

Sarı Sakalotu (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng) Bitkisinin Genç Salkımlarının *in vitro* Kültüründe Salkım Uzunluğunun Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Etkisi

Ersin CAN

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

Nafiz ÇELİKTAŞ, Rüştü HATİPOĞLU

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

Geliş Tarihi: 02.03.1999

Özet: Bu çalışma, sarı sakalotu (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng) genç salkımlarının *in vitro* kültüründe salkım uzunluğunun kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonuna etkisini saptamak amacıyla sürdürülmüştür. Araştırmada, *in vitro* kültüre iyi reaksiyon gösteren bir sarı sakalotu ekotipinin rejeneratlarından alınan farklı uzunluktaki salkımlar (2-25 mm) 8 mg/l dicamba içeren LS besisi ortamında kültüre alınmışlardır.

Araştırmada, kallus indüksiyon oranı salkım uzunluğuna bağlı olarak % 20.3 ile % 46.9 arasında değişmiştir. Salkım başına en yüksek kallus ağırlığı (111.5 mg/salkım) 11-15 mm uzunluğundaki salkımlardan elde edilmiştir. 15 mm'den daha uzun salkımların eksplantat olarak kullanılması durumunda salkım uzunluğu arttıkça salkım başına kallus ağırlığı azalma göstermiştir. En yüksek rejenerasyon oranı (10.860 bitkicik/salkım) 16-20 mm uzunluğundaki salkımlardan elde edilmiştir. 20 mm'den daha uzun salkımların eksplantat olarak kullanılması durumunda, rejenerasyon oranı azalmıştır.

Araştırma sonuçları dikkate alınarak, 11-20 mm uzunluğundaki açık sarı renkli salkımların sarı sakalotunda embriyogenik kallus kültürlerinin elde edilmesi amacıyla eksplantat olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Sarı Sakalotu (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng), Genç Salkım, Salkım Uzunluğu, *In Vitro* Kültür.

Effect to the Young Inflorescence Length on the Callus Formation and Plant Regeneration in Yellow Bluestem (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng)

Abstract: This study was carried out to determine the effect of inflorescence length on callus induction and plant regeneration in yellow bluestem (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng). Inflorescences with different lengths (2-25 mm) from the *in vitro* regenerated plants of a *Bothriochloa* - ecotype with a good response to *in vitro* culture were cultured on LS-medium with addition 8 mg/l dicamba.

The results of the study showed that the rates of callus induction related to inflorescence length varied from 20.3% to 46.9%. The highest callus weight per inflorescence was obtained from the inflorescences with a length of 11-15 mm. Increasing the inflorescence length decreased the callus weight per inflorescence when inflorescences longer than 15 mm were used as explant. The highest rate of regeneration (10.860 plantlets per inflorescence) was obtained from the inflorescence with a length of 16-20 mm. Increasing the inflorescence length decreased the regeneration rate when inflorescences longer than 20 mm were used as explant.

It was concluded that inflorescences that are yellowish and 11-20 mm long can be used as explant for the establishment of the embryogenic callus cultures of *Bothriochloa ischaemum*.

Key Words: Yellow bluestem, young inflorescences, inflorescence length, *in vitro* culture.

Giriş

Ülkemizde doğal olarak yetişen sarı sakalotu (*Bothriochloa ischaemum* (L.) Keng) bitkisi; derin köklü, yarı yatık olarak büyüyen, kurağa ve otlamaya dayanıklı bir bitkidir. Kıraç meraların tesisinde başarıyla kullanılır. Sıcak mevsim bitkisi olduğu için yazın büyür ve bu mevsimde hayvanlara yeşil ot sağlar. Bu özellik ülkemiz

için çok önemlidir. Çünkü, ülkemizde yetişen yembitkilerinin çoğunluğu serin iklim bitkisi olup, gelişmelerini yaz başında tamamlarlar. Bu yüzden, sulanmayan kıraç meralarda yazın hayvanların otlayabileceği yeşil ot yoktur. Hayvanlara yaz devresinde de otlayacak yeşil ot sağlamak için sarı sakalotu gibi ülkemizin kıraç şartlarına adapte olabilen sıcak mevsim bitkilerine ihtiyaç vardır (1).

Sarı sakalotu bitkisinde tohum hasadı güç ve çimlenme gücünün düşük olması nedeniyle yetiştirilmesi oldukça zordur. Özellikle elde edilen tohumun safiyetinin düşüklüğü ve temizlenmesinin zorluğu, yetiştiriciliğinde büyük güçlükler doğurmaktadır. Ayrıca, bitkinin apomiktik bir üreme biyolojisine sahip olması, bitkinin arzu edilmeyen karakterlerinin klasik ıslah yöntemi ile ıslahını güçleştirmektedir.

Yakın zamana kadar daha çok model bitkiler üzerinde uygulanan *in vitro* kültür tekniklerinin yembitkileri ıslahında özellikle varyasyon oluşturulması, arzu edilen varyantların selekte edilmesi ve bu varyantların hızlı bir şekilde çoğaltılmasında kullanılabileceği üzerinde durulmaktadır (2). Bu amaçların gerçekleştirilebilmesi için, öncelikle etkin bir eksplantat-farklılaşmamış doku (kallus)-bitki sisteminin incelenen buğdaygil yembitkisi türünde uygulanabilir duruma getirilebilmesi gerekir. Bugüne kadar sürdürülen araştırmalarda çok sayıda buğdaygil yembitkisi türünde rejenerere olabilir kallus elde edilmesi başarılmıştır (3). Ancak, bu araştırmaların bir çoğunda elde edilen rejenerasyon oranları, *in vitro* kültür tekniklerinin pratikte kullanılabilmesine olanak verecek düzeyde değildir.

Eksplantat, genotip, donör bitkilerin fizyolojik durumu, besi ortamının bileşimi ve kültür koşulları gibi bir çok faktör *in vitro* kültürde rejenerasyon oranını etkilemektedir (4). Herhangi bir buğdaygil türünde etkin bir eksplantat-kallus-bitki sisteminin kurulabilmesi için yukarıda sayılan faktörlerin optimize edilmesi gerekmektedir.

Buğdaygil yembitkilerinin *in vitro* kültüründe; genç yapraklar, olgun ve olgunlaşmamış embriyolar ve genç çiçek durumları en sık kullanılan eksplantatlardır. Yapılan araştırmalar, eksplantat olarak kullanılan bitki organlarının kültüre alınmaları sırasındaki gelişme dönemlerinin bu organlardan kallus oluşumunu ve bitki rejenerasyonunu etkileyen en önemli faktörlerden birisi olduğunu ortaya koymuştur (5-7). Bitki organlarının eksplantat olarak optimum kullanıma dönemlerinin saptanmasında değişik ölçütler kullanılmaktadır. Çiçek durumlarının eksplantat olarak kullanıldığı durumlarda çiçek durumunun uzunluğu ölçüt olarak kullanılmaktadır.

Bu araştırma, sarı sakalotu bitkisinin *in vitro* kültüründe eksplantat olarak kullanılacak genç salkımların optimum kültüre alınma uzunluğunu belirleyerek, *in vitro* rejenerasyon oranının artırılması amacıyla sürdürülmüştür.

Materyal ve Metod

Araştırmalar, Çukurova Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü Hücre ve Doku Kültürü Laboratuvarında sürdürülmüştür.

Araştırmada donör bitki materyali olarak, Çukurova Üniversitesi kampüsü içindeki doğal mera alanlarından toplanan ve *in vitro* kültür araştırmalarında kullanılan ve bu araştırmalarda iyi reaksiyon gösterdiği saptanan bir sarı sakalotu ekotipinin *in vitro* kültür yoluyla elde edilen rejeneratları kullanılmıştır.

13x13x13 cm boyutlarındaki saksılara şaşırtılan donör bitkiler araştırma boyunca haftada bir kez %8 N+ %8 P₂O₅ içeren sıvı gübre solüsyonunun %1' lik çözeltisi ile gübrelenmiş ve yeterince sulanarak, sera koşullarında yetiştirilmiştir.

Donör bitkilerde bayrak yaprağı görünme safhasında olan sürgünler kesilmiş ve kesilen sürgünlerin dış yaprakları uzaklaştırılmıştır. Bu sürgünler, içerisinde bir miktar su bulunan ağzı kapaklı cam şişelere yerleştirilmiştir. Bu şişeler bir gece +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Soğuk uygulanan sürgünler steril kabin içerisinde önce % 96'lık alkol ile 2 dakika, daha sonrada % 10'luk sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra sürgünler 4 kez steril destile su ile yıkanmıştır. Sterilize edilen sürgünlerden binoküler altında 2-25 mm boyundaki genç salkımlar çıkartılmıştır. Çıkarılan salkımların boyu binoküler tablası üzerine yerleştirilen bir ölçekten yararlanılarak mm cinsinden ölçülmüştür. Daha sonra, her salkım 60 x15 mm boyutlarındaki steril petri kutusu içindeki katı kallus indüksiyon ortamı üzerine yerleştirilmiştir. Kallus indüksiyon ortamı olarak 8 mg/l Dicamba (3,6 dikloro-2 metoksibenzoik asit) ilave edilmiş ve 10 g/l agar ile katılaştırılmış Linsmaier ve Skoog (8) temel besi (LS-besi ortamı) kullanılmıştır. İçerisinde genç salkımlar bulunan petri kutuları kenarları parafilm ile kapatıldıktan sonra iklim dolabında 25 °C' de karanlık koşullarda inkübe edilmiştir.

4 Haftalık bir inkübasyon süresi sonunda, her petri kutusu içerisinde oluşan kalluslar 0,1 mg hasasiyetli terazi yardımıyla mg olarak tartılmıştır. Tartımı yapılan kallus, bitki rejenerasyonu için rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Rejenerasyon ortamı olarak, oksin (dicamba) içermeyen LS kullanılmıştır. Rejenerasyon ortamına aktarılan kültürler 10 gün süre ile kallus indüksiyon koşullarında muhafaza edilmiştir. Daha sonra kültürler 25 °C sıcaklık, 2000 lüks aydınlatma ve 16/8 saat gündüz-gece ritmi koşullarının sağlandığı iklim odasında muhafaza edilmiştir.

Petri kutuları içerisinde kök ve sürgünlü bitkicikler oluştuktan sonra, her petri kutusu içerisinde oluşan bitkicikler kaydedilmiştir. Sayımı yapılan bitkicikler, içerisinde 30 ml gelişme ortamı bulunan 12,5x 5 cm cam tüplere aktarılmıştır. Gelişme ortamı; LS ortamının içerdiği makro ve mikro element konsantrasyonlarının yarısını içeren bir ortam olup, ayrıca 20 g/l Sakkaroz ve 10 g/l agar içermektedir. Cam tüpler, 25 °C sıcaklık, 2000 lüks aydınlatma ve 16/8 saat gündüz-gece ritmi koşullarında muhafaza edilmiştir. Gelişme tüplerindeki bitkicikler 8-10 cm boya eriştikten sonra 7x7x8 cm saksılara şaşırtılmıştır. Saksılara şaşırtılan bitkiler bir hafta süre ile plastik örtü altında muhafaza edilerek, ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

Araştırmadan elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, eksplantat olarak kullanılan salkımlar 5 farklı uzunluk grubu (2-5 mm, 6-10 mm, 11-15 mm, 16-20 mm ve 21-25 mm) içinde, MSTATC istatistik paket programından yararlanılarak, dört tekrarlamalı tesadüf parselleri deneme desenine göre varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizi uygulanmadan önce, kallus indüksiyon oranı değerlerine Arcsin \sqrt{x} transformasyonu uygulanmıştır. Varyans analizi sonucu önemli çıkan ortalamalar Duncan testine göre gruplandırılmıştır.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

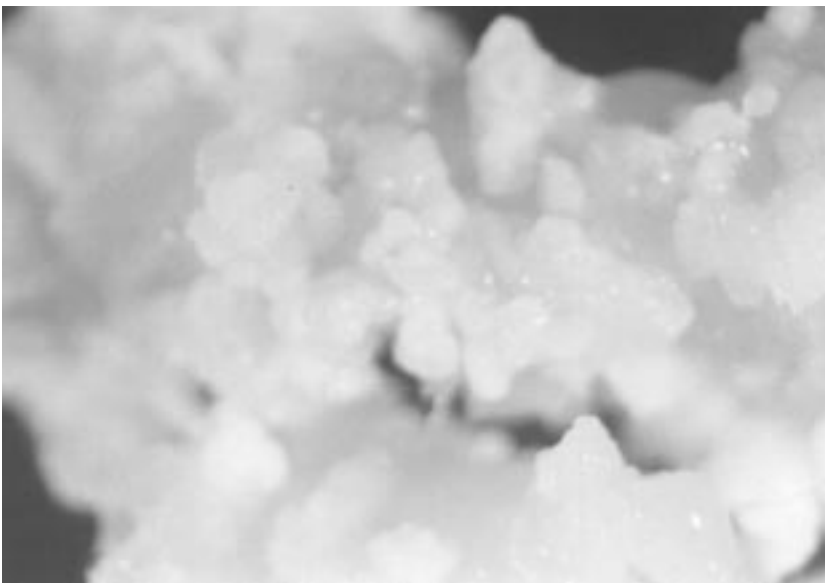
Salkım Uzunluğunun Kallus İndüksiyonuna Etkisi

Kallus indüksiyon ortamına konan salkımlar, kültür başlangıcından bir hafta sonra, salkım eksenlerinin ve çiçek organlarının şişmesi ile kendini göstermiştir. 15.

günde yapılan gözlemlerde; çiçek segmentlerinin ve dış kavuzların uzama gösterdiği, kılıçlarda hafif bir uzamanın meydana geldiği ve çiçek primordialarının belirgin bir şekilde şişkinleştiği izlenmiştir. Ayrıca bazı segmentlerin kesim yerlerinde ve başakçıkların salkım eksenine bağlanma yerlerinde kallus oluşumu gözlenmiştir .

Kültür başlangıcından üç hafta sonra oluşan kalluslarda belirgin bir büyümenin olduğu görülmüştür. 15 gün içinde herhangi bir reaksiyon göstermeyen salkımlar, ilerleyen kültür süresi içinde de reaksiyon göstermeyip kahverengileşip kurumuşlardır. Bu dönemde özellikle 2-5 mm uzunluğundaki ve 20 mm'den daha uzun salkımlardan oluşan kallusun, kompakt yapıda olmadığı, beyaz renkli, formsuz, sulumsu (embriyogenik olmayan) bir yapıda olduğu gözlenmiştir. 20 mm'den daha uzun salkımlarda, kallusun genellikle salkımın uç kısmında oluştuğu ve hızlı bir gelişme göstermediği görülmüştür. Buna karşılık, salkım ekseninde ve özellikle çiçek organlarında oluşan kallusun sarı renkli ve kompakt yapıda olduğu (embriyogenik kallus) gözlenmiştir. Dört haftalık kültür süreci sonunda, kültürlerin büyük bir çoğunluğunun tamamıyla embriyogenik kallus oluşturduğu ve embriyoidlerin belirginleştiği gözlenmiştir (Şekil 1).

Sarı sakalotu bitkisinde meydana gelen kallus indüksiyonu, Metzinger ve ark. (9)' nın aynı bitkinin genç salkımlarıyla sürdürdükleri araştırmalar ile Johnson ve Worthington (10)' nun bu bitkinin olgun tohumlarından hücre süspansiyon kültürü ile elde ettikleri kallus indüksiyon seyri ile uyum içerisinde.



Şekil 1. Sarı sakalotu salkımlarından dört haftalık kültür süresinde oluşan kallus.

Ayrıca, bir çok buğdaygil türünün salkım veya başaklarından kallus indüksiyonunun da benzer şekilde cereyan ettiği saptanmıştır (11-13).

Farklı uzunluk gruplarındaki sarı sakalotu salkımlarının kallus oluşturma oranları ve ortalama kallus ağırlıkları Tablo 1'de gösterilmiştir

Tablo'dan izlendiği gibi, farklı uzunluk gruplarındaki salkımların kallus oluşturma oranları % 20.3 ile % 46.9 arasında değişmiştir. Salkım uzunluğunun 20 mm'ye kadar artması ile kallus indüksiyon oranı da artmıştır. En yüksek kallus oluşum oranı 16-20 mm uzunluğundaki salkımlardan sağlanırken, 11-15 mm uzunluğundaki salkımlardan elde edilen kallus oluşum oranından istatistiksel olarak farksız olmuştur. En düşük kallus oluşum oranı ise, 2-5 mm uzunluğundaki salkımlardan elde edilmiştir. Araştırma sonuçları; sarı sakalotu bitkisinde 11 ile 20 mm uzunluğundaki salkımların kallus oluşturma amacıyla kullanılabilmesini ortaya koymuştur. Chen ve Boe (14), sarı sakalotunun akraba türleri olan *Andropogon* türlerinde 30 mm'ye kadar salkımların *in vitro* kültürde eksplantat olarak kullanılabilmesini bildirmektedirler. Diğer taraftan araştırmada elde edilen kallus indüksiyon oranı değerleri Hatipoğlu, (15)'nin *in vitro* kültürde iyi reaksiyon gösteren tüylü sakalotu bitkisinin salkımlarının 5 mg/l 2,4-D içeren LS besi ortamında kültürü ile elde ettiği kallus oluşum oranı değerlerinin (% 74.4 ile % 92.9) oldukça altındadır. Bu duruma neden olarak; araştırmalar arasındaki tür farklılığı ve indüksiyon ortamında kullanılan oksin çeşidi farklılığı gösterilebilir.

Araştırma sonuçları, en yüksek kallus ağırlığının (111.5 mg/salkım) 11-15 mm uzunluğundaki salkımlardan elde edildiğini göstermiştir (Tablo 1). Ancak, 6-10 ve 16-20 mm boylarındaki salkımlardan oluşan kallus ağırlığından istatistiksel olarak farksız olmuştur. 2-5 mm uzunluğundaki salkımlardan elde edilen kallus ağırlığı 6 ile 20 mm uzunluğundaki salkımlardan elde

edilen kallus ağırlığından daha düşük olurken, en düşük kallus ağırlığı 21-25 mm uzunluğundaki salkımlarda gerçekleşmiştir. Bu sonuçlara göre, kallus ağırlığı açısından 11-15 mm uzunluğundaki salkımların optimum eksplantat olabileceğini göstermektedir. Salkım uzunluğuna bağlı olarak ortaya çıkan kallus ağırlığı ile ilgili bulgularımız Hatipoğlu, (15)'nin tüylü sakalotu bitkisinde farklı salkım uzunluklarına bağlı olarak elde ettiği kallus ağırlığı seyri ile uyum içindedir.

Salkım Uzunluğunun Bitki Rejenerasyonuna Etkisi

Oksin içermeyen rejenerasyon ortamına aktarılan kalluslardaki embriyo benzeri yapılardan karanlık koşullarda 7-10 gün içinde zigotik embriyoya benzer şekilde sürgün ve kök oluşumu gerçekleşmiştir. Sürgün ve kök oluşumundan sonra, kültürler ışıklı ortama aktarıldıklarında 3-4 gün içinde sürgünlerde normal klorofil oluşumu gerçekleşmiş ve sürgünlerde yeşil renk oluşumu gözlenmiştir (Şekil 2).

Farklı uzunluktaki tüylü sakalotu salkımlarından elde edilen *in vitro* rejenerasyon oranı değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo'dan izleneceği gibi en yüksek rejenerasyon oranı (10.86 bitkicik/salkım) 16-20 mm uzunluğundaki salkımlardan sağlanırken, salkım uzunluğu 16-20 mm'den arttıkça veya azaldıkça rejenerasyon oranında da bir azalmanın olduğu görülmüştür. Rejenerasyon oranının salkım uzunluğuna bağlı olarak değişimi ile ilgili bu sonuçlar, Brettel ve ark. (16), George ve Eapen (17) ve Hatipoğlu (15)'nin değişik buğdaygil türlerinde yaptıkları araştırmalarda elde ettikleri sonuçlarla uyum içindedir.

Yapılan gözlemler ve elde edilen ortalama rejenerasyon oranı değerleri dikkate alındığında, açık sarı renkli 16-20 mm uzunluğundaki açık sarı renkli genç salkımların sarı sakalotu türünde embriyogenik kallus oluşturma amacıyla eksplantat olarak kullanılabilmesini ortaya koymuştur.

Salkım Uzunluğu	Kültüre Alınan Salkım Sayısı	Kallus İndüksiyon Oranı	Kallus Ağırlığı
2-5 mm	61	20.3 b	50.99 b*
6-10 mm	65	34.4 ab	94.87 a
11-15 mm	63	43.8 a	111.50 a
16-20 mm	57	46.9 a	93.31 a
21-25 mm	52	29.7 ab	33.89 b

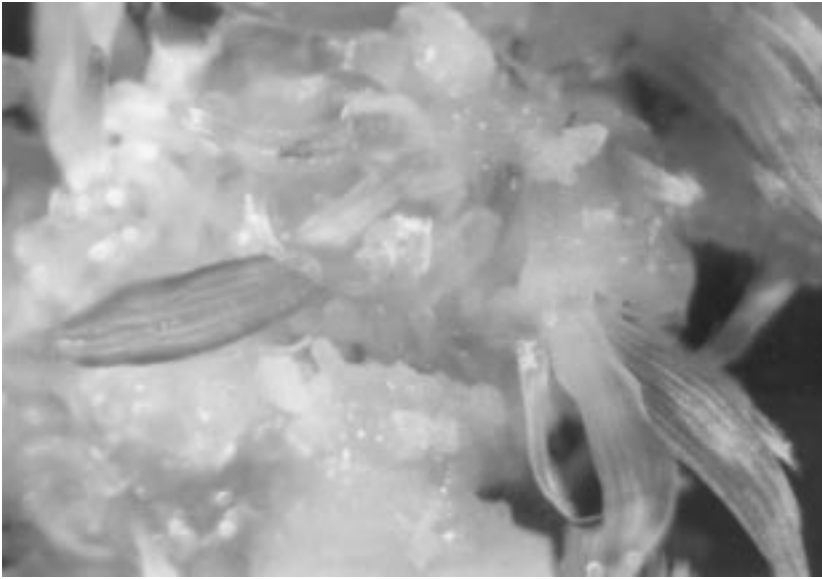
Tablo 1. Sarı Sakalotu Bitkisinde Salkım Uzunluğunun Kallus İndüksiyon Oranına (%) ve Kallus Ağırlığına (mg/salkım) Etkisi.

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

Salkım Uzunluğu	Kültüre Alınan Salkım Sayısı	Rejenarasyon Oranı
2-5 mm	61	0.750 c*
6-10 mm	65	2.531 bc
11-15 mm	63	5.813 b
16-20 mm	57	10.860 a
21-25 mm	52	2.438 bc

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

Tablo 2. Sarı Sakalotu Bitkisinde Salkım Uzunluğunun Rejenarasyon Oranına (bitkicik/salkım) Etkisi.



Şekil 2. Sarı sakalotu salkımlarının in-vitro kültüründen somatik embriyogenesis yoluyla rejenere olan bitkicik.

Kaynaklar

1. Tosun, F., Baklagil ve Buğdaygil Yem Bitkiler Kültürü, Atatürk üniversitesi Yayınları No: 242, Ziraat Fak. Yay. No:123, Ders Kitapları Serisi No: 8, Erzurum, 1974.
2. Ahlowalia, B.J., Forage Grasses. In: Handbook of Plant Cell Culture, Ammirato, P.V.J., Evans, D.A., Sharp, W.R. and Yamada, Y. (Eds), Mc Millian Pub. Comp., New York, London Vol. 3: 91-125, 1984.
3. Vasil, I.K., Vasil, V., Regeneration in Cereal and Other Grass Species. In: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vasil, I.K (Ed.), Academic Press, Inc. Vol. 3: 121-150, 1986.
4. Lörz, H., Gobel, E., Brown, P., Advances in Tissue Culture and Progress towards Genetic Transformation of Cereals. Plant Breeding, 100: 1-25 (1988).
5. Dale, P.J., Dalton, S.J., Immature Inflorescence Culture in Lolium, Festuca, Phleum and Dactylis. Z. Pflanzenphysiol. 111:39-45, 1983.
6. Boyes, C.J., Vasil, I.K., Plant Regeneration by Somatic Embryogenesis from Cultured Young Inflorescences of Sorghum arundinaceum (Desv) Stapf var. Sudanense (Sudan Grass). Plant Sci. Lett. 35:153-157, 1984.
7. Ahn, B.J., Huang, F.H., King, J.W., Plant Regeneration through Somatic Embryogenesis in Common Bermudagrass Tissue Culture. Crop. Sci. 25: 1107-1109, 1985.
8. Linsmaier, E.M., Skoog, F., Organic Growth Factor Requirements of Tobacco Tissue Culture. Physiol. Plant. 18:100-127,1965.
9. Metzinger, B.D., Taliefferro, C.M., Johnson, B.B., Mitchell Jr. E. D., In Vitro Regeneration of Apomictic Bluestem Grasses. Plant Cell Tiss. Org. Cult.: 10,1, 31-38, 1987.
10. Johnson, B.B., Worthington, M., Establishment of Suspension Culture from Seeds of Plains Bluestem (Bothriochloa ischaemum (L.) Keng) and Regeneration of Plants via Somatic Embryogenesis. Journal of the Tissue Culture Association V. 23 (11) P. 783-788, 1987.

11. Wang, D.Y., Yan, K., Somatic Embryogenesis in *Echinochloa crusgalli*, Plant Cell Rep. 3:88-90, 1984.
12. Rhodes, C., Green, C.E., Phillips, R.L., Factors Affecting Tissue Culture Initiation from Maize tassels. Plant Sci.46:225-232, 1986.
13. Pareddy, D.R., Petolino, J.F., Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Immature Inflorescences of Several Elite Inbreds of Maize. Plant Sci. 67: 211-219, 1990.
14. Chen, C.H., Boe, A.A., Big Bluestem (*Andropogon gerardi* Vitman), Little Bluestem (*Schizachyrium scoparium* (Michx.) Nash) and Indiangrass (*Sorghastrum nutans* (L.) Nash). In: Biotechnology in Agriculture Forestry Vol. 9, Crops II, pp:445-457, Bajaj, Y.P.S. (ed.). Springer Verlag, Berlin, 1988.
15. Hatipoğlu, R., Tüylü Sakalotu (*Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf) Genç Salkımlarının İn-Vitro Kültüründe Salkım Uzunluğunun Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Etkisi Ç.Ü.Z.F. Dergisi 7, (3): 153-166, 1992.
16. Brettel, R.I.S., Wernicke, W., Thomas, E., Embryogenesis from Cultured Immature Inflorescences of *Sorghum bicolor*. Protoplasma 104: 141-148, 1980.
17. George, L., Eapen, S., High Frequency Plant Regeneration through Direct Shoot Development and Somatic Embryogenesis from Immature Inflorescence Cultures of Finger Millet (*Eleusine coracana* Gaertn). Euphytica 48: 269-274, 1990.