

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI KİNOA (*Chenopodium quinoa* Willd.)
ÇEŞİTLERİNDE SOMATİK EMBRİYOGENESİS

Şeyma DOĞANCI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

KIRŞEHİR

Temmuz/2017

T.C.
AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI KİNOA (*Chenopodium quinoa* Willd.)
ÇEŞİTLERİNDE SOMATİK EMBRİYOGENESİS

Şeyma DOĞANCI
DANIŞMAN
Doç. Dr. Sevil SAĞLAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

KIRŞEHİR
Temmuz/2017

TEZ ONAYI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Khalid Mahmood KHAWAR (İmza)

Akademik Ünvanı, Adı-Soyadı

Üye Doç. Dr. Sevil SAĞLAM (İmza)

Akademik Ünvanı, Adı-Soyadı

Üye Yrd. Doç. Dr. Meltem BAYRAKTAR (İmza)

Akademik Ünvanı, Adı-Soyadı

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.../.../20..

(İmza Yeri)

Prof. Dr. Levent KULA

Akademik Ünvan, Adı-Soyadı

Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğuna, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Şeyma DOĞANCI

BAZI KİNOA (*Chenopodium quinoa* Willd.) ÇEŞİTLERİNDE

SOMATİK EMBRİYOGENESİS

(Yüksek Lisans Tezi)

Şeyma DOĞANCI

Ahi Evran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Temmuz 2017

ÖZET

Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), Güney Amerika'nın And Dağlarında doğal olarak yetişen ve ülkemizde de son yıllarda yetiştiriciliği yapılmaya başlanmış bir bitkidir. Vitamin, protein, aminoasit bileşimi açısından özellikle lizin, ve metiyonin seviyelerinin yüksek olması nedeniyle insan beslenmesinde büyük öneme sahiptir. Ayrıca, saponin seviyesinin yüksek olması lezzet kalitesinin bozulmasına sebep olmaktadır. Somatik embriyogenesis, bitkinin somatik dokularından bipolar yapıda somatik embriyoların üretilmesi sürecidir. Somatik embriyogenesis *in vitro*'da kitlesel vejetatif çoğaltım amaçlı yapılan en etkili tekniklerden birisidir. Bu çalışmada, kinoa bitkisinin sürgün ucu ve gövde eksplantlarına farklı oranda 2,4-D, TDZ, BAP bitki büyüme düzenleyiciler kullanarak somatik embriyogenesis araştırılmıştır. Kullanılan Limtar Black, Limtar Red, Limtar White çeşidinden yalnızca 0.50 mg/L ve 1.00 mg/L 2,4-D içeren MS ortamda Limtar Red çeşidinin sürgün ucu ve gövde eksplantlarında % 100.00 kallus oluşumu elde edilmiştir. Sürgün ucu ve gövde eksplant arasında kıyaslanırsa göre 2,4-D, TDZ ve BAP içeren MS besin ortamlarında somatik embriyo oluşumu bakımından sürgün ucu eksplantından daha fazla somatik embriyo oluşum gözlemlenmiştir. Bu çalışma kinoa bitkisinin gerek *in vitro* koşullarda mikroçoğaltımında gerekse sentetik tohum üretiminde, ayrıca, tarımsal öneme sahip özelliklerin kazandırılmak istendiği durumlarda gen transformasyonu çalışmalarında, özellikle saponin seviyesinin azaltılmak istendiği durumlarda önemli bir temel araştırma niteliğindedir.

Anahtar Kelimeler: kinoa, *Chenopodium quinoa* Willd., biyoteknoloji, somatik embriyogenesis, kallus kültürü

Sayfa Adedi: 62

Tez Yöneticisi: Doç. Dr. Sevil SAĞLAM

**SOMATIC EMBRYOGENESIS IN SOME QUİNOA
(*Chenopodium quinoa* Willd.) VARIETIES**

(Master of Science Thesis)

Şeyma DOĞANCI

Ahi Evran University, Institute of Science

July 2017

ABSTRACT

Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is grows naturally the Andes mountains of South America and has been introduced in to Turkey during recent years. It is rich in vitamins, proteins, amino acids because of large amounts of lysine, and methionine that are important in human nutrition. The high level of saponin causes deterioration of taste quality. Somatic embryogenesis is the process by which bipolar somatic embryo structures are produced in the on the somatic tissues of the plant. Somatic embryogenesis is one of the most effective techniques for massive vegetative propagation *in vitro*. In this study, different types of 2,4-D, TDZ, BAP plant growth regulators were applied to shoot tip and stem explants of quinoa and somatic embryogenesis was investigated. The highest (%100) callus formation was obtained on Limtar Red variety out of three quinoa varieties Limtar Black, Limtar Red, Limtar White used in the study on MS medium containing 0.50 mg / L and 1.00 mg / L 2,4-D. It was observed that the shoot tip explant is more effective compared to stem explant in inducing somatic embryo formation on MS medium containing 2,4-D, TDZ and BAP. This study sets a foundation for future genetic transformation research, especially when the level of saponin is to be reduced for improvement of agronomic characteristics in quinoa plant especially through *in vitro* and synthetic seed production protocols.

Key Words: quinoa, *Chenopodium quinoa* Wild., biotechnology, somatic embryogenesis, callus culture

Number of Pages: 62

Adviser of Thesis: Doç. Dr. Sevil SAĞLAM

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bilgi, öneri, yardım ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Sevil SAĞLAM'a bana ayırdığı değerli zamanı, öğretici bilgi birikimi ve sağladığı destek için teşekkür ederim.

Çalışmamın istatistik analiz kısmında yardımını esirgemeyen ve zamanını ayıran Yrd. Doç. Dr. Serdar GENÇ ve Yrd. Doç. Dr. Sedat BOYACI'ya teşekkür ederim.

Teknik desteği ve alt yapısından dolayı bu teze yapmış olduğu katkılarından dolayı Ziraat Mühendisi arkadaşım Özlem ÜNER'e teşekkür ederim.

Kırşehir İli Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü Arazi Edindirme Şube Müdürü Ziraat Mühendisi Duran SEÇEN ve çalışma arkadaşlarıma desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Son olarak bana bugüne kadar güvenip, destek olan eşim Atilla DOĞANCI'ya ve aileme desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
TABLOLAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	11
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. MATERYAL	17
3.2. YÖNTEM	19
3.2.1. Besin Ortamı, Bitki Büyüme Düzenleyiciler ve Kültür Koşulları	19
3.2.2. Sterilizasyon	22
3.2.3. Eksplantların İzolasyonu	22
3.2.4. Tohum Canlılık Tetrazolium Testi.....	22
3.2.5. Tohumların Çimlendirilmesi.....	22
3.3. VERİLERİN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ.....	23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	24
4.1. TOHUMLARIN YÜZEY STERİLİZASYONU	24
4.2. ÇAMAŞIR SUYU DOZ VE SÜRELERİN TOHUMLARIN ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ.....	26
4.3. SÜKROZ DOZLARININ TOHUMLARIN ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ.....	29
4.4. TOHUM CANLILIK TESTİ	30

4.5. KİNOADA SOMATİK EMBRİYOGENESİS OLUŞUMUNA 2,4-D VE BAP'İN ETKİSİ.....	31
4.6. KİNOADA SOMATİK EMBRİYOGENESİS OLUŞUMUNA TDZ'NİN ETKİSİ	35
4.7. KİNOADA SOMATİK EMBRİYOGENESİS OLUŞUMUNA FARKLI SÜKROZ DOZLARININ ETKİSİ	38
4.8. SOMATİK EMBRİYOLARDAN GELİŞEN BİTKİCİKLERİN DIŞ ŞARTLARA ALIŞTIRILMASI (AKLİMATİZASYON).....	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	40
6. KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	50

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Ülkelere göre kinoa çeşit sayısı belirlenmesi	1
Tablo 1.2. Kinoa danelerinin besin içeriğinin (kuru ağırlık %) diğer tahıllarla karşılaştırması	2
Tablo 1.3. Kinoa ve bazı tahılların esansiyel aminoasit içerikleri (g/100g protein) ...	9
Tablo 1.4. Saponin kalınlığına göre kinoa çeşitlerinin tohumlarının özellikleri.....	10
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan üç kinoa çeşidi Limtar Tarımsal Ürünler San. ve Tic. A.Ş tarafından 28.01.2016 tarihinde, tıbbi ve aromatik bitki grubu olarak üretim izini almıştır	17
Tablo 3.2. MS (Murashige and Skoog 1962) ortamında bulunan mineral maddeler ve konsantrasyonları	20
Tablo 3.3. Kullanılan büyüme düzenleyicileri, çözücüler ve saklama koşulları	20
Tablo 4.1. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama sürelerinin kinoa üç çeşidinin kontaminasyon oranı (%) üzerine varyans analizi.....	26
Tablo 4.2. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama sürelerinin kinoa üç çeşidinin kontaminasyon oranı (%) üzerine Duncan analizi.....	26
Tablo 4.3. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama sürelerinin kinoa üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine varyans analizi.....	27
Tablo 4.4. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama sürelerinin kinoa üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine Duncan analizi.....	28
Tablo 4.5. Karanlık ortamın kinoa üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine varyans analizi	28
Tablo 4.6. Karanlık ortamın kinoa üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine Duncan analizi.....	29
Tablo 4.7. Sukrozun farklı dozlarının kinoa üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine varyans analizi.....	30
Tablo 4.8. Sukrozun farklı dozlarının kinoa üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine Duncan analizi.....	30

Tablo 4.9. Limtar Red kinoa eşidinin 2,4-D'nin farklı dozlarında kök, sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi	32
Tablo 4.10. Limtar Red kinoa eşidinin 2,4-D'nin farklı dozlarında kök, sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi	32
Tablo 4.11. Limtar Red kinoa eşidinin 2,4-D + BAP'ın farklı dozlarında sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi	35
Tablo 4.12. Limtar Red kinoa eşidinin 2,4-D + BAP'ın farklı dozlarında sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi	35
Tablo 4.13. Limtar Red kinoa eşidinin TDZ'nin farklı dozlarında sürgün ve kök oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi.....	36
Tablo 4.14. Limtar Red kinoa eşidinin TDZ'nin farklı dozlarında sürgün ve kök oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi.....	37
Tablo 4.15. Limtar Red kinoa çeşidine % 1,5, % 3.0, % 6.0 sukroz dozlarında sürgün, kallus ve kök oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi.....	38
Tablo 4.16. Limtar Red kinoa çeşidine % 1,5, % 3.0, % 6.0 sukroz dozlarında sürgün, kallus ve kök oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi.....	39

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.Kinoa (<i>C. quinoa</i>) bitkisi	3
Şekil 1.2. Kinoa bitkisinin doğal dağılımını gösteren ülkeler.....	5
Şekil 3.1 a,b,c Limtar Black, Limtar Red, Limtar White çeşidine ait tohumların şematik görüntüsü a) <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. (Siyah Kinoa) çeşidinin tohumları b) <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. (Kırmızı Kinoa) çeşidinin tohumları c) <i>Chenopodium quinoa</i> Willd. (Beyaz Kinoa) çeşidinin tohumları	18
Şekil 4.1. Kinoa Tohumlarının laminar flow kabin içerisinde yüzey sterilizasyonu..	24
Şekil 4.2 a,b. a) Kinoa tohumlarının çimlendirme ortamına kültüre alınması ve b) <i>In Vitro</i> koşullarda 7-10 gün sonra çimlenmiş kinoa tohumlarından gelişen bitkicikler.	25
Şekil 4.3. a,b Limtar Red kinoa çeşidinde a) sürgün ucu ve b) gövde eksplantlarına 1.00 mg/L 2,4-D uygulaması	33
Şekil 4.4. Limtar Red kinoa çeşidinin gövde eksplantlarına 0.5 mg/L 2,4-D + 1.00 mg/L BAP uygulaması.....	34
Şekil 4.5. Limtar Red kinoa çeşidinin sürgün ucu eksplantlarına 0.01 mg/L TDZ uygulaması	37
Şekil 4.6. Limtar Red çeşidinin iklim odasında saksı içerisinde dış koşullara alıştırılması.....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
RPHPLC	Ters Faz Kromatografisi
TTC	Tetrazolium Testi
IBA	Indol-3- Butirik Asit
NAA	α -Naftalin Asetik Asit
2,4-D	2,4-Diklorofenoksiasetik Asit
MS	Murashige ve Skoog
BAP	6-Benzilamino Pürin
KIN	Kinetin
IAA	Indol-3-Asetik Asit
TDZ	Thidiazuron
GA ₃	Giberellik Asit
NaOCI	Sodyum Hipoklorit
2İP	N6-2-isopentenyladenine
mg	Miligram
L	Litre
μ M	Mikromolar
°C	Santigrat derece
ml	Mililitre
g	Gram

1. GİRİŞ

Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), dikotiledon bir bitki olup, *Chenopodiaceae* familyasının bir üyesidir. Besinsel değeri açısından genellikle tahıl olarak kabul edilmektedir. Tohumları ekmek, çorba ve makarna yapmak için un haline getirilebilmektedir. Kinoanın kaynağı Güney Amerika'nın And Dağları bölgesidir (Weber, 1978) (Tablo 1.1.).

Tablo 1.1. Ülkelere göre kinoa çeşit sayısı belirlenmesi (<http://www.tukiyed.org>)

No.	Ülke	Kinoa çeşit sayısı
1.	Amerika	7
2.	Arjantin	1
3.	Bolivya	43
4.	Brezilya	1
5.	Danimarka	7
6.	Ekvator	15
7.	Hollanda	3
8.	İngiltere	2
9.	Kolombiya	2
10.	Peru	38
11.	Şili	5
12.	Yunanistan	1
	TOPLAM:	125

Kinoa yüksek besleyici değeri ve agronomik özelliklerinden dolayı son zamanlarda potansiyel bir "yeni" ürün olarak bilim adamlarının ilgisini çekmektedir. Bu özellikler içinde tohum protein miktarı % 7.5–22.1 (Tapia ve ark. 1980) , yağ içeriği % 4.6 civarında olup, % 80'in üstünde doymamış yağ asitleri bulunmaktadır (Repo-Carrasco ve ark. 2003) (Tablo 1.2.).% 48'e ulaşan esansiyel amino asitler,%6 ile buğday tohumlarından üç kat fazla lizin içeriğine sahiptir (Gorbitz ve Luna de la Fuente 1965). Hayvan deneylerinde, kinoa tohumlarının beslenme kalitesi, kazeine

benzetilmektedir (Mahoney ve ark. 1975). Yapraklar amino asit kompozisyonunun ortalama % 20'sini içermektedir. Ayrıca, değişen hava şartlarına bakılmaksızın, kinoa yapraklarındaki protein konsantresi insan tüketimi için mükemmel besin kaynağı değerindedir (Ostrowski Meissner ve ark. 1980). Ek olarak, kinoa bitkileri E ve B vitaminlerinceve bazı önemli mineraller bakımından da zengindir.

Tablo 1.2. Kinoa danelerinin besin içeriğinin (kuru ağırlık %) diğer tahıllarla karşılaştırması (Valencia-Chamorro, 2003)

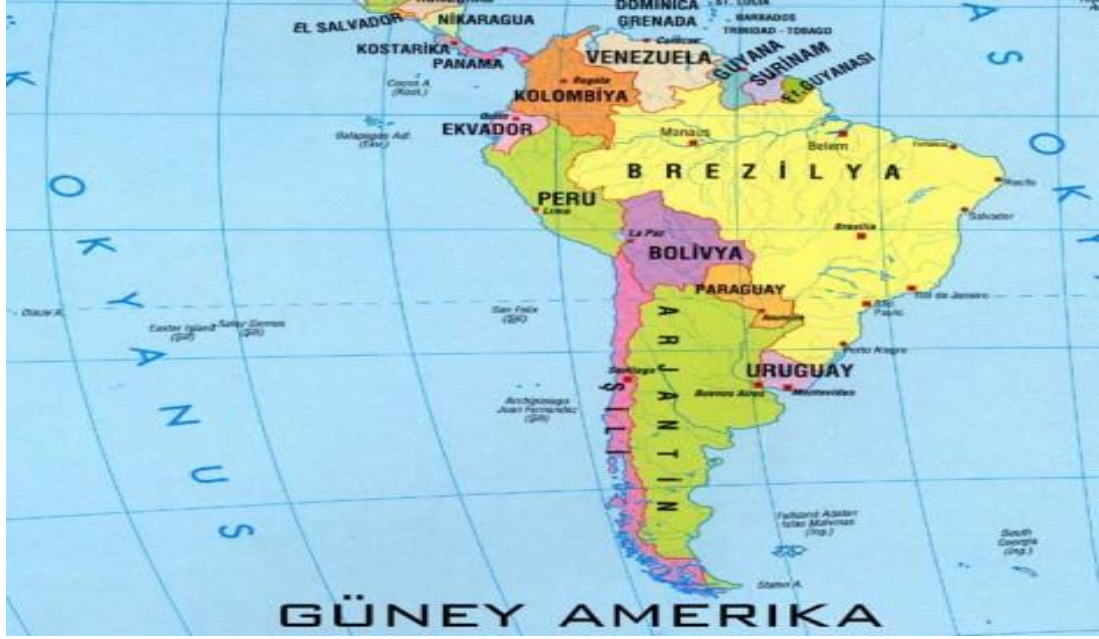
Bitki	Su	Protein	Yağ	K.hidrat	Lif	Kül
Kinoa	12.6	13.8	5.0	59.7	4.1	3.4
Arpa	9.0	14.7	1.1	67.8	2.0	5.5
Karabuğday	10.7	18.5	4.9	43.5	18.2	4.2
Mısır	13.5	8.7	3.7	70.9	1.7	1.2
Yulaf	13.5	11.1	4.6	57.6	0.3	2.9
Pirinç	11.0	7.3	0.4	80.4	0.4	0.5
Çavdar	13.5	11.5	1.2	69.6	2.6	1.5
Buğday	10.9	13.0	1.6	70.0	2.7	1.8

Tarımsal açıdan *C. quinoa*, soğuk ve kuru hava koşullarına iyi bir uyum göstermektedir. Bu durum, kinoayı dünyanın yarı çöl bölgelerinde üretilmesi ve orada bir gıda kaynağı olarak kullanılması için uygun bir tür haline getirmektedir. Kinoa tuzlu, alkali, kurak topraklarda ve güney Altiplano'da 3,500 m'yi aşan yüksekliklerde üretildiğinden; tohumları uluslararası piyasada tarımsal üretkenliği artırmak isteyen benzer ortamlara sahip ülkeler için cazip olmaktadır. Bolivya ve orta Şili gibi subtropikal iklime sahip yerlerde kinoa üretiminin yapılması, dünyada çeşitli bölgelerde kinoa üretiminin yapılabileceğini göstermektedir.

Peri, 1980) ve saponin varlığı yüksek olan bazı kinoa çeşitleri lezzetli yiyecek hazırlamadaprobem teşkil etmektedir. Ayrıca, saponinler, yetersiz beslenmiş çocuklar üzerinde toksik etki göstermektedir (Boiteau ve ark. 1964). Kinoa'daki glikozidlerin uzaklaştırılması için suyla yıkama yapılabilmektedir. Ancak, böyle bir uygulama üretim maliyetlerini, buğdayla ticari olarak rekabet edebilecek bir noktaya kadar yükseltmektedir. Bu nedenle, Güney Amerika'daki mevcut kinoa ıslah programlarının hedefleri, saponinlerin genetik seçim yoluyla ortadan kaldırılmasını ve saponinsiz kinoa bitkisi geliştirilmesini içermektedir. Geleneksel yöntemlerle 'Sajama' olarak adlandırılan saponin içermeyen bir çeşidin elde edildiği bildirilmektedir. Ancak, son araştırmalar bu çeşidin saponin üretme kapasitesini tekrar kazandığını göstermektedir (Aguilar ve ark. 1979). Araştırmalar, saponin içermeyen bireylerin kuşaklar boyunca giderek kaybolduğunu göstermektedir. Bu, kinoa'nın kolayca kendi tozuyla tozlanmadığı ile açıklanabilmektedir. Bu türe ait çapraz tozlaşma derecesi ve tohumların tek tek üremesi, üniform çeşitlerin eksikliğini açıklamaktadır. Bu bakımdan vejetatif üreme, tek tip popülasyonlar için değerli bir araçtır. Bu tip bir üretim, *in vitro* doku kültürü teknikleri uygulanarak sağlanabilmekteve kinoa türlerinin bu şekilde çoğaltım alternatifi oluşturulabilmektedir. Mevcut durum, *in vitro* yöntemlerin, bir tahıl ürünü olarak kinoanın geliştirilmesi için potansiyel faydasını ortaya koymaktadır.

Kinoa adaptasyonu ve ıslah programlarının geliştirilmesi için başlıca ön şartlar vardır. Bunlar, türlerin genom yapısının aydınlatılması, kinoayı geliştirmek için genetik kaynak havuzunun tanımlanması ve bitkinin fizyolojik ve agronomik özelliklerinin araştırılmasıdır.

Şu anda, kinoa bitkisinin ana vatanı olup, Güney Amerika'da yetiştirilmektedir. Kinoa tarımının yapıldığı başlıca bölgeler Peru ve Bolivya yaylaları, Kolombiya, Ekvador, Arjantin ve Şili vadilerinde küçük alanlardır (Şekil 1.2.). Kinoa, And vadileri, yaylalar, kıyı ve tuzlu topraklar gibi farklı ekolojik koşullarda gelişebilmektedir (Tapia ve ark. 1980).



Şekil 1.2. Kinoa bitkisinin doğal dağılımını gösteren ülkeler

And vadilerinin kinoa bitkileri; farklı renklerde ve boyları 2 m'den yüksektir. 190 ile 220 gün arasında bir büyüme periyoduna sahiptirler, mantari hastalıklara karşı dirençlidirler ve yüksek saponin içeriğine sahiptirler. Bununla birlikte, bazı düşük saponin içeriğine sahiptirli kinoa çeşitleri Peru'nun And vadisinde yetiştirilmektedir. Buna karşılık, 3800 m'den yüksek rakımlarda yetiştirilebilen kinoa; boy olarak küçüktür, yüksek verimlidir ve tadı acıdır. Şili kıyılarındaki kinoa acı tohumlara sahiptir ve verimi çok yüksek değildir; ancak, daha uzun vejetasyon süresine sahiptirler. Tuzlu topraklarda ve kuru iklimlerde gelişen kinoa grubunda ise verim yüksektir ama tohumlar saponince zengin olmaktadır.

C.quinoa, tohumlarla doğal olarak yayılış gösteren tek yıllık otsu bir bitkidir. Bu tür ekotiplere, çeşitlere ve soylara göre değişmekle birlikte % 12- 20'ye varan oranlarda kendine döllenmektedir (Espindola, 1980). Kinoa'nın yeni çeşitleri kitlesel seçimle başarılı bir şekilde elde edilmektedir (Lescano, 1980). Bununla birlikte, doğrudan ve hızlı diğer bir kinoa ıslah yöntemi ise, Arias (1980) tarafından belirtildiği gibi tek tohum seçim yöntemidir. Kinoa için yetiştirme hedefleri; verim, hastalıklar, don ve kuraklığa direnç, yüksek protein ve düşük saponin içeriği olmaktadır (Blanco 1980). Bununla birlikte, bu bitkinin iyileştirilmesi için protein

kalitesinin dikkate alınması gerekmektedir veya en azından diğer özellikler değiştirilmemelidir.

Bitki doku kültürü; aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, meristematik, süspansiyon veya kallus hücreleri, doku veya apikal meristem, kök vb. bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (sekonder metabolitler gibi) üretilmesidir (Babaoğlu ve ark., 2002).

Bitki ıslahında kullanılan biyoteknolojik yöntemlerden birisi somatik embriyogenesistir. Bitki hücrelerinden embriyo elde edilmesi jeneratif/döllenmiş yumurta hücreleriyle sınırlı değildir. *In vitro* kültür şartlarını ve özellikle bitki büyüme düzenleyicilerini ayarlayarak bir bitkinin herhangi bir somatik hücre, doku veya organından embriyo elde etmek mümkündür. Vejetatif hücrelerden gelişen embriyolar somatik embriyo olarak adlandırılmaktadır. Somatik doku hücreleri öncelikle yüksek oranda oksin içeren ortamda kültüre alınır, daha sonrada oksin içermeyen yeni ortama aktarırlarsa embriyo üretme yeteneğini kazanmaktadırlar. Somatik embriyogenesis direkt ve indirekt somatik embriyogenesis olmak üzere iki tipdir. Direkt somatik embriyogenesiste; embriyo ara bir kallus aşaması olmadan direkt olarak somatik hücreden oluşmaktadır. Bu tip embriyogenesis için çok genç bitki doku ve hücreleri kullanılmaktadır. İndirekt somatik embriyogenesiste ise önce kallus oluşmakta, daha sonra bu kallustan somatik embriyolar meydana gelmektedir. Somatik embriyo oluşturan kallusa embriyogenik kallus adı verilmektedir. Embriyogenik kallus; kompakt yapıda ve beyazdan açık sarı renge kadar değişiklik göstermektedir (Hatipoğlu, 1997).

Somatik Embriyogenesis klonal çoğaltımda, sentetik tohum üretiminde ve gen transformasyonunda kullanılmaktadır.

Direkt somatik embriyoların döllenme sonucunda gelişen zigotik embriyolara göre en önemli üstünlükleri genetik açılmaların olmamasıdır. Ayrıca, direkt olarak oluşan somatik embriyolar, kültüre alınan eksplantın somatik hücrelerinden direkt olarak gelişir ve eksplantın alındığı bitkinin genotipini muhafaza ettikleri için klonal çoğaltım gerçekleşmiş olmaktadır (Parrott ve ark. 1993).

Sentetik Tohum Üretimi: Direkt olarak gelişen somatik embriyolarda zigotik embriyolardaki açılmalar olmamakta ve somatik embriyolardan elde edilen sentetik tohumlardan çoğaltma, klonal çoğaltım şeklinde olmaktadır. Somatik embriyoların sentetik tohum olarak kullanılarak çoğaltılması için bitkiye dönüşebilme kabiliyeti yüksek olan embriyoların üretilmesi sağlanmalıdır. Ayrıca, bu üretimin gerçekleştirilebilmesi için istenen miktarda embriyo üretimi sağlayacak kültür sisteminin geliştirilmesi gerekmektedir.

Gen Aktarımı: Bitkilere gen aktarımında değişik yöntemler geliştirilmiş olmakla birlikte, en yaygın olarak kullanılan yöntemde *Agrobacterium tumefaciens* ile direkt muamele edilmektedir. Bu bakteri aracılığı ile tarımsal öneme sahip birçok gen, tek ve iki çenekli bitkilere kolaylıkla aktarılabilir (Özcan ve Özgen, 1996).

Son yıllarda *in vitro* kültür yöntemlerinde kaydedilen ilerleme, ıslah programlarının daha etkili şekilde kullanılabileceğini göstermektedir (Simmonds 1979). Doku kültürünü, kinoa ıslah programlarında faydalı şekilde kullanmak için rejenerasyon protokolların geliştirilmesi gereklidir. Rejenerasyon protokolları geliştirdikten sonra, kültür yöntemleri bitkilerin ıslah programlarında ve bitki genotiplerinin üniformatını değiştirmeksizin çoğaltım ve muhafaza için kullanılmaktadır. Benzer şekilde geliştiren yöntemler ile kinoa bitkisinde saponin içeriğinin istenilen miktarda azaltmak amacıyla da kullanılabilecektir.

Çapraz tozlanmada, nesiller boyu yeni çeşitlerin genetik homojenliğinin muhafaza edilmesi zor olmaktadır (Aguilar ve ark.1979). Tek tip genotipleri korumak için kullanılan yöntem vejetatif yayılımdır. Fakat, tohumlarla çoğaltılan kinoa gibi bitkiler için bu kolayca elde edilememektedir. Tohumla üretilen türlerin, meristem ya da sürgün ucu kültür yöntemleri kullanılarak *in vitro* koşullar altında vejetatif olarak çoğalmaya yönlendirilebilmektedir (Eeuwens 1976, Cheyne ve Dale 1980). Kinoa bitkilerinde saponin içeriğinin modifikasyonu için iki türlü görüş bulunmaktadır;

- Saponinler: tadının acı olması nedeniyle insan ve hayvanlar üzerinde toksik etki yapacağından dolayı un ile yapılan çeşitlerden veya diğer işlenmiş gıda maddelerinden yoksun bırakılmalıdır.

- Kinoaadaki saponinlerin, farmakolojik özelliklere sahip olan bileşik olarak tarımda, tıpta ve sanayide uygulanabilirliği ihmal edilmemelidir.

Bu nedenle, yüksek saponin üretimi için belirli çizgiler veya çeşitler geliştirilebilmektedir. Her iki durumda da, doku kültürü teknikleri bu hedeflere ulaşılmasında katkıda bulunmaktadır. Örneğin, homozigot genlere sahip olan haploidler anter tarafından üretilmekte veya direkt embriyogenesis ve haploid kallus oluşumu tarafından uyarılmaktadır (Nitsch 1977). Haploid kallus elde etmenin avantajı, seçimden önce mutajenez yoluyla arttırılabilir olmasıdır. Seçilen haploid çizgiler daha sonra homozigot bitkiler elde etmek için kromozom sayılarını ikiye katlamaktadır. Böyle bir durumda, yeterli sayıda mutant dihaploid bitki elde etmek için kallustan bitki rejenerasyonu oluşturulmaktadır.

In vitro yöntem kullanılarak; verimli homozigot bitkilerin elde edilmesi, melezleme ile doğal hatların üretimi, yüksek verim, hastalık direnci veya kalite taraması (saponinsiz veya yüksek lizin içerikli bireyler) yapılabilmektedir. Homozigot bitkiler, farmasötik amaçlar için ve yüksek saponin içeriğine sahip kinoa hatları elde etmek için de yararlı olabilmektedir. *Chenopodiaceae* ailesine uygulanan *in vitro* yöntemler üzerinde yapılan çalışmalar çok sınırlı kalmıştır. Husemann ve Barz (1977) tarafından *Chenopodium rubrum*'den elde edilen kallus fotosentez çalışmalarında kullanılabilmektedir. Bu tür kültürler için farklı hormonal gereksinimler gözlemlenmektedir (Flores ve ark. 1982).

Kinoa kültürlerinde yüksek saponin içeriği farmakolojik etkisi bakımından saponin kaynağı olarak kullanılabilmektedir (Shibata 1977). Saponinler, tohumlara acı bir tad vermekte ve belirli koşullar altında toksik olabilmektedirler (Boiteau ve ark. 1964). Gonzales (1917) tarafından ilk kez kinoa tohumlarında saponinlerin varlığının, tohum yıkama solüsyonlarında hem acı tat hem de hemolitik aktivite olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, saponinlerin kolesterol düşürücü gibi biyolojik özelliklerini incelemek için, tüm saponinlerin analizi gerekmektedir (Chandel ve Rastogi 1980).

Kinoaadaki düşük saponin içeriğinin, özellikle tohum protein oranını ve diğer özelliklerini değiştirmediğinin kontrol edilmesi gerekmektedir (Pedersen ve Wang

1971). Doku kültürü programları henüz düşük saponin hatları üretmediğinden, kinoa için hiçbir çalışma rapor edilememektedir.

Tablo 1.3. Kinoa ve bazı tahılların esansiyel aminoasit içerikleri (g/100 g protein) (Kozioł, 1992).

AMİNOASİTLER	KİNOA	BUĞDAY	MISIR	PİRİNÇ
İZOLOSİN	4.9	4.2	4.0	4.1
LÖSİN	6.8	6.8	12.5	8.2
LİZİN	6.0	2.6	2.9	3.8
FENİLALANİN	6.9	8.2	8.6	10.5
HİSTİDİN	3.2	2.0	2.6	2.1
METİONİN	5.3	3.7	4.0	3.6
TREONİN	3.7	2.8	3.8	3.8
TRİPTOFAN	0.9	1.2	0.7	1.1
VALİN	4.8	4.4	5.0	6.1

Türkiye’de kinoa yetiştiriciliğinin yüksek kalitede yapılması, Dünya’da yüksek oranda tüketilen bir ‘sağlıklı, glutensiz, süper besin’ olarak nitelendirilen bu yeni türün, Türk yetiştiricisine de katma değer kazandırılması hedeflemektedir. Ancak, bu şekilde ithal ürünler sebebi ile oldukça pahalı olarak tüketilen kinoa, yurdumuz topraklarında yetiştirilebilir ve tüketicilerle daha ucuza buluşabilmektedir.

2009-2013 yılları arasında Dünya’da 204 ülkede, Türkiye’de ve Akdeniz Havzası’nda ise 10 ülke ile eş zamanlı olarak, her biri 100’ ün üzerinde deneme parselinde ardarda 4 yıl, 4 kez yapılan hasat ile kinoa yetiştiriciliğinde tohumun melezleşme erozyonunun çok yüksek olduğu ispatlanmıştır (<http://www.tukiyed.org>).

Türkiye Kinoa Yetiştiricileri Derneğinin (TUKİYED) önceliği, yasal ithalat yollarıyla Türkiye’ye getirilen saponini ince olan çeşitlerin tohumlarının ekilerek üretim yapılmasıdır (Tablo 1.4.).

Tablo 1.4. Saponin kalınlığına göre kinoa çeşitlerinin tohumlarının özellikleri (<http://www.tukiyed.org>)

Çeşit	Renk	Saponin kalınlığı (mm)
Illipa inia	Beyaz	0,02
Inia 420-black negra collana	Siyah	0,02
Salcedo inia	Beyaz	0,02
Inia 431-altiplano	Beyaz	0,03
Cheweca	Beyaz	0,04
Huacariz	Beyaz	0,04
Inia 415-red rosa pasankalla	Kırmızı	0,04
Juli white-blanca de juli	Beyaz	0,04
Mantaro	Beyaz	0,04
Rosado yanamango pink	Beyaz	0,04
Kankolla	Beyaz	0,35

Dünyanın en verimli türleri gibi görülen genetiği değiştirilmiş kinoa türlerinin ekimi Türkiye’de, Peru’da, Bolivya’da ve Amerika’da yasaktır. Dünyada en çok kinoa tüketen ülke Amerika’dır. İkinci ülke ise Kanada’dır. Bu ülkelerde Türkiye gibi Nogayo Protokolünü (Genetik ve Biyolojik Çeşitlilik) imzalamamıştır. Bu ülkeler GDO’lu ürünlerin ve bu ürünlerin tohumlarının ithalatını yasaklamıştır.

Bu çalışma kapsamında, kinoa bitkisinin sürgün ucu ve gövde eksplantlarına farklı tipte bitki büyüme düzenleyiciler (2,4-D, TDZ, BAP) uygulanmış ve somatik embriyogenesis araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Fukami ve Hildebrandt (1967); çalışmalarında kinoa sürgünlerinin canlılığını sağlamak için MS ve B5 besin ortamlarınasirasıyla 30 ve 20 g/L sukroz eklemişlerdir. 40 g/L dozunda bir şeker konsantrasyonu kullandıklarında, eksplant başına gelişen sürgün sayısı azalmış ve 50 g/L sukroz dozunda ise, kinoa sürgünleri üzerinde bu miktarın ölümcül bir etki oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Öte yandan, çok düşük sukroz konsantrasyonu (5 g/L) eksplantların zayıf gelişimine sebep olmuş ve gövde gelişimini yavaşlatmıştır. B5 ortamında 8.46 adet sürgün meydana gelirken, kontrol grubunda eksplant başına ortalama 3.39 adet sürgün meydana gelmiştir. Bu koşullar altında birden fazla yan sürgünler gelişmiş ve çiçeksi rozet yapısı oluşmuştur. Yan sürgünler eksplant olarak kullanılmış, çoğalma oranı tohumların sonuçlarıyla benzerlik göstermiştir. NAA, IBA ve IAA hormonları ayrı ayrı uygulandığında kök oluşumunun düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Romberger ve ark. (1971); çalışmalarında Real de Puno, Kcoito, Wila Jiura ve Cheweka kinoa türlerini 0.1 mg / L 2,4-D ile kültüre almışlardır. Kallus ağırlıklarını 3.5, 7.0, 4.0 ve 3.7 g olarak belirlemişlerdir. 1 mg / L 2,4-D içeren kültürü, 3 ay boyunca takip etmişlerdir. Agarlı ortamda yetiştirilen kallusun kuru ağırlığı % 6.5-50 arasındadır. Epikotil segmentleri kinetin (0.2, 2.0 ve 10 mg / L), oksin içeren ortama alınmıştır. Kinetin + 2,4-D kombinasyonu içeren ortamlarda kallus oluşumu gerçekleşmezken, yalnız oksin içeren ortamlarda kallus oluşumu gözlemlenmiştir. 2 mg/L kinetin ve 0.2, 2.0, 8.0 ve 16.0 mg/L konsantrasyonlarında IBA içeren ortamlarda eksplantlar, 10 hafta sonunda eksplant başına ortalama 1.6g kallus oluşturmuştur. Maksimum kallus oluşumu 10 haftalık kültür süresinden sonra 10 mg/L kinetin ve 16 mg/L NAA içeren ortamlarda eksplant başına 2,7 g olarak gerçekleşmiştir.

Burnouf-Radosevich ve ark. (1982); kinoa çeşidinin epikotil bölümlerini, 18 günlük çimlenmeden sonra eksplant kaynağı olarak kullanmışlardır. 2,4-D, NAA ve IBA gibi tek başlarına ve bir sitokinin ile kombinasyon halinde test edilmiştir. Oksinler tek başına kullanıldığında, sadece 0,2 mg / L 2,4-D içeren ortamda herhangi bir morfolojik tepki olmadan yüksek oranda kallus oluşumu gözlenmiştir. 6 haftalık kültürden sonra kallus ağırlığı, eksplant başına 2,7 g olarak bulmuşlardır. NAA

(naftalinasetik asit), 2,4-D'den daha az etkili olmuştur. 2 ve 8 mg / L NAA dozlarında birkaç eksplantta kallus oluşumu meydana gelmiştir. IBA, sitokinin yokluğunda herhangi bir kallus gelişimini uyarmamaktadır; bununla birlikte, NAA, IBA (0.2, 2.0, 8.0 ve 16 mg/L) gibi hormonların kök gelişmesine katkıda bulunduğunu gözlemlemişlerdir.

Jang R. ve ark. (1984); tatlı patatesde (*Ipomea batatas* Poir.) yaprak, sürgün ucu, gövde ve kök eksplantları ile 0.5 ila 2.0 mg/L 2,4-D ihtiva eden ortam kullanarak iki farklı kallus oluşumunu gözlemlemişlerdir. Biri soluk sarı kompakt yapıda, diğeri ise donuk kolayca dağılır yapıdadır. Çiçeklenmişve köklü yapıda bitkileri toprağa aktardıklarını bildirmişlerdir.

Chen, M.H. ve ark. (1987); iki papaya (*Carica papaya* L.) çeşidinin sürgün ucu, gövde, yaprak, kotiledon ve kök eksplantlarının somatik embriyogenesis potansiyeli üzerinde çalışmışlardır. 1/2 ×MS ortamı, 1.0 mg/L NAA, 0.5 mg/L kinetin ve 1.0 mg/L GA₃ ilaveli ortamları optimal somatik embriyogenesis için uygun bulmuşlardır. Somatik embriyogenesisinde en iyi kallus oluşumu gövde eksplantında gözlemlenmiştir. Kullanılan diğer kısımların kallus oluşturmaları daha zor olmuştur. Bu uygulamadan iki yıl sonra da kallus rejenerasyon kapasitesini korumuştur. Somatik embriyolardan üretilen bitkileri sera koşullarında yetiştirmişlerdir.

Rugini, E. ve ark. (1988); Zeytin (*Olea europaea* L.) bitkisinde *in vitro* ortamda olgunlaşmamış zigotik embriyolardan elde edilen yaprak disklerini 50, 75, 90 ve 105 gün sonra toplamışlardır ve tam çiçeklenme döneminde somatik embriyogenik kapasitesini test etmişlerdir. 1/2 × MS ortamı BAP, 2,4-D ve NAA kullanmışlardır. Somatik embriyogenesis, % 40 oranında 75 günlük embriyolardan düşük sitokinin ve oksin konsantrasyonlarında daha iyi sonuç vermiştir. Farklılaşma 2,4-D uygulamasında gerçekleşmiştir. Somatik embriyolar çimlenmiş ve toprağa aktarmışlardır.

Marla, L. ve ark. (1995); çalışmalarında biber (New Mexico-6 ve Rajur Hirapur çeşitleri) bitkilerini, somatik embriyogenes ile olgunlaşmamış zigotik embriyolardan rejenere etmişlerdir. En iyi sonuç, 2,4-D (9 µM), hindistan cevizi, su (% 10) ve yüksek sukroz (% 8) içeren MS ortamında gözlemişlerdir. MS ortamında GA₃ ve TDZ hormonları tek başına yada kombinasyon halinde kullanıldıklarında

çimlenmiş olgun embriyoların normal somatik embriyolardan % 70 daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Vilasini, P. ve ark. (2000); papaya bitkisinde (*Carica papaya* L.) MS ortamında 2,4-D hormonu kullanarak embriyonik kallus kültürleri elde etmişlerdir. 10 mg/L 2,4-D kullanımının embriyolardan apikal meristem oluşturması açısından iyi bir oran olduğunu tespit etmişlerdir. Somatik embriyolar MS ortamına aktarıldığında çimlenme gözlemlenmiştir. %3 sukroz, 0.1 mg/L NAA ve 0.1 mg/L BAP hormonları kullanmışlardır. Bitkiler başarıyla sera koşullarına aktarmış ve 2 hafta boyunca yüksek neme maruz bırakmışlardır.

Erdoğan Y. ve ark. (2004); çalışmalarında adventif sürgün rejenerasyonu için Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) bitkisine değişik oranlarda TDZ içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamı kullanmışlardır. En yüksek sürgün oluşturan eksplant oranı %90 ve eksplant başına en fazla sürgün sayısını da 22 adet olarak belirlemişlerdir. Thidiazuron (TDZ) konsantrasyonlarının, eksplantların sürgün rejenerasyonunda geniş bir varyasyon gösterdiğini bildirmişlerdir.

Eisa S. ve ark. (2004); kinoa ekiminde en önemli sınırlayıcı faktörün tohum kaynaklı virüs hastalıkları olduğunu belirtmişlerdir. Dolayısıyla virüssüz bitki eldesinde somatik embriyogenesis önemlidir ve seri üretim imkanı sunmaktadır. Somatik embriyogenesis ıslah çalışmalarında kullanılan en önemli doku kültürü yöntemidir. *Chenopodium quinoa* da somatik embriyogenesis için kallus ve hücre kültüründen bir protokol geliştirmişlerdir. Murashige ve Skoog (MS) 0.45 mg/L 2,4-D içeren besin ortamına alınan kinoa 2 hafta sonra kallus ve hipokotil eksplantlar oluşum göstermiştir. Kallusları MS ortamına almışlardır ve somatik embriyoların gelişimini gözlemlemişlerdir.

Taner K.Y. ve ark.(2004); Kavun (*Cucumis melo* L.) bitkisine ait in vitro bitkilerden alınan kotiledon ve yapraklı hipokotil eksplantlarının MS besin ortamında sürgün oluşturma kapasiteleri üzerine, farklı şeker (% 15, 20 ve 25) konsantrasyonlarının ve pH seviyelerinin (5.6, 5.7, 5.8) etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta, kotiledon eksplantlarından sadece kallus oluşumu sağlanırken, yapraklı hipokotil eksplantlarından kallus oluşumu ile birlikte sürgün oluşumu meydana gelmiştir. En yüksek oranın, bitki eksplant başına ortalama 4.89 adet sürgün olacak

şekilde %15 şeker içeren ve pH'sı 5.6 olan MS besin ortamından elde edildiğini bildirmişlerdir.

Demirbağ N. ve ark. (2008); Yaygın mürdümük(*Lathyrus sativus* L.), yem verimi ve kalitesi açısından önemli yere sahip bir baklagil bitkisidir. Yaygın mürdümük bitkisine ait kotiledon boğum eksplantlarını farklı oranlarda TDZ içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. En fazla sürgün, % 100 ile 0.2 mg/L TDZ içeren besin ortamında; en yüksek sürgün sayısı ise 11,83 adet ile 0.2 mg/L TDZ ve 10,56 adet ile 0,2 mg/L TDZ içeren besin ortamlarından elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Sezgin M. (2009); çalışmasında Avrupa Kestanesinin (*Castanea sativa* Mill.) Osmanoğlu ve Sariaşlama çeşitlerinde tohumların kotiledonlarından somatik embriyogenesis ile bitki rejenerasyonu sağlanmaya çalışılmıştır. En yüksek somatik embriyogenesis değerleri (%4.7-9.7) 1 mg/L BA + 2 mg/L Kinetin içeren ortamında gerçekleşmiştir. MS çimlendirme ortamına alınan somatik embriyolarda %27.5 rejenerasyon sağlandığını bildirmiştir.

Temiz M.G. ve Özgüven A.I. (2010); yaptıkları çalışmada Nar (*Punica granatum*)'da çeşit faktörünün (Hicaz ve Silifke Aşısı), değişik eksplantların (yaprak, hipokotil, kotiledon ve kök eksplantları) ve farklı 2,4-D, BAKombinasyonlarının somatik embriyogenesis üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırma bulgularına göre çalışmada kullanılan nar çeşitlerinden Silifke Aşısının beyaz kallus oluşumuna etkisi (% 36,60), Hicaz çeşidine (% 32,58) göre daha iyi sonuç vermiştir. Çalışmada yer alan eksplant tiplerinin embriyogenik kallus oluşumu üzerine etkilerini kotiledon (% 10,01), hipokotil (% 9,78), kök (% 8,53) ve yaprak (% 7,53) olarak belirtmişlerdir.

Koçak M.(2012); yaptığı çalışmada Siklamen (*Cyclamen persicum*) türüne ait 15 farklı bitkiden alınan ovül, bölünmüş ovaryum, yaprak ve yaprak sapı kullanmıştır. Eksplantları 1/2 × MS ve 2,4-D' li ortamlara koymuştur. En yüksek kallus oluşumu yaprak sapı eksplantında görülmesine rağmen, en yüksek somatik embriyo oluşumu ovaryum eksplantında tespit etmiştir. Kallus oluşum oranlarını yaprak sapı, ovaryum, ovul ve yaprak eksplantlarında sırası ile %34.3, %30.16, %26.6 ve %15.6 olarak tespit etmiştir. Somatik embriyo oluşum oranlarını ovaryum,

yaprak sapı, yaprak ve ovul eksplanlarında sırası ile %11.3, %8.00, %4.16 ve %2.83 olarak tespit etmiştir.

Kıran R. (2013); bu çalışmada *Amsonia orientalis* Decne. bitkisinde somatik embriyogenesis yoluyla sentetik tohum üretimini amaçlamıştır. Eksplant olarak yapraklar kullanılmıştır. Eksplantları çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerin farklı konsantrasyonlarını içeren MS besi ortamında kültüre almıştır. Embriyo gelişme ortamına aktarılan embriyogenik kalluslardan %35,29 oranında somatik embriyo oluşumunu gözlemlemiştir.

Turan D. (2013); çalışmasında Sarılop incir çeşidinin yaprak eksplantlarını kullanarak direkt ve indirekt somatik embriyogenesis yoluyla somatik embriyo oluşumunu amaçlamıştır. Kasım ve Mart aylarında alınan incir tepe tomurcukları MSbesin ortamında kültüre alınmış ve gelişen sürgünlerden alınan yaprakları çalışmada eksplant olarak kullanmıştır. Bu yapraklar 2.0mg/L 2,4-D + 0.2 mg/L kinetin içeren MS besin ortamında % 66.66 oranında kallus oluşturmuşancak, somatik embriyo gelişimi elde edilememiştir. Direkt somatik embriyo oluşumu için, yaprak eksplantları TDZ ve 2İP (N6-2-isopentenyladenine) içeren MS ortamında kültüre almıştır. Yaprak eksplantlarından gelişen 3.09 cm en yüksek boy sürgünlerelde edilmiştir. En yüksek kök oluşum oranınıise %42.76 olarak ölçülmüştür. En yüksek embriyo oluşum oranını %20 ile 2 mg/L TDZ + 8 mg/L 2İP içeren MS ortamından elde edilmiştir. Eksplant başına oluşan somatik embriyo sayısı ise 0.83 adettir. En yüksek kallus oluşum oranı 2.0 mg/L TDZ + 4.0 mg/L 2İP içeren MS besin ortamında %83 olarak gözlemlemiştir.

Sevindik B. (2014); yaptığı çalışmada, Çiğdem türlerinin (*Crocus sativus* L., *Crocus ancyrensis*, *Crocus pallasii* subs. *pallasii*) somatik embriyogenesis yöntemi ile çoğaltılması ve *Crocus sativus* türünde histolojik analizler ile kallus oluşum safhalarını gözlemlemiştir. Denemede bitki büyüme düzenleyicilerinden; NAA (0, 0.5, 1, 2 mg/L), BA (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L), 2 iP (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L) ve 2,4-D (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L)'nin farklı kombinasyon ve konsantrasyonlarını kullanarak bitkilerin *in vitro*'da gelişim ve farklılaşmalarını gözlemlemiştir. Üç türde de yüksek oksin konsantrasyonlarının bulunduğu ortamlarda somatik embriyo oluşumu saptanmıştır.

Hesami, M. ve ark. (2016);yaptıkları çalışmada Kinoa da karanlık ve ışık koşullarında farklı MS ortam konsantrasyonlarında tohumların çimlenmesi, farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerin hipokotil eksplantında kallus oluşumu üzerine etkisini araştırmışlardır. % 100 ile en yüksek tohum çimlenmesini MS ortamında elde etmişlerdir. En fazla kallus oluşumu 0.5 mg/L 2,4-D + 0.05 mg/L BAP içeren MS ortamında % 93.33 olarak gözlemlemişlerdir. 1.0 mg/L BAP ve 1.0 mg/L kinetin ilaveli MS ortamında, en fazla rejenerasyon (% 83.33) ve maksimum filiz sayısı (6.33) elde etmişlerdir.

Özdemir F.A. ve ark. (2016); Bu çalışmada, *in vitro*'da üretilen *Crambe maritima* bitkilerden izole edilen hipokotil eksplantlarının kullanımıyla mikro üretimini yapmışlardır. Hipokotil eksplantlarından, maksimum kallus oluşum yüzdesi 0.50 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamında, maksimum sürgün rejenerasyon yüzdesi 2.0 mg/L BAP + 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamından, maksimum eksplant başına sürgün sayısı 1.0 mg/L BAP + 0.50 mg/L NAA içeren MS besin ortamında, maksimum sürgün uzunluğu ise 2.0 mg/L BAP içeren MS besin ortamında elde edilmiştir.

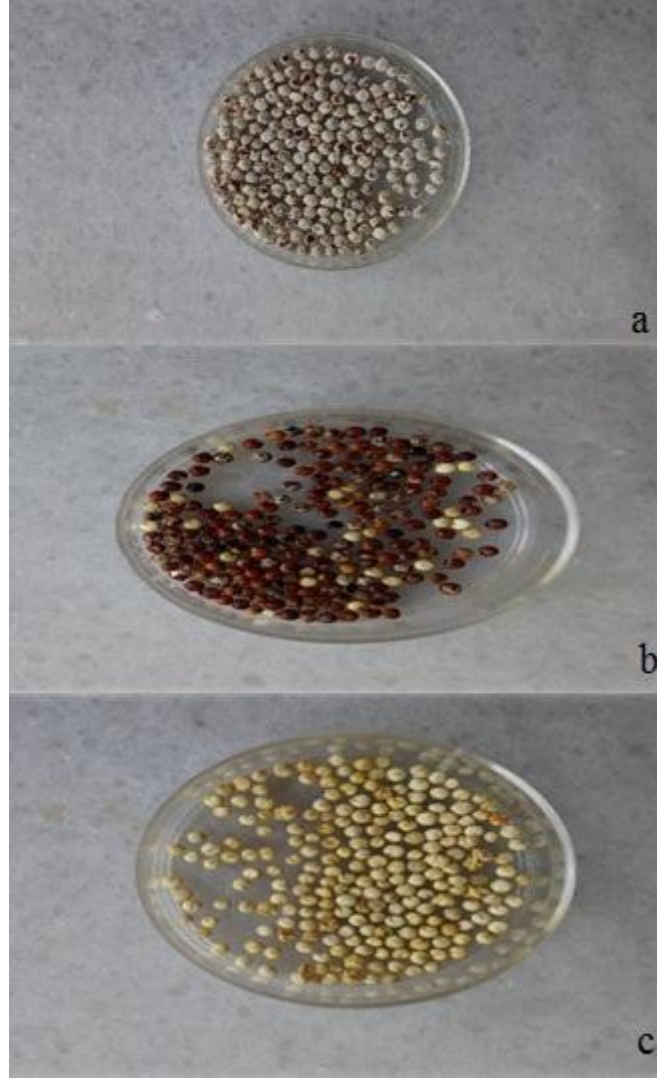
3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. MATERİYAL

Çalışmada bitki materyali olarak, Limtar Black, Limtar Red, Limtar White olmak üzere tescile aday üç kinoa çeşidi (Tablo 3.1.) kullanılmıştır. Her üç çeşitten yalnızca Limtar White çeşidi üretim iznli çeşitler listesine girebilmiştir. Tohumlar, Tohumluk Tescil ve Sertifikasyon Merkez Müdürlüğü/Ankara'dan temin edilmiştir. Çalışma, Ekim 2016-Nisan 2017 tarihleri arasında Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Bitki Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan üç kinoa çeşidi Limtar Tarımsal Ürünler San. ve Tic. A.Ş tarafından 28.01.2016 tarihinde, tıbbi ve aromatik bitki grubu olarak üretim izni alınmıştır(<http://www.tarim.gov.tr/BUGEM/TTSM>)

Sıra No	Çeşit Adı	Başvuru Sahibi	Üretim İzni Tarihi	Ürün Grubu
1	Limtar Black	Limtar Tarımsal Ürünler San. ve Tic. A.Ş.	28.01.2016	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler
2	Limtar Red	Limtar Tarımsal Ürünler San. ve Tic. A.Ş.	28.01.2016	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler
3	Limtar White	Limtar Tarımsal Ürünler San. ve Tic. A.Ş.	28.01.2016	Tıbbi ve Aromatik Bitkiler



Şekil 3.1. Limtar Black, Limtar Red, Limtar White çeşidine ait tohumların şematik görüntüsü

- a. *Chenopodium quinoa* Wild. (Siyah Kinoa) çeşidinin tohumları
- b. *Chenopodium quinoa* Wild. (Kırmızı Kinoa) çeşidinin tohumları
- c. *Chenopodium quinoa* Wild. (Beyaz Kinoa) çeşidinin tohumları

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Besin Ortamı, Bitki Büyüme Düzenleyiciler ve Kültür Koşulları

Denemelerde farklı oran ve kombinasyonlarda sitokinin ve oksinler ile MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog 1962) (Tablo 3.2.) ile % 3 sakkaroz ve % 0.5-0.8'lik agar kullanılmıştır. Ortam hazırlığında çift distile saf su kullanılmış olup, besin ortamlarına farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri (2,4-D, TDZ, BAP) ilave edilmiştir. Besin ortamının pH'sı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak 5.7 ± 0.1 'e ayarlandıktan sonra 105 kPa basınç altında ve 121°C ' de 20 dk. tutularak steril edilmiştir. Büyüme düzenleyicilerin stok solüsyonları üretici firmanın tarif ettiği gibi gerekli çözücülerle çözüldükten sonra saf su ile istenilen miktarda ve oranda hazırlanarak 4°C 'de saklanmıştır (Tablo 3.3.).Çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyici kimyasallar Duchefa, Merck. ve Sigma Aldrich Chemical Co. dediğer firmalardan temin edilmiştir.

Tablo 3.2. MS (Murashige ve Skoog 1962) Besin Ortamında Bulunan Mineral Maddeler ve Konsantrasyonları

Makro Elementler		Mikro Elementler		Vitaminler	
Ortamda bulunan maddeler	Kons. (mg l ⁻¹)	Ortamda bulunan maddeler	Kons. (mg l ⁻¹)	Ortamda bulunan maddeler	Kons. (mg l ⁻¹)
NH ₄ NO ₃	1650	KI	0.83	Myo-Inositol	100.000
KNO ₃	1900	H ₃ BO ₃	6.20	Nicotinic Acid	0.500
CaCl ₂ .2H ₂ O	440	MnSO ₄ .4H ₂ O	22.300	Pyrotinic Acid	0.500
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.600	Thiamine-HCl	0.100
KH ₂ PO ₄	170	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.250	Glycine	2.000
		CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025		
		CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025		
		FeSO ₄ .7H ₂ O	27.850		
		Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.250		

Tablo 3.3. Kullanılan Büyüme Düzenleyicileri, Çözücüler ve Saklama Koşulları

Büyüme Düzenleyicileri	Çözücü	Saklama Koşulları (°C)
2,4-D	Etanol	+4
TDZ	Etanol	+4
BAP	1 N NaOH	+4

Tüm kültürler beyaz floresan ışığında 16 saat ışık fotoperiyodunda ve 24 °C’de tutulmuştur. Sterilizasyon ve tüm doku kültürü işlemleri laminar flow kabini içinde yürütülmüştür. Her muamelede içinde 5 adet eksplantın bulunacağı 3 tekerrürlü magenta kapları (GA-7) kullanılmıştır. Çalışmada kullanılacak olan cam petri kutuları 160°C’de 1.5 saat etüv içerisinde steril edilmiştir. Ortamların, magenta kaplarının ve saf suyun sterilizasyonunda 105 kPa basınç, 121 °C ve 20 dk. ya ayarlı otoklav kullanılmıştır.

2.4- D (2,4-Diklorofenoksiasetik Asit) Stok Solüsyonunun Hazırlanışı:

Solüsyonu hazırlarken, 1 litrede kaç “mg/L” hazırlamak gerekirse hassas terazide tartılıp EtOH (1-2 damla) ile vortekste çözdürdükten sonra üzeri saf su ile tamamlanıp tekrar vorteksleyip laminar flow kabini içerisinde filtre sterilizasyonu yapılarak ortamlara istenilen dozlarda ilave edilmiştir.

TDZ (Thidiazuron) Stok Solüsyonunun Hazırlanışı:

Solüsyonu hazırlarken, 1 litrede kaç “mg/L” hazırlamak gerekirse hassas terazide tartılıp EtOH (1-2 damla) ile vortekste çözdürdükten sonra üzeri saf su ile tamamlanıp tekrar vorteksleyip laminar flow kabini içerisinde filtre sterilizasyonu yapılarak ortamlara istenilen dozlarda ilave edilmiştir.

BAP (Benzilamino Pürin) Stok Solüsyonunun Hazırlanışı:

Solüsyonu hazırlarken, 1 litrede kaç “mg/L” hazırlamak gerekirse hassas terazide tartılıp 1 N NaOH (1-2 damla) ile vortekste çözdürdükten sonra üzeri saf su ile tamamlanıp tekrar vorteksleyip laminar flow kabini içerisinde filtre sterilizasyonu yapılarak ortamlara istenilen dozlarda ilave edilmiştir.

3.2.2. Sterilizasyon

Steril edilen tohumlardan elde edilen 7–10 günlük bitkiciklerin gövde ve sürgün ucu eksplantları 1 cm uzunluğunda kesilerek somatik embriyogenesis ortamına aktarılmıştır. Somatik embriyogenesis ortamları MS ortamına uygun konsantrasyonlarda BBD (bitki büyüme düzenleyiciler) eklenerek steril magenta kültür kaplarına hazırlanmıştır. Oluşturulan kültürler 16 h ışık fotoperiyodun da beyaz floresans ışığı altında iklim odasında $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta muhafaza edilmişlerdir. Doku kültürü ile ilgili bütün çalışmalar steril hava akışlı laminar flow kabini içerisinde yapılmıştır.

3.2.3. Eksplantların İzolasyonu

Steril kabin her çalışma öncesinde % 70'lik etil alkolle silinerek ve boş olarak 15dk. çalıştırılmıştır. Ayrıca, her çalışma öncesinde çalışma sırasında kullanılacak malzemeler, eksplant ve saf su sterilizasyon kuralları doğrultusunda steril edilmiştir.

Kinoa tohumlarının yüzey sterilizasyonu için ticari çamaşır suyunun (%5 NaOCl içeren etken madde) % 5,10,15,20'lik dozu ile 5 ve 10 dk olarak uygulanarak steril edilmiştir. Dahasonra tohumlar steril saf su ile 3×5 dk. durulanmıştır.

3.2.4. Tohum Canlılık Tetrazolium Testi

Bu çalışmada kinoa tohumları 24 saat su içinde bekletilerek kabukları yumuşatılacak ve 1 g/l 2, 3, 5 trifeniltetrazolium klorit (tetrazolium) solüsyonu içine konularak 24 saat sonra canlılık kontrol edilmiştir (Anonymous 1999).

3.2.5. Tohumların Çimlendirilmesi

Steril edilen tohumlar yine steril magenta kablar içerisinde % 3 sakkaroz içeren ve % 0.5-0.8'lik agar ile katılaştırılan MS besin ortamında 24°C 'de 16 saat ışık fotoperiyodunda çimlendirilmiştir. Tohumlar kültüre alındıktan 7-10 gün sonra tohum çimlenme bulaşıklığının oranı belirlenmiştir.

Ayrıca, tohumlar steril toprak (pH'sı 5.5-8.0 aralığındaki kumlu tınlı toprak) içeren 15 cm'lik saksılara ekim yapılarak çimlenme çıkışları gözlemlenmiştir.

Her petri kabının alt tabağında tohumlar 4 ml saf su ile ıslatılmış ve nemi sürekli kontrol edilerek 2 adet filtre kağıdı konularak çimlendirme sağlanmıştır.

3.3. VERİLERİN İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRİLMESİ

Uygulamalar 3 tekekrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve her bir tekekrür için 5 adet tohum/eksplant olmak üzere, her bir uygulama için toplamda 15 adet tohum/eksplant kullanılmıştır. Her çalışma Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre kurulmuş ve elde edilen veriler “SPSS for Windows 17” bilgisayar programı ile analiz edilmiş ve uygulama ortalamaları MSTAT-C bilgisayar programı kullanılarak Duncan testi ile karşılaştırılmıştır. Yüzde değerleri istatistik analizi yapılmadan önce arcsin değerlerine çevrilmiştir (Snedecor ve Cochran 1967).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

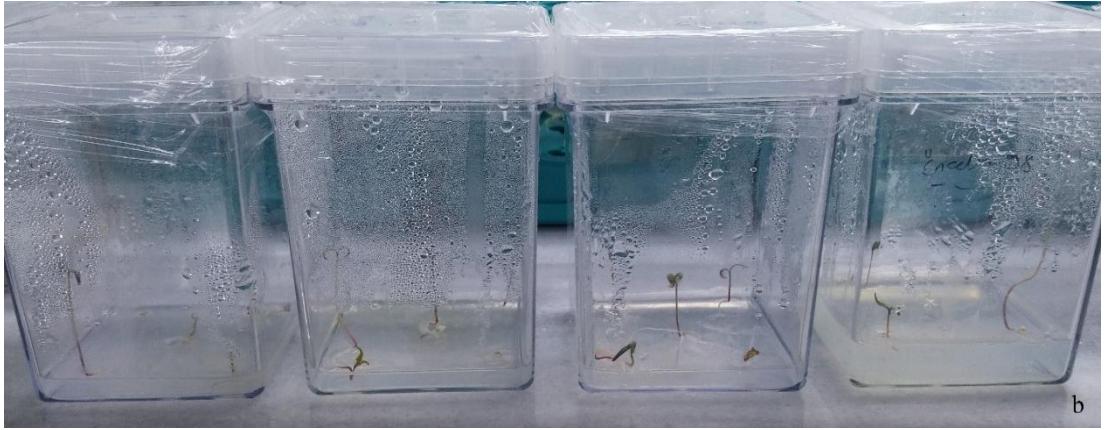
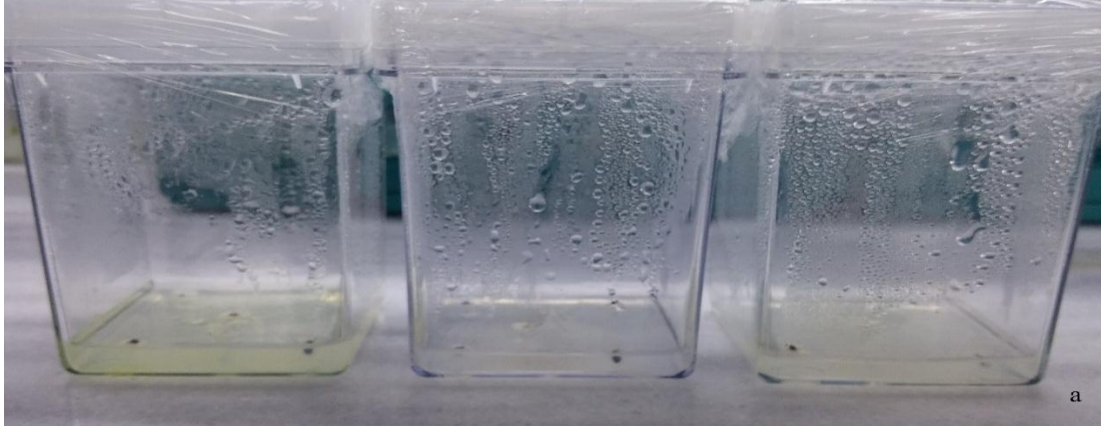
4.1. TOHUMLARIN YÜZEY STERİLİZASYONU

Doku kültürü çalışmalarında, kullanılan bitki kısımlarının yüzeysel olarak temizlenebilmesi için gerekli olan uygun dezenfektan türleri, konsantrasyonları ve kullanım süreleri birbirinden farklılık göstermektedir. Bu nedenle, bir sterilizasyon çalışmasında amaç en etkili ve en düşük seviyede dezenfektan dozunun belirlenmesidir (Bhatti, 2001). Yüzey sterilizasyonunda hidrojen peroksit, civa, gümüş nitrat, antibiyotikler, biositler, sodyum hipoklorit (ticari çamaşır suyu) yaygın olarak kullanılmaktadır (Özcan ve Özgen 1996).

Kinoa bitkisinin Limtar Black, Limtar Red, Limtar White çeşitlerinin herhangi bir kırık, çizik, renk değişimi olmamış üniform tohumları seçilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Sterilizasyon laminar flow kabini içerisinde cam beher, manyetik karıştırıcı, manyetik balık ve pens kullanılarak yapılmıştır (Şekil 4.1). Tohumlar ticari çamaşır suyunun (Ace®, %5 NaOCl) % 5,10,15,20 dozlarında 5 ve 10 dk. sürelerde yüzey sterilizasyonu işlemlerine tabi tutulmuş ve ardından tohumlar 5'er dk. üç kez steril saf su ile durulanmıştır. Tohumlar MS besin ortamına kültüre alınmış ve 7-10 gün sonunda çimlenme oranları gözlemlenmiştir (Şekil 4.2a,b)



Şekil 4.1. Kinoa tohumlarının laminar flow kabin içerisinde yüzey sterilizasyonu



Şekil 4.2 a,b. a)Kinoa tohumlarının çimlendirme ortamına kültüre alınması ve b)*In Vitro* koşullarda 7-10 gün sonra çimlenmiş kinoa tohumlarından gelişen bitkicikler

Kontaminasyon oranlarının karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Tablo 4.1’de görüldüğü gibi kontaminasyon oranı bakımından Limtar Black çeşidinde dozlar, süreler ve dozlar x süreler interaksyonu açısından 0.05, Limtar Red çeşidinde sadece dozlar açısından 0.01, Limtar White çeşidinde ise sadece dozlar açısından 0.05 düzeyinde farklılık bulunmuştur. Bu etkileşimde önemli farklılık çıkmıştır ve önem derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir. Limtar Black kinoa çeşidinde en fazla kontaminasyon (% 20.00) % 15 çamaşır suyu dozu ile 5 dk. sterilizasyon süresi uygulamasında elde edilmiştir. Limtar Red kinoa çeşidinde en fazla (%100.00) kontaminasyon % 20 çamaşır suyu dozu ile 5 ve 10 dk. sterilizasyon süresi uygulamalarında elde edilmiştir. Limtar White kinoa çeşidinde en fazla kontaminasyon (%6.67) % 10 çamaşır suyu dozu ile 5 ve 10 dk., %20 çamaşır suyu dozu ile 5 dk. sterilizasyon süresi uygulamalarında elde edilmiştir.

Tablo 4.1. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama sürelerinin kinoanın üç çeşidinin kontaminasyon oranı (%) üzerine varyans analizi

V.K.	S.D.	Limtar Black		Limtar Red		Limtar White	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Dozlar	3	0.9818	1.83*	53.1105	218.41**	1.4341	1.22*
Süreler	1	0.9482	1.76*	0.1216	0.50	0.3911	0.33
Dozlar× Süreler	3	0.9482	1.76*	0.1216	0.50	0.3911	0.33
Hata	16	0.5375		0.2432		1.1733	
Genel Toplam	23						

** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

Tablo 4.2. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama sürelerinin kinoanın üç çeşidinin kontaminasyon oranı (%) üzerine Duncan analizi

Çamaşır suyu Dozlar (%)	Çeşitlere Ait Kontaminasyon Oranları (%)					
	Limtar Black		Limtar Red		Limtar White	
	5(dk.)*	10(dk.)*	5(dk.)	10(dk.)	5(dk.)	10(dk.)
5	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
10	6.67b	6.67a	13.33b	6.67b	6.67a	6.67a
15	20.00a	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c	0.00c
20	0.00c	0.00c	100.00a	100.00a	6.67a	0.00c

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

4.2. ÇAMAŞIR SUYU DOZ VE SÜRELERİN TOHUMLARIN ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Çamaşır suyunun farklı dozlar ve sterilizasyon sürelerinin tohumların çimlenmesi üzerine etkisinin karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır (Tablo 4.3). Tablo 4.3’de görüldüğü gibi çimlenme oranları bakımından kinoanın üç çeşidinde de uygulama dozları arasında 0.01 düzeyinde farklılık gözlenmiştir. Bu farklılığın derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo

4.4’de verilmiştir. Tablo 4.4’de görüldüğü gibi çimlenme oranı %6.67-100.00 arasında değişmiştir. Tohumlarda çimlenme başlamış olmasına rağmen çimlenen tohumlar gelişim göstermemiştir. *In vitro* ortamlarda çimlenme denemesi ard arda iki defa kurulmuş olmasına rağmen, her iki uygulamada da çimlenmenin başlamış ve eksplant alınabilecek bitkicikler oluşmamış olmasından dolayı tohumlara 2,3,5 Trifeniltetrazolium klorit testi (TTC) uygulanmıştır.

Limtar Black kinoa çeşidinde çimlenme oranı %6.67-66.67 arasında değişmiştir. En fazla çimlenme %66.67 oranı ile % 15 çamaşır suyu dozu ile 5 dk. sterilizasyon süresi uygulamasında elde edilmiştir. Limtar Red kinoa çeşidinde farklı çamaşır suyu doz ve süre uygulaması sonucu çimlenme oranı %6.67-100.00 arasında değişmiştir. En fazla çimlenme %100.00 oranında % 5 çamaşır suyu dozu ile 5 ve 10 dk. sterilizasyon süresinde ve % 15 çamaşır suyu dozu ile 5 ve 10 dk. sterilizasyon süresinde elde edilmiştir. Limtar White kinoa çeşidinde ise çimlenme oranı % 46.67-86.67 arasında değişmiştir. En fazla çimlenme %86.67 oranında % 5 çamaşır suyu dozu ile 5 ve 10 dk. sterilizasyon süresinde elde edilmiştir. Limtar Red ve Limtar White kino çeşitlerinin tohumlarının yüzey sterilizasyonunda hem ekonomik olması açısından hem de daha az süre çamaşır suyu kullanılıyor olmasından dolayı, her iki kinoa çeşidinde de NaOCI’nın % 5’lik dozu ile 5 dk. sterilizasyon uygulaması yapılmıştır.

Tablo 4.3. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama süreleri sonucunda kinoanın üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine varyans analizi

		Çimlenme Oranları (%)					
V.K.	S.D.	Limtar Black		Limtar Red		Limtar White	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Dozlar	3	8.9591	22.76**	24.7372	120.86**	2.75167	9.44**
Süreler	1	0.1295	0.33	0.1080	0.53	0.03670	0.13
DozlarX Süreler	3	0.1730	0.44	0.1080	0.53	0.91297	3.13
Hata	16	0.3936		0.2047		0.29137	
Genel Toplam	23						

** $p < 0.01$

Tablo 4.4. Çamaşır suyunun farklı dozları ve uygulama süreleri sonucunda kinoanın üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine Duncan analizi

Çamaşır suyu Dozlar (%)	Çeşitlere Ait Çimlenme Oranları (%)					
	Limtar Black		Limtar Red		Limtar White	
	5(dk.)*	10(dk.)*	5(dk.)	10(dk.)	5(dk.)	10(dk.)
5	0.00c	6.67c	100.00a	100.00a	86.67a	86.67a
10	33.33b	26.67b	80.00ab	93.33ab	53.33c	80.00ab
15	66.67a	60.00a	100.00a	100.00a	53.33c	46.67c
20	46.67ab	40.00ab	6.67b	6.67b	80.00ab	66.67b

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

Limtar Black ve Limtar White kinoa tohumlarında çimlenme sonrası bitki gelişimi olmamasından dolayı, bu olumsuzluğu ortadan kaldırmak amacıyla karanlık ortam denemesi kurulmuştur. Kinoanın üç çeşidine ait tohumlar MS besin ortamı içinde 24 saat karanlık fotoperiyodunda 7 gün bekletilmiş ve 16/8 fotoperiyoduna alındıktan 7 gün sonra gözlemler yapılmıştır. Karanlığın çimlenmeye etkisinin karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır (Tablo 4.5). Tablo 4.5’de görüldüğü gibi karanlık ortamın çimlenme oranları bakımından 0.01 düzeyinde farklılık gözlenmiştir. Bu farklılığın derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 4.6’da verilmiştir. Karanlık ortamda Limtar Black kinoa çeşidinde çimlenme %33.30 oranında, Limtar Red kinoa çeşidinde çimlenme %60.00 oranında ve Limtar White kinoa çeşidinde çimlenme %53.30 oranında gerçekleşmiştir.

Tablo 4.5. Karanlık ortamın kinoanın üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine varyans analizi

V.K.	S.D.	Çimlenme Oranları (%)	
		K.O.	F
Çeşit	2	1.568	1.29*
Hata	6	1.213	
Genel Toplam	8		

* $p < 0.05$

Tablo 4.6. Karanlık ortamın kinoanın üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine Duncan analizi

Çeşitler	Çimlenme Oranları (%)
Limtar Black	33.30b
Limtar Red	60.00 a
Limtar White	53.30 ab

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

4.3. SÜKROZ DOZLARININ TOHUMLARIN ÇİMLENMESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Limtar Black ve Limtar White kinoa tohumlarında çimlenme sonrası bitki gelişimi olmamasından dolayı, bu olumsuzluğu ortadan kaldırmak amacıyla besin ortamlarına farklı sukroz dozları eklenmiştir. Sukrozun farklı dozlarının etkisinin karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır (Tablo 4.7). Tablo 4.7’de görüldüğü gibi çeşit ve çeşit x doz interaksiyonu bakımından 0.01 ve doz bakımından ise 0.05 düzeyinde farklılık gözlenmiştir. Bu farklılığın derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 4.8’de verilmiştir. Tablo 4.8’de görüldüğü gibi Limtar Black kinoa çeşidinde % 1.5 sukroz dozunda en fazla çimlenme %66.67 oranındadır. % 6.0 sukroz dozunda ise çimlenme %46.67 oranında gerçekleşmiştir. % 3.0 sukroz dozunda çimlenme gerçekleşmemiştir. Limtar Red kinoa çeşidinde uygulanan her üç sukroz dozunda da %100.00 oranında çimlenme gerçekleştiği görülmektedir. Limtar White kinoa çeşidinde de % 1.5 sukroz dozunda %26.67 oranında çimlenme gerçekleşmiştir. % 6.0 sukroz dozunda %60.00 oranında çimlenme gerçekleşmiştir. En fazla çimlenme %86.67 oranı ile % 3.0 sukroz dozunda olmuştur. Limtar White çeşidinde sukroz dozları % 3.0 sukroz dozuna göre, azaldıkça ve arttıkça çimlenme oranı azalmıştır.

Tablo 4.7. Sukrozun farklı dozlarının kinoanın üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine etkisinin varyans analizi

V.K.	S.D.	Çimlenme Oranları(%)	
		K.O.	F
Çeşitler	2	18.3914	86.64**
Dozlar	2	0.4507	2.12*
Çeşitler xDozlar	4	7.2925	34.35**
Hata	18	0.2123	
Genel Toplam	26		

** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

Tablo 4.8. Sukrozun farklı dozlarının kinoanın üç çeşidinin tohumlarının çimlenme oranı (%) üzerine etkisinin Duncan analizi

Dozlar (%)	Çimlenme Oranları (%)		
	Limtar Black	Limtar Red	Limtar White
1.5	66.67bc	100.00a	26.67d
3.0	0.00e	100.00a	86.67ab
6.0	46.67cd	100.00a	60.00bc

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

4.4. TOHUM CANLILIK TESTİ

Tetrazolium (TTC) testi, tohumların canlılıklarını belirlemenin yanı sıra tohumun gücünü (vigor) belirlemeyede yardımcı olan biyokimyasal bir testtir. Bu testin esası canlı ve cansız dokuların tetrazoliumklorid ile oluşturduğu renk farklılığına dayanmaktadır. Renksiz olan tetrazolium solüsyonu, canlı bitki dokularındaki oksidaz enzimleri tarafından indirgenerek, kırmızı renkli formazan adlı maddenin oluşumuna neden olur. Böylece canlı hücreler kırmızı renge boyanır. Buna karşılık ölü hücrelerde hiçbir reaksiyon oluşmadığı için kırmızıya boyanma olmaz ve cansız doku renksiz kalır (Eser ve ark., 2005). Bu çalışmada kinoa tohumları 24 saat su içinde bekletilerek kabukları yumuşatılmış ve 1 g/l 2, 3, 5 trifeniltetrazolium klorit solüsyonu içine konularak iklim odasında 24 °C’de karanlık ortamda 24 saat bekletildikten sonra canlılık kontrolü yapılmıştır. Her üç çeşitten de 100’ er tohum

kullanılmıştır. TTC testi sonucuna göre Limtar Red kinoa çeşidinde tohumların hepsi kırmızıya boyanmıştır, Limtar Black ve Limtar White kinoa çeşitlerinin tohumlarında ise ¼ oranında kırmızıya boyanma gerçekleşmiştir.

4.5. KİNOADA SOMATİK EMBRİYOGENESİS OLUŞUMUNA 2,4-D ve BAP'IN ETKİSİ

Somatik embriyogenesis eksplantlar üzerinde stres sonucuna meydan gelir. Eksplantlar üzerinde somatik embriyogenesis için stres yaratmak ve somatik embriyogenesis oluşturmak için genel olarak (2,4-D) kullanılmaktadır. Daha önce yapılmış çalışmalarda somatik embriyogenesis oluşumu için eksplantların genel olarak ilk önce 2,4-D içeren besin ortamlarına aktarıldığı ve daha sonra meydana gelen somatik embriyoların olgunlaşması amacıyla oksin içermeyen ortamlara transfer edildiği bildirilmiştir (Prof. Dr. K.M. Khawar Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü özel konuşmaları).

Gövde ve sürgün ucu eksplantları kallus oluşumunu teşvik etmek amacıyla 0.5, 1.00, 1.50 ve 2.00 mg/L 2,4-D içeren MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Limtar Red kinoa çeşidinin 2,4-D' nin farklı dozlarında kök, sürgün ve kallus oluşum oranlarının karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Tablo 4.9'da görüldüğü gibi kök, sürgün, kallus oluşum oranı bakımından uygulama dozları arasında 0.01 düzeyinde farklılık saptanmıştır. Bu farklılığın derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 4.10'da verilmiştir.

Limtar Red kinoa çeşidinin sürgün ucu ve gövde eksplantlarında kontrol, 0.50 mg/L ve 1.00 mg/L 2,4-D dozlarında %100.00 oranında kallus oluşumu gerçekleşmiştir. Sürgün oluşumu %100.00 oranında sürgün ucu eksplantında 1.50 mg/L 2,4-D doz uygulamasında gerçekleşmiştir. Sürgün ucu ve gövde eksplantında kök oluşum oranı 1.50 mg/L 2,4-D dozlarında en yüksek % 13.13' dür.

Tablo 4.9. Limtar Red kinoa çeşidinin 2,4-D'nin farklı dozlarında kök, sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi

V.K.	S.D.	Kök Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Kallus Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F
Dozlar	4	4.0743	5.33**	0.177	0.72	0.24159	2.66
Eksplantlar	1	1.0186	1.33	189.701	767.33**	0.07430	0.82
Dozlar x Eksplantlar	4	1.0186	1.33	0.177	0.72	0.20849	2.29**
Hata	20	0.7639		0.247		0.09085	
Genel Toplam	29						

** $p < 0.01$

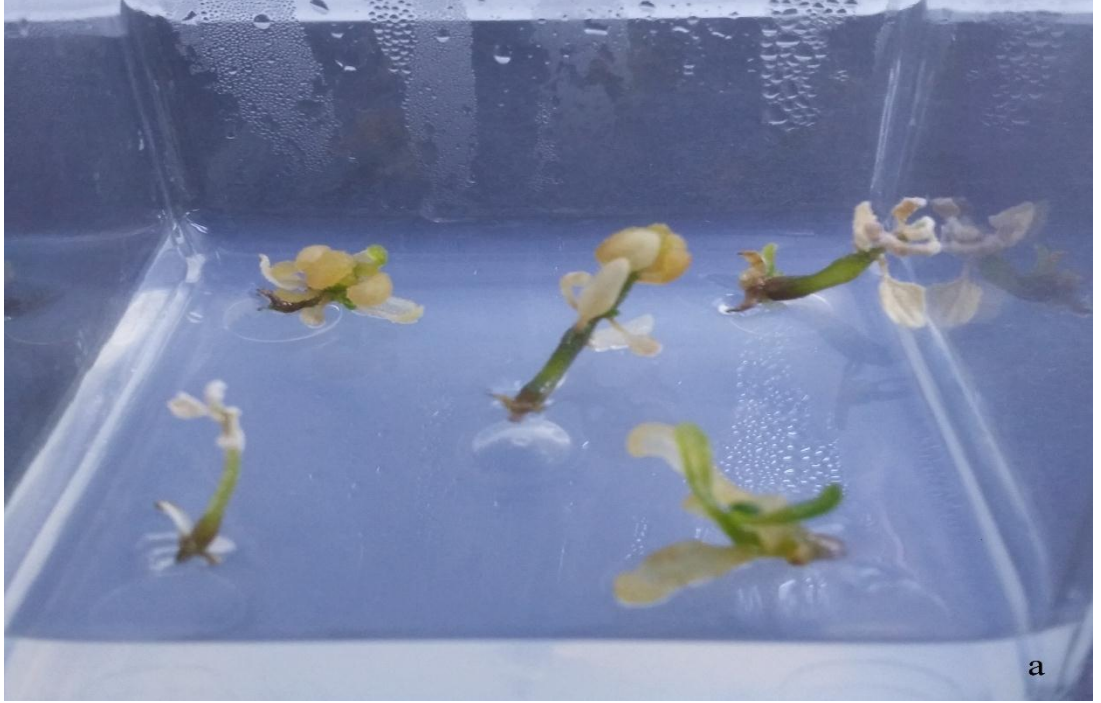
Tablo 4.10. Limtar Red kinoa çeşidinin 2,4-D'nin farklı dozlarında kök, sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi

2,4-D (mg/L)	Kök Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Kallus Oluşum Oranı (%)	
	Sürgün Ucu	Gövde	Sürgün Ucu	Gövde	Sürgün Ucu	Gövde
Kontrol	0.00b	13.33a	93.33	0.00	100.00	100.00
0.50	0.00b	0.00b	86.67	0.00	100.00	100.00
1.00	0.00b	0.00b	86.70	0.00	100.00	100.00
1.50	13.33a	13.33a	100.00	0.00	93.33	86.67
2.00	0.00b	0.00b	80.00	0.00	80.00	100.00

** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

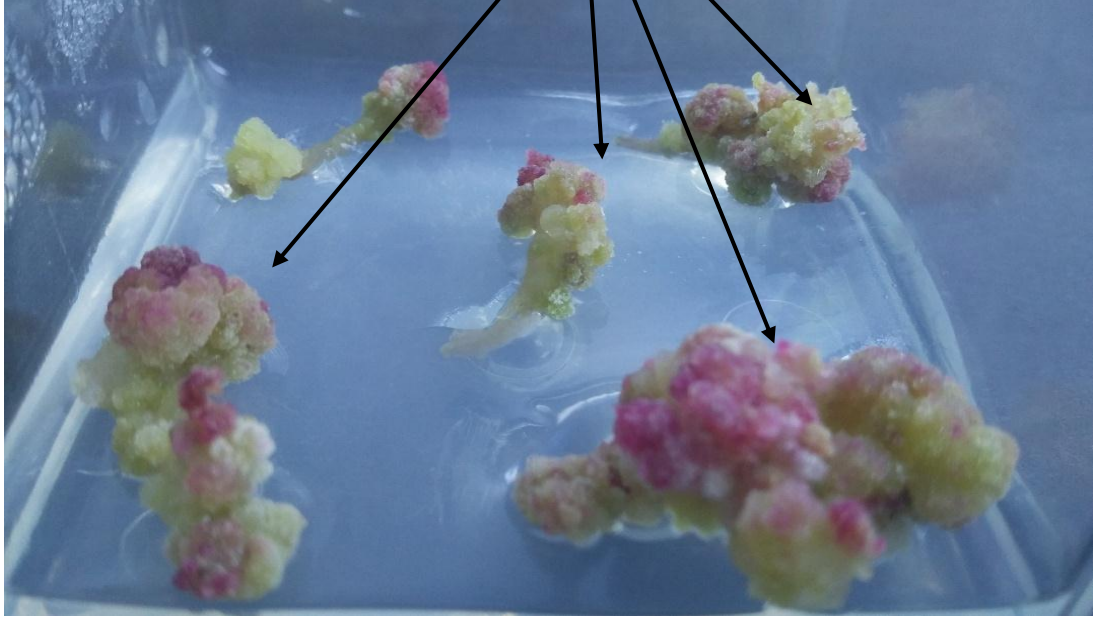
2,4-D'nin farklı dozlarında 4 hafta süreyle bekletilen eksplantların gözle görünür durumu Şekil 4.5 a,b'de verilmiştir. 0.5 mg/L 2,4-D uygulamasında yeşil aksam uç kısmında sürgün ucunu desteklerken, alt kısmında kallus oluşumu homojendir. Gövdede kallus oluşumu yoğun fakat yeşil aksam oluşumu çok zayıftır. 1.50 mg/L 2,4-D uygulamasında sürgünde yeşil aksam çok fazla ve boy atmış durumdadır. Diğer oranlara göre daha sağlıklıdır. Fakat gövdede kallus oluşumu çok

zayıf neredeyse canlı doku yoktur. 1.00 mg/L 2,4-D uygulamasında yaprak içlerinde sararma ve beyazlık (albino) oluşumu görülmektedir. 2.00 mg/L 2,4-D uygulamasında odunlaşma meydana gelmiş ve canlı doku neredeyse yoktur.



Şekil 4.3 a,b. Limtar Red Kinoa Çeşidinde a)Sürgün Ucu ve b) Gövde Eksplantlarına 1.00 mg/L 2,4-D Uygulaması

SOMATİK EMBRİYOLAR



Şekil 4.4. Limtar Red kinoa çeşidinin gövde eksplantlarına 0.5 mg/L 2,4-D+1.00 mg/L BAP uygulaması

2,4-D'li ortamlardan alınan gövde ve sürgün ucu eksplantları 0.5 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L BAP, 0.5 mg/L 2,4-D+1.00 mg/L BAP, 0.5 mg/L 2,4-D+1.50 mg/L BAP, 0.5 mg/L 2,4-D+2.00 mg/L BAP ilaveli ortamlara aktarılmıştır. Sürgün ucu eksplantlarında gelişim yokken, gövde eksplantlarında kallus oluşumu görülmüştür. 0.5 mg/L 2,4-D+1.00 mg/L BAP ilaveli gövde eksplantları kültüre alındıktan yaklaşık 45 gün sonra kallus oluşturmaya başlamış ve kırmızı renklenmeler oluşmuştur (Şekil 4.6.). Buda yüksek konsantrasyonda ilave edilen BAP oranının kallusta renk değişimine sebep olduğu ve kırmızı tonlardaki renklerin saponin kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Limtar Red kinoa çeşidinin 2,4-D+BAP' ın farklı dozlarında sürgün ve kallus oluşum oranlarının karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Tablo 4.11'de görüldüğü gibi sürgün oluşum oranı bakımından eksplant kaynağında 0.01, kallus oluşum oranı açısından ise doz x eksplant kaynağı interaksyonunda 0.05

düzeyinde farklılık saptanmıştır. Bu farklılığın derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 4.12’de verilmiştir.

Limtar Red kinoa çeşidinde en yüksek sürgün oluşumu %13.33 oranında sürgün ucu eksplantında 0.50 mg/L 2,4-D + 1.00 mg/L BAP dozunda gerçekleşmiştir. Sürgün ucu eksplantında en yüksek kallus oluşumu (%40.00) 0.50 mg/L 2,4-D + 2.00 mg/L BAP içeren besin ortamında, gövde eksplantında ise en yüksek kallus oluşumu (%40.00) 0.50 mg/L 2,4-D + 1.00 mg/L BAP içeren besin ortamında gerçekleşmiştir.

Tablo 4.11. Limtar Red kinoa çeşidinin 2,4-D+BAP’ın farklı dozlarında sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Kallus Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F
Dozlar	3	0.8488	0.89	1.250	0.64
Eksplantlar	1	5.0929	5.33**	1.592	0.82
Dozlar×eksplantlar	3	0.8488	0.89	7.244	3.74*
Hata	16	0.9549		1.939	
Genel Toplam	23				

** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

Tablo 4.12. Limtar Red kinoa çeşidinin 2,4-D+BAP’ın farklı dozlarında sürgün ve kallus oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi

Uygulamalar		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Kallus Oluşum Oranı (%)*	
2,4-D (mg/L)	BAP (mg/L)	Sürgün ucu	Gövde	Sürgün ucu	Gövde
0.50	0.50	6.67	0.00	13.33a	6.67b
0.50	1.00	13.33	0.00	6.67b	40.00a
0.50	1.50	0.00	0.00	26.70a	6.67b
0.50	2.00	6.67	0.00	40.00a	6.67b

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

4.6. KİNOADA SOMATİK EMBRİYOGENESİS OLUŞUMUNA TDZ’NİN ETKİSİ

Thidiazuron (TDZ) birçok bitki türünün doku kültüründe morfogenez için oldukça etkili bir biyo-düzenleyici olarak görev yapmaktadır. TDZ uygulaması, kallusun oluşumundan somatik embriyoların oluşumuna kadar çeşitli kültürel tepkilere neden olur. TDZ, kültüre alınan eksplantların büyümesi ve farklılaşması üzerine oksin ve sitokininler gibi benzersiz özellik sergilemektedir, yapısal olarak oksinler veya pürin bazlı sitokininlerden farklıdır (Murthy ve ark. , 1998). TDZ'nin endojen bitki büyüme düzenleyicilerini doğrudan veya dolaylı olarak değiştirebileceğini ve bölünme / yenileme için gerekli olan hücre / doku içerisinde reaksiyonlar üretebileceği gösterilmiştir (Guo ve ark. , 2011).

Yüksek oranda somatik embriyogenesis elde etmek amacıyla *in vitro*'da gelişen bitkiciklerden elde edilen gövde ve sürgün ucu eksplantları 0.01 mg/L, 0.10 mg/L, 1.00 mg/L TDZ içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Limtar Red kinoa çeşidinin TDZ'nin farklı dozlarında sürgün ve kök oluşum oranlarının karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Tablo 4.13'de görüldüğü gibi sürgün, kök oluşum oranı bakımından uygulama dozları arasında 0.01 ve 0.05 düzeyinde farklılık saptanmıştır. Bu farklılığın derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 4.14'de verilmiştir. Limtar Red kinoa çeşidinde en yüksek sürgün oluşumu %66.67 oranında kontrol grubunda ve %26.70 oranında 0.01 mg/L TDZ dozunda sürgün ucu eksplantında gerçekleşmiştir. Kök oluşumu ise en yüksek %66.67 oranında kontrol grubunda gövde eksplantında meydana gelmiştir.

Tablo 4.13. Limtar Red kinoa çeşidinin TDZ'nin farklı dozlarında sürgün ve kök oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi

V.K.	S.D.	Sürgün Oluşum Oranı (%)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F
Dozlar	3	2.965	2.57	11.6667	223.12**
Eksplantlar	1	5.712	4.96*	11.6667	223.12**
Dozlar x Eksplantlar	3	2.965	2.57*	11.6667	223.12*
Hata	16	1.152		0.0523	
Genel Toplam	23				

** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

Tablo 4.14. Limtar Red kinoa çeşidinin TDZ'nin farklı dozlarında sürgün ve kök oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi

TDZ (mg/L)	SürgünOluşum Oranı (%)		KökOluşum Oranı (%)	
	Sürgün Ucu	Gövde	Sürgün Ucu	Gövde
Kontrol	66.67a	0.00	0.00	66.67a
0.01	26.70b	0.00	0.00	0.00b
0.10	0.00c	0.00	0.00	0.00b
1.00	0.00c	0.00	0.00	0.00b

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

Limtar Red kinoa çeşidinde en yüksek sürgün ve kök oluşumu % 66.67 ile kontrol grubunda sürgün ucu eksplantında gözlemlenmiştir. TDZ'nin bitkide gözle görünür durumu; yapraklarda çok az bir gelişme olmasına rağmen hafif tomurcuklanmalar mevcuttur. Yeşil aksam oluşumu sınırlıdır. Eksplantlarda soluk renk oluşumu ve kahverengileşme görülmüştür.



Şekil 4.5. Limtar Red kinoa çeşidinin sürgün ucu eksplantlarına 0.01 mg/LTDZ uygulaması

4.7. KİNOADA SOMATİK EMBRİYOGENESİS OLUŞUMUNA FARKLI SÜRGÜN DOZLARININ ETKİSİ

Limtar Red kinoa çeşidinin sürgün farklı dozlarında kallus, sürgün ve kök oluşum oranlarının karşılaştırılması amacıyla varyans analizi yapılmıştır. Tablo 4.15’de görüldüğü gibi sürgün, kök oluşum oranı bakımından uygulama dozları arasında 0.01 düzeyinde farklılık saptanmıştır. Bu farklılığın derecesini belirlemek amacıyla yapılan Duncan testi sonuçları Tablo 4.16’da verilmiştir. Sürgün ucu eksplantında sürgün ve kallus oluşum oranı % 53.33-100.00 arasında değişkenlik göstermiştir. En yüksek kallus oluşumu %100.00 oranında sürgün ucu ve gövde eksplantlarında % 1.5 ve % 3.0 sukroz dozlarında gerçekleşmiştir. En yüksek sürgün oluşumu %100.00 oranında sürgün ucu eksplantında % 1.5 ve % 3.0 sukroz dozlarında gerçekleşmiştir. Kök oluşum oranı en fazla gövde eksplantında %15.30 oranında % 3.0 sukroz dozunda gerçekleşmiştir.

Tablo 4.15. Limtar Red kinoa çeşidine % 1.5, % 3.0, %6.0 sukroz dozlarında kallus, sürgün ve kök oluşum oranı (%) üzerine varyans analizi

V.K.	S.D.	Kallus Oluşum Oranı (%)		Sürgün Oluşum Oranı (%)		Kök Oluşum Oranı (%)	
		K.O.	F	K.O.	F	K.O.	F.
Dozlar	2	0.7225	3.94**	3.5776	38.52**	0.6366	0.50*
Eksplantlar	1	0.1858	1.01 *	58.4918	629.76**	5.7295	4.50*
Dozlar× Eksplantlar	2	0.1858	1.01 *	3.5776	38.52**	0.6366	0.50
Hata	8	0.1832		0.0929		1.2732	
Genel Toplam	11						

** $p < 0.01$ * $p < 0.05$

Tablo 4.16. Limtar Red kinoa çeşidine % 1,5, % 3.0, %6.0 sukroz dozlarında kallus, sürgün ve kök oluşum oranı (%) üzerine Duncan analizi

Sukroz Dozları (%)	Kallus Oluşum Oranı (%)*		Sürgün Oluşum Oranı (%)**		Kök Oluşum Oranı (%)	
	Sürgün Ucu	Gövde	Sürgün Ucu	Gövde	Sürgün Ucu	Gövde
1.5	100.00a	100.00a	100.00a	0.00	0.00	13.33
3.0	100.00a	100.00a	100.00a	0.00	0.00	15.30
6.0	80.00b	93.33b	53.33b	0.00	0.00	6.67

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.05 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasında Duncan testine göre 0.01 düzeyinde önemli farklılık bulunmuştur.

4.8. SOMATİK EMBRİYOLARDAN GELİŞEN BİTKİCİKLERİN DIŞ ŞARTLARA ALIŞTIRILMASI (AKLİMATİZASYON)

1.50 mg/L 2,4-D' li ortamda yetişen sürgün ucu eksplantından elde edilen 2 cm boyundaki köklenmiş bitkiler, dış ortama alıştırmak amacıyla steril torf içeren 15 cm'lik saksılara aktarılmış ve üzerleri yaklaşık 1 hafta şeffaf poşet ile kapatılarak, iklim odasında büyümeye bırakılmıştır. İklim odasında 24 ± 1 °C, 3000 lüks ışık 16 saat ışık fotoperiyodu ve %50 nem sağlanmıştır.



Şekil 4.6. Limtar Red çeşidinin iklim odasında saksı içerisinde dış koşullara alıştırılması

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kinoa tüketiciler için geniş çaplı bir gıdaya dönüşmesine rağmen, tüm dünyada türler hakkındaki bilimsel bilgiler hala belirsizlik göstermektedir. Verim belirleme ve bitki adaptasyonu fizyolojik temeli oluşturmaktadır. Kinoa büyümeyi en üst düzeye çıkarmak yetiştirme çabalarının odağı olmaktadır. Kinoa, beslenme özellikleri ve birçok bakımdan dünya çapında dikkate değer bir ürün olarak tanınmaktadır. Ülkemiz için de kinoa, potansiyel alternatif bir ürün olma özelliğine sahiptir. Ancak, bu bitkinin gerek adaptasyon çalışmaları, gerek ıslah çalışmaları, gerek biyoteknolojik çalışmaları, bitkinin doğru tanıtımının yapılması, sanayisinin kurulması gibi çalışmalar üzerinde durulmalıdır. Düşük saponin içeriğine sahip klonların elde edilmesi kinoa için çok önemli bir ıslah amacıdır. Saponin üretme kapasitesini tekrar kazanmayacak çeşitlerin geliştirilmesi üzerinde durulmalıdır. Bu da genetik özelliklerinin iyileştirilmesi ile mümkün olabilecektir. Buna ek olarak, kurak arazi şartlarına dayanıklı kinoa bitkilerinin geliştirilmesi özellikle küresel iklim değişimi gözönüne alındığında ayrı bir önem kazanmaktadır. Ayrıca, yüksek kalitede proteinli tohumluklara sahip yeni çeşitler oluşturulmalıdır. Lizin ve metiyonin içerikleri bu kapsamda oldukça önemli bir göstergedir.

Doku kültürü çalışmalarında sterilizasyon çimlenmeyi doğrudan etkilemektedir ve oldukça önemlidir. Çamaşır suyusterilizasyonda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda çamaşır suyu'nun tohumlara zarar verdiği ve tohumların çimlenmesini engellediği görülmüştür. Bu çalışmada da özellikle Limtar Black ve Limtar White kinoa çeşitlerinin çimlenmesini tamamen durdurduğu tespit edilmiştir.

Bu sebeple her üç çeşit içinde karanlık ortam ve sukroz oranlarının değişimiyle çimlendirme sağlanmaya çalışılmıştır. Çimlenmeyi %100 artırdığı belirlenen en iyi yöntem, % 3 sakkaroz içeren ve % 0.5-0.8'lik agar ile katılaştırılan MS besin ortamında 24 °C'de 16 saat ışık fotoperiyodunda olduğu belirlenmiştir. Diğer yöntemlerin *in vitro* şartlarda çimlenme problemi yaşanan diğer çeşitlerde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada Limtar Black, Limtar White, Limtar Red kinoa çeşitlerinin tohumlarının yüzey sterilizasyonu için en uygun dezenfektan dozu ve süresi belirlenmeye çalışılmış ve bu amaçla çamaşır suyunun % 5, 10 15, 20'lik dozu ile 5 ve 10 dk. süreleri uygulanmıştır. Çeşitler arasında en fazla çimlenme Limtar Black

çeşidinde % 15' lik çamaşır suyunda 5 dk süre ile, Limtar Red ve Limtar White çeşidinde ise % 5'lik çamaşır suyunda 5 dk süre ile sterilizasyonda görülmüştür. Fakat Limtar Black ve Limtar White çeşitlerinde ise doz ve sürelerin tohumların gelişimini olumsuz yönde etkilediği ve tohumların bir kısmının hiç çimlenmediği bir kısmının ise çimlendiği fakat gelişimlerini tamamlayamadıkları gözlemlenmiştir. Bunun üzerine yeterli miktarda çimlenmeyi sağlamak için karanlık ortam ve farklı sukroz oranları denenmiştir. Çeşitler arasında sukroz oranı arttıkça çimlenme oranlarında azalma görülmüştür. Böylece sukrozun dormansiye sebebiyet vererek gelişmeleri yavaşlattığı görülmüştür. Fukami ve Hildebrandt (1967) yaptıkları çalışmada kinoa da sürgün gelişimini arttırmak için düşük ve yüksek oranda sukroz dozu uygulamışlardır. Aynı şekilde yapılan çalışmada çok yüksek ve düşük sukroz dozlarında zayıf gelişim hatta ölümcül etki tespit etmişlerdir. Karanlık ortamın, kinoa tohum çimlenmesinde etkisiz sonuç verdiği varyans analizi ile belirlenmiştir.

Embriyogenesis oluşumunu teşvik etmek için en fazla kullanılan oksin 2,4-Diklorofenoksiasetik (2,4-D)' dir. Genellikle 2,4-D besin ortamlarına 0.5-2 mg/L oranında katılmaktadır. Somatik doku hücreleri öncelikle yüksek oranda (genellikle 2,4-D) içeren ortamda kültüre alınır, daha sonrada oksin içermeyen yeni ortama aktarırsa embriyo üretme yeteneği kazanmaktadır. Kontrol, 0.50 mg/L ve 1.00 mg/L 2,4-D dozlarında sürgün ucu ve gövde eksplantlarında kallus oluşum oranı en yüksek değerde bulunmuştur (%100.00). Kök oluşumu en yüksek 13.13 oranında sürgün ucu ve gövde eksplantlarında görülmüştür. 0,5 mg/L 2,4-D uygulamasında yeşil aksam uç kısmında sürgün ucunu desteklerken, alt kısmında kallus oluşumu homojendir. Gövdede kallus oluşumu yoğun fakat yeşil aksam oluşumu çok zayıftır. 1.50 mg/L 2,4-D uygulamasında sürgünde yeşil aksam çok fazla ve boy atmış durumdadır. Diğer oranlara göre daha sağlıklıdır. 0.5 mg/L 2,4-D+1.00 mg/L BAP ilaveli gövde eksplantları kültüre alındıktan yaklaşık 45 gün sonra kallus oluşturmaya başlamış ve kırmızı renklenmeler oluşmuştur. Buda yüksek konsantrasyonda ilave edilen BAP oranının kallusta renk değişimine sebep olduğu ve kırmızı tonlardaki renklerin saponin kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Burnouf-Radosevich ve ark. (1982) yaptıkları çalışmada kinoa çeşidinin epikotil kısımlarına 0.2 mg/L 2,4-D uygulamışlar ve en fazla kallus oluşumu elde etmişlerdir.

TDZ uygulaması, kallusun oluşumundan somatik embriyoların oluşumuna kadar çeşitli kültürel tepkilere neden olur. TDZ'nin endojen bitki büyüme düzenleyicilerini doğrudan veya dolaylı olarak değiştirebileceğini ve bölünme / yenileme için gerekli olan hücre / doku içerisinde reaksiyonlar üretebileceğini göstermiştir (Guo ve ark. , 2011). Kontrol, 0.01 mg/L, 0.10 mg/L, 1.00 mg/L TDZ içeren MS besin ortamında kültüre alınmış Limtar Red kinoa çeşidinde, en yüksek sürgün ve kök oluşumu % 66.67 ile kontrol grubunda sürgün ucu eksplantında gözlemlenmiştir. TDZ uygulamasında yeşil aksam oluşumu sınırlıdır. Eksplantlarda soluk renk oluşumu ve kahverengileşme görülmüştür.

Limtar Red kinoa çeşidinde sürgün ucu ve gövde eksplantları kullanılarak % 1.5, % 3.0, % 6.0 sukroz dozlarında kallus, sürgün ve kök oluşum oranları gözlemlenmiştir.

Kallus oluşumu sürgün ucu ve gövde eksplantlarının ikisinde de en yüksek %100.00 oranındadır.

1.50 mg/L 2,4-D' li ortamda yetişen sürgün ucu eksplantından elde edilen 2 cm boyundaki köklenmiş bitkiler, dış ortama alıştırmak amacıyla steril torf içeren 15 cm'lik saksılara aktarılmış ve üzerleri yaklaşık 1 hafta şeffaf poşet ile kapatılarak, iklim odasında büyümeye bırakılmıştır. Saksıya alınan *in vitro* bitkiler dış koşullara alıştırılamamıştır.

Yapılan bu tez çalışması sonucu elde edilen bilgiler ışığında yapılması önerilen çalışmalar;

1. Tez kapsamında çalışılan bitkilerin daha farklı hormon ve hormon konsantrasyonlarında somatik embriyogenesis kapasiteleri denenmelidir.
2. Saponin içeriği düşürülmüş yeni çeşitlerin ıslahı için çalışmalar yapılmalıdır.
3. Farklı ekonomik öneme sahip türlerde benzer çalışmalar yapılmalıdır.
4. Elde edilen embriyojenik kallus miktarını ve somatik embriyo miktarını arttırmak için sıvı kültür protokolleri oluşturulmalıdır.

6. KAYNAKLAR

Aguilar RH, Guevara L, Alvarez JO **(1979)** Un nuevo metodo para la determinacion cuantitativa de saponinas aplicacion a diversas variedades de quinua peruana. Acta Ci Venez 30:167 -171.

Arias J **(1980)** El metodo de la descendencia de una sola semilla aplicado como contribuci6n de la investigacion agron6mica al desarrollo del agricultor. In: I Reunion sobre genetica y fitomejoramiento de la quinoa, IICA-CIID, Univ Nacl The Altiplano, Puno, Peru, March 14-16.

Babaoğlu M, S Özcan, , C Sancak **(2002)** Bitki biyoteknolojisi I. Selçuk Ün Vak Yay, Konya, 2002.

Berlin J, Sieg S, Strack D, Bokern M, Harms H **(1986)** Production of betalains by suspension cultures of *Chenopodium rubrum* L. Plant Cell Tissue Org Cult 5:163-174.

Birk Y, Peri I **(1980)** Saponins. In: Liener IE (ed) Thxic constituents of plant foodstuffs. Academic Press, London New York, pp 161-182.

Bhatti N. Richard J. **(2001)**. Method and systems for allowing data service system to provide class-based services to its users.6 Agu 1999.

Blanco O.**(1980)** Seleccin de objetivos en el mejoramiento genetico de la quinoa. In: I Reunion sobre genetica y fitomejoramiento de la quinoa, IICA-CIID, Univ Nacl Tec Altiplano, Puno, Peru, March 14-16.

Boiteau P, Pasich B, Ratsimananga AR **(1964)** Les Triterpenoides en physiologie vegetale et animale. Gauthiers-Villars, Paris.

Burnouf-Radosevich M **(1982)** Contribution a l'etude du *Chenopodium quinoa* Willd.: Analyse des saponines triterpeniques dans la plante et dans des tissus cultives in vitro; multiplication vegetative par culture d'apex. These D, Univ Sci Thch Lille, France.

Burnouf-Radosevich M, Burnouf T, Delfel NE **(1983)** Saponin content and protein composition in *Chenopodium quinoa*. Cereal foods world (Abstr). AACC 68th Annu Meet Kansas City, MO, Oct 30-Nov 3.

Burnouf-Radosevich M, Delfel NE **(1984)** High-performance liquid chromatography of oleanane-type triterpenes. J Chromatogr 292:403 – 409.

Burnouf-Radosevich M, Delfel NE **(1986)** High-performance liquid chromatography of triterpene saponins. J Chromatogr 368:433 – 438.

Burnouf-Radosevich M, Delfel NE, England R **(1985)** Gas chromatography-mass spectrometry of oleanane- and ursane-type triterpenes. Application to *Chenopodium quinoa* triterpenes. Phytochemistry 24:2063 – 2066.

Chandel RS, Rastogi RP **(1980)** 'triterpenoid saponins and sapogenins: 1973-1978. Phytochemistry 19:1889-1908 *Chenopodium* sect. *Chenopodium* subsect. *Cellulata* Syst Bot 6:380–398.

Cheyne VA, Dale T **(1980)** Shoot tip culture in forage legumes. Plant Sci Lett 19:303-309.

Chen C. **(1987)**High-efficiency transformation of mammalian cells by plasmid DNA.Molecular and Cellular Biology (MCB).

Demirbağ N. **(2008)** Adventitious shoot regeneration in grasspea (*Lathyrus sativus* L.)Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarım bilimleri dergisi ISSN : 1300-7580.

Eeuwens CJ **(1976)** Mineral requirements for growth and callus initiation of tissue explants excised from mature coconut palms (*Cocos nucifera*) and cultured in vitro. Physiol Plant 36:23-28.

Eisa S. H.W. Koyro K.H. Kogel J. Imani **(2004)**. Induction of somatic embryogenesis in cultured cells of *Chenopodium quinoa*.Plant Cell, Tissue and Organ Culture. May 2005, Volume 81, Issue 2, pp 243–246.

Erdoğan Y. Çöçü S. Parmaksız İ. **(2004)** Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) Bitkisinin Olgunlaşmamış Embriyo Eksplantlarından Adventif Sürgün Rejenerasyonu ve Hızlı Çoğaltım. Tarım Bilimleri Dergisi 2005, 11 (1) 60-64.

Espindola G **(1980)** Evaluaciones en el germoplasma de quinoa en Bolivia. In: I Reunión sobre genética y fitomejoramiento de la quinua, IICA-CIIO, Univ Nacl The Altiplano, Puno, Peru, March 14-16.

Eser A, Ganter B, Pearson C. (2005) Development of a large-scale chemogenomics database to improve drug candidate selection and to understand mechanisms of chemical toxicity and action. *Journal of Biotechnology* Volume 119, Issue 3, 29 September 2005, Pages 219–244

FAOSTAT(2008)<http://www.fao.org/economic/ess/publications-studies/statistical-yearbook/faostatistical-yearbook-2007-2008/g-human-welfare/en/>. Accessed 5 Jan 2012.

Flores HE, Thier A, Galston AW (1982) In vitro culture of grain and vegetable amaranths (*Amaranthus* spp.). *Am J Bot* 69:1049-1055.

Fukami T, Hildebrandt AC (1967) Growth and chlorophyll formation in edible green plant callus tissues in vitro on media with limited sugar supplements. *Bot Mag Tokyo* 80:199-212.

Geren H, Kavut Y, Altunbaş B. (2015) Bornova Ekolojik Koşullarında Farklı Sıra Arası Uzaklıkların Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)’da Tane Verimi ve Bazı Verim Özellikleri Üzerine Etkisi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 2015, 52 (1):69-78.

Gonzales R (1917) Investigation of *Chenopodium quinoa*. *Exp Stn Res* 39:610, p 45, *Chem Abstr* 13:1083 (1919).

Gorbitz A, Luna de la Fuente R (1965) La quinua en el Peru. Ministerio de Agricultura, Lima. Servicio de investigación y promoción agraria. *Bol Tec* 54:19.

Guo B, BH Abbasi, A Zeb, LL Xu, YH Wei (2011) Thidiazuron: A multi dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology* Vol 10 No 45.

Hatipoglu, R.(1997). Bitki biyoteknolojisi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, Genel Yayın No: 190, Ders Kitabı: A–58. Adana.

Hesami M., Mh Daneshvar - Indo-Am. J. Agric. And Vet. Sci, (2016) Development Of A Regeneration Protocol Through Indirect Organogenesis In *Chenopodium Quinoa* Willd.

Husemann W, Barz W (1977) Photoautotrophic growth and photosynthesis in cell suspension cultures of *Chenopodium rubrum*. *Physiol Plant* 40:77-81.

[Http://www.tukiyed.org/sayfa-turkiye-kinoa-yetistiricileri-dernegimiz-in-tukiyed-dunya-genelinde-kinoa-arastirmalari.html](http://www.tukiyed.org/sayfa-turkiye-kinoa-yetistiricileri-dernegimiz-in-tukiyed-dunya-genelinde-kinoa-arastirmalari.html).

[Http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/plant/en/](http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/plant/en/)

[Http://www.tarim.gov.tr/BUGEM/TTSM](http://www.tarim.gov.tr/BUGEM/TTSM)

Jang R. Liu. Daniel J. Cantliffe. Somatic embryogenesis and plant regeneration in tissue cultures of sweet potato (*Ipomea batatas* Poir.) Plant Cell Reports June 1984, Volume 3, Issue 3, pp 112–115.

Kıran R. (2013). *Amsonia orientalis* Decne. (Apocynaceae)’ de somatik embriyogenesis ve sentetik tohum üretimi. Kocaeli Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.

Kozioł, M.J. (1992). Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Journal of Food Composition and Analysis, 5(1), 35-68.

Koçak M. , İzguT. , Sevindik B. (2012). Somatic embryogenesis of Turkish *Cyclamen persicum* Mill. Scientia Horticulturae Volume 172, 9 June 2014, Pages 26–33.

Lescano JL (1980) Avances en la genetica de la quinua. In: I Reunión sobre genetica y fitomejoramiento de la quinua, IICA-CIID, Univ Nac'l The Altiplano, Puno, Peru, March 14 - 16.

Mahoney AW, Lopez JG, Hendricks DG (1975) An evaluation of the protein quality of quinoa. J Agr Food Chem 23:190-193.

Marla L. Binzel N. Sankhla (1995). Induction of direct somatic embryogenesis and plant regeneration in pepper (*Capsicum annuum* L.) Plant Cell Reports, Volume 15, Issue 7, pp 536–540.

Murashige T (1978) Principles of rapid propagation. In: Hughes KW, Henke R, Constantin M (ed) Propagation of higher plants through tissue culture. Thch Inf Center, US Dep Commerce, Springfield, Va, pp 14-22.

Murashige T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15:473-497.

Murthy B. S. J. Murch Praveen K. Saxena **(1998)** Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant October 1998, 34:267

Nitsch C **(1977)** Culture of isolated microspores. In: Reinert J, Bajaj YPS (ed) Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 269-278.

Prof. Dr. K.M. Khawar Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü özel konuşmaları

Ostrowski-Meissner HT, Carlsson R, Iraecaardh C **(1980)** Isolation and purification of proteins from green vegetation for direct human consumption. In: Linko P, Malkki Y, Olkku J (ed) Food process Engineering. Proc Int Congr, London, pp 864-870.

Özcan S, Özgen M **(1996)** Bitki Genetik Mühendisliği. Kükem, 1:69-95

Özdemir F.A. **(2016)** *Crambe maritima* L. Hipokotilinden *In Vitro* Mikroüretim. Yyü Tar Bil Dergisi. 26(2): 168-173.

Özçağırın, R., **(1979)** Meyve Ağaçlarını Çoğaltmanın Biyolojik Esasları. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yüksek Lisans Dersi Notu

Parrott WA, Merkle SA, Williams EG **(1993)** Somatic Embriyogenesis: Potantial for use in propagation and gene transfer systems. In: Murray DR (ed), Advanced Methods in Plant Breeding and Biotechnology, pp. 158-200, C.A.B International, UK.

Pedersen NW, Wang LC **(1971)** Modification of saponin content of alfalfa through selection. Crop Sci 11:833-835.

Rea J, Thpia M, Mujica A **(1979)** Pnicticas agron6micas. In: Thpia M, Gandarillas H, Alandia S, Cardozo A, Mujica A (eds) Quinoa y Kafiiwa, cultivos andinos. IICA, Bogota, Colombia, pp 83-120.

Repo-Carrasco R, Espinoza C, Jacobsen S-E **(2003)** Nutritional value and use of the And crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*). Food Rev Int 19:179–189.

Reichert R D, Tatarynovichm J T and Tyler R T **(1986)** Abrasive dehulling of quinoa (*Chenopodium quinoa*): effect on saponin content as determined by an adapted hemolytic assay. Cereal Chemistry 63 (6) 471-475.

Romberger JA, Thbor CA **(1971)** The Picea abies shoot apical meristem in culture I. Agar and autoclaving effects. Am J Bot 58:131.

Rugini E. **(1988)** Somatic embryogenesis and plant regeneration in olive (*Olea europaea* L.) Plant Cell, Tissue and Organ Culture January 1988, Volume 14, Issue 3, pp 207–214

Sevindik B. **(2014)** Türkiye’ De Doğal Olarak Yetişen Ve Kültürü Yapılan Bazı *Crocus* Türlerinde Somatik Embriyogenesis’ İn Araştırılması. Çukurova Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi

Sezgin M. **(2009)**. Avrupa Kestanesinde (*Castanea sativa* Mill.) Olgunlaşmamış Kotiledonlardan Somatik Embriyogenesis Ve Bitki Rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi. Doktra Tezi.

Sheskin DJ (2004). Hand Book of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures 3rd ed. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton, FL 1193p.

Shibata S **(1977)** Saponins with biological and pharmacological activity. In: Wagner H, Wolff P (ed) New natural products and plant drugs with pharmacological, biological or therapeutical activity. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 177-196.

Simmonds NW **(1979)** Special techniques. In: Principles of crop improvement. Longman, London New York, pp 303-311.

Snedecor, G. W. and Cochran, W.G. **(1967)** Statistical Methods, The Iowa State University Press, Iowa, USA.

Taner K.Y. **(2004)** Kavunda (*Cucumis melo* L.) Farklı Bitki Eksplantlarında *in vitro* Organ Oluşumuna Ortamın Şeker ve pH Düzeyinin Etkileri. Alatarım 2004, 3 (1): 11-15.

Tapia ME, Mujica A, Canahua A **(1980)** Origen, distribución geognifica y sistemas de producci6n de la quinua. In: I Reuni6n sobre genetica y

fitomejoramiento de la quinua IlCA-CIID, Uniy Nacl Tec Altiplano, Puno, Peru, March 14-16.

Temiz M.G. **(2010)**Nar (*Punica granatum*)’da Farklı Büyüme Düzenleyicilerinin Ve Farklı Eksplant Kaynaklarının Somatik Embriyogenesis Üzerine Etkileri.Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yıl:2010 Cilt:22-2.

Turan D. **(2013)**‘Sarılop’ İncir (*Ficus Carica* L.) Çeşidi Yaprak Segmentlerinden Somatik Embriyogenesis. Yüksek Lisans Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı 2013, 41 Sayfa.

Valencia-Chamorro S.A. **(2003)**. Quinoa. Encyclopedia of Food Science and Nutrition. Amsterdam:Academic Press.

Vilasini P., Z. Latipah and A. Salasiah **(2000)**. Induction of somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of Eksotika papaya (*Carica papaya*). J. Trop. Agric. and Fd. Sc. 28(2)(2000): 121–126.

Weber EJ **(1978)** The Inca's ancient answer to food shortage. Nature (London) 272:486.

ÖZGEÇMİŞ

Ben Şeyma DOĞANCI. 1988 yılında Kahramanmaraş'ta doğdum. Evliyim. 2 çocuğum var.

Yunus Emre İlköğretim Okulunu (2003), Kahramanmaraş Merkez Anadolu Lisesini (2007), Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği bölümünü (2012) bitirdim. Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği bölümü stajımı ÜSKİM (Üniversite-Sanayi-Kamu İşbirliği Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi) laboratuvarları ve üniversiteye ait seralarda tamamladım.

2010 yılında Ziraat Mühendisleri Odası Kahramanmaraş Şube Başkanlığı tarafından düzenlenen 'Gıda İşletmelerinde Haccp Eğitimi' ve 'ISO-22000:2005 Gıda Güvenlik Sistemleri Eğitimi' adlı seminerlere katılarak 2 tane belge aldım.

Dilge İngilizce kursunda 3. Seviyede İngilizce kursu aldım. Amerikan Kültür Derneği kursunda 4. ve 5. seviyede İngilizce kursu aldım. Milli Eğitim Bakanlığı onaylı bilgisayar sertifikam bulunmaktadır (donanım, Windows XP, word, excel, powerpoint, internet, bilgisayar işletmenliği seviyesinde). 2009 yılından beri B sınıfı sürücü belgem bulunmaktadır.

2012 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak görev yaptım.

Şuanda Kırşehir Gıda, Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğünde Ziraat Mühendisi olarak görev yapmaktayım.