



## **Bazı Şeker Pancarı (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) Genotiplerinin Embriyo Kültürü Kullanılarak *in vitro* Koşullarda Çoğaltım Olanakları**

Araştırma Makalesi/Research Article

**Atf İçin:** Aksakal, B., Şimşek, F., Baltacı, A. M. (2023). Bazı Şeker Pancarı (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) Genotiplerinin Embriyo Kültürü Kullanılarak *in vitro* Koşullarda Çoğaltım Olanakları. Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi, 6(2):1-6.

**To Cite:** Aksakal, B., Şimşek, F., Baltacı, A. M. (2023). Propagation Possibilities of Some Sugar Beet (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) Genotypes *in vitro* Conditions Using Embryo Culture. Journal of Erciyes Agriculture and Animal Science, 6(2):1-6.

**Büşra AKSAKAL<sup>1</sup>, Fatma ŞİMŞEK<sup>1</sup>, Anıl Mehmet BALTACI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Kayseri Şeker Ar-Ge Merkezi, 38070, Kocasinan, Kayseri

\*sorumlu yazar: busra.aksakal@kayseriseker.com.tr

Büşra AKSAKAL ORCID No: 0000-0002-6875-5958, Fatma ŞİMŞEK ORCID No: 0000-0002-3052-1195, Anıl Mehmet BALTACI ORCID No: 0000-0003-1890-131X

### **Yayın Bilgisi**

Geliş Tarihi: 17.02.2023

Revizyon Tarihi: 08.05.2023

Kabul Tarihi: 09.05.2023

doi: 10.55257/ethabd.1252195

### **Anahtar Kelimeler**

Şeker pancarı, Embriyo Kültürü, Bitki Islahı, Bitki Doku Kültürü

### **Keywords**

Sugar beet, Embryo Culture, Plant Breeding, Plant Tissue Culture

### **Özet**

Şeker pancarı Amaranthaceae familyasına ait biennial bitkiler sınıfındadır. 1800'li yıllardan itibaren ıslahına başlanan şeker pancarı günümüzde %18-20 şeker içeriğiyle dünya şeker üretimini %30'unu sağlamaktadır. Klasik ıslah çalışmalarının yanında biyoteknolojik yöntemlerin de çalışılmasıyla ıslah çalışmaları hız kazanmıştır. Bu yöntemlerden biri olan embriyo kültürü ile şeker pancarı ıslahı çalışmalarında sürenin kısaltılması başta olmak üzere birçok konuda fayda oluşturmaktadır. Bu çalışmada 8 farklı genotipten toplanan 5, 10 ve 20 günlük embriyolar 8 farklı ortam içerisinde kültüre alınarak embriyo kültürü yapılmıştır. Gözlem olarak en iyi rejenerasyon sağlayan genotipin KSET-2, ortamın ise 20 mg/l sukroz, 8 g/l agar içeriği ile H1 ortamı olduğu belirlenmiştir. Ancak istatistiksel olarak veriler incelendiğinde genotipin ve ortamın önemli olmadığı, dölleme günü  $p < 0.05$  düzeyinde önemli çıktığı tespit edilmiştir. Yapılan LSD testinde ise en iyi rejenerasyonun 20 günlük embriyolardan gerçekleştiği belirlenmiştir. Rejenere olan embriyoların köklendirilip sera içerisine aktarılmasıyla ve vernalize edilmesiyle birlikte iki yıllık bitki gelişim sürecinin bir yıla indirilebileceği görülmüştür. Bu da biennial bitkilerde önemli bir zaman kazancı olarak karşımıza çıkmaktadır. Bitki ıslahı çalışmalarında embriyo kültürü ile ıslah sürecinin kısaltılması, çimlenme bariyerinin aşılması, embriyo kurtarma işlemleriyle ıslah materyallerinin kaybolmasının engellenmesi ve embriyo üzerinde ZFN, TALEN ve CRISPR Cas9 gibi gen düzenleme araçlarıyla yapılacak çalışmaların başarıya ulaşacağı ön görülmektedir.

### **Propagation Possibilities of Some Sugar Beet (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) Genotypes *in vitro* Conditions Using Embryo Culture**

#### **Abstract**

Sugar beet is in the class of biennial plants belonging to the Amaranthaceae family. Sugar beet, which has been started to be improved since the 1800s, provides 30% of the world sugar production with 18-20% sugar content today. In addition to classical breeding studies, breeding studies have accelerated with the study of biotechnological methods. Embryo culture, which is one of these methods, provides benefits in many aspects, especially shortening the time in sugar beet breeding studies. In this study, 5, 10 and 20-day embryos collected from 8 different genotypes were cultured in 8 different media and embryo culture was performed. As an observation, it was determined that the genotype providing the best regeneration was KSET-2, and the medium was H1 medium with 20 mg/l Sucrose, 8 g/l Agar content. However, when the data were analyzed statistically, it was determined that the genotype and the environment were not important, and the day of fertilization was significant at the  $p < 0.05$  level. In the LSD test, it was determined that the best regeneration occurred from 20-day-old embryos. It has been discussed that the two-year plant development period can be reduced to one year by rooting the regenerated embryos, transferring them into the greenhouse and vernalizing them. This is an important time saver in biennial plants. In plant breeding studies, shortening the breeding process with embryo culture, overcoming the germination barrier, preventing the loss of breeding materials with embryo recovery processes, and studies on the embryo with gene editing tools such as ZFN, TALEN and CRISPR Cas9 are predicted to be successful.

## 1. GİRİŞ

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* spp. *vulgaris*) *Amaranthaceae* familyasına ait stratejik öneme sahip olan endüstriyel bir bitkidir. İlk sene vejetatif dönemini tamamlaması ve ikinci sene generatif döneme geçmesi özelliğinden dolayı bienal bitkiler sınıfındadır. Şeker üretimi şeker pancarı ve şeker kamışından yapılmakta ve dünya genelinde şeker üretiminin %30'u şeker pancarından elde edilmektedir (Xue ve ark., 2022) Ekonomik ve stratejik öneme sahip olan şeker pancarının ıslahı 1800'lü yıllarda başlamıştır. Başlangıçta %4-6 oranında şeker içeriği olan şeker pancarı yapılan ıslah çalışmaları sayesinde %18-20 seviyelerine kadar çıkarılmıştır (McGrath ve ark., 2018). Günümüzde klasik ıslah yöntemleri küresel talepleri ve artan nüfus karşısında gereken verim artışı sağlamak konusuna tek başına karşılık verememektedir. Bu nedenle ıslah çalışmalarında yeni yaklaşımlar gerekmektedir. Bu yaklaşımların başında bitki biyoteknolojisi gelmektedir. Bitki doku kültürü gibi biyoteknolojik yöntemler ıslahçıları çalışmalarında destekleyen önemli araçlardır. Temel olarak bitki doku kültürü bitki hücrelerinin, dokularının, organlarının ve bitkinin diğer kısımlarının yapay besin ortamında, aseptik koşullarda ve kontrollü ortamda *in vitro* olarak kültüre alınmasıdır (Tazeb, 2017).

Embriyo kültürü, pratik problemlere uygulanan en eski *in vitro* tekniklerde biridir ve ıslahçılar için değerli kanıtlanmış bir doku kültürü tekniğidir (Dunwell, 1986). Bilinen embriyo kültürünün en eski kaydı, 18. yüzyılda *Phaseolus* ve *Fagopyrum* embriyolarını kesip onları toprağa eken Charles Bonnet'in çalışmasına kadar uzanmaktadır (Sharma ve ark., 1996). İlk başarılı embriyo kültürü 1904'te aseptik olarak izole edilmiş ve şekerle takviye edilmiş bir mineral tuz ortamında yetiştirilen olgun embriyolarından canlı bitkiler elde eden Hannig tarafından yapılmıştır (Hannig, 1904). Çeşitli bitki türlerinin olgun ve olgunlaşmamış embriyoları 1924'te Dietrich tarafından dormansi dönemini tamamlamadan çimlenip çimlenemeyeceklerini belirlemek için kültüre alınmıştır (Bridgen, 1994). Laibach 1925'te türler arası hibridizasyon için zigotik embriyo kültürünü ilk kez tanımlamıştır. *Linum perenne* L. x *Linum austriacum* L. türleri arası çaprazlamalardan elde edilen tohumların cansız olduğunu gözlemleyen Laibach, embriyoların tohum gelişimi sırasında erken dönemde *in vitro* kültüre alınırsa embriyo abortusunun üstesinden gelinebildiğini göstermiştir (Laibach, 1925). 1940'ların başından bu yana embriyo kültürü, embriyonik gelişim için fiziksel ve beslenme gereksinimlerini anlamak, tohum dormansisini atlamak, üreme döngüsünü kısaltmak, tohum canlılığını test etmek, mikro çoğaltım için materyal sağlamak ve olgunlaşmamış hibrit embriyoları uyumsuz çaprazlamalardan kurtarmak için giderek artan bir şekilde kullanılmaktadır (Bridgen, 1994).

Şeker pancarının bienal bir bitki olması nedeniyle tohum elde etme iki yıllık bir süreçte

gerçekleşmektedir ve en az 6 kez kendilendikten sonra homozigot saf hatları oluşturmak için ortalama 12 yıllık bir süre gerekmektedir. Ancak embriyo kültürü yöntemiyle tozlaşmadan sonra oluşan olgunlaşmamış embriyoların *in vitro* ortamda kültüre alınmasıyla süreç kısaltılabilmektedir. *In vitro* koşullarda olgunlaşmamış embriyolar bitkiye dönüştürülüp, sera koşullarına aktararak kök-gövde yapısını oluşturana kadar yetiştirilip, soğuk hava deposunda vernalizasyon ihtiyacı giderildikten sonra doğal döngüsüne nazaran çok daha kısa zamanda generatif döneme geçiş sağlanabilmektedir. Bu durum da kendileme sürecinin daha kısa zamanda gerçekleşmesini sağlamaktadır.

Bu çalışmada Kayseri Şeker Ar-Ge Merkezinde yürütülen şeker pancarı ıslahı çalışmalarındaki bazı genotiplerin olgunlaşmamış embriyoları kullanılarak embriyo kültürü ile çoğaltılması hedeflenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Eksplant Kaynağı ve Sterilizasyon

Kayseri Şeker Ar-Ge Merkezi şeker pancarı ıslahı çalışmasının yürütüldüğü arazilerde yetiştirilen şeker pancarı kök-gövdeleri bir önceki dönemde vernalize edilmiş ve generatif döneme geçişi sağlanmıştır. Generatif döneme geçen kök-gövdelerin üzerleri izolasyon kabinleriyle kapatılmıştır ve tozlaşmanın başladığı andan itibaren çalışmada kullanılacak genotipler takibe alınarak 5, 10 ve 20 günlük döllenenmiş, olgunlaşmamış embriyo örnekleri alınmıştır (Şekil 1). Genotiplerinden alınan embriyolar haziran ayı sonunda ve temmuz ayı başında toplanmıştır. Bu çalışmada Kayseri Şeker'e ait EUKS-77, EUKS-80, EUKS-118, EUKS-47, KSET-2, KS-T12, KS-T4 ve KS-T7 genotipleri kullanılmıştır.

Döllenen 5, 10 ve 20 gün sonraki embriyoları taşıyan dallar bitki üzerinden alınarak laboratuvara getirilmiştir. Musluk suyu ile iyice yıkanarak saf su ile durulanmıştır. Durulanan 12-15 adet dal %70'lik etil alkolde 5 dakika bekletilmiştir. Ardından örnekler %23'lük çamaşır suyunda 30 dakika muamele edilmiş 3 kez steril distile su ile yıkanarak durulanmıştır (Şekil 2) (Pazuki ve ark., 2018).

### 2.2. Embriyoları Besin Ortamlarına Alma ve Kültür Koşulları

Sterilize edilen embriyolar aseptik koşullarda iğne yardımıyla zarar vermeden çıkarılıp 90 x 15 mm tek kullanımlık plastik petrielerde 3 tekrarlı olarak her bir petriye 5 embriyo olacak şekilde ekilmiştir (Şekil 3). Ortamların tamamında 4,4 g/l MS (Murashige ve Skoog) kullanılmıştır (Çizelge 1). Besi ortamının pH'sı 1 N NaOH ile 5.7 olarak ayarlanıp 121°C'de 20 dakika otoklavlanmıştır. Ekimi yapılan embriyolar floresan aydınlatmalı 12000 lüks ışıkta 25 °C de 16 saat gündüz 8 saat gece olacak şekilde bitki büyüme kabinine konulmuş ve çimlenme durumları her gün gözlenmiştir. Çimlenen embriyoların gözlemleri kaydedilmiştir.



Şekil 1. Kayseri Şeker Ar-Ge Merkezi Şeker Pancarı Islahı Çalışma Arazisi



Şekil 2. Embriyo Kültür Sterilizasyon Aşamaları  
a) Şeker pancarı embriyolarını taşıyan Dal  
b) Sterilizasyonda Aşamaları c) Durulama Aşamaları

Çizelge 1. Embriyo Kültüründe Kullanılan Besin Ortamları

Ortam İsmi	Ortamdaki Bileşikler
H1	20 mg/l Sukroz, 8 g/l Agar
H2	20 mg/l Sukroz, 8 g/l Agar, 0.01 mg/l IBA
A	30 g/l Sukroz, 8 g/l Agar, 1.5 mg/l BA
E1	30 g/l Sukroz, 8 g/l Agar, 1 mg/l BA
E2	30 g/l Sukroz, 8 g/l Agar, 1.25 mg/l BA, 0.1 mg/l GA
E3	30 g/l Sukroz, 8 g/l Agar, 2 mg/l BA
E4	100 g/l Sukroz, 7.5 g/l Agar, 1 mg/l BA
E5	100 g/l Sukroz, 7.5 g/l Agar, 2 mg/l BA



Şekil 3. Embriyoların E2 Yapay Besi Ortamlarına Alınması a) Çimlenme ortamı b) Çimlenme ortamında 10-15 gün sonra rejenere olan embriyolar c) *In vitro* sürgünler

### 2.3. Köklendirme ve Dış Ortama Alıştırma

Embriyodan gelişen *in vitro* sürgünler IBA ve NAA hormonları içeren 7 farklı besin ortamlarına aktarılmıştır (Çizelge 2). Rejenere olmuş embriyolardan oluşan sürgünler köklendirme büyüklüğüne gelene kadar tek bitki halinde alt kültüre alınmıştır. *In vitro* koşullarda köklenen 8-10 cm uzunluktaki bitkiler musluk suyu ile besin ortamı kalıntıları temizlenerek %100 torf içeren küçük

saksıya aktarılmış ve nem kaybından dolayı stres oluşmaması için üzeri streçlenerek iklimlendirme dolabında tutulmuştur.

Çizelge 2. Köklendirme Ortamı

Ortam İsmi	Ortamdaki Bileşikler
YK1	30 mg/l Sukroz, 8 g/l Agar, 0.1 mg/l BA, 1 mg/l IBA
YK2	30 mg/l Sukroz, 8 g/l Agar, 0.1 mg/l BA, 1.5 mg/l IBA
YK3	30 mg/l Sukroz, 8 g/l Agar, 0.1 mg/l BA, 2 mg/l IBA
YK4	30 mg/l Sukroz, 8 g/l Agar, 0.1 mg/l BA, 2.5 mg/l IBA
YK5	30 mg/l Sukroz, 8 g/l Agar, 0.1 mg/l BA, 3 mg/l IBA
TK1	30 g/l Sukroz, 8 g/l Agar, 0.5 mg/l NAA
TK2	30 g/l Sukroz, 8 g/l Agar, 1 mg/l NAA

İki hafta sonra streç film açılıp nem oranı düşürülerek iklimlendirme dolabında büyüme ve gelişmesinin devam etmesi için bırakılmıştır. Ardından bitkiler büyük saksılara alınarak adaptasyon için sera ortamına taşınmıştır (Şekil 4).

### 2.4. İstatistiksel Analizler

Deneme 8x8 (8 farklı genotip, 8 farklı ortam) faktöriyel deneme deseninde 3 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Sonuçlar SAS (Statistical Analysis System) istatistik programında LSD (Least Significant Difference) testi kullanılarak analiz edilmiştir.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Embriyo kültürü yöntemiyle *in vitro* çoğaltma çalışmasında kullanılan Kayseri Şekere ait 8 adet EUKS-77, EUKS-80, EUKS-118, EUKS-47, KSET-2, KS-T12, KS-T4 ve KS-T7 genotiplerin tamamında çimlenmenin gerçekleştiği gözlemlenmiştir. Tüm ortamlarda ekimi yapılan eksplantlardan gözlem olarak en yüksek çimlenme 20 günlük embriyo'dan %85 ile EUKS-118 numaralı genotipte olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4), fakat varyans analizine göre genotipler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Embriyolardan *in vitro* Sürgün Rejenerasyonu Varyans Analiz Tablosu

Varyasyon Kaynağı	S.D	KT	KO	F Değeri
<b>Döllenme Günü</b>	2	598.7	299.3	5.13 *
<b>Genotip</b>	7	208.2	29.7	0.51
<b>Ortam</b>	7	129.0	18.4	0.32
<b>Döllenme Günü*</b>	14	121.2	86.5	1.44
<b>Döllenme Günü*</b>	14	640.9	45.7	0.76
<b>Genotip*</b>	49	3540.7	72.2	1.20

\* 0.05 düzeyinde önemli (p<0.05)



**Şekil 4.** Köklendirme Ortamına Alınan Bitkiler Besi ortamı içinde köklendirme b) Köklenen bitkilerin ortam kalıntılarında yıkanması c) Torf içeren küçük saksıya alınması ve nemlendirme için streçle kapatılması d) Torf içeren saksılara alınması

**Çizelge 4.** Genotip ve Ortamların in vitro sürgün oranları

Genotip	Embriyo yaşı (gün)	Besin ortamı %								ORTALAMA
		E2	E1	E4	E3	E5	H2	A	H1	
KSET-2	5	-	-	-	-	-	10	-	-	3,8
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	
	20	40	20	-	-	-	20	-	-	
EUKS-80	5	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	
	20	-	-	-	-	60	-	-	-	
EUKS-77	5	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5
	10	20	-	-	20	-	-	-	-	
	20	20	-	-	-	-	-	-	-	
EUKS-47	5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	
	20	-	-	-	40	-	-	-	-	
KS-T7	5	-	-	-	-	-	-	-	-	1,7
	10	-	-	20	-	-	-	-	20	
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	
EUKS-118	5	-	-	-	-	-	-	-	-	3,5
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	
	20	-	40	20	-	-	25	-	-	
KS-T4	5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
	10	-	-	20	-	-	-	-	-	
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	
KS-T12	5	-	-	-	-	-	-	-	-	0,8
	10	-	-	-	-	-	-	20	-	
	20	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>ORTALAMA</b>		3,33	2,50	2,50	2,50	2,50	2,29	0,83	0,83	

Genotip ve ortamların arasında istatistiki bir fark olmamasının yanı sıra dölleme gününün çok önemli bir faktör olduğu ortaya çıkmıştır. Yapılan varyans analizinde dölleme günü istatistiksel olarak  $p < 0.05$  düzeyinde önemli çıkmıştır (Çizelge 3). LSD testinde çimlenme elde edilen 5, 10 ve 20 günlük embriyolar farklı gruplarda gruplandırılmış ve en yüksek çimlenme 20 günlük embriyodan elde edilmiştir. 20

günlük embriyoyu takiben 10 günlük ve 5 günlük embriyolar LSD testinde sıralanmıştır. LSD değeri SAS istatistik programında 2.67 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 5). Genotiplerde 20 günlük embriyolarda ortalama %66, 10 günlük embriyolarda %20, 5 günlük embriyolarda %1 oranında çimlenme gerçekleşmiştir. Çalışmada kullanılan 8 adet genotipten çimlenen bitkilerin tamamında köklendirme elde edilmiştir.

**Cizelge 5. Döllenme günü için LSD gruplaması**

Döllenme Günü	Ortalama	Grup
20	4.45	A
10	1.87	AB
5	0.15	B

LSD 2.67

Makarnalık buğdayda yapılan çalışmada 28 adet genotip kullanılmış ve 2, 4, 8 ve 16 günlük döllenmiş embriyolardan embriyo kültürü denemesi kurulmuştur. İstatistiki olarak döllenme gününün 0.01 düzeyinde çok önemli olduğu tespit edilmiştir. 16 günlük embriyolarda %95.9 oranında çimlenme olduğu ve yaptığımız çalışmada bulunan sonuçlarla paralel olarak genotiplerin bu durum üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı belirtilmiştir (Arzani ve ark., 1999).

Kaju (*Anacardium occidentale*) bitkisinde 10 genotip kullanılarak melezleme çalışması yapılmış ve çimlenme sorununun üstesinden gelinmesi için embriyo kültürü çalışması yapılmıştır. 2, 4, 6 ve 8 haftalık döllenmiş embriyodan embriyo kültürü yapılmıştır. Çalışma sonucunda 4 haftalık dönemde alınan embriyoların MS ortamında başarılı bir şekilde çimlendiğini ve hibrit kaju çeşidi oluşturma çalışmalarında başarılı bir şekilde kullanılabileceğini bildirilmiştir (Aliyu ve Awopetu, 2005). Nohut bitkisinde yabancı türleriyle yapılan hibrit çalışmasında 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ve 12 günlük döllenmiş embriyolar alınarak embriyo kültürü çalışılmıştır ve en yüksek (%43) rejenerasyonun 12 günlük embriyoda olduğu belirtilmiştir (Clarke ve ark., 2006). 12-16 günlük buğday embriyolarıyla yapılan embriyo kültürü çalışmasında embriyo kültürü ile kallus oluşumunda kullanılan 17 genotip arasında önemli derecede fark olduğu ve sürgün rejenerasyonunun genotipe bağlı olduğu bildirilmiştir (Dağüstü, 2008). Muz bitkisinde %70, %80, %90, %95 ve % 100 olgunlaşma periyotlarında yapılan çalışmada en iyi kallus oluşumunun %70 olgun embriyoda olduğu, en iyi rejenerasyonun ise %95 ve %100 olgunlaşmış embriyodan olduğu tespit edilmiştir (Uma ve ark., 2011). Buğdayda 12 farklı kallus ve rejenerasyon ortamında yapılan embriyo kültürü çalışmasında rejenerasyona ve kallus oluşumuna en önemli etkinin genotiplerin olduğu belirtilmiştir (Aydın ve ark., 2011).

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada 20 günlük döllenmiş embriyolarda en çok çimlenmenin olduğu ve döllenme gününün istatistiksel olarak 0.05 düzeyinde önemli çıktığı tespit edilmiştir. Genotip ve ortamın istatistiki olarak önemsiz olduğu görülmüştür.

Başarılı in vitro embriyo kültürünün büyük ölçüde embriyonun olgunluğuna bağlı olduğu bilinmektedir. Tozlaşmadan sonraki gün sayısı veya embriyo boyutu genellikle olgunluğu belirtmek için kullanılmaktadır

(Uma ve ark.,2011;Varshney ve Johnson, 2010;Cheng ve Aoki, 2008; Promchot ve Boonprakob, 2007).

Bu çalışmada tozlaşmayı takiben alınan 5, 10 ve 20 günlük olgunluktaki embriyolardan embriyo kültürü için en uygunun 20 günlük embriyolar olduğu ve onu takiben 10 günlük embriyolar olduğu belirlenmiştir. Yapılan varyans analiz ve LSD testleri sonucunda genotiplerin ve ortamların arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Ancak en çok rejenerasyon sağlayan genotip KSET-2, ortam ise E2 ortamı olarak gözlemlenmiştir.

Şeker pancarı ıslahı çalışmalarında tohum olgunlaşma evresini beklemeden tozlaşmanın ardından embriyo kültürü ile bitki rejenerasyonunun sağlanabileceği bu çalışma ile gösterilmiştir. Rejenere olan embriyoların köklendirilip sera içerisine aktarılmasıyla ve vernalize edilmesiyle birlikte iki yıllık bitki gelişim sürecinin bir yıla indirilebileceği görülmüştür. Bu da bienal bitkilerde önemli bir zaman kazancı olarak karşımızda çıkmaktadır. Bitki ıslahı çalışmalarında embriyo kültürü ile ıslah sürecinin kısaltılması, çimlenme bariyerinin aşılması, embriyo kurtarma işlemleriyle ıslah materyallerinin kaybolmasının engellenmesi ve embriyo üzerinde CRISPR Cas9 gibi gen düzenleme araçlarıyla yapılacak çalışmaların başarıya ulaşacağı ön görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Aliyu, O. M.,&Awopetu, J. A. (2005). *In vitro* regeneration of hybridplantlets of cashew (*Anacardium occidentale* l) through embryo culture. *African journal of Biotechnology*, 4(6), 548-553.
- Arzani, A.,&Mirodjagh, S. S. 1999. *Response of durum wheat cultivars to immature embryo culture, callus in duction and in vitro salt stress. Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58, 67-72.
- Aydın, M., Tosun, M., &Haliloglu, K. (2011). *Plant regeneration in wheat mature embryo culture. African Journal of Biotechnology*, 10(70), 15749-15755.
- Bridgen, M. P. (1994). *A review of plant embryo culture. Hort Science*, 29(11), 1243-1246.
- Cheng, F.,&Aoki, N. (2008). *Crosses of Chinese and Japanese treepeony and a primary study on in vitro culture of hybrid embryos. ActaHorticulturae*, 766, 367.
- Clarke, H. J., Wilson, J. G., Kuo, I., Lülisdorf, M. M., Mallikarjuna, N., Kuo, J., &Siddique, K. H. M. (2006). *Embryo rescue and plant regeneration in vitro of selfed chickpea (Cicerarietinum L.) and its wild annual relatives. Plantcell, tissueand organ culture*, 85, 197-204.
- Dağüstü, N. (2008). *Comparison of callus formation and plantlet regeneration capacity from immature embryo culture of wheat (Triticumaestivum L.) genotypes. Biotechnology&BiotechnologicalEquipment*, 22(3), 778-781.

- Dunwell, J. M. (1986). Pollen, ovule and embryo culture, as tools in plant breeding. *Plant tissue culture and its agricultural applications*, 375-404.
- Hanning, E. 1904. Zur Physiologic pflanzenlicher Embryonen. I. Ober die Kultur von Cruciferen-Embryonen ausserhalb des Embryosacks. *Bot. Zeit.* 62: 45-80.
- McGrath, J. M., & Panella, L. (2018). Sugar beet breeding. *Plant breeding reviews*, 42, 167-218.
- Laibach, F. 1925. Das Taubwerden von Bastardsamen und die künstliche Aufzucht früh absterbender Bastardembryonen. *Z. Bot.* 17:417-459.
- Pazuki, A., Aflaki, F., Gürel, S., Ergül, A., & Gürel, E. (2018). Production of doubled haploids in sugarbeet (*Beta vulgaris*): an efficient method by a multivariate experiment. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 132, 85-97.
- Promchot, S., & Boonprakob, U. (2007). Replacing agar with vermiculite, coconut fiber and charcoal rice husk in culture media for embryo rescue of immature nectarines seeds. *Thai Journal of Agricultural Science*, 40(3-4), 167-173.
- Sharma, D. R., Kaur, R., & Kumar, K. (1996). Embryo rescue in plants—a review. *Euphytica*, 89, 325-337.
- Tazeb, A. (2017). Plant tissue culture technique as a novel tool in plant breeding: A review article. *EnvironSci [Internet]*, 17(2), 111-8.
- Uma, S., Lakshmi, S., Saraswathi, M. S., Akbar, A., & Mustaffa, M. M. (2011). Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa spp.*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 105, 105-111.
- Varshney, A., & Johnson, T. S. (2010). Efficient plant regeneration from immature embryo cultures of *Jatropha curcas*, a biodiesel plant. *Plant Biotechnology Reports*, 4, 139-148.
- Xue, J., Li, Z., Hao, W., Wang, X., Fan, G., Yu, L., & Geng, G. (2022). Effects of Soil Covering on Growth and Physio-Biochemical Indices of Sugar Beet Seedlings Under Short-Term Low-Temperature Stress. *SugarTech*, 24(5), 1530-1539.