

Türlerarası Melezleme Yoluyla Lahana Kök Uru (*Plasmiodiophora brassicae* Woronin)'na Karşı Dayanıklı Hatların Geliştirilmesinde Embriyo Kültür Tekniğinin Kullanım İmkani

Orhan KURT

Ayten DEMİR

**Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Ziraat Fakültesi,
Tarla Bitkileri Bölümü 55139 Atakum, Samsun / TURKEY**

* Corresponding author (Sorumlu yazar): orhank@omu.edu.tr

Received (Geliş tarihi): 28.06.2017 Accepted (Kabul tarihi): 26.01.2018

ÖZ: Bu araştırma Ondokuz Mayıs Üniversitesi'nde 2010 ve 2014 yılları arasında yürütülmüştür. Lahana kök ur hastalığına (*Plasmiodiophora brassicae*) karşı dayanıklı hatların *B. oleracea* L. ve *B. rapa* L. arasında türlerarası melezleme yoluyla geliştirilmesi amacıyla yapılan bu çalışmada; *B. oleracea* L. var. Dürme ve ECD-1, ECD-2, ECD-3 ve ECD-4 olmak üzere *B. rapa* L. hatları arasında 831 çiçek melezlenmiştir. Bu melezlemeden oluşan 2663 primitif embriyo besi ortamına aktarılmıştır. Besi ortamına aktarılan embriyolardan toplam 813 adet haploid ve 348 adet double haploid melez bitki elde edilmiştir. Elde edilen double haploid bitkilerden vernalizasyon sonrası toplam 162 bitki sera koşullarına aktarılmış ve çiçeklenme periyodunda kendileme yapılmıştır. DurmexECD-4 melez kombinasyonuna ait 8 melez bitkiden toplam 293 tohum elde edilmiştir. Kök ur hastalığına dayanıklılık durumunu test etmek amacıyla, elde edilen tohumlar ekilerek 95 melez double haploid bitki yetiştirilmiştir. Testleme sonrası lahana kök ur hastalığına dayanıklılık gösteren 33 bitkiden oluşan bir gen havuzu oluşturulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Lahana kök uru hastalığı, *Plasmiodiophora brassicae*, türlerarası melezleme, embriyo kültürü.

Possibility of the Use of Embryo Culture Technique to Improve Resistant Lines Against Cabbage Clubroot (*Plasmiodiophora brassicae* Woronin) via Interspecific Hybridization

ABSTRACT: This research was carried out at Ondokuz Mayıs University between 2010 and 2014. Breeding of resistant lines against to clubroot (*Plasmiodiophora brassicae*) via interspecific hybridisation between *B. oleracea* L. and *B. rapa* L. In these research; 831 flowers were hybridised between *B. oleracea* L. var. Dürme and *B. rapa* L. Lines ECD-1, ECD-2, ECD-3 and ECD-4. 2663 primitif embryos were transferred to medium and produced 813 haploid and 348 double haploid plants. 162 double haploid plants transferred green condition after vernalisation and self crossing was done in flowering condition. 293 seeds were harvested from 8 hybrid plants from DurmexECD-4 hybrid combination. In order to test the endurance status of cabbage clubroot disease, 95 hybrid double-haploid plants were cultivated by seeding the obtained seeds. After the test, a gene pool was formed, consisting of 33 plants that tolerate cabbage root disease

Keywords: Cabbage clubroot disease, *Plasmiodiophora brassicae*, interspecific hybridization, embryo culture.

GİRİŞ

Brassicaceae familyası kültür bitkileri, süs bitkileri ve yabancı otlardan oluşan yaklaşık 375 cins ve 3200 türü kapsayan çok geniş bir familyadır.

Brassica cinsi içerisinde yaklaşık 159 tür olmasına karşın ekonomik öneme sahip tür sayısı sadece 13 (Zhou and Zhang, 2001)'tür. Bu türler; *B. carinata* (Habeş hardalı), *B. elongata* (uzun şalgam),

B. fruticulosa (Akdeniz lahanası), *B. juncea* (Hint hardalı), *B. napus* (kolza, kanola, İsveç şalgamı), *B. narinosa* (kaşık hardalı), *B. nigra* (siyah-kara hardal), *B. perviridis* (ıspanaklı hardal), *B. rupestris* (kahverengi hardal), *B. septiceps* (yeditop şalgam), *B. tournefortii* (Asya hardalı), *B. oleracea* (lahana, brokoli, karnabahar, Brüksel lahanası) ve *B. rapa syn B. campestris* (Çin lahanası, şalgam)'dır (Anonymous, 2011).

Dünya lahanası üretimi yaklaşık 71 milyon tondur (Anonymous, 2013). Türkiye beyaz baş lahanası üretimi ise yaklaşık 493 bin tondur. Karadeniz Bölgesi, 115 bin ton üretim ile Türkiye beyaz baş lahanası üretiminin yaklaşık % 23,3'üne sahiptir (Anonim, 2014a). Karadeniz bölgesinde Samsun ili 92.68 bin ton üretim ile Türkiye beyaz baş lahanası üretiminin % 18,8'ine sahiptir (Anonymous, 2013; Anonim, 2014a). Ancak Karadeniz Bölgesi'nde lahanası üretim potansiyeli daha fazladır. Bu potansiyele ulaşılmasını kısıtlayan etkenlerden birisi de lahanası kök-uru hastalığıdır (Anonim, 1995; 2005; 2014b).

Lahanası kök uru drenaj suyu, hareket halindeki hayvanlar, bulaşık toprak-alet-ekipman, hastalıklı fide, bitki ve bitki atıkları ile yayılmaktadır (Walker, 1952). Yayılım kaynaklarının çeşitliliği dikkate alındığında, bu hastalığın, yakın bir gelecekte, Karadeniz Bölgesi'nde beyaz baş lahanası yetiştiriciliğini sınırlandıracak önemli bir tehlike olacağını söylemek mümkündür.

Hastalıklarla etkili mücadele açısından en sağlıklı ve etkili yöntem, mukavim çeşit geliştirmektir. Mukavim çeşit geliştirmede yapılacak ilk iş; mukavemet genlerini taşıyan gen havuzundan, hassasiyetin bulunduğu gen havuzuna, geleneksel ya da biyoteknolojik yöntemler kullanılarak gen ya da genlerin aktarılmasıdır (Kurt, 2015).

Beyaz baş lahanasının içinde yer aldığı *B. oleracea* L. türünün gen havuzunda, lahanası kök-uru hastalığına dayanıklılık sağlayan gen/genler yoktur. *B. oleracea* L. türünün akrabası olan, *B. rapa* L. (şalgam) gen havuzunda ise lahanası kök-uru hastalığına dayanıklılık arz eden genler bulunmaktadır.

Dolayısıyla bu iki tür arasında yapılacak türler arası melezlemeler ile lahanası kök-uru hastalığına (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) dayanıklılık genlerinin şalgam hatlarından, beyaz baş lahanası hatlarına/çeşitlerine aktarılması mümkün olabilir.

Farklı kromozom sayısı ve farklı genoma sahip bu iki tür arasında yapılacak türlerarası melezlemeler sonucu oluşacak F1 döllerini normal olarak haploid ve kısır dırlar. Ancak F1 generasyonunda oluşacak primitif embriyolar, belirli bir fizyolojik olgunluk döneminde (yaklaşık 8-15 günlük), embriyo kurtarma tekniği ile besi ortamında kültüre alınmaları halinde, düşük frekansta da olsa fertil döller oluşturabilirler. Brassica türleri arasında yapılan melezlemelerden sağlıklı double haploid döllerin elde edilebilmesine ilişkin protokol Kurt ve ark. (2010) tarafından ortaya konmuştur.

Bu çalışmanın amacıyla; Lahanası kök-uru hastalığının Karadeniz Bölgesi'nde tespit edilen "ECD 16/31/31" irkına karşı dayanıklı olduğu tespit edilen bazı şalgam türleri (*Brassica rapa* var rapifera line aaBBCC, line AabbCC, line AABBcc ve line AABBCC) ile kök-uru hastalığına hassas olduğu bilinen beyaz baş lahanası çeşidi "Dürme" arasında melezleme yaptıktan sonra oluşacak primitif embriyolardan double haploid melez bitkilerin elde edilmesinde embriyo kültürünün (embriyo kurtarma tekniği) kullanım potansiyelini belirlemektir. Nihai hedef olarak da embriyo kültür tekniğinin başarılı olması durumunda lahanası kök uruna karşı muhavemet özelliği taşıyan genleri bünyesinde barındıran double haploid türler arası melez genotiplerden bitkilerden bir gen havuzu oluşturmaktır.

MATERYAL VE METOT

MATERYAL

Araştırmada; bitki materyali olarak Brassica familyasında yer alan lahanası kök-uru hastalığına (*Plasmodiophora brassicae* Woronin) mukavim 4 şalgam hattı (ECD-01-02-03-04) ve lahanası kök-uru hastalığına karşı aşırı hassas 1 adet beyazbaş lahanası çeşidi (Dürme) kullanılmıştır. Testlemede;

DXECD-04 melez kombinasyonun 8 farklı melez bitkisinden 210 tohum testlemede kullanılmıştır. Araştırmada; çimlendirme, yetiştirme ve tarla koşulları olmak üzere farklı nitelikte toprak kullanılmıştır. *In vitro* kuşullarda embriyo kültüründe MS5519 (Murashige and Skoog, 1962), sürgün gelişimi ortamı (0,1 mg/l IAA ve 0,5 mg/l BAP ihtiva eden MSD4 besi ortamı), kök gelişim ortamı (0,1 mg/l IAA ihtiva eden MSD4 besi ortamı), testlemede; steril bitkilerin yetiştirilmesinde 0,1 mg/l IAA ihtiva eden MSD4 ortamı, testlemede 10 ml içerisinde; 10^{+7} spor yoğunluğuna sahip Ordu-Kabadüz spor kültürü kullanılmıştır.

METOT

Laboratuvar koşullarında, her bir ebeveyn genotip, 3 hafta ara ile olmak üzere, altı farklı ekim zamanında, viollere, her violde 1 bitki ve toplam her genotip 12 bitki olacak şekilde ekilmiştir. Çıkiştan 1 hafta sonra, sağlıklı fideler 4 numaralı saksılara şaşırtıldıktan sonra sera koşullarına aktarılmışlardır. Sera koşullarında 10-12 yapraklı döneme ulaşan bitkiler vernalizasyon ihtiyaçlarının karşılanması amacıyla iklimlendirme odasına aktarılıp, 3 ay süre ile vernalize edildikten sonra tekrar sera aktarılmıştır.

Sera koşullarında melezleme olgunluğuna gelen çiçek tomurcuklarında, ana ebeveyn olarak dürme çeşidi ve baba ebeveyn olarak şalgam hatları olmak üzere melezlemeler yapılmıştır. Melezlemeden 10-15 gün sonra tohum tutan harnuplar izole edilerek laboratuvar koşullarına aktarılmış ve sterilize edilen harnuplardan tohum taslakları, steril kabinde, binoküler mikroskop altında çıkarılıp, besi ortamına aktarılıp, 25 °C sıcaklık, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ihtiva eden iklim odasına aktarılmışlardır. Besi ortamında embriyolardan farklılaşmanın gözlenmesinden birkaç gün sonra oluşan primitif bitkicikler sürgün ortamına aktarılarak gelişmeleri teşvik edilmiştir. Besi ortamında belirli bir büyüklüğe ulaşan primitif sürgünler, kök gelişim ortamına aktarılmışlardır. Köklendirme ortamında 3-4 yapraklı ve saçak kök oluşumunu tamamlayan haploid bitkiler, steril suya alınarak köklerindeki agar ve diğer kimyasal maddeler temizlendikten

sonra % 0,05'lik Kolcisin çözeltilisinde 1 gece, karanlık ortamda, bekletilerek katlanmışlardır. Katlama sonrası sera koşullarına aktarılan double haploid bitkiler, 10-12 yaprak ihtiva eden büyüklüğe ulaştıklarında +4°C'de 3 aylık bir süre ile vernalizasyon odasına alınmışlardır. Vernalize olan bitkiler, gelişmelerinin diğer bölümünü tamamlamaları ve çiçeklenme döneminde kendilenmelerini sağlamak amacıyla tekrar sera koşullarına aktarılmışlardır. İzolasyon poşeti içerisinde açan çiçeklerde kendilemeler yapılmış ve tohum bağlayan harnuplar olgunlaştıklarında hasat ve harman edildikten sonra tohumlar testlemede kullanılmak üzere +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

Hastalık testlemede elde edilen DXECD-04 melez kombinasyonuna ait 8 melez bitkinin tohumları, 5 farklı zamanda, besi ortamına ekilmiştir. Çimlenen bitkicikler, testlemeye kadar gelişmelerini tamamlamaları için iklim odasına aktarılmışlardır. Köklenmesini tamamlamış, doku kültüründen gelen double haploid melez bitkiler steril kabinde çıkarılıp, steril suyla kökleri iyice yıkıp, kurulandıktan sonra spor aşılması yapılmış saksılara şaşırtılmıştır. Şaşırtma sonra bitkiler iki hafta laboratuvar ortamında bekletildikten sonra açık alana alınmışlardır. Toprağa fidelerin şaşırtılmasından yaklaşık 70 gün sonra lahana kökleri incelenerek, hastalık okumaları Port ve ark. (2003)'a göre yapılmıştır. Yapılan hastalık okumalarına göre double haploid bitkiler ve kontrol çeşiti için 0=dayanıklı, 1=hassas, 2=hassas, 3=hassas şekilde reaksiyon kategorisi oluşturulmuştur.

BULGULAR

Mezlenen tomurcuk sayısı

Araştırmalarda ebeveyn bitkiler arasında yapılan melezlemelerde kullanılan çiçek tomurcuğu sayılarına ilişkin veriler Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelge 1'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi bütün kombinasyonlarda toplam 831 çiçek tomurcuğu mezlenmiştir. Kombinasyon bazında değerlendirildiğinde; DXECD-01 kombinasyo-

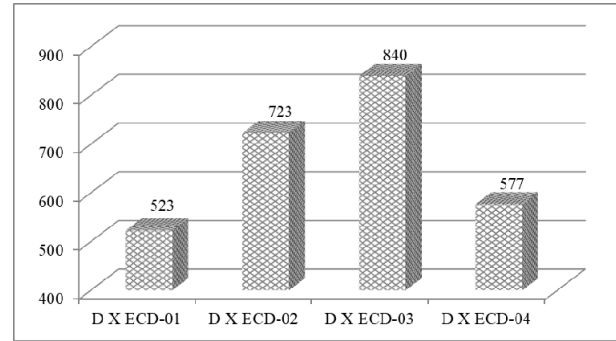
nundan 242, DXECD-02 kombinasyonundan 234, DXECD-03 kombinasyonundan 237 ve DXECD-04 kombinasyonundan 118 çiçek tomurcuğu melezlenmiştir.

Besi ortamına ekilen embriyo sayısı

Besi ortamına ekilen embriyo sayılarına ilişkin veriler Çizelge 1'de, besi ortamına ekilen embriyoların kombinasyonlara göre dağılımları ise Şekil 1a'da verilmiştir. Çizelge 1'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi toplam 2.663 embriyo besi ortamına ekilmiştir. Besi ortamına ekilen embriyolar kombinasyonlar bazında değerlendirildiğinde; DxECD-01 kombinasyonundan 523, DxECD-02 kombinasyonundan 723, DxECD-03 kombinasyonundan 840 ve DxECD-04 kombinasyonundan 577 embriyo besi ortamına ekilmiştir (Çizelge 1; Şekil 1a).

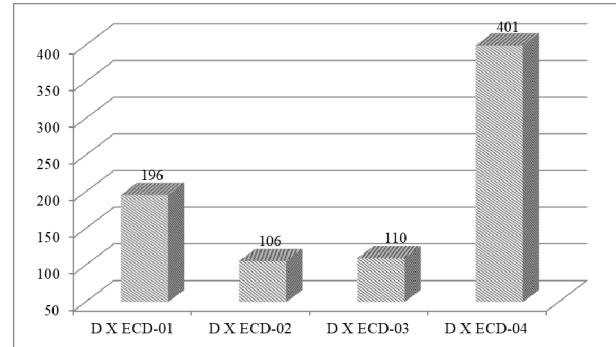
Haploid bitki sayısı

Araştırma sonucu elde edilen haploid bitki sayılarına ilişkin veriler Çizelge 1'de ve haploid bitki sayılarının melez kombinasyonlara göre dağılımı Şekil 1b'de verilmiştir. Çizelge 1 ve Şekil 1b'nin incelenmesinden de anlaşılacağı gibi toplam 813 haploid bitki elde edilmiştir. Elde edilen haploid bitkilerin kombinasyonlar bazında değerlendirildiğinde; DXECD-01 kombinasyonundan 196, DXECD-02 kombinasyonundan 106, DXECD-03 kombinasyonundan 110 ve DXECD-04 kombinasyonundan 401 haploid bitki elde edilmiştir (Çizelge 1; Şekil 1b).



Şekil 1a. Besi ortamına ekilen embriyo sayılarının melez kombinasyonlara göre dağılımı.

Figure 1a. Distribution of embryo numbers of hybrid combinations transferred to medium.



Şekil 1b. Haploid bitki sayılarının melez kombinasyonlara göre dağılımı.

Figure 1b. Distribution of haploid plant numbers of hybrid combinations.

Çizelge 1. Melezlenen tomurcak sayısı, kültüre alınan embriyo sayısı, elde edilen haploid bitki sayısı, hasat edilen double haploid tohum sayısı, testlemeye alınan F2 bitki sayısı ve dayanıklı bitki sayısına ilişkin veriler.

Table 1. The number of hybridized flowers, the number of embryos cultured, the number of haploid plants obtained, the number of double haploid seeds harvested and the number of F2 plants tested and the test results.

Melezleme kombinasyonları	Melezlenen tomurcuk sayısı (adet)	Kültüre alınan embriyo sayısı (adet)	Oluşan haploid bitki sayısı (adet)	Hasat edilen double haploid tohum sayısı (adet)	Test edilen F2 bitki sayısı (adet)	Dayanıklı bitki sayısı (adet)
Hybridization combinations	Number of hybridized flowers (number)	Number of embryos cultured (number)	Number of haploid plants obtained (number)	Number of double haploid seeds harvested (number)	Number of F2 Plants tested (number)	Number of resistant plants (number)
DXECD-01	242	523	196	-	-	-
DXECD-02	234	723	106	-	-	-
DXECD-03	237	840	110	-	-	-
DXECD-04	118	577	401	293	33	33
Toplam	831	2663	813	293	33	33

Double haploid tohum sayısı ve mukavim bitki sayısı

Hasat edilen double haploid melez kombinasyonlara ait tohum sayılarına ilişkin veriler Çizelge 1’de verilmiştir. Çizelge 1’in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi kendileme sonrası fizyolojik olgunluğunu tamamlamış olan DXECD-04 melez kombinasyonuna ait 8 melez bitkisinden toplam 293 adet tohum elde edilmiştir. Elde edilen bu tohumların *in vitro* koşullarda ekilmesi sonucu elde edilen fidelerde, yapılan testleme sonucu, 33 adet fidenin lahana kök-uru hastalığına karşı toleransa sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 1).

TARTIŞMA

B. oleracea ve *B. rapa* türleri arasında melezleme yapıldığında fertil döllerin elde edilme şansı, kromozom sayılarının ve genomların farklı olması sebebiyle genetik olarak sıfırdır. Dolayısıyla hücre bölünmesi esnasında gametlerin eşlerini bularak eş oluşturma şansı olmadığından oluşacak dölleri kısırdır. Türler arasındaki melezlemelerde fertil döl elde etme şansının; dokusal uyumun ve akrabalık seviyesinin artması ile artmakta, azalması ile de azalmaktadır (Kurt, 2015). Araştırmada; 4 şalgam hattı ve 1 lahana çeşidi arasında 4 kombinasyonu (DxECD-01, DxECD-02, DxECD-03 ve DxECD-04) kapsamayacak biçimde melezleme yapmak amacıyla 831 adet çiçek tozlanmıştır. Bitkilerin melezlenmesinde başarı oranı; yetiştirme tekniği paketi uygulamalarına, çevresel faktörlere ve genotipe bağlı olarak değişir. Bu nedenle bu araştırmada kullanılan hatların genetik olarak sahip oldukları zorluklar göz önünde bulundurularak, çevre faktörleri optimal düzeyde tutulması için bitkiler, sıcaklık ve fotoperiyot bakımından kontrollü sera koşullarında yetiştirilerek, çevre koşullarının etkisi minimize edilmeye çalışılmıştır.

Araştırmada embriyo kültürü yapmak üzere fizyolojik yaşı 10-12 gün olan tohum taslakları besi ortamında kültüre alınmıştır. Besi ortamına ekilen tohum taslaklarının şalgam ve lahana melez kombinasyonuna ait olması, melezin bu iki türün

özelliklerini bünyesinde barındırıyor olması, bitkicik oluşumundaki başarı üzerine hem olumlu hem de olumsuz etki etmiş olabilir. Embriyo kültüründe ana hedef maksimum sayıda sağlıklı ve fertil bitkiler elde etmektir. Şalgam ve lahana hatları arasında yapılan melezlemelerden oluşan melez harnuplardaki tohum taslaklarından toplam 813 adet haploid melez bitki elde edilmiştir. Besi ortamına ekilen embriyo başına bitki oluşum oranı % 30.5 gibi oldukça yüksek bir oranda gerçekleşmiştir. Elde edilen bu sonuç üzerinde birinci derecede genotip faktörü rol oynamıştır. Kültüre alınan embriyoların rejenerasyon yeteneği üzerine, genotipin etkili olduğunu daha önce yapılan çeşitli çalışmalarda ortaya konmuştur (Hanzel ve ark., 1985; Can ve ark., 2000), genotiplerin somatik embriyo üretim kapasitesi açısından farklılık arz ettikleri ve yüksek embriyojenik kapasiteli genotiplerde, bitkiye dönüşüm oranının da yüksek olduğu saptanmıştır (Brown ve Atanasov, 1985).

B. oleracea ile *B. rapa* arasında yapılan melezlemelerden oluşan haploid bitkilerin *in vitro* koşullardan çıktıktan sonra kolchisin ile muamele edilmeleri sayesinde AC şeklinde (amphihaploid) olan genomlarının AACC (amphidiploid) şekline ulaşması sayesinde tohum bağladıkları dolayısıyla bu tohumlar bünyelerinde şalgam ve lahana genomlarını birlikte taşırlar. Nitekim melez bitkilerin morfolojik yapıları incelendiğinde; lahana gibi uzun ve dik saplı ve seyrek boğum arasına, şalgam gibi yaprak kenarlarının dişli, yaprak yüzeyinin tüylü, yaprakların sert olduğu gözlenmiştir. Birçok seleksiyon ıslah çalışmasında bu tip karakterlerin göz önünde bulundurulması sayesinde bitki çeşitleri geliştirilmiştir. Dolayısıyla geleneksel ıslah yöntemleri ile kombine edilen embriyo kültür tekniği sayesinde, lahana kök uru hastalığına karşı dayanıklı melez bitkilerden oluşan bir gen havuzu elde edilmiştir.

Oluşturulan gen havuzundaki tohumların, kök uru hastalığına karşı dayanıklılık geni taşıyıp taşımadıklarını belirlemek amacıyla, kontrollü koşullarda ters yapılmış ve bu tohumların

ekilmesinden elde edilen 33 double haploid kendilenmiş fidenin, kök uru hastalığına karşı dayanıklılık gen/genleri taşıdıkları belirlenmiştir. Melezlemelerde Mendel kuralları dikkate alındığında bu sonuç, teorik olarak da beklenen bir sonuçtur. Diğer taraftan şalgam ve lahana türlerinin genomlarının ve kromozom sayılarının farklı olmasına rağmen fertil döllerin elde edilmiş olması, gen havuzundaki bitkilerin lahana kök uru hastalığına karşı dayanıklılık genlerini taşıyabileceği ön görüşünü de birkez daha teyid etmektedir.

REFERENCES

- Anonim. 1995. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ziraî Mücadele Teknik Talimatları. Cilt 2. Ankara.
- Anonim. 2005. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2005 Yılı Bitki Koruma Programı ve Uygulama Prensipleri. Ankara.
- Anonim. 2014a. Tarımsal Yapı ve Üretim. www.tuik.gov.tr (erişim 23.06.2017).
- Anonim. 2014b. Lahana Kök-uru Hastalığı. Tarım ve Ziraat Bilgi Bankası. Tarım Ziraat.com.
- Anonymous. 2011. <http://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Brassica&oldid> (erişim 03.02.2017).
- Anonymous. 2013. <http://www.Fao.org/statistics/databases/en/> (erişim 23.06.2017).
- Brown, D. C. W., and A. Atanassov. 1985. Role of Genetic Background in Somatic Embryogenesis in Medicago. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 4: 111-122.
- Can, E., N. Çelikleş ve R. Hatipoğlu. 2000. Adi Yalancıları (*Paspalum dilatatum* Poir.) Bitkisinin Genç Salkımlarından Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonuna Genotip ve 2,4-D Konsantrasyonunun Etkileri Üzerine Bir Araştırma. *Turk J. Agric For*, 24: 113-119. TÜBİTAK.
- Hanzel, J. J., P. Miller., M. A. Brinkman, and E. Fendos. 1985. Genotype and Media Effects on Callus Formation and Regeneration in Barley. *Crop Science* 25: 27-31.
- Kurt, O., H. Uysal., A. Demir ve R. Kılınç. 2010. Embriyo Kültürü ile Yemelik Yağ Kalitesi Yüksek Keten (*L. Usitatissimum* L.) Çeşitlerinin Geliştirilmesi Üzerinde Bir Araştırma. Uluslar arası Katılımlı 20. Ulusal Biyoloji Kongresi. 21-25 Haziran. Denizli.
- Kurt, O. 2015. Bitki Islahı. OMU, Ziraat Fakültesi Yayınları, Ders kitabı No: 43 (5. Basım).
- Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Plantarum* 15: 473-497.
- Porth, G., F. Mangan., R. Wick, and W. Autio. 2003. Evaluation of Management Strategies For Clubroot Disease of Brassicae Crops. *Vegetable Notes*. March 2003. Volume 13, No:25 University of Massachusetts, Amherst MA (http://www.umassvegetable.org/newsletters/archive/2003/2003_03.pdf).
- Walker, J. C. 1952. *Diseases of Vegetable Crops*. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York. Toronto. London.
- Zhou, W. J., and L. W. Zhang. 2001. Oilseed rape. pp.78-95. *In: Wu J. L., Zhang G. P. (Eds.), Seed Production and Quality Control in Crops*, Zhejiang University Press, Hangzhou, China.