

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**KARALAHANA (*Brassica oleracea* var. *acephala*)’NİN FARKLI
EKSPLANT KAYNAKLARI KULLANILARAK *İN VİTRO* UYUM
YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ**

İzel ARAS

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NİSAN 2025
ANTALYA**

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**KARALAHANA (*Brassica oleracea* var. *acephala*)’NİN FARKLI
EKSPLANT KAYNAKLARI KULLANILARAK *İN VİTRO* UYUM
YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ**

İzel ARAS

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NİSAN 2025
ANTALYA**

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARALAHANA (*Brassica oleracea* var. *acephala*)’NİN FARKLI
EKSPLANT KAYNAKLARI KULLANILARAK *İN VİTRO* UYUM
YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ**

İzel ARAS

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NİSAN 2025

ANTALYA

T.C.

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARALAHANA (*Brassica oleracea* var. *acephala*)’NİN FARKLI
EKSPLANT KAYNAKLARI KULLANILARAK *İN VİTRO* UYUM
YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ**

İzel ARAS

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 30/04/2025 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Hüseyin UYSAL (Danışman)

Prof. Dr. Faik KANTAR

Dr. Öğr. Üyesi Emine YURTERİ

ÖZET

KARALAHANA (*Brassica oleracea* var. *acephala*)'NİN FARKLI EKSPANT KAYNAKLARI KULLANILARAK *İN VİTRO* UYUM YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ

İzel ARAS

Yüksek Lisans Tezi, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr Hüseyin UYSAL

Nisan 2025; 60 sayfa

İn vitro mikro çoğaltımdaki temel amaç, uygun koşullar sağlanarak bitki hücrelerinin besin ortamında genetik özelliklerinin korunarak çoğaltılmasıdır. Bu çalışmada, farklı Karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*) genotiplerinin *in vitro* uyum yeteneklerini, en uygun eksplant kaynağını ve IAA (Indole-3-Acetic Acid) ve BAP (6-Benzyleamino purin) konsantrasyonlarını tespit etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Araştırmada Arhavi, Yusufeli ve Rize'den temin edilen toplamda üç farklı genotip kullanılmıştır. Eksplant kaynağı olarak Karalahana bitkisinin kök, sap, kotiledon ve sürgün ucu eksplantları kullanılmıştır. Araştırmada besi ortamı olarak kontrol MS besi ortamı (yalın) ve bu ortama ilave edilen BAP (0.5 ve 1.0 mg/lt), IAA (0.5 ve 1.0 mg/lt) ve BAP+IAA (1.0+0.5 mg/lt ve 1.0+0.1 mg/lt) hormon konsantrasyonlarından oluşan 7 farklı besi ortamı kullanılmıştır.

Araştırma sonucunda besi ortamlarına göre genel bir değerlendirme yapıldığında, Rize genotipi için en yüksek rejenerasyon 1.0 mg/lt IAA hormon içeren besi ortamından %126.4 oranında, en düşük rejenerasyon ise %32 oranında 0.5 mg/lt BAP hormonunu içeren besi ortamından elde edilmiştir. Yusufeli genotipinde ise en yüksek rejenerasyon %92 oranında yalın besi ortamında, en düşük ise 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA hormonlarının dengede olduğu besi ortamında %28.8 oranında gözlemlenmiştir. Arhavi genotipinde ise en iyi rejenerasyon 0.5 mg/lt IAA hormon içeren besi ortamda %107 oranında en düşük ise 0.5 mg/lt BAP içeren besi ortamında %57 oranında gözlemlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Doku kültürü, Hormon, *İn vitro* rejenerasyon, Karalahana.

JÜRİ: Doç. Dr. Hüseyin UYSAL

Prof. Dr. Faik KANTAR

Dr. Öğr. Üyesi Emine YURTERİ

ABSTRACT

DETERMINATION OF *IN VITRO* ADAPTATION ABILITIES OF KALE (*Brassica oleracea* var. *acephala*) USING DIFFERENT EXPLANT SOURCES

İzel ARAS

MSc Thesis in Agricultural Biotechnology

Supervisor: Doç. Dr. Hüseyin UYSAL

April 2025; 60 pages

The main purpose of *in vitro* micropropagation is to propagate plant cells in nutrient medium by providing suitable conditions and preserving their genetic properties. In this study, *in vitro* compatibility abilities of different Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) genotypes in explant sources and the most suitable explant source were carried out with IAA (Indole-3-Acetic Acid) and BAP (6-Benzyleamino purin) concentrations.

A total of three different genotypes obtained from Arhavi, Yusufeli and Rize were used in the research. Root, stem, cotyledon and shoot tip explants of Kale plant were used as explant sources. In the research, 7 different culture media consisting of control MS medium and BAP (0.5 and 1.0 mg/L), IAA (0.5 and 1.0 mg/L) and BAP+IAA (1.0+0.5 mg/L and 1.0+0.1 mg/L) hormone concentrations added to this medium were used.

As a result of the research, a general evaluation was made according to the culture media, for the Rize genotype the highest regeneration was 126.4% from the culture medium containing 1.0 mg/Lt IAA hormone, and the lowest regeneration was 32% from the culture medium containing 0.5 mg/Lt BAP hormone. In the Yusufeli genotype, the highest regeneration was 92% in the culture medium alone, and the lowest was 28.8% in the culture medium where 1.0 mg/Lt BAP + 1.0 mg/Lt IAA hormones were in balance. In the Arhavi genotype, the best regeneration was 107% in the culture medium containing 0.5 mg/Lt IAA hormone, and the lowest was 57% in the culture medium containing 0.5 mg/Lt BAP.

KEYWORDS: Hormone, *In vitro* regeneration, Kale, Tissue culture.

COMMITTEE: Assoc. Prof. Dr. Hüseyin UYSAL

Prof. Dr. Faik KANTAR

Asst. Prof. Dr. Emine YURTERİ

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmam süresince kendisi uzakta da olsa her aşamada bilgileriyle beni aydınlatan, yönlendiren, çalışmada kullanılan laboratuvar malzemelerinin temini konusunda yardımcı olan ve sonuçlarımın değerlendirilme aşamasında değerli katkılarını esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Hüseyin UYSAL'a, yine bilgilerilerini benden esirgemeyen, her aşamada bana yol gösteren, laboratuvar çalışmalarımı yürütebilmemi mümkün kılan ikinci danışman hocam sayın Prof. Dr. Fatih SEYİS'e teşekkür ederim. Her iki değerli hocama da anlayış, sabır ve destekleri için ayrıca sonsuz saygı, minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Arş. Gör. Haydar KÜPLEMEZ'e de dostça desteği ve doku kültürü alanında yol gösterici, öğretici olduğu için teşekkür ederim. Ayrıca istatistiksel değerlendirmedeki desteklerinden dolayı Doç. Dr. Mehmet TEKİN ve Doç. Dr. Samet ABACI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince bana yol gösteren bilgi ve tecrübelerini her zaman paylaşan lisans öğrenimimden bu yana her konuda yanımda olan canım arkadaşım Kübra ERKOÇ'a ve çalışmam boyunca aynı laboratuvarı paylaştığım bilgi ve desteğini benden hiç esirgemeyen sevgili arkadaşım Sümeyye Beyza BUÇAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Hayatımın temel taşları olan sevgili annem, babam ve kardeşim, her zaman koşulsuz sevgi, anlayış, maddi ve manevi destekleriyle yanımda oldular ve bana hep güvendiler. Hayatıma kattıkları değerler için sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Her zaman yanımda olan ve bana inanan, aldığım kararlar doğrultusunda benden hiçbir desteği esirgemeyen canım eşim Mustafa Berkan ARAS'a yoğun geçen çalışma günlerimde de gösterdiği sabır için ayrıca teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
AKADEMİK BEYAN	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Oksin	5
1.2. Sitokinin	5
2. KAYNAK TARAMASI	7
2. 1. Genel Bilgiler	7
2.1.1. Lahana Türleri.....	7
2.1.1.1. Kelle (baş) lahana:.....	7
2.1.1.2. Kantar lahana (Top lahana):.....	7
2.1.1.3. Brüksel lahanası (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>gemmifera</i>):	7
2.1.1.4. Karnabahar (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i>):	7
2.1.1.5. Kırmızılahana (Mor lahana, <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>):.....	7
2.1.1.6. Brokoli (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>italica</i>):	8
2.1.1.7. Karalahana (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>):	8
2.1.2. Karalahana eksplantlarının özellikleri;	9
2.1.2.1. Kök.....	9
2.1.2.2. Gövde	9
2.1.2.3. Yaprak ve Baş	9
2.1.2.4. Çiçek	9
2.1.2.5. Meyve ve Tohum	10
2.1.3. Karalahana Ekolojik Koşulları.....	10
2.1.3.1. İklim Koşulları	10
2.2. Doku Kültürü Tekniği ile Çoğaltım	12

2.3. Hormonlar	12
2.3.1. Oksin.....	12
2.3.1.1. Indolasetik Asit (IAA).....	13
2.3.2. Sitokinin.....	13
2.3.3. 6-Benzil Amino Pürin (BAP)	13
2.4. Doku Kültürünün Dört Aşaması.....	13
2.4.1. Yüzey Sterilizasyonu	13
2.4.2. Sürgünlerin Çoğaltılması	14
2.4.3. Köklenme.....	14
2.4.4. Dış Koşullara Ağıştırma	14
2.5. <i>Brassica</i> Cinsinde Yapılmış <i>İn vitro</i> Çalışmalar	14
3. MATERYAL VE METOT	17
3.1. MATERYAL.....	17
3.1.1. Bitki Materyali.....	17
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamı İçindekiler ve Hormon Konsantrasyonları	17
3.2. METOT	20
3.2.1. Yüzey Sterilizasyonu ve Tohum Çimlendirilmesi.....	20
3.2.2. Araştırma Kapsamında Kullanılan MS Besi Ortamının Hazırlanması.....	21
3.3. <i>İn vitro</i> Ortamda Alt Kültür Aşamaları	22
3.3.1. Köklerin Alt Kültürü.....	22
3.3.2. Sap Alt Kültürü.....	23
3.3.3. Kotiledon Alt Kültürü.....	24
3.3.4. Sürgün Ucu Alt Kültürü.....	24
3.3.5. Verilerin Toplanması ve Analizi.....	25
4. BULGULAR.....	26
4.1. <i>İn vitro</i> Ortamda Ekimi Yapılan Karalahana (<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>) Genotiplerinin Çimlenme Oranı	26
4.2. <i>İn vitro</i> Ortamda Çimlendirilen Rize Genotipine Ait Bitkilerin Kök, Sap, Kotiledon ve Sürgün Ucu Eksplantları İçin Rejenerasyon Sonuçları	26
4.3. <i>İn vitro</i> Ortamda Çimlendirilen Rize Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Eksplantları İçin Kallus Sayıları, Kallustan Sürgün Oluşum Sayıları ve Başarı Oranlarına (%) ilişkin veriler.	31

4.4. <i>İn vitro</i> Ortamda Çimlendirilen Yusufeli Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Kök, Sap, Kotiledon ve Sürgün Ucu Eksplantları İçin Rejenerasyon Sonuçları.....	32
4.5. <i>İn Vitro</i> Ortamda Çimlendirilen Yusufeli Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Eksplantları İçin Kallus Sayıları, Kallustan Sürgün Oluşum Sayıları ve Başarı Oranlarına (%) ilişkin veriler.	37
4.6. <i>İn Vitro</i> Ortamda Çimlendirilen Arhavi Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Kök, Sap, Kotiledon ve Sürgün Ucu Eksplantları İçin Rejenerasyon Sonuçları.....	38
4.7. <i>İn Vitro</i> Ortamda Çimlendirilen Arhavi Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Eksplantları İçin Kallus Sayıları, Kallustan Sürgün Oluşum Sayıları ve Başarı Oranlarına (%) ilişkin veriler.	42
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ	51
7. KAYNAKLAR	53
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum Karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*)’nın farklı eksplant kaynakları kullanılarak *in vitro* uyum yeteneklerinin belirlenmesi adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

30 /04/2025

İZEL ARAS

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

α -naftilasetik	: Alfa Naftilasetik
β -karoten	: Beta Karoten
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat Derece
cm	: Santimetre
g	: Gram
kg	: Kilogram
Lt	: Litre
μM	: Mikro Molar
m	: Metre
mg	: Miligram
mg/l	: Miligram/Litre
mg/L	: Miligram/Litre
ml	: Mililitre
mm	: Mililitre
N	: Normalite
pH	: Power of Hydrogen
%	: Yüzde

Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BAP	: 6-Benzil Amino Pürin
BBD	: Bitki büyüme düzenleyicileri

BOG GBO	: Besi Ortamlarına Göre Genel Başarı Oranı
CaCl.H ₂ O	: Kalsiyum Klorür Monohidrat
CoCl ₂ .6H ₂ O	: Kobalt (II) Klorür Heksahidrat
CuSO ₄ .5H ₂ O	: Bakır (II) Sülfat Pentahidrat
4-CPA	: Parakloro fenoksi asetik asit
DS	: Direkt Sürgün
DS BO	: Direkt Sürgün Başarı Oranı
ES	: Eksplant Sayısı
EtOH	: Ethanol
FAA	: Fenil asetik asit
FeSO ₄ .7H ₂ O	: Demir (II) sülfat heptahidrat
FOAA	: Fenoksi asetik asit
Genel BO	: Genel Başarı Oranı
HCl	: Hidroklorik asit
H ₃ BO ₃	: Borik Asit
IAA	: Indole Asetik Asit
IBA	: Indole Bütirik Asit
KI	: Potasyum İyodür
KNO ₃	: Potasyum Nitrat
KO	: Kök Oluşumu
KO BO	: Kök oluşumu Başarı Oranı
KaO	: Kallus Oluşumu
KSO	: Kallustan Sürgün Oluşumu
KaO BO	: Kallus Oluşumu Başarı Oranı

KSO BO	: Kallustan Sürgün Oluşumu Başarı Oranı
KH_2PO_4	: Potasyum dihidrojen fosfat
MS	: Murashige ve Skoog
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	: Mangan Sülfat
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	: Magnezyum sülfat heptahidrat
MÖ	: Milattan Önce
MS0	: Kontrol Ortamı
MS1	: 1. Ortam 0.5 mg/lt BAP
MS2	: 2. Ortam 1.0 mg/lt BAP
MS3	: 3. Ortam 0.5 mg/lt IAA
MS4	: 4. Ortam 1.0 mg/lt IAA
MS5	: 5. Ortam 1.0 mg/lt BAP+0.5 mg/lt IAA
MS6	: 6. Ortam 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	: Disodyumetilendiamintetra asetik asit
NAA	: Naftalen Asetik Asit
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	: Sodyum Molibdat
NaOH	: Sodyum hidroksit
NH_4NO_3	: Amonyum Nitrat
NOAA	: Naftoksi asetik asit
2,4,5-T	: 2,4,5-triklorofenoksi asetik asit
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurum
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
USA	: United States of America
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	: Çinko sülfat heptahidrat

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Karalahana bitkisinin genel görüntüsü	1
Şekil 2.1. <i>Brassica oleracea</i> türünün çeşitlenmesi	10
Şekil 3.1.a) pH metre; b) Otoklav; c) Manyetik ısıtıcı ve karıştırıcı; d) İklimlendirme ünitesi; e) Dijital mikropipet; f) Sterilizatör; g) Biyogüvenlik kabini	19
Şekil 3.2. a) Tohum sterilizasyon işlemi; b) Tohum ekme işlemi; c) Kurutmaya bırakılan tohumlar; d) Çimlenmeye bırakılan tohumlar; e) Bir haftada çimlenen tohum görüntüsü.....	21
Şekil 3.3. a) Yalın MS ortamları; b) Hormon ilave edilmiş besi ortamları	22
Şekil 3.4. Kök eksplant ekimine ait görüntü.....	23
Şekil 3.5. Sap eksplant ekimine ait görüntü.....	23
Şekil 3.6. Kotiledon eksplant ekimine ait görüntü.....	24
Şekil 3.7. Sürgün ucu eksplant ekimine ait görüntü	25
Şekil 4.1. a) Rize genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantından bir ay sonunda gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; b) Rize genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantından iki ay sonunda gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; c) Rize genotipine ait MS6 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; d) Rize genotipine ait MS2 ortamında sap eksplantında gözlemlenen kallus oluşumu; e) Rize genotipine ait MS4 ortamında sap eksplantında gözlemlenen kallustan sürgün, kallus, kök oluşumu; f) Rize genotipine ait MS4 ortamında sap eksplantında gözlemlenen kök oluşumu; g) Rize genotipine ait MS1 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün oluşumu; h) Rize genotipine ait yalın MS ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök oluşumu.....	28
Şekil 4.2. Rize genotipine ait kök eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	29
Şekil 4.3. Rize genotipine ait sap eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları.....	29
Şekil 4.4. Rize genotipine ait kotiledon eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	30
Şekil 4.5. Rize genotipine ait sürgün ucu eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	30
Şekil 4.6. a) Yusufeli genotipine ait MS4 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen kök oluşumu; b) Yusufeli genotipine ait yalın MS ortamına ait sap eksplantında gözlemlenen kallustan sürgün oluşumu; c) Yusufeli genotipine ait MS6 ortamına ait sap eksplantında gözlemlenen kallus oluşumu; d) Yusufeli genotipine ait MS5 ortamına ait sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kallus oluşumu; e) Yusufeli genotipine ait yalın MS ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök oluşumu.....	34
Şekil 4.7. Yusufeli genotipine ait kök eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	34
Şekil 4.8. Yusufeli genotipine ait sap eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	35

Şekil 4.9. Yusufeli genotipine ait kotiledon eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	35
Şekil 4.10. Yusufeli genotipine ait sürgün ucu eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	36
Şekil 4.11. a) Arhavi genotipine ait yalın MS ortamında kök eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kallus rejenerasyonu; b) Arhavi genotipine ait MS3 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; c) Arhavi genotipine ait MS4 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök rejenerasyonu; d) Arhavi genotipine ait MS1 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; e) Arhavi genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; f) Arhavi genotipine ait MS2 ortamında sap eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu;	40
Şekil 4.12. Arhavi genotipine ait kök eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	40
Şekil 4.13. Arhavi genotipine ait sap eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	41
Şekil 4.14. Arhavi genotipine ait kotiledon eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	41
Şekil 4.15. Arhavi genotipine ait sürgün ucu eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Ülkemizde <i>Brassica</i> cinsi sebzelerin 2020 yılından itibaren üretim miktarları	2
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan Murashige ve Skoog (MS) besi ortam içeriği	18
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan MS besi ortamına eklenen IAA ve BAP konsantrasyonları	18
Çizelge 4.1. <i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> genotiplerinin <i>in vitro</i> ortamda çimlenme oranları	26
<i>In vitro</i> ortamda çimlendirilen Rize genotipinin eksplantlarından elde edilen rejenerasyon başarı oranları Çizelge 4.2’de verilmiştir.	26
Çizelge 4.2. Rize genotipine ait eksplantların oluşturmuş olduğu direk sürgün, kök, kallus oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler;.....	26
Çizelge 4.3. Rize genotipinin eksplantlarına ait kallustan sürgün oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler.....	31
Çizelge 4.4. Yusufeli genotipine ait eksplantların oluşturmuş olduğu direk sürgün, kök, kallus oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler.....	33
Çizelge 4.5. Yusufeli genotipinin eksplantlarına ait kallustan sürgün oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler.....	37
Çizelge 4.6. Arhavi genotipine ait eksplantların oluşturmuş olduğu direk sürgün, kök, kallus oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler.....	38
Çizelge 4.7. Arhavi genotipinin eksplantlarına ait kallustan sürgün oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler.....	43
Çizelge 4.8. Besi ortamına ilişkin varyans analizi tablosu	44
Çizelge 4.9. Araştırmada kullanılan eksplant kaynaklarına ilişkin varyans analizi tablosu	45
Çizelge 4.10. Karalahana genotiplerine ilişkin varyans analizi tablosu	46

1. GİRİŞ

Tüketiciler gıdaların, açlık giderme ve besin ihtiyacını sağlamak açısından temel işlevleri yerine getirmesinin yanında beslenme ile ilişkilendirilebilecek, hastalıkların engellenmesi ve fiziki ya da zihinsel olarak insan sağlığına direk katkıda bulunabileceğine inanmaktadır. İnsan vücuduna genel fayda sağlayan, bazı hastalıkların riskini azaltıp bazılarının da tedavisinde kullanılan, bilimsel olarak kanıtlanmış gıdalar ‘fonksiyonel gıda’ olarak adlandırılmaktadır ve ilk defa otuz sene önce kullanılan bu kelime ilk kez Japonya ve dünya çapında onaylanmıştır.

Fonksiyonel gıdalar gitgide yaşanmakta olan dünya nüfusunun sağlık maliyetlerini düşürebilmenin yanında ticari açıdan da fayda sağlayabilecektir (Siró vd., 2008; Şamec vd., 2019). “Süper gıda” genel olarak dünya nüfusunda ‘gıda’ kelimesi yerine sık olarak kullanılan bir terimdir. ‘En sağlıklı gıdalar’ veya ‘Süper gıdalar’ listesinde bulunan sebzelerden biri ise ‘Lahana’dır (Şamec vd., 2019). Anavatanı Kuzey Avrupa ülkeleri ve Baltık Denizi kıyıları olarak kabul edilen lahananın denize yakın ve rutubetli olan tüm Avrupa kıyılarında geniş bir yayılım alanı vardır (Deveci & Tuğcu, 2017). *Brassica* (Lahana) cinsindeki diploid tür olan *Brassica oleracea* L. (*Brassicaceae*); karnabahar, brokoli, brüksel lahanası, karalahana gibi dünya çapında da yaygın şekilde yetiştirilen sebze mahsullerini içermektedir (Golicz vd., 2016). Çeşitlerinden özellikle Karalahana (*B.oleracea* var. *acephala*) yaprağı, diğer sebzelere nazaran çok daha iyi besin değerlerine sahip olduğu bilinmektedir (Dagnaw vd., 2023). Ayrıca bu cinslerin aksine baş oluşturmeyen yapraklarla karakterize edilir (Major vd., 2020). Şekil 1.1’de Karalahana bitkisinin genel görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 1.1. Karalahana bitkisinin genel görüntüsü

Karalahana (*B.oleracea* var. *acephala*); Avrupa, Asya ve Amerika’da önemli bir konuma sahiptir (Gonçalves vd., 2012). Bunun sebebi ise sağlıktan insan gıdasına, süs bitkisinden hayvan yemine kadar birçok alanda kullanılmasıdır (Gonçalves vd., 2012; Kuerban vd., 2017; Pipan vd., 2024; Thavarajah vd., 2016). Karalahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), soğuk iklim seven bir sebzedir. Üretimi, Karadeniz ve

Marmara Bölgesi'nde toplam üretimin %91'lik kısmını karşılamaktadır (Benli & Türkkan, 2020; TÜİK, 2019). Ülkemizdeki lahana grubu sebze üretimlerinin toplam miktarı 549.257 ton olup oranı %4.66 olarak belirlenmiştir. Karalahana güncel TÜİK verisi ise Türkiye bazında 719 ton ve oranı %30.40'tır (Kasim, 2023). TÜİK verilerine göre *Brassica* cinsi sebzelerin 2020 yılından itibaren üretim miktarları Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Ülkemizde *Brassica* cinsi sebzelerin 2020 yılından itibaren üretim miktarları

Ton cinsinden	Karalahana	Beyaz lahana	Kırmızı lahana	Brüksel lahana	Karnabahar	Brüksel lahanası
2020	56.100	594.143	198.516	2.889	216.334	95.057
2021	59.043	597.910	200.472	2.698	234.717	104.614
2022	56.791	666.959	238.363	2.183	239.857	106.792
2023	55.101	695.472	253.329	2.209	251.484	116.082

Silvertis Dilingen'e (1956) göre *Brassica oleracea* L. var. 'yabani lahana' olarak kabul edilmektedir. Dilingen, bu yabani formu kabul etmeden önceki süreçte 'yaprak lahana' şeklinde adlandırılan *Brassica oleracea* L. var. *acephala*'nın ortaya çıktığını ve bu yaprak lahanadan da dört alt varyetenin geliştiğini belirtmiştir. Çiçek, yaprak ve gövde değişimi sonucu 3 değişik grup belirlenmiştir. Brokoli ve karnabaharın oluşması; Çiçek sapı ve çiçek değişimi ile Brüksel lahanası oluşumu; Büyümenin kısıtlanması ve tepe-yan tomurcuk değişimi ile Alabaş oluşumu ise gövde değişimi ile meydana geldiği ileri sürülmektedir (Anonim 1:, 2008; Devenci & Tuğcu, 2017).

MÖ 2000'li yıllardan itibaren *Brassica oleracea* L. var. *acephala*'nın gıda ürünü olarak kullanıldığı düşünülmektedir. MÖ 350'de Theophrastus, bu sebzenin sovyed bir formunu tanımlamıştır ve çağlar boyunca da bu sebze dünyanın birçok yerine tanıtılmıştır (Nieuwhof, 1969). Yapraklarının taze kısımları insanların tüketmesi için uygundur. Halk arasında "laz lahanası" ve "azman lahanası" şeklinde yerel bir isme sahiptir (Balkaya & Yanmaz, 2005).

Karalahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), vitamin ve mineral açısından çok zengindir. Yapraklarında bulunan yeşil klorofil pigmentlerinde β -karoten bulunur fakat koyu yapraklı olanları daha fazla içermektedir. Askorbik asit (C vitamini) ve kalsiyum da içermektedir. K vitamini açısından zengin olup az miktarlarda da B ve A vitaminlerini içerir. İçerisinde çok az miktarda yağ ve sodyum da yer almaktadır (Alibas, 2009). Bu yüzden diyet besin olarak da oldukça revaçtadır. İnsanların günlük besin miktarının önemli bir kısmını zengin besin içeriği ile karşılayabilmektedir (Gündoğdu, 2005). Antioksidan ve fitokimyasal özelliğe de sahip olması sebebi ile Karalahana, kalp hastalığı ve çeşitli kanser türlerinin riskini de azaltmaktadır (Alibas & Okursoy, 2012).

Karalahananın botanik sınıflandırılması ise şu şekildedir;

Alem	Plantae (Bitkiler)
Bölüm	Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Takım	Brassicales
Sınıf	Magnoliopsida (İki çenekliler)
Familya	<i>Brassicaceae</i> (Turpgiller)
Cins	<i>Brassica</i>
Tür	<i>B. oleracea</i>
Kültür Grubu	<i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>acephala</i> (Şafak, 2011)

Türkiye’de farklı bölgelerin farklı iklimsel koşulları içermesi nedeni ile bütün iklimlerin bir arada görülmesi gibi karmaşık bir iklim yapısı vardır ve bu durum beraberinde küresel ısınmayla birlikte iklimin değişikliğinden en fazla etkilenecek ülkelerin başında gelmesine sebep olmaktadır. Üç tarafı denizlerle çevrili ülkemizin engebeli bir topografyası olması sebebi ile farklı bölgeler iklim değişikliğinden farklı boyutta etkilenmektedir. Örneğin, Güney Doğu ve İç Anadolu gibi kurak veya yarı kurak bölgeler, Ege veya Akdeniz gibi yarı nemli bölgeler sıcaklık artışından daha fazla etkilenmektedirler. Böylelikle su kaynağı bakımından önemli sorunlar meydana gelmektedir (Öztürk, 2002; Deveci & Tuğcu, 2017).

Brassica oleracea var. *acephala*’nın ise düşük sıcaklıklara karşı dirençli olduğu bilinmektedir (Ljubej vd., 2021). Soğuk stresine dirençli olsa da Karalahana, her bitki gibi biyotik ve abiyotik streslere maruz kalmaktadır. Bu sebepten dolayı daha dayanıklı ve verimli çeşitlerin geliştirilmesi lahanalar tarımı açısından önem arz etmektedir. Bu amaca yönelik olarak bu çalışmada Karalahana popülasyonlarında mikroçoğaltım ve somaklonal varyasyon oluşturmada kullanılabilecek doku kültürü tekniklerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır. Doku Kültürü; son zamanlarda tarım ve endüstride geniş bir uygulama alanı olan ve bitki ile ilgili sorunların çözüm merkezi haline gelmiş bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır. Temel olarak bu teknik, çok sayıda farklılaşmış hücreleri yetiştirerek yeni bitki meydana getirme sistemidir (Welsh, 1981). Yani bitki eksplantlarının küçük parçalar haline getirilerek steril şekilde gıda ortamlarında kültüre alma işlemi olarak bilinmektedir (Türkeç & Turan, 1992). Bu yöntem, 1902 yılında Alman Bilimler Akademisi’nden botanikçi Gottlieb Haberlandt tarafından tek hücre kültürü üzerine yapmış olduğu izlemler sonucunda, bitkilerin iyileştirilmesi amacı ile genetik değişkenliklerin oluşturulmasıyla ortaya çıkmıştır. Mikroçoğaltma tekniği genellikle bitki hücrelerinin, dokularının, organlarının ve bunların bileşenlerinin de *in vitro* olarak steril şartlarda kültüre alınması ve bunlardan yeni bitkilerin elde edilmesini kapsayan üretim sistemidir. Bu teknik sayesinde genç, hastalıksız, meristematik bitki parçaları eksplant şeklinde küçük parçalara ayrılabilir ve daha sonra bütün bitki haline getirilebilir. Bitki hücrelerinin totipotent ve rejeneratif özelliğinin olması sebebi ile bu yöntem kullanılabilmektedir. Bitki hücresinin bütün kopyası, tüm bitkiyi

temsil edecek genetik bilgi ve hücrel mekanizmaya sahiptir (Karakaş, 2023). Doku kültürü kullanımındaki avantajlar;

- Hızlı bir yayılım ve çoğaltıma imkân sunar
- Kontrollü çevre koşullarında gerçekleştirildiği için yıl boyunca çalışma/üretim yapılabilir,
- Bu teknik sayesinde klonlar istenilen şekilde tanımlanıp üretilir,
- Sekonder metabolitlerin üretimi gerçekleştirilebilir ve üretilen sekonder metabolitler üretim aşamasında standardize edilebilir,
- Haploid bitkiler üretilir ve kromozom katlaması ile %100 homozigot bitkilere çok daha kısa sürede ulaşılabilir,
- Doku kültürü teknikleri kullanılarak transgenik bitkiler elde edilebilir,
- Tehdit altındaki bitkilerin korunmasında *in vitro* tekniklerden yararlanılarak etkin bir koruma sağlanabilir (Bhojwani & Razdan, 1986).

Aslında doku kültürü ortamında gerçekleştirilen klonal çoğaltımda genetik olarak tek tip bitkilerin oluşması beklenir ancak kullanılan eksplant kaynağına, kimyasallara, alt kültür sayısına, vb. faktörlere bağlı olarak çeşitli varyasyonların ortaya çıkması söz konusu olabilmektedir (Bairu vd., 2011). Hedef varyasyon oluşturmak değilse de kültür esnasında karşılaşılan varyasyonların elde edilmesi, beklenilmeyen ve istenilmeyen bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır (Karp, 1994). Ancak bu olumsuz sonuçların aksine, genetik yapının iyileştirilmesindeki fayda da yeni varyantların meydana gelmesine bağlıdır (Dinçer vd., 2016).

Bitkiyi büyümesi için teşvik eden, onu düzenleyen, doku kültürü çalışmasında kullanılan bazı bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) mevcuttur. Bitkilerin oluşturmuş oldukları ya da bitkiye dışardan da çok az miktarda verilebilen bitkinin büyümesindeki düzeni sağlayan maddeler, bitkilerdeki fizyolojik olayları olumlu ya da olumsuz şekilde etkileyebilir. Bu maddeler hem bu oluşturmuş oldukları dokulara hem de diğer bitki kısımlarına taşınabilen organik maddelerdir. Bitkilerin büyümesini, gelişmesini düzenleyen bu maddeler hormonlar olarak adlandırılmaktadır. Bitkilerin büyümesinde etkili hormonlar şunlardır; Oksin, Sitokinin, Absisik Asit (ABA), Giberellin, Tuberonik Asit, Indol-Butirik Asit (IBA), Etilen Türevleri, Naftalen Asetik Asit (NAA), Brassionosteroidler, Salisilatlar. Bu hormonlar, bitkilerin doğal olarak barındırdığı ve konsantrasyonlarının çok az olduğu, büyüme düzeninin sağlanmasında görev alan organik bileşiklerdir (Kumlay & Eryiğit, 2011). Bitki büyüme düzenleyicileri ise bundan farklı olarak hem bu hormonları hem de sentetik kimyasalları kapsayan, bitkilerin büyümesini ve gelişmesini de kontrol eden bileşiklerdir. İkisi arasındaki asıl fark ise hormonlar bitkiler tarafından doğal şekilde üretilir, bitki büyüme düzenleyicileri ise hormonları da sentetik kimyasalları da içine almaktadır (Davies, 1995).

Bu çalışmada bitki büyüme düzenleyicisi olarak ‘Oksin ve Sitokinin’ grubu hormonlardan IAA (Indole-3-asetik asit) ve BAP (6-Benzyl amino pürin) hormonlarının etkisi araştırılmıştır. Bu hormonların tarımda kullanım amaçlarını şu şekilde sıralayabiliriz;

- Tohumların çimlenme gücünü arttırırlar,
- Soğuğa direnci arttırırlar,
- Bitkilerin hastalıklara ve zararlılara karşı dayanıklılığını arttırırlar,

- Doku kültüründe ise kök, yumru ve sürgün oluşumuna katkı sağlarlar (Budak vd., 1994; Kaynak & Ersoy, 1997; Kumlay & Eryiğit, 2011).

1.1. Oksin

Bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) arasındaki Oksin, tarımda kullanılan en eski hormonlardandır (Halloran & Kasım, 2002; Kumlay & Eryiğit, 2011). Oksin kullanımındaki asıl amaç, dokuların gelişmesi, hücre boyutunun uzaması, kök oluşumunun sağlanması, hücrenin genişlemesi ve bu sayede büyümesini sağlamaktır. Indol-3-asetik asit (IAA) ise en çok yaygın kullanılan oksin formudur (Grunewald vd., 2009; Kumlay & Eryiğit, 2011). IAA doğal olarak bulunan tek oksin formu olarak bilinmektedir. Genellikle bitkilerde tepeden aşağı doğru inerler. Tepe tomurcuklarında ve yapraklarda ortaya çıkmaktadırlar. Genellikle bitkilerin yaprak ucu, kök ucu, tomurcuğu ve koleoptil ucunda yani bitkilerin büyüdüğü uç kısımlarda görülmektedir. Oksinler ışığa oldukça duyarlıdır ve etkin dışı bırakılmaları sonucu hücre büyümesinde yavaşlamalar meydana gelir ve bitkiler tek taraflı ışıklandırıldığı için ışığa doğru yönelme olarak adlandırılan ‘fototropizm’ meydana gelmektedir. En yaygın bulunan oksin formları şunlardır; Indol bütirik asit (IBA), naftalen asetik asit (NAA), naftoksi asetik asit (NOAA), fenoksi asetik asit (FOAA), 2,4-D, fenil asetik asit (FAA), parakloro fenoksi asetik asit (4-CPA) ve 2,4,5-triklorofenoksi asetik asit (2,4,5-T)’lerdir (Kumlay & Eryiğit, 2011).

1.2. Sitokinin

Sitokininler diğer hormonlardan farklı olarak bitkilerde görüldüğü gibi hayvanlarda da bulunan ve kinin yapısında olan organik maddelerdir. Bitkilerde özellikle hücre bölünmeleri esnasında ortaya çıkmaktadırlar. Sitokininler, yapraklarda oluşan nükleaz ve proteaz oluşumunu engelleyerek protein yıkımını önlerler ve bu sayede yaşlanmayı geciktirdikleri düşünülmektedir. Pratik olarak uygulanması oksin kadar yaygın olmasa da doku kültürü ve bitki ıslahı çalışmalarında kullanılırlar. Oksin ve sitokinin doku kültürü çalışmalarında besin ortamlarına ilave edilen en önemli iki bileşiktir. Sitokininin oksinden farkı ise, oksin kök oluşumunu teşvik ederken sitokinin ise sürgün oluşumunu destekler. Oksin ve sitokinin ilişkisine bağlı kök ve sürgün oluşumu kontrol edilebilir. Sitokinin kullanım amaçlarından bir diğeri ise klorofil kaybını geciktirmede rol oynar (Kumlay & Eryiğit, 2011). Günümüze kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde Karalahana’ya ait geliştirilmiş etkin bir rejenerasyon protokolü bulunmamaktadır. Doku kültürü çalışmalarında bitkiye özgü etkin bir rejenerasyon protokolünün geliştirilmesi büyük önem arz etmektedir. Bu yönüyle bu çalışma son derece özgün bir çalışmadır ve çalışmamızda, doku kültürü tekniği ile Karalahana’nın kök, gövde, kotiledon ve sürgün ucu olmak üzere 4 farklı eksplant kullanılarak klonal çoğaltım yapılarak doku kültürü yatkınlıkları belirlenmiştir (Dinçer vd., 2016; Kayın & Turan, 2023).

Ayrıca çalışmada;

- Karalahanada *in vitro* rejenerasyon üzerine genotipin etkisi,
- Hangi eksplant kaynağının *in vitro* rejenerasyon üzerine ne oranda başarı ortaya koyduğu,

- Karalahanada *in vitro* rejenerasyon üzerine farklı hormonların etkisinin varlığı gibi soruların cevabı aranmıştır.

Karalahanaya özel olarak geliştirilmiş etkin bir rejenerasyon protokolü olmaması sebebi ile bu çalışmada elde edilen sonuçların bilimsel makale olarak yayınlanması sonucu Karalahanada etkin şekilde oluşan rejenerasyon protokolü bilim dünyasına ışık tutacaktır.



2. KAYNAK TARAMASI

2. 1. Genel Bilgiler

Lahana; Akdeniz çevresi ülkelerinde yıllık, iki yıllık ve çok yıllık olarak yetişen, sarı veya beyaz çiçekleri olan bir kış sebzesidir. Üretimine yaklaşık 2000 yıl önce başlanmıştır (Balkaya & Yanmaz, 2005). Aşırı sıcaklık veya kuraklık lahananın göbek bağlanmasını zorlaştırarak yapraklarını da sertleştirir. Bu yüzden soğuk, yağış alan, rutubetli ve sisli iklim sevmektedir. Genel olarak killi, serin, dip ve kuvvetli toprak ister ve azotlu gübreye ihtiyaç duymaktadır. Kışın dayanıklı olması, daha kolay göbek bağlanması ve tadının özgül olması açısından çok fazla potasyuma ihtiyaç duymaktadırlar. Birçok Avrupa ülkesinde yaygın olarak yetiştirilir (Anonim 2, 2004; Gündoğdu, 2005). Kış mevsimine oldukça dayanıklıdır (Kandemir vd., 2023). Bu sebzelerin kalori değeri oldukça düşüktür bu sebepten dolayı diyet besini olarak yaygın şekilde tercih edilmektedir. Farklı türleri bulunan lahana sebzelerinin besin değeri yüksek olan Ca, Mg, P, K ve Fe gibi elementleri içerdiği için çok fazla tüketilir (Farnham, 2000; Gündoğdu, 2005; Pennington, 1994). Lahana çeşitlerinden özellikle Karalahana'nın besin element içeriği açısından oldukça iyi bir kaynak olduğu bilinmektedir. Ca alımı açısından da süttan daha fazla olduğu bilinmektedir (Heaney & Weaver, 1990; Gündoğdu, 2005).

Lahananın faydaları, β -karoten açısından zengin olan lahana yüksek fosfat da içermesinden dolayı hamile kadınlar için faydalı bir besin kaynağıdır. Bunun yanında anemi hastaları için demirle beraber A, B1, B2, B12, C ve E vitamin içeriği de oldukça yüksektir. Yalnızca lahana çeşitlerinde bulunan 'U' vitamini mide ve bağırsaklardaki yaraların iyileşmesine yardımcı bulunur. Lahana tohumlarından ise kolza (kanola) yağı elde edilmektedir.

2.1.1. Lahana Türleri

Lahana türlerini şu şekilde sıralayabiliriz;

2.1.1.1. Kelle (baş) lahana: En çok yetiştirilen çeşittir ve 1 baş yaklaşık 2-6 kg ağırlığındadır (Anonim 2, 2004; Gündoğdu, 2005).

2.1.1.2. Kantar lahana (Top lahana): Yaklaşık 15-30 kg ağırlığında gelen Top lahana, Orta, Güney ve Güneydoğu Anadolu'nun bazı yerlerinde yetiştirilmektedir (Anonim 2, 2004; Gündoğdu, 2005).

2.1.1.3. Brüksel lahanası (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*): Uzun gövdesinin dibinde, fındık veya ceviz büyüklüğünde göbek bağlamış yumrular şeklinde ifade edilmektedir (Anonim 2, 2004; Gündoğdu, 2005).

2.1.1.4. Karnabahar (*Brassica oleracea* var. *botrytis*): Lahananın yapraklarından faydalanıldığı gibi Karnabaharında çiçeklerinde faydalanılmaktadır (Anonim 2, 2004; Gündoğdu, 2005).

2.1.1.5. Kırmızilahana (Mor lahana, *Brassica oleracea* var. *capitata*): Normalde rengi mor/kırmızı olan bu lahana türü pişirilince rengi maviye dönmektedir. Rengi korunmak istenirse eğer sirke veya asitli bir meyve ile birleştirilmelidir (Önal, 2012).

2.1.1.6. Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*): Yüksek derecede E, A ve C vitaminlerini içerdiği bilinen brokoli sebzesi, antioksidan özellikte taşımaktadır (Sarıkamış, 2011).

2.1.1.7. Karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*): Göbek bağlamayan, yaprakları lezzetli ve genellikle Karadeniz sahilinde yaygın olarak yetiştirilen bir cinstir (Anonim 2, 2004; Gündoğdu, 2005).

Bu lahana cinsleri içerisinde çalışmada kullanılacak lahana varyetesi Karalahana'dır.

Karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*), yüzyıllardır yetiştirilen ve birden fazla klasik yemekte kullanılan bu bitki Amerika'da 2010 yılından sonra önemli hale gelmiştir. Karalahana hem Türkiye'de hem de diğer ülkelerde en çok tüketilen sebzelerden biridir. Bu bitki, Avrupa'nın güneybatı kesimlerinde eski çağlardan beri yetişen yabani lahanadan (*Brassica oleracea*) kendi kendine türemiştir (Balkaya vd., 2003; Yıldız, 2015). Diğer *Brassica* türlerinde gövde, tomurcuk ve çiçeklenme kısmından faydalanılırken Karalahana, ABD'deki hem organik hem de geleneksel yetiştirme sistemlerinden yaprakları için faydalanılmaktadır (Reda vd., 2021). İklim değişikliğine toleranslı olduğu için çiftçiler arasında da popüler bir sebzedir. *Brassica* cinsi sebzeler, yıllardır bilimsel olarak ilgi altındadır çünkü bazı kanser türlerine ve kronik rahatsızlıklara iyi geldiği kanıtlanmıştır (Şamec vd., 2018).

Karalahana genel olarak 'Borecole' şeklinde adlandırılmaktadır. İlk başlarda Yunan ve Romalılar'ın tüm lahana ve lahana benzeri sebzelere kullandıkları İskoç kelimesi olan 'coles' veya 'caulis' şeklinde bir terim geliştirdikleri bilinmektedir. Bu terimler Almancada 'kohl' kelimesi ile aynı kökene sahiptir. İngilizcede ise 'cole' kelimesi tüm yetiştirilen *B. oleracea* çeşitlerini ifade etmektedir. Karalahana birçok farklı toprakta yetişebilmektedir fakat üretimi için en ideal toprak nötr (pH 6-6.5) derin, su ve hava açısından uygun topraklardan sağlanabilmektedir (Şamec vd., 2018).

Ekonomik olarak dünyada en önemli 10 bitki ailesinden biri olan *Brassicaceae* familyası üyelerinin çoğu dünya genelinde dağılım gösteren Kuzey ılıman kuşakta bulunan 380 cins ve 3700 tür ile belirlenen en büyük Angiosperm ailelerinden biridir (Warwick, 1994; de Freitas-Silva vd., 2016; Çömlekçioğlu & Kutlu, 2018). Türkiye'de ise *Brassicaceae* (*Cruciferae*) familyasından 85 cins ve yaklaşık 567 takson bulunmaktadır. İçeriğinde bulunan vücut için de oldukça faydalı olan biyoaktif maddeler (vitaminler, fenolikler, mineraller), içerik ve bileşim bakımından çevresel koşullara, türlere ve yapılan bakıma göre değişmektedir (Hagen vd., 2009; Ferioli vd., 2013; Çömlekçioğlu & Kutlu, 2018). Karalahana Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yaygın şekilde yetiştirilen ve yaprakları geleneksel yemeklerin yapımında kullanılan bir bitkidir. Diğer yandan *B. oleracea* L.'nin kolza tohumunun diploid ebeveynlerinden biri olduğu bilinmektedir. *Brassica oleracea* gurubu birçok çapraz uyumlu 10 tür ve 3 alt tür içermektedir (Von Bothmer vd., 1995; Seyis vd., 2014). Kromozom sayısı evrimsel olarak $2n=18$ olarak belirlenmiştir. Karalahananın en yumuşak kısmını çiftçiler genellikle çiftlik hayvanlarına yem olarak vermektedir (Seyis vd., 2014). Karalahana türündeki bitkiler için genellikle tohumdan üretim yapılmaktadır ve üretim zamanı yaz sonu veya sonbahar başında ekim gerçekleştirilir (Şamec vd., 2018).

2.1.2. Karalahana eksplantlarının özellikleri;

2.1.2.1. Kök

Karalahana kazık köklü etli, kalın ve koniktir. Çevresinde çokça saçak kök bulunmaktadır. Saçak kökler yeterince büyüyünce kazık kök büyümesi durur. Kazık kök kırılacağı için, fide ile yapılan yetiştirmede fazla derine gidemez. Köklerin yüzde 60'ı toprağın 20 ila 40 cm derininde bulunmaktadır. %20'ye yakını 100 ila 120 cm ve %5'i 120 cm'den daha derine gidebilir. Lahanalarda kök oluşumu oldukça kolaydır. Gövde kısmı toprakla birleştiğinde yan kökler ortaya çıkmaktadır (Oraman, 1970; Yıldız, 2015)

2.1.2.2. Gövde

Türün özelliğine göre lahana cinslerinde yapraklar gövdeye uzun veya kısa saplarla bağlanmaktadır. Yaşlanmış yapraklar, alt kısımdan kopmaya başlayıp döküldüğünde gövde üzerinde iz bırakmaktadırlar. Lahana çeşitlerinin gövdesi genel olarak kalın ve kuvvetli bir yapıya sahiptir. Eskiden otsu yapıda olan gövdenin başlangıçta gelişme döneminde gövde dokularında bitki büyüme ucundan aşağıya doğru kalınlaşma başlamaktadır. Lahanalarda gövde kalınlığı ortalama olarak 5 ila 10 cm, gövde uzunluğu ise 30 ila 40 cm'dir (Orhun & Arin, 2008).

2.1.2.3. Yaprak ve Baş

Yaprakları şekil, renk, büyüklük, düz veya kıvrıkcılık bakımından çeşitlere göre farklılıklar göstermektedir. Yaprak şekilleri ise yassı – yuvarlak, uzun, yuvarlak, oval, ters yumurta, topaç ve kalp şeklindedir. Başlangıçta yapraklar yana açılır, daha sonra iç içe katlanarak baş şekline döner. Yaprakların genişliği ise 10 ila 15 cm ve 60 ila 70 cm arasında değişmektedir. Yaprakların büyüklüğüne göre başların çapı 20 ila 30 cm'den 70 ila 80 cm'ye kadar değişebilmektedir. Renkleri ise beyaza dönük – yeşil, maviye dönük koyu yeşil ve koyu kırmızıya kadar değişmektedir. Ayrıca yaprakların üzeri koyu bir mum tabakasıyla örtülüdür (Dillingen, 1956; Yıldız, 2015).

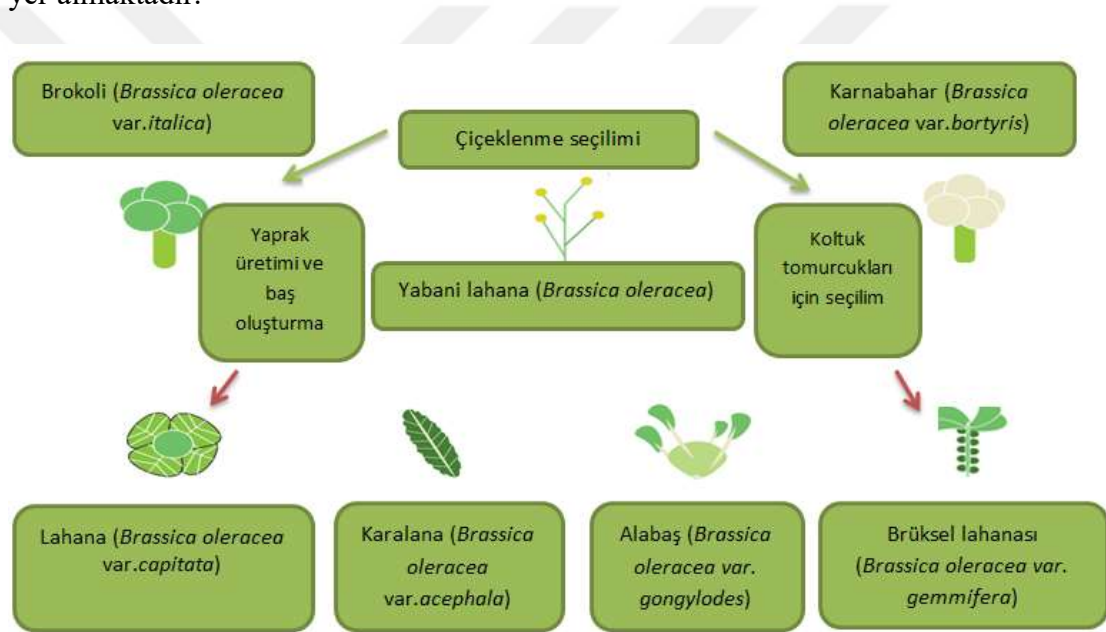
2.1.2.4. Çiçek

Karalahana sebzesi ikinci yılda çiçeklenmeye başlamaktadır. Yaprak koltuklarından çıkmış olan çiçeklerin sürgünleri üzerinde çiçek salkımları meydana gelmektedir. Hava koşulları kötü olduğu zaman bitkiler çiçeklenemez ve dinlenmeye geçerler. Çiçeklenmiş bitkiler üzerinde çiçek sürgünlerinin boyutları 1 ila 2 m arasında değişmektedir. Alt kısımda açmaya başlayan çiçekler bakla oluştururken üstteki çiçekler henüz tomurcuk evresindedir. Çiçeklenme aşamasının sonuna doğru uç kısımlardaki çiçekler gelişmemektedir ancak gelişip açsalar bile tohum oluşturmamaktadırlar. Çiçeklenme süresi, ortalama iklim değişmesi de göz önünde bulundurulduğunda 20-60 gün arasında değişmektedir. Lahana grubu sebzeler 4 çanak, 4 taç yaprak, 6 erkek organ ve 2 karpelli bir dişi organdan oluşmaktadır. Çanak yaprakların rengi genellikle yeşil renktedir, taç yaprakların rengi ise açık sarı veya parlak sarı renktedir. Ayrıca bu yaprakların üst kısmı geniş, alt kısmı daralmış ve sap oluşmuştur. Yumurtalık ile taç yaprak arasında erkek organ bulunmaktadır. Dişiciğin uç kısmında düğme benzeri bir tepelik bulunmaktadır. İlk başta içeri kısma bakan polen keseleri açılırken tepelik, dış kısma doğru döner ve polen tozları da dışarıya doğru dökülür. Böylece lahanalarda

yabancı dölleme meydana gelmektedir. Genellikle erkek organlar dişi organlardan daha geç olgunlaşmaktadır (Yıldız, 2015).

2.1.2.5. Meyve ve Tohum

Tohumların olgunlaştığı, kapsüldeki çatlamadan ve rengin koyu sarıya dönüşmesinden anlaşılmaktadır. Çiçeklenme başlamadan 3 ila 4 hafta sonra bakla içinde tohumlar oluşmaya başlamaktadır ve ortalama 10 ila 30 arası tohum oluşur. Olgunlaşan tohumlar sap kısmında uç kısma doğru açılmaktadır. Tohum hasadı, tohumların dökülmemesi için kapsüller açılmadan yapılır. Tohumların olgunlaştığı renginden anlaşılmaktadır. Olgunlaşmayan tohumlar açık sarı ve kahverengi renkte görülürken, olgunlaşmış tohumlar ise mor, kırmızı ve kahverengi şeklinde görülmektedir. Tohumların çimlenme gücü yüzde 90 ila 95 olmalıdır. Çimlenme sıcaklığı 13 ila 33 °C iken optimum sıcaklık 20 ila 25 °C arasındadır (Bayraktar & Günay, 1996). Şekil 2.1’de *Brassica oleracea* türünün çeşitlenmesi (Reda vd., 2021)’den değiştirilerek oluşturulmuş çizim yer almaktadır.



Şekil 2.1. *Brassica oleracea* türünün çeşitlenmesi

2.1.3. Karalahana Ekolojik Koşulları

2.1.3.1. İklim Koşulları

Karalahana yetiştirmede iklim şartları açısından sıcaklık oldukça (Miller, 1929; Yıldız, 2015) bilhassa çiçeklenme ve çimlenme evresinde daha fazla önem arz etmektedir. Fakat yüksek sıcaklıklar, karalahanada sebze olarak değerlendirilen yaprakların kalitesini bozmaktadır. Lahanalarda baş oluşması için en uygun sıcaklık 15 ila 20 °C arasındadır. Yaz aylarının sonuna doğru yani sonbahar döneminde sıcaklığın düşmesi sebebi ile daha kaliteli baş oluşumu gerçekleşmektedir (Oraman ve Günay, 1970; Yıldız, 2015). Çiçeklenme için de ortalama 10 °C'nin altı sıcaklığa ihtiyaç

duymaktadırlar. Türkiye’de yapılan çalışmalarda sıcaklığın 15 °C’yi izlediği durumlarda bitkinin çiçeğe kalkmadığı gözlemlenmiştir. Sıcaklık ortalama 10 °C de ise bitkiler 5 ila 7 hafta sonunda generatif döneme geçer ve çiçeklenirler. Sıcaklık ortalama 7 °C ise süre kısalmır ve bitkiler 4 hafta içinde çiçeklenirler (Oraman ve Günay, 1970; Yıldız, 2015). Genel olarak lahanaların fazla ışık sevdiği bilinmektedir (Lizgunova, 1961; Yıldız, 2015). Lahanalar genel olarak yağış sevmektedir (Günay, 2000; Yıldız, 2015). Nem oranı yüksek, deniz ve göl kenarı yaylalarda oldukça iyi yetişmektedir (Bayraktar & Günay, 1996). Bu sebze için belirlenen optimum pH 6.0 ila 6.5 arasında olmalıdır. Tuza toleranslı bir bitki olarak bilinir (Yıldız, 2015). Fakat karalahana; böcek, solucan, tırtıl ve kurtçuklara karşı yeterince hassasiyet göstermektedir. Adı gibi bilinen ‘lahana solucanı’ en zarar veren haşere olarak bilinmektedir (Gündoğdu, 2005).

Bitkisel üretimde stres iki kısma ayrılmaktadır. Birinci stres faktörü olan abiyotik stres; tuzluluk, kuraklık, düşük-yüksek sıcaklık, besin elementlerinin eksik-fazla olması, hava kirliliği gibi sıralanırken ikinci stres faktörü olan biyotik stres ise; hastalığa sebep olan mantar, bakteri ve virüs gibi faktörler nedeniyle bitkinin büyümesi ve gelişmesindeki değişikliklere, bunlara bağlı olarak gelişen verim düşüklüğüne sebep olur (Kuşvuran, 2010; Yıldız, 2015).

Bu sıkıntılardan kurtulup tarım sürdürülebilirliğini sağlamak, biyotik ve abiyotik stres şartlarına dayanıklı bitkiler yetiştirmek oldukça önem arz etmektedir. Böyle durumlarda ‘Bitki Doku Kültürü’ alanından faydalanılmaktadır (Kayın & Turan, 2023).

Mikroorganizmalardan arındırılmış steril bir yapay besi ortamında bitki, doku, hücre veya organ benzeri bitki eksplantları kullanılarak tamamen yeni bitki eksplantı üretilmesi olayına ‘Bitki Doku Kültürü’ denir. Bu yöntem ‘Mikro üretim’ veya ‘Aseptik kültür’ olarak da bilinmektedir (Gönülşen, 1987; Erdem & Uysal, 2021). Bu alanda ilk defa 1902 yılında çalışma yapılmıştır ve ileriki yıllarda yaygınlaşmıştır. Bitki doku kültürü tekniği, bitki biyoteknolojisinin önemli bir alanıdır ve bu teknikle steril şartlar altında geliştirilmiş besi ortamında çalışılarak *in vitro* ortamda bir veya birden çok hücreden bütün bir bitki oluşturulabilmektedir (Oktem & Yucel, 2012; Erdem & Uysal, 2021).

Bitki biyoteknolojisinde asıl amaç, ıslah sürecinin kısaltılarak hızlı ve geniş varyasyon sağlanarak verim ve kalitede artış sağlamaktır (Uysal vd., 2021). Ayrıca hastalık oluşturabilecek faktörlerden korunmuş bitki elde edilmesi, bitki gen kaynaklarının muhafazası, haploid bitki üretimi ve zorluk yaşanan klasik bitki çoğaltma işlemlerinin daha pratik hale gelmesi gibi amaçları da bulunmaktadır (Tekin, 2015; Erdem & Uysal, 2021). Ayrıca bitki eksplantının bir parçasından binlerce bitki üretilebilir (Singh & Kumar, 2020; Kayın & Turan, 2023). Bu amaçlar doğrultusunda bitkiler bitki doku kültürü yöntemi ile birlikte kuraklık, soğukluk, tuzluluk vb. canlı olmayan stres faktörleri sınıfına giren abiyotik stres faktörlerinden ve bakteri, virüs vb. gibi canlı stres faktörleri sınıfına giren biyotik stres faktörlerinden de korunmaktadır (Arvas & Kocaçalışkan, 2020; Erdem & Uysal, 2021).

Daha önceki çalışmalarda bu teknik ile seçilmiş genotiplerden abiyotik ve biyotik stres faktörlerine karşı dirençli bireylerin ortaya çıktığı bilinmektedir. Çalışmamızda doku kültürü tekniği ile Karalahana’nın kök, gövde, kotiledon ve sürgün ucu olmak üzere

4 farklı eksplanttan klonal çoğaltım ile doku kültürüne yatkınlıklarının belirlenmesi sağlanmıştır (Dinçer vd., 2016).

2.2. Doku Kültürü Tekniği ile Çoğaltım

Doku kültüründe amaç, bitkinin çeşitli kısımları minimal hale getirildikten sonra steril ortamda kültüre alınarak çok sayıda farklılaşmış hücre meydana getirmektir (Reda vd., 2021). Bu teknik, araştırma tekniği olmasının dışında bitki çoğaltım işlemi, bitki iyileştirme, kaliteli ekonomik üretim gibi birçok avantaj sağlamaktadır (Tefera, 2019; Kayın & Turan, 2023). Bu yöntemle bitki eksplantının bir parçasından çok sayıda bitki üretilmektedir (Singh & Kumar, 2020; Kayın & Turan, 2023).

Yani doku kültürü ile *in vitro* çalışmaların avantajı hızlı üretim, hastalıktan korunan bitkiler, çevre koşullarından etkilenmeden sağlanan üretimdir ve bu üretimde de yaygın olarak kullanılan bazı bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) mevcuttur.

2.3. Hormonlar

Bitkilerde genelde doğal biçimde sentezlenen ve bitkilerdeki fizyolojik olayları kontrol altına alan, her nerede meydana geldiyse bitkinin diğer bölümlerine de taşınan ve orada da etkili rol oynayan organik moleküllere bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) ya da hormon adı verilmektedir (Öktüren & Sönmez, 2005; Algül vd., 2016). Yaşanan fizyolojik olayların çoğunun denetimini bitki büyüme düzenleyicileri sağlamaktadır. BBD'leri sentetik ve doğal olmak üzere iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Bu hormonlardan sentetik olanları, kimya endüstrisinin değişik yapıdaki ilerletmiş oldukları maddelerken, doğal olanları ise bitkiler tarafından sentezlenmektedir. Bu iki hormon sınıfı birbirlerine benzer etki gösterirler fakat sentetik hormonlar bazen daha fazla etki göstermektedir (Çetin, 2002; Algül vd., 2016). Hormonlar bitkisel üretimde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de yapılan bir araştırmaya göre tarım sektöründe üreticilerin %96'sının hormon kullandığı ortaya çıkmıştır (Babaoğlu, 2002; Algül vd., 2016).

Bitki büyüme düzenleyicileri'nin kullanım amaçları; Doku kültürü çalışmalarında, köklenme, sürgün ve yumru oluşması gibi bitki gelişimi ve büyümesine destek olmak ve yönlendirmek (Budak vd., 1994; Kaynak & Ersoy, 1997; Kumlay & Eryiğit, 2011), bitkilerin zararlılara ve hastalıklara karşı dayanıklılığını arttırmak, soğuğa dayanıklılığı arttırmak, meyvelerde tohum oluşumunu arttırmak şeklinde sıralanabilir.

Bitki büyüme düzenleyiciler birkaç grup altında sıralanmıştır: Büyümeyi teşvik edici hormonlar; Oksin, Sitokinin, Giberellinler. Büyümeyi engelleyici hormonlar; Absisik Asit (dorminler). Olgunlaştırıcı hormon; Etilen (Algül vd., 2016).

Bu çalışmada, *in vitro* köklendirme ve büyüme işlemleri için ele alınacak hormonlar 'Oksin' ve 'Sitokinin'dir. Bu terimleri biraz açmak gerekirse;

2.3.1. Oksin

Büyüme düzenleyicileri arasından ilk ortaya çıkmış olup tarımda uzun yıllardır kullanılmaktadır. Kullanım amacı ise, hücrelerin uzayıp bölünmelerini arttırarak

büyümeye katkıda bulunmaktadır. Bu hormonlar, yukarı kısımdan aşağı kısma doğru taşınır ve tepe tomurcukları, çiçekler gibi dokularda sentezlenen tek hormondur. Çalışmamızda besi ortamına Oksin hormonunun Indol grubundan olan Indol -3-asetik asit (IAA) eklenmiştir (Algül vd., 2016).

2.3.1.1. Indolasetik Asit (IAA)

Bitkilerin sentezlediği hormon olan oksinin en yaygın formu Indol-3-asetik asit (IAA) şeklindedir (Grunewald vd., 2009; Kumlay & Eryiğit, 2011). Doğal olarak bulunan tek hormon olarak bilinmektedir. Bitkide yukarıdan aşağı doğru inerek en çok tepe tomurcuğu ve yapraklarda meydana gelmektedir. IAA, bitkide en çok tomurcuk, yaprak, koleoptil ucu ve kök kısmının uçlarında yer almaktadır (Seçer, 1989; Kumlay & Eryiğit, 2011).

2.3.2. Sitokinin

Hücre bölünmesi aktif olarak gerçekleşen bütün dokularda çok fazla miktarda sitokinin bulunmaktadır. İsminden de anlaşıldığı gibi görevi, ‘cytokinesis’ yani hücre bölünmesi ve organların farklılaşması rolünü oynarlar (Çetin, 2002; Algül vd., 2016). Özellikle kök kısmından bitkinin yeşil kısımlarına taşınmaktadır. Oksinlerin görevi kök oluşumunu sağlarken, sitokininler sürgün oluşumunu sağlarlar. Doku kültürü kullanımındaki amacı ise organların oluşumu ve gelişimine katkı sağlamaktadır (Güleryüz, 1982; Kumlay & Eryiğit, 2011; Algül vd., 2016). Çalışmamızda kullanılacak hormon, 6-Benzil Amino Pürin (BAP) hormonudur (Algül vd., 2016).

2.3.3. 6-Benzil Amino Pürin (BAP)

Sitokininler arasında en fazla kullanılan hormon 6-Benzil Amino Pürin (BAP)’ tır. Bitki doku kültürlerinde tomurcukların ve sürgünlerin çoğaltılmasını teşvik etmektedir. Ayrıca hücrelerin hızlı bir şekilde çoğalması amacıyla da kullanılmaktadır. Yaşlanmayı geciktirirler ve yaprakların dökülmesini de engellemektedirler (Koç, 2015)

Doku kültürü tekniğinde, bitkiden izole edilmiş eksplant parçası yapay besi ortamında sonsuza kadar yaşayabilme potansiyeline sahiptir.

Bazen hücre ve dokulardan, kallus olarak bilinen farklılaşmamış hücre toplulukları gelişmektedir. Yani ekonomik önemi olan çoğu bitkinin klonal olarak çoğaltılmasında başarılı şekilde kullanıldığı bilinmektedir.

2.4. Doku Kültürünün Dört Aşaması

2.4.1. Yüzey Sterilizasyonu

Bu adımdaki amaç, eksplantların yüzeyine bulaşmış kalıntıların temizlenmesidir. Bu yüzden bitki parçalarına yüzey sterilizasyonu uygulanmaktadır. Bu kısımda büyümenin miktarı önemsenmeksizin diğer aşamalarda kullanılabilecek steril ve enfeksiyon oluşmamış rejenere bitkiler elde etmektir. Bu kısımda elde edilen kültürler periyodik ışık altında inkübe edilmektedir.

2.4.2. Sürgünlerin Çoğaltılması

Bu adımda elde edilen bitkilerin kaç tane olduğu belirlendiği için en önemli kısımdır. Bu kısımda elde edilmesi istenen sayıya ulaşabilmek için alt kültür ve yeniden kültür uygulanarak sürgünler çoğaltılmaktadır. Oluşturulan besi ortamı, fiziksel durum, kimyasal içerik ve inkübasyon koşulu açısından sürgün çoğaltılması için çok önemlidir.

2.4.3. Köklenme

Daha önce üretilmiş olan sürgünler, yüksek miktarda oksin ve sitokinin içeren ortamlarda bitkilerin türüne göre farklı uzunluklarda kesilerek, bireysel şekilde köklendirilmektedir. Bu kısımda sağlam bir kök oluşturulur ve bütün bir bitki elde edilir.

2.4.4. Dış Koşullara Aıştırma

Laboratuvar ortamında üretilmiş bitkiler doğrudan dış ortama aktarılmalılardır çünkü fazla miktarda su kaybederek çoğu ölmektedir. Bu sebepten dolayı *in vitro* ortamlarda rejenerasyon sonucu elde edilen bitkiler aşırtılarak kademeli şekilde doğal gelişme ortamına aktarmalıdır. Aşırtma yapılmayan bitkiler hemen öleceği için laboratuvar ortamında üretilmiş bitkiler toprağa transfer edilmeden önceki aşamada kutikulanın gelişmesi ve stoma fonksiyonlarının da başlayabilmesi açısından aşırtılmalıdır. Bu sebepten dolayı bu kısımda toprak, ışık, sulama ve sıcaklık ile ilgili koşulların sağlanması gerekmektedir. Kültür yolu ile çoğaltılacak bitkiler için bazı özelliklerin belirlenmesi gereklidir:

- Eksplantların kaynağının ne olduğu,
- Besi ortamının içeriği ve fiziksel koşulları,
- Alınan ışığın yoğunluğu, sıcaklık ve nemlilik oranı,
- Aşıma koşulları ve toprağa aktarma parametreleri belirlenmelidir (Onay vd., 2012).

2.5. Brassica Cinsinde Yapılmış *İn vitro* Çalışmalar

Bir çalışmada, *Brassica napus* L.'nin eksplantlarından boğum aralarından izole edilmiş ince hücre tabakalarından morfogenezi etkileyen faktörleri açıklamışlardır. *Brassica napus* L.'yi Murashige ve Skoog (MS) ortamında kültürlenmişlerdir. Sürgün organoenez indüksiyonunda ise oksin ve sitokinin hormonlarına gerek duyulmuştur. 194 sitokinin çeşitinden test edilen 6 oksinden sadece naftalen asetik asit (NAA) hormonu kullanıldığında sürgün tomurcuğunda etkili olduğu gözlemlenmiştir. Çiçek tomurcukları açmadan bitkilerden kesilen eksplantlarından en iyileri 3 veya 4 terminal boğum araları olduğu anlaşılmıştır. Test edilen 4 sitokininin hepsi 0.5 mg/lt NAA ile ilişkilendirildiğinde farklı frekanslarda organogenezi desteklediği görülmüştür. *B. napus*'un eksplantlarının ince hücre tabakalarının dört-beş günlük kültürden sonra önemli ölçüde genişlediği gözlemlenmiştir. Oksin ve sitokinin içermeyen MS ortamına aktarılan bitkiler, aktarıldıktan sonra yapraklı kısımlar normal sürgünlere dönüştüğü gözlemlenmiştir. Maximum sürgün rejenerasyonunun, %0.8-1.2 arasındaki agar konsantrasyonlarından elde edildiği görülmüştür. Tüm sürgünler bazal ortamda kolayca köklenmiştir ve olgunlaşıp tohum verdikten sonra seraya aktarımını sağlamışlardır (Klimaszewska & Keller, 1985).

Zhang vd., 2011'nin yaptıkları çalışmayla Çin lahanasının kotiledon kısmından güvenilir sürgün rejenerasyonu elde edebilmek için ideal koşullar incelenmiş ve 123 genotip test edilmiştir. Bunun sonucunda %0-95 arasında bir değişkenlik görülmüştür. Çalışmada sürgün rejenerasyonu sırasında etilen önemli bir rol oynamaktadır. Daha önceki çalışmalarda bazı çeşitlerde yüksek miktarda sürgün rejenerasyonunun elde edildiği fakat Çin lahanası bitki türünde uygun koşulların elde edilemediğinin bilindiği üzerinde durulmuştur. Bu yüzden, yaptıkları çalışmada, Çin lahanasının kotiledon kısmından verimli sürgün rejenerasyon elde etmeye çalışmışlardır. Bu çalışma yapılırken özellikle ortam koşulları ve etilen üretimi, bunun sürgün oluşumunda ne gibi bir etkisi olduğu araştırılmıştır.

Lahana ile ilgili yapılan farklı bir çalışmada lahananın üretimi ve bu üretimden elde edilen ürün kalitesinin bazı hastalık ve zararlılar nedeni ile kötü etkilendiği ve bu yüzden de lahanada bazı iyileştirmeler yapılması gerektiği düşüncesiyle bir çalışma yapılmıştır. Bu iyileştirmenin ise genetik transformasyon ile mümkün olduğunu söylemişlerdir. Eksplant olarak hipokotil ve kotiledon kullanılmıştır ve *in vitro* rejenerasyon için tekrar tekrar çalışılabilen bir protokol oluşturulmak istenilmiştir. Ayrıca bu çalışmada kullanılan hormonlar; IBA, IAA ve NAA'dır fakat aralarında kök indüksiyonu için en iyisinin IBA olduğu sonucuna varmışlardır. Sonuçta ise iyi bir şekilde gelişen köklerin, musluk suyu ile güzel bir şekilde yıkanıp *in vitro* ortamda yetiştirilen bitkiciklerin, toprak ve torf (2:1) içeren saksılara aktarılarak yavaş şekilde ortama alıştırıldığı ve yüzde 86'sının ise başarılı bir şekilde büyüdüğü tespit edilmiştir (Munshi vd., 2007).

Yapılan başka bir çalışmada, lahana kalitesinin bir takım zararlılara karşı duyarlı olması sebebi ile *Brassica oleracea* var. *capitata*'nın verimini arttırmak amacı ile doku kültürü ve transformasyon protokollerinin optimize edilmesini ve *Brassica oleracea* var.'ın 8 çeşidine ve hipokotil-kotiledon kısımlarının *in vitro* koşullar altında yenilenme olayını test etmişlerdir. Çalışılan tüm çeşitler için hipokotil eksplantının, kotiledon eksplantına göre kallus indüksiyonu ve organogenez için daha uygun olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, beş ortam türü arasından en etkili olan ortam MS-8.88 μ M 6-benziloaminopurin (BAP) – 0.53 μ M α -naftil asetik asit (NAA) birlikte kullanılması olduğunu tespit etmişlerdir. Bütün köklendirme ortamları yaklaşık on ila on beş gün sürmüştür ve en güçlü ve sağlam kök ortamı 5.37 μ M NAA içeren MS ortamı olduğu gözlemlenmiştir. Edinilen bilgilere göre, bu çeşitlerin hipokotil veya kotiledondan üretilmiş bitki kısımları kullanılarak *in vitro* rejenerasyonu ile ilişkili bir çalışma bulunmadığı için bu çalışma yapılmış. Sonuçta da serada %95 oranında bitkiciklerin oluşturulduğu ve yenilenen bitkiler arasında herhangi bir fenotipik varyasyon görülmediği, elde edilen bu bitki rejenerasyon protokolünün farklı *B. oleracea* var. çeşitleri için uygulanabileceği sonucuna da varmışlardır (Gerszberg vd., 2015).

Ravanfar vd., 2017 çalışmasında amaç, *Brassica*'da var olan faktörlerinin birçoğu, sürgünlerin çoğaltımında ve tekrar etmelerini sağlamada kritik rol oynadığı sonucuna varılmıştır. Ortam olarak ise bitki doku kültürlerinde yaygın kullanılan MS ortamı kullanılmıştır. Fakat içeriği bakımından tuz fazla miktarda bulunduğu için türlerin büyüme ve gelişmesi için ideal değildir. MS ortamı, tuz içeriği bakımından birçok bitkinin ideal besin maddesini sağlamaktadır (Vandemoortele vd., 1999; Ravanfar vd., 2017). Bitkilerde, sürgün oluşumunu etkileyen koşullar sıcaklık, nem ve ışık faktörleridir. Doku kültüründeki genetik transformasyon, farklı *Brassica* türlerinde transgenik

çeşitlerin geliştirilebilmesi açısından ticari olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, *Brassica* türlerinde verimliliğin artması ve sürgün oluşumunu etkileyen faktörler incelenmiştir. Ayrıca, mevcut faktörlerden birçoğu sürgünlerin yenilenmesinde ve rejenere sıklığını arttırmada kilit rol oynamakta olduğu sonucuna varılmıştır. Böylece yeni fenotiplere sahip bitkilerin farklı çalışmalara tabi tutulmasına ve sonuç olarak ticarileştirilmesine imkân sağlayacaktır (Ravanfar vd., 2017).

Brassica cinsi ile ilgili yapılan farklı bir çalışmada ise, lahananın sürgün uçlarının doku kültürü ile çoğaltma protokolünü geliştirmeyi amaçlamışlardır. Ayrıca çalışmada, *Brassica* sürgünlerinin normal olmayan gelişimleriyle ilgili sorunlar üzerinde de durulmuştur. Çalışmada değinilen en önemli nokta ise bir ortam bileşimi optimizasyonu yapılırken en kritik adımın bitki büyüme düzenleyicilerinin (BBD), bunun konsantrasyon ya da oranının belirlenmesi olduğu üzerinde durulmuştur. En önemli BBD gruplarının oksin ve sitokininler olduğu kanısına varılmıştır. Doku kültürü köklendirme adımında doğal bir hormon olan 1.0 mg/l ile Indol-3-asetik asit (IAA) ve sentetik 1-Naftalen asetik asit (NAA) şeklinde iki farklı oksinden faydalanılmıştır. Eksplant kaynağı olarak sürgün ucu kullanılmış olup, sürgün gelişiminde en etkili sitokinin ise 2.5 mg/l ile BAP (6-benzilaminopurin) hormonu olmuştur. Çalışmada, doku kültürünün strese karşı en yüksek dirence sahip bireylerin seçilerek ya da genetik transformasyon için bitki materyalinin üretilmesi ve değişken bir ortamda mahsullerin kalitesini arttırmak için büyük potansiyele sahip olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak lahanada başarılı bir doku kültürü prosedürü geliştirmişlerdir (Kamińska & Sliwinska, 2023).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. Bitki Materyali

Bu çalışma Rize ili Pazar ilçesinde bulunan Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür.

Çalışmada bitki materyali olarak '*Brassica oleracea* L. var. *acephala*'nın 3 ayrı genotipi kullanılmıştır. Bunlardan biri Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Fatih SEYİS'ten temin edilmiştir ve diğer iki genotipi ise Artvin'in Yusufeli ve Arhavi ilçesindeki üreticilerden temin edilmiştir. Çalışmada bitki eksplantı olarak; kök, sap, kotiledon ve sürgün ucu eksplantları kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Besi Ortamı İçindekiler ve Hormon Konsantrasyonları

Çalışmada kullanılan steril karalahana bitkilerini elde etmek için çimlendirme ortamı olarak hormon içermeyen MS (Duchefa Biochemie Katalok No: M0222) besi ortamı kullanılmıştır. Çimlendirme işleminden elde edilen eksplantların alt kültür aşamasında, BAP ve IAA hormonları ayrı ayrı ve birlikte kombinasyon halinde farklı besi ortamları tercih edilmiştir (Erdem vd., 2022). Çizelge 3.1'de çalışmada kullanılan besi ortamının içeriği yer almaktadır Çizelge 3.2'de ise MS besi ortamına ilave edilen hormon tipi, konsantrasyonları ve 7 farklı besi ortamı yer almaktadır (Uysal vd., 2021). Çalışmada kullanılan Şekil 3.1.a pH metre (ortamın pH derecesini ölçmede), Şekil 3.1.b otoklav (121 °C'de buharlı basınç kullanılarak sterilizasyon yapmak amacıyla), Şekil 3.1.c manyetik karıştırıcı (ortamın homojen karışmasına), Şekil 3.1.d iklimlendirme ünitesi (ekim yapılan ortamların uygun koşullarda geliştirilmesi amacıyla), Şekil 3.1.e mikropipet (küçük hacimli sıvıları aktarmada), Şekil 3.1.f sterilizatör (ekim için kullanılan cımbız ve bistürinin sterilizasyonunda) ve Şekil 3.1.g biyogüvenlik kabini (dışarıdan gelebilecek mikroorganizmalara karşı kontaminasyonu amacı ile çalışılan ortam).

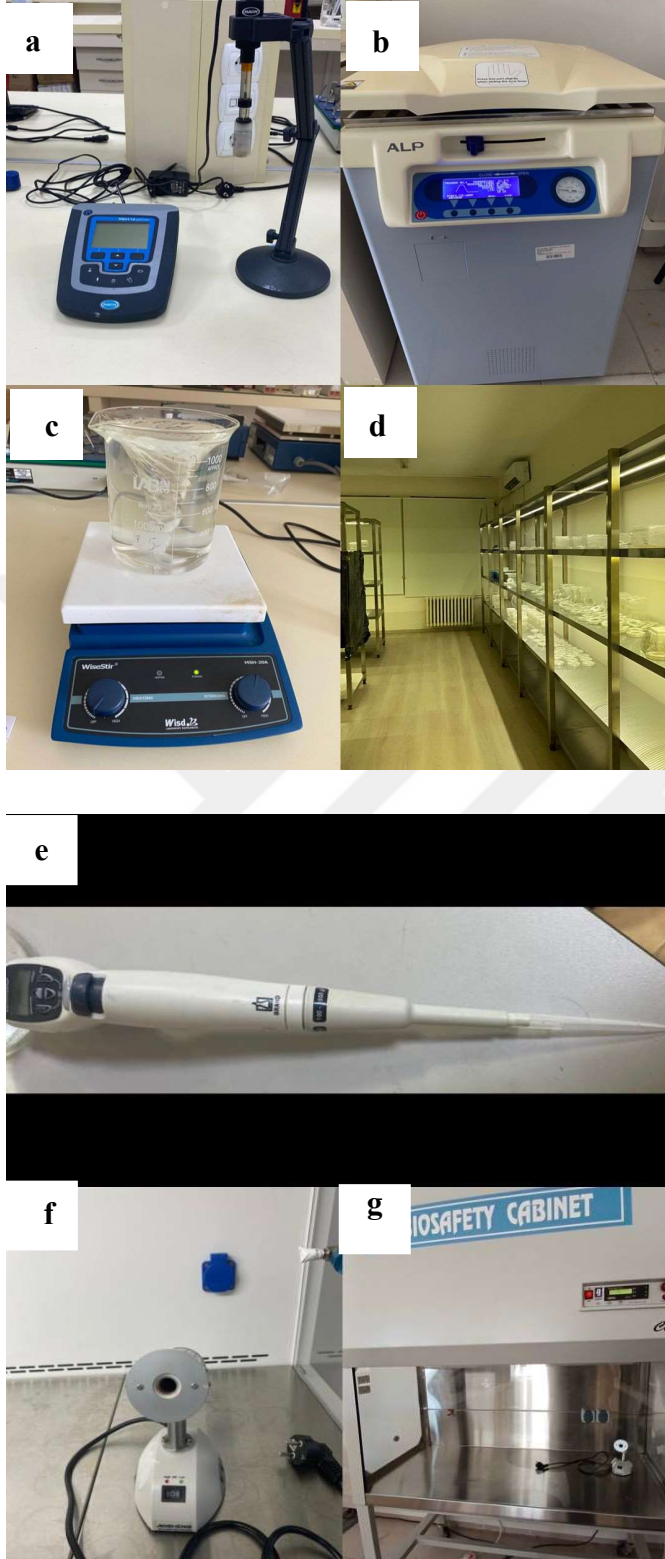
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan Murashige ve Skoog (MS) besi ortam içeriği

Kimyasal Madde	Miktar (mg/l)	Kimyasal Madde	Miktar (mg/l)
KNO ₃	1900	Na ₂ MoO ₄ .H ₂ O	0.25
CaCl ₂ .H ₂ O	332.2	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
NH ₄ NO ₃	1650	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
MgSO ₄ .7H ₂ O	180.7	Glycin	2.0
KH ₂ PO ₄	170	Myo-Inositol	100
Na ₂ -EDTA	37.25	Nicotinic asit	0.5
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.85	Pyridoxine-HCl	0.5
H ₃ BO ₃	6.2	Thiamin HCl	0.1
MnSO ₄ .H ₂ O	16.9	+Sukroz	30.000
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6	+Agar	7.000
KI	0.83	+pH	5.8

+ Hazır olarak temin edilen besi ortamı içerisinde bulunmayıp ayrıca ilave edilen bileşenler

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan MS besi ortamına eklenen IAA ve BAP konsantrasyonları

Besi Ortamı No	BAP (mg/l)	IAA (mg/l)
MS0	-	-
MS1	0.5	-
MS2	1.0	-
MS3	-	0.5
MS4	-	1.0
MS5	1.0	0.5
MS6	1.0	1.0



Şekil 3.1. a) pH metre; b) Otoklav; c) Manyetik ısıtıcı ve karıştırıcı; d) İklimlendirme ünitesi; e) Dijital mikropipet; f) Sterilizatör; g) Biyogüvenlik kabini

3.2. METOT

3.2.1. Yüzey Sterilizasyonu ve Tohum Çimlendirilmesi

Çalışma kapsamına 3 farklı Karalahana genotiplerine ait tohumların *in vitro* ekimi amacıyla aşağıda bahsedilen sterilizasyon yöntemleri uygulanmıştır. Öncelikle Karalahanaların sterilizasyonunda kullanılacak olan pensler, süzgeçler, cam petri kapları, kurutma kağıtları, cımbızlar, beherler, drone şişeler, manyetik balıklar ve yeterince su otoklavda 121°C oluşabilecek kontaminasyon risklerine karşı steril edilmiştir.

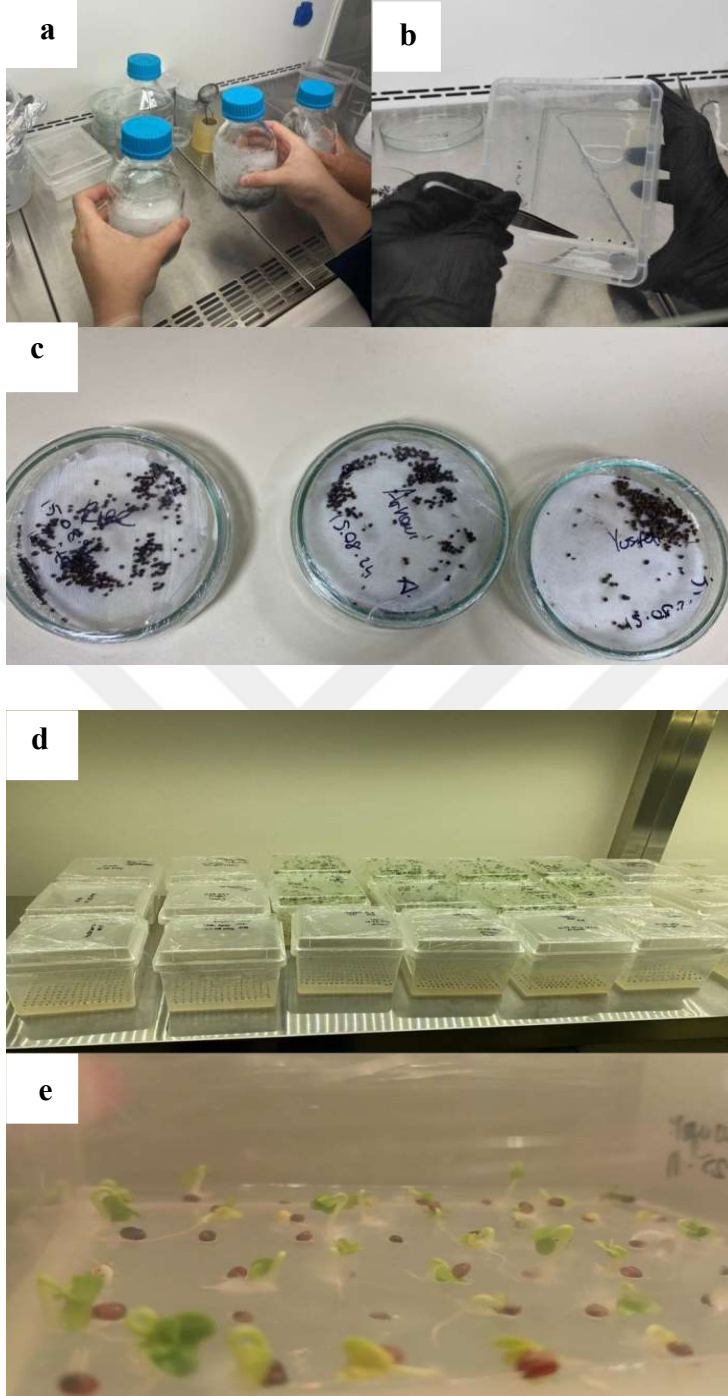
Kullanılacak bütün gerekli malzemeler %70 alkolle dezenfekte edildikten sonra steril kabin içerisine konulmuştur. Daha önce 5'er gram tartılmış olan Arhavi, Rize ve Yusufeli genotiplerine ait tohumlar, sırayla sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur.

Her bir genotip için tohumlar karıştırıcıdaki beherin içine ilave edildikten sonra yaklaşık 30 saniye %70 alkolle muamele edilmiştir ve daha sonra yaklaşık 2-3 dakika steril su ile durulanmıştır. Daha sonra %10'luk çamaşır suyunda (ACE, <%5 klor bazlı ağartıcı içeren) 10 dakika muamele edilmiştir ve 3-5 defa yaklaşık 2-3 dakika steril su ile durulama yapılmıştır (Şekil 3.2.a).

60 adet magentaya ekim yapılacak Karalahana tohumu hazır hale getirilmiş olup her bir magentaya 50'er tohum ekilecek şekilde hormon içermeyen besi ortamlarına ekim yapılmıştır. Kontamine gerçekleşen ekimler tekrarlanmıştır. Kontaminenin gerçekleştiği genotipler tekrar steril edilirken 2 damla Tween 20 ilave edilen %10'luk çamaşır suyu çözeltisi kullanılmıştır. Bu işlemten sonra durulama işlemi 5 kez 3-4 dakikaya çıkartılmıştır (Şekil 3.2.b).

Sterilizasyonu sağlanan Karalahana tohumları içerisinde steril kurutma kağıdı olan 3 ayrı cam petri kabına kurumaları için konulmuştur. Daha sonra tohumların yaklaşık 1 saat sonra steril kültür kaplarına ekimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2.c)

Karalahanaların yalın besi ortamına ekimi gerçekleştikten sonra çimlenmesi için iklimlendirme odasında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 21 °C'de 2 hafta bekletilmiştir. Şekil 3.2.d'de çimlenmeye bırakılan tohumlar ve Şekil 3.2.e'de ise çimlenen tohumların 1 haftalık görüntüleri yer almaktadır.

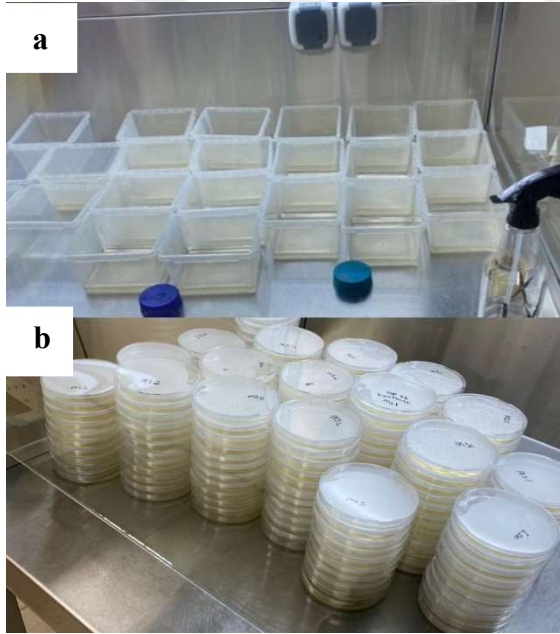


Şekil 3.2. a) Tohum sterilizasyon işlemi; b) Tohum ekme işlemi; c) Kurutmaya bırakılan tohumlar; d) Çimlenmeye bırakılan tohumlar; e) Bir haftada çimlenen tohum görüntüsü

3.2.2. Araştırma Kapsamında Kullanılan MS Besi Ortamının Hazırlanması

Murashige ve Skoog besi ortamı hazırlanırken; 4.4 gram toz MS, 30 gram sukroz tartılıp 800 ml'lik distile suyun içerisine ilave edilerek ve manyetik karıştırıcıda çözdürülmüştür ve ardından pH'ı 5.8'e sabitlendikten sonra 7 gram agar eklenerek

karışım 1 lt'ye tamamlanmıştır ve yalın besi ortamı otoklavda 121 °C'de 25 dakikada steril edilmiştir (Şekil 3.3.a). Ortama hormon ekleneceği zaman öncelikle BAP ve IAA hormonlarının stok solüsyonları hazırlanmıştır. Stok solüsyonlar hazırlama aşamaları şu şekildedir; 0.1 gram BAP ve IAA ayrı ayrı tartılır. BAP'a yaklaşık 3-4 damla NaOH eklenerek vortekste homojen hale gelinceye kadar karıştırılmış ve ardından 10 ml'ye kadar distile su ilave edilmiştir. IAA hormonuna ise 3-4 damla EtOH eklenerek vorteks karıştırıcıda yine homojen oluncaya kadar karıştırılmıştır. Daha sonra 10 ml'ye kadar distile su ilave edilerek stok solüsyonlar hazır hale getirilmiştir. Hazır hale getirilen bu hormonlar Çizelge 3.2'de belirtilen oranlara göre besi ortamlarına pipet aracılığı ile eklenmiştir. Daha sonra 1 lt'ye ayarlanan MS besi ortamı pH metre ile ölçülmüştür. PH'ı 5.8'e sabitlenmeye çalışılan karışıma 5.8'den düşük olduğu zaman 1 N NaOH, yüksek olduğu zaman ise 1 N HCl eklenerek sabitlenmiştir (Tirink, 2021). Daha sonra drone şişe içerisine aktarılan karışıma 7 gram agar eklenmiştir ve kapağı bir vida açık olacak şekilde kapatılarak otoklavda 121 °C'de 25 dakikada steril edilmiştir. Ortam yaklaşık 50 °C'ye kadar soğuduktan sonra biyogüvenlik kabini içerisinde her bir petriye yaklaşık 25 ml olacak şekilde Şekil 3.3.b'deki gibi dökülmüştür. Besi yerleri katı hale gelince petrilerin etrafı kontaminasyonu engellemek amacı ile streç film ile sarılmıştır ve oda sıcaklığında karanlık ortamda en fazla 10 gün olacak şekilde alt kültüre alınma işlemine kadar muhafaza edilmiştir (Aydın Mortaş, 2022).



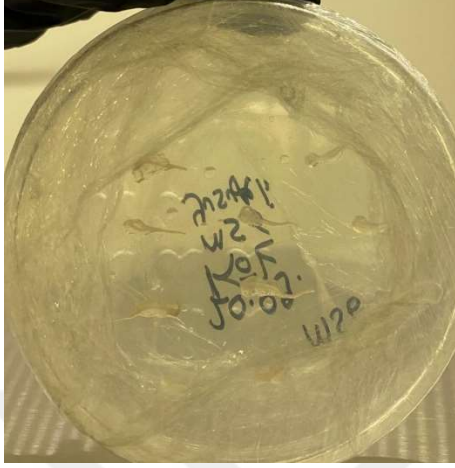
Şekil 3.3. a) Yalın MS ortamları; b) Hormon ilave edilmiş besi ortamları

3.3. *In vitro* Ortamda Alt Kültür Aşamaları

3.3.1. Köklerin Alt Kültürü

Otoklavda 121 °C'de 25 dakika pens, bistüri, kesimleri gerçekleştirebilmek amacı ile cam petri ve gereksiz kısımları atabilmek için plastik beher, kontamine risklerine karşı steril edilmiştir. Daha önce ekimi yapılan Arhavi, Rize ve Yusufeli tohumlarından 2 hafta sonra her bir petride 10 adet olacak şekilde kök eksplantı alınmıştır (Şekil 3.4.). Çizelge

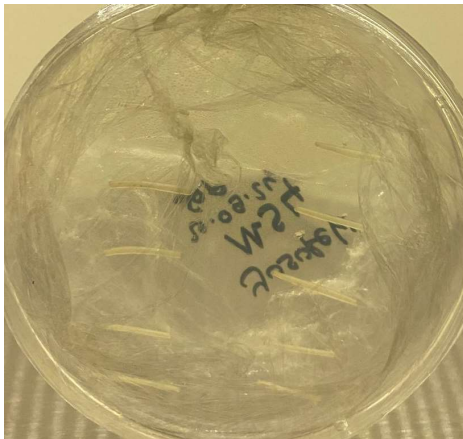
3.2’de bahsedilen 7 farklı MS ortamına 5’er tekerrür olacak şekilde 3 genotip için de alt kültürler gerçekleştirilmiştir. Alt kültürü gerçekleştiren petriler, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 21 °C koşullarını sağlayan iklimlendirme odasında muhafaza edilmiştir. Kontamine olan petriler tekrarlanmıştır (Erdem vd., 2022).



Şekil 3.4. Kök eksplant ekimine ait görüntü

3.3.2. Sap Alt Kültürü

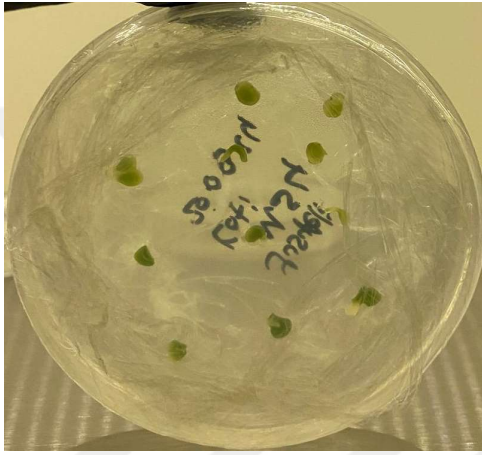
Yine daha önce MS besisi ortamına 2 hafta muhafaza edildikten sonra tohum ekimleri yapılmıştır. 3 genotipin sap eksplantı alınmak üzere biyogüvenlik kabinin içerisinde daha önce sterilizasyonu yapılan ekipmanlar ile sap eksplantı 1 cm olacak şekilde yaklaşık 3-4 parçaya bölünmüştür. Bir petride 10 adet olacak şekilde oksin ve sitokinin hormonlarının da olduğu 7 farklı MS besisi ortamında alt kültür gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.5). Alt kültürü gerçekleştiren petriler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 21 °C koşullarını sağlayan iklimlendirme odasında muhafaza edilmiştir. Kontamine olan petriler tekrarlanmıştır.



Şekil 3.5. Sap eksplant ekimine ait görüntü

3.3.3. Kotiledon Alt Kültürü

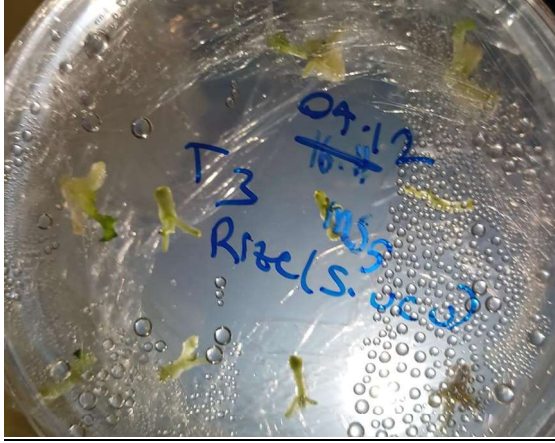
Oksin ve Sitokinin hormon kombinasyonlarında eksplant türü olarak kotiledon, yaygın olarak *Brassica in vitro* kültür teknikleri için kullanılmaktadır (Burnett vd., 1994; Ravanfar vd., 2017). Farklı BAP ve IAA hormonlarında bulunduğu kombinasyonlar içeren Murashige ve Skoog (MS) besi ortamına biyogüvenlik kabini içerisinde önceden otoklavda steril edilmiş aletlerle kotiledon eksplant ekimi yapılmıştır. Bir kotiledonun ikiye bölünerek ekimi gerçekleştirilen bu kısım yine bir petriye 10 adet olacak şekilde eksplantlar yerleştirilmiştir. Arhavi, Rize ve Yusufeli genotipleri için 7 ortam ve her bir ortam için 5 tekerrür gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.6). Alt kültürü gerçekleştiren petriler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 21 °C koşullarını sağlayan iklimlendirme odasında muhafaza edilmiştir. Kontamine olan petriler tekrarlanmıştır.



Şekil 3.6. Kotiledon eksplant ekimine ait görüntü

3.3.4. Sürgün Ucu Alt Kültürü

Sürgün ucu, doku kültürü işleminde kullanılan en kolay ve en yaygın metottur. (Ravanfar vd., 2017). Kotiledon kısmının hemen üst tarafında kalan kısım sürgün ucu olup, özellikle yaprak çıkmadan bitkilerden eksplant örneği alınması konusuna özen gösterilmiştir. Her bitkiden bir tane örnek olmak üzere yaklaşık 1 cm uzunluğunda örnek alınmıştır. Her petriye 10 adet olacak şekilde BAP ve IAA hormonlarının olduğu ortamlara 5'er tekerrür şeklinde biyogüvenlik kabini içinde ekim yapılmıştır (Şekil 3.7). Arhavi ve Rize genotiplerine ait petriler, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 21 °C koşullarını sağlayan iklimlendirme odasında muhafaza edilmiştir. Kontamine olan petriler tekrarlanmıştır. Yusufeli genotipine ait çimlendirmek için magentalara yapılan ekim sonucu, besin ortamı kontamine olan bitkicikler %20 çamaşır suyunda 5 dakika boyunca steril edilmiş olup ardından 3'er defa 3 dakika steril saf suda durulanmıştır ve eksplantlar alınmıştır. Yapılan bu sterilizasyon işlemi başarılı olmuştur ve kontaminasyon gözlemlenmemiştir.



Şekil 3.7. Sürgün ucu eksplant ekimine ait görüntü

3.3.5. Verilerin Toplanması ve Analizi

Alt Kültür tarihinden itibaren yaklaşık bir buçuk ay boyunca petriler haftada bir kontrol edilmiş olup;

Elde edilen kallus sayısı, kalluslardan elde edilen sürgün sayısı, direkt gelişen sürgün sayısı ve kök sayısı kaydedilerek bir buçuk ay sonunda denemeye son verilmiştir. Kaydedilen veriler Microsoft Excell paket programı ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel analizler “R İstatistik” paket programında Kruskal-Wallis analizi ile gerçekleştirilmiş olup “dunn.test, multcompView, FSA” paketleri kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. *İn vitro* Ortamda Ekimi Yapılan Karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*) Genotiplerinin Çimlenme Oranı

Çizelge 4.1’de *in vitro* ortamda karalahana genotiplerinin (Rize, Arhavi, Yusufeli) çimlenme yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 4.1. *Brassica oleracea* var. *acephala* genotiplerinin *in vitro* ortamda çimlenme oranları

Genotip	Ekilen Tohum Sayısı (adet)	Toplam Çimlenme (adet)	Yüzde Çimlenme Oranı (%)
Rize	2.900	2.320	%80
Arhavi	3.100	1.860	%64
Yusufeli	3.500	3.150	%90

İn vitro steril bitkilerin eldesi için çalışmada kullanılan karalahana genotiplerinden Arhavi genotipi için 62 magentaya 3.100 adet, Yusufeli genotipi için 70 magentaya 3.500 adet ve Rize genotipi için 58 magentaya 2.900 adet tohum ekimi yapılmıştır. Ekim sonrası Arhavi genotipine ait tohumlarda yaklaşık 40 adet kültür kabında kontaminasyon gözlemlenmiş olup Rize ve Yusufeli genotiplerine ait sırası ile yaklaşık 10 ve 30 adet kültür kabında kontaminasyon gözlemlenmiştir. Çimlenme oranları ise Arhavi genotipinde % 64, Yusufeli genotipinde %90 ve Rize genotipinde ise %80 olarak gerçekleşmiştir. Arhavi genotipinin kontaminasyon oranının çok yüksek olma sebebi, tohumların eski ve çimlenme oranını yitirmiş olmasından kaynaklandığı, Yusufeli genotipi için ise sterilizasyon adımlarında uygulanan bazı yöntemlerin bu genotip için uygun olmadığı fikrine varılmıştır. Bu genotiplerin tohumlarında çimlenme %78 gerçekleşmesine rağmen kontaminasyonlar gözlemlendiği için alt kültür çalışmalarına devam edilememiş olup sterilizasyon işlemleri ve tohum ekimleri tekrarlanmıştır.

4.2. *İn vitro* Ortamda Çimlendirilen Rize Genotipine Ait Bitkilerin Kök, Sap, Kotiledon ve Sürgün Ucu Eksplantları İçin Rejenerasyon Sonuçları

İn vitro ortamda çimlendirilen Rize genotipinin eksplantlarından elde edilen rejenerasyon başarı oranları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Rize genotipine ait eksplantların oluşturmuş olduğu direk sürgün, kök, kallus oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler;

RİZE GENOTİPİ								
Eksplant Kaynağı		Besi Ortamı						
		MS0	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6
Kök	ES (adet)	50	50	80	50	50	60	50
	DS (adet)	0	0	0	0	0	0	0
	DS BO (%)	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%0
	KO (adet)	15	13	0	40	21	15	9

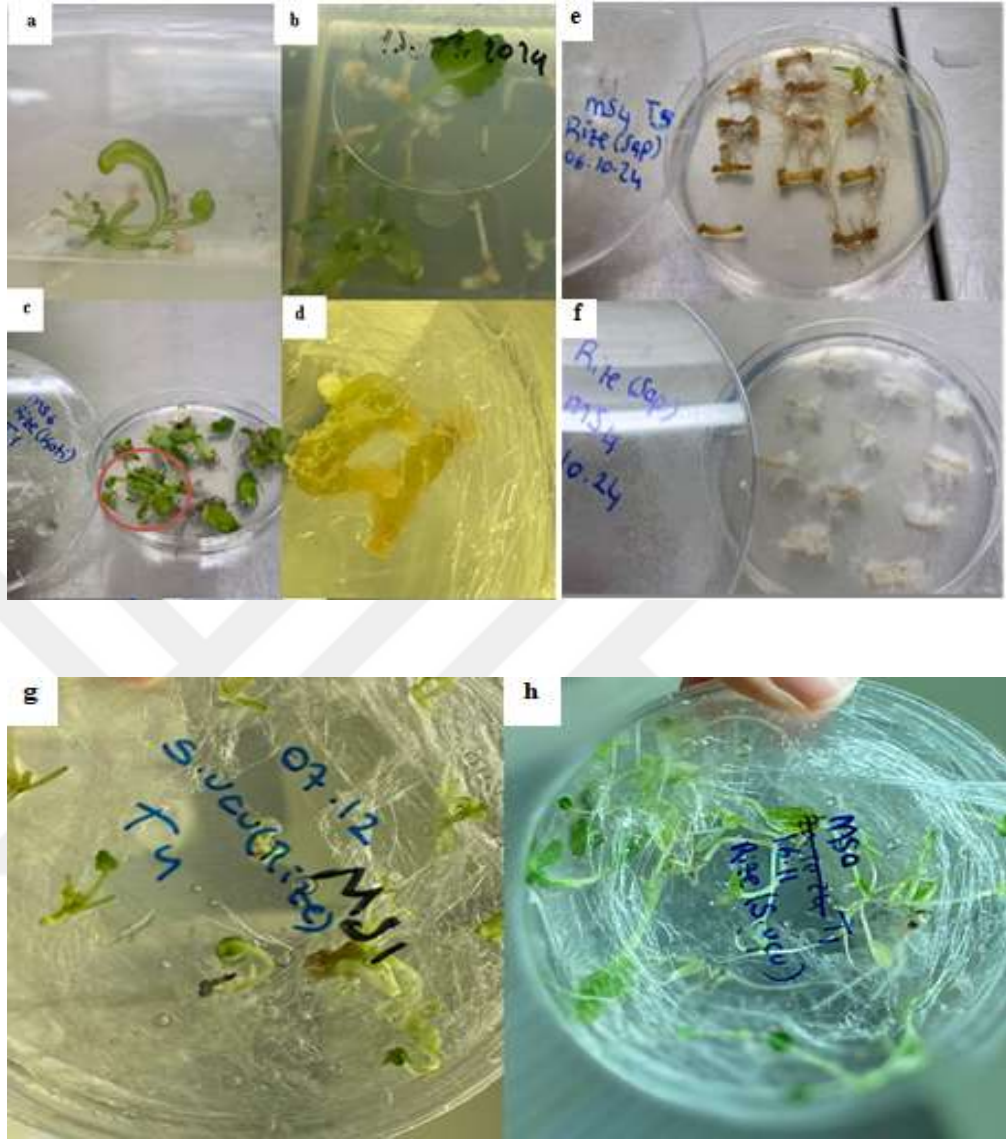
(Devamı arkada)

Çizelge 4.2'nin devamı;

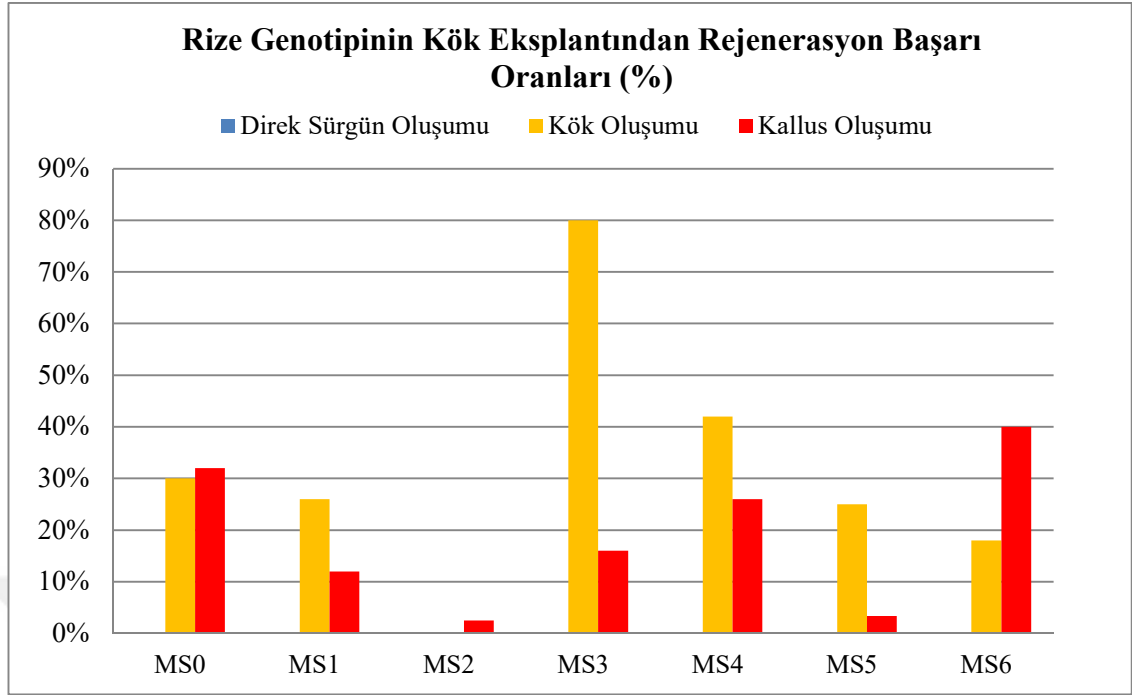
	KO BO (%)	%30	%26	%0	%80	%42	%25	%18
	KaO (Adet)	16	6	2	8	13	2	20
	KaO BO (%)	%32	%12	%2.5	%16	%26	%3.33	%40
	Genel BO (%)	%62	%38	%2.5	%60	%47	%28.3	%58
Sap	ES (adet)	50	50	60	50	50	60	50
	DS (adet)	6	0	0	0	0	0	1
	DS BO (%)	%12	%0	%0	%0	%0	%0	%2
	KO (adet)	0	0	0	36	50	0	7
	KO BO (%)	%0	%0	%0	%72	%100	%0	%14
	KaO (Adet)	7	4	4	8	22	9	13
	KaO BO(%)	%14	%8	%6.67	%16	%44	%15	%26
	Genel BO (%)	%26	%8	%6.67	%88	%144	%15	%42
Kotiledon	ES (adet)	50	50	50	50	60	50	50
	DS (adet)	0	0	6	7	1	0	1
	DS BO (%)	%0	%0	%12	%14	%1.6	%0	%2
	KO (adet)	13	0	17	35	60	4	10
	KO BO (%)	%26	%0	%34	%70	%100	%8	%20
	KaO (Adet)	0	0	3	5	0	0	9
	KaO BO(%)	%0	%0	%6	%10	%0	%0	%18
	Genel BO(%)	%26	%0	%52	%94	%101.7	%8	%40
Sürgün Ucu	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	50
	DS (adet)	28	40	48	49	50	38	48
	DS BO (%)	%56	%80	%96	%98	%100	%76	%96
	KO (adet)	13	0	0	25	46	2	3
	KO BO (%)	%26	%0	%0	%50	%92	%4	%6
	KaO (Adet)	0	1	2	0	0	14	0
	KaO BO (%)	%0	%2	%4	%0	%0	%28	%0
	Genel BO (%)	%82	%82	%100	%148	%192	%108	%102
BOG GBO(%)		%49	%32	%34.1	%106.5	%126.4	%38.1	%60.5

ES: Eksplant Sayısı, DS: Direkt Sürgün, DS BO: Direkt Sürgün Başarı Oranı KO: Kök Oluşumu, KO BO: Kök Oluşumu Başarı Oranı, KaO: Kallus Oluşumu, KaO BO: Kallus Oluşumu Başarı Oranı, Genel BO: Genel Başarı Oranı, BOG GBO: Besi Ortamlarına Göre Genel Başarı Oranı

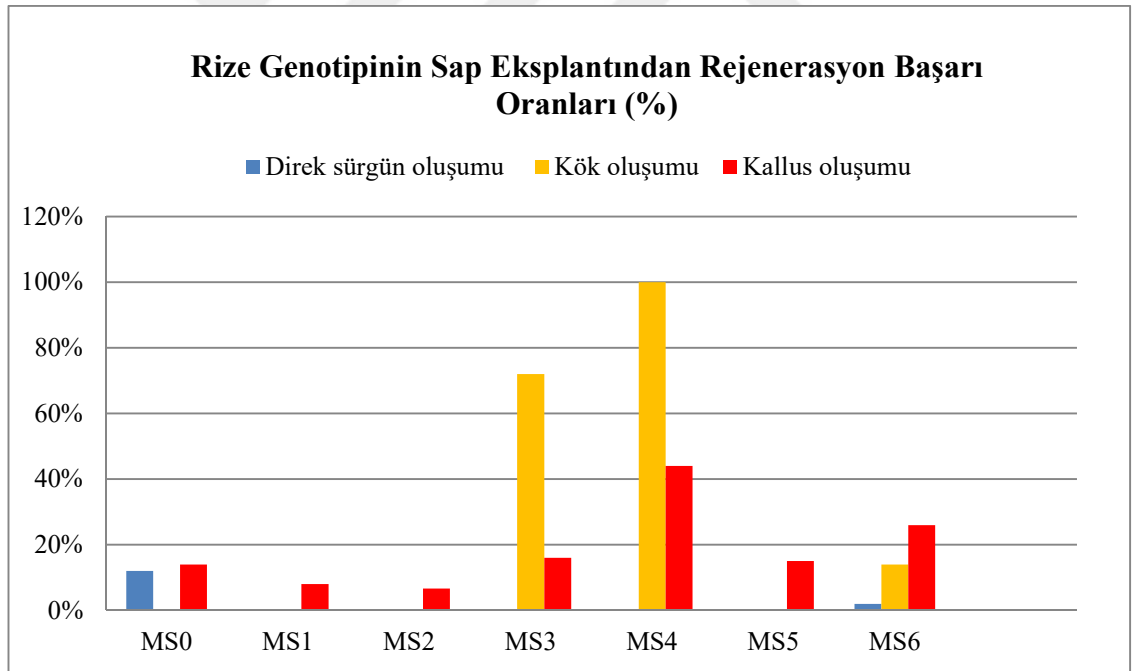
Şekil 4.1.a'da Rize genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantından bir ay sonunda gözlemlenen direkt sürgün rejenerasyon görüntüsü bulunmaktadır. Şekil 4.1.b'de Rize genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantından iki ay sonunda gözlemlenen direkt sürgün rejenerasyon görüntüsü bulunurken Şekil 4.1.c'de ise Rize genotipine ait MS6 ortamında kotiledon eksplantında direkt sürgün rejenerasyon görüntüsü bulunmaktadır. Şekil 4.1.d'de Rize genotipine ait MS2 ortamında sap eksplantında kallus oluşumu gözlemlenirken Şekil 4.1.e'de ise Rize genotipine ait MS4 ortamında sap eksplantında kallustan sürgün, kallus, kök oluşumları gözlemlenmiştir. Şekil 4.1.f'de Rize genotipine ait MS4 ortamında sap eksplantında kök oluşumu, Şekil 4.1.g'de Rize genotipine ait MS1 ortamında sürgün ucu eksplantında direkt sürgün oluşumu ve Şekil 4.1.h'de Rize genotipine ait MS0 ortamında sürgün ucu eksplantında direkt sürgün ve kök oluşumu gözlemlenmiştir.



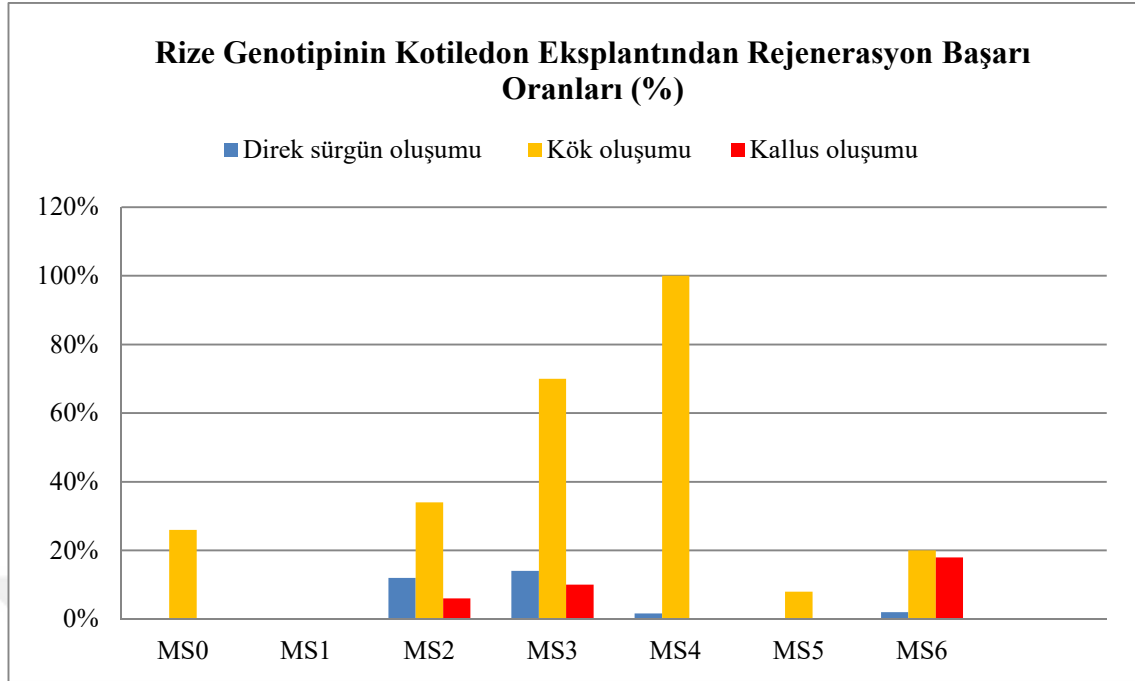
Şekil 4.1. a) Rize genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantından bir ay sonunda gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; b) Rize genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantından iki ay sonunda gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; c) Rize genotipine ait MS6 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; d) Rize genotipine ait MS2 ortamında sap eksplantında gözlemlenen kallus oluşumu; e) Rize genotipine ait MS4 ortamında sap eksplantında gözlemlenen kallustan sürgün, kallus, kök oluşumu; f) Rize genotipine ait MS4 ortamında sap eksplantında gözlemlenen kök oluşumu; g) Rize genotipine ait MS1 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün oluşumu; h) Rize genotipine ait yalın MS ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök oluşumu.



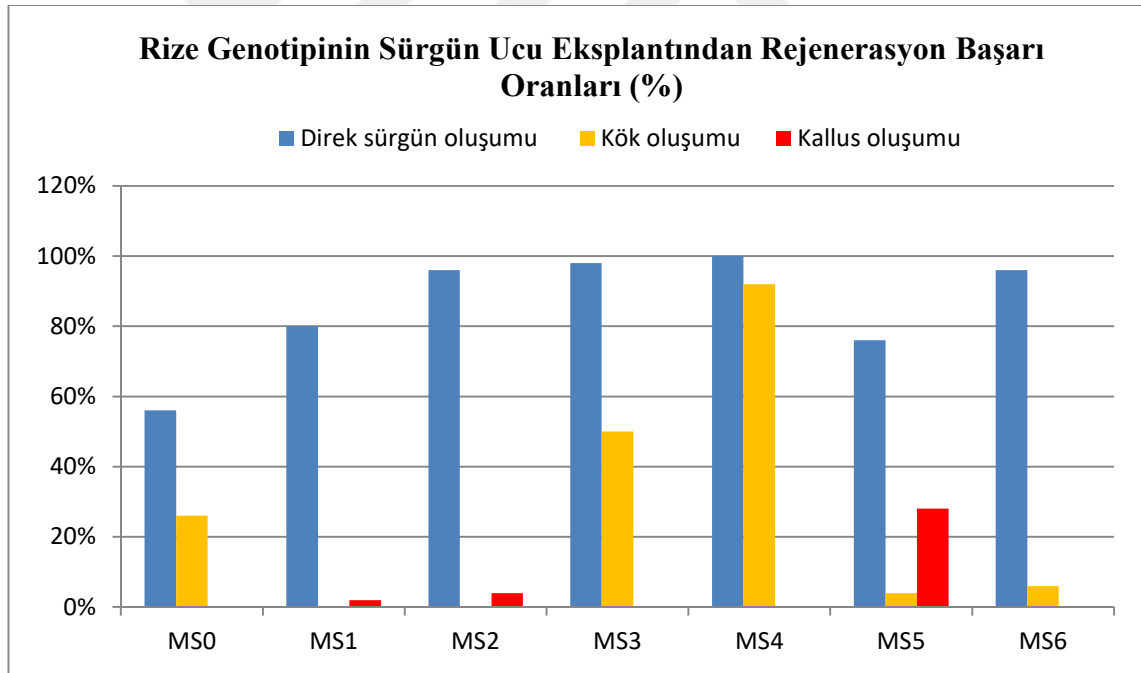
Şekil 4.2. Rize genotipine ait kök eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.3. Rize genotipine ait sap eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.4. Rize genotipine ait kotiledon eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.5. Rize genotipine ait sürgün ucu eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları

Çizelge 4.2'nin ve Şekil 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5 incelenmesinden de anlaşılacağı üzere, Rize genotipi için *in vitro* ortamda çimlendirilen tohumlardan elde edilen kök eksplantından petri başına 10 adet ve yaklaşık 5-8 tekerrür olmak üzere toplam 390 adet kök eksplantı alt kültüre alınmıştır. Sap eksplantı için petri başına 10 adet ve 5-6 tekerrür 370 adet, kotiledon eksplantı için ise yine petri başına 10 adet ve 5-6 tekerrür 360 adet ve sürgün ucu eksplantından ise petri başına 10 adet ve 5 tekerrür toplamda 350 adet sürgün

ucu alt kültüre alınmıştır. Araştırma sonuçları incelendiğinde direk sürgün oluşumu en fazla MS4 besi ortamında kotiledon eksplantında %100 olarak gerçekleşmiş iken kök eksplantlarında hiçbir besi ortamında direk sürgün oluşumu tespit edilmemiştir. Ayrıca sap eksplantlarından da MS0 ve MS6 dışındaki besi ortamlarında ve kotiledon eksplantlarında MS0, MS1 ve MS5 ortamlarında da direk sürgün rejenerasyonu tespit edilememiştir. Kök oluşumu ise en yüksek sap ve kotiledon eksplantlarında MS4 besi ortamında %100 olarak gerçekleşmiştir. Kallus oluşumunda ise en yüksek rejenerasyon oranı, sap eksplantında %44 ile MS4 besi ortamında tespit edilmiş olup bunu kök eksplantında %40, sürgün ucu eksplantında %28 ile MS5 ve kotiledon eksplantında %18 ile MS6 besi ortamında kültüre alınan eksplantlar takip etmiştir. Genel başarı oranları incelendiğinde en yüksek başarı oranları kök eksplantında MS0 besi ortamında %62, sap eksplantında MS4 besi ortamında %144, kotiledon eksplantında MS4 besi ortamında %101.7 ve sürgün ucu eksplantında ise MS4 besi ortamında %192 olarak gerçekleşmiştir. En düşük başarı oranları ise kök eksplantında MS2 besi ortamında %2.5, sap eksplantında MS2 besi ortamında %6.67, kotiledon eksplantında MS1 besi ortamında %0 ve sürgün ucu eksplantında ise MS0 ile MS1 besi ortamlarında %82 olarak gerçekleşmiştir. Bu üç eksplant arasında bütün besi ortamları değerlendirildiğinde MS4 besi ortamı (1.0 mg/l IAA) ile %104.3 oranında en yüksek rejenerasyonun gözlemlendiği ve en düşük rejenerasyonun ise MS1 besi ortamında (0.5 mg/l BAP) %15.3 olarak gerçekleştiği tespit edilmiştir.

4.3. *İn vitro* Ortamda Çimlendirilen Rize Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Eksplantları İçin Kallus Sayıları, Kallustan Sürgün Oluşum Sayıları ve Başarı Oranlarına (%) ilişkin veriler.

İn vitro ortamda çimlendirilen Karalahana için yapılan Rize genotipinin eksplantlarından elde edilen alt kültürlerden kallus oluşumu, kallustan sürgün oluşumu ve başarı oranları Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Rize genotipinin eksplantlarına ait kallustan sürgün oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler

RİZE GENOTİPİ								
Eksplant Kaynağı		Besi Ortamı						
		MS0	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6
Kök	ES (adet)	50	50	80	50	50	60	50
	KaO(adet)	16	6	2	8	13	2	20
	KSO (adet)	0	0	0	0	0	0	0
	KSO BO (%)	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%0
Sap	ES (adet)	50	50	60	50	50	60	50
	KaO(adet)	7	4	4	8	22	9	13
	KSO (adet)	0	0	2	0	1	0	1
	KSO BO (%)	%0	%0	%50	%0	%4.55	%0	%7.69
Kotiledon	ES (adet)	50	50	50	50	60	50	50
	KaO (adet)	0	0	3	5	0	0	9
	KSO (adet)	0	0	0	5	0	0	4

(Devamı arkada)

Çizelge 4.3'ün devamı

	KSO BO (%)	-	-	%0	%100	-	-	%44.4
Sürgün Ucu	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	50
	KS(Adet)	0	1	2	0	0	14	0
	KSO (Adet)	0	1	1	0	0	14	0
	KSO BO (%)	-	%100	%50	-	-	%100	-

ES: Eksplant Sayısı, KaO: Kallus Oluşumu, KSO: Kallustan Sürgün Oluşumu, KSO BO: Kallustan Sürgün Oluşumu Başarı Oranı

Çizelge 4.3 incelendiğinde Rize genotipinde kallustan sürgün oluşumunda başarı oranı en iyi kotiledon eksplantında MS3 alt kültür ortamında 0.5 mg/lt IAA hormonu ile %100 rejenerasyon göstermiştir. Bu ortamda 50 eksplantın 5'inde kallus 5'inde ise kallustan sürgün oluşumu gözlemlenmiştir. Bir diğer %100 başarı ise sürgün ucu eksplantının MS1 yani 0.5 mg/lt BAP hormonunda ve MS5 yani 1.0 mg/lt BAP+0.5 mg/lt IAA hormonlarının kullanıldığı ortamlarda gözlemlenmiştir. En düşük rejenerasyon ise MS2 alt kültüründe 1.0 mg/lt BAP hormonu ile %0 gözlemlenirken MS0, MS1, MS4 ve MS5 ortamlarında hiçbir rejenerasyon gözlemlenememiştir. Yine *in vitro* ortamda yetiştirilen karalahananın sap eksplantının alt kültürü neticesinde en yüksek rejenerasyon %50 oranı ile MS2 alt kültür ortamında yani 1.0 mg/lt BAP hormonunda gözlemlenirken kallustan sürgün oluşumunda en düşük rejenerasyon ise MS0, MS1, MS3 ve MS5 alt kültür ortamlarında sırası ile yalın, 0.5 mg/lt BAP, 1.0 mg/lt BAP ve 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA hormonlarının kullanıldığı ortamlarda gözlemlenmiştir. Kök eksplantında ise bütün ortamlarda rejenerasyon %0 iken hiçbir kallus oluşumuna rastlanılmamıştır.

4.4. *In vitro* Ortamda Çimlendirilen Yusufeli Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Kök, Sap, Kotiledon ve Sürgün Ucu Eksplantları İçin Rejenerasyon Sonuçları

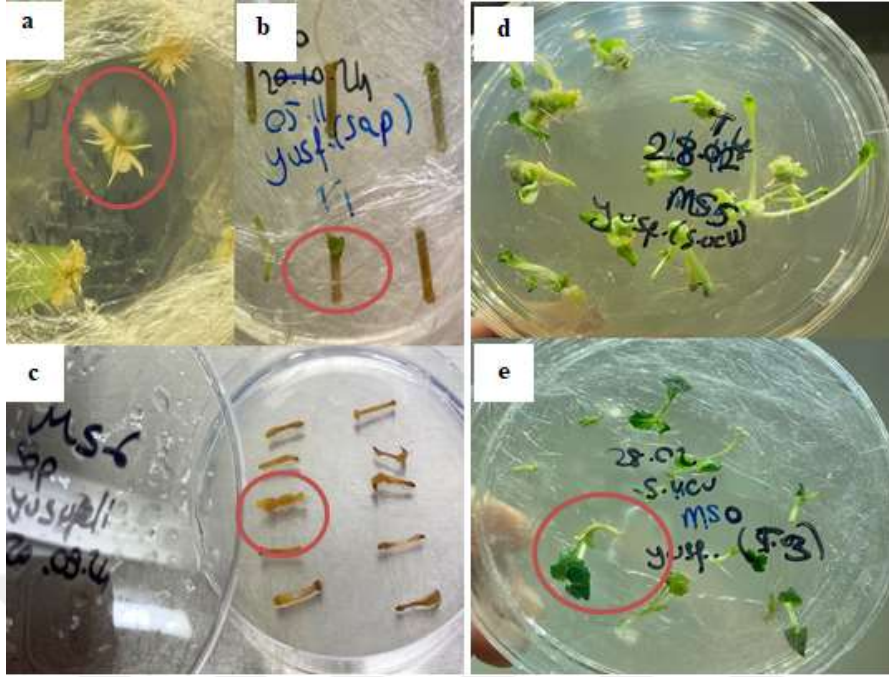
In vitro ortamda çimlendirilen Karalahana için yapılan Yusufeli genotipinin kök eksplantından elde edilen alt kültürlerinden kök oluşumu, kallus oluşumu ve kallusdan sürgün oluşum oranları Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Şekil 4.6.a'da Yusufeli genotipine ait MS4 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen kök oluşumu görüntüsü yer almaktadır. Şekil 4.6.b'de Yusufeli genotipine ait yalın MS ortamına ait sap eksplantında gözlemlenen kallustan sürgün oluşumu görüntüsü bulunmaktadır. Şekil 4.6.d'de ise Yusufeli genotipine ait MS5 ortamına ait sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kallus oluşumu yer almaktadır. Şekil 4.6.e'de ise Yusufeli genotipine ait MS0 ortamına ait sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök oluşumu yer almaktadır.

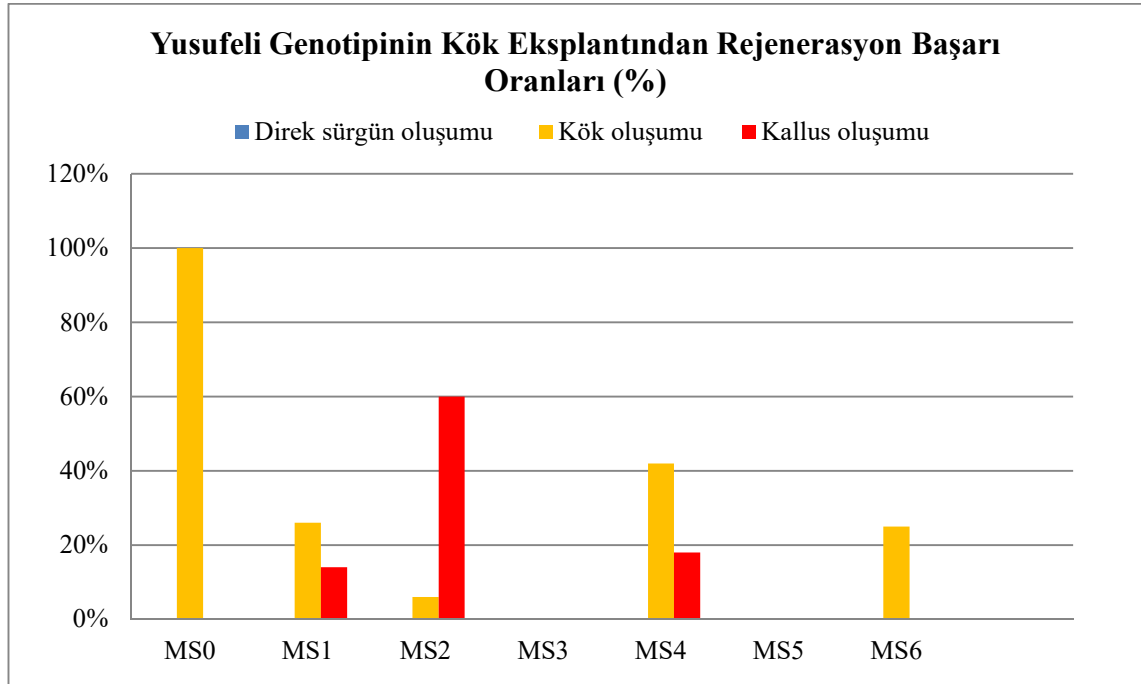
Çizelge 4.4. Yusufeli genotipine ait eksplantların oluşturmuş olduğu direk sürgün, kök, kallus oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler

YUSUFELİ GENOTİPİ								
Eksplant Kaynağı		Besi Ortamı						
		MS0	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6
Kök	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	80
	DS (adet)	0	0	0	0	0	0	0
	DS BO (%)	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%0
	KO (adet)	50	13	3	0	21	0	2
	KO BO (%)	%100	%26	%6	%0	%42	%0	%2.5
	KaO (adet)	0	7	30	0	9	0	0
	KaO BO (%)	%0	%14	%60	%0	%18	%0	%0
	Genel BO (%)	%100	%40	%66	%0	%60	%0	%2.5
Sap	ES (adet)	50	50	50	50	110	50	100
	DS (adet)	0	0	2	0	0	0	0
	DS BO (%)	%0	%0	%4	%0	%0	%0	%0
	KO (adet)	40	1	0	28	26	3	0
	KO BO (%)	%80	%2	%0	%56	%23.64	%6	%0
	KaO (adet)	40	19	50	27	41	0	29
	KO BO (%)	%80	%38	%100	%54	%37.27	%0	%29
	Genel BO (%)	%160	%40	%104	%110	%60.9	%6	%29
Kotiledon	ES (adet)	50	50	50	60	80	50	100
	DS (adet)	0	6	0	0	0	0	0
	DS BO (%)	%0	%12	%0	%0	%0	%0	%0
	KO (adet)	2	5	2	1	27	0	2
	KO BO (%)	%4	%10	%4	%1.67	%33.75	%0	%2
	KaO (adet)	0	0	0	0	11	0	2
	KaO BO (%)	%0	%0	%0	%0	%0.125	%0	%2
	Genel BO (%)	%4	%22	%4	%1.67	%47.5	%0	%4
Sürgün Ucu	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	50
	DS (adet)	35	41	32	39	45	48	44
	DS BO (%)	%70	%82	%64	%78	%90	%96	%88
	KO (adet)	17	4	2	14	19	14	11
	KO BO (%)	%34	%8	%4	%28	%38	%28	%22
	KaO (Adet)	0	1	0	0	3	6	2
	KaO BO (%)	%0	%2	%0	%0	%6	%12	%4
	Genel BO (%)	%104	%92	%68	%106	%134	%232	%114
BOG GBO(%)		%92	%48.5	%60.5	%51.9	%69.6	%35.5	%28.8

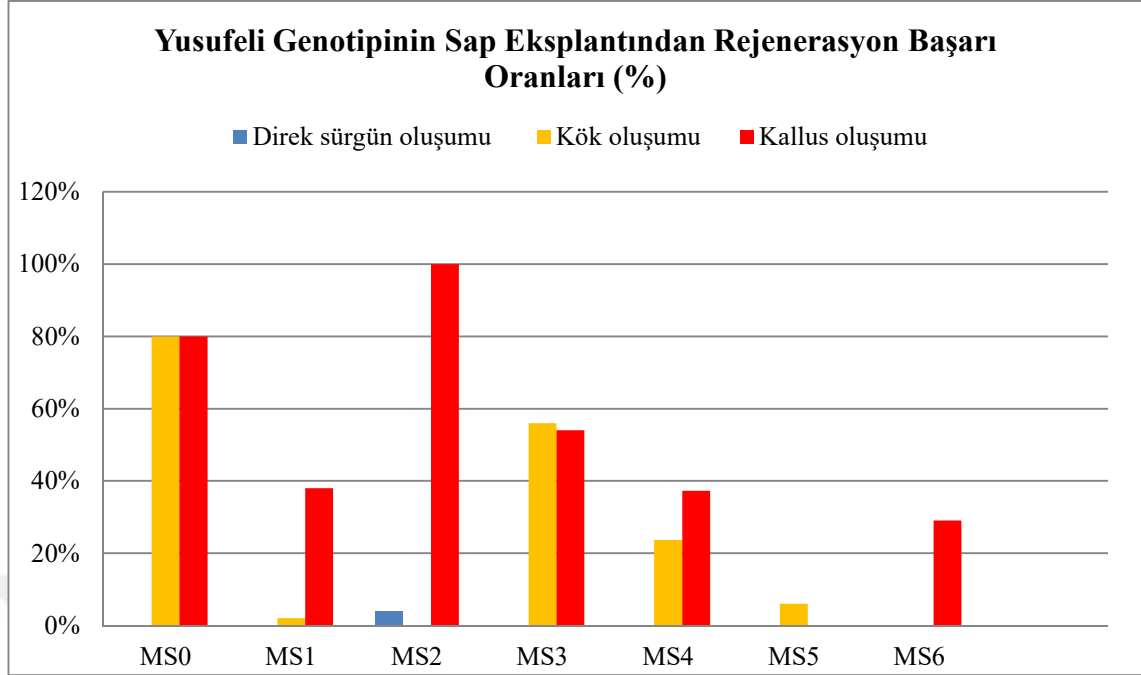
ES: Eksplant Sayısı, DS: Direk Sürgün, DS BO: Direk Sürgün Başarı Oranı KO: Kök Oluşumu, KO BO: Kök Oluşumu Başarı Oranı, KaO: Kallus Oluşumu, KaO BO: Kallus Oluşumu Başarı Oranı, Genel BO: Genel Başarı Oranı, BOG GBO: Besi Ortamlarına Göre Genel Başarı Oranı



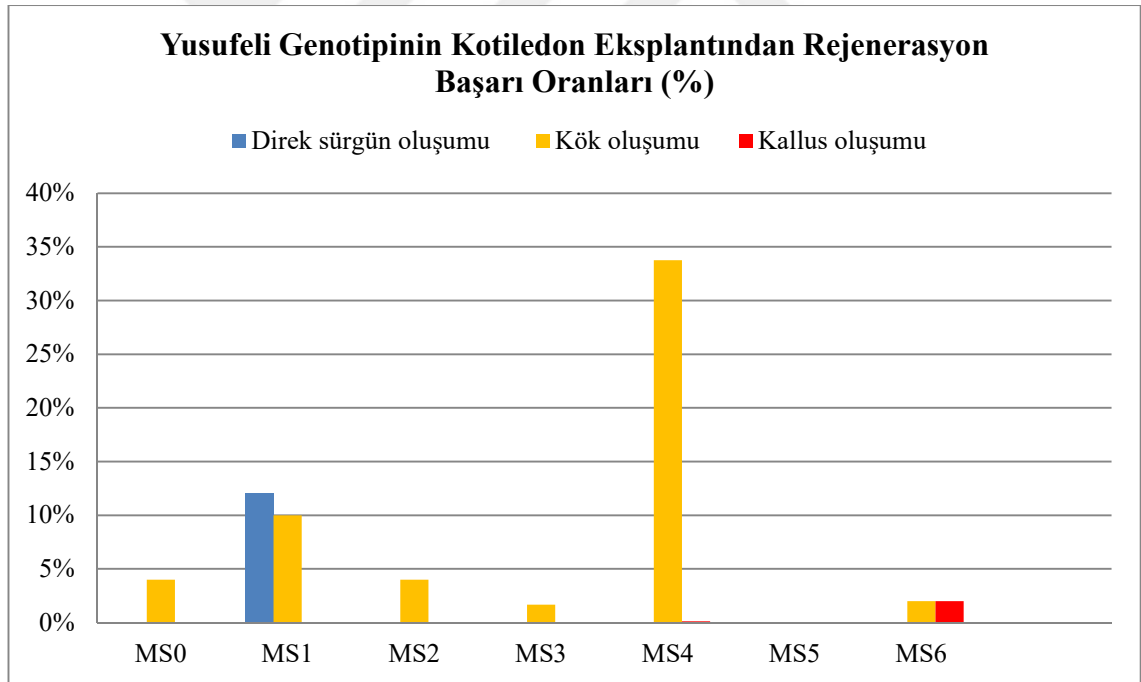
Şekil 4.6. a) Yusufeli genotipine ait MS4 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen kök oluşumu; **b)** Yusufeli genotipine ait yalın MS ortamına ait sap eksplantında gözlemlenen kallustan sürgün oluşumu; **c)** Yusufeli genotipine ait MS6 ortamına ait sap eksplantında gözlemlenen kallus oluşumu; **d)** Yusufeli genotipine ait MS5 ortamına ait sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kallus oluşumu; **e)** Yusufeli genotipine ait yalın MS ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök oluşumu.



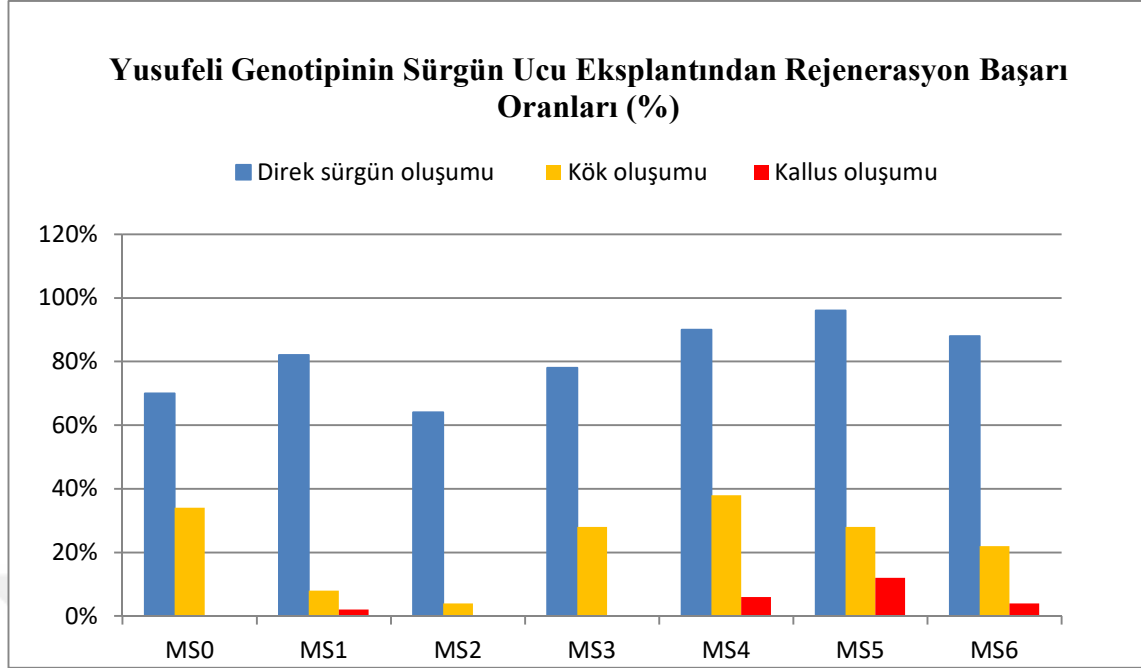
Şekil 4.7. Yusufeli genotipine ait kök eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.8. Yusufeli genotipine ait sap eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.9. Yusufeli genotipine ait kotiledon eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.10. Yusufeli genotipine ait sürgün ucu eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları

Çizelge 4.4'ten ve Şekil 4.7, 4.8, 4.9 ve 4.10'un incelenmesinden de anlaşılacağı gibi Karalahana MS alt kültürlerinin farklı hormon kombinasyonlarında kök, sap, kotiledon eksplant türlerine göre farklı başarı oranları elde edilmiştir.

Yusufeli genotipinde kültüre alınan kök eksplantından petri başına 10 adet her bir ortam için yaklaşık 5-8 tekrür olmak üzere toplam 380 adet kök alt kültüre alınmıştır. Sap eksplantı için petri başına 10 adet 5-11 tekrür 460 adet sap alt kültüre alınmıştır ve kotiledon eksplantı için ise yine petri başına 10 adet 5-10 tekrür 440 adet kotiledon ve sürgün ucu eksplantı için ise yine petri başına 10 adet 5 tekrür 350 adet alt kültüre alınmıştır.

Genel başarı oranları kök eksplantında yalnız MS0 alt kültürü %100 olarak gözlemlenmiş olup en iyi oran ise sap eksplantında yine MS0 yalnız alt kültürü ile %160 olarak gözlemlenmiştir. Kotiledonda ise en iyi %47 oranında MS4 besi ortamından elde edilmiştir ve sürgün ucu eksplantında ise MS5 besi ortamında %232 oranında en iyi rejenerasyon gözlemlenmiştir.

Yine bu üç eksplant arasında bütün besi ortamları ele alındığında en yüksek rejenerasyonun MS0 alt kültüründe yani yalnız besi ortamında %92 oranı ile ve en düşük ise MS6 alt kültüründe yani 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA hormonlarını içeren ortamda ile %28.8 olarak gerçekleşmiştir.

4.5. *İn Vitro* Ortamda Çimlendirilen Yusufeli Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Eksplantları İçin Kallus Sayıları, Kallustan Sürgün Oluşum Sayıları ve Başarı Oranlarına (%) ilişkin veriler.

İn vitro ortamda çimlendirilen Karalahana için yapılan Yusufeli genotipinin eksplantlarından elde edilen alt kültürlerden kallus oluşumu, kallusdan sürgün oluşumu ve başarı oranları Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Çizelge 4.5. Yusufeli genotipinin eksplantlarına ait kallustan sürgün oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler

YUSUFELİ GENOTİPİ								
Eksplant Kaynağı		Besi Ortamı						
		MS0	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6
Kök	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	80
	KaO (adet)	0	7	30	0	9	0	0
	KSO (adet)	0	0	0	0	0	0	0
	KSO BO (%)	-	-	%0	-	%0	-	-
Sap	ES (adet)	50	50	50	50	110	50	100
	KaO (adet)	40	19	50	27	41	0	29
	KSO (adet)	2	0	0	0	0	0	0
	KSO BO (%)	%5	%0	%0	%0	%0	-	%0
Kotiledon	ES (adet)	50	50	50	50	80	50	100
	KaO (adet)	0	0	0	0	11	0	2
	KSO (adet)	0	0	0	0	0	0	0
	KSO BO (%)	-	-	-	-	%0	-	%0
Sürgün Ucu	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	50
	KS(Adet)	0	1	0	0	3	6	2
	KSO (Adet)	0	1	0	0	0	1	1
	KSO BO (%)	-	%100	-	-	%0	%16.6	%50

ES: Eksplant Sayısı, KaO: Kallus Oluşumu, KSO: Kallustan Sürgün Oluşumu, KSO BO: Kallustan Sürgün Oluşumu Başarı Oranı

Çizelge 4.5 incelendiğinde Yusufeli genotipinde kallustan sürgün oluşumunda başarı oranı en fazla sürgün ucu eksplantında %100 ile MS1 alt kültür ortamında gözlemlenmiştir. Kök ve kotiledon eksplantları için kallustan sürgün oluşumu genel olarak hesaplanamamıştır fakat kök için MS2 ve MS4, kotiledon için ise MS4 ve MS6 alt kültürlerinde gözlemlenen rejenerasyon sonuçları %0 olarak hesaplanmıştır.

4.6. *İn Vitro* Ortamda Çimlendirilen Arhavi Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Kök, Sap, Kotiledon ve Sürgün Ucu Eksplantları İçin Rejenerasyon Sonuçları

İn vitro ortamda çimlendirilen Arhavi genotipinin kök eksplantından elde edilen alt kültürlerinden kök oluşumu, kallus oluşumu ve kallusdan sürgün oluşum oranları Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Şekil 4.11.a’da Arhavi genotipine ait MS0 ortamında kök eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kallus rejenerasyonu görüntüsü, Şekil 4.11.b’de ise Arhavi genotipine ait MS3 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu görüntüsü, Şekil 4.11.c’de Arhavi genotipine ait MS4 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök rejenerasyonu görüntüsü, Şekil 4.11.d’de Arhavi genotipine ait MS1 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyon görüntüsü, Şekil 4.11.e’de Arhavi genotipine ait MS0 ortamında sap eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyon görüntüsü ve Şekil 4.11.f’de Arhavi genotipine ait MS2 ortamında sap eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyon görüntüsü yer almaktadır.

Çizelge 4.6. Arhavi genotipine ait eksplantların oluşturmuş olduğu direk sürgün, kök, kallus oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler

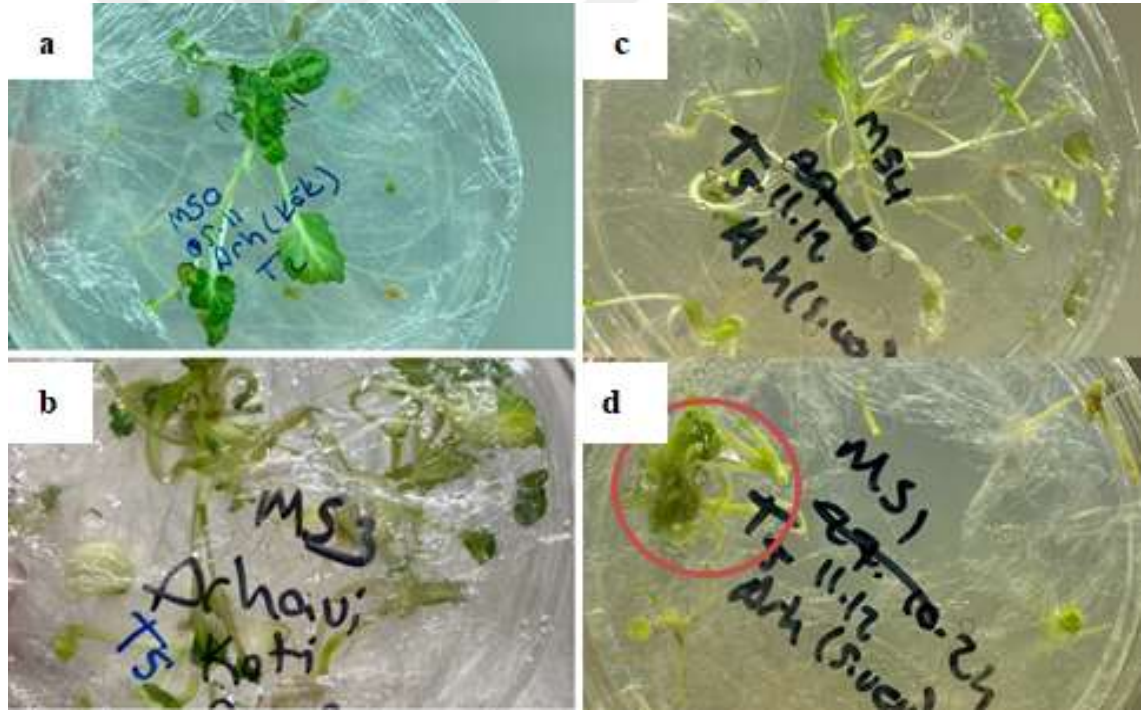
ARHAVİ GENOTİPİ								
Eksplant Kaynağı		Besi Ortamı						
		MS0	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6
Kök	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	50
	DS (adet)	0	0	0	0	0	0	0
	DS BO (%)	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%0
	KO (adet)	50	14	8	13	21	38	40
	KO BO (%)	%100	%28	%16	%26	%42	%76	%80
	KaO (Adet)	1	7	14	7	13	10	22
	KaO BO (%)	%2	%14	%28	%14	%26	%20	%44
	Genel BO (%)	%102	%42	%44	%40	%68	%96	%124
Sap	ES (adet)	50	50	60	50	50	50	50
	DS (adet)	0	0	1	0	0	0	0
	DS BO (%)	%0	%0	%1.67	%0	%0	%0	%0
	KO (adet)	40	1	1	9	50	0	0
	KO BO (%)	%80	%2	%1.67	%18	%100	%0	%0
	KaO (Adet)	31	46	40	46	9	30	38
	KaO BO (%)	%62	%92	%66.67	%92	%9	%60	%76
	Genel BO (%)	%42	%94	%70	%110	%118	%60	%76
Kotiledon	ES (adet)	50	50	50	50	60	50	60
	DS (adet)	0	0	0	8	1	0	0
	DS BO (%)	%0	%0	%0	%16	%1.67	%0	%0
	KO (adet)	2	0	8	44	60	2	16
	KO BO (%)	%4	%0	%16	%88	%100	%4	%26.67
	KaO (Adet)	0	0	10	8	1	0	15
	KaO BO (%)	%0	%0	%20	%16	%1.67	%0	%30

(Devamı arkada)

Çizelge 4.6'nın devamı

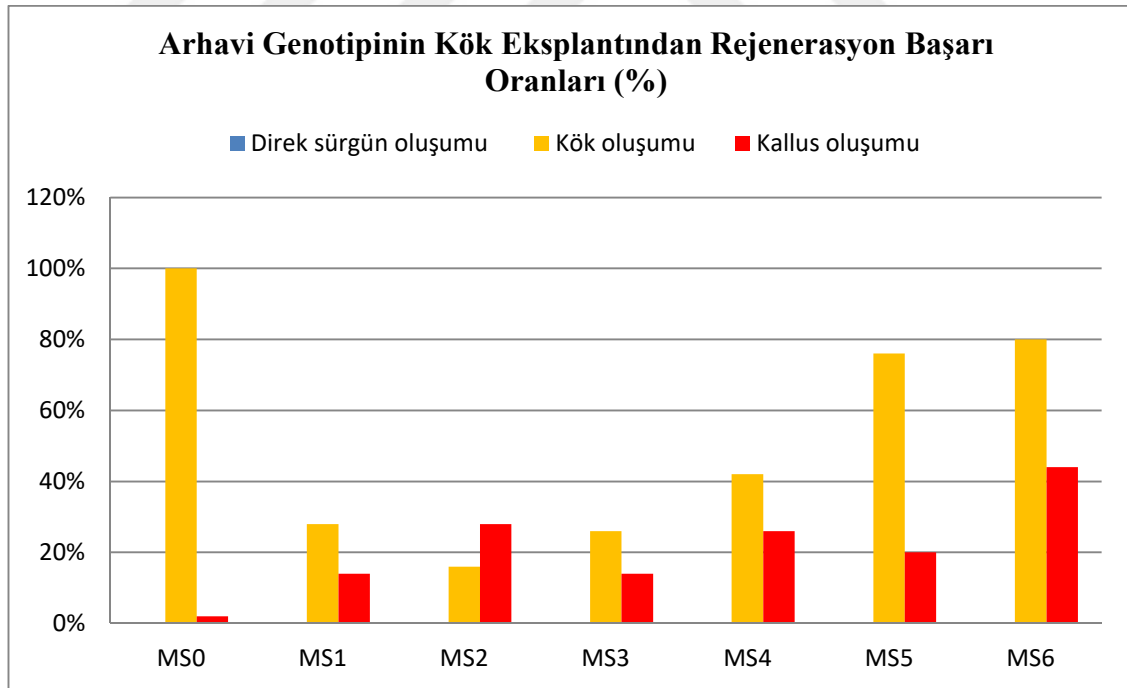
	Genel BO (%)	%4	%0	%36	%12	%103.3	%4	%51.7
Sürgün Ucu	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	50
	DS (adet)	39	45	48	49	40	43	50
	DS BO (%)	%78	%90	%96	%98	%80	%86	%100
	KO (adet)	17	0	0	30	22	0	0
	KO BO (%)	%34	%0	%0	%60	%44	%0	%0
	KaO (Adet)	0	1	0	0	0	3	2
	KaO BO (%)	%0	%2	%0	%0	%0	%6	%4
	Genel BO (%)	%112	%92	%96	%158	%124	%92	%4
BOG GBO(%)		%90	%57	%61.9	%107	%103.3	%63	%87.1

ES: Eksplant Sayısı, DS: Direkt Sürgün, DS BO: Direkt Sürgün Başarı Oranı KO: Kök Oluşumu, KO BO: Kök Oluşumu Başarı Oranı, KaO: Kallus Oluşumu, KaO BO: Kallus Oluşumu Başarı Oranı, Genel BO: Genel Başarı Oranı, BOG GBO: Besi Ortamlarına Göre Genel Başarı Oranı

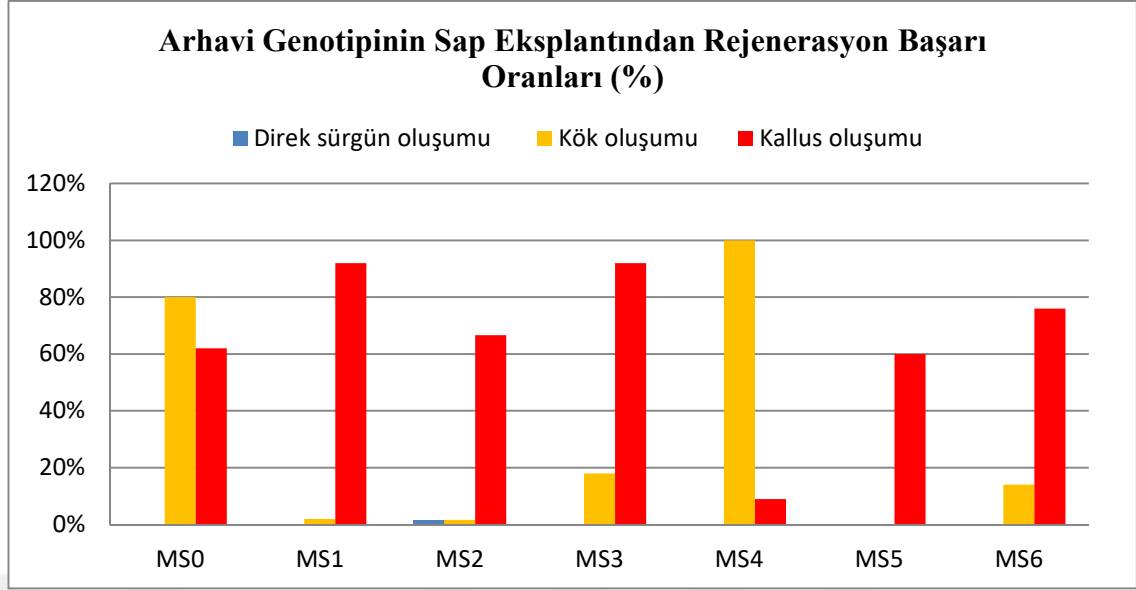




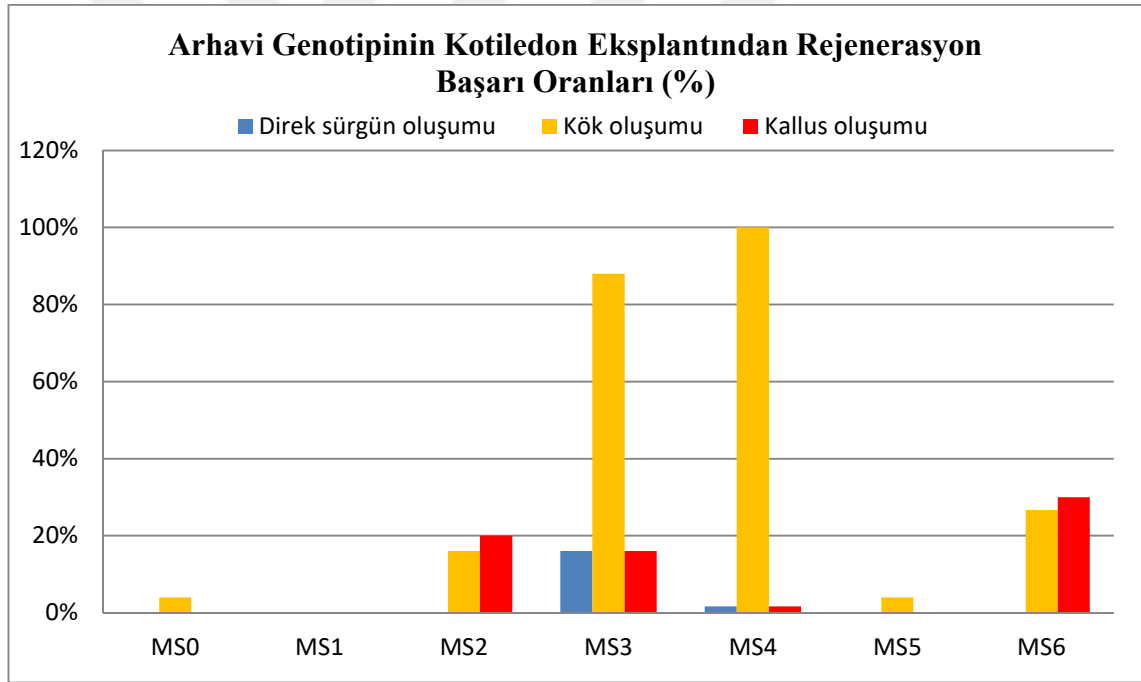
Şekil 4.11. a) Arhavi genotipine ait yalın MS ortamında kök eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kallus rejenerasyonu; **b)** Arhavi genotipine ait MS3 ortamında kotiledon eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; **c)** Arhavi genotipine ait MS4 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün ve kök rejenerasyonu; **d)** Arhavi genotipine ait MS1 ortamında sürgün ucu eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; **e)** Arhavi genotipine ait yalın MS ortamında sap eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu; **f)** Arhavi genotipine ait MS2 ortamında sap eksplantında gözlemlenen direk sürgün rejenerasyonu



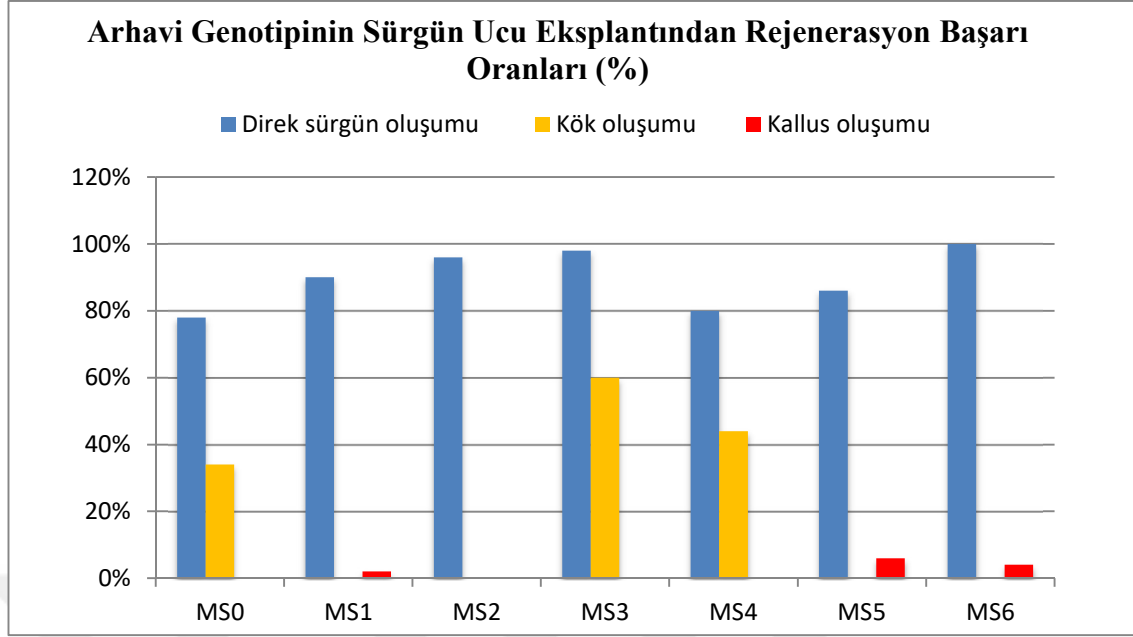
Şekil 4.12. Arhavi genotipine ait kök eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.13. Arhavi genotipine ait sap eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.14. Arhavi genotipine ait kotiledon eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları



Şekil 4.15. Arhavi genotipine ait sürgün ucu eksplantında oluşan rejenerasyon başarı oranları

Çizelge 4.6 ve Şekil 4.12, 4.13, 4.14 ve 4.15'in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi alt kültürlerin hormon kombinasyonlarında kök, sap, kotiledon eksplant türlerine göre farklı başarı oranları elde edilmiştir.

Arhavi genotipinde kök eksplantından petri başına 10 adet 5'er tekerrür olmak üzere toplam 380 adet kök alt kültüre alınmıştır. Sap eksplantı için petri başına 10 adet her bir alt kültür için ise 5-6 tekerrür 360 adet sap alt kültüre alınmıştır ve kotiledon eksplantı için besi ortamı başına adet 5-6 tekerrür 370 adet ve sürgün ucu eksplantı için yine petri başına 10 adet olacak şekilde 5 tekerrür 350 adet sürgün ucu eksplantı alt kültüre alınmıştır.

Yine bu dört eksplant içinde bütün besi ortamları arasında en yüksek rejenerasyonun MS4 yani 1.0 mg/lt IAA hormon içeren ortamda %103.3 oranında gözlemlenmiştir ve en düşük ise MS2 yani 1.0 mg/lt BAP hormonunu içeren ortamda %57 oranında gözlemlenmiştir.

4.7. *İn Vitro* Ortamda Çimlendirilen Arhavi Genotipine Ait Karalahana Bitkisinin Eksplantları İçin Kallus Sayıları, Kallustan Sürgün Oluşum Sayıları ve Başarı Oranlarına (%) ilişkin veriler.

İn vitro ortamda çimlendirilen Karalahana için yapılan Arhavi genotipinin eksplantlarından elde edilen alt kültürlerden kallus oluşumu, kallustan sürgün oluşumu ve başarı oranları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Arhavi genotipinin eksplantlarına ait kallustan sürgün oluşum sayıları ve başarı oranlarına ilişkin veriler

Eksplant Kaynağı		ARHAVİ GENOTİPİ						
		Besi Ortamı						
Kök		MS0	MS1	MS2	MS3	MS4	MS5	MS6
	ES (adet)	50	50	80	50	50	50	50
	KS(Adet)	1	7	14	7	13	10	22
	KSO (Adet)	0	0	0	0	0	0	0
Sap	KSO BO (%)	%0	%0	%0	%0	%0	%0	%0
	ES (adet)	50	50	60	50	50	50	50
	KS(Adet)	31	46	40	46	9	30	38
	KSO (Adet)	3	0	0	0	0	0	0
Kotiledon	KSO BO (%)	%9.68	%0	%0	%0	%0	%0	%0
	ES (adet)	50	50	50	50	60	50	50
	KS(Adet)	0	0	10	8	1	0	15
	KSO (Adet)	0	0	0	4	0	0	0
Sürgün Ucu	KSO BO (%)	-	-	%0	%50	%0	-	%0
	ES (adet)	50	50	50	50	50	50	50
	KS(Adet)	0	1	0	0	0	3	2
	KSO (Adet)	0	1	0	0	0	0	0
	KSO BO (%)	-	%100	-	-	-	%0	%0

ES: Eksplant Sayısı, KaO: Kallus Oluşumu, KSO: Kallustan Sürgün Oluşumu, KSO BO: Kallustan Sürgün Oluşumu Başarı Oranı

Çizelge 4.7 incelendiğinde Arhavi genotipinde kallustan sürgün oluşumunda başarı oranı en iyi sürgün ucu eksplantında MS1 yani 0.5 mg/lt BAP hormonunu içeren ortamda %100 rejenerasyon göstermiştir. En düşük rejenerasyon ise kök eksplantında bütün alt kültürlerde %0 olarak gözlemlenirken sap eksplantının MS0 alt kültüründe %9.68 oranında rejenerasyon gözlemlenmiştir. Kotiledon eksplantında MS0, MS1 ve MS5 alt kültürleri ile sürgün ucu eksplantında MS0, MS2, MS3, MS4 ortamlarında kallustan sürgün oluşumunun başarı oranı hesaplanamamıştır.

Bütün bu veriler genel olarak değerlendirilecek olursa, eksplantlardan meydana gelen ilk rejenerasyonların gözlemlendiği ortam yalın MS0 ortamı ve hormonlu MS4 yani 1.0 mg/lt IAA hormon içeren ortamdır. Yani karalahananın in vitro rejenerasyon yeteneğinin yüksek olduğu fakat konsantrasyon arttıkça rejenerasyon oranının da düştüğü gözlemlenmiştir.

Arhavi, Yusufeli ve Rize genotiplerinde özellikle sürgün ucu eksplantlarında, IAA ve BAP hormonlarının beraber kullanıldığı MS5 ve MS6 besi ortamlarında direk sürgün rejenerasyonu %100 olarak en yüksek şekilde gözlemlenmiştir. Kallus oluşumu ise üç genotip için de sap eksplantında gözlemlenmiş olup genelde IAA'in kullanıldığı MS3 ve MS4 besi ortamlarında gözlemlenmiştir. Kallustan sürgün oluşumu ise en yüksek BAP hormonunun kullanıldığı MS1 besi ortamında gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.8. Besi ortamına ilişkin varyans analizi tablosu

	Besi Ortamı	N	Ortalama Sıra
Direk Sürgün	MS0	60	216.07
	MS1	62	221.17
	MS2	61	224.90
	MS3	61	240.47
	MS4	68	219.36
	MS5	60	220.18
	MS6	73	219.78
	Toplam	445	
Sadece Kök*	MS0	60	281.08 ^a
	MS1	62	169.15 ^b
	MS2	61	151.21 ^b
	MS3	61	283.75 ^a
	MS4	68	316.93 ^a
	MS5	60	181.94 ^b
	MS6	73	176.48 ^b
	Toplam	445	
Kallus	MS0	60	210.70
	MS1	62	224.32
	MS2	61	229.57
	MS3	61	216.66
	MS4	68	219.21
	MS5	60	219.73
	MS6	73	238.02
	Toplam	445	
Kallustan Sürgün	MS0	60	222.69
	MS1	62	218.52
	MS2	61	218.79
	MS3	61	229.74
	MS4	68	214.70
	MS5	60	234.06
	MS6	73	223.60
	Toplam	445	

* (p<0.05) düzeyinde önemli

Araştırmaya konu besi ortamlarından elde edilen veriler kullanılarak yapılan istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Araştırmadan elde edilen veriler uygulanan istatistiksel analiz sonucuna göre besi ortamları arasında direk sürgün, kallus ve kallustan sürgün oluşumu bakımından farkların istatistiksel anlamda önemli olmadığı tespit edilmiştir. Besi ortamları arasında sadece kök oluşumu bakımından istatistiksel anlamda %5 düzeyinde fark olduğu tespit edilmiştir. Sadece kök oluşumu bakımından istatistiksel anlamda en iyi besi ortamları MS0, MS3 ve MS4 aynı grupta yer alırken MS1, MS2, MS5 ve MS6 ise bir alt grupta yer almıştır (Çizelge 4.8).

Araştırmaya konu eksplant kaynaklarından elde edilen veriler kullanılarak yapılan istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.9. Araştırmada kullanılan eksplant kaynaklarına ilişkin varyans analizi tablosu

	Eksplant	N	Ortalama Sıra
Direk Sürgün*	Kök	111	166.00 ^a
	Sap	120	170.10 ^a
	Kotiledon	114	183.14 ^a
	Sürgün ucu	100	395.18 ^b
	Toplam	445	
Sadece Kök*	Kök	111	248.17 ^a
	Sap	120	205.18 ^b
	Kotiledon	114	210.41 ^{ab}
	Sürgün ucu	100	230.80 ^{ab}
	Toplam	445	
Kallus*	Kök	111	230.04 ^a
	Sap	120	287.01 ^b
	Kotiledon	114	189.09 ^c
	Sürgün ucu	100	177.03 ^c
	Toplam	445	
Kallustan Sürgün*	Kök	111	211.50 ^a
	Sap	120	222.61 ^{ab}
	Kotiledon	114	225.19 ^{ab}
	Sürgün ucu	100	233.74 ^b
	Toplam	445	

* (p<0.05) düzeyinde önemli

Araştırmadan elde edilen verilere uygulanan istatistikî analiz sonucuna göre eksplant kaynakları bakımından direk sürgün, sadece kök, kallus ve kallustan sürgün oluşumu bakımından istatistikî anlamda %5 düzeyinde fark olduğu tespit edilmiştir.

Direk sürgün oluşumu bakımından kök, sap ve kotiledon aynı grupta yer alırken sürgün ucu eksplant bir alt grupta yer almıştır. Sadece kök oluşumu bakımından kök ile sap arasında %5 düzeyinde fark olduğu tespit edilmiştir. Kotiledon ve sürgün ucu ise her iki grupta da istatistiksel olarak benzer düzeyde olduğu görülmüştür. Kallus oluşumu bakımından kök eksplant ilk sırada, sap eksplant ikinci sırada ve kotiledon ile sürgün ucu eksplant ise üçüncü sırada yer almıştır. Kallustan sürgün oluşumu bakımından kök eksplant birinci sırada, sürgün ucu eksplant ikinci sırada, sap ve kotiledon eksplantları ise bu iki grup arasında yer almıştır.

Araştırmaya konu karalahana genotiplerinden elde edilen veriler kullanılarak yapılan istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10. Karalahana genotiplerine ilişkin varyans analizi tablosu

	Genotip	N	Ortalama Sıra
Direk Sürgün	Rize	145	229.94
	Arhavi	141	230.51
	Yusufeli	159	210.01
	Toplam	445	
Sadece Kök*	Rize	145	226.90 ^{ab}
	Arhavi	141	240.89^a
	Yusufeli	159	203.58^b
	Toplam	445	
Kallus*	Rize	145	206.26^a
	Arhavi	141	254.87^b
	Yusufeli	159	210.01 ^a
	Toplam	445	
Kallustan Sürgün*	Rize	145	233.10^a
	Arhavi	141	219.35 ^{ab}
	Yusufeli	159	217.03^b
	Toplam	445	

* (p<0.05) düzeyinde önemli

Araştırmadan elde edilen verilere uygulanan istatistikî analiz sonucuna göre karalahana genotipleri arasında direk sürgün oluşumu bakımından istatistikî anlamda fark

yoktur. Sadece kök oluşumu bakımından Arhavi genotipinin en iyi ve Yusufeli genotipinin ise bir alt grupta yer aldığı, Rize genotipinin ise her iki genotiple benzer olduğu tespit edilmiştir. Kallus oluşumu bakımından Rize ve Yusufeli genotiplerinin aynı grupta yer aldığı ve Arhavi genotipinin ise bir alt grupta yer aldığı tespit edilmiştir. Kallustan sürgün oluşumu bakımından ise Rize genotipinin en iyi olduğu, Yusufeli genotipinin bir alt grupta ve Arhavi genotipinin ise bu iki grup arasında yer aldığı tespit edilmiştir.



5. TARTIŞMA

Brassica oleracea var. *acephala*, *Brassica* çeşitleri arasından en eski, stres faktörüne en dirençli ve besin değeri açısından da oldukça yüksek değerlere sahip bir sebze çeşitidir. Kamińska ve Sliwinska (2023) yapmış olduğu çalışmada sürgün ucu eksplantları kullanılarak gözlemlenen sonuçlarda en etkili sonucun 2.5 mg/lt BAP ile sağlanmış olup köklenme için IAA hormonu kullanılmış olup en iyi köklenme 1.0 mg/lt ile sağlanmıştır. Tez çalışmamızda ise, Yusufeli ve Arhavi genotipinde kök oluşumunun yalın besi ortamında görüldüğü, Rize genotipinde ise 1.0 mg/lt oranında IAA hormonu içeren ortamda köklenme sağlanmıştır.

Bir başka çalışmada ise BAP ve IAA hormonlarının kullanıldığı MS besi ortamlarında, *Brassica juncea*'nın hipokotil ve kotiledon eksplantlarının kültüre alındığı ve en iyi sürgün rejenerasyonunun ise 2.0 mg/lt BAP+0.5 mg/lt IAA hormonlarının bulunduğu besi ortamında sağlandığı bildirilmiştir (Dhawan vd., 2000; Koç, 2015). Bizim çalışmamızda ise sonuçlar ele alındığında sürgün ucu eksplantında direk sürgün rejenerasyonu açısından 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA oranlarında hormon kullanıldığı zaman ve 1.0 mg/lt oranında IAA hormonu içeren ortam kullanıldığında en iyi rejenerasyon sağlandığı görülmüştür.

Ono vd. (1994)'tarafından *Brassica napus* L.'nin 100 çeşitinde kotiledon eksplantına ve bu eksplantın yaşındaki avantajlı sürgün rejenerasyonu üzerindeki etkisi araştırılmış olup en yüksek sürgün rejenerasyonunun 4 mg/lt BAP içeren MS besi ortamında tespit edilmiştir. Yazlık ve kışlık *Brassica napus* L. olarak da ayrılan çeşitlerin ise sürgün rejenerasyonunu etkilemediği anlaşılmıştır (Ono vd., 1994; Koç, 2015). Tez çalışmamızda ise direk sürgün rejenerasyonu en iyi sürgün ucu eksplantında 1 mg/lt BAP içeren MS4 besi ortamında ve 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt oranlarında BAP ile IAA hormonlarının dengede bulunduğu MS6 besi ortamında gözlemlenmiştir.

Bir başka çalışmada uygun bir protokol geliştirmek amacı ile lahana bitkisinin kotiledon ve hipokotil kısımları kullanılarak bitki rejenerasyon potansiyelleri incelenmiştir. Bu inceleme için 9 gün steril şartlarda yetiştirilmiş *Brassica oleracea* L. var. *capitata* fideleri tercih edilmiştir. Otuz altı farklı besiyerinde kullanılan hormondan en iyi sonuç alınan hormon kombinasyonları, kotiledon eksplantında 1.5 mg/l BAP ile 0.50 mg/l NAA ve 2 mg/l BAP ile 0.25 mg/l IAA olmuştur. Deney 3 tekrardan oluşmuştur ve her muamele 30 eksplant içermektedir. Kök rejenerasyonu en fazla 0.10 mg/l IBA hormonlu ortamında %90 şeklinde gözlemlenmiştir. Sürgün rejenerasyonu için ise en yüksek 2 mg/l BAP + 0.25 mg/l IAA hormon içeren ortamda, en düşük ise 1 mg/l BAP + 0.50 mg/l IAA içeren ortamda gözlemlenmiştir. Besi ortamında 2,4-D hormonunun kullanılması halinde kalluslar gözlemlenmiştir. Hormonlar arasından IBA'nın %89.63 oranla en yüksek kök rejenerasyonu gösterdiğini %88.85 ile IAA hormonunun kotiledon eksplantında istatistiksel olarak aynı seviyede olduğu gözlemlenmiştir. IAA hormonunda %89.63 oranında ise hipokotil eksplantında en yüksek kök rejenerasyonunun istatistiksel açıdan %87.57 IBA hormonunda ve %83.61 ise NAA hormonlarında aynı olduğu tespit edilmiştir. %71.11 NAA ve %61.66 oranlarında kotiledon ekplantında daha az şekilde gözlemlenirken hipokotil eksplantında ise %70.36 oranında 2,4-D hormonunda daha az etkili olduğu gözlemlenmiştir çünkü bitki sürgünlerinin tabanında kallusların meydana geldiği gözlemlenmiştir (Sharma vd., 2014).

Bu çalışmada ise istatistiki analiz sonuçlarına göre besi ortamları arasında, sadece kök oluşumu açısından %5 farklılık tespit edilmiştir.

Cristea vd.'nin yapmış olduğu çalışmada *Brassica oleracea* L. var. *capitata* bitkisi kullanılarak *in vitro* kültüründen elde edilen farklı MS besi ortamlarının hormonlar kullanılarak mikroçoğaltım ve iklimlendirilmesi amacı ile uygun bir protokol geliştirilmesi hedeflenmiştir. Elde edilen en iyi sürgün sayısı %97.5 oranında 2 mg/lt BAP+0.5 mg/lt IAA hormonlu ortamda gözlemlenmiştir. Vejetatif tomurcuklar da en yüksek BAP hormonlu ortamda gözlemlenmiştir. Güçlü kökleri olan rejeneratif sürgün sayısı ise IAA hormon ilavesi ile artmıştır (Cristea vd., 2007). Bizim çalışmamızda genel bir değerlendirme yapıldığı zaman en iyi köklenmenin 1.0 mg/lt IAA kullanılan besi ortamında gerçekleştiği görülmüştür. En iyi sürgün rejenerasyonu ise 1.0 mg/lt BAP kullanılan besi ortamında gözlemlenmiştir.

Brassica eksplantlarından organogenez ve somatik embriyogenez yöntemi ile *in vitro* ortamda bitki rejenerasyonunu konusunu aydınlatmak amacı ile Ravanfar vd., yaptığı çalışma ile *in vitro* rejenerasyon sisteminin ekonomik değerini artırmada önem arz ettiği kanısına varılmıştır. Sitokininler, hücre bölünmesini sağlayabilmek için genelde bir oksin ile kullanıldığında bitkinin büyüme ve gelişmesini teşvik eder. BAP, en sık kullanılan sitokinin hormonları arasında yer almaktadır. Çalışmada ele alınan bir *Brassicaceae* (turpgiller) türü olan *B. oleracea* L.'den sürgün rejenerasyonu elde edebilmek için en sık kullanılan NAA oksin ile sitokinin hormonu birlikte kullanılmıştır (Bhalla & De Weerd, 1999; Zhang vd., 2011; Ravanfar vd., 2017). Çalışmada, sürgün rejenerasyonunun artmasında genetik dönüşüm verimliliğini iyileştirmenin bir sonucu olduğu tespit edilmiştir (Ravanfar vd., 2017).

Ahmad ve Spoor (1999) tarafından yapılan çalışmada *Brassica oleracea* L.var *acephala* (Kıvırcık lahana) bitkisi üzerinde yapılan bitki büyüme düzenleyicileri ile ilgili çalışmada NAA (Naftalen asetik asit) ve BAP (6-Benzil Amino Purin) hormonları kullanılmıştır. Birlikte ve ayrı ayrı kullanılan bu hormon konsantrasyonlarında farklı etkiler tespit edilmiştir. Bu iki hormon dengede olduğu zaman kallus büyümesi gözlemlenmiştir. NAA hormonunun hiç kullanılmadığı ya da düşük konsantrasyonda kullanıldığı besi ortamlarında sürgün oluşumu tespit edilmiştir. Maksimum kallus büyümesi 1-1.5 mg/lt NAA ve BAP eklenen ortamlarda gözlemlenirken, sadece 1 mg/lt BAP ile desteklenen ortamlarda en iyi rejenerasyon tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise NAA yerine IAA kullanılmıştır ve çalışma ile benzer şekilde IAA hormonu hiç kullanılmadığı zaman ya da düşük miktarlarda kullanıldığında sürgün oluşumu gözlemlenmiştir. Maksimum kallus 1 mg/lt BAP ile desteklenen ortamda gözlemlenmiştir.

Bizim tez çalışmamız ise genel olarak değerlendirilecek olursa, BAP ve IAA hormonları birlikte ve ayrı ayrı kullanılarak diğer çalışmalardaki gibi farklı etkiler görülmüştür. Genel rejenerasyon sonuçları değerlendirildiği zaman 1.0 mg/lt IAA kullanılan MS4 ve hiç hormon kullanılmayan yalın besi ortamında en iyi rejenerasyon, 0.5 mg/lt BAP oranında hormon kullanıldığı MS1 besi ortamında en düşük rejenerasyon gözlemlenmiştir.

Besi ortamlarına göre ise genel başarı oranları değerlendirildiğinde en yüksek rejenerasyonlar, Rize genotipinde 1.0 mg/lt IAA kullanılan MS4, Arhavi genotipinde 0.5

mg/lt IAA kullanılan MS3 ve Yusufeli genotipinde ise kontrol olarak kullanılan yalın besi ortamı olan MS0'da gözlemlenmiştir. En düşük rejenerasyonlar ise Rize ve Arhavi genotipi için 0.5 mg/lt BAP kullanılan MS1 ve Yusufeli genotipi için ise 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA oranlarında eşit miktarlarda hormon kullanılan MS6 besi ortamında tespit edilmiştir.



6. SONUÇ

Karalahana *Brassicaceae* familyasından *Brassica* cinsi içerisinde *Brassica oleracea* L. var *acephala* olarak sınıflandırılmaktadır (Açıkgöz, 2014; Güvenç, 2016; Yaşar, 2023). Akdeniz kökenli olan Karalahana besin değeri, sağlık ve ekonomik açıdan oldukça önemli olması bakımından birçok açıdan literatür çalışmalarına konu olmuştur. *Brassica* cinslerinde bitkilerin besin içerikleri mevsim değişimlerden etkilenir (Açıkgöz, 2014). Bu bitkiye ihtiyaç arttıkça, dış faktörlerden etkilenmemesi açısından farklı *in vitro* çalışma protokolleri geliştirilmiştir. Bu çalışmada, Karalahana'nın Rize, Arhavi ve Yusufeli genotiplerinin kök, sap ve kotiledon eksplantlarından farklı konsantrasyonlarda İndol-3-Asetik Asit (oksin) ve 6-Benzyl amino pürin (Sitokinin) hormonlarının içerdiği 7 farklı MS besi ortamlarında *in vitro* rejenerasyon çalışması yapılmıştır. Yusufeli ekimleri için bütün magentalarda tohum kaynaklı olduğu tahmin edilen kontaminasyonlar gözlemlenmiştir.

Rize genotipi için;

- Direk Sürgün rejenerasyon başarı oranı en fazla sürgün ucu eksplantında 1.0 mg/lt IAA (MS4) hormonu içeren ortamda %100 oranında gözlemlenmiştir.
- Kök oluşumunda en yüksek başarı oranı ise sap ve kotiledon eksplantlarında 1.0 mg/lt IAA (MS4) hormonu içeren ortamda %100 oranında gözlemlenmiştir.
- Kallus oluşumunda ise en yüksek rejenerasyon, sap eksplantında %44 oranında 1.0 mg/lt IAA (MS4) hormonu içeren ortamda gözlemlenmiştir.
- Kallustan sürgün oluşumu ise en yüksek BAP ve IAA hormonlarının birlikte ve ayrı ayrı da kullanılmış olduğu MS1, MS3 ve MS5 ortamlarında %100 rejenerasyon gözlemlenmiştir.

Araştırmada kullanılan besi ortamları bu dört eksplant kaynağı bakımından birlikte değerlendirildiğinde en yüksek rejenerasyonun MS4 (1.0 mg/lt IAA) besi ortamında %126.4 oranında gözlemlendiği ve en düşük rejenerasyonun ise MS1 (0.5 mg/lt BAP) besi ortamında %32 olarak gözlemlendiği tespit edilmiştir.

Yusufeli genotipi için;

- Direk sürgün rejenerasyonu en fazla 1.0 mg/lt BAP+0.5 mg/lt IAA (MS5) hormonlarını içeren ortamda sürgün ucu eksplantında %96 oranında gözlemlenmiştir.
- Kök oluşumu ise yalın besi ortamında (MS0) en yüksek, kök eksplantlarından elde edilmiş olup %100 oranında gözlemlenmiştir.
- Kallus oluşumunda ise en yüksek rejenerasyon, 1.0 mg/lt BAP (MS2) hormonu içeren ortamda sap eksplantında %100 oranında gözlemlenmiştir.
- Kallustan sürgün oluşumu ise en fazla 0.5 mg/lt BAP (MS1) hormon içeren besi ortamında %100 rejenerasyon gözlemlenmiştir.

Araştırmada kullanılan besi ortamları bu dört eksplant kaynağı bakımından birlikte değerlendirildiğinde en yüksek rejenerasyon kontrol olarak kullanılan MS0 (1.0 mg/lt IAA) yalın besi ortamında %92 oranı ile ve en düşük ise MS6 (1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA)'in dengede olduğu besi ortamında %28,8 olarak gerçekleşmiştir.

Arhavi genotipi için;

- Direk sürgün rejenerasyonu en fazla 1.0 mg/lt BAP+1.0 mg/lt IAA (MS6) hormonu içeren ortamdan elde edilmiş olup sürgün ucu eksplantında %100 olarak gözlemlenmiştir.
- Kök oluşumu ise en yüksek kök eksplant ekimi yapılan yalın besi ortamında (MS0) ve %100 oranında gözlemlenirken sap ve kotiledon eksplantında 1.0 mg/lt IAA (MS4) hormonu içeren besi ortamında yine %100 oranında gözlemlenmiştir.
- Kallus oluşumunda ise en yüksek rejenerasyon, sap eksplantında 0.5 mg/lt BAP (MS1) ve 0.5 mg/lt IAA (MS3) hormonu içeren besi ortamlarında %92 oranında gözlemlenmiştir.
- Kallustan sürgün oluşumu ise en yüksek sürgün ucu eksplantında 0.5 mg/lt BAP (MS1) besi ortamında %100 oranında gerçekleşmiştir. Genel olarak kallus gözlemlenemediği için kallustan sürgün de gözlemlenememiş olup kallustan sürgün rejenerasyon oranları hesaplanamamıştır.

Araştırmada kullanılan besi ortamları bu dört eksplant kaynağı bakımından birlikte değerlendirildiğinde MS3 (0.5 mg/lt IAA) besi ortamında %107 oranında en yüksek rejenerasyon gözlemlenmiştir. En düşük ise MS1 (0.5 mg/lt BAP) besi ortamında %57 oranında gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Araştırmadan elde edilen bu sonuçlar değerlendirildiğinde Karalahana'nın 3 genotipinin de *in vitro* rejenerasyon sonuçlarının genotip, ortam bileşenleri ve eksplant kaynağına bağlı olarak değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca genel olarak en iyi besi ortamının yalın besi ortamı olan MS0 ve MS4 yani 1.0 mg/lt IAA hormon ilaveli besi ortamı olarak kullanılmasının rejenerasyon oluşumu açısından etkili olduğunun, 0.5 mg/lt BAP kullanılan besi ortamlarından MS1 ortamında düşük rejenerasyonlar gözlemlendiği için tercih edilmemesi gerektiği kanısına varılmıştır.

Karalahana *in vitro* kültüründe daha etkili sonuçlar elde edebilmek için;

- Farklı eksplant çeşitleri kullanılabilir,
- Daha farklı hormon çeşitleri ve farklı konsantrasyon aralıklarında hormon dozu optimizasyonu yapılabilir,
- *In vitro* kültür sonrası bitkilerin dış ortama adaptasyonu çalışılabilir ya da farklı genotiplerin doku kültürüne uyumları çalışılarak genotipin başarı oranları üzerindeki etkileri incelenebilir.

7. KAYNAKLAR

- Açıkgöz, F.E. 2014. Farklı ekim zamanlarında yetiştirilen ve sebze olarak tüketimi önerilen kanola yeşilliklerinde (*Brassica napus* L.) C vitamini, ham protein ve mineral madde içeriklerinin belirlenmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (1): 43-51.
- Ahmad, S., & Spoor, W. 1999. Effect of NAA and BAP on callus culture and plant regeneration in Curly kale (*Brassica oleracea* L.). *Pakistan Journal of Biological Sciences* (Pakistan), 2 (1): 109-112.
- Algül, B. E., Tekintaş, F. E., & Günver Dalkılıç, G. 2016. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Kullanımı ve İçsel Hormonların Biyosentezini Arttırıcı Uygulamalar. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 13 (2): 87-87.
- Alibas, İ. 2009. Microwave, vacuum, and air drying characteristics of collard leaves. *Drying Technology*, 27 (11): 1266-1273.
- Alibas, İ., & Okursoy, R. 2012. Karalahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*), Pazı (*Beta vulgaris* L. var. *Cicla*) ve Ispanak (*Spinacia oleracea* L.) yapraklarının bazı teknik özellikleri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26 (1): 39-48.
- Anonim 1: Lahana Yetiştiriciliği.
<https://www.gencziraat.com/Bahce-Bitkileri/Lahana-Yetistirciligi-12.html> [Son erişim tarihi: 07.12.2008].
- Anonim 2: Sifali Bitkiler Sözlüğü -L- harfi.
https://www.islamiokul.com/kutuphane/muhtelif/bitkiler/bitki%281%29.htm?utm_source [Son erişim tarihi: 20.10.2004].
- Arvas, Y. E., & Kocaçalışkan, İ. 2020. Genetiği değiştirilmiş bitkilerin biyogüvenlik riskleri. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 9 (2): 201-210.
- Aydın M. 2022. Çörek otu (*Nigella sativa* L.) bitkisinde embriyo kültürü aracılığıyla ıslah hatlarının geliştirilmesi. Yüksek Lisans tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 53 s.
- Babaoğlu, M. 2002. Bitki Büyüme Düzenleyicileri Türkiye'deki Durum ve Sağlık Açısından Değerlendirmeler. Ders Notları, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü, Konya. www.biyoteknoloji.gen.tr [Son erişim tarihi: 10.12.2024].
- Bairu, M. W., Aremu, A. O., & Van Staden, J. 2011. Somaclonal variation in plants: Causes and detection methods. *Plant Growth Regulation*, 63 (2): 147-173.
- Balkaya, A., & Yanmaz, R. 2005. Promising kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) populations from Black Sea region, Turkey. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 33 (1): 1-7.
- Balkaya, A., Yanmaz, R., Demir, E., & Ergün, A. 2003. A research on collection of genetic resources, characterization of kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) and selection of suitable types for fresh consumption in the Black Sea Region. The

- Scientific and Technical Research (TUBITAK Project No. TOG TAG 2826). 4 th Research Development Results.
- Bayraktar K, Günay B. 1996. Sebze Yetiştirme. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 245, Ders Kitabı, İzmir, 360 s.
- Benli, H. İ., & Türkkkan, M. 2020. Ordu İli Yaprak Lahana Ekim Alanlarından İzole Edilen Rhizoctonia Grubu Fungusların Anastomozis Gruplarının, Karakteristik Özelliklerinin ve Patojenisitelerinin Belirlenmesi. Akademik Ziraat Dergisi, 9 (2): 229-238.
- Bhalla, P. L., & De Weerd, N. 1999. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 56 (2): 89-95.
- Bhojwani, S. S., & Razdan, M. K. 1986. Plant tissue culture: Theory and practice (Vol 5). Elsevier, Amsterdam, pp. 749.
- Budak, N., Çalışkan, C. F., & Çaylak, Ö. 1994. Bitki büyüme regülatörleri ve tarımsal üretimde kullanımı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 31 (2-3): 289-296.
- Burnett, L., Arnoldo, M., Yarrow, S., & Huang, B. 1994. Enhancement of shoot regeneration from cotyledon explants of *Brassica rapa* ssp *oleifera* through pretreatment with auxin and cytokinin and use of ethylene inhibitors. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 37 (3): 253-256.
- Cristea, T. O., Ambarus, S., Stoian, L., Falticeanu, M., & Calin, M. 2007. Studies regarding the establishment of a viable micropropagation and acclimatization protocol for *Brassica oleracea* L. plants obtained from in vitro culture. III International Symposium on Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants, 812, pp. 343-348.
- Çetin, V. 2002. Meyve ve Sebzelerde Kullanılan Bitki Gelişmeyi Düzenleyiciler. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, (2): 40-50.
- Çömlekçioğlu, N., & Kutlu, M. 2018. Yaprak lahana (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) yapraklarının fitokimyasal içeriği ve antioksidan aktivitenin mevsimsel değişimi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 55 (2): 119-127.
- Dagnaw, T., Mulugeta, B., Haileselassie, T., Geleta, M., Ortiz, R., & Tesfaye, K. 2023. Genetic Diversity of Durum Wheat (*Triticum turgidum* L. ssp. *Durum*, Desf) Germplasm as Revealed by Morphological and SSR Markers. *Genes*: 14 (6): 1155
- Davies, P. J. 1995. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology, New York, Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 833
- de Freitas-Silva, L., de Araújo, T. O., da Silva, L. C., de Oliveira, J. A., & de Araujo, J. M. 2016. Arsenic accumulation in Brassicaceae seedlings and its effects on growth and plant anatomy. *Ecotoxicology and environmental safety*, 124: 1-9.
- Deveci, M., & Tuğcu, D. 2017. Değişik vejetasyon dönemlerine kadar uygulanan farklı tuz konsantrasyonlarının yaprak lahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*)' da meydana getirdiği bazı fizyolojik ve morfolojik değişikliklerin belirlenmesi. Akademik Ziraat Dergisi, 6: 81-88.

- Dhawan, A. K., Amit Jain, A. J., Inderjeet, I., & Jaipal Singh, J. S. 2000. An efficient plant regeneration protocol from seedling explants of *Brassica juncea* RH-781, a freeze tolerant cultivar, 22: 21-22.
- Dillingen, J. B. 1956. Handbuch des Gesamten Gemüsebaues. Verlag Paul Parey, Germany, pp. 755.
- Dinçer, D., Bekçi, B., & Bekiryazıcı, F. 2016. Türkiye’deki doğal bitki türlerinin üretiminde doku kültürü tekniklerinin kullanımı. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5: 295-302.
- Erdem, M., & Uysal, H. 2021. Sentetik Tohum. Frontiers in Life Sciences and Related Technologies, 2 (2): 68-74.
- Erdem, M., Uysal, H., & Sevindik, E. 2022. Mor prens lalesi yaprak eksplantlarının in vitro rejenerasyon yeteneklerinin belirlenmesi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20 (2): 229-235.
- Farnham, M. W. 2000. Calcium and magnesium concentration of inbred and hybrid broccoli heads, 125 (3): 344-349.
- Ferioli, F., Giambanelli, E., D’Antuono, L. F., Costa, H. S., Albuquerque, T. G., Silva, A. S., Hayran, O., & Koçaoglu, B. 2013. Comparison of leafy kale populations from Italy, Portugal, and Turkey for their bioactive compound content: Phenolics, glucosinolates, carotenoids, and chlorophylls. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93 (14): 3478-3489.
- Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., & Kowalczyk, T. 2015. In vitro regeneration of eight cultivars of *Brassica oleracea* var. *capitata*. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 51 (1): 80-87.
- Golicz, A. A., Bayer, P. E., Barker, G. C., Edger, P. P., Kim, H., Martinez, P. A., Chan, C. K. K., Severn-Ellis, A., McCombie, W. R., Parkin, I. A. P., Paterson, A. H., Pires, J. C., Sharpe, A. G., Tang, H., Teakle, G. R., Town, C. D., Batley, J., & Edwards, D. 2016. The pangenome of an agronomically important crop plant *Brassica oleracea*. Nature Communications, 7 (1): 13390.
- Gonçalves, Á. L. M., Lemos, M., Niero, R., de Andrade, S. F., & Maistro, E. L. 2012. Evaluation of the genotoxic and antigenotoxic potential of *Brassica oleracea* L. var. *acephala* D.C. in different cells of mice. Journal of Ethnopharmacology, 143 (2): 740-745.
- Gönülşen, N. 1987. Bitki doku kültürleri yöntemleri ve uygulama alanları. Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları: 78, Ders Kitabı, İzmir, 140 s.
- Grunewald, W., Van Noorden, G., Van Isterdael, G., Beeckman, T., Gheysen, G., & Mathesius, U. 2009. Manipulation of auxin transport in plant roots during Rhizobium symbiosis and nematode parasitism. The plant cell, 21(9): 2553-2562.
- Güleryüz, M. 1982. Bahçe ziraatında büyütücü ve engelleyici maddelerin kullanılması ve önemi. Atatürk Üniversitesi Yayınları: 279, Ders Kitabı, Erzurum, 130 s.
- Günay, A. 1974. Lahanalarda Düşük Sıcaklığın Erken Çiçeklenmeye Etkileri Üzerine Araştırmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 498, Ders Kitabı, Ankara, 46 s.

- Gündoğdu, A. 2005. Doğu Karadeniz Bölgesinde Yetişen Karalahanalarda (*Brassica oleracea* var. *acephala*) Bazı Element Tayinlerinin Araştırılması. Yüksek Lisans tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 183 s.
- Güvenç, İ. 2016. Sebzeçilik: Temel Bilgiler, Muhafaza ve Yetiştiricilik. Nobel Akademik Yayıncılık: Ders Kitabı, Ankara, 438 s.
- Hagen, S. F., Borge, G. I. A., Solhaug, K. A., & Bengtsson, G. B. 2009. Effect of cold storage and harvest date on bioactive compounds in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Postharvest Biology and Technology, 51 (1): 36-42.
- Halloran, N., & Kasım, M. U. 2002. Meyve ve sebzelerde büyüme düzenleyici madde kullanımı ve kalıntı düzeyleri. Gıda, 27 (5): 351-359.
- Heaney, R. P., & Weaver, C. M. 1990. Calcium absorption from kale. The American journal of clinical nutrition, 51 (4): 656-657.
- Kamińska, M., & Sliwiska, E. 2023. Effective micropropagation of kale (*Brassica oleracea* convar. *acephala* var. *sabellica*): One of the most important representatives of cruciferous crops. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 153 (3): 601-609.
- Kandemir, D., Pala, K., Şahin, G. T., & Balkaya, A. 2023. Lahanagiller Familyasına Ait Bazı Sebze Türlerinin Vejetatif Büyüme Özelliklerinin İncelenmesi. Black Sea Journal of Engineering and Science, 6 (4): 624-632.
- Karakaş, İ. 2023. Bitkilerin Totipotensi Yeteneklerinin Bitki Islahında Kullanılması: Doku Kültürü Teknikleri. Acta Natura & Scientia, 4 (2): 94-113.
- Karp, A. 1994. Origins, Causes and Uses of Variation in Plant Tissue Cultures. İçinde I. K. Vasil & T. A. Thorpe (Ed.), *Plant Cell and Tissue Culture*. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 139-151.
- Kasım, D. M. U. 2023. Kocaeli Tarımı, Türkiye'deki Yeri ve Geliştirilmesine Yönelik Öneriler. Şura Akademik, 4: 11-29.
- Kayın, N., & Turan, F. 2023. Bitki Doku Kültürünün Biyoteknolojik Olarak Kullanımı. Journal of Agricultural Biotechnology, 4 (1): 1-10.
- Kaynak, L., & Ersoy, N. 1997. Bitki büyüme düzenleyicilerinin genel özellikleri ve kullanım alanları. Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture, 10 (1): 223-236.
- Klimaszewska, K., & Keller, W. A. 1985. High frequency plant regeneration from thin cell layer explants of *Brassica napus*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 4 (3): 183-197.
- Koç, Y. 2015. Bazı Humik Maddelerin Kolza (*Brassica Napus* L.) cv PR46W31 Çeşidi Üzerindeki Bazı Fizyolojik Parametreler, Sürgün Rejenerasyonu ve Antioksidant Enzim Aktivitesine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Sakarya, 57 s.
- Kuerban, A., Yaghmoor, S., Almulaiky, Y., Mohamed, Y., Razvi, S., Hasan, M., Moselhy, S., Al-Ghafari, A., Alsufiani, H., Kumosani, T., & AL-Malki, A. 2017. Therapeutic Effects of Phytochemicals of *Brassicaceae* for Management of Obesity. Journal of Pharmaceutical Research International, 19 (4): 1-11.

- Kumlay, A. M., & Eryiğit, T. 2011. Bitkilerde Büyüme ve Gelişmeyi Düzenleyici Maddeler: Bitki Hormonları. 1 (2): 47-56.
- Kuşvuran, Ş. 2010. Kavunlarda kuraklık ve tuzluluğa toleransın fizyolojik mekanizmaları arasındaki bağlantılar. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana, 356 s.
- Lizgunova, T.A. 1961. Türkiye'nin Zirai Bünyesi (Anadolu). Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. Neşriyatı, 20: 887 s.
- Ljubej, V., Radojčić Redovniković, I., Salopek-Sondi, B., Smolko, A., Roje, S., & Šamec, D. 2021. Chilling and Freezing Temperature Stress Differently Influence Glucosinolates Content in *Brassica oleracea* var. *acephala*. *Plants*, 10 (7): 1305.
- Major, N., Prekalj, B., Perković, J., Ban, D., Užila, Z., & Ban, S. G. 2020. The Effect of Different Extraction Protocols on *Brassica oleracea* var. *acephala* Antioxidant Activity, Bioactive Compounds, and Sugar Profile. *Plants*, 9 (12): 1792.
- Miller, J. C. 1929. A study of some factors affecting seed-stalk development in cabbage. *Cornell Univ. Agr. Exp. Stat. Bull.*, 488: 1-46.
- Munshi, M., Roy, P., Kabir, M., & Ahmed, G. 2007. In vitro Regeneration of Cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) through Hypocotyl and Cotyledon Culture. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 17 (2): 131-136.
- Nieuwhof, M. 1969. Cole Crops. Leonard Hill. London, pp. 353.
- Oktem, H. A., & Yucel, M. 2012. Bitki gelişiminin yönlendirilmesi. In: Steward N. C., J. R. (ed) Doku Kültürü. Nobel Basımevi, Ankara, 113-134 .
- Onay, A., Yıldırım, H., Pirinç, V., Tilkat, E., Çiftçi, Y. Ö., Akdemir, H., Süzerer, V., Çalar, N., Binici, M., & Akdemir, Ö. F. 2012. Bitkilerin biyoteknolojik yöntemlerle ticari çoğaltımı; mevcut ve gelecekteki durum. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 1 (2): 11-28.
- Ono, Y., Takahata, Y., & Kaizuma, N. 1994. Effect of genotype on shoot regeneration from cotyledonary explants of rapeseed (*Brassica napus* L.). *Plant Cell Reports*, 14 (1): 13-17.
- Oraman, M. 1968. Sebze İlmi. Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları: 323, Ders Kitabı, Ankara, 256 s.
- Oraman ve Günay. 1970. Lahanalarda Çiçek Tomurcuklarının Ayrım Zamanından Tohumların Oluşumuna Kadar Geçen Safhaların Tespiti Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yıllığı, Fasikül: 3.
- Gül, E. O., & Levent, A. 2008. Determining the best sprouting conditions for germination of radish (*Raphanus sativus*) seeds consumed as vegetables. *Journal of food, agriculture & Environment*, 6 (1): 123-127.
- Öktüren, F., & Sönmez, S. 2005. Bitki besin maddeleri ile bazı bitki büyüme düzenleyicileri (hormonlar) arasındaki ilişkiler. *Derim*, 22 (2): 20-32.
- Önal, A., & Subasar, F. D. 2012. Kırmızı lahanadan (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) elde edilen doğal boya ile yün, pamuk ve keten kumaşların boyanması. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, (1): 35-41.

- Öztürk, A. 2002. Farklı Gelişme Dönemlerinde Uygulanan Tuzlu ve Normal Suların Patlıcan (*Solanum Melongena* L.) Bitkisinin Bazı Özelliklerine Ve Toprak Tuzluluğuna Etkisi. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 16 (30): 14-20.
- Pennington, J. A. 2009. History of Bowes & Church's food values of portions commonly used. *Nutrition Today*, 44 (6): 250-259.
- Pipan, B., Neji, M., Meglič, V., & Sinkovič, L. 2024. Genetic diversity of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) using agro-morphological and simple sequence repeat (SSR) markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 71(3): 1221-1239.
- Ravanfar, S. A., Orbovic, V., Moradpour, M., Abdul Aziz, M., Karan, R., Wallace, S., & Parajuli, S. 2017. Improvement of tissue culture, genetic transformation, and applications of biotechnology to *Brassica*. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 33(1): 1-25.
- Reda, T., Thavarajah, P., Polomski, R., Bridges, W., Shipe, E., & Thavarajah, D. 2021. Reaching the highest shelf: A review of organic production, nutritional quality, and shelf life of kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*). *Plants, People, Planet*, 3 (4): 308-318.
- Šamec, D., Pavlović, I., Radojčić Redovniković, I., & Salopek-Sondi, B. 2018. Comparative analysis of phytochemicals and activity of endogenous enzymes associated with their stability, bioavailability and food quality in five *Brassicaceae* sprouts. *Food Chemistry*, 269: 96-102.
- Šamec, D., Urlić, B., & Salopek-Sondi, B. 2019. Kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) as a superfood: Review of the scientific evidence behind the statement. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59 (15): 2411-2422.
- Sarıkamış, G. 2011. Brokkolinin (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) İnsan sağlığına yararları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, (2): 9-82.
- Seçer, M. 1989. Doğal büyüme düzenleyicilerin (bitkisel hormonların) bitkilerdeki fizyolojik etkileri ve bu alanda yapılan araştırmalar. *Derim*, 6 (3): 109-124.
- Seyis, F., Aydın, E., & Çatal, M. 2014. Development of edible oil quality in kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*), a traditional vegetable at the Black Sea Region. 25 th International Scientific-Experts Congress on Agriculture and Food Industry, ss. 233-236, 25-27 Eylül, Ege Üniversitesi, İzmir.
- Sharma, S., Gambhir, G., & Srivastava, D. K. 2014. High frequency organogenesis in cotyledon and hypocotyl explants of cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*). *National Academy Science Letters*, 37: 5-12.
- Singh, J., & Kumar, A. 2020. Plant tissue culture and its application in agriculture as biotechnological tool. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, Special, 11: 274-284.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. 2008. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51 (3): 456-467.

- Şafak, N. 2011. Karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*) ve pazı (*Beta vulgaris* var. *Cicla*)'da kurşun ve çinko stresinin araştırılması. Yüksek Lisans tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 62 s.
- Tefera, A. A. 2019. Review on application of plant tissue culture in plant breeding. *Journal of Natural Sciences Research*, 9 (3): 20-25.
- Tekin, H. I. 2015. Bitki doku kültürü. T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Alata Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Erdemli-Mersin, <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/alata/Belgeler/DigerBelgeler/DokuK%C3%BClt%C3%BCr%C3%BCH.%C4%B0.Tekin.pdf>, [Son erişim tarihi: 09.01.2025]
- Thavarajah, D., Thavarajah, P., Abare, A., Basnagala, S., Lacher, C., Smith, P., & Combs, G. F. 2016. Mineral micronutrient and prebiotic carbohydrate profiles of USA-grown kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 52: 9-15.
- Tirink, S. 2021. Çörek otu (*Nigella Sativa* L.) Bitkisinde anter kültür tekniğinin geliştirilmesi, Yüksek Lisans tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, 49 s.
- TÜİK. 2019. Bitkisel Üretim İstatistikleri Veri Tabanı. <http://www.tuik.gov.tr> [Son erişim tarihi: 10.12.2024].
- Türkeç, A., & Turan, Z. M. 1992. Doku kültür yöntemleri ve bitki ıslahında kullanım olanakları, *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9 (1): 237-246.
- Uysal, H., Aksın, Ö., Güzel, G., & Küçükuncular, A. 2021. Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Meristemlerinin In Vitro Gelişimi Üzerine Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Etkisi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 7 (1): 75-82.
- Vandemoortele, J. L., Billard, J. P., Boucaud, J., & Gaspar, T. 1999. Evidence for an interaction between basal medium and plant growth regulations during adventitious or axillary shoot formation of cauliflower. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 35 (1): 13-17.
- Von Bothmer, R., Gustafsson, M., & Snogerup, S. 1995. *Brassica* sect. *Brassica* (*Brassicaceae*): II. Inter- and intraspecific crosses with cultivars of *B. oleracea*. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 42 (2): 165-178.
- Warwick, S. I. 1994. Guide to the wild germplasm of *Brassica* and allied crops. Part V, Life history and geographical data for wild species in the tribe *Brassicaceae* (*Cruciferae*), Agriculture Canada, pp. 61.
- Welsh, J. R. 1981. Fundamentals of plant genetics and breeding. John Wiley & Sons. New York, pp. 290.
- Yaşar, Üzal. 2023. Farklı Yönleriyle Lahanagiller Üzerine Bilimsel Çalışmalar. *İksad Yayınları*: 1234, Ders Kitabı, Ankara, 440 s.
- Yıldız, Y. 2015. Kocaeli ili Başiskele ilçesinde yetiştirilen karalahana (*Brassica oleracea* var. *acephala*) bitki beslenme durumunun bitki analizleriyle belirlenmesi. Yüksek Lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, 37 s.

- Zhang, W., Gao, S., Zhou, X., Chellappan, P., Chen, Z., Zhou, X., Zhang, X., Fromuth, N., Coutino, G., Coffey, M., & Jin, H. 2011. Bacteria-responsive micro RNAs regulate plant innate immunity by modulating plant hormone networks. *Plant Molecular Biology*, 75 (1): 93-105.



ÖZGEÇMİŞ

İzel ARAS

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2022-2025	Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı, Antalya
Lisans	Kafkas Üniversitesi
2012-2017	Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Kars

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Memur	İlçe Emniyet Müdürlüğü
2023-Devam Ediyor	Arhavi/Artvin
Proje Uzmanı	Göksu Global Gıda İth. İhr. San. ve Tic. A.Ş.,
2018-2020	Antalya