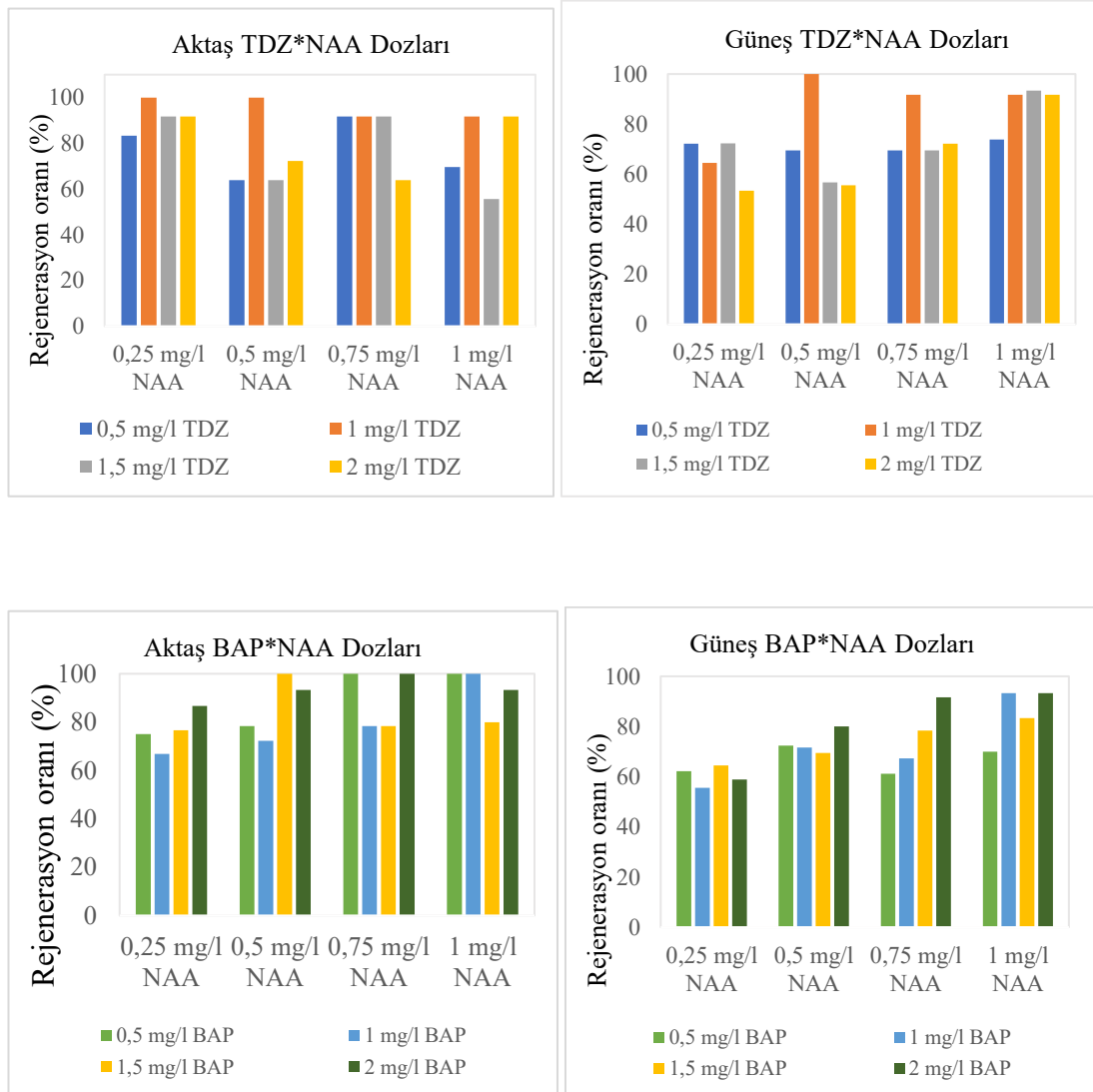
Çizelge 4.10 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	83.33 abc	64.00 cd	91.67 ab	69.67 cd
1	100.00 a	100.00 a	91.67 ab	91.67 ab
1.5	91.67 ab	64.00 cd	91.67 ab	55.67 d
2	91.67 ab	72.33 bcd	64.00 cd	91.67 ab
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	72.33 b	69.67 bc	69.67 bc	74.00 b
1	64.67 bcd	100.00 a	91.67 a	91.67 a
1.5	72.33 b	56.67 cd	69.67 bc	93.33 a
2	53.33 d	55.67 d	72.33 b	91.67 a
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	91.67 abc	65.00 de	100.00 a	91.67 abc
1	80.67 a-d	80.67 a-d	78.33 bcd	91.67 abc
1.5	91.67 abc	100.00 a	67.33 de	53.33 e
2	93.33 ab	91.67 abc	72.33 cde	91.67 abc

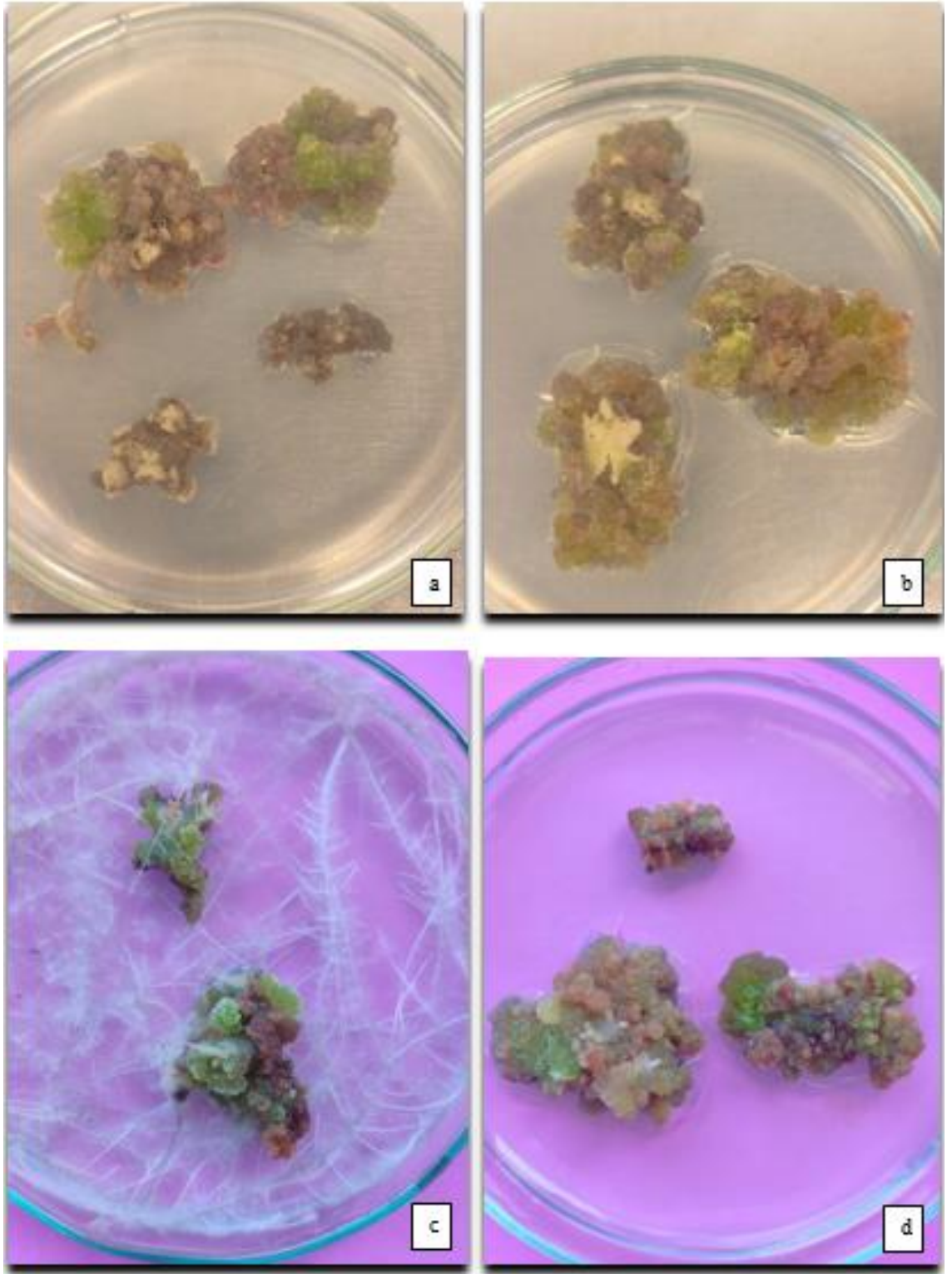
Çizelge 4.10 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları (devam)

G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	62.33 b-e	72.33 bc	61.33 b-e	70.00 bc
1	55.57 de	71.67 bc	67.33 bcd	93.33 a
1.5	69.67 bcd	61.33 b-e	74.00 b	72.33 bc
2	59.00 cde	50.00 e	72.33 bc	91.67 a

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 19.92; Güneş 13.84; BAP+NAA için AÖF: Aktaş19.37; Güneş 14.33



Şekil 4.13 Hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması



Şekil 4.14 Hipokotil eksplantlarında rejenerasyon oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA, b) Aktaş 0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA c) Güneş 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA, d) Güneş 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA

Karabuğdayda da doku kültürü çalışmalarında rejenerasyon sağlamak için birçok araştırmacı tarafından TDZ, BAP ve NAA'nın farklı doz ve kombinasyonları ile birlikte (Takahata ve Jumonji 1985; Woo vd. 2000; Klçova ve Gubisova, 2008; Lee vd. 2009; Hou vd. 2014; Wang vd. (2016); Fei vd. 2019; Saraswat ve Kumar (2019); Zaranek vd. (2023); Dennis vd. 2023) kullanılmıştır.

Aktaş çeşidinde düşük doz TDZ (1 mg/L) ve BAP (0,5-1,5 mg/L) ile düşük-orta doz NAA (0.25-0.75 mg/L) kombinasyonlarının yüksek rejenerasyon oranları sağladığını göstermiştir. Buna karşılık, Güneş çeşidinde orta doz TDZ (1 mg/L) ve BAP (1 mg/L) ile orta doz NAA (0.5-1 mg/L) kombinasyonları daha etkili olmuştur. Bu sonuçlar, Fei ve ark. (2019) ile Hou ve ark. (2014) tarafından bildirilen bulgularla uyumlu olup, TDZ ve BAP'ın rejenerasyonu güçlü şekilde uyardığını ve NAA ile etkileşim gösterdiğini doğrulamaktadır. Bununla birlikte, Takahata ve Jumonji (1985) tarafından bildirilen yalnızca BAP kullanımına dayalı rejenerasyon protokolünden farklı olarak, bu çalışmada NAA'nın kombinasyonlarda kritik bir rol oynadığı gözlemlenmiştir.

Her iki çeşitte de rejenerasyon oranı, uygulanan hormon kombinasyonlarına bağlı olarak farklılıklar göstermiştir. Aktaş çeşidinde TDZ*NAA ve BAP*NAA kombinasyonlarında daha fazla rejenerasyon oranları elde edilmiştir. Bu bulgu, TDZ' ve BAP'ın rejenerasyonu güçlü şekilde teşvik ettiğini ve bunun yanısıra NAA birlikte iki taraflı bir etkileşim oluşturduğunu da göstermiştir (Lee vd. 2009). Güneş çeşidinin hipokotil eksplantında ise genotipler arası hormon tepkilerinin farklarını ortaya çıkarmıştır.

Murthy vd. (1998) tarafından yapılan derleme çalışmasında, TDZ'nin bitki doku kültürü uygulamalarında oldukça güçlü bir büyüme düzenleyici olarak kullanılabileceğini, fakat bu etkinin tür, eksplant tipi ve doz gibi değişkenlere duyarlı olduğunu ortaya koyduğunu açıklamıştır.

Fei vd. (2019), yaptıkları çalışmada geliştirdikleri karabuğday kalluslarının, 1 mg/L 6-BA ve 0.5 mg/L TDZ içeren MS ortamında başarılı bir rejenerasyon oluşturduğunu

belirtilerek karabuğdayın genetik olarak iyileştirilmesi için önemli bir protokol olduğu bildirilmiştir.

Takahata ve Jumonji (1985), 2 mg/l BAP içeren MS ortamındaki hipokotil eksplantlarının, doğrudan rejenere olduğunu ve rejenere bitkiciklerin hormonsuz MS ortamına aktarıldığında, daha çok sayıda sürgünler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan, BAP'ın TDZ'ye göre daha az etkili olmasına rağmen, uygun doz aralıklarında farklı genetik altyapılarda başarı sağlayabildiği gözlemlenmiştir.

Hou vd. (2014) çalışmalarında, kullandıkları çeşitte 0.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA kombinasyonu ile yüksek rejenerasyon elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bu çalışma ile farklı karabuğday türlerinin hormonlara verdiği morfolojik ve genetik yanıtların farklı olduğu belirtilerek geliştirilen rejenerasyon sistemi ile karabuğdayda genetik transformasyon uygulamaları için temel teşkil edeceği bildirilmiştir. Bu sonuç çalışmada kullanılan Aktaş çeşidinden elde edilen sonuçları desteklemektedir. Ayrıca elde edilen bulgular; bitki rejenerasyon protokollerinin geliştirilmesinde çeşit-hormon etkileşiminin dikkate alınması gerektiğini göstermektedir.

Saraswat ve Kumar (2019), yaygın karabuğdayda rejenerasyon protokolu oluşturmak için yaptıkları çalışmada hipokotillerin in vitro rejenerasyon için önemli ölçüde daha iyi eksplantlar olduğunu saptamışlardır.

Zaraneek vd. (2023) yaptıkları çalışmada, karabuğdayın hipokotil eksplantlarının, 3 mg/L BAP ve 1 mg/L TDZ ile 2 mg/L BAP ve 1 mg/L KIN içeren ortamlarda bitki rejenerasyonu gözlemlenmiş ve rejenerasyonun, TDZ içeren ortamlarda daha verimli olduğu bildirilmiştir.

4.2.2 Kotiledon eksplantlarında rejenerasyon oranı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarının rejenerasyon oranları (Şekil 4.16)

incelenmiştir. Kotiledon eksplantlarından elde edilen rejenerasyon oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Çizelge 4.11 incelendiğinde; iki çeşitte de kotiledon eksplantının rejenerasyon oranı arasında önemli farklılıklar olduğu; TDZ, BAP ve NAA dozları ile bu dozların etkileşimlerinin istatistiksel olarak önem düzeylerinde değişiklikler gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 4.11 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	1 082.500**	1 082.500**
NAA Dozları	3	676.833**	676.833**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	283.926*	283.926*
Hata	32	120.396	120.396
CV: Aktaş için %13.89; Güneş için %13.38; **:p<0.01 düzeyinde önemli,*p<0.05 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	520.750**	351.722*
NAA Dozları	3	144.139ns	801.056**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	365.991**	420.000**
Hata	32	61.729	112.708
CV: Aktaş için %8.43; Güneş için %14.90; **:p<0.01 düzeyinde önemli,* p<0.05 düzeyinde önemli, ns: not significant.			

Rejenerasyon oranı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.12’de verilmiştir. Çizelge 4.12’de görüldüğü gibi, kotiledon eksplantlarında rejenerasyon oranı Aktaş çeşidinde % 100 ila %53.33 arasında; Güneş çeşidinde ise %93.33 ila % 46.67 arasında değişmiştir.

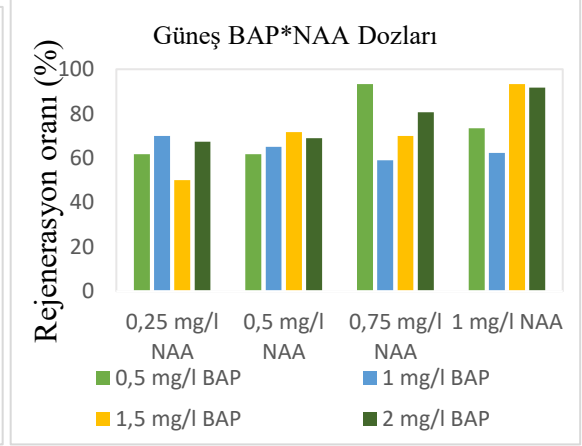
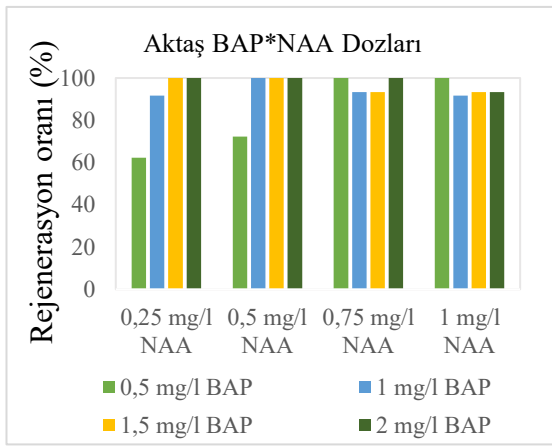
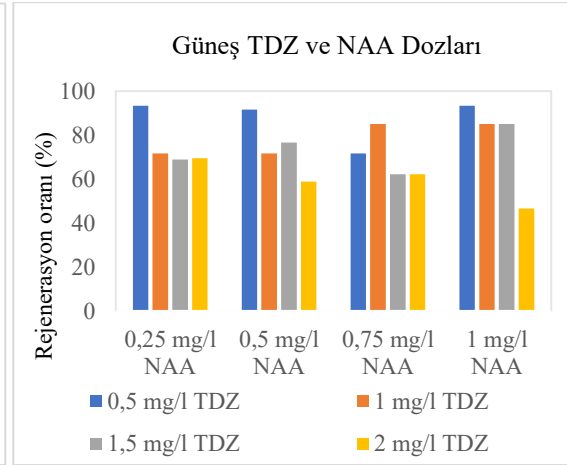
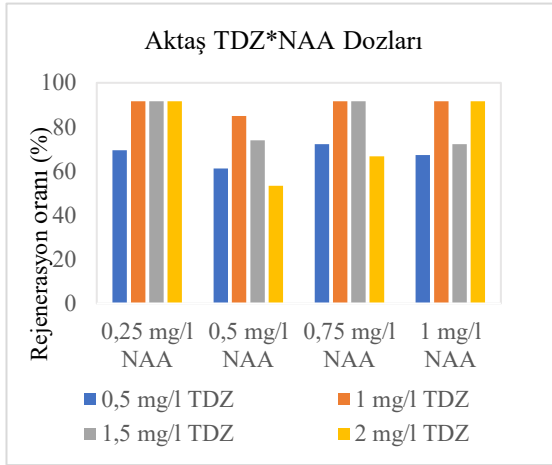
Çizelge 4.12’ de görüldüğü gibi, Aktaş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek rejenerasyon oranları; 0.5 mg/L BAP + 0.75-1 mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA, 1.5 mg/L BAP + 0.25-0.5 mg/L NAA, 2 mg/L BAP + 0.25-0.5-0.75 mg/L NAA (%100.00) kombinasyonlarında gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA

(%53.33) kombinasyonunda düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında ise en yüksek rejenerasyon oranları; 0.5 mg/L TDZ + 0.25-1 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA ve 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (%93.33) kombinasyonlarında gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (%46.67) kombinasyonunda düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir (Şekil 4.15) .

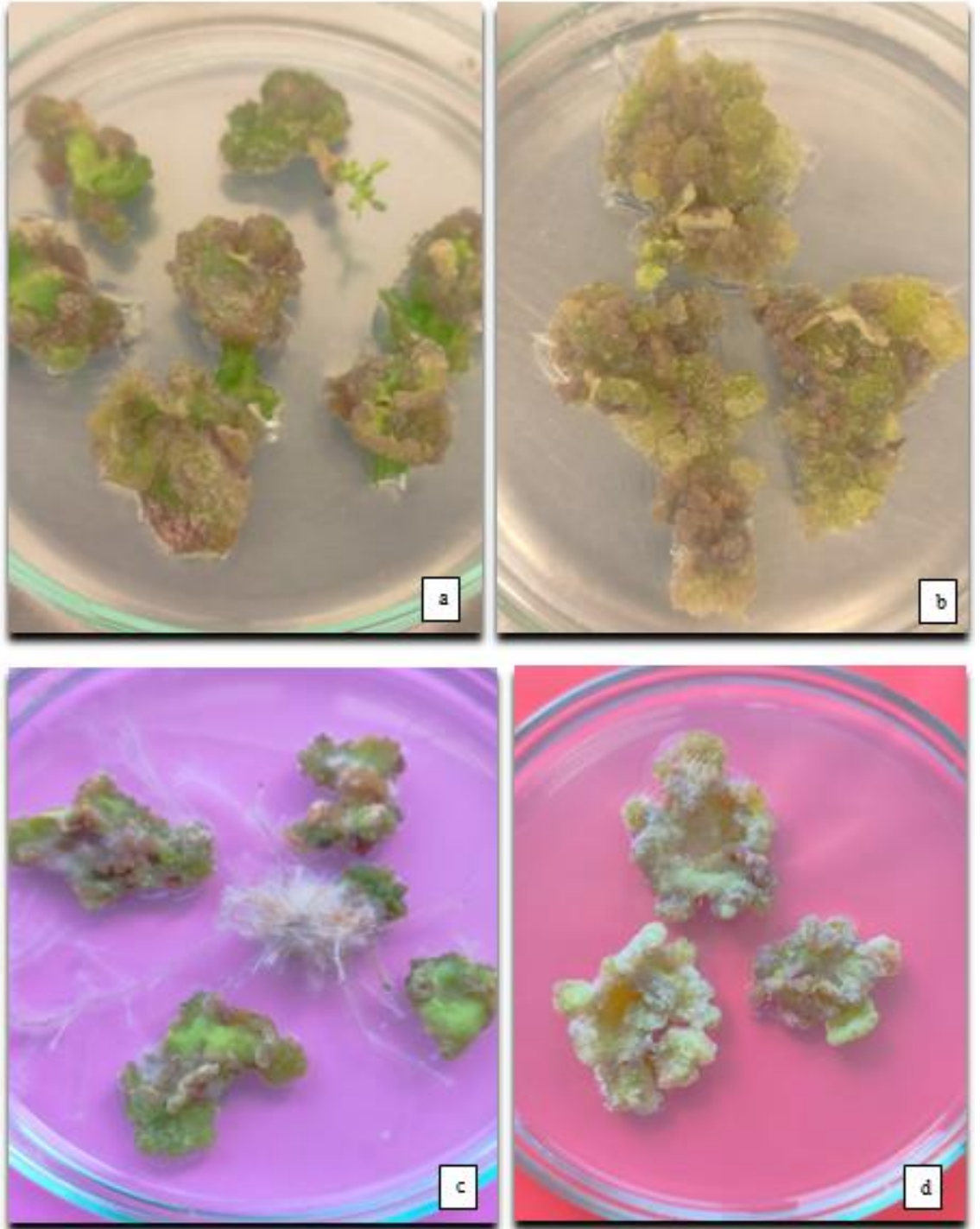
Çizelge 4.12 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	69.67 bcd	61.33 cd	72.33 bc	67.33 bcd
1	91.67 a	85.00 ab	91.67 a	91.67 a
1.5	91.67 a	74.00 abc	91.67 a	72.33 bc
2	91.67 a	53.33 d	66.00 bcd	91.67 a
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	93.33 a	91.67 ab	71.67 cde	93.33 a
1	71.67 cde	71.67 cde	85.00 abc	85.00 abc
1.5	69.00 cde	76.67 bcd	62.33 def	85.00 abc
2	69.67 cde	59.00 ef	62.33 def	46.67 f
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	62.33 b	72.33 b	100.00 a	100.00 a
1	91.67a	100.00 a	93.33 a	91.67 a
1.5	100.00 a	100.00 a	93.33 a	93.33 a
2	100.00 a	100.00 a	100.00 a	93.33 a
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	61.67 cd	61.67 cd	93.33 a	73.33 bc
1	70.00 bc	65.00 bcd	59.00 cd	62.33 cd
1.5	50.00 d	71.67 bc	70.00 bc	93.33 a
2	67.33 bcd	69.00 bc	80.67 ab	91.67 a

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 18.25; Güneş 16.61; BAP+NAA için AÖF: Aktaş13.07; Güneş 17.66



Şekil 4.15 Kotiledon eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması



Şekil 4.16 Kotiledon eksplantlarında rejenerasyon oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA, b) Aktaş 2 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA c) Güneş 0.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA, d) Güneş 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi kotiledon eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu rejenerasyon oranı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin orta-yüksek dozlarının (1-1.5-2 mg/L) - NAA'nın düşük-yüksek dozları (0.25-0.75-1 mg/L)

ile kombinasyonu ve BAP'ın tüm dozlarının (0.5-1-2-1.5 mg/L) - NAA'nın tüm dozları (0.25-0.5-0.75-1 mg/L) etkileşiminin yüksek rejenerasyon oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek rejenerasyon oranı TDZ'nin düşük dozu (0.5 mg/L) ile NAA'nın düşük-yüksek dozlarının (0.25-1 mg/L) ile kombinasyonlarında ve BAP'ın düşük-orta dozlarının (0.5-1.5 mg/L) - NAA'nın orta-yüksek dozları (0.75-1 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.15)

Çalışmamızda olduğu gibi, karabuğdayda da doku kültürü çalışmalarında birçok araştırmacı tarafından TDZ, BAP ve NAA'nın farklı doz ve kombinasyonları ile birlikte farklı karabuğday çeşitlerinin kotiledon eksplantları, rejenerasyon çalışmalarında (Yamane, 1974; Takahata ve Jumonji 1985; Berbec ve Doroszevska 1999; Woo vd. 2000; Klcova ve Gubisova, 2008; Lee vd. 2009; Hou vd. 2014; Wang vd. (2016); Fei vd. 2019; Dennis vd. 2023) kullanılmıştır.

Bu çalışmada, Aktaş çeşidinde en yüksek rejenerasyon oranları, BAP*NAA kombinasyonlarında elde edilmiştir. Güneş çeşidinde ise TDZ*NAA ve BAP*NAA kombinasyonlarında Aktaş çeşidine göre daha düşük rejenerasyon oranları elde edilmiştir. Bu bulgular, Fei vd. (2019)'nın 1 mg/L BAP ve 0.5 mg/L TDZ ile yüksek rejenerasyon bildiren çalışmasıyla kısmen örtüşmekle birlikte, genotipin etkisini daha belirgin şekilde ortaya koymaktadır. Hou vd. (2014)'nin 0.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA kombinasyonundaki başarısı, Güneş çeşidindeki sonuçlarla NAA dozu bakımından uyumludur. Ancak, Takahata ve Jumonji (1985)'nin sadece 2 mg/L BAP kullanarak elde ettiği sonuçlar, bu çalışmadaki sonuçlarla uyum sağlamamaktadır. Bu karşılaştırmalar, hormon dozlarının çeşitlere göre belirlenmesi gerektiğini ve NAA'nın karabuğday rejenerasyonunda kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

Murthy vd. (1998) tarafından yapılan derleme çalışmasında, TDZ'nin bitki doku kültürü uygulamalarında oldukça güçlü bir büyüme düzenleyici olarak kullanılabileceğini, fakat bu etkinin tür, eksplant tipi ve doz gibi değişkenlere duyarlı olduğunu ortaya koyduğunu açıklanmıştır.

Her iki çeşitte de rejenerasyon oranı, uygulanan hormon kombinasyonlarına bağlı olarak farklılıklar göstermiştir. Aktaş çeşidinde TDZ*NAA ve BAP*NAA kombinasyonlarında daha fazla rejenerasyon oranları elde edilmiştir. Bu bulgu, TDZ ve BAP'ın rejenerasyonu güçlü şekilde teşvik ettiğini ve bunun yanısıra NAA birlikte iki taraflı bir etkileşim oluşturduğunu da göstermiştir (Lee vd. 2009).

Ayrıca, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, kotiledon eksplantlarının hipokotil eksplantlarına kıyasla daha yüksek rejenerasyon kapasitesi gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgu, Wang ve ark. (2016)'nın hipokotil eksplantlarının daha iyi rejenerasyon oluşumu performansı gösterdiğini belirten çalışmasıyla çelişmektedir. Bu farklılık, kullanılan karabuğday genotiplerinden ve hormon dozları ile kombinasyonlarından kaynaklanmaktadır. Elde ettiğimiz veriler, karabuğdayda rejenerasyon verimliliğinin genotip ve eksplant tipine bağlı olarak önemli ölçüde değişebileceğini göstermektedir.

4.2.3 Yaprak eksplantlarında rejenerasyon oranı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarının rejenerasyon oranları (Şekil 4.18) incelenmiştir. Yaprak eksplantlarından elde edilen rejenerasyon oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.13'de verilmiştir. Çizelge 4.13 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak eksplantının rejenerasyon oranı arasında önemli farklılıklar olduğu; TDZ, BAP ve NAA dozları ile bu dozların etkileşimlerinin istatistiksel olarak önem düzeylerinde değişiklikler gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 4.13 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	505.056**	722.000**
NAA Dozları	3	147.661ns	2 580.722**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	377.222**	254.981*
Hata	32	101.188	101.333
CV: Aktaş için %12.98; Güneş için %14.16; **:p<0.01 düzeyinde önemli, * p<0.05 düzeyinde önemli, ns: not significant			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	60.500ns	833.799**
NAA Dozları	3	292.167*	88.743ns
BAP Dozları*NAA Dozları	9	187.259*	685.891**
Hata	32	81.021	85.042
CV: Aktaş için %9.58; Güneş için %12.06; **:p<0.01 düzeyinde önemli, * p<0.05 düzeyinde önemli, ns: not significant			

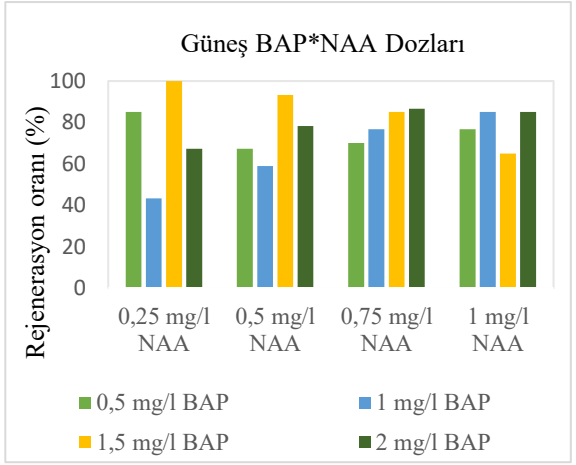
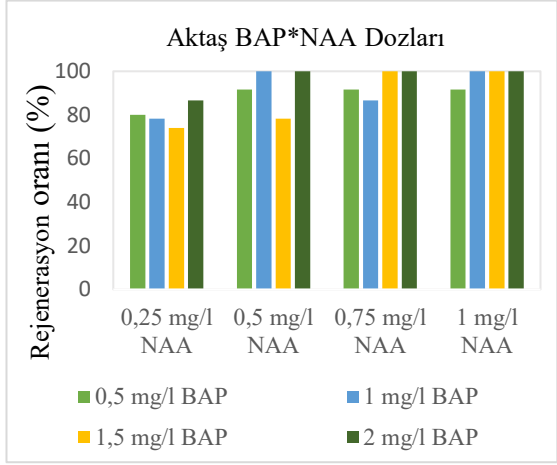
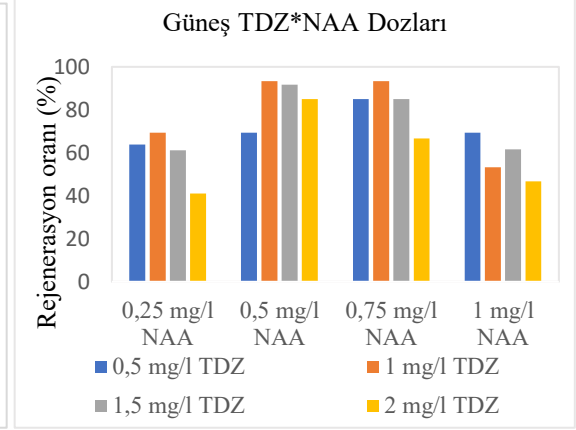
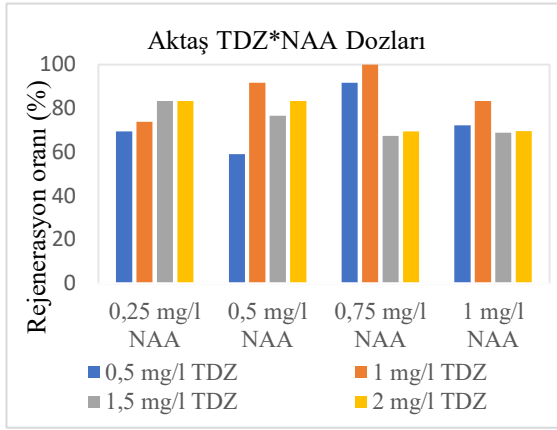
Rejenerasyon oranı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.14’de verilmiştir. Çizelge 4.14’de görüldüğü gibi, yaprak eksplantlarında rejenerasyon oranı Aktaş çeşidinde %100 ile % 67.33 arasında; Güneş çeşidinde ise %100 ile %41.11 arasında değişmiştir.

Çizelge 4.14’ de görüldüğü gibi, Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek rejenerasyon oranı; 1 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA, 1 mg/L BAP + 0.5-1 mg/L NAA, 1.5 mg/L BAP + 0.5-0.75-1 mg/L NAA, 2 mg/L BAP + 0.5-1 mg/L NAA (%100.00) kombinasyonunda gerçekleşirken, 0.5 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (%59.00) kombinasyonunda en düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek rejenerasyon oranı; 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (%100) kombinasyonlarında gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (%41.11) kombinasyonunda en düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir (Şekil 4.17).

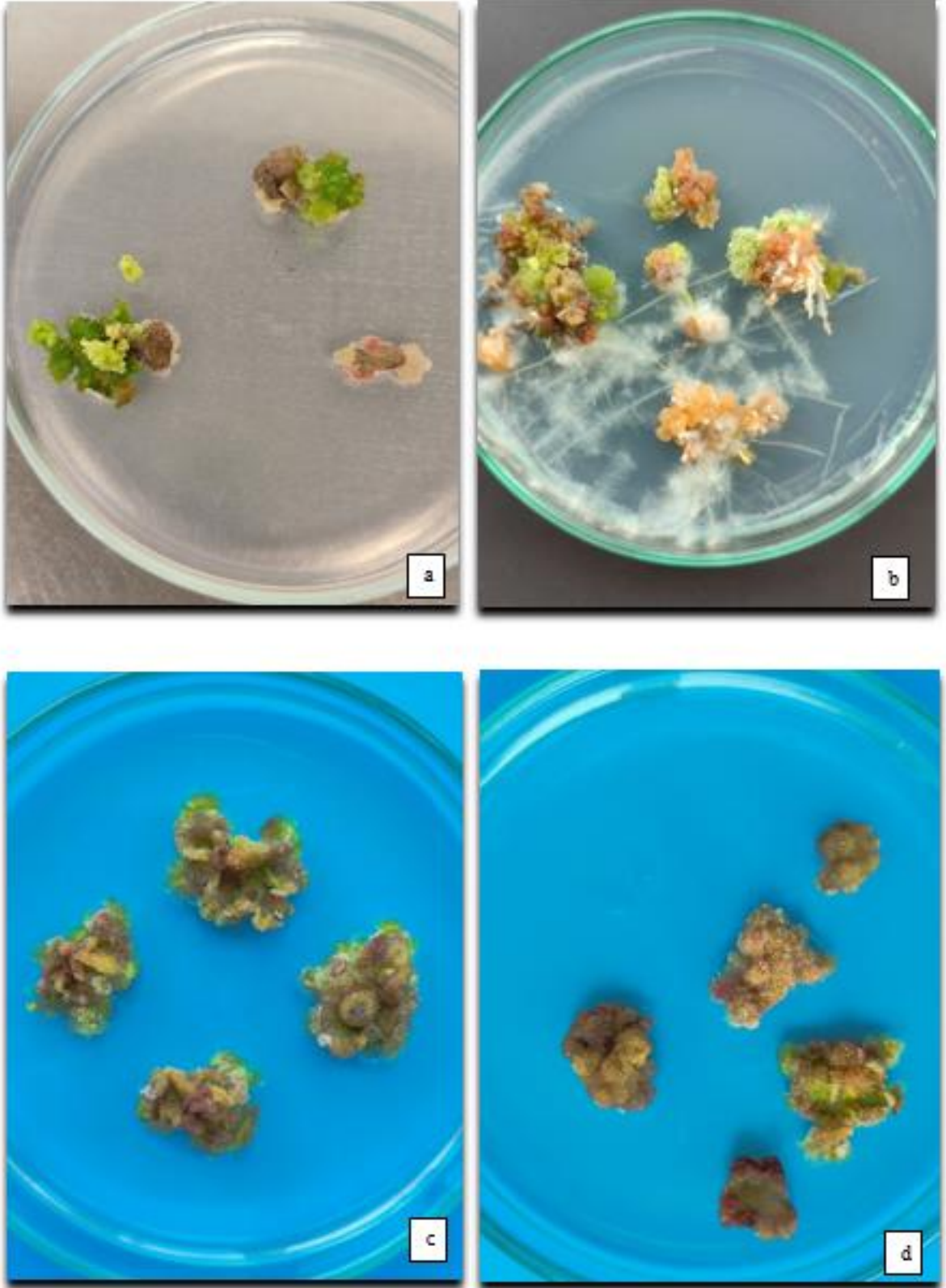
Çizelge 4.14 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	69.67 cd	59.00 d	91.67 ab	72.33 cd
1	74.00 cd	91.67 ab	100.00 a	83.33 abc
1.5	83.33 abc	76.67 bc	67.33 cd	69.00 cd
2	83.33 abc	83.33 abc	69.67 cd	69.67 cd
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	64.00 c	69.67 bc	85.00 ab	69.67 bc
1	69.67 bc	93.33 a	93.33 a	53.33 cde
1.5	61.33 cd	91.67 a	85.00 ab	61.67 cd
2	41.11 e	85.00 ab	67.00 c	46.67 de
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	100.00 a	91.67 ab	91.67 ab	91.67 ab
1	93.33 ab	100.00 a	86.67 abc	100.00 a
1.5	85.00 bc	100.00 a	100.00 a	100.00 a
2	72.33 c	100.00 a	91.67 ab	100.00 a
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	85.00 a-d	67.33 ef	70.00 def	76.67 cde
1	43.33 g	59.00 f	76.67 cde	85.00 a-d
1.5	100.00 a	93.33 ab	85.00 a-d	65.00 ef
2	67.33 ef	78.33 b-e	86.67 abc	85.00 a-d

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 16.73; Güneş 16.74; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 12.82; Güneş 15.34



Şekil 4.17 Yaprak eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması



Şekil 4.18 Yaprak eksplantında rejenerasyon oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA, b) Aktaş 1.5 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA, c) Güneş 1 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA, d) Güneş 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu rejenerasyon oranı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin orta dozlarının (1 mg/L) - NAA'nın orta dozları (0.75 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın tüm dozlarının (0.5-1-2-1.5 mg/L) – NAA'nın tüm dozları (0.25-0.5-0.75-1 mg/L) etkileşiminin yüksek rejenerasyon oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek rejenerasyon oranı TDZ'nin orta dozu (1 mg/L) ile NAA'nın orta dozlarının (0.5-0.75 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın orta dozlarının (1.5 mg/L) – NAA'nın düşük dozu (0.25 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.17).

Çalışmamızdaki gibi, büyütülmüş fidelerden elde edilen yaprak eksplantlarını Rajbhandari vd. (1995), Woo vd. (2004) Dennis (2023) karabuğdayda bitki rejenerasyonu için çalışmışlardır. Rajbhandari vd. (1995), yaygın karabuğdayın yaprak eksplantlarında rejenerasyon oluşumu çalışmasını 0.2 mg/L IAA ve 2 mg/L 6-BA ilave edilmiş MS besin ortamlarında denemiş ve bu dozlarda rejenerasyon oranının arttığını bildirmiştir. Ayrıca araştırma sonucunda rejenerasyonun genotipe bağlı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç ile çalışmamızda iki farklı çeşitle yürütmüş olduğumuz çalışmamızın sonuçlarını desteklemektedir.

Elde edilen bulgular ile farklı karabuğday çeşitlerinin farklı eksplantlarının eklenen hormon dozlarının ve konsantrasyonlarının rejenerasyon oranı üzerinde istatistiksel anlamda önemli etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Hou vd. 2014).

Woo vd. (2004) karabuğdayın yaprak eksplantlarını 0.2 mg/L KIN + 2-3 mg/L 6-BA kombinasyonlarını içeren MS ortamlarında rejenere bitkicikler elde etmişlerdir. Bu çalışmalar, yaptığımız çalışmanın, karabuğdayın Aktaş çeşidinin yaprak eksplantında BAP dozlarının etkisini destekleyici niteliktedir.

Yapmış olduğumuz bu çalışma ile, TDZ'nin bitki doku kültürü uygulamalarında oldukça güçlü bir büyüme düzenleyici olarak kullanılabileceğini, ama bu etkinin çeşit, eksplant tipi, doz ve kombinasyonları gibi önemli ayırt edici değişkenlere duyarlı olduğu ortaya çıkmıştır (Murthy vd. 1998).

4.2.4 Yaprak sapı eksplantlarında rejenerasyon oranı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarının rejenerasyon oranları (Şekil 4.20) incelenmiştir. Yaprak sapı eksplantlarından elde edilen rejenerasyon oranı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.15’de verilmiştir. Çizelge 4.15 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak sapı eksplantının rejenerasyon oranı arasında farkların ortaya çıktığı; TDZ, BAP ve NAA dozlarında ve bu dozların etkileşimlerinin istatistiksel olarak Aktaş’ta %5 ve Güneş’te %1 düzeylerinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.15 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının rejenerasyon oranına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	1 330.410**	722.000**
NAA Dozları	3	602.632**	2580.722**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	836.243**	254.981*
Hata	32	84.458	101.333
CV: Aktaş için %13.29; Güneş için %11.84; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *p<0.05 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	327.632*	1 199.139**
NAA Dozları	3	816.743**	908.361**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	662.021**	845.639**
Hata	32	105.438	96.021
CV: Aktaş için %11.69; Güneş için %13.32; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *p<0.05 düzeyinde önemli.			

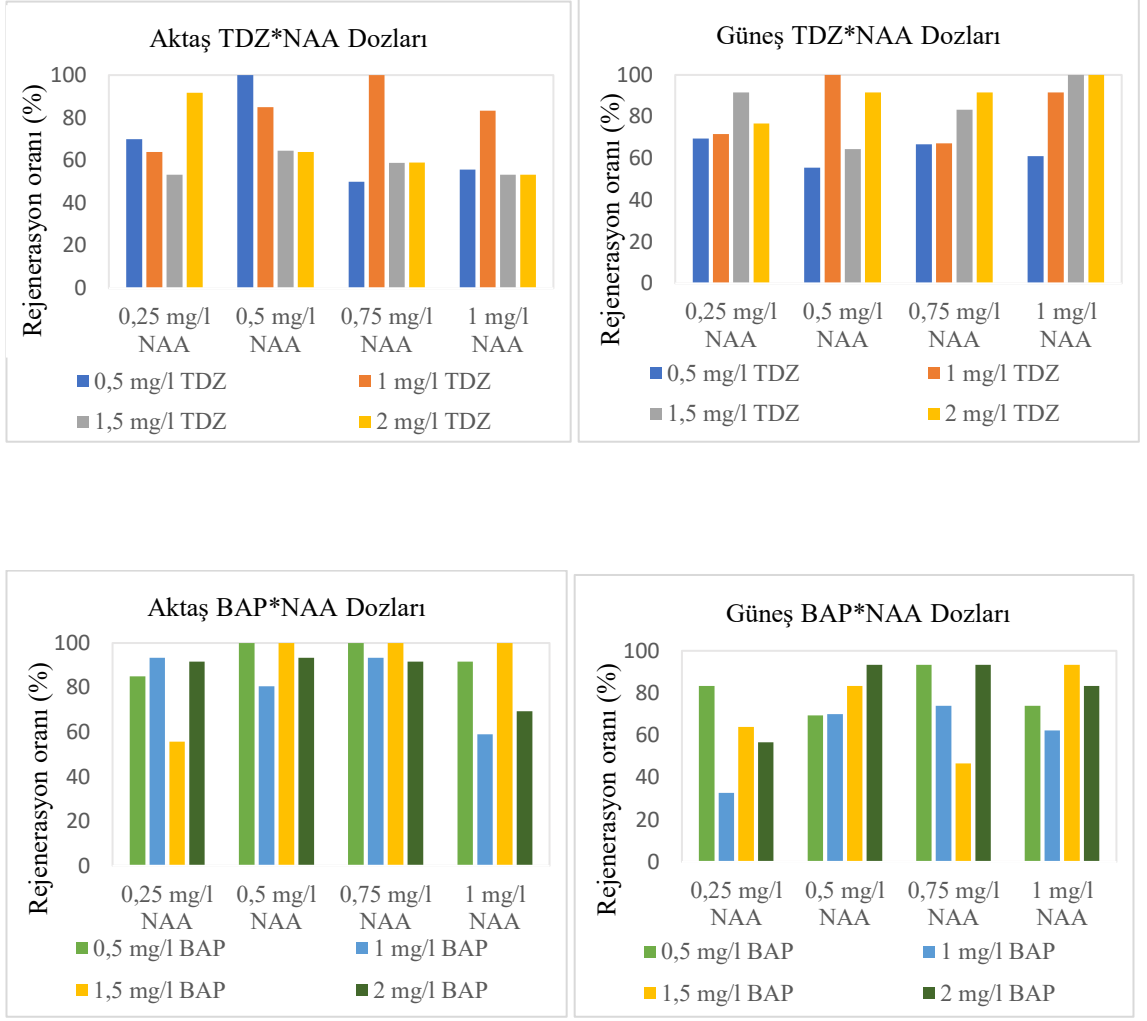
Rejenerasyon oranı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.16’da verilmiştir. Çizelge 4.16’da görüldüğü gibi, yaprak sapı eksplantlarında rejenerasyon oranı Aktaş çeşidinde %100 ile %50 arasında; Güneş çeşidinde ise %100 ile % 32.67 arasında değişmiştir.

Çizelge 4.16’ da görüldüğü gibi, Aktaş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek rejenerasyon oranı 0.5 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA 0.5 mg/L, 1 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA, 0.5 mg/L BAP + 0.5-0.75 mg/L NAA, 1.5 mg/L BAP + 0.5-0.75-1 mg/L NAA, (%100.00) kombinasyonlarında gerçekleşirken, 0.5 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA (%50) kombinasyonunda en düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek rejenerasyon oranı 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA, 1.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA ve 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (%100.00) kombinasyonlarında gerçekleşirken, mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (%32.67) kombinasyonunda en düşük rejenerasyon oranı gerçekleşmiştir (Şekil 4.19).

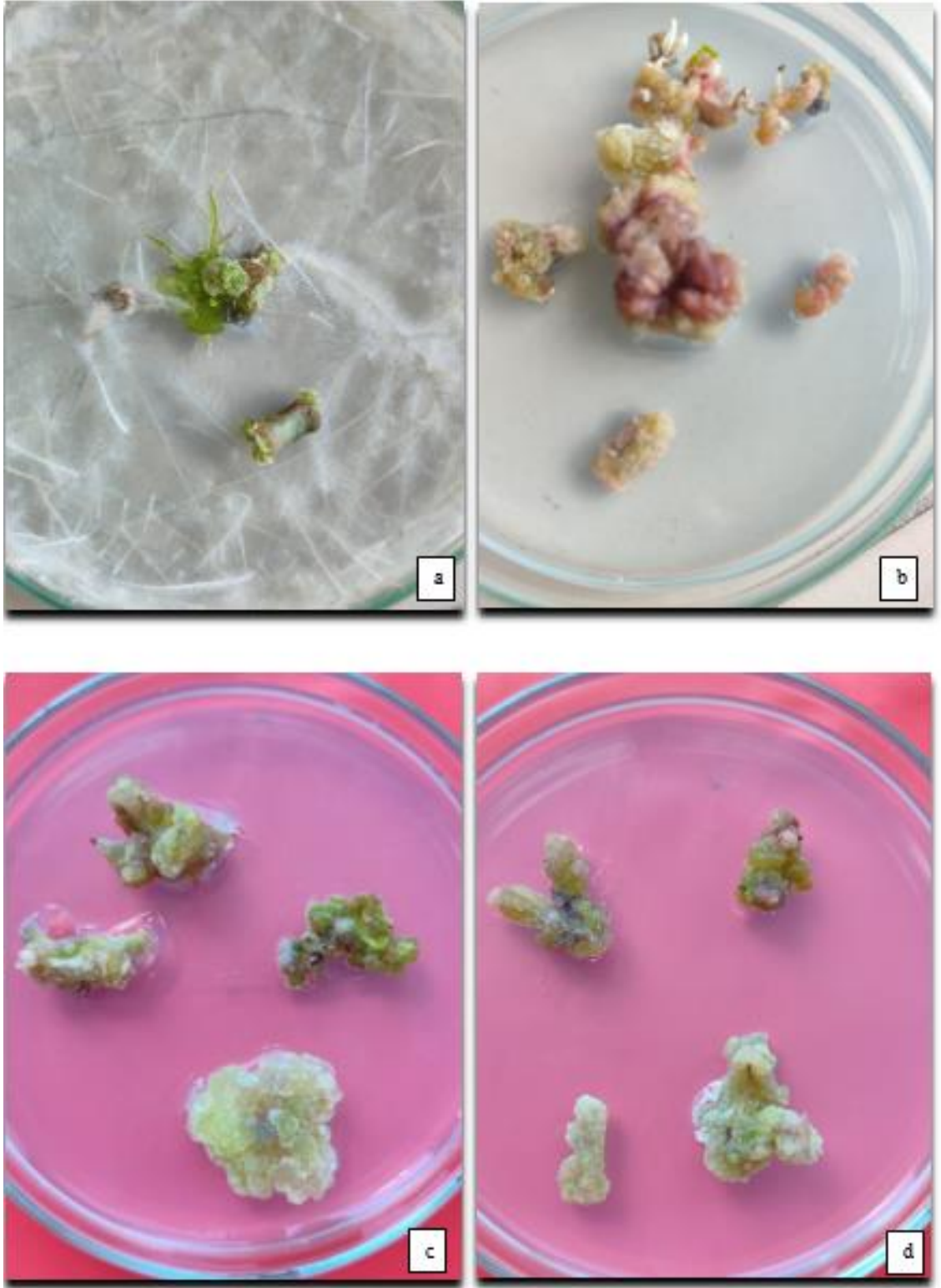
Çizelge 4.16 Aktaş ve çeşidinin yaprak sapı eksplantının rejenerasyon oranı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	70.00 cd	100.00 a	50.00 e	55.67 de
1	64.00 de	85.00 abc	100.00 a	83.33 bc
1.5	53.33 e	64.67 de	59.00 de	53.33 e
2	91.67 ab	64.00 de	59.00 de	53.33 e
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	69.67 cde	55.67 e	66.00 de	61.33 de
1	71.67 cd	100.00 a	67.33 de	91.67 ab
1.5	91.67 ab	64.67 de	83.33 bc	100.00 a
2	76.67 bcd	91.67 ab	91.67 ab	100.00 a
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	85.00 ab	100.00 a	100.00 a	91.67 ab
1	93.33 ab	80.67 bc	93.33 ab	59.00 d
1.5	55.67 d	100.00 a	100.00 a	100.00 a
2	91.67 ab	93.33 ab	91.67 ab	69.67 cd
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	83.33 ab	69.67 bcd	93.33 a	74.00 bc
1	32.67 f	70.00 bcd	74.00 bc	62.33 cde
1.5	67.33 bcd	83.33 ab	46.67 ef	93.33 a
2	56.67 de	93.33 a	93.33 a	83.33 ab

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 15.81; Güneş 16.74; BAP+NAA için AÖF: Aktaş17.08; Güneş 16.30



Şekil 4.19 Yaprak sapı eksplantlarında rejenerasyon oranı ortalaması



Şekil 4.20 Yaprak sapı eksplantlarında rejenerasyon oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA, b) Aktaş 0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA, c) Güneş 1 mg/L TDZ+ 0.5 mg/L NAA, d) Güneş 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak sapı eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu rejenerasyon oranı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin orta dozlarının (0.5-1 mg/L) - NAA'nın orta dozları (0.5-0.75 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'nın orta dozlarının (0.5-1.5 mg/L) - NAA'nın orta dozları (0.5-0.75-1 mg/L) etkileşiminin yüksek rejenerasyon oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek rejenerasyon oranı TDZ'nin orta-yüksek dozu (1-1.5-2 mg/L) ile NAA'nın orta-yüksek dozlarının (0.5-1 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'nın orta-yüksek dozlarının (0.5-1.5-2 mg/L) – NAA'nın orta-yüksek dozları (0.5-0.75-1 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.19).

Woo vd. (2004) tarafından kallus oluşumundan sonra yaprak sapı eksplantlarından rejenerasyon gerçekleştirmişlerdir. Yaprak sapı eksplantlarından en iyi rejenerasyon oranını KIN (0.5 mg/L) ve BAP (2 mg/L) dozlarından elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ancak Slawinska vd. (2009) yaprak sapı eksplantlarıyla yaptıkları çalışmalarda 1 mg/L BAP dozunda rejenerasyonun oluştuğunu bildirmişlerdir.

Chen vd. (2012), çalışmalarında kullandıkları karabuğday çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek rejenerasyonu oranının (%90), 2 mg/l 6-BA, 0.5 mg/l TDZ ve 0.2 mg/l NAA içeren MS besiyerinde elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bu çalışmalar, çalışmamızda kullanmış olduğumuz Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarının da BAP'nın bu orta-yüksek dozlarda en iyi rejenerasyon oranlarını oluşturduğu bulgularımızı desteklemektedir.

Çalışmamızda kullandığımız bitki büyüme düzenleyicilerin doz ve kombinasyonları ile birbirleriyle olan etkileşimleri araştırma sonuçlarımızı büyük ölçüde değiştirmiştir. Bitki büyüme düzenleyicileri, bitki doku kültüründe önemli bir rol oynamaktadırlar. Bitki büyüme düzenleyicileri bitkilerin; gövde uzaması, yönelme hareketleri, hücre bölünmesi teşvik edilerek tepe tomurcuğu baskısından kurtulunmasını ve böylece büyümesinin hızlanmasını sağlamaktadırlar (Saad ve Elshahed 2012).

4.3 Toplam Sürgün Sayısı

4.3.1 Hipokotil eksplantlarında toplam sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının petri başına toplam sürgün sayısı (Şekil 4.22) incelenmiştir. Hipokotil eksplantlarından elde edilen petri başına toplam sürgün sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.17’de verilmiştir. Çizelge 4.17 incelendiğinde; iki çeşitte de hipokotil eksplantlarının petri başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.17 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	350.167**	291.417**
NAA Dozları	3	112.389**	288.028**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	276.37**	105.731**
Hata	32	1.521	2.604
CV: Aktaş için %13.29; Güneş için %5.49; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	114.139**	606.472**
NAA Dozları	3	284.583**	110.361**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	76.343**	181.565**
Hata	32	2.688	2.417
CV: Aktaş için %7.85; Güneş için %6.85; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			

Petri başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.18’de verilmiştir. Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi, hipokotil eksplantlarında petri başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 44 adet ile 10.67 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 47 adet ile 8 adet arasında değişmiştir.

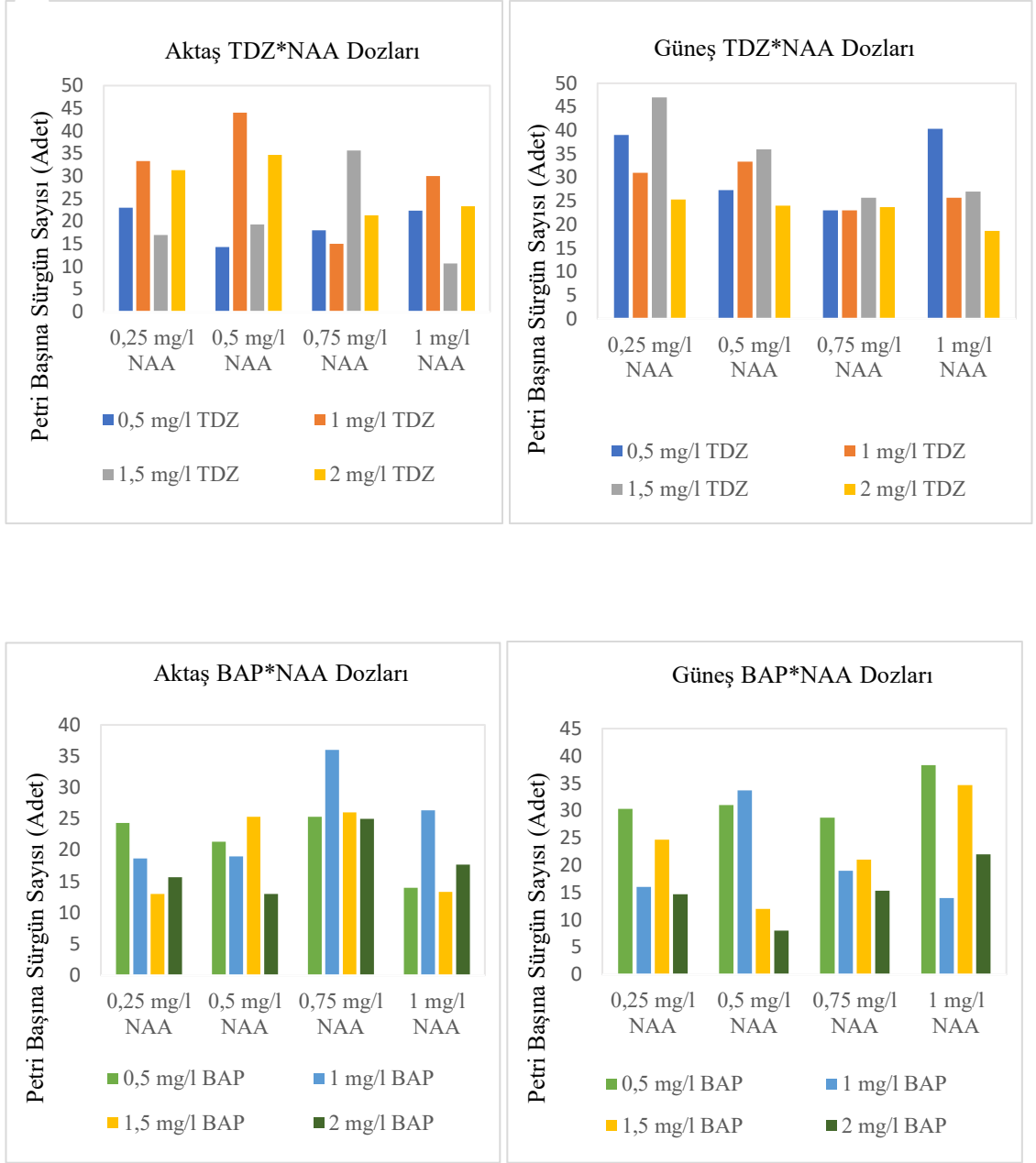
Çizelge 4.18’ de görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (44.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (10.67 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (47.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (18.67 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.21).

Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (36.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA ve 2 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (13.00 adet) kombinasyonlarında ise en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 0.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (38.33 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (8.00 adet) kombinasyonunda ise en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.21).

Çizelge 4.18 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	23.00 f	14.33 k	18.00 h ₁	22.33 f
1	33.33 cd	44.00 a	15.00 jk	30.00 e
1.5	17.00 ij	19.33 gh	35.67 b	10.67 l
2	31.33 de	34.67 bc	21.33 fg	23.33 f
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	39.00 b	27.33 e	23.00 f	40.33 b
1	31.00 d	33.33 cd	23.00 f	25.67 ef
1.5	47.00 a	36.00 c	25.67 ef	27.00 e
2	25.33 ef	24.00 f	23.67 f	18.67 g
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	24.33 b	21.33 c	25.33 b	14.00 f
1	19.00 cd	18.67 cd	36.00 a	26.33 b
1.5	13.00 f	25.33 b	26.00 b	13.33 f
2	15.67 ef	13.00 f	25.00 b	17.67 de
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	30.33 c	31.00 c	28.67 c	38.33 a
1	16.00 g	33.67 b	19.00 f	14.00 g
1.5	24.67 d	12.00 h	21.00 ef	34.67 b
2	14.67 g	8.00 ı	15.33 g	22.00 e

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 2.05; Güneş 2.68; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 2.73; Güneş 2.59



Şekil 4.21 Hipokotil eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.22 Hipokotil eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA, b) Aktaş 1 mg/L BAP + 0.75 mg/L, c) Güneş 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA, d) Güneş 0.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu petri başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'nin orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.75 mg/L) etkileşiminin daha yüksek petri başına sürgün sayısı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek petri başına sürgün sayısı TDZ'nin orta dozu (1.5 mg/L) ile NAA'nın düşük dozu (0.25 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'nin düşük dozunun (0.5 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.21)

Karabuğdayda da doku kültürü çalışmalarında birçok araştırmacı tarafından TDZ, BAP ve NAA'nın farklı doz ve kombinasyonları ile farklı eksplantları birlikte (Takahata ve Jumonji 1985; Lee vd. 2009; Han vd. 2011; Hou vd. 2014; Fei vd. 2019; Dennis vd. 2023) kullanılmıştır.

Takahata ve Jumonji (1985), 2 mg/L 6-BA içeren MS ortamındaki hipokotil eksplantlarının, doğrudan rejenere olduğunu ve rejenere bitkiciklerin hormonsuz MS ortamına aktarıldığında, daha çok sayıda sürgünler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan, BAP'nin TDZ'ye göre daha az etkili olmasına rağmen, uygun doz aralıklarında farklı genetik altyapılarda başarı sağlayabildiği gözlemlenmiştir.

Hou vd. (2014), karabuğdayın rejenerasyonunda deneylerinde kullandıkları iki farklı çeşitten biri olan JJ'de 0.5 mg/L BA + 1 mg/L NAA kombinasyonu ile %73'lük bir sürgün oluşumu sağlandığını gözlemleyerek farklı karabuğday çeşitlerinin farklı doz ve kombinasyonlardaki hormonlara verdiği morfolojik ve genetik yanıtların değişebildiğini belirtilerek geliştirilen rejenerasyon sistemi ile karabuğdayda genetik transformasyon uygulamaları için temel teşkil edeceği bildirilmiştir. Bu çalışma ile iki farklı çeşitte yaptığımız rejenerasyon çalışmalarının sonuçlarını desteklemektedir.

Fei vd. (2019), karabuğdayın hipokotil eksplantlarından 1 mg/L 6-BA ve 0.5 mg/L TDZ içeren MS ortamında başarılı bir rejenerasyon elde edildiği belirtilen bulguları, çalışmamızın orta dozlardaki sonuçlarını desteklemektedir. Ayrıca, karabuğdayın

hipokotil eksplantlarıyla yapılan rejenerasyon ve sürgün deneylerinde, TDZ içeren ortamların daha verimli olduğu gözlemlenmiştir (Zarane vd. 2023).

4.3.2 Kotiledon eksplantlarında toplam sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarının, petri başına toplam sürgün sayısı üzerine etkileri (Şekil 4.24) incelenmiş ve elde edilen petri başına toplam sürgün sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.19’da verilmiştir. Çizelge 4.19 incelendiğinde; iki çeşitte de kotiledon eksplantlarının petri başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.19 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	1363.222**	402.576**
NAA Dozları	3	13.722**	360.632**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	103.759**	253.539**
Hata	32	1.750	4.250
CV: Aktaş için %5.55; Güneş için %6.20; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	125.389**	495.111**
NAA Dozları	3	63.278**	208.389**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	290.333**	224.019**
Hata	32	4.146	2.00
CV: Aktaş için %6.15; Güneş için %5.47; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			

Petri başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.20’de verilmiştir. Çizelge 4.20’de görüldüğü gibi, kotiledon eksplantlarında petri başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 46.33 adet ile 8.33 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 53.33 adet ile 13 adet arasında değişmiştir.

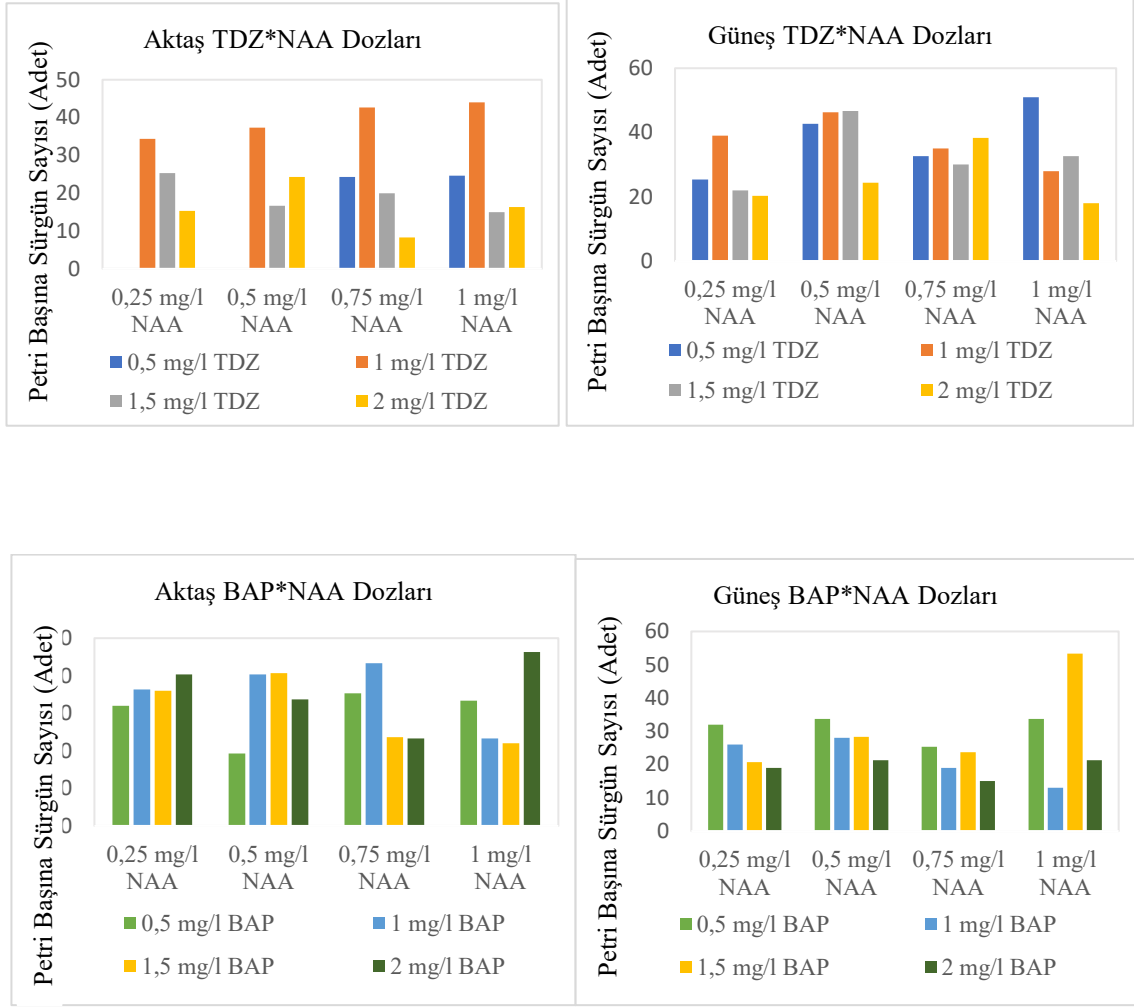
Çizelge 4.20’ de görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için Aktaş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (44.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA (8.33 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 0.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (51.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (18.00 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.23).

Çizelge 4.20’ de görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için Aktaş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (46.33 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (19.33 adet) kombinasyonunda ise en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (53.33 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (13.00 adet) kombinasyonunda ise en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.23).

Çizelge 4.20 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalaması

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	14.67 e	18.00 ef	24.33 d	24.67 d
1	34.33 c	37.33 b	42.67 a	44.00 a
1.5	25.33 d	16.67 fg	20.00 e	15.00 g
2	15.33 g	24.33 d	8.33 h	16.33 fg
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	25.33 ij	42.67 c	32.67 fg	51.00 a
1	39.00 d	46.33 b	35.00 ef	28.00 hı
1.5	22.00 jk	46.67 b	30.00 gh	32.67 fg
2	20.33 kl	24.33 j	38.33 de	18.00 l
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	32.00 d	19.33 f	35.33 cd	33.33 cd
1	36.33 c	40.33 b	43.33 ab	23.33 e
1.5	36.00 c	40.67 b	23.67 e	22.00 ef
2	40.33 b	33.67 cd	23.33 e	46.33 a
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	32.00 b	33.67 b	25.33 d	33.67 b
1	26.00 cd	28.00 c	19.00 f	13.00 g
1.5	20.67 f	28.33 c	23.67 de	53.33 a
2	19.00 f	21.33 ef	15.00 g	21.33 ef

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 2.20; Güneş 3.43; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 3.39; Güneş 2.35



Şekil 4.23 Kotiledon eksplantlarında petri başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.24 Kotiledon eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, b) Aktaş 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA, c) Güneş 0.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, d) Güneş 1.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi kotiledon eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu petri başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) etkileşiminin daha yüksek rejenerasyon oranı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek rejenerasyon oranı TDZ'nin düşük dozu (0.5 mg/L) ile NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın yüksek dozunun (1.5 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.23).

Srejovic ve Neskovic (1981), karabuğdayın kotiledon eksplantlarından elde edilen kalluslardan bitkilerin rejenerasyonunun sağlanabileceğini bildirmiştir. Deneylerinde, 2,4-D (1-5 mg/L), KIN (0.1-1 mg/L), IAA (1.75 mg/L), BAP (22.5 mg/L) ve IBA (1 mg/L) içeren B5 besin ortamına aktarmış olduğu kotiledon eksplantlarından elde edilen kallusların %40 'lık bir oranda sürgün oluşturdıklarını gözlemlemiştir. Bu sonuçlar; çalışmamızda kullandığımız Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarından sırasıyla, 0.5 mg/L TDZ ve yüksek dozlarda (1.5 mg/L) BAP içeren ortamlardan 51 ve 53 adet gibi yüksek sürgün sayılarının elde edilmesi sonucu ile uyum sağlamaktadır.

Lee vd. (2009), BAP konsantrasyonunun 4 mg/L'ye yükselmesi ile rejenerasyon hızının, sürgün sayısının ve sürgün uzunluğunun arttığını bildirmişlerdir. Bu da çalışmamızda kullandığımız her iki çeşidin de yüksek BAP konsantrasyonlarında yüksek sürgün elde edilmesi sonuçlarıyla uyum göstermektedir.

Tomasiak vd. (2022)'nin derleme makalesinde yer verdiği araştırmacıların karabuğday eksplantlarının farklı doz ve kombinasyonlarında yapmış oldukları rejenerasyon çalışmalarında; eksplantların, 2 mg/L BAP ve 0,5 mg/L TDZ eklenmiş olan ortamlarda orta sıklıkta rejenerasyon gerçekleştiğini, 2 mg/L BAP ve 1 mg/L KT içeren MS besin ortamlarında %56 oranında rejenerasyon olduğunu ve 3 mg/L BAP ve 1 mg/L TDZ ilave edilmiş MS ortamlarında ise %69 oranında sürgün oluşumu gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Bu sonuçlar; çalışmamızda kullandığımız Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarından düşük dozlarda TDZ ve yüksek dozlarda BAP içeren ortamlardan 50 adet ve üzerinde yüksek sürgün sayılarının elde edilmesi sonucu ile örtüşmektedir.

4.3.3 Yaprak eksplantlarında toplam sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarının petri başına toplam sürgün sayısı (Şekil 4.26) incelenmiş ve elde edilen petri başına toplam sürgün sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.21’de verilmiştir. Çizelge 4.21 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak eksplantlarının petri başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.21 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	35.188**	108.854**
NAA Dozları	3	11.910**	36.521**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	65.984**	86.928**
Hata	32	1.396	2.375
CV: Aktaş için %5.24; Güneş için %5.48; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	955.056**	268.076**
NAA Dozları	3	630.389**	92.410**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	418.889**	195.910**
Hata	32	3.604	1.958
CV: Aktaş için %6.31; Güneş için %4.14; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			

Petri başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.22’de verilmiştir. Çizelge 4.22’de görüldüğü gibi, yaprak eksplantlarında petri başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 65.33 adet ile 15 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 46 adet ile 19 adet arasında değişmiştir.

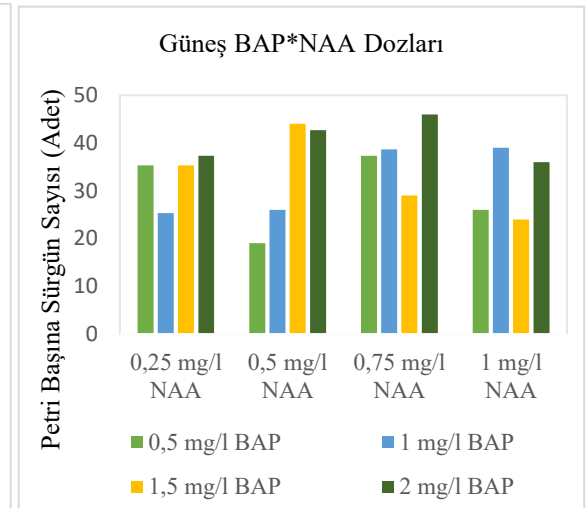
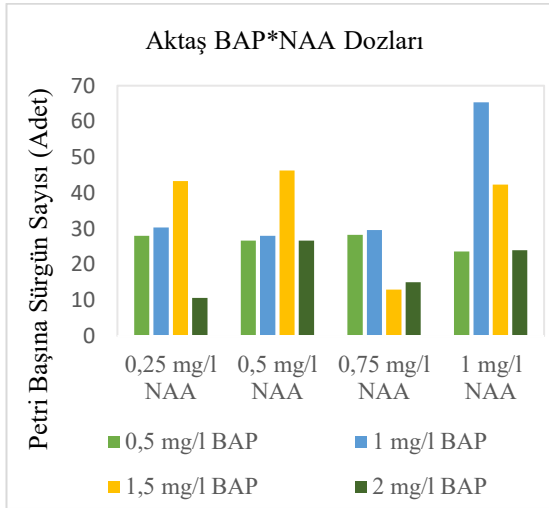
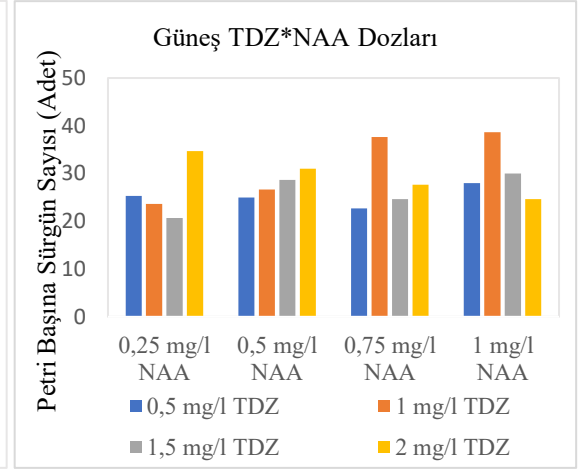
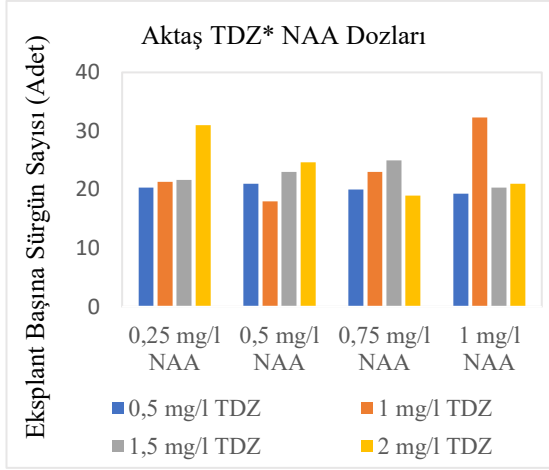
Çizelge 4.22’ de görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (32.33 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (18.00 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (38.67 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (20.67 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4. 25).

Çizelge 4.22’de görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (65.33 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (15.00 adet) kombinasyonunda ise en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (46.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 0.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (19.00 adet) kombinasyonunda ise en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4. 25).

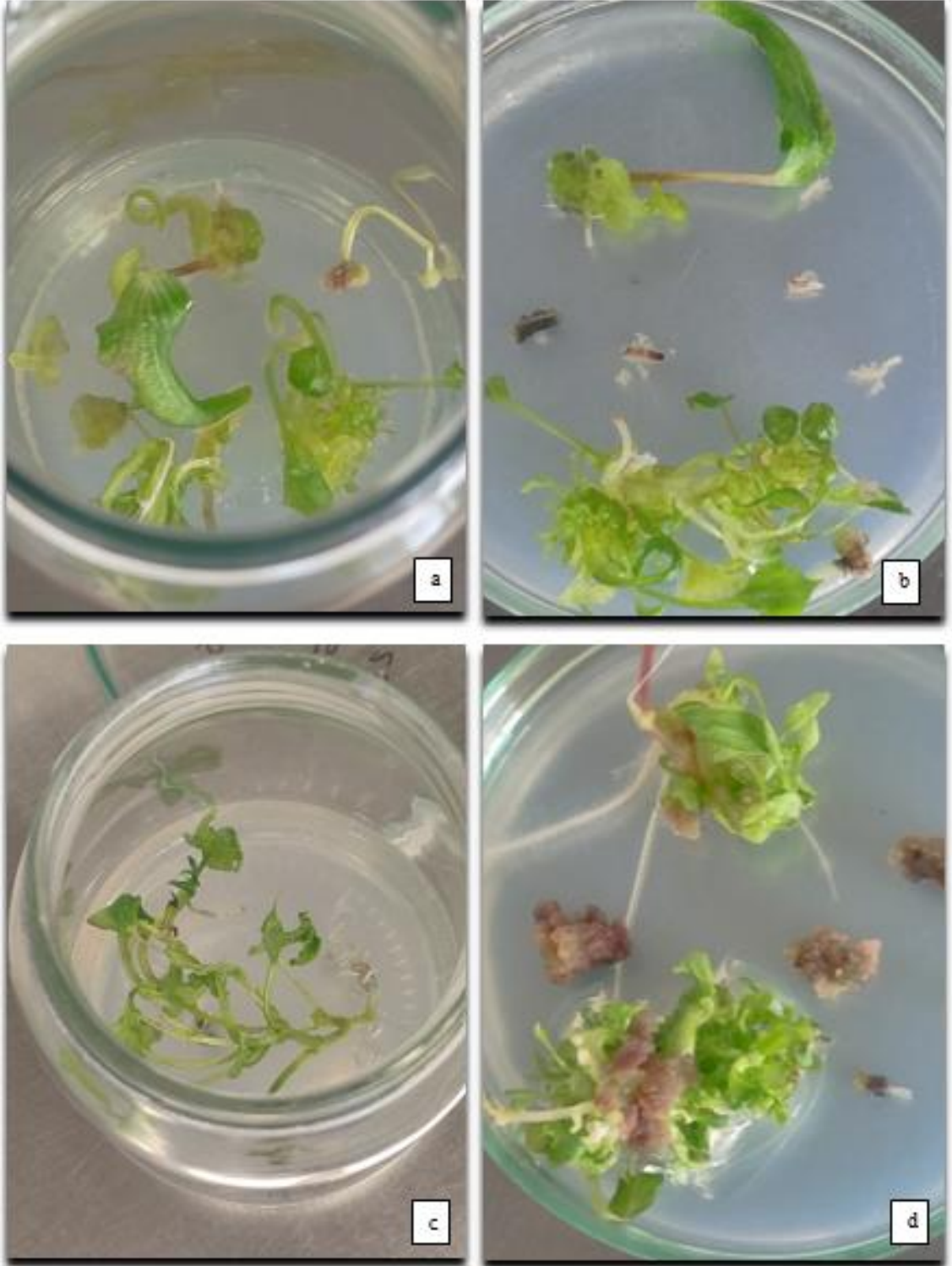
Çizelge 4.22 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	20.33 efg	21.00 ef	20.00 efg	19.33 fgh
1	21.33 de	18.00 h	23.00 cd	32.33 a
1.5	21.67 de	23.00 cd	25.00 b	20.33 efg
2	31.00 a	24.67 bc	19.00 gh	21.00 ef
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	25.33 fgh	25.00 ghı	22.67 ij	28.00 de
1	23.67 hı	26.67 efg	37.67 a	38.67 a
1.5	20.67 j	28.67 cde	24.67 ghı	30.00 cd
2	34.67 b	31.00 c	27.67 def	24.67 ghı
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	28.00 de	26.67 ef	28.33 de	23.67 f
1	30.33 d	28.00 de	29.67 de	65.33 a
1.5	43.33 bc	46.33 b	13.00 gh	42.33 c
2	10.67 h	26.67 ef	15.00 g	24.00 f
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	35.33 d	19.00 g	37.33 cd	26.00 f
1	25.33 f	26.00 f	38.67 c	39.00 c
1.5	35.33 d	44.00 ab	29.00 e	24.00 f
2	37.33 cd	42.67 b	46.00 a	36.00 d

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 1.97; Güneş 2.56; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 3.16; Güneş 2.33



Şekil 4.25 Yaprak eksplantlarında petri başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.26 Yaprak eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, b) Aktaş 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA, c) Güneş 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, d) Güneş 2 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu petri başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) etkileşiminin daha yüksek sayıda sürgün oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek petri başına sürgün sayısı TDZ'nin orta dozunun (1 mg/L) ile NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.75 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.22 ve Şekil 4.25)

Çalışma sonucu elde edilen bulgulara yüksek sürgün oluşumu sağlanan BAP*NAA kombinasyonları değerlendirildiğinde, genellikle orta düzey BAP ve yüksek düzey NAA kombinasyonlarının etkili olduğu görülmüştür. Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarında, en yüksek sürgün oluşumu 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (65.33 adet) ile gerçekleşmiş, bu da BAP'ın özellikle Aktaş çeşidinde etkisinin daha yüksek olduğunu daha göstermektedir. Güneş çeşidinde ise en fazla sürgün oluşumu 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (46.00 adet) ile elde edilmiştir. Bu durum, BAP dozlarına verilen tepkinin karabuğdayın çeşidine göre farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Bueno vd. (2010), *Salvia hispanica*'da yaptıkları çalışmada, BAP'ın hücre bölünmesini ve sürgün gelişimini teşvik edici etkisini, bitki büyüme düzenleyicilerinin sürgün oluşumu üzerine etkileri, yaprak eksplantlarında BAP dozlarının artmasıyla birlikte artış gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Skala vd. (2007), BAP ve TDZ' nin adaçayı çeşidinin (*Salvia przewalskii*) sürgün sayısına olan etkisini belirlemek için yaptıkları çalışmada; BAP ve TDZ' den elde edilen sürgün sayısının KIN'e göre daha yüksek bulunduğunu bildirilmişlerdir.

Dennis vd. (2023), *Fagopyrum tartaricum* yaprak eksplantlarında 3 mg/L BAP + 0,5 mg/L NAA kombinasyonunun en yüksek sürgün (35.2 ± 1.83) rejenerasyonunu sağladığını bildirmiştir. Çalışmamızda ise Güneş çeşidinde 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA kombinasyonu ile 46 adet sürgün oluşumu gözlenmiştir. Bu kısmi benzerliğe rağmen, farklılıkların temel nedenleri arasında genotip, Güneş çeşidinin sitokininlere

karşı daha hassas olması ve NAA dozunun türlere göre değişkenlik göstermesi sayılabilir. Bu sonuçlar, karabuğday rejenerasyon protokollerinin genotip bağımlı olduğunu ve hormon doz kombinasyonunun önemini bir kez daha ortaya koymaktadır.

Rajbhandari vd. (1995), yaygın karabuğdayın yaprak eksplantlarında rejenerasyon oluşumu çalışmasını 0.2 mg/L IAA ve 2 mg/L 6-BA ilave edilmiş MS besin ortamlarında denemiş ve bu dozlarda rejenerasyon oranının ve sürgün sayısının arttığını bildirmiştir. Ayrıca deney sonucunda rejenerasyonun genotipe bağlı olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar araştırmamızda iki farklı çeşitle yürütmüş olduğumuz çalışmamızın sonuçlarını desteklemektedir.

Woo vd. (2004) karabuğdayın yaprak eksplantlarını 0.2 mg/L KT + 2, 3 mg/L 6-BA kombinasyonlarını içeren MS ortamlarında rejenere bitkicikler elde etmişlerdir. Bu çalışmalar, yaptığımız çalışmanın, karabuğdayın Güneş çeşidinin yaprak eksplantında BAP dozlarında elde edilen yüksek sürgün sayısı verilerini destekleyici niteliktedir.

4.3.4 Yaprak sapı eksplantlarında toplam sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarının, petri başına toplam sürgün sayısı (Şekil 4.28) incelenmiştir. Yaprak sapı eksplantlarından elde edilen petri başına toplam sürgün sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.23’de verilmiştir. Çizelge 4.23 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak eksplantlarının petri başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.23 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının petri başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	45.056**	94.472**
NAA Dozları	3	102.944**	371.917**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	71.037**	185.269**
Hata	32	1.979	2.979
CV: Aktaş için %5.24; Güneş için %5.48; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	183.188**	609.410**
NAA Dozları	3	115.965**	17.076**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	138.280**	112.225**
Hata	32	3.979	3.188
CV: Aktaş için %9.41; Güneş için %7.56; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			

Petri başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.24’de verilmiştir. Çizelge 4.24’de görüldüğü gibi, yaprak sapı eksplantlarında petri başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 34 adet ile 10.67 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 45 adet ile 12 adet arasında değişmiştir.

Çizelge 4.24’ de görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (33.00 adet) kombinasyonlarında gerçekleşirken, 0.5 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (14.00 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 1.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (45.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (15.33 adet) kombinasyonunda en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.27).

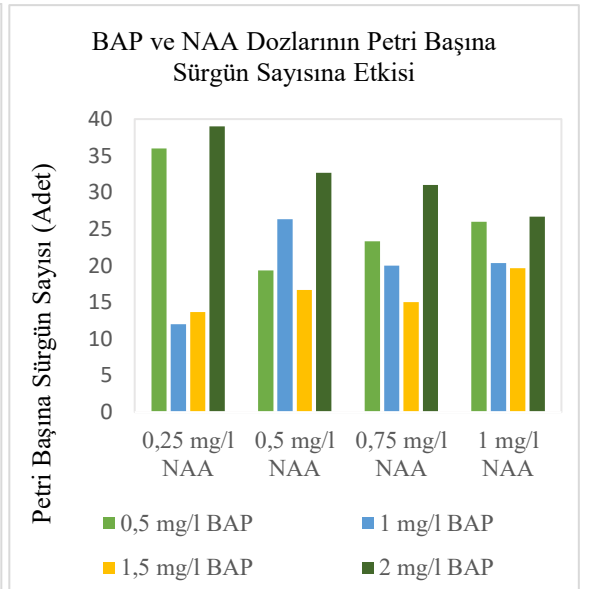
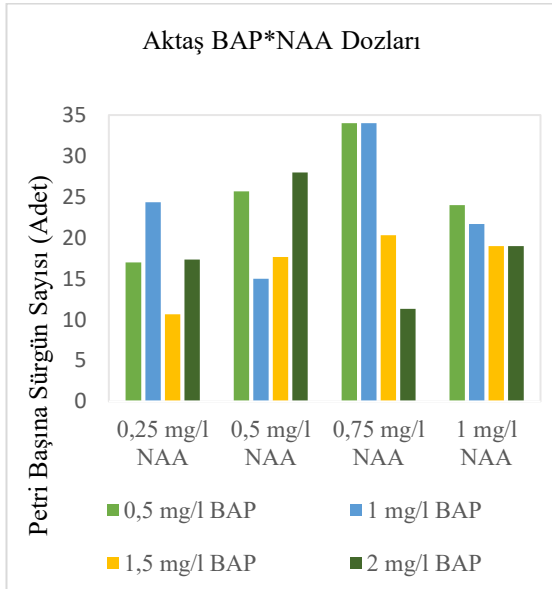
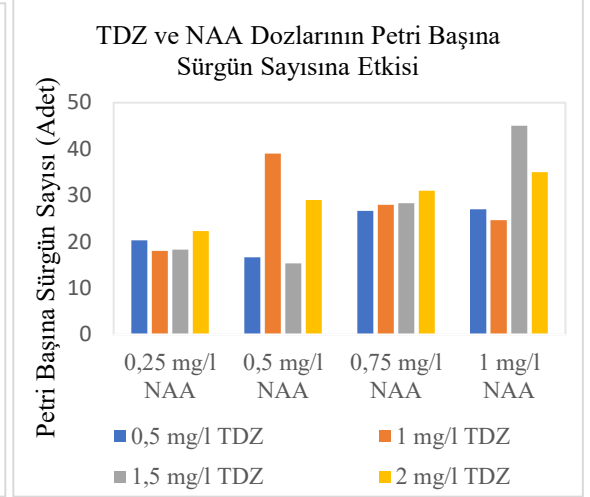
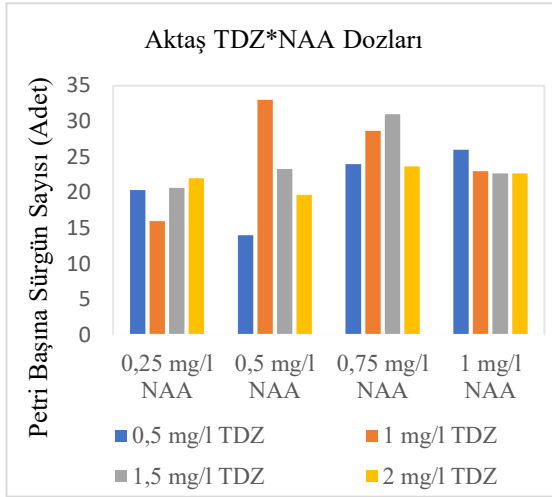
Çizelge 4.24’ de görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 0.5 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA ve 1 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (34.00 adet) kombinasyonlarında gerçekleşirken, 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (10.67 adet) kombinasyonunda ise en

düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek petri başına sürgün sayısı 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (39.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (12.00 adet) kombinasyonunda ise en düşük petri başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.27).

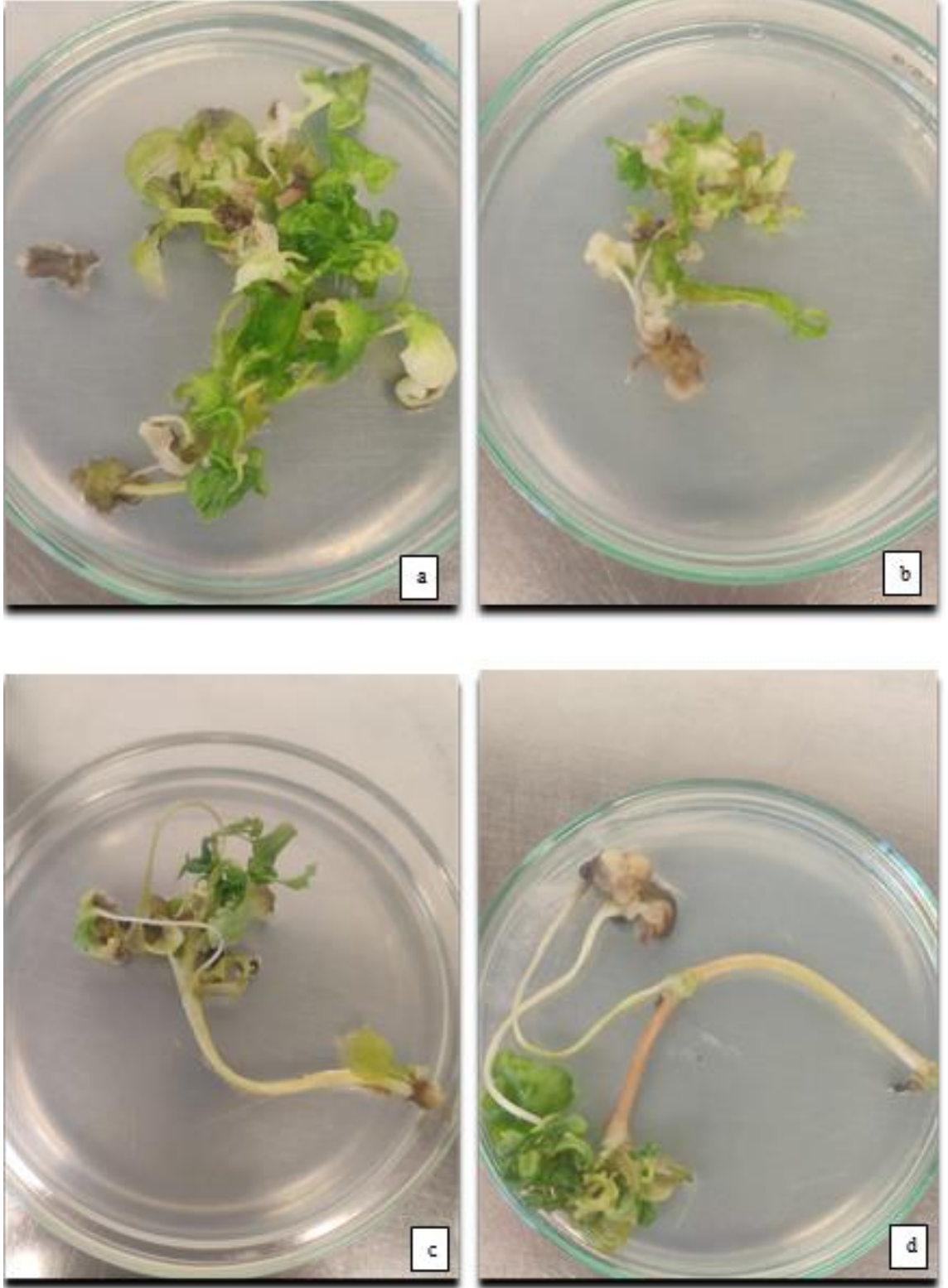
Çizelge 4.24 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının petri başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	20.33 fg	14.00 h	24.00 cd	26.00 cd
1	16.00 h	33.00 a	28.67 b	23.00 de
1.5	20.67 efg	23.33 d	31.00 ab	22.67 def
2	22.00 d-g	19.67 g	23.67 cd	22.67 def
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	20.33 hı	16.67 jk	26.67 ef	27.00 ef
1	18.00 ijk	39.00 b	28.00 e	24.67 fg
1.5	18.33 ij	15.33 k	28.33 de	45.00 a
2	22.33 gh	29.00 de	31.00 d	35.00 c
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	17.00 gh	25.67 bc	34.00 a	24.00 cd
1	24.33 cd	15.00 h	34.00 a	21.67 de
1.5	10.67 j	17.67 fgh	20.33 ef	19.00 efg
2	17.33 fgh	28.00 b	11.33 ı	19.00 efg
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	36.00 b	19.33 ef	23.33 e	26.00 e
1	12.00 g	26.33 d	20.00 f	20.33 f
1.5	13.67 ij	16.67 gh	15.00 hı	19.67 ef
2	39.00 a	32.67 c	31.00 c	26.67 d

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 2.34; Güneş 2.87; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 3.32; Güneş 2.97



Şekil 4.27 Yaprak sapı eksplantlarında petri başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.28 Yaprak sapı eksplantlarında petri başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, b) Aktaş 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA, c) Güneş 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, d) Güneş 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak sapı eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu petri başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın düşük dozunun (0.5 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.75 mg/L) etkileşiminin daha yüksek sayıda sürgün oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek petri başına sürgün sayısı TDZ'nin yüksek dozunun (1.5 mg/L) ile NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın düşük dozu (0.25 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.24 ve Şekil 4.27).

Çalışmamız sonucunda, Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarından elde edilen en yüksek petri başına sürgün sayısı TDZ*NAA dozlarından elde edilmiştir. Bu sonuçlar; TDZ'nin bitki doku kültürü uygulamalarında oldukça güçlü bir büyüme düzenleyici olarak kullanılabileceğini, fakat bu etkinin çeşit, eksplant tipi ve doz gibi değişkenlere duyarlı olduğunu ortaya koymaktadır. TDZ'nin sitokinin etkilerinin, hücre bölünmesini uyarmadaki etkinliği daha önce bildirilen birçok çalışmayla da paralellik göstermektedir (Murthy vd. 1998). Güneş çeşidinin TDZ'ye daha güçlü yanıt vermesi, genotipin hormonlara duyarlılığı konusunda önceki çalışmalarda vurgulanan genetik varyasyonu desteklemektedir (Hou vd. 2014).

Slawinska vd. (2009), *Fagopyrum esculentum*'un yaprak sapı eksplantlarını kullanarak geliştirdikleri in vitro rejenerasyon protokolünde, 1 mg/L TIBA, 1 mg/L 2iP ve 1 mg/L BAP kombinasyonunun sürgün oluşumunu artırdığını (%98'e varan verimle) ortaya koymuşlardır. BAP'ın düşük dozlarından elde edilen bu sonuçlar çalışmamızla uyum sağlamaktadır.

Hou vd. (2014), araştırmalarında kullandıkları, karabuğdayın 'Jiujiangkuqiao' ('JJ') ve 'Wenshatianqiao' ('WS') , JJ (*F. tataricum*) çeşitlerinden rejenerasyonda en başarılı sonuçları JJ (*F. tataricum*) çeşidinde ve 0.5 mg/L BA + 1 mg/L NAA kombinasyonu ile %73'lük bir sürgün oluşumu sağlandığını belirtmişlerdir. Bu çalışma ile farklı karabuğday çeşitlerinin hormonlara verdiği morfolojik ve genetik yanıtların farklı olduğu belirtilerek çalışmamızla uyum gösterdiği görülmektedir.

4.4 Eksplant Başına Sürgün Sayısı

4.4.1 Hipokotil eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısı (Şekil 4.30) incelenmiştir. Elde edilen eksplant başına sürgün sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.25’de verilmiştir. Çizelge 4.25 incelendiğinde; iki çeşitte de hipokotil eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; çeşitlere göre TDZ, BAP dozları ve TDZ*NAA ile BAP*NAA etkileşiminin istatistiksel olarak %1 ile %5 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.25 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	20.621**	19.575**
NAA Dozları	3	3.440**	4.685*
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	4.863**	4.432*
Hata	32	0.459	1.486
CV: Aktaş için %7.46; Güneş için %9.88; **:p<0.01 düzeyinde önemli. *:p<0.05 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	12.737**	50.325**
NAA Dozları	3	29.043**	3.750ns
BAP Dozları*NAA Dozları	9	13.100**	5.960**
Hata	32	0.904	1.293
CV: Aktaş için %9.14; Güneş için %10.54; **:p<0.01 düzeyinde önemli, ns: not significant.			

Eksplant başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.26’da verilmiştir. Çizelge 4.26’da görüldüğü gibi, hipokotil eksplantlarında

eksplant başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 15.10 adet ile 6.60 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 14.77 adet ile 7.30 adet arasında değişmiştir.

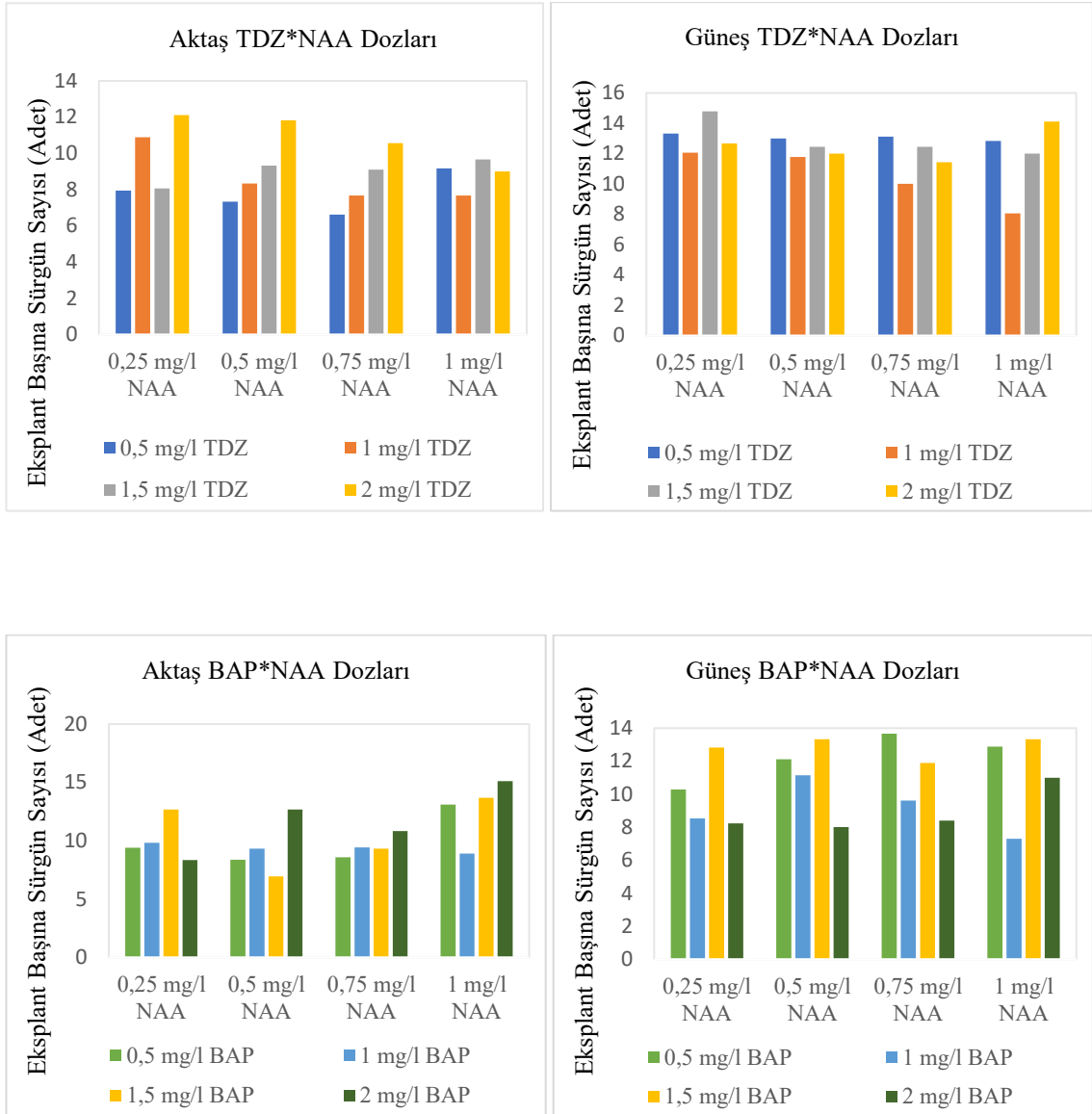
Çizelge 4.26' da görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (12.10 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 0.5 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA (6.60 adet) kombinasyonunda en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (14.77 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (8.07 adet) kombinasyonunda en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.29).

Çizelge 4.26' da görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (15.10 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (6.93 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (13.33 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (7.30 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.29).

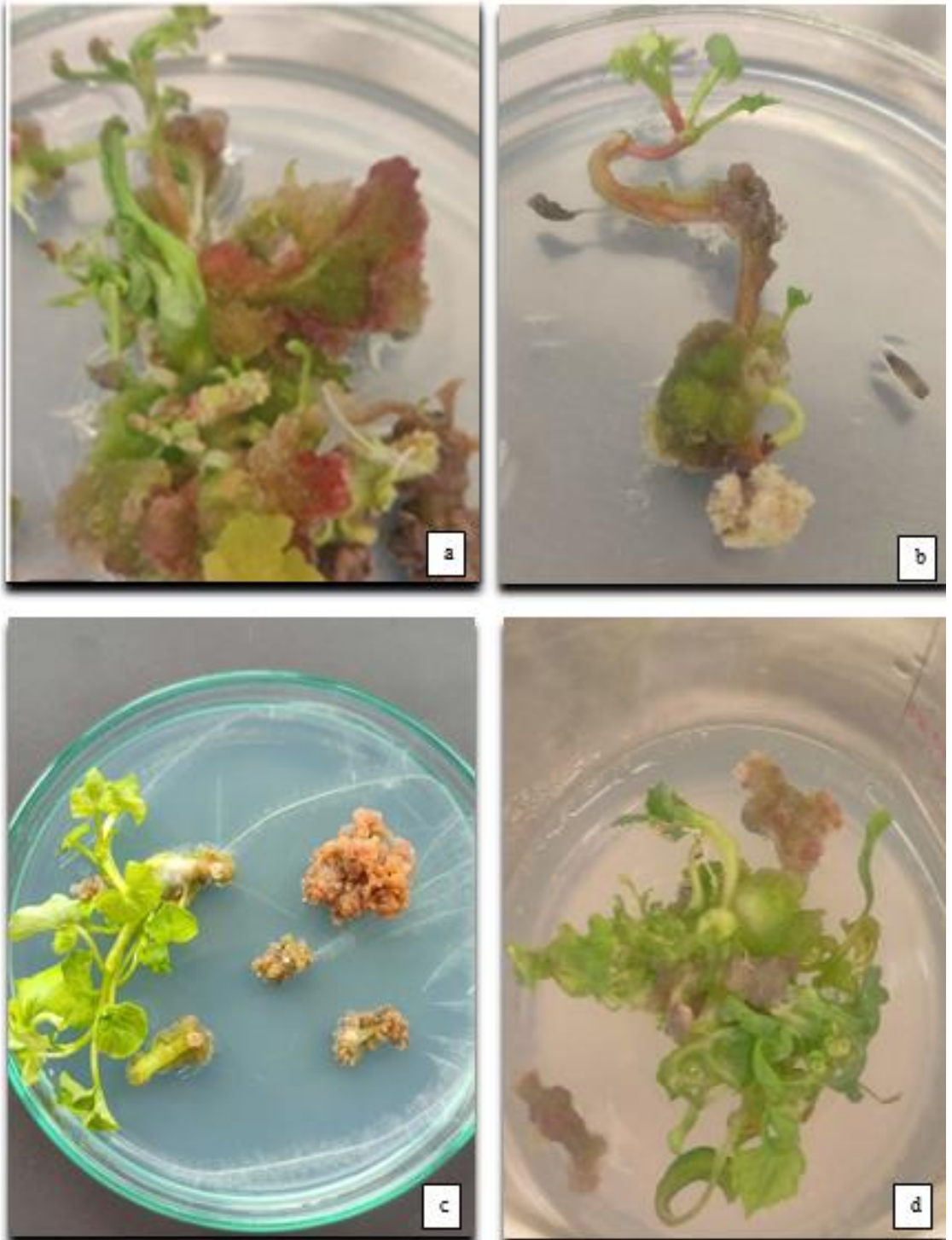
Çizelge 4.26 Aktaş ve Güneş çeşidinin hipokotil eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	7.93 hf	7.33 ij	6.60 j	9.17 efg
1	10.90 bc	8.33 fghı	7.67 ij	7.70 ij
1.5	8.07 ghı	9.33 ef	9.10 efg	9.67 de
2	12.10 a	11.83 ab	10.57 cd	9.00 e-h
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	13.33 abc	13.00 abc	13.10 abc	12.83 abc
1	12.07 c	11.77 cd	10.00 de	8.07 e
1.5	14.77 a	12.43 bc	12.43 bc	13.40 abc
2	12.67 bc	12.00 cd	11.43 cd	14.10 ab
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	9.40 cd	8.37 de	8.57 d	13.10 b
1	9.83 cd	9.33 cd	9.43 cd	8.90 d
1.5	12.67 b	6.93 e	9.33 cd	13.67 ab
2	8.33 de	12.67 b	10.83 c	15.10 a
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	10.27 def	12.13 a-d	13.67 a	12.90 ab
1	8.53 fgh	11.13 b-e	9.63 efg	7.30 h
1.5	12.83 abc	13.33 a	11.90 a-d	13.33 a
2	8.23 gh	8.00 gh	8.40 fgh	11.00 cde

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 1.13; Güneş 2.03; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 1.59; Güneş 1.89



Şekil 4.29 Hipokotil eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.30 Hipokotil eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 2 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA, b) Aktaş 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA, c) Güneş 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA, d) Güneş 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi hipokotil eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu eksplant başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın düşük dozu (0.25 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) etkileşiminin daha yüksek sayıda sürgün oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek eksplant başına sürgün sayısı TDZ'nin yüksek dozu (1.5 mg/L) ile NAA'nın düşük dozu (0.25 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın yüksek dozunun (1.5 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.26 ve Şekil 4.29).

Çolak ve Tokur (1999), şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) bitkisinin hipokotil eksplantlarında yaptıkları çalışmada en iyi sürgün sayısının BAP*NAA doz kombinasyonlarının etkileşiminden elde edildiğini gözlemlemişlerdir. Ancak yüksek NAA konsantrasyonlarının (1 mg/L) sürgün oluşumunu azalttığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızı kısmen desteklese de Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarından, BAP*NAA kombinasyonundaki yüksek NAA dozlarından (1 mg/L) en yüksek sürgün oluşumunu elde ettiğimiz sonuçlarımızla örtüşmemektedir.

Mederos-Molina vd. (1997), *Salvia cariensis*'de eksplant başına sürgün oluşumunu inceledikleri çalışmalarında; en yüksek eksplant başına sürgün sayısını 10^{-7} BAP dozunda gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda kullandığımız Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında BAP içeren besin ortamlarından en yüksek eksplant başına sürgün sayısı oluşumunun gözlenmesi durumu da bu çalışmanın sonuçlarıyla uyum sağlamaktadır.

Jin vd. (2002) tarafından oluşturulan protokolde BAP (2 mg/L) ve KIN (1 mg/L) ilave edilmiş besin ortamlarında %80 üzerinde sürgün oluşumu sağlanmıştır. Çalışmanın bu sonuçları; çalışmamızda kullandığımız her iki çeşitte de BAP'ın yüksek dozlarının (1.5-2 mg/L) daha fazla sürgün oluşmasını teşvik ettiği bulgularımızla örtüşmektedir. Yaygın ve tatar Karabuğdayının hipokotil eksplantlarında yapılan deneylerde, BAP (1 mg/L) + NAA (1 mg/L) kombinasyonunda oldukça iyi sürgün sayısı elde edilmiştir (Hou vd. 2014). Bu sonuçlar, genotipin ortaya koyduğu farklılıkları göstermektedir.

4.4.2 Kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısı (Şekil 4.32) incelenmiştir. Kotiledon eksplantlarından elde edilen eksplant başına sürgün sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.27’de verilmiştir. Çizelge 4.27 incelendiğinde; iki çeşitte de kotiledon eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; çeşitlere göre TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin istatistiksel olarak %1 ile %5 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.27 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	2.296*	13.403**
NAA Dozları	3	13.584**	17.427**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	18.385**	8.873**
Hata	32	0.524	1.454
CV: Aktaş için %8.48; Güneş için %10.95; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *:p<0.05 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	18.833**	16.025**
NAA Dozları	3	17.687**	12.406**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	9.417**	8.118**
Hata	32	0.588	1.107
CV: Aktaş için %8.18; Güneş için %9.79; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			

Eksplant başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.28’de verilmiştir. Çizelge 4.28’de görüldüğü gibi, kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 13.67 adet ile 4.17 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 16 adet ile 6.70 adet arasında değişmiştir.

Çizelge 4.28’ de görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (13.67 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA (4.17 adet) kombinasyonunda en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (15.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 0.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (6.70 adet) kombinasyonunda en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.31).

Çizelge 4.28’ de görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 1.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (12.37 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 0.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (6.30 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (16.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (8.00 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.31).

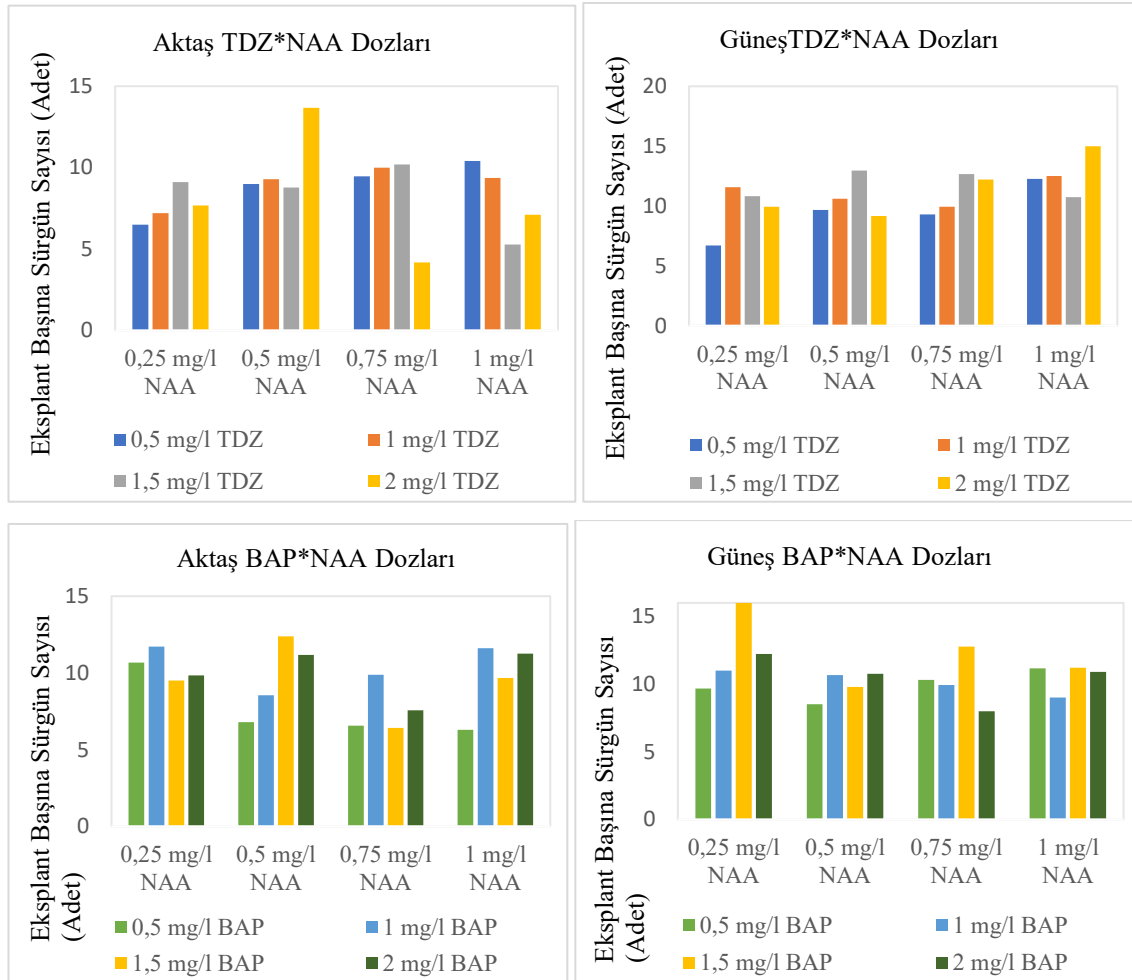
Çizelge 4.28 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	6.50 f	9.00 cd	9.47 bcd	10.40 b
1	7.20 f	9.27 bcd	10.00 bc	9.37 bcd
1.5	9.10 cd	8.77 de	10.20 bc	5.27 g
2	7.67 ef	13.67 a	4.17 g	7.10 f
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	6.70 g	9.67 ef	9.27 f	12.27 bcd
1	11.57 b-e	10.63 def	9.97 ef	12.50 bcd
1.5	10.83 c-f	13.00 ab	12.67 bc	10.77 c-f
2	9.93 ef	9.17 f	12.20 bcd	15.00 a

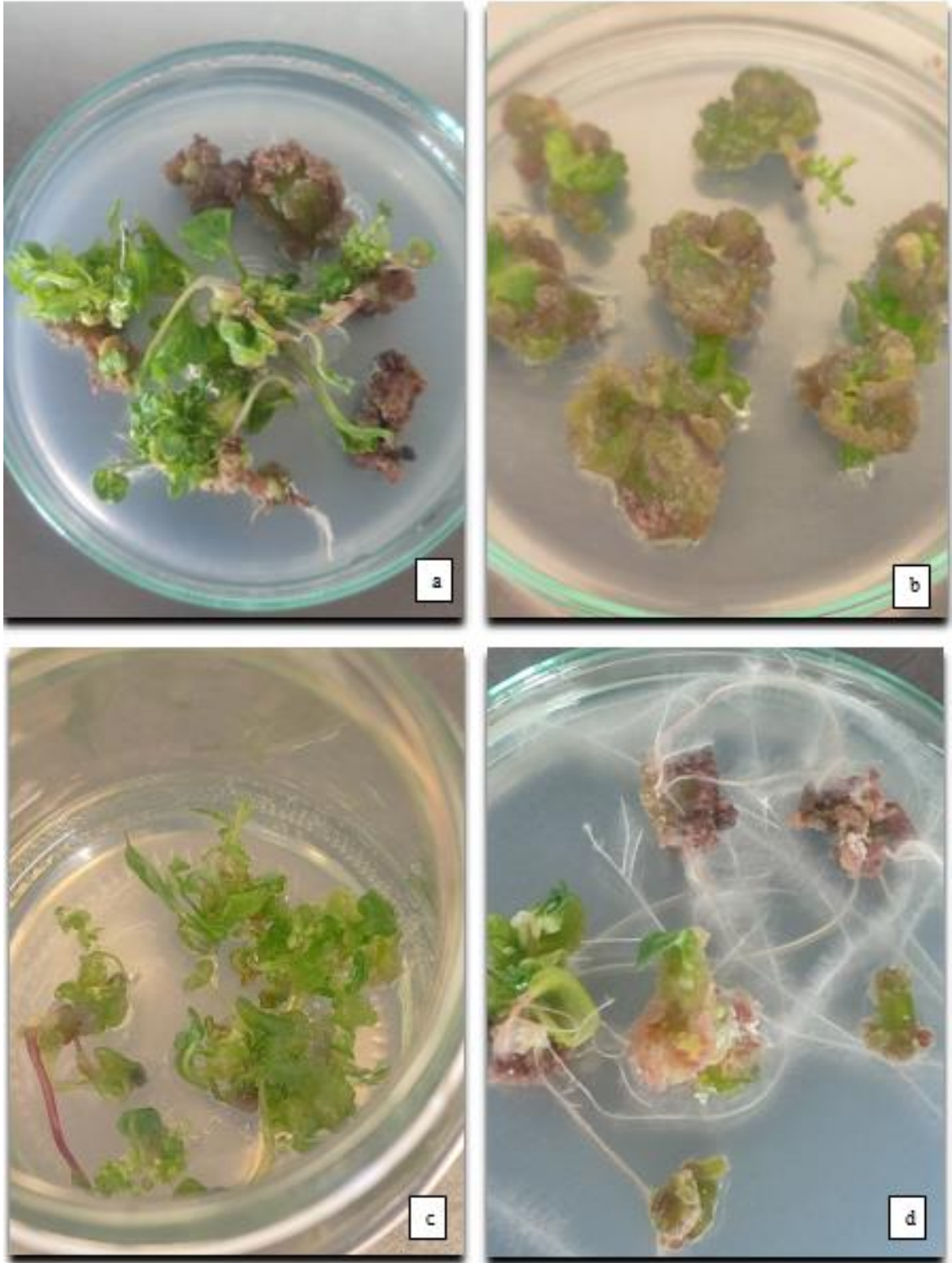
Çizelge 4.28 Aktaş ve Güneş çeşidinin kotiledon eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları (devam)

A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	10.67 bcd	6.80 g	6.57 g	6.30 g
1	11.70 ab	8.57 ef	9.90 cd	11.60 ab
1.5	9.53 de	12.37 a	6.50 g	9.67 de
2	9.83 de	11.17 abc	7.53 fg	11.30 ab
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	9.67 d-g	8.53 fg	10.33 de	11.17 bcd
1	11.00 cd	10.67 cde	9.93 def	9.00 efg
1.5	16.00 a	9.80 def	12.77 b	11.23 bcd
2	12.23 bc	10.77 cd	8.00 g	10.90 cd

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 1.20; Güneş 2.01; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 1.28; Güneş 1.75



Şekil 4.31 Kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.32 Kotiledon eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 2 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA, b) Aktaş 1.5 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA, c) Güneş 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, d) Güneş 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi kotiledon eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu eksplant başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın yüksek dozunun (1.5 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile etkileşiminin daha yüksek sayıda sürgün oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek eksplant başına sürgün sayısı TDZ'nin yüksek dozu (2 mg/L) ile NAA'nın yüksek dozlarının (1 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın yüksek dozunun (1.5 mg/L) - NAA'nın düşük dozu (0.25 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.28 ve Şekil 4.31)

Çalışmamızda, elde ettiğimiz bulgular (Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 1.5 mg/L BAP (16.00 adet) kombinasyonunda gözlemlenmiştir) Lee vd. (2009), Srejovic ve Neskovic (1981) gibi araştırmacıların çalışmalarından elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Lee vd. (2009), karabuğdayda, farklı konsantrasyonlarda BAP ve TDZ'nin sürgün verimliği üzerine yaptıkları çalışmalarda, TDZ'nin karabuğdayın kotiledon eksplantlarından sürgün rejenerasyonunu uygun şekilde uyardığı, BAP konsantrasyonunun yüksek dozlarının rejenerasyon hızını ve sürgün sayısını arttığı, eksplant başına en yüksek sürgün sayısının 4 mg/L BAP içeren MS ortamında elde edildiğini gözlemlemişlerdir.

Srejovic ve Neskovic (1981), karabuğdayın Pennquad çeşidinin kotiledon eksplantlarını kullandıkları çalışmalarında, IAA (10^{-6} M) + BAP (10^{-5} M) kombinasyonu ile sürgün oluşumunda en iyi sonuçların alındığı belirtmişlerdir. Her iki hormon grubunda da Aktaş ve Güneş çeşitlerinin eksplant başına sürgün oluşturma potansiyeli arasında farklılık gözlenmesi; farklı genotiplerin in vitro rejenerasyon kapasitesi üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir. Güneş çeşidinden daha yüksek sürgün elde edilmesi, bu çeşidin in vitro koşullara ve uygulanan hormon doz ve kombinasyonlarına daha duyarlı olduğunu ortaya koymaktadır.

4.4.3 Yaprak eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısı (Şekil 4.34) incelenmiştir. Yaprak eksplantlarından elde edilen eksplant başına sürgün sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.29’da verilmiştir. Çizelge 4.29 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; çeşitlere göre TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin istatistiksel olarak %1 ile %5 düzeyinde önemli olduğu veya istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.29 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	13.291**	3.076**
NAA Dozları	3	1.065ns	10.199**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	3.043**	7.484**
Hata	32	0.699	0.64769
CV: Aktaş için %8.53; Güneş için %6.56; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *:p<0.05 düzeyinde önemli, ns: not significant.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	14.810**	9.122**
NAA Dozları	3	27.129**	10.346**
BAP Dozları*NAA Dozları	9	16.795**	2.466*
Hata	32	0.682	1.210
CV: Aktaş için %9.85; Güneş için %9.80; **:p>0.01 düzeyinde önemli, *:p>0.05 düzeyinde önemli.			

Eksplant başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.30’da verilmiştir. Çizelge 4.30’da görüldüğü gibi, yaprak eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 13.07 adet ile 3.80 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 14.87 adet ile 8.77 adet arasında değişmiştir.

Çizelge 4.30’ da görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (12.17 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (6.83 adet) kombinasyonunda en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (14.87 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA (10.17 adet) kombinasyonunda en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.33).

Çizelge 4.30’ da görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (13.07 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (3.80 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (13.07 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (8.77 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.33).

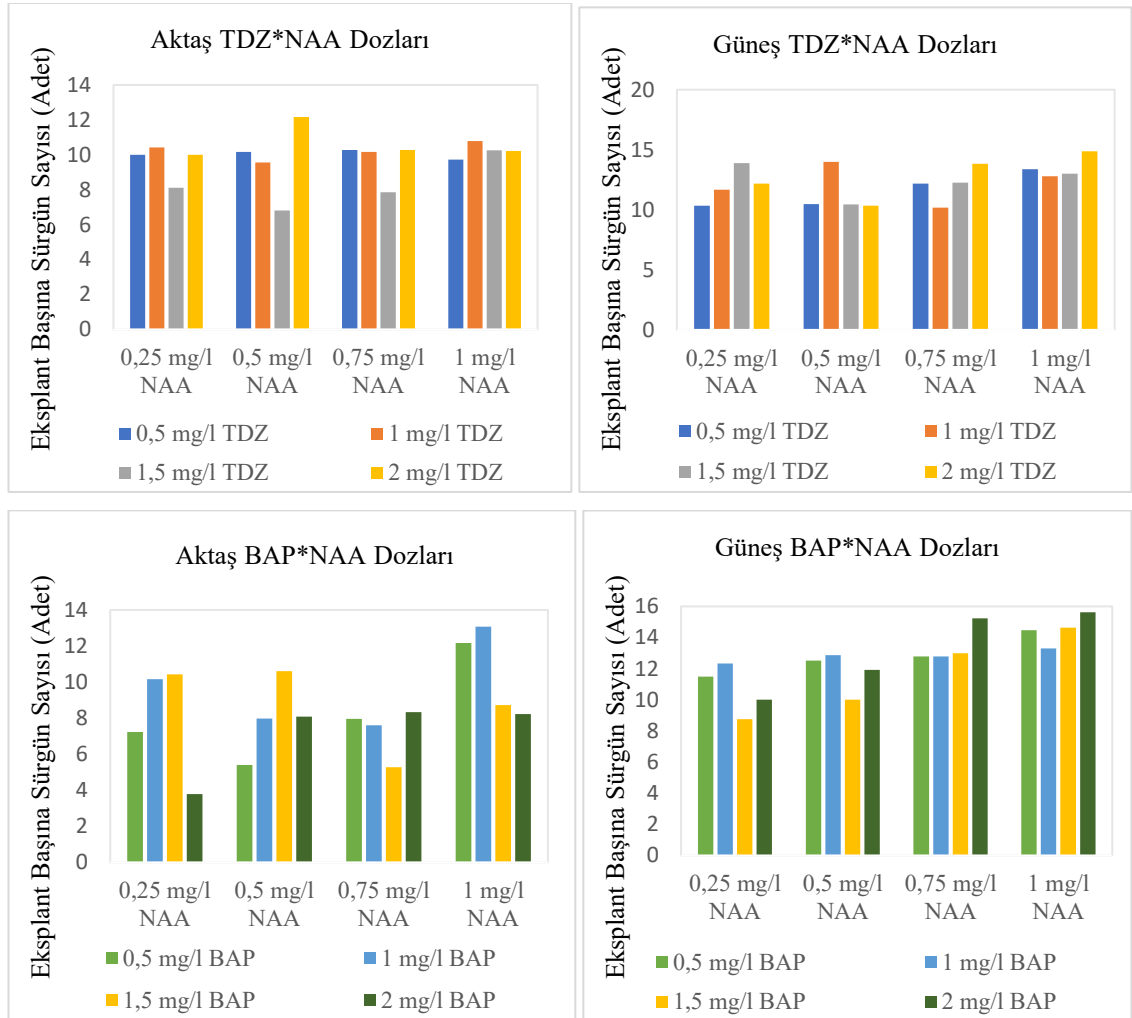
Çizelge 4.30 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	10.00 b	10.17 b	10.27 b	9.73 b
1	10.43 b	9.57 b	10.17 b	10.77 b
1.5	8.10 c	6.83 c	7.90 c	10.27 b
2	10.00 b	12.17 a	10.27 b	10.23 b
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	10.33 ef	10.48 ef	12.17 cd	13.40 bc
1	11.67 de	14.00 ab	10.17 f	12.80 bcd
1.5	13.90 ab	10.46 ef	12.27 cd	13.00 bcd
2	12.17 cd	10.33 ef	13.83 ab	14.87 a

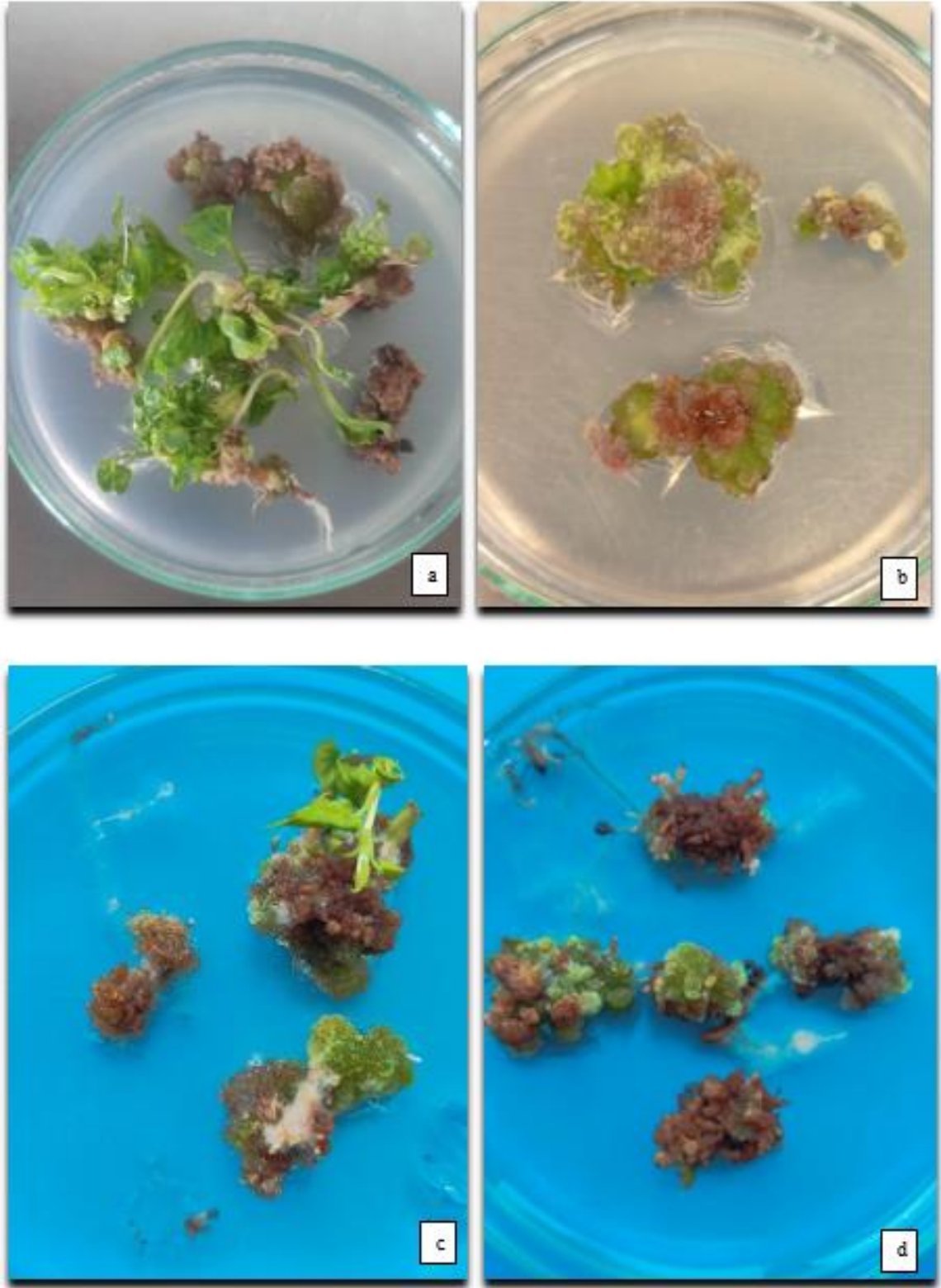
Çizelge 4.30 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları (devam)

A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	7.27 d	5.40 e	7.00 d	12.17 a
1	10.17 b	8.00cd	7.60 cd	13.07 a
1.5	10.43 b	10.60 b	5.27 e	8.73 c
2	3.80 f	8.10 cd	8.33 cd	8.20 cd
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	11.47 a-d	11.87 abc	12.43 a	11.50 a-d
1	12.33 a	12.10 ab	12.10 ab	11.97 abc
1.5	8.77 e	10.00 de	12.67 a	10.23 cde
2	9.27 e	10.30 b-e	13.07 a	9.53 e

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 1.34; Güneş 2.01; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 1.37; Güneş 1.83



Şekil 4.33 Yaprak eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.34 Yaprak eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 2 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA, b) Aktaş 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA, c) Güneş 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, d) Güneş 2 mg/L TDZ + 0.75 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu eksplant başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) etkileşiminin daha yüksek sayıda sürgün oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek eksplant başına sürgün sayısı TDZ'nin yüksek dozunun (2 mg/L) ile NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (0.75 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.30 ve Şekil 4.33).

Elde ettiğimiz sonuçlar, her iki hormon kombinasyonunun da sürgün rejenerasyonu üzerinde anlamlı düzeyde etkili olduğunu ve çeşitler arasında belirgin farklar bulunduğunu ortaya koymuştur. Çalışmamızda, yaprak eksplantlarında BAP dozları arasındaki farklılıkların eksplant başına sürgün sayısı bakımından, Ertem (2022) tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarında olduğu gibi istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur.

Yaprak eksplantının rejenerasyonunda, BAP'ın orta dozlarının eksplant başına sürgün sayısı açısından önemli etkileri olduğu gözlemlenmiştir (Jan ve Khatoon 2014).

Sonuç olarak, yaprak eksplantlarında TDZ ve BAP'ın uygun NAA dozlarıyla birlikte kullanılması etkili bir sürgün rejenerasyonu sağlamış; ancak çeşitler arasında farklı optimum kombinasyonlar gözlenmiştir. Bu durum, çeşide, eksplant türüne ve hormon kombinasyonlarına göre rejenerasyon protokollerinin geliştirilmesinin önemini ortaya koymaktadır (Batra vd. 2006).

4.4.4 Yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı

Farklı doz ve kombinasyonlarda TDZ, BAP ve NAA içeren ortamlara aktarılan Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı (Şekil 4.36) incelenmiştir. Yaprak sapı eksplantlarından elde edilen eksplant başına sürgün

sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.31’de verilmiştir. Çizelge 4.31 incelendiğinde; iki çeşitte de yaprak sapı eksplantlarının eksplant başına sürgün sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; çeşitlere göre TDZ, BAP ve NAA dozları ve bu dozların etkileşiminin istatistiksel olarak %1 düzeyinde önemli olduğu, Güneş çeşidinde BAP*NAA doz uygulamasında NAA dozlarının istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.31 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının eksplant başına sürgün sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
TDZ Dozları	3	15.891**	30.806**
NAA Dozları	3	8.634**	43.586**
TDZ Dozları*NAA Dozları	9	8.738**	12.356**
Hata	32	0.702	0.997
CV: Aktaş için %8.40; Güneş için %7.91; **:p<0.01 düzeyinde önemli.			
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
BAP Dozları	3	30.896**	19.004**
NAA Dozları	3	6.210**	2.504ns
BAP Dozları*NAA Dozları	9	3.051**	9.937**
Hata	32	0.724	1.301
CV: Aktaş için %8.82; Güneş için %11.27; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *:p<0.05 düzeyinde önemli, ns: not significant.			

Eksplant başına sürgün sayısı bakımından, TDZ, BAP ve NAA etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.32’de verilmiştir. Çizelge 4.32’de görüldüğü gibi, yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 13.17 adet ile 5.70 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 18.17 adet ile 7 adet arasında değişmiştir.

Çizelge 4.32’de görüldüğü gibi, TDZ*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 0.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (13.17 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 2 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (7.43 adet) kombinasyonunda en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek eksplant başına

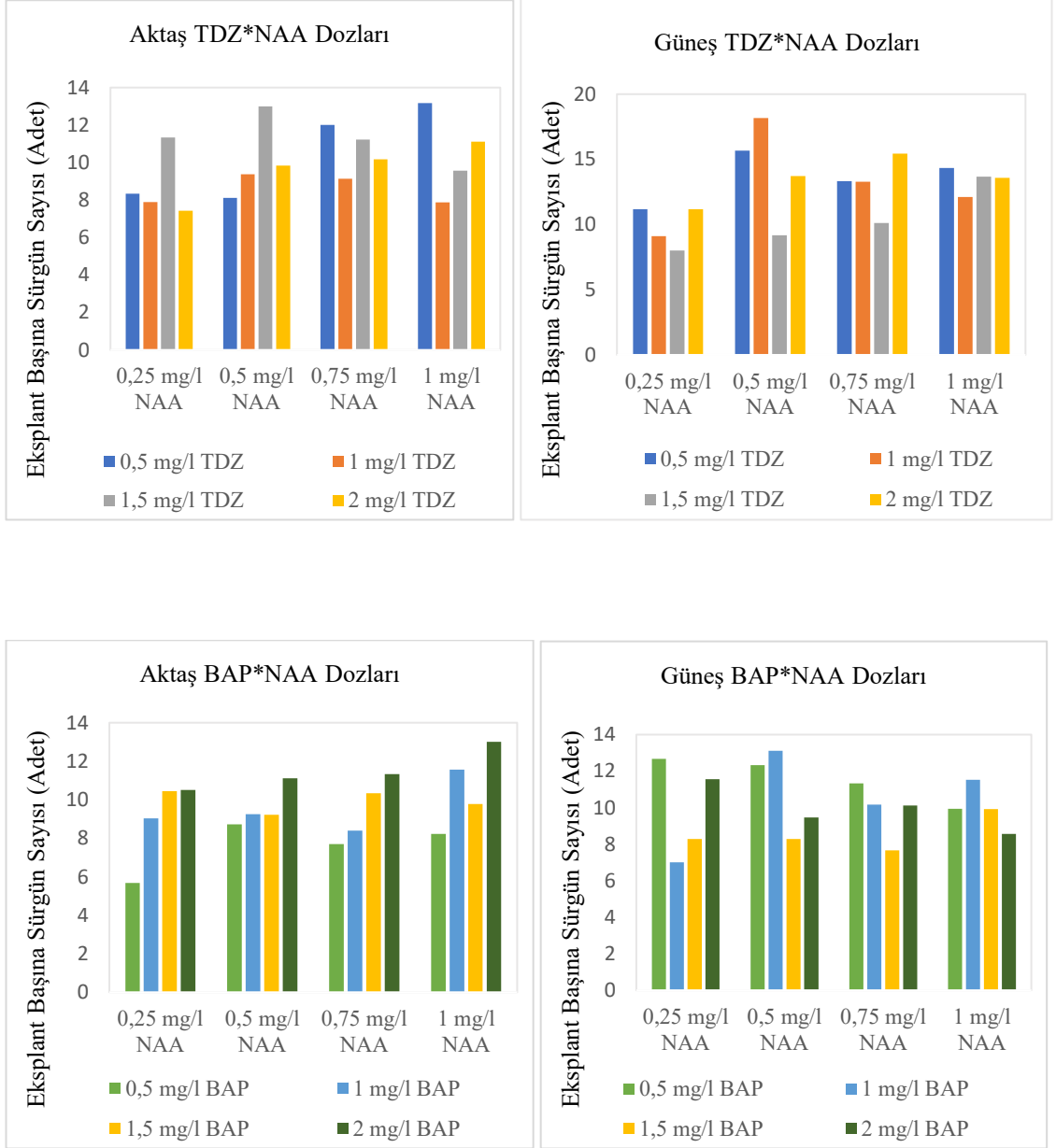
sürgün sayısı 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (18.17 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (8.00 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.35).

Çizelge 4.32’de görüldüğü gibi, BAP*NAA kombinasyonları için; Aktaş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (13.00 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 0.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (5.70 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir. Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 1 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (13.10 adet) kombinasyonunda gerçekleşirken, 1 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (7 adet) kombinasyonunda ise en düşük eksplant başına sürgün sayısı gerçekleşmiştir (Şekil 4.35).

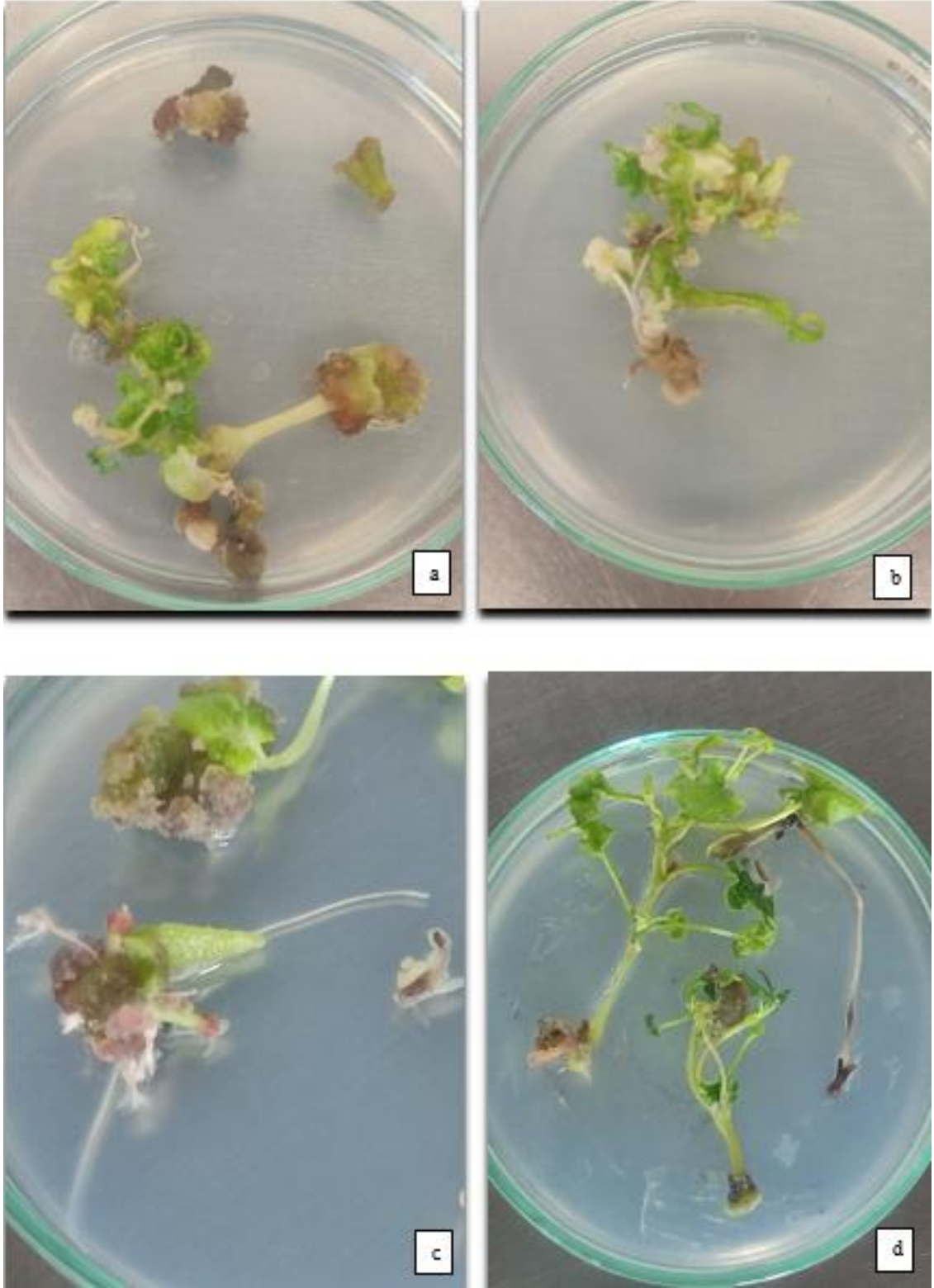
Çizelge 4.32 Aktaş ve Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantının eksplant başına sürgün sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	8.33 f-ı	8.11 ghı	12.00 ab	13.17 a
1	7.90 hı	9.37 efg	9.17 e-h	7.87 hı
1.5	11.33 bc	13.00 a	11.23 bc	9.57 ef
2	7.43 ı	9.83 de	10.17 cde	11.10 bcd
G Ü N E Ş				
TDZ Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	11.17 ef	15.67 b	13.33 cd	14.33 bc
1	9.10 gh	18.17 a	13.27 cd	12.10 de
1.5	8.00 h	9.17 gh	10.13 fg	13.67 cd
2	11.17 ef	13.73 cd	15.43 b	13.60 cd
A K T A Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	5.70 ı	8.73 fgh	7.0 h	8.20 gh
1	9.03 e-h	9.27 d-g	8.40 fgh	11.57 b
1.5	10.43 b-e	9.23 d-g	10.33 b-e	9.77 c-f
2	10.50 bcd	11.10 bc	11.33 b	13.00 a
G Ü N E Ş				
BAP Dozları (mg/L)	NAA Dozları (mg/L)			
	0.25	0.5	0.75	1
0.5	12.67 a	12.33 a	11.33 abc	9.93 b-e
1	7.00 g	13.10 a	10.17 bcd	11.53 ab
1.5	8.27 efg	8.27 efg	7.67 fg	9.93 b-e
2	11.57 ab	9.50 c-f	10.13 b-e	8.57 d-g

TDZ+NAA için AÖF: Aktaş 1.39; Güneş 1.66; BAP+NAA için AÖF: Aktaş 1.47; Güneş 1.90



Şekil 4.35 Yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün sayısı ortalaması



Şekil 4.36 Yaprak sapı eksplantlarında eksplant başına sürgün oluşumu

a) Aktaş 0.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA, b) Aktaş 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA c) Güneş 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA, d) Güneş 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA

Aktaş ve Güneş çeşidi yaprak sapı eksplantlarının farklı hormon dozlarında oluşturduğu eksplant başına sürgün sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin TDZ'nin düşük dozunun (0.5 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonu ve BAP'ın yüksek dozunun (2 mg/L) - NAA'nın yüksek dozu (1 mg/L) etkileşiminin daha yüksek sayıda sürgün oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek eksplant başına sürgün sayısı TDZ'nin orta dozu (1 mg/L) ile NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonunda ve BAP'ın orta dozunun (1 mg/L) - NAA'nın orta dozu (0.5 mg/L) ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.32 ve Şekil 4.35).

Diker ve Şan (2016), tarafından papatyanın farklı eksplantlarında BAP ve TDZ'nin sürgün rejenerasyonu üzerine etkileri incelenerek, en yüksek eksplant başına sürgün sayısının yaprak sapı eksplantında ve 3 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA doz kombinasyonunda tespit edildiği belirtilmiştir.

Arya vd. (2001), tarafından *Celastrus paniculatus* (siyah yağ bitkisi) üzerine yapılan bir çalışmada, genetik çeşitliliğin rejenerasyon ve sürgün oluşumuna etkilerinin büyük ölçüde olduğu ve hormonlara verilen tepkilerin tür ve çeşit özelinde ayarlanması gerektiği ifade edilmiştir.

Ertem (2022) yaptığı çalışmada *V. heterobarbatum*'un yaprak sapı eksplantında farklı BAP doz uygulamalarının eksplant başına sürgün oluşum oranının en yüksek seviyelere çıktığını bildirmiştir.

Ayrıca, Makunga vd. (2003) tarafından yapılan çalışmalarda da, yaprak sapı eksplantlarının sürgün kapasitesinin, diğer dokular kadar yüksek olabileceği ve hormon kombinasyonlarına verdikleri tepkilerin genotipe bağlı olarak değiştiği vurgulanmıştır. Bu çalışmada, gözlemlenen çeşide özgü bulguların farkları da bu çalışma ile uyum sağlamaktadır.

4.5 Kök Oluşumu

Sağlıklı gelişen sürgünler kök gelişimi için IBA (İndol-3-Butirik Asit)'in (farklı dozlarını (0.5 ve 1.0 mg/L) içeren MS ortamında baby-jarlarda köklendirmeye alınmıştır.

4.5.1 Aktaş ve Güneş çeşidinin eksplantlarında sürgün başına kök sayısı

Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının (hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak sapı), iki farklı IBA dozunu (0.5 mg/L ve 1 mg/L) içeren hormonsuz ortamlarda sürgün başına kök sayısı üzerine etkileri (Şekil 4.38) incelenmiştir. Elde edilen sürgün başına kök sayısı verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.33'de verilmiştir. Çizelge 4.33 incelendiğinde; iki çeşitte de eksplant kaynaklarının sürgün başına kök sayısı arasında önemli farklılıklar olduğu; çeşitlere göre IBA dozları ve bu dozların eksplant kaynağı ile olan etkileşiminin %1 ile %5 düzeyinde önemli olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.33 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının sürgün başına kök sayısına ilişkin varyans analizi sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
IBA Dozları	1	266.667**	9.375*
Eksplant kaynağı	3	108.278**	37.597**
Eksplant kaynağı* IBA Dozları	3	12.556**	19.486**
Hata	16	1.417	1.458
CV: Aktaş için %4.68; Güneş için %6.54; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *:p<0.05 düzeyinde önemli.			

Sürgün başına kök sayısı bakımından, IBA ve eksplant kaynağı etkileşiminin hangi dozlar arasında önemli olduğunu belirlemek için yapılan A.Ö.F. testi sonuçları da Çizelge 4.38'de verilmiştir. Çizelge 4.34'de görüldüğü gibi, Aktaş çeşidinde kök sayısı

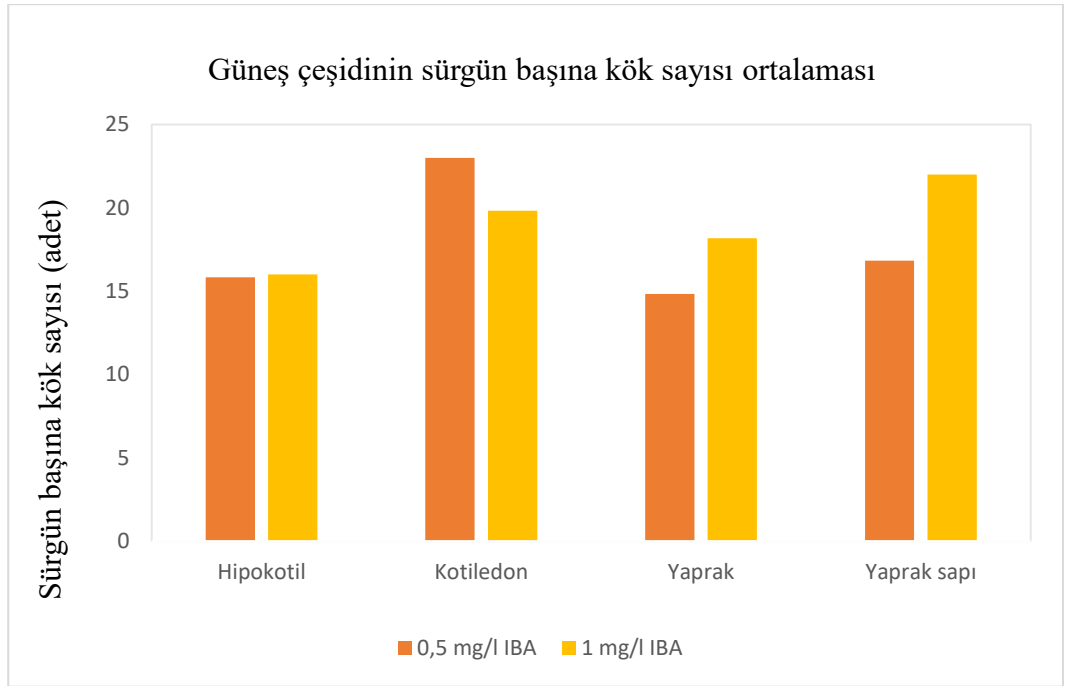
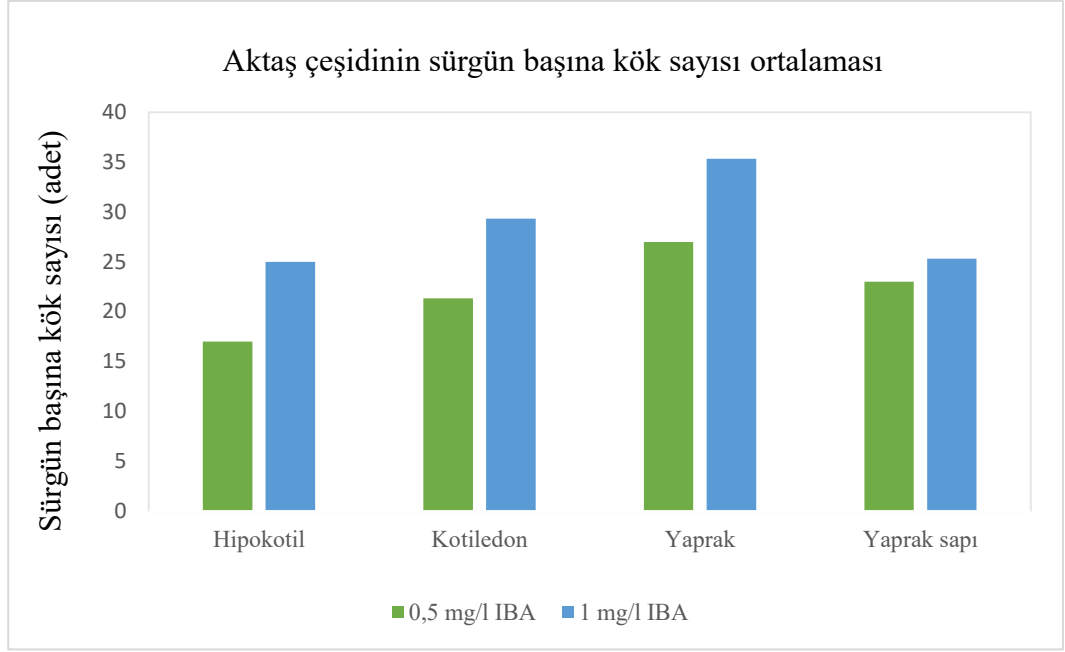
35.33 adet ile 17 adet arasında; Güneş çeşidinde ise 23 adet ile 15 adet arasında değişmiştir.

Çizelge 4.34’de yer alan ortalama değerler incelendiğinde; Aktaş çeşidinin en yüksek sürgün başına kök sayısının, 1 mg/l IBA dozunda yaprak eksplantından (35.33 adet) ve en düşük sürgün başına kök sayısının ise 0.5 mg/L IBA dozunda hipokotil eksplantından (17.00 adet) elde edildiği görülmektedir.

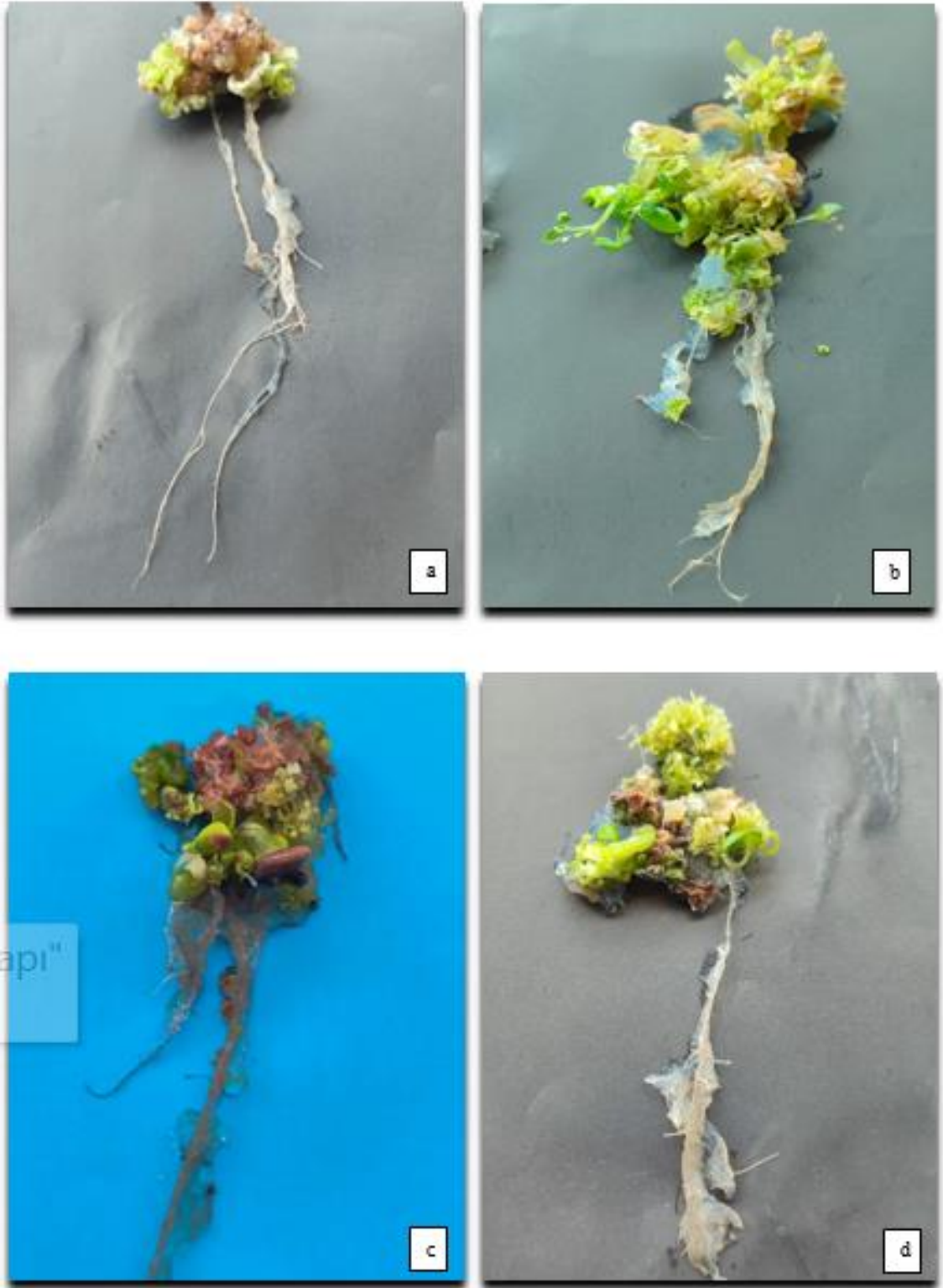
Güneş çeşidinin en yüksek sürgün başına kök sayısının, 0.5 mg/L IBA dozunda kotiledon eksplantından (23.00 adet) ve en düşük sürgün başına kök sayısının ise 0.5 mg/L IBA dozunda yaprak eksplantından (15.00 adet) elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.38).

Çizelge 4.34 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının sürgün başına kök sayısı ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş		
Eksplant Kaynağı	IBA Dozları (mg/L)	
	0.5	1
Hipokotil	17.00 f	25.00 cd
Kotiledon	21.33 e	29.33 b
Yaprak	27.00 c	35.33 a
Yaprak Sapı	23.00 de	25.33 c
AÖF: 2.06		
G Ü N E Ş		
Eksplant Kaynağı	IBA Dozları (mg/L)	
	0.5	1
Hipokotil	16.33 de	16.00 e
Kotiledon	23.00 a	20.00 bc
Yaprak	15.00 e	18.33 cd
Yaprak Sapı	17.00 de	22.00 ab
AÖF: 2.09		



Şekil 4.37 Eksplantların sürgün başına kök sayısı ortalaması



Şekil 4.38 Eksplantlarda kök oluşumu

a) Aktaş yaprak+1 mg/L IBA, b) Aktaş kotiledon + 1 mg/L IBA, c) Güneş kotiledon + 0.5 mg/L IBA, d) Güneş yaprak sapı + 1 mg/L IBA

Aktaş ve Güneş çeşidinin eksplantlarının farklı IBA dozlarında oluşturduğu ortalama kök sayısı verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin IBA'nın yüksek dozunun (1 mg/L) - yaprak eksplantı ile kombinasyonu etkileşiminin daha yüksek kök sayısı oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek kök sayısı IBA'nın düşük dozu (0.5 mg/L) - kotiledon eksplantı ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.34)

Bu bulgular, IBA dozunun artmasının kök sayısının pozitif yönde etkilediğini göstermektedir. Ancak bu etkinin bitki çeşidi ve eksplant tipine göre değişiklik gösterdiğini de ortaya koymaktadır. George et al. (2008) bitki eksplantlarının köklenmeye verdiği tepkilerin bitki dokusuna özgü olduğunu, bitkilerin büyüme bölgelerinde bulunan ve sürekli bölünebilme yeteneğine sahip hücrelerde bu tür farklılıkların belirleyici rol oynadığını belirtmiştir. Ayrıca, yaprak gibi daha geniş yüzey alanlarına sahip eksplantların oksin emilimini daha etkin gerçekleştirebildiği ifade edilmektedir (Thorpe, 2007).

Srejovic ve Neskovic (1981), karabuğdayın kotiledon eksplantlarını kullandıkları deneylerde en başarılı kök gelişimini 1 mg/L IBA dozundan sağladığını ortaya koyan sonuçları; çalışmamızda kullandığımız Güneş çeşidinin kotiledon eksplantlarından elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir.

Takahata ve Jumonji (1985), karabuğdaydan daha fazla kök elde etmek için 1 mg/l IBA içeren ortamlar kullanmışlardır. Ayrıca 1 mg/L IBA eklenmiş MS ortamlarında köklenme oranının arttığı bildirilmiştir (Klčová vd. 2008).

Tomasiak vd. (2022), Köklendirme çalışmalarında 1 mg/L IBA içeren (½) MS besin ortamlarında köklendirilen bitkilerin tarla ekildikten sonra %75'nin hayatta kaldığı bildirilmiştir.

4.5.2 Aktaş ve Güneş çeşidinin eksplantlarında ortalama kök uzunluğu

Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının (hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak sapı), iki farklı IBA dozunu (0.5 mg/L ve 1 mg/L) içeren hormonsuz ortamlarda ortalama kök uzunluğu üzerine etkileri (Şekil 4.40) incelenmiştir. Elde edilen ortalama kök uzunluğu verileri ile yapılan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.35’de verilmiştir. Çizelge 4.35 incelendiğinde; iki çeşitte de eksplant kaynaklarının ortalama kök uzunluğu arasında önemli farklılıklar olduğu; çeşitlere göre IBA dozları ve bu dozların eksplant kaynağı ile olan etkileşiminin istatistiksel olarak %1 ile %5 düzeyinde önemli olduğu ancak Aktaş çeşidinde eksplant kaynağının ise istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir.

Çizelge 4.35 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının ortalama kök uzunluğuna ilişkin varyans analizi sonuçları

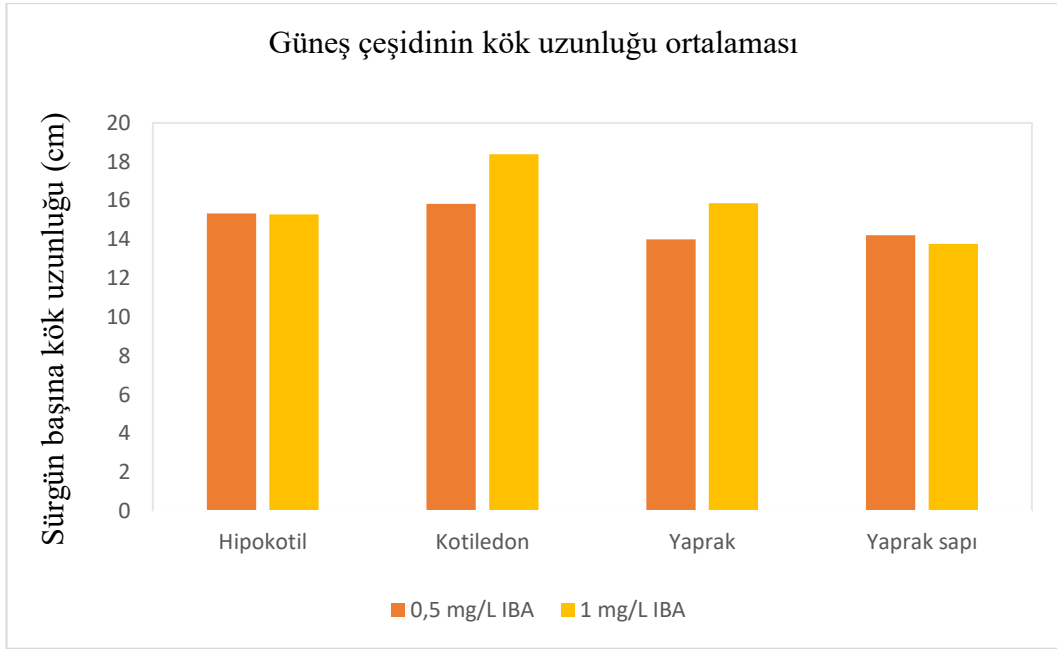
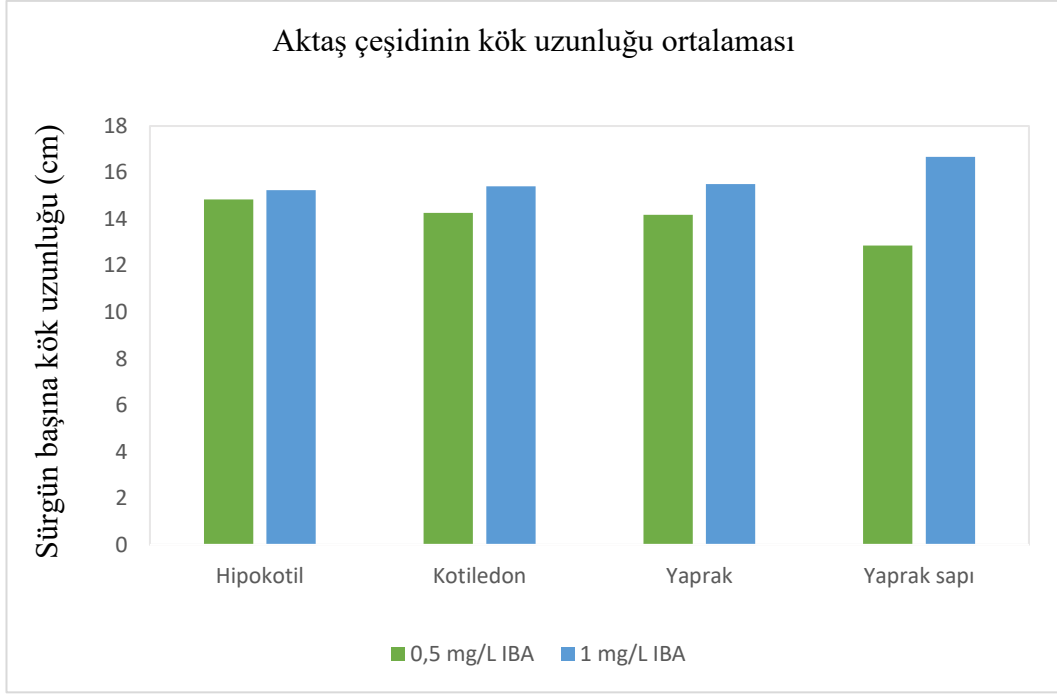
Varyasyon Kaynakları	SD	Aktaş Kareler Ortalaması	Güneş Kareler Ortalaması
IBA Dozları	1	16.834**	5.510*
Eksplant kaynağı	3	0.088ns	10.444**
Eksplant kaynağı* IBA Dozları	3	3.258**	3.242*
Hata	16	0.580	0.813
CV: Aktaş için %5.11; Güneş için %5.58; **:p<0.01 düzeyinde önemli, *:p<0.05 düzeyinde önemli. ns: not significant			

Çizelge 4.36’da yer alan ortalama değerler incelendiğinde; Aktaş çeşidinin en yüksek ortalama kök uzunluğunun, 1 mg/L IBA dozunda yaprak sapı eksplantından (16.70 adet) ve en düşük ortalama kök uzunluğunun ise 0.5 mg/L IBA dozunda yaprak sapı eksplantından (12.90 adet) elde edildiği görülmektedir.

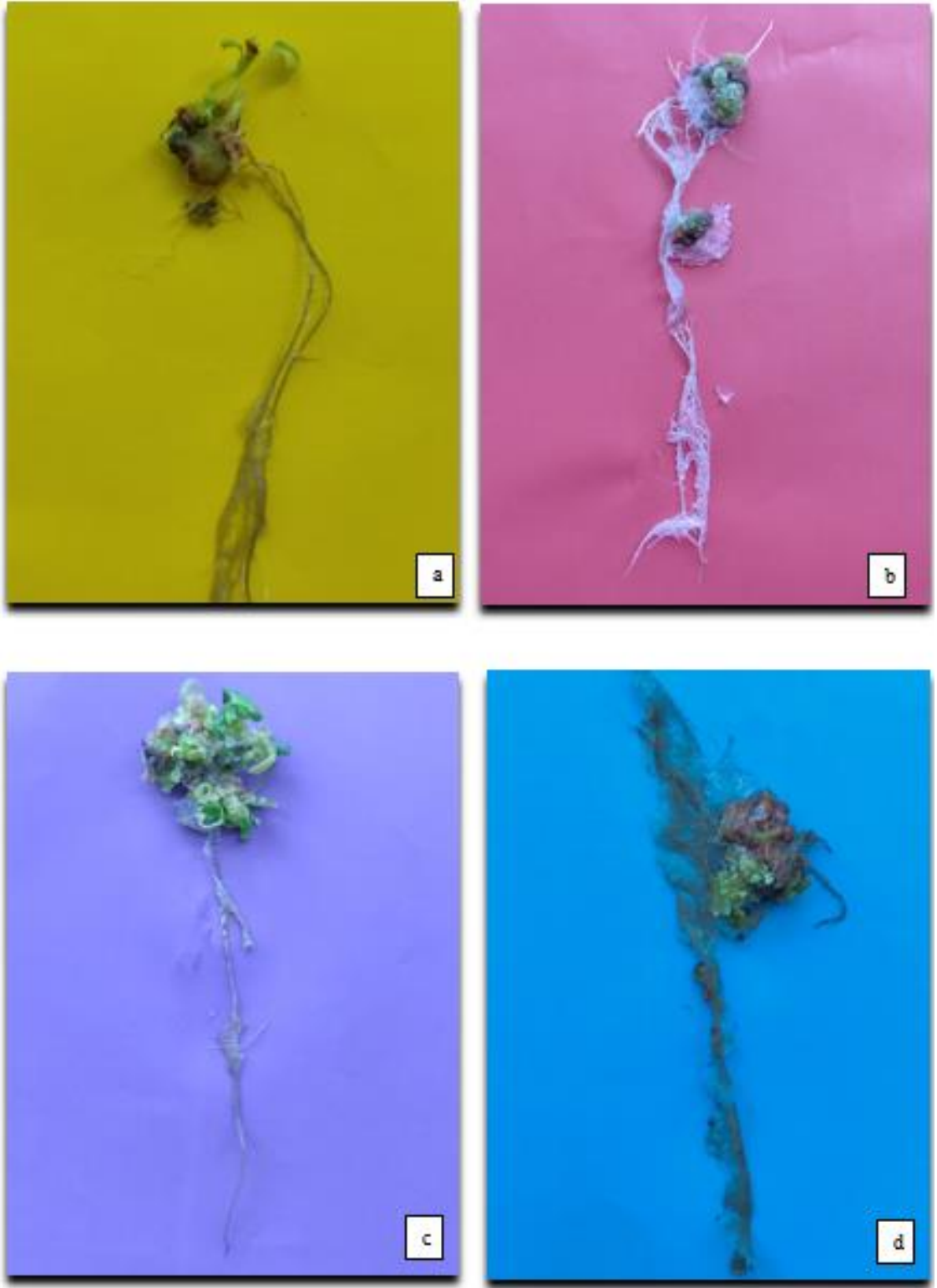
Güneş çeşidinin en yüksek ortalama kök uzunluğunun, 1 mg/L IBA dozunda kotiledon eksplantından (18.40 adet) ve en düşük ortalama kök uzunluğunun ise 1 mg/L IBA dozunda yaprak sapı eksplantından (13.73 adet) elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.40).

Çizelge 4.36 Aktaş ve Güneş çeşidinin farklı eksplant kaynaklarının kök uzunluğu ortalamalarına ilişkin A.Ö.F* grupları

A K T A Ş		
Eksplant Kaynağı	IBA Dozları (mg/L)	
	0.5	1
Hipokotil	14.85 bc	15.27 bc
Kotiledon	14.27 bc	15.43 abc
Yaprak	14.17 cd	15.50 ab
Yaprak Sapı	12.90 d	16.70 a
AÖF: 1.32		
G Ü N E Ş		
Eksplant Kaynağı	IBA Dozları (mg/L)	
	0.5	1
Hipokotil	15.37 bc	15.30 bc
Kotiledon	15.87 b	18.40 a
Yaprak	14.00 cd	15.87 b
Yaprak Sapı	14.23 cd	13.73 d
AÖF: 1.56		



Şekil 4.39 Eksplantların sürgün başına kök uzunluğu ortalaması



Şekil 4.40 Eksplantların kök uzunluğu

a) Aktaş yaprak sapı + 1 mg/L IBA, b) Aktaş yaprak + 1 mg/L IBA, c) Güneş kotiledon + 1 mg/L IBA, d) Güneş yaprak + 1 mg/L IBA

Aktaş ve Güneş çeşidinin eksplantlarının farklı IBA dozlarında oluşturduğu ortalama kök uzunluğu verileri birlikte değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin IBA'nın yüksek dozunun (1 mg/L) - yaprak sapı eksplantı ile kombinasyonu etkileşiminin daha yüksek kök uzunluğu oluşturduğu görülmektedir. Güneş çeşidinde ise en yüksek kök uzunluğu IBA'nın yüksek dozu (1 mg/L) - kotiledon eksplantı ile kombinasyonunda ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.36)

Wang vd. (2016) tarafından yapılan araştırmada, en iyi kök verilerinin, 1 mg/L IBA ilave edilmiş 1/2 MS bazal besiyerinden elde edildiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda kullandığımız IBA'nın yüksek dozlarının kök sayısı ve uzunluğundaki performansını destekleyici niteliktedir.

Dennis vd. (2023), araştırmalarında kullandıkları tatar karabuğdayının yapraklarının, 3 mg/L IBA içeren MS ortamında kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından en iyi sonucu verdiği ve saha transferinde %100 başarı sağladığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları, kök uzunluğu bakımından Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarından elde ettiğimiz sonuçları desteklemektedir.

Park vd. (2011), karabuğdayda fenolik bileşik elde etmede saçak kök kültürünün alternatif oluşturabileceğini ve in vitro da sekonder metabolit elde edilmesinde oluşan saçak köklerin önemli olduğunu bildirmişlerdir.

5. SONUÇ

Bitki hücre ve doku kültürleri, gelişmiş bitki çeşitlerinin elde edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Mikro çoğaltmanın bir parçası olan bitki rejenerasyon sistemleri ve karabuğdayda bitki gelişimine yol açan moleküler yaklaşımlar çok önemlidir. Karabuğdayın; kendine uyumsuzluğu, çiçek dökümü, düşük tohum oluşumu ve tohum kırılması, tuza duyarlılığı ve toprak tuzunun tane verimini etkilemesi, ilk gelişme dönemindeki sıcaklık hassasiyeti, ilkbahar ve sonbahar donlarına karşı duyarlılığı gibi nedenlerle üretiminde istenen artışlar yapılamamaktadır. Türkiye’de karabuğdayda doku kültürü ile ilgili araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada; karabuğdayda kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna ilişkin bir protokolü ortaya çıkarmak ve gelecekte yapılacak benzer çalışmalara katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

Araştırmada, tescilli karabuğdaya ait (*Fagopyrum esculentum* Moench.) Aktaş ve Güneş çeşidinin tohumları kullanılmıştır. Aktaş ve Güneş çeşitlerinin hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak sapı eksplantları, *in vitro* kültür protokollerinin geliştirilmesine yönelik olarak farklı oksin ve sitokinin kombinasyonlarını içeren MS ortamlarına alınmıştır. Çalışmada, kallus oluşumu, rejenerasyon oranı, petri başına sürgün sayısı, eksplant başına sürgün sayısı, kök sayısı ve kök uzunluğu gibi kültürel tepkiler değerlendirilmiş; elde edilen veriler istatistiksel yöntemlerle analiz edilmiştir.

Karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench.) Aktaş ve Güneş çeşitlerinde yapılan bu çalışmada, saksılarda tohumların yetiştirilmesiyle elde edilen bitkilerden izole edilen hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak sapı eksplantları, MS besin ortamına eklenen farklı 2,4-D (2, 4, 6 ve 8 mg/L) ve BAP (0.5; 1; 1.5 ve 2 mg/L) doz ve kombinasyonları kullanılarak kallus oluşumu sağlanmıştır. Gelişen kalluslar, MS ortamına eklenen TDZ (0.5; 1; 1.5 ve 2 mg/L) ve NAA (0.25; 0.5; 0.75 ve 1 mg/L) ile BAP (0.5; 1; 1.5 ve 2 mg/L) ve NAA (0.25; 0.5; 0.75 ve 1 mg/L) kombinasyonlarını içeren rejenerasyon ortamlarına aktarılmıştır. Elde edilen sürgünler ise, köklenmenin teşvik edilmesi amacıyla hormonsuz MS ortamına eklenen IBA’nın (0.5 ve 1 mg/L) farklı dozlarını içeren köklendirme ortamlarında gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda kullanılan farklı eksplant tipleri ve hormon kombinasyonları arasında kallus oluşumu bakımından belirgin farklılıklar gözlenmiştir. Hipokotil, kotiledon, yaprak ve yaprak sapı eksplantları genel olarak yüksek kallus oluşum oranları göstermiş, ancak en yüksek kallus oluşum oranı Aktaş çeşidinde yaprak sapı eksplantlarında 2–8 mg/L 2,4-D ile 1.5 mg/L BAP kombinasyonlarında %100, Güneş çeşidinde ise hipokotil, kotiledon ve yaprak eksplantlarında 2-8 mg/L 2,4-D ile 1.5–2 mg/L BAP kombinasyonlarında %100 olarak elde edilmiştir. Genel olarak, Aktaş çeşidinde yaprak sapı eksplantı, Güneş çeşidinde ise hipokotil, kotiledon ve yaprak eksplantları kallus oluşumu için en uygun eksplant kaynakları olarak öne çıkmış; her iki çeşitte de BAP'ın orta–yüksek dozlarının (1.5–2 mg/L), 2,4-D'nin düşük–yüksek dozları (2–8 mg/L) ile kombinasyonları kallus oluşumunu artıran en etkili hormon etkileşimleri olmuştur. Bu bulgular, karabuğdayda çeşit ve eksplant kaynağına bağlı olarak farklı hormon kombinasyonlarının kullanılması gerektiğini ve kallus oluşumunda oksin–sitokin dengesinin belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır.

Rejenerasyon oranı açısından değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantlarında 1 mg/L TDZ ile 0.25-0.5 mg/L NAA ve 0.5-1.5 mg/L BAP ile 0.5-0.75 mg/L NAA kombinasyonlarında %100 oranında rejenerasyon sağlanmıştır. Güneş çeşidinin hipokotil eksplantlarında ise 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA ile %100, 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA ile %91.67 oranında rejenerasyon gerçekleşmiştir. Aktaş çeşidinin kotiledon eksplantlarında, 0.5-2 mg/L BAP ile 0.25-1 mg/L NAA kombinasyonlarında %100 rejenerasyon oranı gözlemlenmiştir. Güneş çeşidinde ise 0.5 mg/L TDZ + 0.25-1 mg/L NAA ile 0.5-1.5 mg/L BAP + 0.75-1 mg/L NAA kombinasyonlarında %93.33 gibi yüksek oranlar elde edilmiştir. Aktaş çeşidinin yaprak eksplantlarında, TDZ ve BAP'ın farklı doz ve kombinasyonlarında %100 rejenerasyon oranı gözlenirken, Güneş çeşidinde 1 mg/L TDZ + 0.5-0.75 mg/L NAA (%93.33) ve 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (%100) doz ve kombinasyonları ile yüksek rejenerasyon oranları bulunmuştur. Aktaş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında en yüksek rejenerasyon oranları, 0.5-1 mg/L TDZ ve 0.5-0.75 mg/L NAA (%100) doz ve kombinasyonlarından; Güneş çeşidinin yaprak sapı eksplantlarında ise, 1-1.5-2 mg/L TDZ ve 0.5-1 mg/L NAA (%100) doz ve kombinasyonlarında en yüksek rejenerasyon oranları elde edilmiştir.

Petri başına sürgün sayısı değerlendirildiğinde; Hipokotil eksplantlarında, en yüksek sürgün sayısı Aktaş çeşidinde 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (44.00 adet), Güneş'te ise 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (47.00 adet) ile elde edilmiştir. BAP ortamında, Aktaş 1 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (36.00 adet), Güneş ise 0.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (38.33 adet) ile en iyi sonuç bulunmuştur. Kotiledon eksplantlarında, TDZ uygulamasında Aktaş 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (44.00 adet), Güneş 0.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (51.00 adet) ile en yüksek sonucu vermiştir. BAP ortamında ise en yüksek sürgün oluşumu Aktaş'ta 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (46.33 adet), Güneş'te 1.5 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (53.33 adet) ile gerçekleşmiştir. Yaprak eksplantlarında, her iki çeşitte de 1 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA kombinasyonu en yüksek sürgün oluşumunu sağlamıştır (Aktaş: 32.33, Güneş: 38.67). BAP ortamında ise Aktaş 1 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (65.33 adet) ile en yüksek değeri gösterirken, Güneş 2 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (46.00 adet) ile elde edilmiştir. Yaprak sapı eksplantlarında, TDZ uygulamasında Aktaş 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (33.00 adet), Güneş 1.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (45.00 adet) ile en yüksek sürgün sayısını vermiştir. BAP uygulamalarında Aktaş 0.5 ve 1 mg/L BAP + 0.75 mg/L NAA (34.00 adet), Güneş ise 2 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (39.00 adet) ile en yüksek değerlere ulaşmıştır.

Genel olarak, en yüksek sürgün oluşumu çoğunlukla TDZ dozlarında gözlemlenmiş, ancak eksplant ve çeşide göre BAP kombinasyonları da iyi sonuçlar vermiştir. Güneş çeşidi kotiledon ve yaprak sapı eksplantları ile daha yüksek rejenerasyon ve sürgün sayısı üretmiştir.

Eksplant başına sürgün sayısı bakımından; Aktaş çeşidinin hipokotil eksplantlarından, 2 mg/L BAP + 1 mg/L NAA (15.10 adet), kotiledon eksplantlarından 2 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (13.67 adet), yaprak eksplantlarından 2 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (12.17 adet) ve yaprak sapı eksplantlarından 0.5 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (13.17 adet) doz ve kombinasyonları ile en yüksek değerler elde edilmiştir. Güneş çeşidinde ise hipokotil eksplantlarından 1.5 mg/L TDZ + 0.25 mg/L NAA (14.77 adet), kotiledon eksplantlarından 1.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA (16.00 adet), yaprak eksplantlarından 2 mg/L TDZ + 1 mg/L NAA (14.87 adet) ve yaprak sapı

eksplantlarından 1 mg/L TDZ + 0.5 mg/L NAA (18.17 adet) ile en yüksek sürgün sayıları bulunmuştur.

Sürgün başına kök sayısı değerlendirildiğinde; Aktaş çeşidinde en yüksek değer 1 mg/L IBA dozu ile yaprak eksplantından, Güneş çeşidinde ise 0.5 mg/L IBA dozu ile kotiledon eksplantından elde edilmiştir.

Kök uzunluğuda ise; Aktaş çeşidinin 1 mg/L IBA içeren ortamda yaprak sapı eksplantı ile 16.70 cm ortalama kök uzunluğu elde edilirken, Güneş çeşidinin en yüksek ortalama kök uzunluğu 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında kotiledon eksplantında 18.40 cm olarak ölçülmüştür.

Elde edilen bu sonuçlar; karabuğdayda kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunun, genotipe, eksplantın türüne, ve kullanılan oksin-sitokinin hormonlarının doz ve kombinasyonlarına göre değiştiğini göstermektedir.

Karabuğdayın; sıcaklık, don ve tuzluluk gibi abiyotik streslere karşı özellikle ilk gelişme döneminde oldukça duyarlı bir bitkidir. Karabuğdayda, bu abiyotik streslere karşı dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesinde doku kültürü teknikleri ve genetik mühendisliği çalışmaları bir seçenek oluşturabilir. Gen aktarma çalışmalarında amaca ulaşmak için etkili bir protokolün önceden belirlenmesi emek, zaman ve maliyet yönünden araştırmacılara kazanç sağlayacaktır

Araştırmamızda ortaya çıkarmaya çalıştığımız bu rejenerasyon protokolü, apikal meristem, olgunlaşmamış embriyolar, anter ve mikrospor gibi farklı eksplant ve farklı hormon doz ve kombinasyonları kullanılarak geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

- Acar, R. 2009. Karabuğday (Köşeli Buğday)'ın Tarımı. Konya Ticaret Borsası Dergisi, 11 (31) 30-37.
- Acar, R., Güneş, A., Gummadov, N. ve Topal, İ. 2011. Farklı bitki sıklıklarının karabuğday'da verim ve bazı verim unsurlarına etkisi. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi. 25: 47-51.
- Adachi, T., Yamaguchi, A., Miike Y and Hoffmann, E. 1989. Plant regeneration from protoplasts of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). Plant Cell Rep. 8: 247-250.
- Anonymous. 2025a. Web Sitesi: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>; Erişim Tarihi: 1/07/2025.
- Anonymous. 2025b. Web Sitesi: <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=Tarim-111>; Erişim tarihi: 21.09.2025.
- Arya, V., Singh, R. P., & Shekhawat, N. S. 2001. A micropropagation protocol for *Celastrus paniculatus*: a vulnerable medicinal plant of India. *Journal of Sustainable Forestry*, 14(2-3), 107-120.
- Batra, J., Dutta, A., Jaggi, M., Kumar, S., & Sen, J. 2006. *Micropropagation and In vitro Flowering of Medicinal Plants, a Method for Microbreeding*. In Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, Volume II (pp. 459-464). Global Science Books, UK.
- Baumgertel, A., Grimm, R., Eisenbeiss, W. and Kreis, W. 2003. Purification and characterization of a flavonol 3-o-betaheterodisaccharidase from the dried herb of *Fagopyrum esculentum* Moench. *Phytochemistry*, 64:411-418.
- Betekhtin, A., Piński, A., Milewska-Hendel, A., Kurczyńska, E., and Hasterok R. 2019. Stability and instability processes in the calli of *Fagopyrum tataricum* that have different morphogenic potentials. *Plant Cell, Tissue Organ Cult.* – Vol. 137, iss. 2 (2019), s. 343-357. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01575-w>
- Benlioğlu, B., Türkoğlu, A., Incetekin, M. 2025. Evaluation of genetic diversity of two-row barley by tissue culture potential. *Genet Resour Crop Evol* (2025). <https://doi.org/10.1007/s10722-025-02502-z>
- Berbec, A. and Doroszewska, T. 1999. Regeneration in vitro of three cultivars of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) as affected by medium composition, *Fagopyrum*, 16 (1999): 49-52.
- Biological Diversity and Conservation, 7/2, 154-158.
- Bobkov, S. 2016. Chapter thirty four - Biochemical and Technological Properties of Buckwheat Grains. *Molecular Breeding and Nutritional Aspects of Buckwheat*. Pages 423-440.
- Bohanec, B. 1987. Improvements in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Micropropagation Procedures. *Fagopyrum* 7 (1987): 13-15.

- Bueno, M., Sapio, O. D., Barolo, M., Villalonga, E. M., Busilacchi, H. and Severin, C. 2010. In vitro response of different *Salvia hispanica* L. (*Lamiaceae*) explants. *Molecular Medicinal Chemistry*, 21, 125–126.
- Campbell, C. G. 1997. Buckwheat. *Fagopyrum esculentum* Moench. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 19. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Chen LH, B Zhang and ZQ Xu. 2008. Salt tolerance conferred by overexpression of *Arabidopsis* vacuolar (Na^+/H^+) antiporter gene *AtNHX1* in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*), *Transgenic Research*, 17: 121-32.
- Chen C, Lan J, Xie S, Cui S and Li A. 2012. In vitro propagation and quality evaluation of long-term micro-propagated and conventionally grown *Fagopyrum dibotrys* Hara mutant, an important medicinal plant. *J. Med. Plants Res.* 6: 3003-3012
- Çolak, G. ve Tokur, S. 1999. *Beta vulgaris* L. (şeker pancarı) hipokotil eksplantlarının sürgün rejenerasyonu üzerine bazı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkileri. Süleyman Tokur üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Eskişehir. BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi.1 (1).
- Dar, F.A., Pirzadah, T.B., Tahir, I. and Rehman, R.U. 2019. Deciphering The In Vitro Antioxidant Potential and Mineral Analysis of *Fagopyrum* Species from Kashmir and Ladakh Regions. <http://www.jrpsjournal.com> on Thursday, October 8, 2020.
- Dennis, S., Ravindhran, R., Charles, P., Raj, S. L. A., & Kaviarasan, V. 2023. Indirect organogenesis and high frequency plant regeneration in buckwheat (*Fagopyrum tartaricum* Gaertn.). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 20(3), 857-864. <https://doi.org/10.13005/bbra/3137>
- Diker M. M. ve ğan, B. 2016. Gerberanın (*Gerbera jamesonii* Bolus) yaprak ve yaprak sapından in vitro adventif sürgün rejenerasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11(1), 104 - 111.
- Dizlek, H., Özer, M.S., İnanç, E. ve Gül, H. 2009. Karabuğday'ın (*Fagopyrum Esculentum* Moench) Bileşimi Ve Gıda Sanayinde Kullanım Olanakları. *Gıda Dergisi* (2009) 34 (5): 317-324.
- Ergeldi, B. ve Avcı Birsin, M. 2025. Karabuğdayda (*Fagopyrum esculentum* Moench.) Farklı Tuz Dozlarının Çimlenme Parametrelerine Etkisi. *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 8(1), 51-60. <https://doi.org/10.55257/ethabd.1657919>
- Ertem, M. 2022. Türkiye'nin Önemli Endemik Bitkilerinden Sakallı Sığırkuyruğu (*Verbascum heterobarbatum* Hub.-Mor.)'nun Doku Kültürü Tekniği ile Çoğaltılması (Doktora Tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Espinoza, P.E.V., Benítez-García, I., Peralta, A.L.L., Paredes-López, O., Del Villar-Martínez, A.A. 2017. Somatic embryogenesis from leaf explants of *Tagetes erecta* L. *Plant Biotechnol.* (Tokyo) 2017, 34, 187–192.
- Fei, Y., Wang, L., Fang, Z. ve Liu, Z. 2019. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Cotyledon and Hypocotyl Explants of *Fagopyrum*

- esculentum* Moench lpls Mutant. *Agronomy* 2019, 9, 768; doi:10.3390/agronomy9110768.
- Gabr, A. M. M., Fayek, N. M., Mahmoud, H. M., El-Bahr, M., Ebrahim, H.S., Sytar, O., and El- Halawany, A.M. 2022. Effect of Light Quality and Media Components on Shoot Growth, Rutin, and Quercetin Production from Common Buckwheat. *ACS Omega*, 7, 26566–26572. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c02728>
- George, P. S., Ravishankar, G. A., & Venkataraman, L. V. 1993. Clonal multiplication of *Gardenia jasminoides* Ellis through axillary bud culture. *Plant Cell Reports*, 13(1), 59–62. doi:10.1007/BF00232317
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G.-J. 2008. Plant growth regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. *Plant Propagation by Tissue Culture* 3rd Edition, 175–204.
- Grunewald, W., Noorden, G.V., Isterdael, G.V., Beeckman, T., Gheysen, G. and Mathesius, U., 2009. Manipulation of auxin transport in plant roots during *Rhizobium* symbiosis and nematode parasitism. *The Plant Cell*, Vol. 21: 2553–2562.
- Gumerova, E.A., Galeeva, E.I., Chuyenkova, S.A., Rummyantseva, N.I. 2003. Somatic Embryogenesis and Bud Formation on Cultured *Fagopyrum esculentum* Hypocotyls. *Rus. J. Plant Physiol.* 2003, 50, 640–645.
- Gül, M. and Birer, E. 2017. Socio-Economic Structure of Buckwheat Farms in Turkey. *Columella – Volume 4, Number 1 suppl.*
- Han, M.H., Kamal, A.H.M., Huh, Y.S., Jeon, A., Bae, J.S., Chung, K.Y., Lee, M.S., Park, S.U., Jeong, H.S. and Woo, S.H. 2011. Regeneration of Pplantlet Via Somatic Embryogenesis From Hypocotyls of Tartary Buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) *Australian Journal of Crop Science* AJCS 5(7):865-869.
- Halloran, N. ve Kasım, M.U., 2002. Meyve ve sebzelerde büyüme düzenleyici madde kullanımı ve kalıntı düzeyleri. *Gıda*, 27 (5) : 351-359.
- Hayıt, F. ve Gül, H. 2015. Karabuğdayın Sağlık Açısından Önemi ve Unlu Mamullerde Kullanımı. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 29, Sayı 1, 123-131.
- Hao, J., Pei, Y., Qu, Y., Zheng, C. 1998. Study on callus differentiation conditions of common buckwheat. In *Proceedings of the 7th International Symposium on Buckwheat*, Winnipeg, MB, Canada, 12–14 August 1998; pp. 33–37.
- Hou, S., Sun, Z., Linghu, B., Wang, Y., Huang, K., Xu, D., & Han, Y. 2014. Regeneration of buckwheat plantlets from hypocotyl and the influence of exogenous hormones on rutin content and rutin biosynthetic gene expression in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 119(3), 361–373. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0671-5>
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. 2013. Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell*, 25(9), 3159–3173.
- İnanır, C., Albayrak, S. & Ekici, L. 2019. Karabuğdayın Fitokimyası, Farmakolojisi ve Biyofonksiyonel Özellikleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (16), 713-722.

- Jan, T. and Khatoon, K. 2014. In vitro regeneration of *Salvia santolinifolia*. *Pakistan Journal Botany*, 46 (1), 325-328.
- Jin, H., Jia, J. and Hao, J. 2002. Efficient plant regeneration in vitro in buckwheat, *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 69 (2002): 293–295.
- Kan, A. 2014. Türkiye için yeni bir bitki; Karabuğday (*Fagopyrum esculentum*). *Biological Diversity and Conservation*, 7/2 (2014) 154-158.
- Kara, B. ve Telli, M. 2016. Karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench.) Fosfor Kullanım Etkinliği. *Derim*, (2016) 33 (2):327-336.
- Kara, N. ve Gürbüz, G. 2017. Karabuğdayın Yazlık Olarak Isparta Doğal Yağış Koşullarında Farklı Ekim Zamanlarında Yetiştirilme Olanaklarının Araştırılması. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(1): 46-50, 2018.
- Kara, N. ve Yüksel, O. 2014. Karabuğdayı Hayvan Yemi Olarak Kullanabilir miyiz? *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*. 1(3): 295-300, 2014.
- Katar, D. ve Katar, N. 2017. Eskişehir ekolojik koşullarında farklı karabuğday (*Fagopyrum esculentum* Moench.) çeşidinde uygun ekim normunun belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26(1), 31-39.
- Klčová, L. and Gubišová, M. 2008. Evaluation of Different Approaches to Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) Micropropagation. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 2008, 44, 66–72. [kotiledon hipokotil
- Kumlay, A.M. ve Eryiğit, T. 2011. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler: Bitki Hormonları. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der. / Iğdır Univ. J. Inst. Sci. & Tech.* 1(2): 47-56.
- Kwon, S-J., Han, M-H., Huh, Y.-S., Roy, S. K., Lee, C.-W., and Woo, S.-H. 2013. Plantlet Regeneration via Somatic Embryogenesis from Hypocotyls of Common Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) *Korean J. Crop Sci.*, 58(4): 331~335.
- Lee, S.Y., Kim, Y.K., Uddin, M.R., Park, N.I., and Park, S.U. 2009. An Efficient Protocol For Shoot Organogenesis and Plant Regeneration of Buckwheat (*Fagopyrum Esculentum* Moench.). *Romanian Biotechnological Letters* vol. 14, No. 4, 2009, pp. 4524-4529.
- Makunga, N. P., Jäger, A. K., & Van Staden, J. 2003. Micropropagation of *Thapsia garganica* – a medicinal plant. *Plant Cell Reports*, 21, 967–973.
- Marconi, P. L., López, M. C., De Meester, J., Bovjin, C., & Alvarez, M. A. 2013. In vitro establishment of *Salvia hispanica* L. plants and callus. *Biotechnología Vegetal*, 13(4), 203–207. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36173340003>
- Martínez-Goñi, X. S., Miranda-Apodaca, J., & Pérez-López, U. 2023. Could buckwheat and spelt be alternatives to wheat under future environmental conditions? Study of their physiological response to drought. *Agricultural Water Management*, 278, 108176. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2023.108176>
- Mederos-Molina, S., Amaro Luis, J.M. and Luis, J.K. 1997. In vitro mass propagation of *Salvia canariensis* by axillary shoots. *Acta Societatis Botanicum Poloniae*, 66,351-354.

- Mohajer, S., Taha, R.M., Khorasani, A. and Yaacob, J.S. 2012. Induction of different types of callus and somatic embryogenesis in various explants of Sainfoin (*Onobrychis sativa*). Australian Journal of Crop Science, 6: 1305–13.
- Morris, M.R. 1951 Cytogenetic studies on buckwheat. Genetic and cytological studies of compatibility in relation to heterostyly in common buckwheat, *Fagopyrum sagittatum*. J. Hered. 42: 85-89
- Murthy, B. N. S., Murch, S. J., & Saxena, P. K. 1998. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 34(4), 267–275. <https://doi.org/10.1007/s11627-998-0046>
- Neskovic, M., Vinterhalter, R., Miljuš-Djukic, J., Ninkovic, S., Vinterhalter, D., Jovanovic, V., & Knezevic, J. 1990. Susceptibility of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) to *Agrobacterium tumefaciens* and *A. rhizogenes*. *Fagopyrum*, 10, 57–61.
- Neskovic, M., Vujicic, R. and Budimir, S. 1995. Somatic embryogenesis in buckwheat (*Fagopyrum* Mill.) and sorrel (*Rumex* L.), Polygonaceae. Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed II, Springer-Verlag, Berlin. 13: 412-427.
- Oba, S., Suzuki, Y. and Fujimoto, F. 1998. Breaking strength of pedicel and grain shattering habit in two species of buckwheat (*Fagopyrum* spp.). Plant Prod. Sci. 1: 62-66.
- Okudan, D. ve Kara, B. 2015. Farklı azot dozlarının karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench.) tane verimi ve kalitesine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 19(3), 74-79.
- Özgen. M., Türet, M., Özcan, S. and Sancak, C. 1996. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes. Plant Breeding, 115;455-458.
- Özgen. M., Türet, M., Altınok, S. and Sancak, C. 1998. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryos of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Plant Cell Reports, 18:331-335.
- Özgen, M., Adak, S., Söylemezoğlu, G. ve Ulukan, H. 2000. Bitkisel Gen Kaynaklarının Korunma ve Kullanımında Yeni yaklaşımlar. Türkiye Ziraat Mühendisliği 5. Teknik Kongresi, 17-21 Ocak 2000, Ankara, Ziraat Bankası Kültür Yayınları, 259-284.
- Özgen. M., Ertunç, F., Kınacı, G., Yıldız, M., Birsin, M., Ulukan, H., Emiroğlu, H., Koyuncu, N. ve Sancak, C., 2005. Tarım Teknolojilerinde Yeni Yaklaşımlar ve Uygulamalar. In: Bitki Biyoteknolojisi, Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi. Ankara, 315-346.
- Park, C.H., Lee, S.L., Chung, C.S., Shin, Y.B., Kim, N.S., Kim, Y.B., Yoon, K.M. and Choi, Y.S. 1999. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf and stem explants of buckwheat. *Fagopyrum*. 16: 53-56.
- Park, N.I., Li, X., Uddin, M.R. and Park, S.U. 2011. Phenolic Compound Production by Different Morphological Phenotypes in Hairy Root Cultures of *Fagopyrum Tataricum* Gaertn. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 63 (1), 193-198.

- Park, C.H., and Park, S.U. 2018. Chapter Thirty One - Applications of Plant Tissue Culture and Biotechnology in Buckwheat Germplasm in the World, 333-341.
- Pierik, RLM. 1997. In vitro culture of higher plants. Fourth Edition ed. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 213-220 p.
- Rajbhandari, B.P., Dhaubhadel, S., Gautam, D.M., Gautam, B.R. 1995. Plant regeneration via calli of leaf and stem explants in common buckwheat ecotypes. In Current Advances in Buckwheat Research; 1995; pp. 191–196.
- Rajbhandari, P. 2004. Eco-physiological aspects of common buckwheat. Proceedings of the 9th International Symposium on Buckwheat. 101-108. 2004, Prague.
- Saad, A. I. M., & Elshahed, A. M. 2012. *Plant tissue culture media*. In Recent Advances in Plant in vitro Culture (Chapter 2). InTech. <https://doi.org/10.5772/50569>
- Sala-Cholewa, K., Milewska-Hendel, A., Pérez-Pérez, R., Grzebelus, E., and Betekhtin, A. 2024. Reconstruction pattern of the cell wall in *Fagopyrum* protoplast-derived hybrid cells. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 157, Article 26. <https://doi.org/10.1007/s11240-024-02740-6>
- Saraswat, R. and Kumar, M. 2019. Plant Regeneration in Buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.) via Somatic Embryogenesis and Induction of Meristemoids in Abnormal Embryo. Plant Tissue Cult. & Biotech. 29(1): 33-47, 2019 (June).
- Sarkar, K. P., Islam, A., Islam, R., Hoque, A., & Joarder, O.I. 1996. In vitro propagation of *Rauvolfia serpentina* through tissue culture. *Planta Medica*, 62(4), 358–359. doi:10.1055/s-2006-957903
- Srejavic, V., & Neskovic, M. 1981. Regeneration of plants from cotyledon fragments of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.). Zeitschrift für Pflanzenphysiologie, 104(1), 37–42. [https://doi.org/10.1016/S0044-328X\(81\)80051-0](https://doi.org/10.1016/S0044-328X(81)80051-0)
- Skala, E., Kalembe, D., Wajs, A., Rozalski, M., Krajewska, U., Rozalska, B., Wieckowska-Szakiel, M. and Wysokinska, H. 2007. In vitro propagation and chemical and biological studies of the essential oil of *Salvia przewalskii* Maxim. Z. Naturforsch, 62c, 839-848.
- Slawinska, J., Kantartzi, SK. and Obendorf, RL. 2009. In vitro organogenesis of *Fagopyrum esculentum* Moench (*Polygonaceae*) as a method to study seed set in Buckwheat, European Journal of Plant Science and Biotechnology, 3 (2009): 75-78.
- Suvorova, G. 2016. Chapter twenty nine - Buckwheat Tissue Cultures and Genetic Transformation. Molecular Breeding and Nutritional Aspects of Buckwheat, 365-375.
- Small, E. 2017. Buckwheat – the world’s most biodiversity-friendly crop? Biodiversity 18, 108–123. doi: 10.1080/14888386.2017.1332529
- Sytara, O., Brestic, M., Zivcakb, M. and Tran, L.-S. P. 2016. The Contribution of Buckwheat Genetic Resources to Health and Dietary Diversity. Current Genomics, 2016, 17, 193-206.

- Tanaka, N., Yoshimatsu, K., Shimomura, K. and Ishimaru, K. 1996. Rutin and Other Polyphenols in *Fagopyrum esculentum* Hairy Roots. The Japanese Society of Pharmacognosy, Natural Medicines 50(4), 269-272.
- Te-chato, S., Hilae, A., In-peuy K., 2008. Effects of cytokinin types and concentrations on growth and development of cell suspension culture of oil palm. Journal of Agricultural Technology, V. 4(2): 157-163.
- Thorpe, T., Stasolla, C., Yeung, E. C., de Klerk, G. J. M., Roberts, A., & George, E. F. 2007. The components of plant tissue culture media II. In E. F. George, M. A. Hall, & G.-J. De Klerk (Eds.), *Plant propagation by tissue culture: Volume 1. The background* (pp. 115–173). Springer.
- Tomasiak, A., Zhou, M., & Betekhtin, A. 2022. Buckwheat in tissue culture research: Current status and future perspectives. International Journal of Molecular Sciences, 23(4), 2298. <https://doi.org/10.3390/ijms23042298>
- Tomasiak, A., Pinski, A., Milewska-Hendel, A., Andreu Godall, I., Borowska-Zuchowska, N., Morończyk, J., Moreno-Romero, J., and Betekhtin, A. 2024. H3K4me3 changes occur in cell wall genes during the development of *Fagopyrum tataricum* morphogenic and non-morphogenic calli. Frontiers in Plant Science, 15, 1465514. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1465514>
- Türksoy, S. ve Özkaya, B. 2006. Gluten ve çölyak hastalığı, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu.
- Venkataiah, P., Bhanuprakash, P., Suman Kalyan, S., Subhash, K. 2016. Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Capsicum baccatum* L. J. Genet. Eng. Biotechnol. 2016, 14, 55–60.
- Wang, C.; Dong, X.; Ding, M.; Tang, Y.; Zhu, X.; Wu, Y.; Zhou, M.; Shao, J. 2016. Plantlet regeneration of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) in vitro tissue cultures. Protein Peptide Lett. 2016, 23, 468–477.
- Wang, L. and Sheng, M. 2022. Phytolith occluded organic carbon in *Fagopyrum* (Polygonaceae) plants: Insights on the carbon sink potential of cultivated buckwheat planting. Frontiers in Plant Science, 13, 1014980. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1014980>
- Woo, SH., Nair. A., Adachi, T. and Campbell, CG. 2000. Plant regeneration from cotyledon tissues of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench), In Vitro Cellular and Developmental Biology- Plant, 36 (2000): 358
- Woo, SH., Takaoka, M., Kim, HS., Park, CH., Adachi, T and Jong, SK. 2004. Plant regeneration via shoot organogenesis from leaf callus culture of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.). Proceedings of the 9th International Symposium 61-65. on Buckwheat, 361.
- Yamane, Y. 1974. Induced Differentiation Of Buckwheat Plants From Subcultured Calluses In Vitro. Japan. J. Genetics Vol. 49, No. 3; 139-146.
- Yui, M. and Yoshida, T. 2001. Callus Induction and Plant Regeneration in Anther Culture of Japanese Buckwheat Cultivars (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum* 18: 27-35.

- Zaranek, M., Pinski, A., Skupien-Rabian, B., Jankowska, U., Godel-Jedrychowska, K., Sala-Cholewa, K., Nowak, K., Kurczyńska, E., Grzebelus, E. and Betekhtin, A. 2025. The cell colony development is connected with the accumulation of embryogenesis-related proteins and dynamic distribution of cell wall components in in vitro cultures of *Fagopyrum tataricum* and *Fagopyrum esculentum*. BMC Plant Biology, 25:102. <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06119-3>
- Zhao, H., Li, X., Xiao, X., Wang, T., Liu, L., Li, C., Wu, H., Shan, Z., & Wu, Q. 2023. Evaluating Tartary Buckwheat Genotypes with High Callus Induction Rates and the Transcriptomic Profiling during Callus Formation. *Plants*, 12(21), 3663. <https://doi.org/10.3390/plants12213663>