

Adi Yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) Bitkisinin Genç Salkımlarından Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Genotip ve 2,4-D Konsantrasyonunun Etkileri Üzerinde Bir Araştırma

Ersin CAN

Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Hatay-TÜRKİYE

Nafiz ÇELİKTAŞ, Rüştü HATIPOĞLU

Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Adana-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 20.11.1998

Özet: Bu çalışmada, 6 farklı adi yalancıdarı (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipinden alınan genç salkım segmentlerinin farklı konsantrasyonlarda (2, 4, 6, 8, ve 10 mg/l) 2,4-D içeren MS ortamında kallus indüksiyonu ve bitki rejenerasyon potansiyelleri incelenmiştir.

Araştırma sonuçları, kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonunun ekotiplere ve 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymuştur. Ekotiplere bağlı olarak kallus indüksiyon oranı % 17.5 ile % 65.0, petri kutusu başına kallus ağırlığı 75.25 ile 365.1 mg ve salkım segmenti başına gerçekleşen rejenerat sayısı 0.263 ile 1.612 arasında değişmiştir. En yüksek kallus indüksiyon oranı, kallus ağırlığı ve bitki rejenerasyonu 6 mg/l 2,4-D konsantrasyonundan sağlanmıştır.

Effects of Genotype and Concentration of 2,4-D on Callus Induction and Plant Regeneration from Young inflorescences of Dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir)

Abstract: This study was conducted to determine the effects of genotype and 2,4-D concentrations on the callus induction and plant regeneration from young inflorescences of dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir).

Segments of young inflorescences from six different ecotypes of dallisgrass were cultured on MS-medium containing different concentrations of 2,4-D (2, 4, 6, 8 and 10 mg/l). The results of the study showed that the ecotypes were significantly different in callus induction ratio, callus weight per petri dish and plant regeneration from the young inflorescences. With respect to the ecotypes, callus induction ratio varied from 17.5 % to 65 %, callus weight from 75.25 to 365.1 mg/petri dish and number of regenerates per inflorescence segment from 0.775 to 1.612. The callus induction ratio, callus weight and regeneration ratio were also significantly influenced by the 2,4-D concentrations. The segments cultured on the MS medium containing 6 mg/l of 2,4-D gave the highest values of callus induction ratio (74 %), callus weight (369.3 mg/petri dish) and regeneration ratio (2.094 regenerates per segment).

Giriş

Paspalum L. cinsine giren yaklaşık 400 tür vardır. Bunların anavatanı Brezilya, Arjantin, Küba, Uruguay, Paraguay gibi Güney Amerika ülkeleridir. Bu türlerden sadece bir kaçı kültüre alınmış olup, iklimi sıcak olan yerlerde yetiştirilmektedir. Adi yalancı darı (*Paspalum dilatatum* Poir.) dik büyüyen ve yumak meydana getiren ve *Paspalum* türleri içinde kışa en dayanıklı olan bitkidir. Esas kullanım yeri mera tesisi olup, silo yemi olarak da değerlendirilir. Bol miktarda tohum oluşturmasına rağmen tohumun çimlenme gücü çok düşüktür (1).

Adi yalancıdarı bitkisinin apomiktik üreme biyolojisine sahip olması bitkinin arzu edilmeyen karakterlerinin klasik ıslah yöntemleri ile ıslahını güçleştirmektedir.

Son yıllarda bu bitkilerde *in vitro* kültür tekniklerinin uygulanması ile ıslah sürecinin kısaltılabilmesi için uluslararası alanda büyük çabalar harcanmaktadır. Buğdaygil yembitkileri ıslahında *in vitro* kültür tekniklerinin; özellikle varyasyon meydana getirilmesi, arzu edilen varyantların seçilmesi ve bu varyantların hızlı bir şekilde çoğaltılmasında kullanılabileceği üzerinde durulmaktadır (2). Buğdaygil yembitkilerinde *in vitro* kültür tekniklerinin uygulanmasına yönelik araştırmalar 1950'li yıllarda başlamış olmasına karşılık, 1970'li yıllara kadar önemli bir başarı elde edilememiştir (3). Özellikle 1980'li yıllarda farklılaşmamış meristem hücrelerini içeren doku ve organların *in vitro* kültürde eksplantat olarak kullanılması ve besi ortamlarına farklı büyümeyi düzen-

leyicilerin ilave edilmesi ile büyük gelişmeler sağlanmıştır. Bugüne kadar sürdürülen araştırmalarda 50' den fazla buğdaygil yembitkisi türü için uygun eksplantat-kallus-rejenerat sistemi geliştirilmiştir (2,3). Bu türler arasında *Paspalum* cinsine ait türler de bulunmaktadır. Nitekim, *Paspalum dilatatum* P. bitkisinin genç salkımlarından elde edilen embriyogenik kalluslardan süspansiyon kültürlerinin oluşturulduğu ve bu süspansiyon kültürlerden izole edilen protoplastlardan bitki rejenerasyonunun gerçekleştirildiği bildirilmektedir (4). Elde edilen bu başarılı sonuçlara karşılık, diğer buğdaygil yembitkilerinde olduğu gibi *Paspalum dilatatum* P. bitkisinde de birçok problem mevcuttur. Her şeyden önce, bir türün farklı genotipleri *in vitro* kültürde farklı sonuçlar vermekte ve bir genotip için uygun olduğu saptanan kültür koşulları diğer bir genotipte aynı derecede başarılı olamamaktadır (5-7).

Bu araştırmada; önemli bir yembitkisi olan *Paspalum dilatatum* P. bitkisinin genç salkımlarının *in vitro* kültürde eksplantat olarak kullanılarak, rejenera olabilir kallus kültürlerinin elde edilmesi ile *in vitro* kültürden yararlanma imkanları amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada materyal olarak; Çukurova Üniversitesi Kampüsü ve Hatay ili doğal meralarından toplanarak klon halinde saksılara şaşırtılan 6 farklı adi yalancıları (*Paspalum dilatatum* Poir.) ekotipi kullanılmıştır.

Doğal mera alanlarından toplanan ve klon halinde saksılara şaşırtılan 6 farklı adi yalancıları ekotipi klon halinde toplanarak doku kültürü araştırmalarında kullanılmak üzere, 2 kısım tarla toprağı: 1 kısım kum: 1 kısım çiftlik gübresi karışımı doldurulan, 13x13x13 cm boyutlarındaki saksılara şaşırtılmıştır. Bitkiler, araştırma boyunca haftada bir kez %8 N+ %8 P₂O₅ içeren sıvı gübre solüsyonunun %1' lik çözeltisi ile gübrelenmiş ve yeterince sulanarak sera koşullarında yetiştirilmiştir.

Saksılara şaşırtılan donör bitkilerde bayrak yaprağı görünme safhasında olan sürgünler kesilerek dış yaprakları uzaklaştırılmıştır. Bu sürgünler, içerisinde bir miktar su bulunan ağız kapaklı cam şişelere yerleştirilerek, bir gece +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Soğuk uygulanan sürgünler steril kabin içerisinde önce % 96' lık alkol ile 2 dakika, daha sonrada % 10'luk sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra sürgünler 4 kez steril destile su ile yıkanmıştır. Sterilize edilen sürgünlerden binoküler altında 5-20 mm boyundaki genç salkımlar çıkartılıp, 5 mm'den büyük salkımlar skalpel yardımıyla 5'er mm'lik segmentlere ayrılmıştır. Daha sonra, her

salkım 60x15 mm boyutlarındaki steril petri kutusu içindeki katı kallus indüksiyon ortamı üzerine yerleştirilmiştir. Kallus indüksiyon ortamı olarak, 2,4-D (2,4-dichloro phenoxyasetik asit)' nin 5 farklı konsantrasyonu (2, 4, 6, 8 ve 10 mg/l) ilave dılmış ve 10 g/l agar ile katılaştırılmış Murashige ve Skoog (8) besi ortamı (MS) kullanılmıştır. Petri kutularının kenarları parafilm ile kapatıldıktan sonra iklim dolabında 25 °C' de karanlık koşullarda inkübe edilmiştir.

Araştırma; tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine uygun olarak planlanmıştır. Ana parselleri; ekotipler, alt parselleri ise 2,4-D konsantrasyonları oluşturmuştur. Araştırmada; içerisinde dört adet salkım segmenti kültür edilen bir petri kutusu bir deneme ünitesi olarak kabul edilmiş ve her ekotip X 2,4-D konsantrasyonu kombinasyonu dört petri kutusu ile temsil edilmiştir.

8 Haftalık bir inkübasyon süresi sonunda, her petri kutusu içerisinde oluşan kalluslar tartılarak, bitki rejenerasyonu için oksin (2,4-D) içermeyen MS ortamına aktarılmıştır. Kültürler, 10-15 gün süre ile kallus indüksiyon koşullarında muhafaza edildikten sonra, 25 °C sıcaklık, 2000 lüks aydınlatma ve 16/8 saat gündüz-gece ritmi koşullarının sağlandığı iklim odasına yerleştirilmiştir.

Petri kutuları içerisinde köklü bitkicikler oluşuktan sonra, her petri kutusu içerisinde oluşan bitkicikler kaydedilmiştir. Sayımı yapılan bitkicikler, içerisinde 30 ml gelişme ortamı bulunan 12,5x5 cm cam tüplere aktarılmıştır. Gelişme ortamı; 1/2 MS, 20 g/l Sakkaroz ve 10 g/l agardan oluşmuştur. Cam tüpler, 25 °C sıcaklık, 2000 lüks aydınlatma ve 16/8 saat gündüz-gece ritmi koşullarında muhafaza edilmiştir. Gelişme tüplerindeki bitkicikler 8-10 cm boylandığında 7x7x8 cm saksılara şaşırtılmıştır. Saksılara şaşırtılan bitkiler bir hafta süre ile plastik örtü altında muhafaza edilerek, ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

Saksılarda normal gelişmesini sürdüren bitkiciklerin orijinal donör bitkilerden herhangi bir sapma gösterip, göstermedikleri yapılan fenotipik gözlemlerle saptanmıştır.

Araştırmadan elde edilen veriler; dört tekrarlamalı tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine uygun olarak, Little ve Hills (9) tarafından açıklanan yöntemle göre varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi uygulanmadan önce, kallus indüksiyon oranı değerlerine Arcsin \sqrt{x} transformasyonu uygulanmıştır. Varyans analizi sonucu önemli çıkan ekotip ortalamaları ve oksin konsantrasyon ortalamaları Duncan testine göre gruplandırılmıştır.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Genç Salkımlardan Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonu

Kültür başlangıcından bir hafta sonra kültürlerde yapılan gözlemlerde; salkım segmentlerinde hafif bir kararmanın olduğu, çiçek organlarında herhangi bir değişimin olmadığı görülmüştür. 15. günde kararın gösteren salkım segmentlerinin kesilme yerlerinde, salkım eksenlerinde ve başakçıklarda şişme olduğu, 30. günde yapılan gözlemlerde; çiçek segmentlerinin, başakçıkların uzama gösterdiği ve çiçek primordialarının belirgin bir şekilde şişkinleştiği izlenmiştir. Ayrıca bazı segmentlerin kesim yerlerinde ve başakçıkların salkım eksenine bağlanma yerlerinde kallus oluşumu gözlenmiştir .

Kültür başlangıcından altı hafta sonra oluşan kalluslarda belirgin bir büyümenin olduğu görülmüştür. Sekiz haftalık kültür süreci sonunda, kültürlerde hem beyaz renkli ve sulu kallus (embriyogenik olmayan), hem de sıkı yapılı embriyogenik kallusun oluştuğu ve embriyoidlerin belirginleştiği gözlenmiştir (şekil 1). Bovo ve Mroginski (10)'ın aynı bitkinin genç salkım segmentlerinden oluşan kallus indüksiyonu ile ilgili gözlemlerini desteklemektedir. Ancak, Akashi ve Adachi (4)'nin aynı bitkinin genç salkımlarının *in-vitro* kültüründe yalnızca embriyogenik kallusun oluştuğunu bildirmektedirler. Bu duruma neden olarak, Bregitzer (12)'nin de bildirdiği gibi araştırmalarda kullanılan genotiplerin farklılığı gösterilebilir.

Kültürler, kültür başlangıcından 8 hafta sonra indüksiyon ortamından rejenerasyon ortamına aktarılacak hale gelmiştir. Rejenerasyon ortamına aktarılan kalluslardan karanlık koşullarda 10-15 gün içinde rejenerasyon gerçekleşmiştir. Rejenerasyon ortamında oluşan sürgünlerde ışıklı ortamda 3-4 gün içinde yeşil renk oluşumu gözlenmiştir. 3 haftalık süreç sonunda, kültürler yaklaşık olarak 10 mm boylanmıştır (şekil 2). Gelişme ortamına aktarılan bitkicikler üç haftalık kültür sonunda saksıya şaşırtılabilecek büyüklüğe erişmiştir (şekil 3). Saksılara şaşırtılan bitkiler bir hafta süre ile serada plastik örtü altında bırakılarak ortama adaptasyonları sağlanmıştır. Bununla birlikte bazı rejeneratlar ölmüşlerdir. Daha sonra sera koşullarında bitkicikler gümrah bir gelişme göstererek bol miktarda kardeşlenmişlerdir.

Ekotipin Kallus İndüksiyonu, Kallus Ağırlığı ve Rejenerasyon Oranına Etkisi

Araştırma bulguları, kullanılan farklı adi yalancıları ekotiplerinin kallus indüksiyon oranlarına, kallus ağırlığına ve rejenerasyon oranına etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Tablo 1).

Tablo 1 incelendiğinde, ekotiplere bağlı olarak ortalama kallus oluşum oranının % 17.5 ile % 65.0 arasında değiştiği görülmektedir. 6 numaralı ekotip, en yüksek kallus oluşum oranı gösteren ekotip olup, 1, 4, 3 ve 2 numaralı ekotipler de 6 no'lu ekotip ile istatistiki olarak farklı olmayan kallus oluşum oranları göstermiştir. 5 no'lu ekotip en düşük kallus oluşum oranı göstermiştir.

Araştırmada ortaya çıkan farklı adi yalancıları ekotiplerinin farklı kallus indüksiyon oranları göstermesi ile ilgili bulgularımız, Akashi ve Adachi (13)'nin aynı bitki ile Akashi ve Adachi (14)'nin *Paspalum notatum* olgun tohumlarıyla ve Gland ve Hatipoğlu (15)'nin *Hyparrhenia hirta* L bitkisinin genç salkımları ile sürdürdükleri araştırma bulgularına benzerlik göstermektedir.

Ekotiplere bağlı olarak ortalama kallus ağırlığının 75.25 ile 365.1 mg/petri kutusu arasında değiştiği görülmektedir. En yüksek kallus ağırlığı kallus indüksiyon oranında olduğu gibi 6 numaralı ekotipde oluşurken, 1, 2, 3 ve 4 numaralı ekotipler 6 no'lu ekotipten istatistiki olarak farklı olmayan ortalama kallus ağırlığı meydana getirmişlerdir. 5 no'lu ekotip kallus ağırlığı bakımından da en düşük olmuştur.

Araştırmada, farklı adi yalancıları ekotiplerinin farklı kallus ağırlığı göstermesi ile ilgili bulgularımız, Gland ve Hatipoğlu (15), Hatipoğlu ve ark. (16), Can ve ark. (17)'nin muhtelif buğdaygillerin genç çiçek salkımlarıyla sürdürdükleri araştırmalarında elde ettikleri araştırma bulgularını desteklemektedir. Diğer taraftan, ekotiplerin ortalama kallus indüksiyon oranı ile ortalama kallus ağırlıkları incelendiğinde; genellikle yüksek kallus indüksiyon oranı gösteren ekotiplerin yüksek kallus ağırlığı gösterdiği ortaya çıkmaktadır. Yani, salkım segmentlerinden oluşan kallusun büyüme hızı ekotiplere bağlı olarak önemli derecede değişmemiş, ekotiplerin kallus ağırlığı açısından gösterdiği farklılık; ekotiplerin kallus indüksiyon oranlarındaki farklılıktan ileri gelmiştir. Bu bulgularımız, Hatipoğlu ve ark. (16)'nin bulgularını desteklemektedir.

Aynı tabloda; ekotiplere bağlı olarak ortalama rejenerasyon oranının 0.263 ile 1.612 arasında değiştiği görülmektedir. 6 numaralı ekotip ortalama 1.612 rejenerasyon oranı ile kallus oluşum oranı ve kallus ağırlığında olduğu gibi en yüksek değeri gösterirken 1, 2, 3 ve 4 numaralı ekotipler 6 no'lu ekotipten istatistiki olarak farklı olmayan ortalama rejenerasyon oranı meydana getirmişlerdir. Rejenerasyon oranı bakımından da segment başına en düşük rejenerat 5 no'lu ekotipde ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar, Molenaar ve ark. (18), Lörz ve ark. (19) ve Akashi ve Adachi (20)'nin muhtelif buğdaygillerle sürdürdükleri araştırma bulgularına benzerlik göstermektedir.

Ekotip No	Kallus Oluşum Oranı (%)	Kallus Ağırlığı (mg/petri kutusu)	Rejenerasyon Oranı (rejenerat/segment)
1	56.2 a	235.8 A	0.775 ab*
2	42.5 ab	217.3 ab	1.138 ab
3	48.8 ab	243.1 a	1.212 a
4	55.0 a	276.9 a	0.900 ab
5	17.5 b	75.25 b	0.263 b
6	65.0 a	365.1 a	1.612 a
Ortalama	47.5	235.5	0.983

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre $p \leq 0,05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Konsantrasyonlar	Kallus Oluşum Oranı (%)	Kallus Ağırlığı (mg/petri kutusu)	Rejenerasyon Oranı (rejenerat/segment)
2 mg/l	33.3 bc	179.3 bc	0.448 c*
4 mg/l	54.2 ab	266.5 ab	1.323 b
6 mg/l	74.0 a	369.3 a	2.094 a
8 mg/l	52.1 ab	246.0 abc	0.885 bc
10 mg/l	24.0 c	116.7 c	0.168 c
Ortalama	47.5	235.5	0.983

*Aynı sütun içinde benzer harfle gösterilen ortalamalar Duncan testine göre $p \leq 0,05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak farklı değildir.

Araştırmamızda ekotiplere bağlı olarak rejenerasyon oranının 0.263-1.612 arasında değişmesine neden olarak; ekotiplerin genetik farklılığı gösterilebilir. Nitekim, bu görüşlerimizi; Hatipoğlu, (21)' nun aynı tür içerisindeki farklı genotiplerin *in-vitro* kültürde farklı reaksiyon göstermesinin, söz konusu genotiplerin genetik yapılarından kaynaklandığı, *in vitro* kültürde reaksiyonun genlerin kontrolü altında olduğu şeklindeki görüşlerini desteklemektedir.

2,4-D Konsantrasyonlarının Kallus İndüksiyonu, Kallus Ağırlığı ve Rejenerasyon Oranına Etkisi

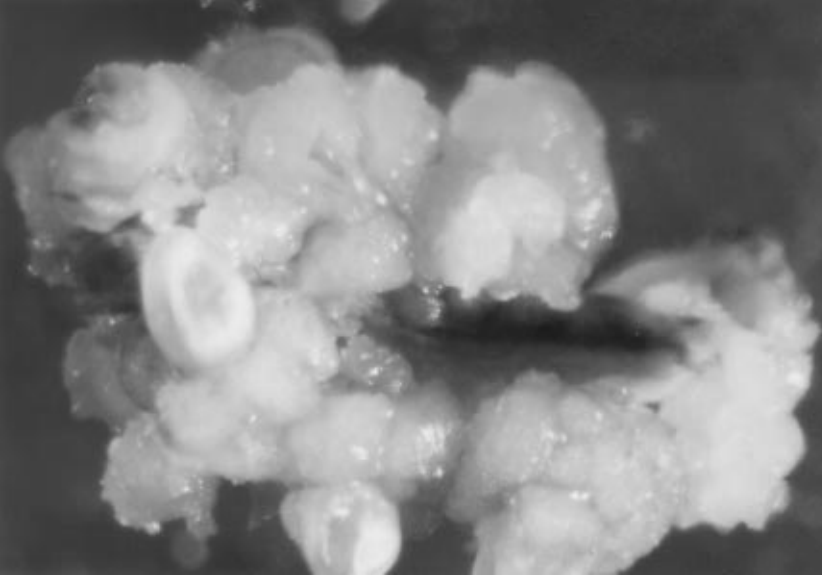
Araştırma bulguları, kullanılan 2,4-D konsantrasyonlarının kallus oluşum oranına, kallus ağırlığına ve rejenerasyon oranına etkilerinin önemli derecede farklı olduğunu göstermiştir (Tablo 2).

Tablo 1. Farklı Adi Yalancıdan Ekotiplerinde Ortalama Kallus İndüksiyon Oranları ve Kallus Ağırlığı ve Rejenerasyon Oranları

Tablo 2. Farklı 2,4-D Konsantrasyonlarının Adi Yalancıdan Genç Salkımlarından Ortalama Kallus Oluşum Oranına, Kallus Ağırlığı ve Rejenerasyon Oranına Etkisi.

En yüksek ortalama kallus oluşum oranı (% 74.0) ve kallus ağırlığı (369.3 mg/l) 6 mg/l'lik 2,4-D konsantrasyonundan sağlanmıştır. Ancak, 4 ve 8 mg/l 'lik 2,4-D konsantrasyonundan istatistiksel olarak farksız olmuştur. 2,4-D konsantrasyonu 6 mg/l' den itibaren arttıkça ve azaldıkça, ortalama kallus oluşum oranı ve petri başına kallus ağırlığında bir azalma eğiliminin ortaya çıktığı saptanmıştır. Araştırmada saptanan bu bulgular; adi yalancıdan bitkisinin genç salkımlarından kallus oluşturmada optimum 2,4-D konsantrasyonunun 6 mg/l olduğunu göstermektedir.

Araştırmada kallus indüksiyon oranının 2,4-D konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Gland ve Hatipoğlu (15),



Şekil 1. Yalancıdan Genç Salkım Segmentlerinden Oluşan Kalluslar Üzerinde Embrioid Oluşumu (Kültür başlangıcından sekiz hafta sonra)



Şekil 2. Rejenerasyon Ortamında 10 mm Kadar Boylanan Bitkicikler (Kültür başlangıcından 11 hafta sonra)

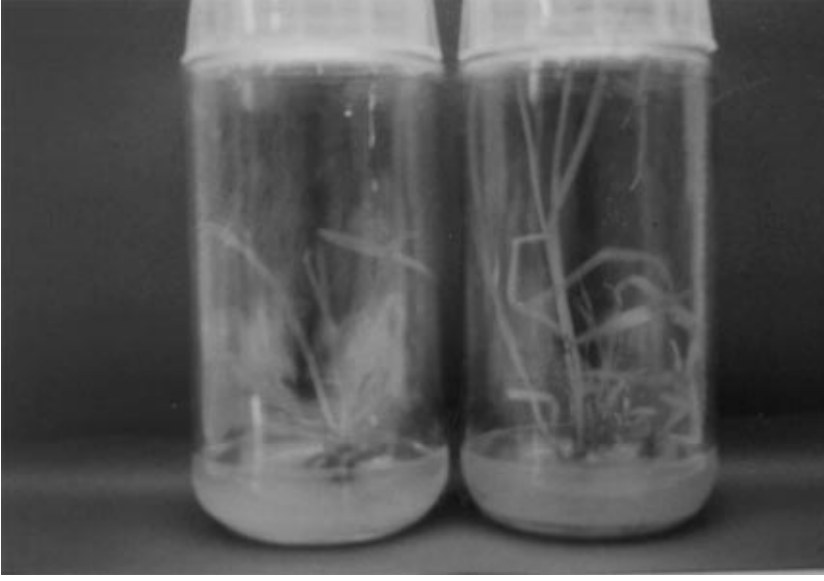
Thomas ve Scott (22) ve Holme ve Petersen (23)'nin araştırma bulgularına benzerlik göstermektedir.

Araştırmada kallus ağırlığının konsantrasyonlara bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Chen ve ark (24), Conger ve Carabia (25) ve Gland ve Hatipoğlu (15)'nin bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Araştırmada segment başına ortalama 2.094 rejenerat ile en yüksek ortalama rejenerasyon oranı 6 mg/l'lik 2,4-D içeren ortamda ortaya çıkmıştır. Bunu ortalama rejenerasyon oranı bakımından sırasıyla 4 ve 8 mg/l'lik 2,4-D konsantrasyonları izlerken, en düşük ortalama rejenerasyon oranı segment başına 0.167 rejenerat ile 10

mg/l'lik 2,4-D konsantrasyonunda gerçekleşmiştir ve 2 mg/l'lik 2,4-D konsantrasyonundan istatistiki olarak farksız olmuştur.

Araştırmada rejenerasyon oranının 2,4-D konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık göstermesi ile ilgili bulgular; Lörz ve ark. (19), Gland ve Hatipoğlu (15), Holme ve Petersen (23),' in bulgularına benzemektedir. Wernicke ve ark. (26), 2,4-D'nin konsantrasyon dozunun artmasıyla kallus oluşum oranı, kallus ağırlığı ve rejenerasyon oranının azalmasına neden olarak; 2,4-D gibi oksinlerin yüksek dozda uygulandıklarında mevcut meristem hücrelerinin bölünmesini engellediği şeklindeki görüşleri ile açıklamaktadırlar.



Şekil 3. Gelişme Ortamında Saksıya Aktarılabilecek Hale Gelmiş Rejeneratlar (Kültür başlangıcından 14 hafta sonra)

Sonuçlar

Araştırmada elde edilen bulgular ; adi yalancıdan bitkisinin genç salkımlarının *in vitro* kültüründe eksplantat olarak başarı ile kullanılabilmesini göstermiştir. *In vitro* kültür araştırmalarında kullanılan 30 bitkiden 3,5 ay' lık bir süre sonunda 472 bitkinin elde edilmesi ve rejeneratların genetik stabilite göstermesi, *in vitro* kültürün bu bitkinin ıslah sürecinde çok kısa bir sürede çoğaltılması amacıyla kullanılabilmesini ortaya çıkartmıştır.

Araştırma sonuçları, 6 mg/l 2,4-D ilave edilen MS besi ortamının adi yalancıdan genç salkımlarından bitki rejenerasyon amacıyla kullanılabilmesini ortaya koymuştur.

Ayrıca, gelecekte bu konuda yapılacak çalışmalarda rejenerasyon oranını arttırabilecek; donör bitkilerin fizyolojik ihtiyaçlarının tam olarak belirlenmesi, farklı besi ortamları ve oksinlerin kullanılması, kültüre alınan salkım segmentlerinin uzunluğunun rejenerasyon oranına tepkisinin belirlenmesi gibi rejenerasyon oranını doğrudan etkileyebilecek faktörlerin denenmesi başarı oranını arttırma açısından faydalı olacaktır.

Kaynaklar

1. Tosun, F., Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri Kültürü Atatürk Üniversitesi Yayınları No: 242, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 123, Ders Kitapları Serisi No:8, Erzurum., 1974.
2. Ahlowalia, B.J., Forage Grasses. in: Handbook of Plant Cell Culture, Ammirato, P.V.J., Evans, D.A., Sharp, W.R. and Yamada, Y. (Eds), Mc Millian Pub. Comp., New York, London Vol. 3: 91-125, 1984.
3. Vasil, I.K., Vasil, V., Regeneration in Cereal and Other Grass Species. in: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vasil, I.K (Ed.), Academic Press, inc. Vol. 3: 121-150, 1986.
4. Akashi, R. Adachi, T., Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Cultured Immature Inflorescences of Apomictic Dallisgrass (Paspalum dilatatum Poir.) Plant Breeding Abstracts Vol. 62, No. 9, 1992 a.
5. Dale, P.J., Embryoids from Cultured Immature Embryos of Lolium multiflorum. Z. Pflanzenphysiol. 100: 73-77, 1980.
6. Ahn, B.J., Huang, F.H., King, J.W., Plant Regeneration through Somatic Embryogenesis in Common Bermudagrass Tissue Culture. Crop. Sci. 25: 1107-1109, 1985.
7. Hatipoğlu, R., Untersuchungen über die Zytologischen Eigenschaften und in-vitro-Kulturmöglichkeiten von Zwei wild Vorkommenden Grasarten, Hyparrhenia hirta (L.) Stapf und Dactylis glomerata L., aus dem Çukurova-Gebiet, Südtürkei. Dissertation an der Universität Hohenheim, 1991.
8. Murashige, T., Skoog, F., A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Obaccotissue Cultures. Physiol. Plant. 15, 473-497, 1962.
9. Little, T.M. and Hills, F.J. Agricultural Experimentation. John Wiley and Sons, New York, 1978.
10. Bovo, O.A., Mroginski, L.A., Tissue Culture in Paspalum (Greminea): Plant Regeneration from Cultured Inflorescences. J. Plant Physiol. 124: 481-492, 1986.

11. Metzinger, B.D., Taliefferro, C.M., Johnson, B.B., Mitchell J.R.E.D., in-Vitro Regeneration of Apomictic Bluestem Grasses. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*; 10,1, 31-38, 1987.
12. Bregitzer, P., Plant Regeneration and Callus Type in Barley: Effect of Genotype and Culture Medium. *Crop. Sci.*, 32:1108-1112, 1992.
13. Akashi, R. Adachi, T., Plant Regeneration from Suspension Cultured-Derived Protoplast of Apomictic Dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) *Plant Science Limeric*. 82: 2, 213-218, 1992b.
14. Akashi, R. Adachi, T., Morphological Variations and RAPD Markers of Regenerants Derived from Cell Suspension Cultures of Bahiagrass (*Paspalum notatum*). Toward Enhanced and Sustainable Agricultural Productivity in the 2000's: Breeding Research and Biotechnology. Proceedings of SABROA Seventh International Congress and WSAA Symposium Held at Academia Sinica, Nankang, Taipei, Taiwan, November 16-20. Volume II, 1993.
15. Gland, A., Hatipoğlu, R., Einsatz der Biotechnologie zur Entwicklung Dürreresistenter Gerstengenotype, und zur Verbesserung Von Weidegrasern für den Anbau in der Türkei. Wissenschaftliche Ergebnisse Deutsch-Türkischer Universitaetpartnerschafter in Agrarbereich, Deutsch- Türkisches Symposium in Bornova-Yzmir/ Türkei Vom 26 bis 30 September, S. 274-285 1989.
16. Hatipoğlu, R., Hesemann, C.U., Gland, A., Tükel, T., Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration From immature inflorescences of *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf. Proceedings of the XVII. international Grassland Congress 13-16 February, Session 27-51, pp: 1036-1038 1993.
17. Can, E., Tükel, T. Hatipoğlu, R. Domuz Aynığı (*Dactylis glomerata* L.) Bitkisinin Genç Salkımlarının In-Vitro Kültüde Eksplantat Olarak Kullanılma Olanakları Üzerinde Bir Araştırma. Tarla Bitkileri Kongresi Cilt II Bitki Islahı Bildirileri S:254-256 Bornova/Yzmir 1994.
18. Molenaar, C.J., Loeffen, J.P.M., Van Der Valk, P., The Effect of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Donor Plant Environment on Plant Regeneration from immature inflorescence Derived Callus of *Lolium perenne* and *Lolium multiflorum*. *Plant Sci*. 57:165-172, 1988.
19. Lörz, H., Gobel, E., Brown, P., Advances in Tissue Culture and Progress towards Genetic Transformation of Cereals. *Plant Breeding*, 100: 1-25 1988.
20. Akashi, R., Adachi, T., High Frequency Somatic Embryo Formation in Cultures of immature Embryos of Guineagrass, *Panicum maximum* Jacq. *Japanese Journal of Breeding*. 41:1, 85-93 1991.
21. Hatipoğlu, R., *Biyoteknolojiye Giriş Ç.Ü.Z.F. Ders Kitabı* No: 129 (1995).
22. Thomas, M.R., Scott, K.J., Plant Regeneration by Somatic Embryogenesis from Callus initiated from immature inflorescences of *Hordeum vulgare* J. *Plant Physiol*. 121: 159-169 1985.
23. Holme, I.B., Petersen, K.K, Callus induction and Plant Regeneration from Different Explant Types of *Miscanthus x ogiformis* Honda 'Giganteus'. *Plant Breeding Abstracts* Vol. 66 No.10-10388, 1996.
24. Chen, C.H., Stenberg, N.E., Ross, J.G., Clonal Propagation of Big Bluestem by Tissue Culture. *Crop Sci*. 17: 847-850, 1977.
25. Conger, B.V., Carabia, J.V., Callus induction and Plantlet Regeneration in orchardgrass. *Crop Sci*. 18:157-159, 1978.
26. Wernicke, W., Gorst, J., Molkovits, L., The Ambiguous Role of 2,4-D Dichlorophenoxyacetic acid in Wheat Tissue Culture. *Physiol. Plant* 68: 597-602, 1986.