

# Burçakta (*Vicia ervilia* (L.) Willd.) In Vitro Sürgün Rejenerasyonu

## In Vitro Shoot Regeneration of Bitter Vetch (*Vicia ervilia* (L.) Willd.)

### ÖZET


Bu çalışmada burçak (*Vicia ervilia* (L.) Willd) bitkisinde in vitro sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplantları farklı konsantrasyonlarda 6-benzilaminopurin (BAP; 0,5-2 mg/L), thidiazuron (TDZ; 0,25-1,5 mg/L) veya meta-Topolin (mT; 1-4 mg/L) ile 0,25 mg/L naftalenasetik asit (NAA) içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 7-8 hafta sonra sürgün oluşturan eksplant yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu özellikleri belirlenmiştir. Sürgün oluşturan eksplant yüzdesi sürgün ucu eksplantında %75-100, kotiledon boğum eksplantında ise %57,14-92,85 arasında değişim göstermiştir. Maksimum eksplant başına sürgün sayısı hem sürgün ucu hem de kotiledon boğum eksplantlarında sırasıyla 9,75 ve 15,51 adet ile 0,5 mg/L TDZ+0,25 mg/L NAA içeren ortamda saptanmıştır. En yüksek sürgün uzunluğu ise sürgün ucu eksplantında mT içeren ortamlardan (1, 2 ve 4 mg/L) elde edilirken, kotiledon boğum eksplantında sadece 1 mg/L mT+0,25 mg/L NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Rejenere olan sürgünlerin köklendirilmesinde 0,5, 1 veya 2 mg/L indol-3- bütirik asit (IBA) içeren MS besin ortamı veya 1 mg/L IBA, 0-1 g/L aktif karbon içeren yarım veya tam MS besin ortamı kullanılmıştır. Köklenme %0-9,713 arasında değişim göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Vicia ervilia*, eksplant tipi, in vitro rejenerasyon, oksin, sitokin

#### Sorumlu Yazar

Satı UZUN

scocu@erciyes.edu.tr

 0000-0001-9919-3145

#### Yazar

Lokman KARAHASAN

lokmankarahasan@gmail.com

 0000-0001-9490-9802

#### Yazar

Onur OKUMUŞ

okumus@erciyes.edu.tr

 0000-0001-6957-3729

Gönderilme Tarihi :

11 Mart 2022

Kabul Tarihi :

29 Eylül 2022

## ABSTRACT

In this study, to obtain in vitro shoot regeneration in bitter vetch (*Vicia ervilia* L. Willd), shoot tip and cotyledon node explants were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium containing different concentration of 6-benzylaminopurine (BAP; 0.5-2 mg/L), thidiazuron (TDZ; 0.25-1.5 mg/L) or meta-Topoline (mT; 1-4 mg/L) with 0.25 mg/L  $\alpha$ -naphthalene acetic acid (NAA). Shoot regeneration frequency, the number of shoots per explant and shoot length were determined 7-8 weeks after the initiation of culture processes. The shoot regeneration frequency in the shoot tip explant was between 75-100% and between 57.14-92.85% in the cotyledon node explant. The maximum shoot numbers per explant were determined on medium containing 0.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA with 9.75 and 15.51 in both shoot tip and cotyledon node explants, respectively. While the highest shoot lengths were obtained on medium containing mT (1, 2 and 4 mg/L) at the shoot tips, it was measured on medium containing only 1 mg/L mT+0.25 mg/L NAA in the cotyledon node explants. MS medium containing 0.5, 1 or 2 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) or half or full strength MS medium containing 1 mg/L IBA, 0-1 g/L activated carbon were used for rooting of regenerated shoots. Rooting varied between 0-9.713%.

**Keywords:** *Vicia ervilia*, explant type, in vitro regeneration, auxin, cytokinin

## GİRİŞ

Burçak tek yıllık bir baklagil yem bitkisidir. Avrupa, Batı ve Orta Asya, Kuzey Afrika ve Akdeniz havzasında doğal olarak bulunur (Açıkgöz, 2021). Burçak tanelerinde yaklaşık %21-28, kuru otunda ise %14.6-17.8 ham protein içerir (Larbi, El-Moneim, Nokkoul, Jammal, ve Hassan, 2011). Burçak metabolik enerji, protein, demir, bakır, potasyum, fosfor ve klor gibi mineraller açısından iyi bir kaynak olup, aminoasit profili lizin bakımından soya küspesine yakındır (Ayaşan, 2010). Burçak kurağa oldukça dayanıklıdır, diğer kültür bitkilerinin ekonomik olarak tarımının yapılamadığı alanlarda, kireççe fakir topraklarda, taşlı, yamaç tarlalarda yetişebilmektedir (Balabanlı, 1998). Ülkemizde Ege, Akdeniz, İç Anadolu, Güneydoğu

Anadolu Bölgelerinde çiftçilerin elinde yerel popülasyonlar kullanılarak, geleneksel usullerle tarımı yürütülmektedir (Serin, Tan ve Çelebi, 1997). Burçağın özellikle hasadı ve harmanı oldukça zordur. Bitki kısa boyludur ve makinalı hasada uygun değildir. Bitkinin veriminin düşük olması ve makinalı hasada uygun olmaması nedeniyle tarımı gün geçtikçe azalmaktadır (Serin ve Tan, 2001; Elçi, 2005). Ancak marjinal alanların değerlendirilmesinde önemli bir yem bitkisi olan burçak, kurağa dayanıklılığının yüksek olması nedeniyle nadas alanları için de bir umut olabilir (Serin vd., 1997). Çevre ve gıda güvenliğinin gün geçtikçe önem kazanması ekstrem iklim ve toprak özelliklerinde yetiştirilebilecek burçak bitkisini daha da önemli kılmaktadır (Arslan, 2019). Burçak bitkisinde çeşit geliştirme çalışmaları çok sınırlı seviyede kalmış ve ülkemizde tescilli bir çeşit henüz bulunmamaktadır.

Doku kültürü teknikleri son yıllarda geleneksel bitki ıslahında doğrudan ya da dolaylı olarak kullanılmakta ve kısa sürede etkili sonuçların alınmasına olanak sağlanmaktadır. Doku kültürü yöntemleri kullanılarak birçok bitki türünde tarımsal açıdan başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Dağüstü, 2018). Ancak doku kültürü yöntemlerinde başarı başta genotip ve besi ortamının bileşimi olmak üzere çeşitli genetik, fiziksel ve kimyasal faktörlerden oldukça etkilenmektedir (Uysal ve Topbaş, 2021). Burçak bitkisinde bazı hatlarda olgunlaşmamış embriyo ve kotiledon boğum eksplantlarında farklı büyüme düzenleyiciler kullanılarak in vitro bitki rejenerasyonu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (Erdoğan, Çöçü, Parmaksız, Sancak, ve Arslan, 2004; 2005). Bu çalışmada ise yerel olarak yetiştirilen bir burçak popülasyonunun sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplantlarından in vitro sürgün rejenerasyonu üzerine TDZ (Thidiazuron), BAP (6- Benzilaminopurin) ve mT (meta-Topolin) gibi farklı sitokinlerin etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada Uşak yöresinde yaygın olarak tarımı yapılan yerel popülasyon materyal olarak kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan burçak tohumları %50 ticari çamaşır suyunda 15 dakika süreyle manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak steril edilmiş ve ardından 3 kez ilki 5 dakika olmak üzere

steril saf su ile durulanmıştır. Tohumlar 30 g/L şeker, 7.5 g/L agar içeren Murashige ve Skoog (MS) besin ortamında çimlendirilmiştir.

Araştırmada in vitro sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla 5-7 günlük fidelerden elde edilen sürgün ucu ve kotiledon boğum kısımları eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantlar BAP (0.5, 1, ve 2 mg/L), TDZ (0.25, 0.5, 1 ve 1.5 mg/L) veya mT (1, 2 ve 4 mg/L) sitokininlerinin farklı konsantrasyonlarının 0.25 mg/L NAA ile kombinasyonlarını içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Rejenerasyon denemelerinde tüm ortamlara 30 g/L şeker ilave edilmiş olup, ortamlar 7.5 g/L agar ile katılaştırılmıştır. Eksplantlar 1 defa alt kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcında 7-8 hafta sonra sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplantlarında sürgün oluşturan eksplant sayısı, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu belirlenmiştir.

Rejenerasyon sonucunda elde edilen sürgünlerde köklendirme işlemi için iki farklı uygulama yapılmıştır. Birinci uygulamada 0.5, 1 ve 2 mg/L IBA, 30 g/L şeker, 7.5 g/L agar içeren MS besin ortamında köklendirme işlemi gerçekleştirilirken; ikinci uygulamada 1 mg /L IBA oksin kaynağı olarak belirlenmiş, tam MS, yarım MS ve 1 g/L aktif karbon kullanılmıştır. Kök oluşturan sürgünler sayılarak kök oluşturan sürgün yüzdesi hesaplanmıştır.

Çalışmada kullanılan tüm ortamların hazırlanmasında saf su kullanılmıştır. Saf su, besin ortamların ve çalışmada kullanılan alet ekipmanın sterilizasyonu otoklav ile (1.5 atmosfer basınç altında, 121 °C'de 20 dakika) gerçekleştirilmiştir. TDZ ve mT ise filtre sterilizasyonu yapılarak otoklavdan sonra besin ortamına eklenmiştir. Tüm steril çalışmalar hepa filtreli steril kabin (Nüve L120) içerisinde gerçekleştirilmiştir. Besin ortamlarının pH'sı 1 N NaOH ve 1 N HCl kullanılarak 5.5 ile 5.8 arasında ayarlanmıştır. Tüm kültürler 16/8 saat aydınlık/karanlık fotoperiyotta, 24±2°C'de ve 5000 lüks ışık yoğunluğunda büyütülmüştür.

İn vitro rejenerasyon denemeleri tesadüf parselleri deneme deseninde 2 faktörlü (10 farklı ortam ve 2 farklı eksplant) olarak yürütülmüştür. Denemeler her tekerrürde

7 eksplant olacak şekilde 4 tekerrürlü kurulmuştur. Köklendirme denemeleri ise tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü ve her tekerrür 28 eksplant içerecek şekilde yürütülmüştür. Yüzde olarak elde edilen verilere varyans analizinden önce "arcsin" transformasyonu uygulanmıştır. Denemelerden elde edilen verilere SPSS 16.0 paket programı yardımıyla bilgisayarda varyans analizleri yapılmıştır. Uygulamalar arasındaki farklar %5 olasılık düzeyine göre Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

## BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu çalışmada burçak bitkisinde in vitro sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla kotiledon boğum ve sürgün ucu eksplantları farklı konsantrasyonlarda BAP, TDZ veya mT ile 0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültür başlangıcından 7-8 hafta sonra sürgün oluşturan eksplant yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu özellikleri belirlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarına göre sürgün oluşturan eksplant yüzdesinde eksplant ve sitokinin x eksplant interaksyonu %1 düzeyinde önemli bulunurken, sitokininler %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün ucu eksplantında en yüksek sürgün oluşturan eksplant yüzdesi (%100) 0.5 ve 1 mg/L BAP, 0.5 ve 1 mg/L TDZ, 1, 2 ve 4 mg/L mT içeren besin ortamlarında elde edilirken; en düşük %75 ile 0.25 mg/L TDZ içeren ortamda elde edilmiştir (Tablo 1). Kotiledon boğum eksplantında ise en yüksek sürgün rejenerasyonu %92.85 ile 1 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA içeren ortamdan, en düşük ise %57.14 ile 2 mg/L mT+0.25 mg/L NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Sürgün ucu eksplantının sürgün rejenerasyonu ortalama %95.71, kotiledon boğum eksplantının ise %79.64 olarak belirlenmiştir. Sürgün ucu eksplantının sürgün oluşturan eksplant yüzdesi kotiledon boğum eksplantından daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde Sancak (1999) koca fiğde; Sancak, Mirici, ve Özcan (2000) Macar fiğinde; Çöçü, Uranbey, ve Sancak (2003) adi fiğde ve Erdoğan vd. (2005) burçakta yaptıkları çalışmalarda eksplantların rejenerasyon frekanslarının farklılık gösterdiğini bildirmektedirler.

Tablo 1. Burçakta farklı sitokin konsantrasyonlarında sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplantlarından elde edilen sürgün oluşturan eksplant yüzdelere ait ortalama değerler (%)

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Eksplantlar		Ortalamalar
	Sürgün Ucu	Kotiledon Boğum	
0.5 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	100 (90) a	85.71 (74.22) a	92.86 (82.11)
1 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	100 (90) a	92.85 (78.89) a	96.43 (84.45)
2 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	96.43 (84.45) a	82.14 (68.29) ab	89.28 (76.37)
0.25 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	75 (63.62) b	85.72 (63.62) abc	80.36 (68.73)
0.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	100 (90) a	85.71 (70.82) a	92.86 (80.41)
1 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	100 (90) a	71.43 (61.48) abc	85.71 (75.74)
1.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	85.71 (70.82) ab	85.71 (67.79) ab	85.71 (69.30)
1 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	100 (90) a	89.29 (76.37) a	94.64 (83.19)
2 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	100 (90) a	57.14 (49.29) c	78.57 (69.65)
4 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	100 (90) a	60.71 (51.25) bc	80.36 (70.63)
Ortalamalar	95.71 (84.89)	79.64 (67.23)	

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir. "arcsin" transformasyon değerleri parantez içinde verilmiştir.

Yapılan uygulamaların eksplant başına sürgün sayısına etkisine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde eksplant başına sürgün sayısı üzerine eksplant, sitokin ve eksplant x sitokin etkisi %1 düzeyinde önemli bulunmuştur. Sürgün ucu eksplantında en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 9.75 ile 0.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamından elde edilirken bu ortam ile 0.5 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA, 1 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA, 1 mg/L mT+0.25 mg/L NAA, 2 mg/L mT+0.25 mg/L NAA ve 4 mg/L mT+0.25 mg/L NAA içeren ortamlar istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır (Tablo 2). Kotiledon boğum eksplantında ise en yüksek eksplant başına sürgün sayısı 15.51 ve 14.97 adet ile sırasıyla 0.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA ve 0.25 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamlarından elde edilmiştir. Eksplant tipine göre eksplant başına en yüksek sürgün rejenerasyonu elde edilen ortamlar birbirinden farklılık göstermiştir. Daha önce 6 farklı burçak hattında yürütülen bir araştırmada da olgunlaşmamış embriyo ve kotiledon

eksplantlarından elde edilen en yüksek sürgün sayıları ortamların sitokin içeriğine göre farklılık göstermiştir (Erdoğan vd., 2005). Macar fiğinde Sancak vd. (2000) tarafından yürütülen çalışmada ise en yüksek eksplant başına sürgün sayısı olgunlaşmamış kotiledon eksplantında 7.5 adet ile 20 µM BAP ve 2.5 µM NAA içeren ortamdan elde edilirken, olgunlaşmamış embriyo eksplantında 15.9 adet 10 µM BAP ve 2.5 µM NAA içeren ortamdan elde edilmiştir. Nitekim Magyar-Tabori, Dobranszki, da Silva, Bulley, ve Hudak (2010) elmada organogenesis üzerine sitokinlerin önemi üzerine yaptıkları derlemede besin ortamına eklenen sitokinlerin bölünme ve organogenesis indüklemeleri ve diğer fizyolojik ve gelişimsel süreçleri etkilemeleri nedeniyle önemli olduğunu bildirmektedir. Ayrıca sitokin türü ve konsantrasyonunun doku kültürünün başarısını etkilediğini çünkü sitokinlerin alımlarının, taşınımalarının ve metabolizmalarının çeşitler arasında değişim gösterdiğini ve bir eksplantın endojen sitokinleri ile etkileşime girebileceğini ifade etmişlerdir.

Tablo 2. Burçakta farklı sitokinin konsantrasyonlarında sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplantlarından elde edilen eksplant başına sürgün sayılarına ait ortalama değerler (adet)

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Eksplantlar		Ortalama
	Sürgün Ucu	Kotiledon Boğum	
0.5 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	7.75 abcd	8.56 cd	8.16
1 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	6.89 bcde	9.60 bc	8.25
2 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	5.79 de	7.48 cd	6.63
0.25 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	6.17 cde	14.97 a	10.57
0.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	9.75 a	15.51 a	12.63
1 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	8.10 abcd	11.48 b	9.79
1.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	4.91 e	6.22 de	5.57
1 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	8.96 ab	7.17 d	8.07
2 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	8.25 abc	3.69 f	5.97
4 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	9.39 a	4.84 ef	7.11
<b>Ortalama</b>	7.60	8.95	

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.

Pürin olmayan bir fenilüre bileşiği olan TDZ, sitokinin benzeri pürin tipi sitokininlerden daha etkili ve sürgün çoğaltımını uyarma konusunda oldukça başarılıdır (Kumari, Singh, Yadav, ve Tran, 2018). Ancak bitki rejenerasyonu üzerine sürgün çoğaltımının ve uzamasının engellenmesi ile birleşmiş sürgün gibi zararlı etkiler de gösterebilir (Dewir, Nurmansyah, Naidoo, ve Silva, 2018; Kumari vd., 2018). TDZ, sitokinin oksidaz enzimleri tarafından parçalanmadığından uygulanan dokularda kalır ve ortama doğrudan eklenen yüksek konsantrasyonlarda TDZ bitkilerde zararlı etkilere neden olabilir (Dewir vd., 2018; Kumari vd., 2018; Kumari, Singh, Yadav, ve Tran, 2021). Bu nedenle doku kültürü çalışmalarında TDZ konsantrasyonunun optimizasyonu ve uygulama şekli oldukça önemlidir. Her iki eksplanta da 0.5 mg/L TDZ'de en yüksek eksplant başına sürgün sayısı elde edilirken TDZ konsantrasyonunu artmasıyla eksplant başına sürgün sayısında bir azalma meydana gelmiştir. Benzer şekilde TDZ konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak eksplant başına sürgün sayısında meydana gelen azalma durumu tüylü fiğde Aasım, Şahin-Demirbağ, Khawar, Kendir ve Özcan, (2011) tarafından yapılan çalışmada da bildirilmektedir.

Uygulamaların sürgün uzunluğuna etkisine ait varyans analizi sonuçları incelendiğinde sürgün uzunluğu üzerine eksplant ve sitokininlerin etkisi %1 düzeyinde önemli bulunurken sitokinin x eksplant interaksiyonu %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Tablo 3 incelendiğinde en yüksek sürgün uzunlukları sürgün ucu eksplantında 1, 2 veya 4 mg/L mT+0.25 mg/L NAA, kotiledon boğum eksplantında ise 1 mg/L mT+0.25 mg/L NAA içeren ortamlarda elde edilmiştir (Tablo 3). Farklı araştırmacılar tarafından Allamanda carhartica, Salvia sclarea ve Withania somnifera'da yürütülen araştırmalarda da mT içeren ortamlarda uygulanan diğer sitokininlere göre daha yüksek sürgün uzunluğu değerleri bildirilmiştir (Khanam, Javed, Anis, ve Alatar, 2020; Erişen, Kurt-Gür, ve Servi, 2020; Kaur, Kaur, Bhandawat, ve Pati, 2021).

Elde edilen sürgünlerde köklendirme çalışmalarında iki farklı protokol uygulanmıştır. Birinci protokolda sürgünler 0.5, 1 ve 2 mg/L IBA, 30 g/L şeker içeren 7.5 g/L agar ile katılaştırılan tam MS ortamında köklendirilmiştir. Aktif karbon karanlık bir ortam sağlaması, inhibitör maddeleri adsorbe etmesi, toksik ve fenolik bileşikler önemli ölçüde azaltması gibi özelliklerinden dolayı köklendirme çalışmalarında sıklıkla kullanılmadığı (Thomas, 2008). Bu

nedenle ikinci protokolde 1 mg/L IBA, yarım veya tam MS ortamı ile 1 g/L aktif karbon içeren ve içermeyen ortamlar köklendirme amacıyla kullanılmıştır. Deneme sonucunda her iki protokolde de kök oluşturan sürgün yüzdesine uygulamaların etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Burçakta köklenme %0-9.713 arasında değişim göstermiştir (Tablo 4 ve 5). Daha önce Erdoğan vd. (2004) tarafından yürütülen çalışmada 2 mg/L IBA içeren MS besin ortamında %100 köklenme elde

edilmiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıklar genotiplerin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim Gianguzzi, Barone, ve Sottile, (2020) *Capparis spinosa*'da köklenme üzerine genotipin çok etkili olduğunu ifade etmektedir. Hnatuszko-Konka, Kowalczyk, Gerszberg, Glinska, ve Grzegorzczak-Karolak (2019) fasulyede çeşitlere göre köklenme oranını %22-66 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Tablo 3. Burçakta farklı sitokinin konsantrasyonlarında sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplantlarından elde edilen sürgünlerin uzunluklarına ait ortalama değerler (cm)

Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Eksplantlar		Ortalama
	Sürgün Ucu	Kotiledon Boğum	
0.5 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	2.63 c	2.71 b	2.67
1 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	2.72 bc	2.27 bc	2.50
2 mg/L BAP+0.25 mg/L NAA	1.75 d	2.16 bc	1.96
0.25 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	2.42 cd	2.35 bc	2.38
0.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	2.56 cd	2.50 bc	2.53
1 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	2.50 cd	1.82 c	2.16
1.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L NAA	2.19 cd	1.78 c	1.99
1 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	4.01 a	3.94 a	3.98
2 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	4.06 a	2.23 bc	3.15
4 mg/L mT+0.25 mg/L NAA	3.44 ab	2.83 b	3.14
<b>Ortalama</b>	2.83	2.46	

Aynı sütunda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık 0.05 düzeyinde önemlidir.

Tablo 4. Burçakta farklı IBA dozlarında elde edilen kök oluşturan eksplant yüzdelere ait ortalama değerler (%)

IBA Konsantrasyonları	Kök Oluşturan Eksplant Yüzdesi
0.5 mg/L IBA	4.763
1 mg/L IBA	9.713
2 mg/L IBA	1.333

Tablo 5. Burçakta farklı köklendirme ortamlarında elde edilen kök oluşturan eksplant yüzdelere ait ortalama değerler (%)

Ortamlar	Kök Oluşturan Eksplant Yüzdesi
1 mg/l IBA + tam MS	2.380
1 mg/L IBA + yarım MS	5.952
1 mg/L IBA + tam MS + 1g/L aktif karbon	3.573
1 mg/L IBA + yarım MS + 1 g/L aktif karbon	0

## SONUÇ

Bu araştırmada farklı sitokinin kaynağı ve konsantrasyonlarında burçak bitkisinin sürgün ucu ve kotiledon boğum eksplanlarından in vitro sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. Sürgün oluşturan eksplant yüzdesi ve eksplant başına sürgün sayısı birlikte değerlendirildiğinde en başarılı sürgün rejenerasyonu iki eksplantta da 0.5 mg/L TDZ+0.25 mg/L içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Her iki eksplant birlikte değerlendirildiğinde en yüksek sürgün uzunlukları 1 mg/L mT+0.25 mg/L NAA içeren MS besin ortamında belirlenmiştir. Elde edilen sürgünlerde köklenme %0-9.713 arasında değişim göstermiştir.

## AÇIKLAMALAR

Bu makale Lokman KARAHASAN'ın Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde gerçekleştirdiği yüksek lisans tez çalışmasından üretilmiştir. Makalede araştırma ve yayın etiğine uyulmuştur. Bu araştırma için etik kurul izni ve/veya yasal/ özel izin alınmasına gerek duyulmamıştır. Yazarlar arasında herhangi bir "Çıkar Çatışması" bulunmamaktadır.

## KAYNAKÇA

- Aasim, M., Sahin-Demirbag, N., Khawar, M.K., Kendir, H. ve Özcan, S. 2011. Direct axillary shoot regeneration from the mature seed explant of the hairy vetch (*Vicia villosa* Roth). Archives of Biological Sciences, 63 (3): 757-762.
- Açıkgöz, E. 2021. Yem Bitkileri (Cilt 1). Tarım ve Orman Bakanlığı Bitkisel Üretim Müdürlüğü Yayınları, Ankara.
- Ayaşan, T. 2010. Burçağın (*Vicia ervilia* L.) hayvan beslemede kullanılması. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 16 (1): 167-171.
- Arslan, M. 2019. Küresel iklim değişikliğinin olumsuz etkilerine karşı ümitvar baklagiller olarak mürdümük (*Lathyrus sativus* L.) ve burçak (*Vicia ervilia* L.)'ın önemi. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 16 (1): 97-104.
- Balabanlı, C. 1998. Burçak hatların (*Vicia ervilia* (L.)

Willd.)'da bazı tarımsal karakterlerin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 7 (2): 45-50.

- Çöçü, S., Uranbey, S., Sancak, C. 2003. Bazı yaygın fiğ (*Vicia sativa* L.) çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi, 9 (4): 445-449.
- Dağüstü, N. 2018. Bitki doku kültürü uygulamalarının ıslah çalışmalarında kullanılması. TÜRKTOB dergisi, 25: 23-26.
- Dewir, Y. H., Nurmansyah, Naidoo, Y., Teixeira da Silva, J. A. 2018. Thidiazuron-induced abnormalities in plant tissue cultures. Plant cell reports, 37 (11): 1451-1470.
- Elçi, Ş., 2005. Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkileri, TC. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara, 486 s.
- Erdoğan Y., Çöçü S., Parmaksız İ., Sancak C. ve Arslan, O. 2004. Bazı burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) kotiledon boğum eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi, 10 (2): 206-210.
- Erdoğan, Y., Çöçü, S., Parmaksız, İ., Sancak, C., Arslan, O. 2005. Burçak (*Vicia ervilia* (L.) Wild.) bitkisinin olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu ve hızlı çoğaltım. Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Tarım Bilimleri Dergisi, 11 (1): 60-64.
- Erişen, S., Kurt-Gür, G., Servi, H. 2020. In vitro propagation of *Salvia sclarea* L. by meta-Topolin, and assessment of genetic stability and secondary metabolite profiling of micropropagated plants. Industrial Crops and Products, 157 (2): 112892.
- Gianguzzi, V., Barone, E., Sottile, F. 2020. In vitro rooting of *Capparis spinosa* L. as affected by genotype and by the proliferation method adopted during the multiplication phase. Plants, 9 (3): 398.
- Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T., Gerszberg, A., Glinska S., Grzegorzczuk-Karolak, I. 2019. Regeneration of *Phaseolus vulgaris* from epicotyls and hypocotyls via direct organogenesis. Scientific Reports, 9: 6248.

- Kaur, K., Kaur, K., Bhandawat, A., Pati, P. K. 2021. In vitro shoot multiplication using meta-Topolin and leaf-based regeneration of a withaferin A rich accession of *Withania somnifera* (L.) Dunal. *Industrial Crops and Products*, 171: 113872.
- Khanam, M. N., Javed, S. B., Anis, M., Alatar, A. A. 2020. meta-Topolin induced in vitro regeneration and metabolic profiling in *Allamanda cathartica* L. *Industrial Crops and Products*, 145: 111944.
- Kumari, P., Singh, S., Yadav, S., Tran, L.S.P. 2018. Pretreatment of seeds with thidiazuron delimits its negative effects on explants and promotes regeneration in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 133: 103–114
- Kumari, P., Singh, S., Yadav, S., Tran, L. S. P. 2021. Influence of different types of explants in chickpea regeneration using thidiazuron seed-priming. *Journal of Plant Research*, 134:1149-1154.
- Larbi, A., El-Moneim, A. A., Nakkoul, H., Jammal, B., Hassan, S. 2011. Intra-species variations in yield and quality determinants in *Vicia* species: 1. Bitter vetch (*Vicia erviilia* L.). *Animal Feed Science and Technology*, 165 (3-4): 278-287.
- Magyar-Tábori, K., Dobránszki, J., da Silva, J. A. T., Bulley, S. M., Hudák, I. 2010. The role of cytokinins in shoot organogenesis in apple. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 101(3): 251-267.
- Sancak, C., 1999. Koca fiğ (*Vicia narbonensis* L.)'in olgunlaşmamış embriyo eksplantlarından adventif sürgün sürgün rejenerasyonu. *Gazi üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi* 19 (2): 25-33.
- Sancak, C., Mirici, S., Özcan, S. 2000. High frequency shoot regeneration from embriyo explants of Hungarian vetch. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 61: 231-235.
- Serin, Y., Tan, M. 2001. *Baklagil Yem Bitkileri*, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları.
- Serin, Y., Tan, M., Çelebi, H.B. 1997. Erzurum yöresine uygun burçak (*Vicia erviilia* (L.) Willd.) hatlarının belirlenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 6 (2): 13-22.
- Thomas, T.D. 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, 26: 618-631.
- Uysal, H., Topbaş, T. 2021. Korunga (*Onobrychis viciifolia*) hipokotil eksplantlarının in vitro rejenerasyon yeteneğinin belirlenmesi. *Ziraat Mühendisliği*, 372: 75-82