ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice TOĞAÇ

ANTER KÜLTÜRÜNDE GENOTİP, BESİORTAMI VE OKSİN ÇEŞİDİNİN BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) HAPLOİD BİTKİ REJENERASYONUNA ETKİSİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2014

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTİSÜ

ANTER KÜLTÜRÜNDE GENOTİP, BESİORTAMI VE OKSİN ÇEŞİDİNİN BUĞDAYDA (*TRİTİCUM AESTİVUM* L.) HAPLOİD BİTKİ REJENERASYONUNA ETKİSİ

Hatice TOĞAÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 27/01/2014 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

……	……..	…….
Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU	Prof. Dr. Hakan ÖZKAN	Yrd. Doç. Dr. Faheem Shehzad BALOCH
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof. Dr. Mustafa GÖK
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANTER KÜLTÜRÜNDE GENOTİP, BESİORTAMI VE OKSİN ÇEŞİDİNİN BUĞDAYDA (*Triticum aestivum* L.) HAPLOİD BİTKİ REJENERASYONUNA ETKİSİ

Hatice TOĞAÇ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU
Yıl: 2014, Sayfa: 67
Jüri : Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU
: Prof. Dr. Hakan ÖZKAN
: Yrd. Doç. Dr. Faheem Shehzad BALOCH

Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) anter kültüründe, genotip, besi ortamı ve oksin çeşidinin haploid bitki üretimine etkisini saptamak amacıyla yürütülen bu araştırmada, üç farklı oksin çeşidinden (2,4-D, Dicamba, Picloram) birisinin 2 mg/l konsantrasyonunu içeren iki farklı besi ortamında (P2 ve N6) kültüre alınan 8 ekmeklik buğday çeşidi ve 1 ekmeklik buğday hattı ile bunlara ait 8 F_1 melezinin anterlerinde, reaksiyon gösteren anter oranı, 100 anter başına rejenere olan bitki sayısı, yeşil bitki sayısı ve albino bitki sayısı saptanmıştır.

Araştırma sonuçları, genotipin anterlerden haploid bitki rejenerasyonunu etkileyen en önemli faktör olduğunu ortaya koymuştur. Araştırmada, anter reaksiyon oranı ortalaması % 2.6 olarak saptanmıştır. Besi ortamı ve oksin çeşidinin anter reaksiyon oranı üzerinde direkt etkileri olmamasına karşılık, besi ortamı x oksin ve besi ortamı x genotip interaksiyonları ve genotipin anter reaksiyon oranını önemli derecede etkilediği ortaya çıkmıştır.

Yüz anter başına ortalama bitki rejenerasyon oranı 1.7, yeşil bitki rejenerasyon oranı 0.8 ve albino bitki rejenerasyon oranı 1 olarak saptanmıştır. Dicamba veya picloram içeren ortamlarda 2,4-D içeren ortamlara göre daha yüksek bitki ve yeşil bitki rejenerasyon oranı elde edilmiştir. Esperial x 1013 melezi anterleri dicamba veya picloram içeren P2 ortamında, Bologna ve Alora çeşitlerinin anterleri ise dicamba içeren N6 ortamında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonları göre daha yüksek bitki rejenerasyon oranı ve yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermişler, diğer genotiplerin bitki rejenerasyon oranı ve yeşil bitki rejenerasyon oranı besi ortamı x oksin kombinasyonuna bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermemiştir. Albino bitki rejenerasyon oranını genotip, besi ortamı ve oksin çeşidi önemli derecede etkilememiştir.

Araştırmadan elde edilen bulgulara dayanarak, ekmeklik buğday ıslah programlarında anter kültüründen etkin bir şekilde yararlanabilmek için, ıslah programında yer alan her genotip için uygun besi ortamı ve oksin çeşidinin saptanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Ekmeklik Buğday, Anter kültürü, Genotip, Besi ortamı, Oksin

ABSTRACT

MSc THESIS

EFFECT OF GENOTYPE, MEDIUM AND AUXIN ON HAPLOID PLANT REGENERATION FROM ANTHERS OF BREAD WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

Hatice TOĞAÇ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU
Year : 2014, Pages: 67
Jury : Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU
: Prof. Dr. Hakan ÖZKAN
: Asst. Prof. Dr. Faheem Shehzad BALOCH

This study was conducted to determine the effects genotype, medium and auxin kind on the haploid plant regeneration in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture.

In the study, the spikes from the plants of 8 bread wheat cultivars, one bread wheat line and 8 F1 hybrids of them were cultured on the two different media (P2 and N6) containing 2 mg/l of one of the three different auxins (2,4-D, dicamba and picloram). In the experiment, percentage of anthers produced callus or embryoid, numbers of regenerated plants, green plants as well as albino plants were determined.

Results of the study showed that genotype was most important factor affecting plant regeneration from anthers of wheat. In the experiment, the averaged percentage of responding anthers forming callus or embryoid was determined as 2.6 %. The responding anthers percentage was significantly influenced by genotype and interactions of medium x auxin and medium x genotype while medium and kind of auxin did not directly affect the responding anther percentage.

The averaged numbers of regenerated plants and green plants as well as albino plants per 100 cultured anthers were determined as 1.7, 0.8 and 1, respectively. The anthers cultured on the medium with dicamba or picloram showed significantly higher ratios of plant and green plant regeneration than those cultured on the medium with 2,4-D. The anthers of F1 hybrid Esperial x 1013 gave higher ratios of plant and green plant regeneration on the P2 medium with dicamba or picloram than on the other combinations of medium and auxin. On the other hand, anthers of the cultivars Bologna and Alora showed higher ratios of plant and green plant regeneration on the N6 medium with dicamba than the other combinations of medium and auxin. None of the combinations of the medium and auxin resulted in significantly changing in the ratios of plant and green plant regeneration of other genotypes tested. The ratio of albino plant regeneration was not significantly influenced by genotype, medium and kind of auxin. From the results of study, it was concluded that in order to effectively exploit the anther culture in the breeding program of wheat, medium and kind of auxin should be determined for each genotype in the breeding program.

KeyWords: Bread wheat. anther culture, genotype, medium, auxin

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında benden yardımlarını esirgemeyen ve labarotuvarında faydalanmamı sağlayan, yüksek lisans tez fikrini veren ve yapıcı yaklaşımlarıyla bana daima yol gösteren danışman hocam sayın Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU'na, tez aşamasında materyalimi temin eden ve fikirleriyle bana ışık tutan sayın Hocam Prof. Dr. Hakan ÖZKAN 'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda emeği geçen sayın Prof. Dr. Celaleddin BARUTÇULAR, Yrd. Doç. Dr. Faheem Shehzad BALOCH, Tekniker Rafet ERGAN , Ziraat Yüksek Mühendisi Esra Çakır, Laboratuar görevlisi Mehmet Ali DOĞAN ve moleküler genetik labarotuvarı ekibine teşekkürlerimi borç bilirim.

Eğitim ve öğrenim hayatım boyunca beni hep destekleyen ve yanımda olan aileme teşekkür ederim

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
TEŞEKKÜR III
İÇİNDEKİLER ..... …IV
ÇİZELGELER DİZİNİ VI
ŞEKİLLER DİZİNİ VIII
SİMGELER VE KISALTMALAR X
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 4
3. MATERYAL VE METOD 13
3.1. Materyal 13
3.1.1. Deneme Yerinin İklim Özellikleri 13
3.2. Metod 14
3.2.1. Donor Bitkilerin Yetişme Koşulları 14
3.2.2. Donor Bitkilerin Hasadı 14
3.2.3. Soğuk Ön Muamelesi 15
3.2.4. Deneme Planı 15
3.2.5. Kullanılan Besi Ortamları Ve Besi Ortamlarının Hazırlanması 15
3.2.5.1. Makro Elementlerin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması 17
3.2.5.2. Jelat($FeSO_4.7H_2O$ ve Na_2EDTA) Hazırlanması 17
3.2.5.3. Vitamin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması 18
3.2.5.4. Büyüme Düzenleyicilerinin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması 18
3.2.5.5. Stok Solüsyonlardan Yararlanarak Besi Ortamının Hazırlanması 18
3.2.6. Başakların Sterilizasyonu Ve Anterlarin Besi Ortamına Yerleştirilmesi 20
3.2.7. Anterlerden Embriyoid Oluşumu 20
3.2.8. Bitki Rejenerasyonu 21

3.2.9. Rejenere Olan Bitkiciklerin Gelişmesi 23
3.2.10. Araştırmada Elde Verilerin Değerlendirilmesi 23
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 25
4.1. Reaksiyon Gösteren Anter Oranı 25
4.2. Bitki Rejenerasyon Oranı 33
4.3. Yeşil Bitki Rejenerasyonu 44
4.4. Albino Bitki Rejenerasyonu 52
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 55
KAYNAKLAR 59
ÖZGEÇMİŞ 67

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 3.1. Denemenin Yürütüldüğü Dönem Ve Bu Döneme Ait Uzun Yıllar Ortalaması Bazı Önemli İklim Değerleri 13
Çizelge 3.2. Anter Kültüründe Kullanılan İndüksiyon Ortamının Bileşimi..... 16
Çizelge 3.3. Kullanılan Rejenerasyon ve Gelişme Ortamlarının Bileşimi..... 22
Çizelge 4.1. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday GenotiplerineAit Anterlerde Reaksiyon Oranı (%) İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları 28
Çizelge 4.2. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Reaksiyon Oranı Ortalamaları (%) 29
Çizelge 4.3. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Rejenerasyon Oranı (bitkicik/100 anter) İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları 36
Çizelge 4.4. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (%)..... 37
Çizelge 4.5. Farklı Oksinleri içeren Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (bitkicik/100 anter) 41
Çizelge 4.6. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Yeşil Bitki Rejenarasyon Oranı (Yeşil bitki/ 100 anter İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları..... 44
Çizelge 4.7. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (yeşil bitkicik/100 anter)..... 45

Çizelge 4.8. Farklı Oksinleri içeren Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (yeşil bitkicik/100 anter) 49
Çizelge 4.9. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Albino Bitki Rejenerasyon Oranı (albino bitkicik/100 anter) İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları..... 53
Çizelge 4.10. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Albino Bitki Reaksiyon Oranı Ortalamaları (albino bitkicik/100 anter)..... 54

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 4.1. Kültüre Alınan Anterlerde Şişme Ve Beyazlaşma (Kültür başlangıcından bir hafta sonra) 25
Şekil 4.2. Kültüre Alınan Anterlerde Kallus Oluşumu (Kültür başlangıcından dört hafta sonra) 26
Şekil 4.3. Kültüre Alınan Anterlerde Embriyoid Oluşumu (Kültür başlangıcından dört hafta sonra) 26
Şekil 4.4. Kültüre Alınan Anterlerde Kallus Ve Embriyoid Oluşumu (Kültür başlangıcından dört hafta sonra) 27
Şekil 4.5. Buğday Anter Kültüründe Farklı Oksinlerin Farklı Besi Ortamlarında Anter Reaksiyon Oranına Etkisi 30
Şekil 4.6. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Besi Ortamlarında Anter Reaksiyon Oranına Etkisi 32
Şekil 4.7. Kallus Ve EmbriyoidlerdenRejenere Olan Bitkicik Oluşumu (Kültür başlangıcından altı hafta sonra).....33
Şekil 4.8. Gelişme Ortamına Aktarılabilecek Hale Gelmiş Yeşil Bitki (Kültür başlangıcından sekiz hafta sonra) 34
Şekil 4.9. Gelişme Ortamından Saksıya Aktarılacak Hale Gelmiş Yeşil Bitkiler (Kültür başlangıcından oniki hafta sonra).....35
Şekil 4.10. Saksıya Aktarılmış olan Yeşil Bitkiler (Kültür başlangıcından oniki hafta sonra).....35
Şekil 4.11. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Besi Ortamlarındaki Bitki Rejenerasyon Oranları 40
Şekil 4.12. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Oksinleri İçeren Ortamlarındaki Bitki Rejenerasyon Oranları 42
Şekil 4.13. Farklı Oksinleri İçeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre Alınan Farklı Buğday Genotiplerinde Bitki Rejenerasyon Oranları.....43
Şekil 4.14. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Besi Ortamlarındaki Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranları.....48

Şekil 4.15. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Oksinleri İçeren Ortamlarındaki Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranları.....50
Şekil 4.16. Farklı Oksinleri İçeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre Alınan Farklı Buğday Genotiplerinde Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranları 51

SİMGELER KISALTMALAR

2,4D : 2,4-Dikolorofenoksiasetik asit
IAA : Indol-3-asetik asit
NAA : Naftalen asetik asit
EDTA : Ethilendiamintetra asetik asit
L : Litre
Ml : Mililitre
ml/l : Millitre/litre
g/l : Gram/litre
g : Gram

1. GİRİŞ

Buğday ülkemiz insanının temel besin maddesini oluşturmaktadır. Nitekim, 2009 yılı verilerine göre ülkemizde kişi başına yılda tüketilen buğday miktarı 199,8 kg'dır (FAO, 2013). Bu tüketim miktarı esas alındığında ülkemizin 2013 yılı tüketim amaçlı buğday ihtiyacı 15.3 milyon ton iken, 2023 yılında bu miktarın 16.8 milyon tona çıkacağı tahmin edilmektedir (TUİK, 2013). Ülkemizde 2012 yılı verilerine göre 7.530 milyon ha'lık buğday ekim alanından 20.1 milyon ton civarında buğday elde edilmiştir (TÜİK, 2013). Halen ülkemiz buğday açısından kendi kendine yeterli ve hatta ihracatçı bir ülkedir. Ancak, artan nüfusa bağlı olarak buğday üretiminin de artırılması gerekir. Tarımda üretim artışı, üretim alanlarının arttırılması ve/veya birim alandan elde edilen verimin artırılması ile olanaklıdır. Günümüzde, üretim alanlarını daha fazla arttırmak olanaklı değildir. Nitekim, 1950 yılından sonra çok önemli artış gösteren işlenen tarım alanı miktarı, 2001-2012 yılları arasında yaklaşık 3 milyon hektarlık bir azalma göstermiştir (TUİK, 2013). Bu durumda verim artışı, ancak birim alandan elde edilen verimin artırılması ile mümkündür. 2012 yılı verilerine göre, ülkemizde buğday verimi ortalaması 267 kg/da'dır (TÜİK, 2013). Ancak, ülkemizde buğday ekim alanlarının çoğunluğunun kurak ve yarı kurak bölgelerde bulunması nedeniyle, buğday üretim ve verimi yıldan yıla değişen iklim koşullarına bağlı olarak çok önemli değişimler göstermektedir. Nitekim, 2001-2012 yılları arasında buğday üretimimiz 17.234 milyon ton ile 21.5 milyon ton arasında değişmiştir. Buğday verim ve üretimimizdeki bu değişimler nedeniyle, bir buğday ihraç ülkesi olan ülkemizin bu özelliği süreklilik göstermemektedir. Diğer taraftan, ülkemizde üretilen buğday çeşitlerinin kalite özelliklerinin genellikle düşük olması nedeniyle ihracatta sorunlar çıkmakta ve hatta kendi un sanayimiz için paçal yapılmak üzere yüksek fiyatlar ödenerek dışarıdan kaliteli buğday ithal edilmektedir.

Kalkınma çabası içindeki bir tarım ülkesi olan ve nüfusu hızla artan ülkemizde halkın en önemli besin kaynağını oluşturan ve aynı zamanda bir ihraç ürünü olan buğdayın üretimindeki iniş ve çıkışlar ve üretimi yapılan buğday çeşitlerinin genellikle kalitesinin düşük olması ülke kalkınmasını olumsuz yönde etkilemektedir. Buğday verimindeki yıllara bağlı olarak önemli düşüşlerin minimize edilmesi ve

kalitesinin yükseltilmesi halkımızın yeterli düzeyde beslenebilmesini garanti altına alacağı gibi, ülkemiz kalkınmasının sürekli olmasını da sağlayacaktır.

Buğday verimindeki yıllara bağlı olumsuz değişimlerin önlenebilmesi ve verimin ve kalitenin daha yüksek düzeylere eriştirilebilmesi için, soğuk, kurak ve hastalıklar gibi değişik stres faktörlerine dayanıklı ve yüksek dane kalitesine sahip buğday çeşitlerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

Ülkemizdeki tarımsal kuruluşlar tarafından yukarıda bahsedilen buğday çeşitlerinin ıslahına yönelik çalışmalar sürdürülmektedir. Ancak, halen yaygın olarak uygulanmakta olan klasik ıslah yöntemleri ile bir buğday çeşidinin geliştirilmesi için yoğun bir işgücüne ve uzun yıllara gereksinim duyulmaktadır. Dünyada 20.yüzyılın son çeyreğinden beri biyoteknolojik yöntemler adı verilen bazı yeni tekniklerin ıslah programlarında kullanılması ile kültür bitkilerinde ıslah sürecinin kısaltılabileceği üzerinde durulmakta ve bu yönde yoğun araştırmalar sürdürülmektedir. Bu yeni tekniklerden birisi, kısa sürede homozigot hatların elde edilmesine olanak sağlayan anter kültürü tekniğidir. 1973 yılından beri anter kültürü tekniğinin buğdayda uygulanmasına yönelik yoğun araştırmalar yürütülmektedir (Henry ve De Buyser, 1990). Bu yoğun araştırmalar ilk meyvelerini vermiş ve anter kültürü tekniği kullanılarak Fransa'da Florin ticari adıyla bir çeşit (De Buyser ve ark., 1987), Çin'de Jinghua No 1 (Hu ve ark., 1983) ve 764 (Hu ve ark., 1988) çeşitleri ve Macaristan'da 'GK Delibab' çeşidi (Pauk ve ark., 1995) geliştirilmiş ve çiftçiye ulaştırılmıştır. Kanada'da en fazla yetiştirilen beş buğday çeşidinden 3'ünün katlanmış haploid tekniğinden yaralanılarak elde edilen çeşitler olduğu bildirilmektedir (Beanziger ve DePAuw, 2009). Söz konusu çeşitlerin geliştirilmesinde klasik ıslah yöntemine göre 4-5 yıllık bir zaman tasarrufu sağlanmıştır (De Buyser ve ark., 1987). Son yıllarda elde edilen bu başarılı sonuçlara rağmen, anter kültürü tekniğinin buğday ıslah programlarında yaygın olarak kullanılmasını engelleyen henüz çözülmemiş birçok problem bulunmaktadır

Yapılan araştırmalarda farklı buğday genotiplerinin anter kültürüne farklı reaksiyon gösterdikleri gözlemlenmiştir (Foroughi-Wehr ve Zeller, 1990; Ghaemi ve Sarrafi, 1994; Hou ve ark. 1994; Hatipoğlu ve Doğramacı, 1995; Hu, 1997; Hatipoğlu ve ark., 1998; Holme ve ark., 1999; Chaudhary ve ark., 2003; Hatipoğlu

ve ark., 2005; Pratap ve ark., 2006; Khiabani ve ark., 2008; Graude ve ark., 2010; El Hennawy ve ark., 2011; Tawkaz, 2011) Genotip yanında, donör bitkilerin yetişme koşulları (Altıntaş ve ark., 2005; Özü ve Hatipoğlu, 2006), besi ortamının bileşimi (Karsai ve ark., 1994; Karimzadeh ve ark., 1995) , besi ortamının fiziksel durumu (Hatipoğlu ve Doğramacı, 1995), anterlere kültür öncesi soğuk uygulaması (Xynias ve ark., 2001), kültürün birkaç gününde yüksek sıcaklık uygulaması (Lazar ve ark. 1984; Jones ve Petolino, 1987) ve anterlere gama ışını uygulamasının buğday kültürnde etkileri araştırılmıştır (Takwaz, 2011).

Bu çalışmada, genotip, besi ortamı ve besi ortamındaki oksin çeşidinin buğday anter kültüründe haploid bitki oluşumuna etkilerinin saptanması amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

He ve Ouyang (1984), Bazı buğday genotiplerinde haploid kallus ve yeşil bitki oluşumunun anterlerin değişik aşamalarından oluşabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca genotiplerin geneli için polen çekirdeklerinin orta ve geç tek çekirdekli dönemde kallus ve bitkicik oluşturma kapasitelerinin en yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Andersen ve ark.(1987), 215 kışlık buğday genotipinin anter kültürüne karşı tepkilerini saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada, 200 genotipten mikrospor embriyosu veya kallus elde edildiğini ve 93 genotipten yeşil bitki elde edildiğini, 215 genotipten kültüre alınan toplam 58980 anterden % 3.3'ünün reaksiyon gösterdiğini, ortalama olarak kültüre alınan her 100 anterden 1.3 yeşil bitki elde edildiğini bildirmektedirler.

Deaton ve ark. (1987), anter kültürüne reaksiyonun genetik yönünü değerlendirmek ve androgenetik performansı seleksiyonla geliştirme olasılığı üzerine üç buğday çeşidi kullanarak yaptıkları araştırmada; 3 ebeveyn hat, bunların F_1 hibritleri, F_2'ler ve geri melezler kullanarak kallus üretimi ve rejenerasyon kapasitelerini değerlendirmişlerdir. Melezlerin üç farklı generasyonunun kallus oluşumu bakımından önemli varyasyon gösterdiğini, ancak rejenerasyon için genetik varyasyonun önemli olmadığını tespit etmişlerdir

Jones ve Petolino (1988), kışlık buğdayda sürdürdükleri anter kültürü çalışmalarında sıvı besi ortamının agar eklenerek katılaştırılmış ortama göre yaklaşık iki kat daha fazla verimli olduğunu bildirmişlerdir. Agar eklenerek katılaştırılmış ortama aktif karbon ilave edilmesi embriyo üretimini önemli ölçüde arttırmış, ancak aktif karbon içeren ortamda elde edilen embriyolardan bitki rejenerasyonunun aktif karbonsuz ortamdakilere göre daha düşük olduğunu saptamışlardır. Ficoll içeren ortamdan elde edilen embriyolarda sıvı ortamdakilere göre iki katı kadar bitki rejenere olduğunu bildirmişlerdir.

Sesek ve ark. (1988), yedi buğday genotipinde; reaksiyon gösteren anter oranının % 4.8 ile 15 arasında değiştiğini, kültüre alınan 100 anter başına ortalama 2.2 bitki üretildiğini; aynı zamanda yeşil bitki rejenerasyon frekansının genotipler

arasında da % 1.1 ile 3.6 arasında değiştiğini bildirmişleridir.

Feng ve Ouyang (1989), buğday anter kültüründe ortamdaki KNO_3 konsantrasyonunun yeşil bitki rejenerasyonunu önemli derecede etkilediğini, KNO_3 seviyesi yüksekken yeşil bitki frekansının da yüksek olduğunu; 15-20 mML^{-1} KNO_3 konsantrasyonun yüksek yeşil bitki frekansı için en uygun, NH_4^+'ün 2-7 mML^{-1} konsantrasyonunun ise kallus indüksiyonu ve yeşil bitki rejenerasyonu için en uygun olduğunu saptamışlar. Kontrol amacıyla kullanılan NO_3^- ve NH_4^+ içermeyen ortamda oldukça düşük sonuçlar alındığını bildirmişlerdir.

Chu ve ark. (1990) buğday anter kültüründe sakkaroz kullanmak yerine monosakkaritleri denediklerini, polen embriyoid indüksiyon frekansının 0.21 M glikoz içeren sıvı ortamda 0.21 M sakkaroz içeren ortama göre genotiplere bağlı olarak 2-10 kat fazla gerçekleştiğini; ayrıca fruktoz yada glikoz + fruktoz + mannitol karışımının sakkarozdan daha iyi sonuç verdiğini, 0.21 M glikoz içeren rejenerasyon ortamına transfer edildiğinde embriyoidlerin % 40-50'si bitkicik oluştururken, sakkaroz içeren ortamda bu oran % 0-30 olduğunu bildirmektedirler. Glikoza kıyasla sakkarozun polen embriyo gelişimini engellediğini, bunun nedeninin ise sakkarozun anter kültüründe etilen üretimine yol açması olabileceğini bildirmişlerdir.

Foroughi-Wehr ve Zeller (1990) araştırmalarında ekmeklik buğdayın yazlık ve kışlık çeşitleri ile makarnalık buğdayın anter kültürüne etkinliklerini araştırmışlar; kallus ve embriyo frekansında genotiplere göre farklılık gözlemlemişlerdir. Genel olarak kışlık buğday çeşitlerinde anter rejenerasyon miktarının daha yüksek olduğunu, özelliklede 1B.1R buğday-çavdar lokasyonu taşıyan kışlık çeşitlerde frekansın yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Makarnalık buğdayda embriyogenik reaksiyon alınmasına rağmen bitki elde edilmediğini bildirmişlerdir. Alloplasmik buğday hatlarında haploid bitki oluşumunu kontrol eden genin 1B.1R translokasyonunun çavdar segmenti üzerinde olduğunu; bazı çeşitlerin bu translokasyonu taşımalarına rağmen düşük androgenetik tepki gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Hassawi ve ark. (1990), 5 ekmeklik buğday çeşidi ve 2 tritikale hattının anterlerini kinetin ile kombine edilmiş 7 farklı oksin (2,4,5-T, pCPA, dicamba, picloram, İBA, IAA, 2,4-D) içeren veya İBA ile kombine edilmiş 4 farklı sitokinin

(BAP, 2-ip, zeatin, ve kinetin) içeren 85D12 ortamında kültüre almışlar ve en yüksek kallus indüksiyonunun 2,4-D içeren ortamda gerçekleştiğini, çeşitler arasında kallus oluşturma ve bitki rejenerasyonu açısından önemli farklılıklar olduğunu saptamışlardır.

Last ve Brettel (1990), buğday anter kültüründe besi ortamına sakkaroz yerine maltoz ilave edildiğinde, embriyoid formasyonunun 3-4 kat arttığını saptamışlardır

Kao ve ark. (1991) kallus dokusunda bulunan hücrelerin anaerobik şartlarda lactate ve alkol dehydrogenase ürettiğini, bunların birikiminin hücrelerdeki organellere zarar verebileceğini ve bunun sonucunda albino bitki oluşumu gözleneceğini savunmuşlardır. Mikrosporlardan direk embriyo oluşturmak için taze besi ortamı gerektiğini, ayrıca embriyolardan yüksek frekansta yeşil bitki elde etmek içinse iyi bir havalandırmanın gerekli olduğu bildirmişlerdir.

Simonson ve Baenziger (1992), buğday anter kültüründe besi ortamı katılaştırma maddesinin etkilerini, 3 farklı katılaştırma maddesinden (ficoll-400, buğday nişastası ve mısır nişastası) biri ile katılaştırılmış iki farklı besi ortamı (P1 ve 85D12) kullanarak araştırmışlardır. Anterlerin embriyoid indüksiyon frekansı P1 ortamında mısır nişastası (0.67) ve buğday nişastası (1.50) ile, ficol-400 (0.47) kullanılan ortamdan daha yüksek sonuç verdiğini; 85D12 ortamında ficoll, mısır nişastası ve buğday nişastası kullanıldığında benzer embriyoid frekansları elde edildiğini (sırayla 0.51, 0.50 ve 0.52); daha sonra oluşan embriyoidlerin katılaştırma maddesi olarak bacto-agar, mısır nişastası veya buğday nişastasından biri kullanılan MS ortamına transfer edildiğini ve sonuçta benzer rejenerasyon frekanslarının gözlendiğini (sırayla 0.15, 0.20 ve 0.22) bildirmişledir.

Ziauddin ve ark. (1992), phenylacetic asit oksininin buğday anter ve arpa anter/mikrospor kültürü üzerine etkilerini araştırdıklarını; PAA kullanıldığında indüksiyon oranının kontrole göre önemli farklılıklar göstermediğini, ancak hem buğday anter kültüründe hem de arpa mikrospor kültüründe daha fazla miktarda yeşil bitki rejenerasyonu elde edildiğini, bununla birlikte arpa anter kültüründe PAA kullanımının yararı olmadığını bildirmişlerdir.

Ball ve ark. (1993), buğday anter kültüründe besi ortamında farklı 2,4-D ve IAA konsantrasyonları ile kallus indüksiyon süresinin etkilerini belirlemek amacıyla

yaptıkları araştırmada, bitki büyüme düzenleyicisi konsantrasyonunun kallus sayısı, yeşil ve albino bitki sayısı ve bitki rejenerasyonunu önemli derecede etkilediğini, indüksiyon ortamına IAA'in yerine 2,4-D ilave edildiğinde reaksiyonun arttığını, 2,4-D'li ortamda bitki rejenerasyonunun azaldığını, ortama 0.3-mg l^{-1} IAA ilavesinin ise yeşil bitki yüzdesini artırdığını saptamışlardır.

Ghaemi ve ark. (1993) tetraploid ve hexaploid buğdayların anter kültürüne tepkilerini araştırdıklarını ve yüksek oranda genetik varyasyon belirlediklerini bildirmişlerdir.

Orshinsky ve Sadasivaiah (1994), 10 buğday çeşidi kullanarak 3 farklı besi ortamının embrioid indüksiyonu ve bitki rejenerasyonu üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada; embrioid indüksiyonu ve yeşil bitki rejenerasyonunun donor bitki genotipi ve besi ortamı tarafından etkilendiğini, incelenen 10 genotipin 9'undan hem yeşil, hem de albino bitki, birinden ise sadece albino bitki elde edildiğini; aynı zamanda besi ortamının spontan kromozom katlanmasını da etkilediğini bildirmişlerdir.

Czaplicki (1994), bazı kışlık ve yazlık buğday genotiplerinde anterlerden , kalus ve bitki oluşumuna ; besi ortamı, genotip , ortam katılaştırıcısı, karbon kaynağı, ficol ve soğuk ön uygulamalarının etkilerini araştırmak amacıyla sürdürdüğü araştırmalarda anterlerden kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunu genotip ve besi ortamının önemli ölçüde etkilediğini saptamıştır. Kallus oluşumu açısından en uygun besi ortamının C17 ve P2 ortamları olduğunu ve sakkarozun etkin bir karbonhidrat kaynağı olduğunu, katı ortamın sıvı ortama göre daha etkin sonuç verdiğini, en iyi ortam katılaştırıcının agaroz olduğunu, soğuk ile ön muamelenin 2 haftaya kadar çıkarılmasının kalus oluşumu ve bitki rejenerasyonunu yükseltiğini, meydana gelen bitkilerin +4-5 ^{o}C de 6 hafta tutulmasının kendiliğinden kromozom katlanmasını artırdığını belirtmiştir

Hatipoğlu ve Doğramacı (1995), ekmeklik buğday anter kültüründe anter reaksiyon oranı ve bitki rejenerasyonunun P2 ortamında 85D12 ortamından daha iyi olduğunu, agar veya buğday nişastası ile katılaştırılmış besi ortamlarının mısır nişastası ile katılaştırılan ortamlardan daha üstün olduğunu saptamışlardır.

Otani ve Shimada (1995) 4 ekmeklik buğday ve 8 tetraploid buğday (*T.*

dicoccum, T. durum, T. persicum, ve *T. turgidum*) genotipinin anter kültürü reaksiyonlarını 4 farklı besi ortamı (C17, W14, MN6 ve Potato-2) kullanarak araştırdıklarını; her besi ortamında embriyo oluşumu için genetik varyasyon gözlendiğini, ekmeklik buğday çeşitlerinin hepsinden ve 3 tetraploid buğday genotipinden (*T. dicoccum* var. *farrum*, *T. durum* var. *agricunum* ve *T. persicum* var. *stramineum*) yeşil bitki elde edildiğini, ancak bu üç tetraploid buğdayda yeşil bitki rejenerasyon oranının oldukça düşük olduğunu (sırayla % 0.9, 9.5 ve 2.0), 4 buğday çeşidinin üçünden (BW2559, Glennson-81 ve Seri-82) oldukça yüksek yeşil bitki rejenerasyonu (sırayla % 22.2, 23.6 ve 28.7) elde edildiğini bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan diğer tetraploid buğday genotiplerinden sadece albino bitkiler elde edildiğini, albinizmin tetraploid buğday anter kültüründe sınırlayıcı bir faktör olduğunu bildirmişlerdir.

Hu (1997), haploid bitkilerde kromozom katlaması yoluyla bir generasyonda homozigot diploidlerin elde edilebileceğini bildirmişlerdir. Böylece, haploidlerin ıslah sürecini kısaltacağını, resesif karakterlerin haploidlerde gözlemlenebileceğini; bunun özellikle mutasyon ıslahı ve mutant genetik araştırmaları açısından çok değerli olduğunu; anter kültüründen yaklaşık % 90 oranında haploidler ve homozigot diploidler; bununla birlikte buğdayda ve mısırda % 10 oranında aneuploidler elde edildiğini, aneuploidlerin de kromozom transferlerinde, dolayısıyla yeni genetik çalışmalar ve ıslah denemelerinde kullanılabileceğini bildirmektedir.

Rakoczy ve ark. (1997), yaptıkları araştırmada genotipin ve kültür ortamının çavdar anter kültürü üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırıcılar reaksiyon oranının önemli derecede genotipe bağlı olduğunu, tüm genotipler için farklı ortamlar kullanılması gerektiğini, çavdarda en yüksek indüksiyon oranının CI ortamından elde edildiğini saptamışlardır.

Agurto (1998), 7 ekmeklik buğday genotipinden izole ettiği anterleri 3 farklı besi ortamında (MN6, P2 ve Liang ortamları) kültüre almış ve genotip ve besi ortamının hem anter reaksiyon oranını ve hemde bitki rejenearsyon oranını önemli derecede etiklediğini, ayrıca bu özellikler açısından besi ortamı x genotip interaksiyonunun da istatistiksel olarak önemli olduğunu saptamıştır.

Hatipoğlu ve ark. (1998), 7 ekmeklik buğday F_1 melezi üzerinde yaptıkları

çalışmalarda; genotipin hem kallus ve/veya embryoid indüksiyonu hem de bitki rejenerasyonu açısından önemli olduğunu; 100 anter başına yeşil bitki rejenerasyonunun 0.06 ile 4.07 arasında değiştiğini saptamışlardır.

Holme ve ark. (1999), kültüre aldıklar doğu Avrupa ve kuzeybatı Avrupa buğday hatlarından doğu Avrupa hatları için ortalama 100 anter başına 3.6 yeşil bitki elde ederken, bu oranı kuzeybatı Avrupa hatları için 0.4 olarak bildirmişler.

Jauhar ve Chibbar (1999) haploidi ve transgenik yöntemlerin birlikte kullanılmasını önermişler; genlerin haploid aşamada transferinden sonra yapılacak kromozom katlamasıyla transgenlerin daha stabil olabileceğini ortaya koymuşlardır.

Zeng ve Konzak (1999), anter kültürüne iyi reaksiyon gösteren bir buğday çeşidi olan Pavon 76 çeşidi ile yürüttükleri araştırmada 45 gün süre ile 0.5 mg/l 2,4-D içeren P4 ortamında kültüre edilen anterlerin en düşük reaksiyon ve rejenerasyon oranı gösterdiklerini, buna karşılık 1 mg/l 2,4-D içeren P4 ortamında kültür edilen anterlerin daha yüksek reaksiyon ve rejenerasyon oranı gösterdiğini, 2 veya 4 mg/l 2,4-D içeren P4 ortamında anterlerin 10 günden fazla bekletilmesinin reaksiyon oranı ve rejenerasyon oranını olumsuz etkilediğini saptamışlardır.

Can ve ark. (2002), 1 ekmeklik buğday çeşidi, 3 ekmeklik buğday hattı ve 6 ekmeklik buğday melezinden aldıkları anterleri farklı konsantrasyonlarda 2,4-D içeren (1, 1.5, 2 ve 2.5 mg/l) P2 veya değiştirilmiş MS ortamında kültüre almışlar ve genotiplere bağlı olarak anter reakisyon oranının % 0.6 ile % 15 arasında değiştiğini ve ortalama % 4.9 olarak saptandığını, yeşil bitki rejenerasyon oranının ise 0 ile 11.6 yeşil bitki/100 anter arasında değiştiğini ve ortalama 2.5 olarak saptandığını, besi ortamlarının anter reaksiyon oranında farklılık yaratmadığını, yeşil bitki rejenerasyon oranı üzerindeki etkisinin ise genotiplere bağlı olarak farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.

Dağüstü (2002), Türk ekmeklik buğday çeşitlerinde anter kültürünü etkileyen faktörler üzerinde yapmış olduğu araştırmada, 5 farklı çeşitte (Basri Bey, Golia, Marmara 86, Gönen, Pehlivan), başaklara soğuk ön uygulamasının (+4 ^{o}C'de 1, 2 ve 3 hafta), indüksiyon ortamının (N6 ve P2) ve indüksiyon ortamına eklenen karbon kaynaklarının (Sukrose ve Maltose) anter kültürüne etkilerini araştırmıştır. Araştırmada genellikle anter kültürüne iyi reaksiyon göstermeyen ekmeklik buğday

çeşitleri kullanılmıştır. 3 haftalık soğuk ön uygulamasında kallus oluşumu olmazken, 2 haftalık soğuk ön uygulamasında en yüksek kallus indüksiyonu elde edilmiştir. Çeşitler arasında 1000 anter başına reaksiyon oranı 3.0-7.0 arasında değişmiş, çeşitler arasında reaksiyon oranı bakımında çok büyük farklar gözlenmediği, sukroz içeren kallus indüksiyon ortamının kallus üretiminde önemli bir artış sağladığı saptanmıştır.

Chaudhary ve ark. (2003), 9 kışlık ekmeklik buğdayı ana, 2 ekmeklik buğdayı ise baba olarak kullanarak elde ettikleri 18 F_1 melezi ve ebeveynlerin anter kültürüne reaksiyonlarını incelemişler ve kallus oluşturma oranı, kallusların rejenere olma oranı ve yeşil bitki rejenerasyon oranı açısından incelenen genotipler arasında çok önemli farklılıklar bulunduğunu saptamışlardır.

Hassawi (2004), iki buğday çeşidi ile sürdürdüğü araştırmada 2 mg/l 2,4-D+ 1 mg/l kinetin içeren ortamda kültüre alınan anterlerin 2 mg/l IAA + 1 mg/l kinetin içeren ortama göre önemli derecede daha yüksek kallus ve yeşil bitki oluşturduğunu saptamıştır.

Altıntaş ve ark. (2005), farklı zamanlarda ekilen iki farklı ekmeklik buğday çeşidinden aldıkları anterlere farklı sürelerle soğuk uygulaması yaptıktan sonra P2 ortamında kültüre almışlar ve buğday anter kültüründe haploid bitki oluşumunu etkileyen en önemli faktörün genotip olduğunu, ortalama anter reaksiyon oranının % 4.9, bitki rejenerasyon oranının 7.2 bitki/100 anter, yeşil bitki rejenerasyon oranının ise 2.6 yeşil bitki/100 anter olarak saptandığını bildirmektedirler.

Hassawi ve ark (2005), 5 buğday çeşidi ile sürdürdükleri araştırmada genotiplere bağlı olarak anter reaksiyon oranının % 1.5 ile % 3.6 arasında değiştiğini saptamışlardır.

Hatipoğlu ve ark. (2005), üç ekmeklik buğday çeşidi ile yürüttükleri anter kültürü araştırmalarında çeşitlerin anter reaksiyon oranı ve yeşil bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli derecede farklılık gösterdiğini saptamışlardır.

Kim ve Baenziger (2005), anter kültüründe iyi reaksiyon gösteren bir buğday genotipi olan Pavon çeşidi ile yürüttükleri araştırmada, 2 mg/l 2,4-D, Dicamba, Picloram, IAA, IBA veya PAA içeren 85D12 ortamında kültüre alınan anterlerden en

yüksek reaksiyon oranının % 13.1 ile PAA içeren ortamdan elde edildiğini, ancak söz konusu protokolün genotipe bağımlılık gösterdiğini saptamışlardır.

Dağüstü (2008), 4 ekmeklik buğday çeşidi ve bunların karşılıklı melezlenmesi ile elde edilen 12 F_1 melezinde sürdürdüğü araştırmada, anter kültürüne reaksiyon açısından genotipler arasında çok önemli farklılıklar olduğunu saptamıştır.

Condic-Spika ve ark. (2008), ekmeklik buğdayda 20 F1 melezi ile sürdürdükleri anter kültürü araştırmasında kallus oluşturan anter oranını % 47.2, başak başına yeşil bitki rejenerasyon oranını 5.8, kendiliğinden katlanmış haploid bitki oranını ise % 47.9 olarak saptamışlardır.

Yıldırım ve ark. (2008), 3 ekmeklik buğday çeşidi ve 1 ekmeklik buğday hattı ile bunların 6 adet melezlerinin anterleri ile yürüttükleri araştırmada, genotiplere bağlı olarak anter reaksiyon oranının % 0 ile % 14.84 arasında, Yeşil bitki rejenerasyon oranının 0 ile11.13 yeşil bitki /100 anter ve albino bitki rejenerasyon oranının 0 ile 2.58 albino bitki /100 anter arasında değiştiğini saptamışlardır.

Grauda ve ark. (2010), 4 kışlık, 10 yazlık F2 ekmeklik buğdayı ile sürdürdükleri anter kültürü araştırmasında AMC, AMC+2.5 mg/l $CuSO_4$ ve 190-0 gibi üç farklı ortamı test etmişler ve en uygun ortamın AMC+2.5 mg/l $CuSO_4$ olduğunu saptamışlardır.

Al-Ashkar (2013), 4 melez ve bu melezlerin ebeveyninden oluşan 5 ekmeklik buğday genotipi ile yürüttüğü anter kültürü araştırmasında, genotiplere bağlı olarak anter reaksiyon oranının % 4.67 ile % 9.42 arasında, yeşil bitki rejenerasyon oranının ise % 5.5 ile % 2.42 arasında değiştiği saptamıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Araştırmada buğday genotipi olarak, Esperial genotipinin ana ve Kr.Odeskaya, Tosunbey, 1013, A.Odeskaya, Bologna, Alora, Sensos, Sagittario ve Özkan genotiplerinin baba olarak kullanılması ile elde edilen 8 F_1 melezi ve 9 ebeveyn genotip test edilmiştir.

3.1.1. Deneme Yerinin İklim Özellikleri

Denemenin yürütüldüğü Ekim 2011- Nisan 2012 döneminde Adana ili için kaydedilen bazı iklim değerleri ile bu değerlerin uzun yıllar ortalamaları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemenin Yürütüldüğü Dönem ve Bu Döneme Ait Uzun Yıllar Ortalaması Bazı Önemli İklim Değerleri

Aylar	**Ort. Sıcaklık ^oC**			**Ort. Nem (%)**			**Toplam Yağış (mm)**		
	Uzun Yıllar	**2011**	**2012**	**Uzun Yıllar**	**2011**	**2012**	**Uzun Yıllar**	**2011**	**2012**
Ekim	21.5	21.2		60.0	48.5		41.9	9.4	
Kasım	15.5	12.9		63.0	54.5		79.5	33.9	
Aralık	11.1	10.1		66.0	65.5		133.9	172.6	
Ocak	9.6		8.6	66.0		70.9	108.7		267.5
Şubat	10.5		9.3	66.0		55.0	88.1		101.2
Mart	13.5		12.1	66.0		52.1	66.9		44.6
Nisan	17.5		18.8	69.0		62.5	57.1		12.8
Ort/Toplam	14.2	13.3		65.1	58.4		576.1	642	

Kaynak: Adana Meteoroloji Bölge Müdürlüğü, 2013

Çizelge'de izlendiği gibi, denemenin yürütüldüğü Ekim 2011 –Nisan 2012 dönemi 13.3 ^oC ortalama sıcaklık, % 58.4 ortalama nispi nem ve 642 mm'lik yağış

ile uzun yıllar ortalamasına (14.2 ^{o}C ortalama sıcaklık, % 65.1 ortalama nispi nem ve 576.1 mm toplam yağış) göre daha serin ve yağışlı bir dönem olmuştur. Nisan ayı dışındaki tüm aylarda ortalama sıcaklık uzun yıllar ortalamasına göre daha düşük olmuştur. Ekim, Kasım, Mart ve Nisan ayları normale göre daha kurak, Aralık, Ocak ve Şubat ayları ise normale göre daha yağışlı geçmiştir.

3.2.Metod

3.2.1 Donor Bitkilerin Yetişme Koşulları

2011 yılında Ç.Ü Ziraat Fakültesi deneme alanında, genotiplere ait tohumlar; 1 Ekim, 15 Ekim ve 30 Ekim tarihlerinde olmak üzere üç farklı ekim zamanında kontrolsüz sera koşullarında, 15 Kasımda ise açık arazide ekilmiştir.

Sera koşullarındaki ekimde, her ekim tarihinde her bir genotipe ait beş tohum ayrı ayrı toprak harcı (2 tarla toprağı + 1 kum+ 1 çiftlik gübresi) ile doldurulmuş viollere ekildi ve violler sera içersine yerleştirildi. Bitkiler yeterince geliştikten sonra 14×14×14 cm boyundaki saksılara aktarıldı. Bitkilerin bu saksılara aktarılmasından sonra 4 aylık süreç boyunca toplam doz 16 kg/ da azot, 8kg/ da P_2O_5 ve 8 kg/ de K_2O olacak şekilde hazırlanan gübre solüsyonu ile haftada bir kez gübreleme yapıldı.

Açık arazi koşullarında ekimde ise, bölge koşullarında uygulanmakta olan gübreleme dozu ile gübrelenmiş arazide 30 cm aralıklarla hazırlanmış sıralara her genotipten 10 tohum 15 cm sıra üzeri mesafesinde el ile ekilmiştir.

3.2.2. Donör Bitkilerin Hasadı

Anter kültürü çalışmalarında reaksiyon oranını etkileyen en önemli faktörlerden birisi de donör bitkinin hasat edildiği dönemdeki mikrospor gelişim safhasıdır ve bunun kültüre alma işlemi öncesinde sitolojik inceleme ile tespit edilmiş olması gerekir (Lörz ve ark. 1988). Sitolojik inceleme için başağın orta kısmındaki çiçeklerden alınan anterler, üzerine bir damla asetokarmin damlatılmış lam üzerinde hafif parçalandıktan sonra lam üzerine lamel kapatılmış ve hazırlanan preparat

mikroskop altında incelenmiştir. Yapılan sitolojik incelemede Henry ve De Buyser (1990) tarafından önerilen orta veya geç tek çekirdekli dönemde mikrosporlara sahip anterleri içeren başaklar alınmıştır.

Sitolojik inceleme öncesi tarladan materyal alımında yapılan morfolojik gözlem sonucu, başağın ucunun bayrak yaprağın altındaki yaprağın kulakçığı hizasına gelmesi durumu dikkate alınmış ve bu safhada olan bitkiler hasat edilmiştir. Fakat bunun polen gelişim safhasını belirlemede kesin sonucu vermemesi dolayısı ile yukarıda belirtilen sitolojik yöntem kullanılarak bitki materyalinin alımına karar verilmiştir.

3.2.3. Soğuk Ön Muamelesi

Uygun polen safhasında olan başağı içeren saplar kesilmiştir. Daha sonra bu saplar yapraklardan temizlenerek ve yeterince kısaltılarak içinde bir miktar su bulunan cam tüpler içerisinde, +4 ^{o}C'de 3 gün süreli soğuk uygulamasına tabi tutulmak üzere buzdolabına yerleştirilmişlerdir.

3.2.4. Deneme Planı

Araştırmada, yukarıda belirtilen 8 F1 melezi ve 9 ebeveyn genotipten alınan anterler farklı oksinleri (2,4-D, Dicamba ve Picloram) içeren farklı iki temel besi ortamında (P2 ve N6 Ortamı) kültüre alınmıştır. Araştırma tesadüf bloklarında bölünen-bölünmüş parseller deneme desenine göre düzenlenmiş olup, ana parselleri temel besi ortamları, alt parselleri oksin çeşidi ve alt-alt parselleri genotipler oluşturmuştur. Araştırmada, içersinde 30 adet anter kültür edilen 60 X 15 mm boyutlarındaki petri kutusu bir deneme ünitesi olarak kabul edilmiştir. Araştırmada, her bir muamele kombinasyonu 4 kez tekrarlanmıştır.

3.2.5. Kullanılan Besi Ortamları Ve Besi Ortamlarının Hazırlanması

Araştırmada anterlerden kallus ve/veya embriyo oluşturmak (indüksiyon)için kullanılan P2 ortamı (Chuang ve ark., 1978) ve N6 ortamı (Chu ve ark., 1975)'nın bileşimleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Anter Kültüründe Kullanılan İndüksiyon Ortamlarının Bileşimi

Bileşik	Konsantrasyon (mg/l)	
	P2 Ortamı	N6 Ortamı
$MgSO_4.7H_2O$	125	185
KH_2PO_4	200	400
KNO_3	1000	2830
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	100	
$(NH_4)_2.SO_4$	100	463
KCl	35	
$CaCl_2.2H_2O$	-	166
KI	-	0.8
H3BO3	-	1.6
$MnSO_4.4H_2O$	-	4.4
$ZnSO_4.7\ H_2O$	-	1.5
$FeSO_4.7H_2O$	27.8	27.8
Na_2EDTA	37.3	37.3
Thiamin.HCl	1	1
Nicotinic acid	-	0.5
Pyridoxine.HCl	-	0.5
Glycine	-	2
Glutamine	0.5 g/l	-
Kinetin	0.5	0.5
Sucrose	90 g/l	90 g/l
Sıvı patates ekstraktı	100 ml/l	-
Agar	6 g/l	6
pH	5.8	5.8

3.2.5.1. Makro Elementlerin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

Araştırmada kullanılan temel besi ortamları olan P2 ve N6 besi ortamlarında birim hacimde bulunması gereken birçok maddenin miktarlarının çok düşük olması ve her besi ortamı hazırlanmasında bu maddelerin tekrar tekrar tartılması çok zor ve zaman alıcı olacağından bu maddelerin stok solüsyonları hazırlanmıştır (Hatipoğlu, 2013).

KI, $CoCl_2.H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$, $Na_2MoO_4.2H_2O$ ve jelat ($FeSO_4.7H_2O$ ve Na_2EDTA) dışındaki bileşenlerin litrede bulunması gereken miktarlarının 10 katı hassas terazide tartılmıştır. 1000 ml'lik bir beher kap bidestile su ile çalkalanıp 100 ml bidestile su ilave edilmiş ve içerisine bir manyet atılıp magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiştir. Daha sonra karışımı oluşturacak olan elementler sırası ile beher kap içerisine ilave edilmişlerdir. Çözeltideki elementler iyice çözündükten sonra, ölçü silindiri yardımı ile çözeltinin hacmi 1000 ml'ye tamamlanmış ve her biri 150 ml hacme sahip 10 ayrı plastik kaba 100'er ml paylaştırılmıştır. Plastik kaplar üzerine yapıştırılan etiketlere besi ortamının adı ve ortamın yapılış tarihi yazılarak derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. KI, $CoCl_2.H_2O$, $CuSO_4.5H_2O$ ve $Na_2MoO_4.2H_2O$ bileşenlerinin ise, besi ortamı içerisinde en rahat bir şekilde kullanılabilecek oranlarına göre (genelde 100 mg/100 ml'lik), ayrı ayrı stok solüsyonları hazırlanmıştır.

3.2.5.2. Jelat ($FeSO_4.7H_2O$ ve Na_2EDTA) Hazırlanması

1.8625 g Na_2EDTA bir magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş 1 litrelik beher kapta 200 ml bidestile su içinde çözülmüş ve çözelti 90 ^oC' ye kadar ısıtılmıştır. Sıcaklık belirtilen düzeye eriştiğinde çözelti içerisine 1.3925 g $FeSO_4$ ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır. Daha sonra karışımın sıcaklığı oda sıcaklığına erişinceye kadar soğutulmuş ve karışımın hacmi 250 ml'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan jelat koyu renkli pyrex şişe içinde muhafaza edilmiştir.

3.2.5.3. Vitamin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

Besi ortamında bulunan Thiamin.HCl, Phyridoxine.HCl ve Nicotinik asit vitaminlerinin her birisinden hassas terazide 100'er mg tartılarak, her birisi 150 ml'lik beherler içerisinde 20-30 ml bidestile su ile çözülmüş ve daha sonra hacmi 100 ml'ye tamamlanıp, pyrex şişeler içerisinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Myo-inositolün stok solüsyonu hazırlanmamış, ortam hazırlanırken gerekli miktar (100 mg) tartılarak ilave edilmiştir.

3.2.5.4.Büyüme Düzenleyicilerinin Stok Solüsyonlarının Hazırlanması

Besi ortamları için gerekli olan 2,4-D, Dicamba, Picloram, ve Kinetin'in stok solüsyonlarının hazırlanmasında vitaminlerin stok çözeltilerinin hazırlanmasında izlenen yöntem izlenmiştir. Her bir büyüme düzenleyicisinden 100 mg tartılmış ve tartım kabına birkaç damla 1 N KOH damlatılarak ön çözme uygulandıktan sonra 150 ml'lik beher içerisine boşaltılmış ve manyet karıştırıcı üzerinde 40-50 °C'de karıştırılarak tamamen çözülmesi sağlanmıştır. Daha sonra çözeltilerin hacimleri 100 ml'ye tamamlanarak pyrex şişe içinde buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2.5.5. Stok Solüsyonlardan Yararlanarak Besi Ortamının Hazırlanması

Araştırmada kullanılan besi ortamlarının her birinin hazırlanmasında aşağıdaki yöntem izlenmiştir.

Karışım I;Derin dondurucuda muhafaza edilen 100 ml'lik makro ve mikro element stok solüsyonu, buzu çözündükten sonra magnetik karıştırıcı üzerinde bulunan 1 litrelik beher içerisine boşaltılarak iyice karıştırılmış ve üzerine stok solüsyonda bulunmayan, mikro elementler, önceden hazırlanmış olan stok solüsyonlarından gereken miktarlarda ilave edilmiştir. Ayrıca, P2 ortamına 100 ml patates ekstraktı ilave edilmiştir. Söz konusu ekstrak; hassas terazide 100 g patatesin tartılıp küçük bir kap içerisinde küçük küçük doğranıp ve iyice saf su ile yıkandıktan sonra içerisine 200 ml bidestile su konulup kaynamaya başlamasından itibaren kısık

ateşte 30 dakika kaynatıldıktan sonra, iki kez ince bezden süzülmesi ile elde edilmiştir. Karışımın hacmi bidestile su ile 750 ml'ye tamamlanmış ve önceden kalibrasyonu yapılmış olan pH metrede, 1 N KOH ve 1 N HCl yardımı ile karışımın pH'sı 5.8'e ayarlanmıştır. Karışım 250'şer mililitrelik üç eşit parçaya ayrılmış ve her parça 500 ml'lik pyrex şişelere doldurulmuştur. Magnetik karıştırıcılar üzerine yerleştirilen şişelerin her birine 2 g agar ilave edilmiş ve şişelerin ağzı kapatıldıktan sonra alimünyum folyo ile sarılmıştır. Şişeler ısıtılıp kaynama sıcaklığına yaklaştıklarında otoklava alınmışlardır. Karışım I, otoklavda 121 ^{o}C 'de 1.2 bar basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

Karışım II;Magnetik karıştırıcı üzerine yerleştirilmiş olan bir 250 ml'lik beher içerisine 50 ml çift destile su ilave edilmiş ve hazırlanacak besi ortamında bulunması gerekli olan sakkaroz behere boşaltılmış, iyice çözündükten sonra, ortamda bulunması gerekli vitaminler ve oksin dışındaki büyüme düzenleyicileri ilave edilmiştir. Karışımın hacmi bidestile su ile 210 ml'ye tamamlandıktan sonra, çözelti 70'er ml'lik üç eşit parçaya ayrılmış ve her birisi 100 ml'lik behere boşaltılmıştır. Eşit hacimdeki üç çözeltiden birisine 2 mg/l olacak şekilde 2,4-D, birisine 2 mg/l Dicamba ve bir diğerine ise 2 mg/l Picloram ilave edilmiştir. Daha sonra her bir çözeltinin son hacmi bidestile su ile 83.3 ml'ye tamamlanmıştır. Her bir karışım II çözeltisinin pH'sı 1 N KOH ve 1 N HCl çözeltilerinin yardımı ile 5.8'e ayarlanmıştır. Daha sonra karışım II çözeltileri steril kabin içerisinde, ucunda steril 0.2 m delik çapına sahip steril filtre takılı emme basma pompası vasıtası ile steril pyrex cam şişeler içerisine filtre edilmiştir.

Otoklavdan çıkarılan karışım I çözeltileri steril kabin içerisinde bulunan magnetik karıştırıcılar üzerine yerleştirilmiş ve karışımların sıcaklığı 60-70 ^{o}C civarına geldiğinde her birisine karışım II çözeltilerinin birisi ilave edilmiş ve iyice karıştırılmıştır. Hazır hale gelen üç farklı besi ortamı, kabin içerisinde ucunda steril pipet bulunan bir pipet pompası yardımı ile, 60 x 15 mm boyutlarındaki steril cam kültür kaplarına 7'şer ml boşaltılmıştır. Kültür kapları içindeki besi ortamının sıcaklığı oda sıcaklığına düşüp katılaştığında, kültür kapları plastik muhafaza kutuları içine yerleştirilmiş ve en erken 24 saat sonra kullanılmak üzere oda sıcaklığında muhafaza edilmişlerdir.

3.2.6. Başakların Sterilizasyonu ve Anterlerin Besi Ortamına Yerleştirilmesi

Soğuk uygulama süresi tamamlanan başaklar, çeşme suyu ile çalkalandıktan sonra, steril kabin içerisinde önce % 96'lık alkol ile 1 dakika çalkalanmış, daha sonra yüzey gerilimini azaltmak için içine birkaç damla Tween 20 ilave edilmiş olan % 10'luk sodyum hypoklorit çözeltisi içinde 15 dakika süre ile çalkalanarak sterilize edilmişlerdir. Bu işlemlerden sonra başaklar en az 4 kez steril destile su ile yıkanmış ve şişelere sadece başağın altındaki boğumu ıslatacak miktarda steril saf su ilave edilmiştir.

Sterilize edilen başaklar uzun bir pens yardımı ile şişeden çıkarılıp başağı saran kılıf çıkarılmış ve başak steril kabin içersine gerekli sterilizasyon işlemleri yapılarak yerleştirilmiş olan binokülere yerleştirilmiştir. Alt ve üstteki henüz tam gelişmemiş 3-4 başakçık haricindeki başakçıklardaki anterler çiçeklerden steril pensler yardımıyla çıkarılmış ve her birisinde üç farklı oksin içeren iki farklı temel besi ortamı kombinasyonundan (6 farklı kombinasyon) birisi bulunan steril cam petrilerin (60 x 15 mm) içine 30'şer tane olacak şekilde yerleştirilmiştir. Petrilerin etrafı parafilmle sarılmış ve üzerine genotip, besi ortamı kombinasyonu ve kültüre alma tarihi yazılmıştır.

3.2.7. Anterlerden Embriyoid Oluşumu

Kültür ortamına yerleştirilen anterler 28 °C sıcaklık ve % 70 oransal nem koşullarının sağlandığı Nüve Marka ID 500 model iklim dolaplarında inkübe edilmiştir. Anterlerden embriyoid ve/veya kalluslar oluştuktan sonra her petri kutusunda embriyoid ve /veya kallus oluşturan anterlerin (reaksiyon gösteren anterler) sayısı saptanmıştır. Daha sonra bu değerler 100 anter başına reaksiyon gösteren anter sayısı olarak hesaplanmıştır.

3.2.8. Bitki Rejenerasyonu

İndüksiyon süresi sonunda oluşan embriyoid ve kalluslar rejenerasyon ortamına aktarılmıştır. Rejenerasyon ortamı olarak Henry ve De Buyser (1990) tarafından önerilen rejenerasyon ortamı (Çizelge 3.3) kullanılmıştır. Söz konusu ortamın hazırlanmasında indüksiyon ortamlarının hazırlanmasında kullanılan yöntemler kullanılmıştır.

Aktarılan kültürler bitkicikler oluşuncaya kadar indüksiyon koşullarında muhafaza edilmiş, daha sonra 25 ^{o}C'de ve 16 saatlik 1500 lüx ışık koşullarını sağlayan iklim odasına yerleştirilmiştir. Petri kapları içersinde rejenere olan bitkicikler yeterince geliştiğinde, her petri kutusunda oluşan toplam bitkicik sayısı, yeşil bitkicik sayısı ve albino bitkicik sayısı saptanmış ve bu bitkicik sayıları ortama konulan 100 anter başına bitkicik sayısı olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 3.3.. Kullanılan Rejenerasyon ve Gelişme Ortamlarının Bileşimleri

Bileşik	**Rejenerasyon Ortamı mg/l**	**Gelişme Ortamı mg/l**
KNO_3	950	1000
$Ca\ (NO3)_2.4H_2O$	-	500
$MgSO_4.7H_2O$	-	71.5
$(NH_4)_2SO4$	185	-
KH_2PO_4	85	300
KCl	-	65
NH_4NO_3	825	1000
$CaCl_2.2H_2O$	220	-
$FeSO_4.7H_2O$	13.9	13.9
Na_2EDTA	18.6	18.6
$MnSO_4.4H_2O$	22.3	4.9
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6	2.7
H_3BO_3	6.2	1.6
KI	0.83	0.75
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	-
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	-
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	-
Sucrose	20 g/l	20 g/l
Mesoinositol	100	100
Glycine	2	20
Phyridoxine.HCl	0.5	5
Thiamin.HCl	0.1	1
Nicotinik asit	0.5	5
NAA	0.5	-
IAA	-	1
Kinetin	0.5	-
Agar	6 g/l	6 g/l
pH	5.8	5.8

3.2.9. Rejenere Olan Bitkiciklerin Gelişmesi

Rejenere olan yeşil bitkicikler 25 ml gelişme ortamı bulunan cam şişelere aktarılmıştır. Gelişme ortamı olarak Henry ve De Buyser (1990) tarafından önerilen ortam (Çizelge 3.3) kullanılmıştır. Söz konusu ortamın hazırlanmasında; ortam bileşenlerinin stok solüsyonları ve şeker içersinde 1 lt'lik beher içerinde çözülmüş ve son hacim 1000 ml'ye tamamlandıktan sonra çözeltinin pH'sı 1 N KOH ve 1 N HCl çözeltilerinin yardımı ile 5.8'e ayarlanmıştır. Çözelti üzerine agar ilave edildikten sonra bir magnet karıştırıcı üzerinde kaynama derecesine kadar ısıtılmış. Kaynama derecesindeki çözelti bir pipetör yardımıyla her birisine 30 ml olacak şekilde cam büyütme şişelerine boşaltılmış ve şişelerin ağızları otoklava dayanıklı plastik kapaklarla kapatılmıştır. Daha sonra içersinde gelişme ortamı bulunan şişeler otoklavda 121 ^{o}C 'de 1.2 bar basınç altında 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Otoklavdan çıkartılan şişeler kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında dolaplarda muhafaza edilmiştir.

Steril kabin içersinde her bir petri kutusunda sayımı yapılan yeşil bitkicikler 2-3'erli gruplar halinde içersinde gelişme ortamı bulunan büyütme şişelerine aktarılmıştır. Gelişme ortamında 1500 lüx ışıklanma ve 25 ^{o}C'de muhafaza edilen bitkicikler, yeterince geliştikten sonra, bu şişelerden çıkartılarak saksılara şaşırtılmıştır. Saksılara şaşırtılan bitkiler bir hafta süre ile plastik örtü altında muhafaza edilmiş ve ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

3.2.10 Araştırmada Elde Edilen Verilerin Değerlendirilmesi

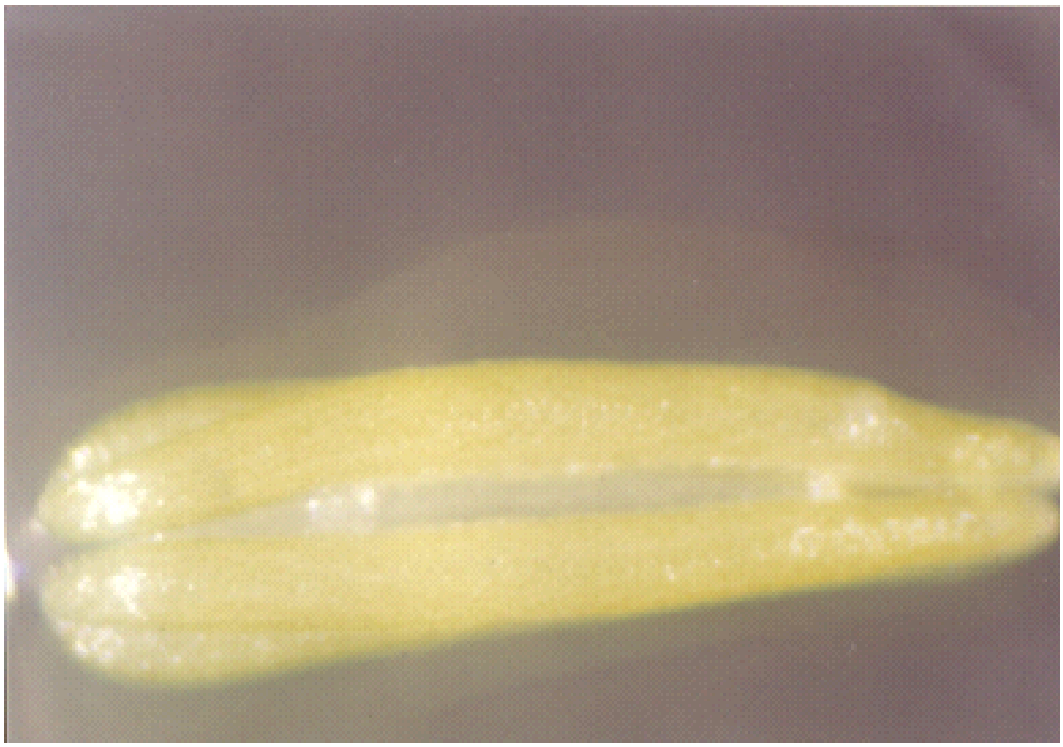
Araştırmadan elde edilen veriler tesadüf bloklarında, bölünen bölünmüş parseller deneme desenine uygun olarak, MSTATC istatistik paket programından yararlanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur. Reaksiyon oranı ile ilgili verilere varyans analizi uygulanmadan önce Arcsin $\sqrt{x + 0.001}$ transformasyonu, rejenerasyon oranı, yeşil bitki rejenerasyon oranı ve albino bitki rejenerasyon oranı değerlerine ise $\sqrt{x + 0.5}$ transformasyonu uygulanmıştır. Varyans analizi sonucu önemli çıkan genotip ortalamaları ve genotip X besi ortamı, genotip x oksin çeşidi ve

besi ortamı x oksin çeşidi interaksiyonlarının karşılaştırılmasında Duncan testi, oksin çeşidi ortalamalarının karşılaştırılmasında ise LSD testi kullanılmıştır.

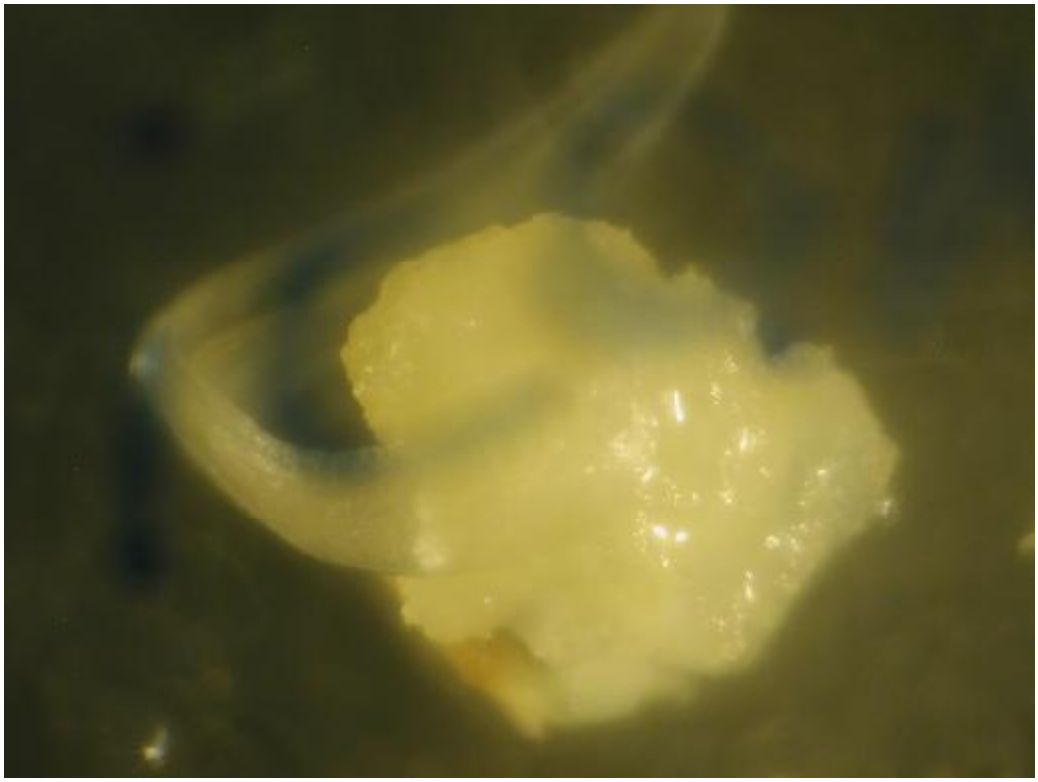
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Reaksiyon Gösteren Anter Oranı

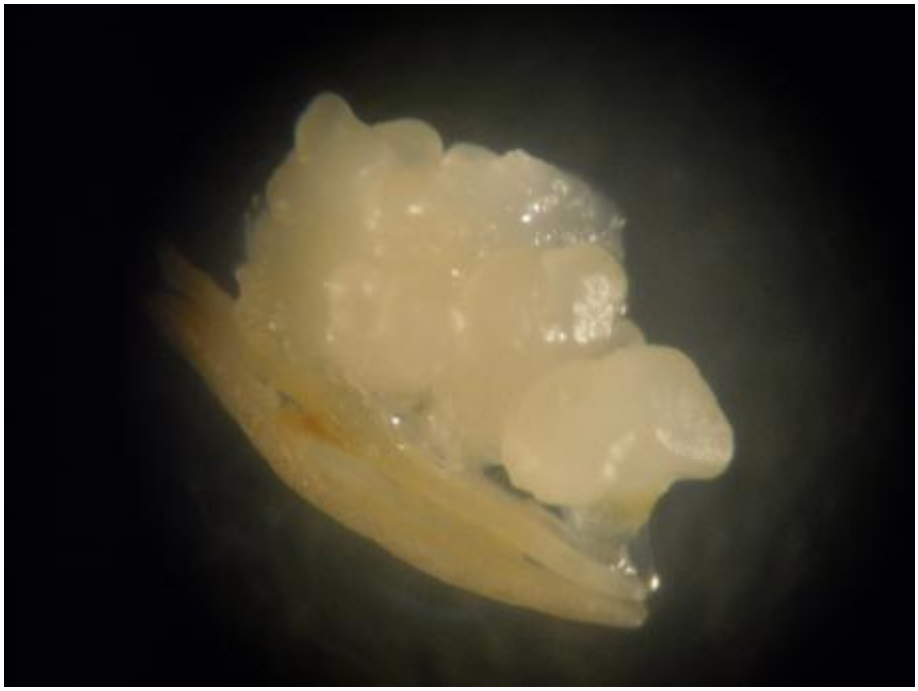
Kültür başlangıcından bir hafta sonra yapılan gözlemlerde, anterlerde büyüme ve şişme olduğu ve anterlerin beyazlaştığı gözlemlenmiştir (Şekil 4.1). Anter yüzeyinde kallus ve embriyoidlerin görülmesi olayı en erken kültür başlangıcından iki hafta sonra, en geç dört hafta sonunda yapılan gözlemlerde ortaya çıkmıştır. Dört haftanın sonunda yapılan gözlemlerde bazı anterlerde sadece kallus (Şekil 4.2), bazılarında sadece embriyoid (Şekil 4.3), bazılarında ise hem embriyoid hem de kallus oluşumu gözlenmiştir (Şekil 4.4).



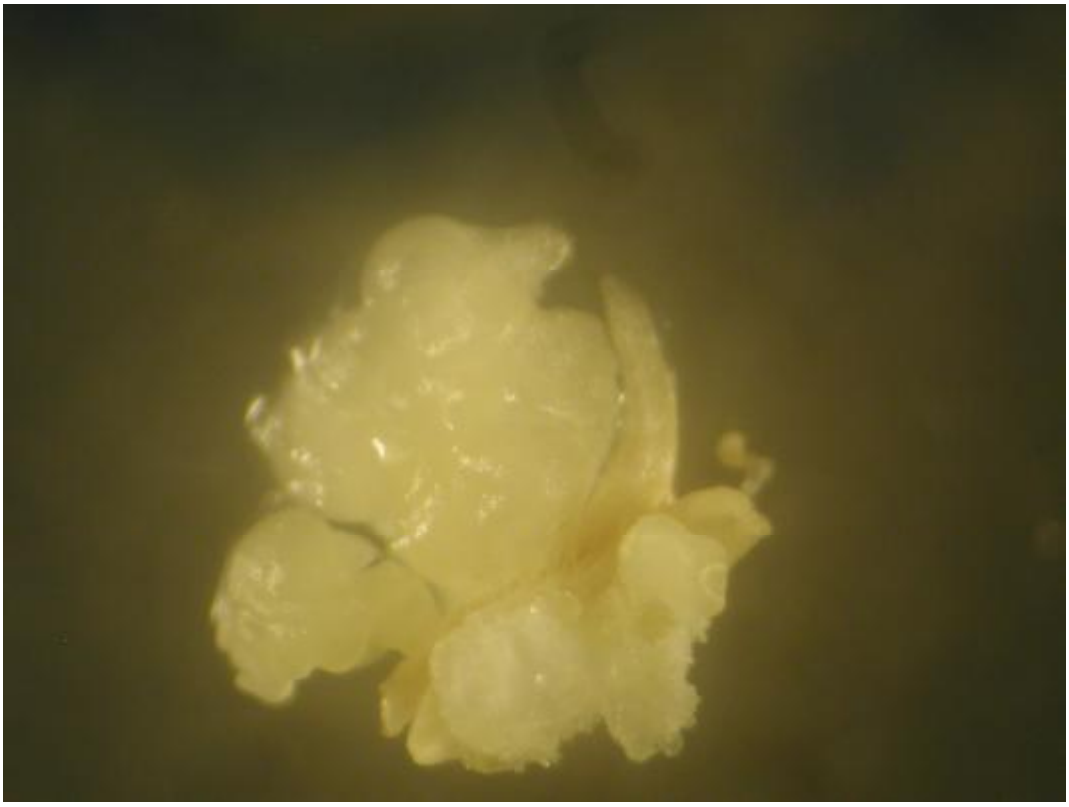
Şekil 4.1. Kültüre Alınan Anterlerde Şişme ve Beyazlaşma (Kültür başlangıcından bir hafta sonra)



Şekil 4.2. Kültüre Alınan Anterlerde Kallus Oluşumu (Kültür başlangıcından dört hafta sonra)



Şekil 4.3. Kültüre Alınan Anterlerde Embriyoid Oluşumu (Kültür başlangıcından dört hafta sonra)



Şekil 4.4. Kültüre Alınan Anterlerde Kallus ve Embriyoid Oluşumu (Kültür başlangıcından dört hafta sonra)

Farklı buğday genotiplerinden alınan ve farklı oksinleri içeren farklı besi ortamlarında kültüre alınan anterlerde saptanan reaksiyon oranı değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelgede izlendiği gibi, genotip faktörü anter reaksiyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemiştir. Ayrıca besi ortamı x oksin ve besi ortamı x genotip interaksiyonlarının istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya çıkmıştır.

Araştırmada, tüm uygulamaların ortalaması olarak saptanan anter reaksiyon oranı % 2.6 olmuştur (Çizelge 4.2). Bu değer, Andersen ve ark. (1987), Sesek ve ark. (1988), Hatipoğlu ve Doğramacı. (1995), Hatipoğlu ve ark. (1998), Altıntaş ve ark.(2005) ve Condic-Spika ve ark. (2008)'nın saptadığı değerlerin altındadır. Araştırmamızda literatürde bildirilen değerlerin altında anter reaksiyon oranı elde edilmesine neden olarak, araştırmalarda incelenen genotiplerin farklılığı, donor bitkilerin yetişme koşulları arasındaki farklıklılar ve in vitro kültür koşullarının farklılığı gösterilebilir.

Çizelge 4.1. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Reaksiyon Oranı (%) İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması	F-Değeri
Tekerrür	3	75.056	3.5201
Besi Ortamı	1	37.921	1.7785
Hata1	3	21.322	
Oksin	2	11.227	0.6921
Besi Ortamı X Oksin	2	95.703	5.8993 *
Hata2	12	16.223	
Genotip	16	103.916	4.5754**
Besi Ortamı X Genotip	16	39.709	1.7484*
Oksin X Genotip	32	23.942	1.0542
Besi Ortamı X Oksin X Genotip	32	17.189	0.7568
Hata3	288	22.712	
Genel	407		

*) P≤ 0.05 Hata Sınırları İçersinde Önemli; **) P≤ 0.01 Hata Sınırları İçersinde Önemli

Araştırmada incelenen iki farklı temel besi ortamı (P2 ve N6) anter reaksiyon oranında istatistiksel olarak önemli bir farklılık yaratmamıştır. (Çizelge 4.1) Nitekim P2 ortamında kültüre alınan antrelerin ortamla % 2.9'u kallus ve/veya embriyoid oluşturmasına karşılık, N6 ortamında kültüre alınan anterlerin ortalama % 2.3'ü kallus ve/veya embriyoid oluşturmuştur (Çizelge 4.2). Bu bulgu, ekmeklik buğday anter kültüründe reaksiyon oranı ve rejenarsyon açısından P2 ortamının 85D12 ortamından daha üstün olduğunu saptayan Hatipoğlu ve Doğramacı (1995) ve Agurto (1998)'nun bulgularından ve MN6 (sukroz yerine maltoz içeren N6 ortamı) ortamının P2 ve Liang ortamından daha üstün olduğunu saptayan Agurto (1998)'nun bulgularından farklılık göstermektedir. Ekmeklik buğday anter kültüründe P2 ve değiştirilmiş MS ortamı arasında anter reaksiyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli farklılık olmadığını saptayan Can ve ark. (2002)'nın bulguları ise bu araştırmada saptanan bulguyu desteklemektedir.

Araştırmada test edilen üç farklı oksin (2,4-D, Dicamba ve Picloram) anter reaksiyon oranında istatistiksel olarak önemli bir farklılık yaratmamıştır (Çizelge 4.1). Nitekim, 2,4-D içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerin ortalama reaksiyon oranı % 2.7 olmasına karşılık, Dicamba içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerde

Çizelge 4.2. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Reaksiyon Oranı Ortalamaları (%)

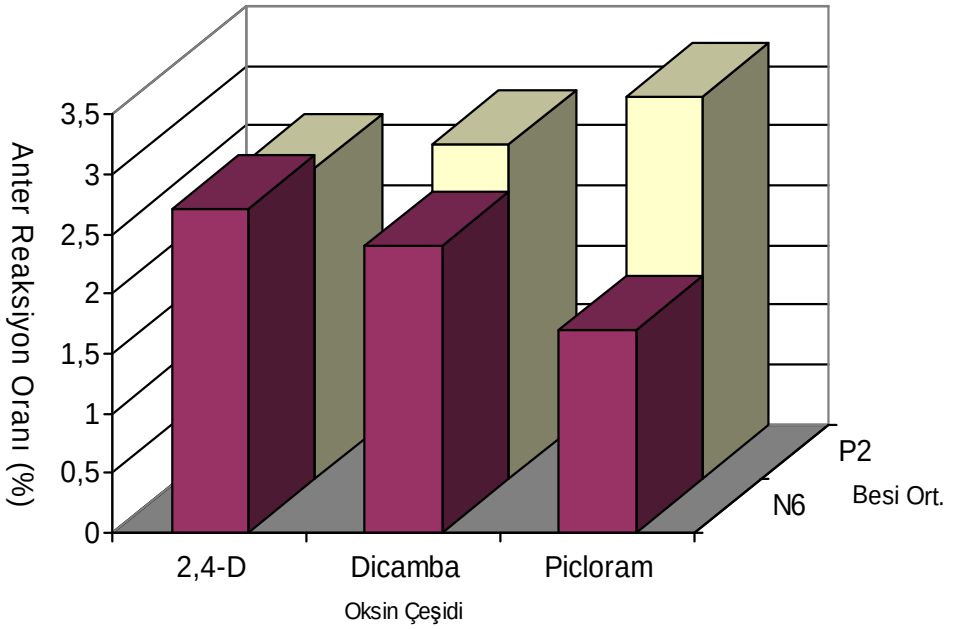
Genotip	P2				N6				Ortalama
	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	
Esperial x Sensos	1.8	2.5	5.8	3.4 B-D*	1.9	4.4	2.5	3.0 AB*	3.2 B-D*
Esperial xTosunbey	2.7	3.8	3.7	3.4 B-D	3.4	2.3	0.8	2.2 AB	2.8 B-D
Esperial x A.Odeskaya	1.9	3.7	2.9	2.9 B-D	3.4	1	1.2	1.9 AB	2.4 B-E
Esperial x 1013	2.5	15.0	9.6	9.0 A	3.2	2.9	3.1	3.0 AB	6.0 A
Esperial x Kr.Odeskaya	1.8	0.6	1.7	1.4 C-E	2.7	1.9	0.4	1.7 AB	1.5 D-F
Esperial x Alora	4.1	0.8	3.6	2.9 B-D	1.6	1.7	2.1	1.8 AB	2.3 B-E
Esperial x Özkan	6.7	4.9	2.7	4.8 B	3.9	4.2	2.5	3.5 A	4.1 AB
Esperial x Bologna	4.2	0.0	1.3	1.8 DE	1.9	0.6	0.8	1.1 B	1.4 EF
Esperial	0.0	0.0	0.8	0.3 E	1.1	0.8	1.3	1.1 B	0.7 F
Kr.odeskaya	2.4	2.7	4.2	3.1 B-D	1.3	1.4	2.0	1.6 AB	2.3 B-E
Tosunbey	2.1	1.8	1.7	1.9 C-E	3.3	1.8	0.8	2.0 AB	1.9 C-E
1013	0.8	1.7	3.6	2.0 C-E	2.3	1.9	1.3	1.8 AB	1.9 C-E
Bologna	4.1	3.9	3.1	3.7 BC	3.7	4.6	1.9	3.4 A	3.5 AB
Alora	3.4	2.0	3.7	3.0 B-D	3.8	2.3	2.0	2.7 AB	2.9 A-C
Özkan	2.8	1.3	1.2	1.8 C-E	1.9	1.3	2.0	1.7 AB	1.7 C-E
Sensos	0.0	1.7	2.4	1.3 D-E	3.1	3.1	3.1	3.1 A	2.2 B-E
Sagittario	3.0	1.3	2.6	2.3 B-D	3.6	3.7	1.1	2.8 AB	2.6 B-E
Ort	2.6	2.8	3.2	2.9	2.7 A+	2.4 AB	1.7 B	2.3	2.6
	2,4-D	2.7							
	Dicamba	2.6							
	Picloram	2.5							

+) Aynı satır içersinde benzer büyük harfile gösterilen ortalamalar LSD testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.
*) Aynı sütun içersinde benzer büyük harfile gösterilen ortalamalar Duncan testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

bu oran % 2.6 ve Picloram içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerde ise % 2.5 olarak gerçekleşmiştir.

Araştırmada 2,4-D dicamba ve piclorama göre daha yüksek anter reaksiyon oranı sağlamasına karşılık, oksinler ararsındaki bu farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu bulgular inceledikleri 7 oksin arasında 2,4-D'nin kallus indüksiyonu açısından daha üstün olduğunu saptayan Hassawi ve ark. (1990)'nın bulguları ile uyuşmamaktadır.

Varyans analizi sonuçları, anter reaksiyon oranı açısından besi ortamı x oksin interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.1). Bu sonuç, oksinlerin anter reaksiyon oranı üzerindeki etkisinin besi ortamlarına bağlı olarak farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Nitekim, P2 ortamında incelenen oksinlerin anter reaksiyon oranı üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemi olmamasına karşılık, N6 ortamında 2,4-D içeren ortamlarda ortalama anter reaksiyon oranı picloram içeren ortamlardaki ortalamaya göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Buğday Anter Kültüründe Farklı Oksinlerin Farklı Besi Ortamlarında Anter Reaksiyon Oranına Etkisi

Dicamba içeren ortamlarda saptanan ortalama anter reaksiyon oranı ise 2,4-D ve picloram içeren ortamlarda saptanan ortalamadan istatistiksel olarak farksız olmuştur.

Araştırmada incelenen 17 buğday genotipinin anter reaksiyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli derecede farklılık gösterdiği ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.1). İncelenen genotipler arasında yer alan Esperial x 1013 melezi % 6'lık anter reaksiyon oranı ortalaması ile en yüksek anter reaksiyon oranı ortalaması gösteren genotip olmuştur (Çizelge 4.2). Söz konusu genotip Esperial x Özkan, Bologna ve Alora dışındaki diğer tüm genotiplerden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek anter reaksiyon oranı göstermiştir. Esperial genotipi ise % 0.7 anter reaksiyon oranı ortalaması ile incelenen genotipler arasında en düşük anter reaksiyon oranı ortalaması gösteren genotip olmuştur. Esperial x Kr. Odeskaya ve Esperial x Bologna melezleri de Esperial genotipinden istatistiksel olarak farklı olmayan anter reaksiyon oranı ortalaması göstermişlerdir. Esperial ve 1013 genotiplerinin anter reaksiyon oranı açısından düşük reaksiyon gösteren genotipler olmasına karşılık, bu iki genotipin melezinin her iki ebeveynden daha yüksek anter reaksiyon oranı göstermesi, bu melezlemede heterosis ortaya çıktığını göstermektedir (Acquaah, 2007).

Anter reaksiyon oranının genotiplere bağlı olarak farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Foroughi Wehr ve Zeller (1990), Rakoczy ve ark. (1997), ,Hatipoğlu ve ark. (1998), Holme ve ark. (1999), Chaudhary ve ark. (2003), Hassawi ve ark (2005), Kim ve Baenziger (2005), Dağüstü (2008) ve Al-Ashkar (2013)'ın bulgularını desteklemektedir.

Varyans analizi sonuçları anter reaksiyon oranı açısından besiortamı× genotip interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.1) Bu sonuç, genotiplerin anter reaksiyon oranlarının besi ortamlarına bağlı olarak önemli derecede farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Nitekim, P2 ortamında Esperial x 1003 melezi incelenen diğer 16 genotipe göre önemli derecede daha yüksek anter reaksiyon oranı ortalaması (% 9.0) göstermesine karşılık, N6 ortamında aynı genotip diğer genotiplerden istatistiksel olarak farklılık göstermeyen anter reaksiyon oranı ortalaması göstermiştir (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.6).

P2 ortamında anter reaksiyon oranı açısından alt sıralarda yer bulan Bologna, Sensos ve Sagittario genotipleri N6 ortamında üst sıralarda yer almışlar ve Esperial x Bologna ve Esperial genotiplerine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek, diğer genotiplerden ise istatistiksel olarak farklı olmayan anter reaksiyon oranı ortalaması göstermişlerdir

Araştırmada, anter reaksiyon oranı açısından besi ortamı x genotip interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olması ile ilgili bulgular Agurto (1998) ve Can ve ark. (2002)'nın bulgularını destekler niteliktedir.

4.2. Bitki Rejenerasyon Oranı

Kültür başlangıcından 6–7 hafta sonra anterlerden oluşan kallus ve embriyoidler, rejenerasyon ortamına aktarıldıktan sonra, genellikle 7–10 gün içerisinde karanlık koşullarda sürgün ve kökçükleri bulunan küçük bitkicikler ortaya çıkmıştır (Şekil 4.7).

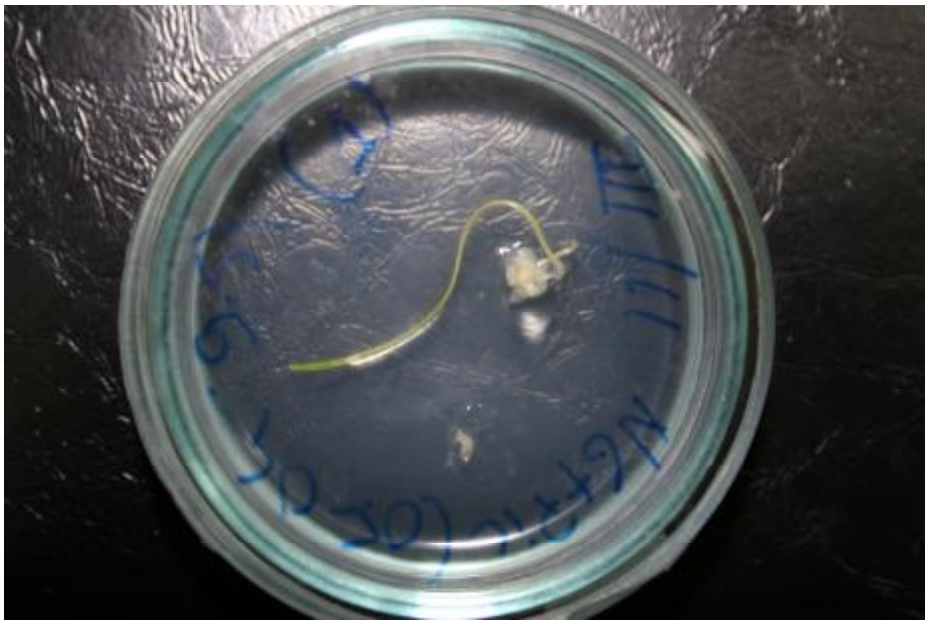


Şekil 4.7. Kallus ve Embriyoidlerden Rejenere Olan Bitkicik (Kültür başlangıcından 6 hafta sonra)

Embriyoid ve kalluslardan bitki rejenerasyonu ile ilgili gözlemlerimiz Feng ve Quyang (1989)'ın gözlemleri ile uyum içinde bulunmaktadır

Bazı embriyoid ve kalluslardan uzun süre rejenerasyon gerçekleşmemiştir. Bu embriyoid ve kalluslar yeniden rejenerasyon ortamına aktarılmışlardır. Yeniden rejenerasyon ortamına aktarılan bu embriyoid ve kalluslardan bazıları ikinci ortamda rejenere olmalarına karşılık, bazıları koyu bir renk alarak canlılıklarını kaybetmişlerdir. İkinci rejenerasyon ortamında kallus ve embriyoidlerden bitki rejenerasyonu ile ilgili gözlemlerimiz Pauk ve ark. (1991)'nın gözlemleri ile uyum içinde bulunmaktadır. Bazı embriyoid ve kallusların rejenerasyon ortamında ölümü ile ilgili gözlemler Andersen ve ark. (1987) tarafından da belirtilmektedir..

Karanlık koşullardan ışıklı ortama aktarılan bitkiciklerin çoğunda 2–3 günde klorofil oluşumu gerçekleşmiş ve yeşil renk almışlardır (Şekil 4.8). Rejenerasyon ortamında iyi gelişme göstererek yeterli büyüklüğe erişen bitkicikler 2-3 hafta sonra gelişme ortamına aktarılmışlardır.



Şekil 4.8. Gelişme Ortamına Aktarılabilecek Hale Gelmiş Yeşil Bitki (Kültür başlangıcından 8 hafta sonra)

Bazı bitkilerde ise klorofil oluşumu gerçekleşmemiş ve bu bitkiler daha sonra kuruyarak ölmüşlerdir. Gelişme ortamına aktarılan bitkicikler 4 hafta içinde

yeterince büyüyerek saksıya aktarılabilecek hale gelmişler (Şekil 4.9) ve küçük saksılara aktarılmışlardır (Şekil 4.10).



Şekil 4.9. Gelişme Ortamında Saksıya Aktarılacak Hale Gelmiş Yeşil Bitkiler (Kültür başlangıcından 12 hafta sonra)



Şekil 4.10. Saksılara Aktarılmış Olan Yeşil Bitkiler (Kültür başlangıcından 12 hafta sonra)

Farklı oksinleri içeren farklı besi ortamlarında kültüre alınan farklı buğday genotiplerine ait anterlerde saptanan bitki rejenerasyon oranı değerlerine uygulanan varyans analizi sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Rejenerasyon Oranı (bitkicik/100 anter) İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması	F-Değeri
Tekerrür	3	1.079	3.265
Besi Ortamı	1	.0.04	0.013
Hata1	3	0.330	
Oksin	2	5.839	7.220**
Besi Ortamı X Oksin	2	0.812	1.004
Hata2	12	0.809	
Genotip	16	3.026	4.160**
Besi Ortamı X Genotip	16	3.092	4.251**
Oksin X Genotip	32	1.370	1.884**
Besi Ortamı X Oksin X Genotip	32	1.348	1.854**
Hata3	288	0.727	
Genel	407		

**) P≤ 0.01 Hata Sınırları İçersinde Önemli

Çizelgede izlendiği gibi, oksin çeşidi ve genotip bitki rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemiştir. Ayrıca, besi Ortamı x genotip, oksin x Genotip ve besi ortamı x oksin x genotip interaksiyonlarının bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya çıkmıştır.

Araştırmada tüm uygulamaların ortalaması olarak, kültüre alınan 100 anter başına 1.7 bitki elde edilmiştir (Çizelge 4.4). Saptanan bu ortalama bitki rejenerasyon oranı Altıntaş ve ark. (2005)'nın Seri 82 ve Genç 99 çeşitleri ile sürdürdükleri araştırmalarda elde ettikleri ortalama bitki rejenerasyon oranı değerinin (7.2 bitki/100 anter) altında, Hatipoğlu ve ark. (1998)'nın 7 buğday genotipi ile sürdürdükleri araştırmada saptadıkları ortalama bitki rejenerasyon oranının ise üzerindedir. Bu duruma neden olarak, kullanılan besi ortamı, genotip ve donor bitkilerin yetişme koşullarının farklı olması gösterilebilir.

Çizelge 4.4. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (%)

Genotip	P2				N6				Ortalama
	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	
Esperial x Sensos	1.3 cd*	0.0 d	8.3 cd	3.2 B[1]	0.0 d	0.0 d	2.5 cd	0.8 BC[1]	2.0 BC[1]
Esperial xTosunbey	0.0 d	0.0 d	0.4 cd	0.1 B	0.0 d	1.8 cd	0.8 cd	0.9 A-C	0.5 BC
Esperial x A.Odeskaya	0.5 cd	1.8 cd	1.3 cd	1.2 B	2.5 cd	0.0 d	0.0 d	0.8 BC	1.0 BC
Esperial x 1013	0.0 d	33.3 a	24.7 a	19.4 A	1.7 cd	2.9 cd	0.0 d	1.5 A-C	10.4 A
Esperial x Kr.Odeskaya	0.6 cd	1.3 cd	0.8 cd	0.9 B	0.0 d	0.8 cd	0.0 d	0.3 BC	0.6 BC
Esperial x Alora	0.0 d	0.0 d	2.2 cd	0.7 B	0.0 d	0.0 d	4.6 cd	1.5 A-C	1.1 BC
Esperial x Özkan	0.0 d	1.3 cd	0.0 d	0.4 B	3.3 cd	5.0 cd	0.0 d	2.8 A-C	1.6 BC
Esperial x Bologna	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 C	0.0 C
Esperial	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	5.0 cd	4.2 cd	2.5 A-C	1.3 BC
Kr.odeskaya	0.0 d	0.0 d	0.2 d	0.1 B	0.0 d	1.7 cd	2.5 cd	1.4 A-C	0.7 BC
Tosunbey	0.7 cd	0.5 cd	0.0 d	0.4 B	0.4 cd	1.5 cd	0.4 cd	0.8 BC	0.6 BC
1013	0.0 d	0.2 d	1.1 cd	0.5 B	1.3 cd	1.3 cd	0.0 d	0.8 BC	0.6 BC
Bologna	0.4 cd	0.0 d	1.2 cd	0.6 B	0.5 cd	12.4 b	2.0 cd	4.9 A	2.7 B
Alora	0.0 d	0.0 d	3.0 b-d	1.0 B	0.0 d	8.6 bc	5.4 cd	4.7 AB	2.8 B
Özkan	4.0 cd	1.1 cd	0.0 d	1.7 B	0.5 cd	0.0 d	0.1 d	0.2 BC	1.0 BC
Sensos	0.0 d	4.2 cd	0.0 d	1.4 B	0.0 d	2.9 cd	0.6 cd	1.1 A-C	1.3 BC
Sagittario	0.0 d	2.5 cd	0.0 d	0.8 B	0.0 d	3.3 cd	0.0 d	1.1 A-C	1.0 BC
Ort	0.4	2.7	2.5	1.9	0.6	2.7	1.4	1.5	1.7
	2,4-D 0.5 B+ Dicamba 2.7 A Picloram 2.2 A								

+) Aynı sütun içersinde benzer büyük harfile gösterilen ortalamalar LSD testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.
*) Benzer harfile gösterilen Besi Ortamı X Oksin Çeşidi X Genotip kombinasyonu ortalamaları Duncan testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.
[1])Aynı sütun içersinde aynı büyük harfile gösterilen ortalamalar Duncan testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

Varyanas analizi sonuçları, araştırmada incelenen iki temel besi ortamının bitki rejenerasyon oranında istatistiksel olarak önemli farklılık yaratmadığını göstermiştir (Çizelge 4.3). Nitekim, P2 ortamında kültüre alınan anterlerden elde edilen ortalama bitki rejenerasyon 1.9 bitki/100 anter olmasına karşılık, N6 ortamında kültüre alınan anterlerden elde edilen bitki rejenerasyon oranı ortalaması 1.5 bitki /100 anter olmuştur (Çizelge 4.4). Araştırmada elde edilen bu sonuç, Czaplicki (1994), Hatipoğlu ve Doğramacı (1995), Agurto (1998) ve Grauda ve ark. (2010)'nın bulguları ile uyumlu değildir. Bu duruma neden olarak, araştırmalar arasındaki incelenen besi ortamları, oksin içerikleri, genotipler ve donor bitkilerin yetişme koşulları açısından farklılıklar gösterilebilir.

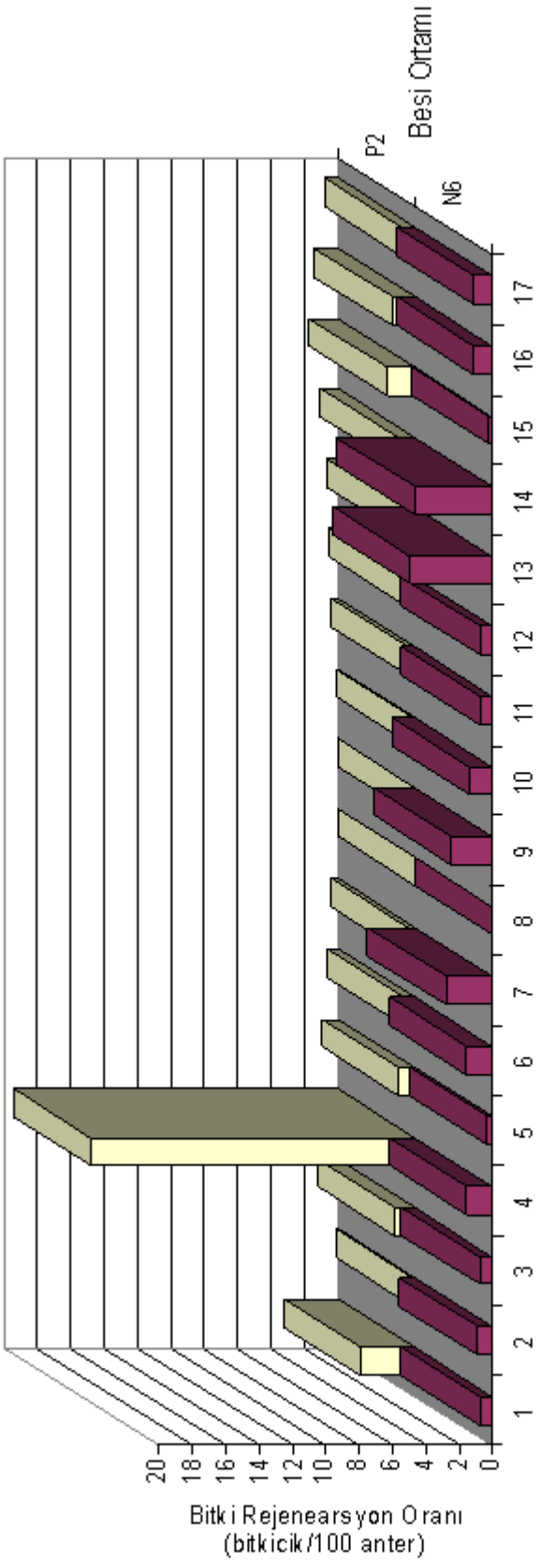
Araştırmada incelenen 3 farklı oksin bitki rejenerasyon oranında istatistiksel olarak önemli derecede farklılık yaratmıştır (Çizelge 4.3). Nitekim, 2,4-D içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerden elde edilen bitki rejenerasyon oranı ortalaması 0.5 bitki/100 anter olmasına karşılık, dicamba içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerden elde edilen bitki rejenerasyon oranı ortalaması 2.7 bitki/100 anter ve picloram içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerden elde edilen bitki rejenerasyon oranı ortalaması ise 2.2 bitki/100 anter olmuş ve dicamba veya picloram içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerin 2,4-D ortamında kültüre alınan anterlere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı gösterdikleri ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.4). Bu sonuç, 2,4-D'nin indüksiyon ortamında anter reaksiyon oranını artırdığı, ancak bitki rejenerasyon oranını düşürdüğünü saptayan Ball ve ark. (1993)'nın bulguları ile uyum içersindedir.

Araştırmada genotip faktörünün bitki rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilediği ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.3). Nitekim, genotiplere bağlı olarak bitki rejenerasyon oranı ortalaması 10.4 bitki/100 anter ile 0 bitki/100 anter arasında değişmiştir (Çizelge 4.4). Anter reaksiyon oranı açısından olduğu gibi, bitki rejenerasyon oranı açısından da Esperial x 1013 melezi 10.4 bitki,/100 anter bitki rejenerasyon oranı ortalaması ile incelenen diğer 16 genotipe göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiştir. Esperial x Bologna melezinin anterlerinden hiç bitki rejenere olmamış ve bu melezin hem baba genotipi olan Bologna çeşidinden ve hem de Alora çeşidinden istatistiksel olarak

önemli derecede daha düşük bitki rejenerasyon oranı göstermiştir. Bitki rejenerasyon oranının genotipe bağlı olarak farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız, Hatipoğlu ve Doğramacı (1995), Hatipoğlu ve ark (1998), Chaudhary ve ark. (2003), Altıntaş ve ark. (2005), Dağüstü (2008), Condic-Spica ve ark. (2008), Grauda ve ark. (2010) ve Al-Ashkar (2013)'ın bulgularını desteklemektedir.

Varyans analizi sonuçları besi ortamı x genotip interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermiştir. (Çizelge 4.3). Bu durum, genotiplerin bitki rejenerasyon oranlarının besi ortamına bağlı olarak önemli derecede farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Nitekim, P2 ortamında, Esperial x 1013 melezi dışındaki tüm genotiplerin bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı, N6 ortamında ise Bologna genotipinin Esperial x Sensos, Esperial A.Odeskaya, Esperial x Kr.Odeskaya, Esperial X Bologna, Tosunbey, 1013, ve Özkan genotiplerine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek diğer genotiplerden ise istatistiksel olarak farklı olmayan bitki rejenerasyon oranı ortalaması gösterdiği ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.11). Bu sonuç Agurto (1998)'nun bulgularını destekler niteliktedir.

Genotiplerin bitki rejenerasyon oranları indüksiyon ortamındaki oksin çeşidine bağlı olarak ta önemli derecede farklılık göstermiştir (Çizelge 4.3). Nitekim, 2,4-D içeren ortamlarda kültüre alınan farklı genotiplerin anterleri bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.12). Dicamba içeren ortamlarda Esperial x 1013 melezinin anterleri aynı ortamlarda kültüre alınan diğer genotiplerin anterlerine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir. Söz konusu ortamlarda Esperial x Sensos, Esperial x Alora, Esperial x Bologna, Kr. Odeskaya ve Özkan genotipleri Esperial x 1013 melezi yanında Bologna genotipinden de istatistiksel olarak önemli derecede daha düşük bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermişlerdir. Picloram içeren ortamda ise, Esperial x 1013 dışındaki tüm genotipler söz konusu genotipten önemli derecede daha düşük, birbirlerinden ise istatistiksel olarak farklı olmayan bitki rejenerasyon oranı ortalamaları göstermişlerdir.



1) Esperial x Sensos 2) Esperial x Tosunbey 3) Esperial x A.Odeskaya 4) Esperial x 1013 5) Esperial x Kr.Odeskaya
6) Esperial x Alora 7) Esperial x Özkan 8) Esperial x Bologna 9) Esperial 10) Kr.Odeskaya 11) Tosunbey 12) 1013
13)Bologna 14) Alora 15) Özkan 16) Sensos 17) Sagittario

Şekil 4. 11. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Besi Ortamlarındaki Bitki Rejenerasyon Oranları

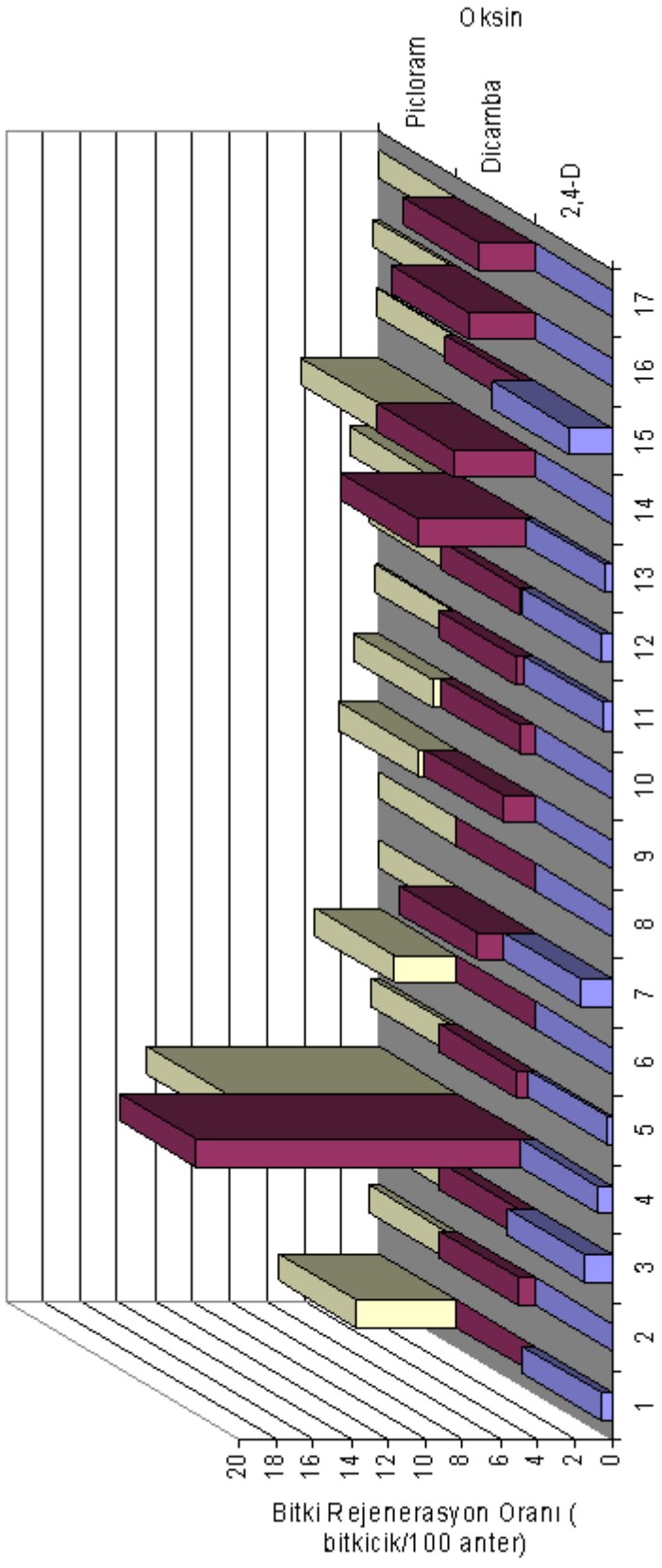
Çizelge 4.5. Farklı Oksinleri içeren Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (bitkicik/100 anter)

Genotip	Oksin Çeşidi			Ortalama
	2,4-D	Dicamba	Picloram	
Esperial x Sensos	0.6	0.0 c *	5.4 b	2.0 bc
Esperial xTosunbey	0.0	0.9 bc	0.6 b	0.5 bc
Esperial x A.odenkaya	1.5	0.9 bc	0.6 b	1.0 bc
Esperial x 1013	0.8	18.1 a	12.4 a	10.4 a
Esperial x Kr.odeskaya	0.3	1.0 bc	0.4 b	0.6 bc
Esperial x Alora	0.0	0.0 c	3.4 b	1.1 bc
Esperial x Özkan	1.7	3.1 bc	0.0 b	1.6 bc
Esperial x Bologna	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 c
Esperial	0.0	1.7 bc	2.1 b	1.3 bc
Kr.odeskaya	0.0	0.8 c	1.3 b	0.7 bc
Tosun bey	0.5	1.0 bc	0.2 b	0.6 bc
1013	0.6	0.8 bc	0.6 b	0.6 bc
Bologna	0.4	6.2 b	1.6 b	2.7 b
Alora	0.0	4.3 bc	4.2 b	2.8 b
Özkan	2.3	0.6 c	0.1 b	1.0 bc
Sensos	0.0	3.5 bc	0.3 b	1.3 bc
Sacittario	0.0	2.9 bc	0.0 b	1.0 bc
Ort	0.5 B	2.7 A	2.0 A	1.7

*) Aynı sütun içersinde benzer harf ile gösterilen ortalamalar Duncan testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

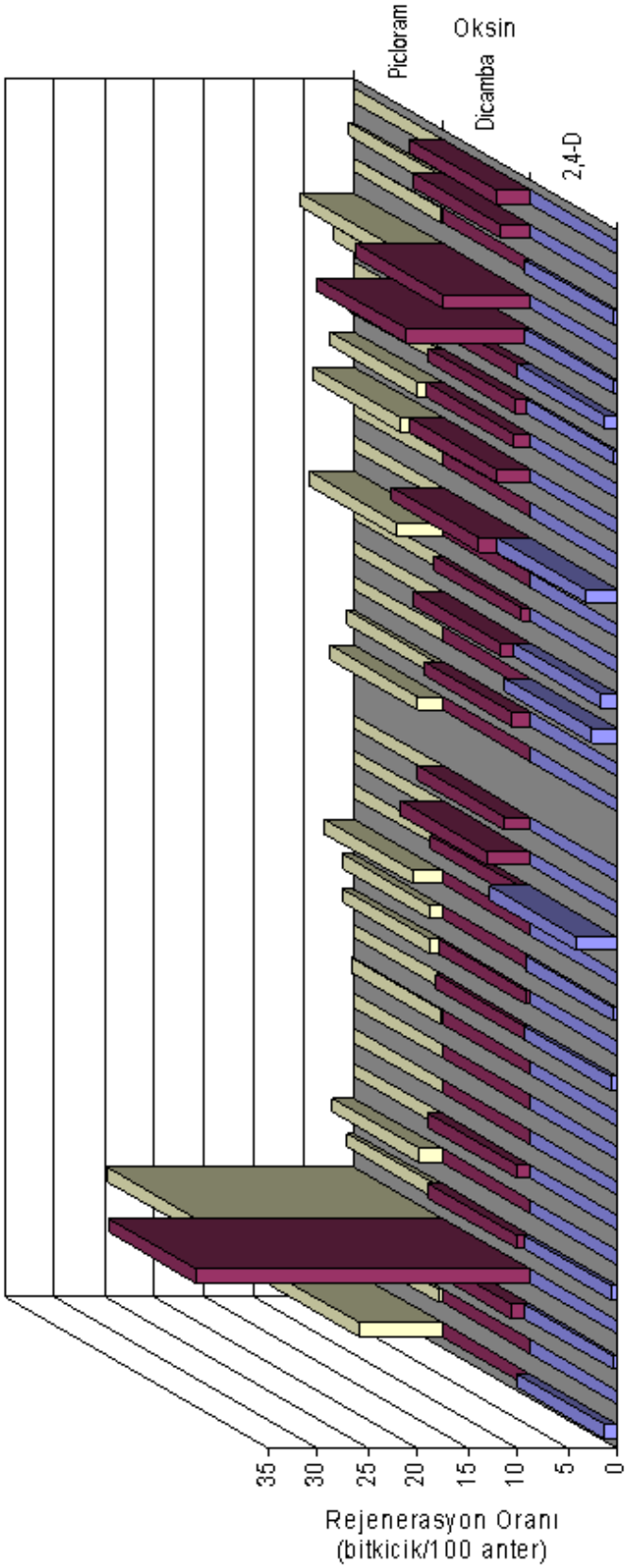
+) Aynı satır içersinde benzer büyük harf ile gösterilen ortalamalar LSD testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

Varyans analizi sonuçları besi ortamı x oksin x genotip interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermiştir. (Çizelge 4.3). Bu sonuç, araştırmada incelenen genotiplerin anter kültüründe bitki rejenerasyon oranlarının farklı oksinleri içeren farklı besi ortamlarında farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur. Nitekim, Esperial x 1013, Bologna ve Alora genotipleri dışındaki genotiplerde bitki rejenerasyon oranı farklı besi ortamı x oksin kombinasyonlarında istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermemiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.13). Esperial x 1013 melezi dicamba veya picloram içeren P2 ortamında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonlarındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiştir. Bologna genotipi ise, dicamba içeren N6 ortamında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonlarındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiştir. Alora



1) Esperial x Sensos 2) Esperial x Tosunbey 3) Esperial x A.Odeskaya 4) Esperial x 1013 5) Esperial x Kr.Odeskaya
6) Esperial x Alora 7) Esperial x Özkan 8) Esperial x Bologna 9) Esperial 10) Kr.Odeskaya 11) Tosunbey 12) 1013
13)Bologna 14) Alora 15) Özkan 16) Sensos 17) Sagittario

Şekil 4.12. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Oksinleri İçeren Besi Ortamlarında Bitki Rejenerasyon Oranları



Şekil 4.13. Farklı Oksinleri İçeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre Alınan Farklı Buğday Genotiplerinde Bitki Rejenerasyon Oranları

genotipi dicamba içeren N6 ortamında 2,4-D veya dicamba içeren P2 ortamı ve 2,4-D içeren N6 ortamındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiştir.

4.3. Yeşil Bitki Rejenerasyonu

Farklı oksinleri içeren farklı besi ortamlarında kültüre alınan farklı ekmeklik buğday genotiplerinin anterlerinden elde edilen yeşil bitki rejenerasyon oranı değerlerinde uygulanan varyans analiz sonuçları Çizelge 4.5.'de verilmiştir.

Çizelge 4.6. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Yeşil Bitki Rejenarasyon Oranı (Yeşil bitki/ 100 anter İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması	F-Değeri
Tekerrür	3	0.221	2.163
Besi Ortamı	1	0.612	5.997
Hata1	3	0.102	
Oksin	2	2.084	13.757**
Besi Ortamı X Oksin	2	0.410	2.709
Hata2	12	0.151	
Genotip	16	2.779	11.744**
Besi Ortamı X Genotip	16	2.467	10.425**
Oksin X Genotip	32	0.845	3.571**
Besi Ortamı X Oksin X Genotip	32	0.880	3.720**
Hata3	288	0.237	
Genel	407		

**) P≤ 0.01 Hata Sınırları İçersinde Önemli

Çizelgede izlendiği gibi, oksin çeşidi ve genotip yeşil bitki rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemiştir. Ayrıca, besi ortamı x genotip, oksin x genotip ve besi ortamı x oksin x genotip interakisyonlarının istatistiksel olarak önemli oldukları ortaya çıkmıştır. Besi ortamı ise yeşil bitki rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilememiştir.

Araştırmada tüm uygulamaların ortalaması olarak kültüre alınan 100 anter başına 0.76 yeşil bitki rejenere olmuştur (Çizelge 4.7). Saptanan bu yeşil bitki

Çizelge 4.7. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (yeşil bitkicik/100 anter)

Genotip	P2				N6				Ortalama
	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	
Esperial x Sensos	0.0 d*	0.0 d	0.0 d	0.0 B[1]	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B[1]	0.0 C[1]
Esperial xTosunbey	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	1.3 d	0.8 d	0.7 AB	0.3 BC
Esperial x A.Odeskaya	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
Esperial x 1013	0.0 d	30.0 a	20.6 b	16.9 A	0.0 d	1.3 d	0.0 d	0.4 B	8.6 A
Esperial x Kr.Odeskaya	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
Esperial x Alora	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
Esperial x Özkan	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
Esperial x Bologna	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
Esperial	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
Kr.odeskaya	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.6 d	0.2 B	0.1 C
Tosunbey	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
1013	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	1.3 d	0.0 d	0.4 B	0.2 C
Bologna	0.0 d	0.0 d	0.8 d	0.3 B	0.0 d	6.3 c	1.6 d	2.6 A	1.4 B
Alora	0.0 d	0.0 d	2.2 d	0.7 B	0.0 d	8.4 c	0.0 d	2.8 A	1.8 B
Özkan	2.1 d	0.0 d	0.0 d	0.7 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.3 BC
Sensos	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.7 d	0.0 d	0.2 B	0.1 C
Sagittario	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 d	0.0 d	0.0 d	0.0 B	0.0 C
Ort	0.1	1.8	1.4	1.1	0.0	1.1	0.2	0.4	0.8
	2,4-D 0.1 C+ Dicamba 1.4 A Picloram 0.8 B								

+) Aynı sütun içersinde benzer büyük harfile gösterilen ortalamalar LSD testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır

*) Benzer harfile gösterilen Besi Ortamı X Oksin Çeşidi X Genotip kombinasyonu ortalamaları Duncan testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

[1])Aynı sütun içersinde aynı büyük harfile gösterilen ortalamalar Duncan testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

rejenerasyon oranı ortalaması, Holme ve ark. (1999), Kuzeybatı Avrupa ekmeklik buğday çeşitleri için saptadıkları 0.4 yeşil bitki / 100 anter oranından daha yüksek, Doğu Avrupa ekmeklik buğday genotipleri için saptadıkları 3.6 yeşil bitki/ 100 anter oranından ise daha düşüktür. Ayrıca, araştırmada saptanan yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması Andersen ve ark. (1987)'nın 215 kışlık ekmeklik buğday genotipi için saptadıkları ortalama yeşil bitki rejenerasyon oranı değerine (1.3 yeşil bitk,/ 100 anter) ve Hatipoğu ve ark. (1998) tarafından 7 ekmeklik buğday genotipinde saptanan yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalamasına (1.2 yeşil bitki/100 anter) da yakındır. Buna karşılık, Hatipoğlu ve Doğramacı (1995), Can ve ark. (2002), Hatipoğlu ve ark. (2005), Condic-Spika ve ark. (2008) ve Al-Ashkar (2013)'ın saptadıkları ortalama yeşil bitki rejenerasyon oranı değerlerinden daha düşüktür.

P2 ortamında kültüre alınan anterlerin yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması (1.1 yeşil bitki/ 100 anter) N6 ortamında kültüre alınan anterlerin yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalamasına (0.4 yeşil bitki/100 anter) göre daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.7). Ancak, besi ortamları arasındaki yeşil bitki rejenerasyon oran ortalaması açısından ortaya çıkan bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu sonuç, Can ve ark. (2002)'nın bulgularını desteklemektedir. Buna karşılık, Hatipoğlu ve Doğramacı (1995), Agurto (1998) ve Grauda ve ark. (2010)'nın bulguları bu araştırmada saptanan söz konusu bulgularla çelişmektedir.

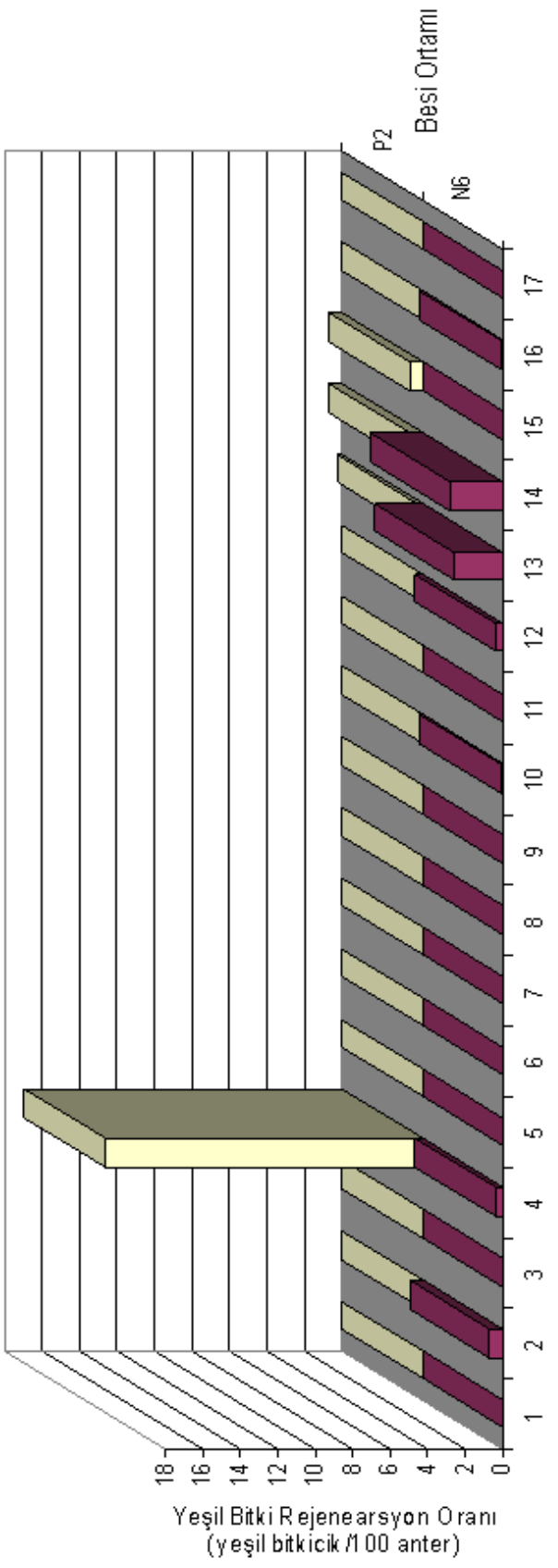
Araştırmada test edilen oksinler yeşil bitki rejenerasyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemiştir (Çizelge 4.6). Nitekim, dicamba içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerden picloram veya 2,4-D içeren ortamlarda kültüre alınan anterlere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması elde edilmiştir (Çizelge 4.7). Picloram içeren ortamlarda kültüre alınan anterler ise 2,4-D içeren ortamlarda kültüre alınan anterlere göre istatistiksel olarak daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermişlerdir. 2,4-D içeren ortamda kültüre alınan anterlerden düşük yeşil bitki rejenerasyon oranı elde edilmesi ile ilgili bulgular Ball ve ark. (1993)'nın bulgularını desteklemektedir.

Araştırmada test edilen 17 genotip yeşil bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli derecede farklık göstermiştir (Çizelge 4.6). Genotiplere

bağlı olarak yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması 0 ile 8.6 yeşil bitki/100 anter arasında değişmiştir (Çizelge 4.7). Kültüre alınan yüz anterinden ortalama 8.6 yeşil bitki rejenere olan Esperial x 1013 melezi diğer genotiplere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir. Alora ve Bologna genotipleri ise Esperial x 1013 melezinden istatistiksel olarak önemli derecede daha düşük yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermelerine karşılık, Esperial x Tosunbey, ve Özkan dışındaki genotiplerden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermişlerdir. Yeşil bitki rejenerasyon oranının genotiplere bağlı olarak farklılık göstermesi ile ilgili bulgularımız Hatipoğlu ve Doğramacı (1995), Hatipoğlu ve ark. (1998), Hatipoğlu ve ark. (2005), Dağüstü (2008), Yıldırım ve ark. (2008), Grauda ve ark. (2010) ve Al-Ashkar (2013)'ın bulguları ile uyum içerisindedir.

Varyans analizi sonuçları besi ortamı x genotip interaksiyonunun istatistiksel olarak önemli olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.6). Bu sonuç, genotiplerin yeşil bitki rejenerasyon oranlarının besi ortamına bağlı olarak önemli derecede farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır. Nitekim, P2 ortamında Esperial x 1013 melezi 16.9 yeşil bitki/100'lik yeşil bitki rejenerasyon oranı ile test edilen diğer tüm genotiplerden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.14). Söz konusu ortamda diğer genotiplerin yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması istatistiksel olarak birbirinden farksız olmuştur. N6 ortamında ise, Alora ve Bologna genotipleri Esperial x Tosunbey melezi dışındaki genotiplerden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermişler, söz konusu genotipler dışındaki genotipler arasında yeşil bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Bu sonuç, Agurto (1998) ve Can ve ark. (2002)'nin bulgularını desteklemektedir.

Varyans analizi sonuçları genotiplerin yeşil bitki rejenerasyon oranlarının indüksiyon ortamındaki oksin çeşidine bağlı olarak ta istatistiksel olarak önemli derecede farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (Çizelge 4.6). Nitekim, test edilen genotiplerin anterleri 2,4-D içeren indüksiyon ortamlarında kültüre alındığında



Şekil 4. 14. Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Besi Ortamlarındaki Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranları

genotipler arasında yeşil bitki rejenerasyon oranı açsından istatistiksel olarak önemli bir farklılık ortaya çıkmamıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.15).

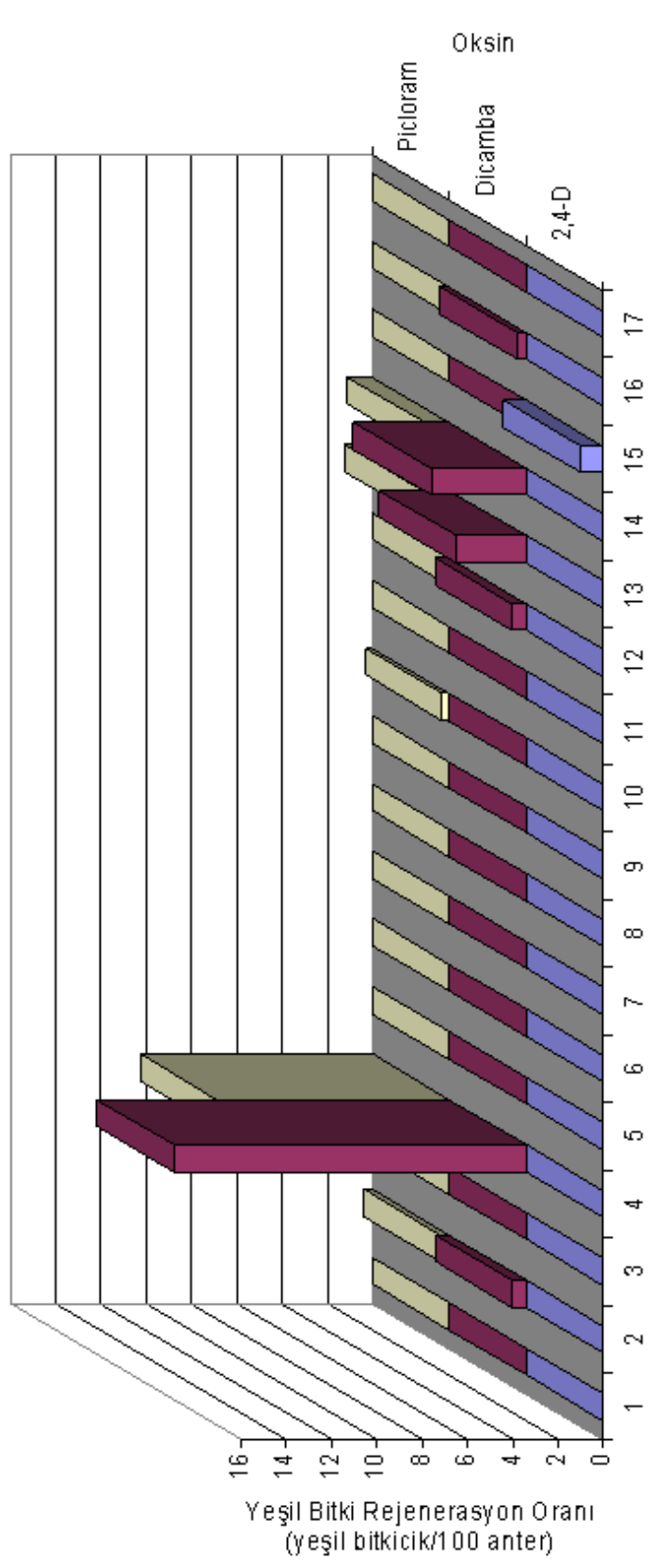
Çizelge 4.8. Farklı Oksinleri içeren Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranı Ortalamaları (yeşil bitkicik/100 anter)

Genotip	Oksin Çeşidi			Ortalama
	2,4-D	Dicamba	Picloram	
Esperial x Sensos	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C[1]
Esperial xTosunbey	0.0	0.6 c	0.4 b	0.3 BC
Esperial x A.odeskaya	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
Esperial x 1013	0.0	15.6 a	10.3 a	8.6 A
Esperial x Kr.odeskaya	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
Esperial x Alora	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
Esperial x Özkan	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
Esperial x Bologna	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
Esperial	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
Kr.odeskaya	0.0	0.0 c	0.3 b	0.1 C
Tosunbey	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
1013	0.0	0.6 c	0.0 b	0.2 C
Bologna	0.0	3.1 b	1.2 b	1.4 B
Alora	0.0	4.2 b	1.1 b	1.8 B
Özkan	1.0	0.0 c	0.0 b	0.3 BC
Sensos	0.0	0.4 c	0.0 b	0.1 C
Sagittario	0.0	0.0 c	0.0 b	0.0 C
Ort	0.1 C	1.4 A	0.8 B	0.8

*) Aynı sütun içersinde benzer harf ile gösterilen ortalamalar Duncan testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

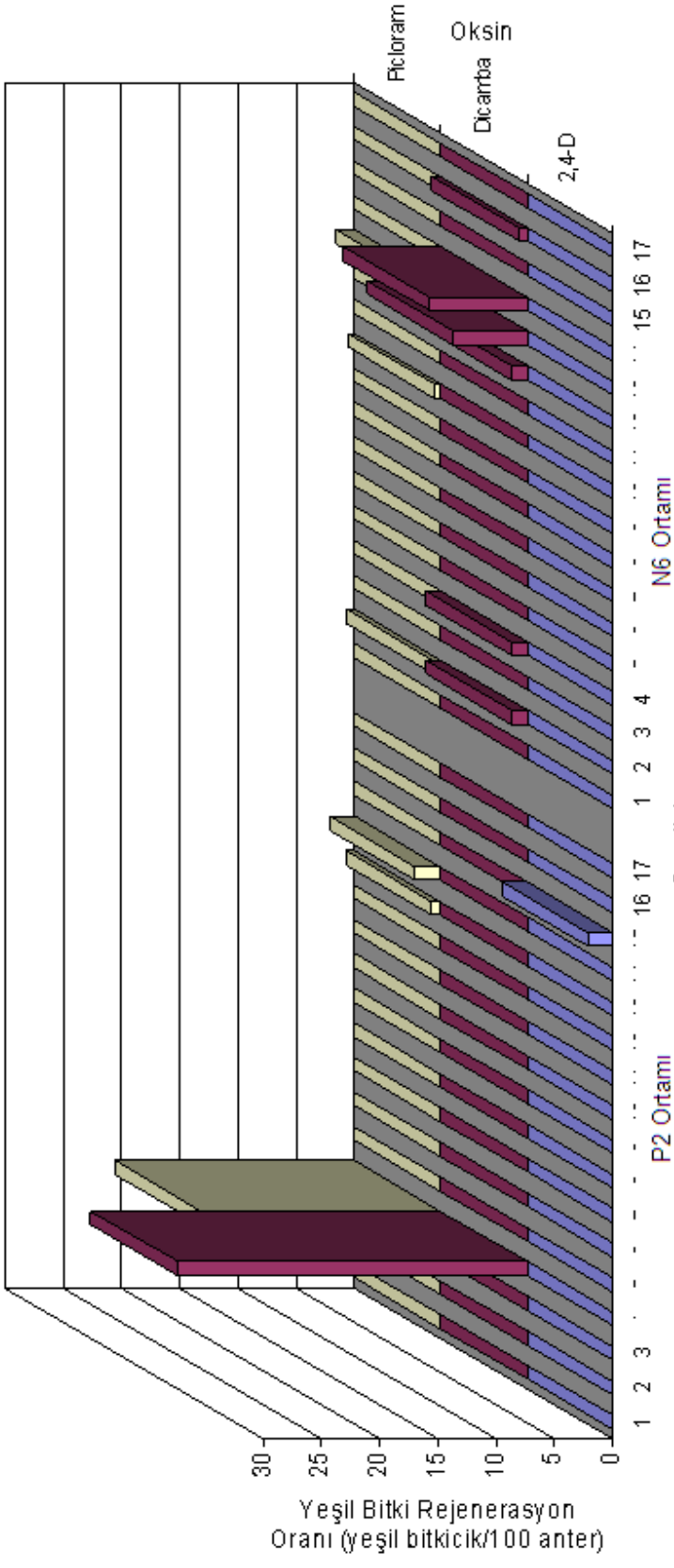
+) Aynı satır içersinde benzer büyük harf ile gösterilen ortalamalar LSD testine göre P≤ 0.05 hata sınırları içerisinde istatistiksel olarak birbirinden farksızdır.

Buna karşılık, Esperial x 1013 melezinin anterleri dicamba içeren ortamlarda kültüre alındığında test edilen diğer tüm genotiplerin anterlerinden, Bologna ve Alora genotiplerinin anterleri ise Esperial x 1013 melezi dışındaki tüm genotiplerin anterlerinden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermişlerdir. Picloram içeren indüksiyon ortamlarında ise, Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer tüm genotiplerin anterlerine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir. Söz konusu ortamlarda diğer genotipler



1) Esperial x Sensos 2) Esperial x Tosunbey 3) Esperial x A.Odeskaya 4) Esperial x 1013 5) Esperial x Kr.Odeskaya
6) Esperial x Alora 7) Esperial x Özkan 8) Esperial x Bologna 9) Esperial 10) Kr.Odeskaya 11) Tosunbey 12) 1013
13)Bologna 14) Alora 15) Özkan 16) Sensos 17) Sagitttario

Şekil 4.15 Buğday Anter Kültüründe Farklı Genotiplerin Farklı Oksinleri İçeren Besi Ortamlarında Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranları



1) Esperial x Sensos 2) Esperial x Tosunbey 3) Esperial x A.Odeskaya 4) Esperial x 1013 5) Esperial x Kr.Odeskaya
6) Esperial x Alora 7) Esperial x Özkan 8) Esperial x Bologna 9) Esperial 10) Kr.Odeskaya 11) Tosunbey 12) 1013
13)Bologna 14) Alora 15) Özkan 16) Sensos 17) Sagitttario

Şekil 4.16. Farklı Oksinleri İçeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre Alınan Farklı Buğday Genotiplerinde Yeşil Bitki Rejenerasyon Oranları

yeşil bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak birbirinden farklılık göstermemiştir.

Araştırmada test edilen genotiplerin yeşil bitki rejenerasyon oranları farklı besi ortamı x oksin kombinasyonlarında önemli derecede farklılık göstermiştir (Çizelge 4.6). Nitekim, Esperial x 1013 melezinin anterleri dicamba içeren P2 ortamında kültüre alındığında diğer tüm besi ortamı x oksin kombinasyonlarındaki göre, picloram içeren P2 ortamında kültüre alındığında ise dicamba içren P2 ortamı dışındaki tüm besi ortamı x oksin kombinasyonlarındaki göre istatistiksel olarak daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.16). Bologna ve Alora çeşitlerinin anterleri ise dicamba içeren N6 ortamında kültüre alındıklarında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonlarındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir.

4.4. Albino Bitki Rejenerasyonu

Farklı oksinleri içeren farklı besi ortamlarında kültüre alınan farklı ekmeklik buğday genotiplerinin anterlerinden albino bitki rejenerasyon oranı değerlerine uygulanan varyans analiz sonuçları (Çizelge 4.9) da verilmiştir. Çizelgede izlendiği gibi, besi ortamı, oksin ve genotip faktörleri ekmeklik buğday anterlerinden albino bitki rejenerasyon oranında istatistiksel olarak önemli bir farklılık yaratmamıştır.

Araştırmada, tüm uygulamaların ortalaması olarak kültüre alınan 100 anter başına 1 albino bitki elde edilmiştir (Çizelge 4.10). Saptanan bu ortalama değer, Hatipoğlu ve ark. (1998) ve Yıldırım ve ark. (2008)'nın saptadığı değerlerden (sırasıyla; 0.05 albino bitki /100 anter ve 0.5 albino bitki/100 anter) daha yüksek olmasına karşılık, Hatipoğlu ve Doğramacı (1995)'nun saptadığı ortalama albino bitki rejenerasyon oranından (2.7 albino bitki/100 anter) daha düşüktür.

P2 ortamında kültüre alınan anterlerden elde edilen albino bitki rejenerasyon oranı ortalaması (0.8 albino bitki/ 100 anter) N6 ortamında kültüre alınan anterlerden elde edilen albino bitki rejenerasyon oranı ortalamasından (1.1 albino bitki/100 anter) daha düşük olmuştur (Çizelge 4.10). Ancak, ortamlar arasında

Çizelge 4.9. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Albino Bitki Rejenerasyon Oranı (albino bitkicik/100 anter) İle İlgili Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Ortalaması	F-Değeri
Tekerrür	3	0.747	3.296
Besi Ortamı	1	0.445	1.964
Hata1	3	0.227	
Oksin	2	1.375	2.215
Besi Ortamı X Oksin	2	0.132	0.213
Hata2	12	0.621	
Genotip	16	0.313	0.559
Besi Ortamı X Genotip	16	0.451	0.805
Oksin X Genotip	32	0.628	1.121
Besi Ortamı X Oksin X Genotip	32	0.336	0.600
Hata3	288	0.560	
Genel	407		

albino bitki rejenerasyon oranı açısından ortaya çıkan bu farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı ortaya çıkmıştır (Çizelge 4.9).

Picloram veya dicamba içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerden 100 anter başına ortalama 1.2 albino bitki rejenere olmasına karşılık, 2.4-D içeren ortamlarda kültüre alınan anterlerden 100 anter başına ortalama 0.5 albino bitki rejenere olmuştur (Çizelge 4.10). Ancak, yapılan varyans analizi sonuçları albino bitki rejenerasyon oranı açsından farklı oksinlerin istatistiksel olarak birbirinden farklı olmadığı ortaya çıkmıştır.

Genotiplere bağlı olarak 100 anter başına albino bitki rejenerasyon oranı 0.6 ile 2.0 arasında değişmiştir (Çizelge 4.10). Esperial x Sensos ve Esperial x 1013 melezleri diğer genotiplere göre daha yüksek albino bitki rejenerasyon oranları ile dikkati çekmişlerdir. Ancak, varyans analizi sonuçları genotipler arasında albino bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, ekmeklik buğday genotiplerinin anter kültüründe albino bitki rejenerasyon oranı açısından farklılık olduğunu saptayan Hatipoğlu ve Doğramacı (1995) ve Yıldırım ve ark. (2008)'nın bulgularını desteklememektedir.

Çizelge 4.10. Farklı Oksinleri içeren Farklı Besi Ortamlarında Kültüre alınan Farklı Ekmeklik Buğday Genotiplerine Ait Anterlerde Albino Bitki Reaksiyon Oranı Ortalamaları (albino bitkicik/100 anter)

Genotip	P2				N6				Ortalama
	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	2.4-D	Dic.	Pic.	Ortalama	
Esperial x Sensos	1.3	0.0	8.3	3.2	0.0	0.0	2.5	0.8	2.0
Esperial xTosunbey	0.0	0.0	0.4	0.1	0.0	0.5	0.0	0.2	0.2
Esperial x A.Odeskaya	0.5	1.8	1.3	1.2	2.5	0.0	0.0	0.8	1.0
Esperial x 1013	0.0	3.3	4.2	2.5	1.7	1.7	0.0	1.1	1.8
Esperial x Kr.Odeskaya	0.6	1.3	0.8	0.9	0.0	0.8	0.0	0.3	0.6
Esperial x Alora	0.0	0.0	2.2	0.7	0.0	0.0	4.6	1.5	1.1
Esperial x Özkan	0.0	1.3	0.0	0.4	3.3	5.0	0.0	2.8	1.6
Esperial x Bologna	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Esperial	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.3	4.2	2.5	1.3
Kr.odeskaya	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	1.7	1.9	1.2	0.6
Tosunbey	0.7	0.5	0.0	0.4	0.4	1.5	0.4	0.8	0.6
1013	0.0	0.3	1.1	0.5	1.3	0.0	0.0	0.4	0.4
Bologna	0.4	0.0	0.4	0.3	0.5	6.1	0.4	2.3	1.3
Alora	0.0	0.0	0.7	0.2	0.0	0.2	5.4	1.9	1.1
Özkan	1.9	1.1	0.0	1.0	0.5	0.0	0.1	0.2	0.6
Sensos	0.0	4.2	0.0	1.4	0.0	2.1	0.6	0.9	1.1
Sagittario	0.0	2.5	0.0	0.8	0.0	3.3	0.0	1.1	1.0
Ort	0.3	1.0	1.2	0.8	0.6	1.5	1.2	1.1	1.0
	2,4-D	0.5							
	Dicamba	1.2							
	Picloram	1.2							

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Buğday anter kültüründe besi ortamı (P2 ve N6), oksin çeşidi (2,4-D, dicamba, picloram) ve genotiplerin haploid bitki oluşumuna etkisini saptamak amacıyla yürütülen bu araştırmada; buğday genotipi olarak, Esperial genotipinin ana ve Kr.Odeskaya, Tosunbey, 1013, A.odeskaya, Bologna, Alora, Sensos, Sagittario ve Özkan genotiplerinin baba olarak kullanılması ile elde edilen 9 F_1 melezi ve 10 ebeveyn genotip test edilmiştir.

Söz konusu genotiplerin sera ve arazi koşullarında yetiştirilen bitkilerinden alınan anterler 2 mg/l 2,4-D, dicamba veya oksin içeren P2 veya N6 ortamlarında kültüre alınmıştır.

Araştırmada elde edilen bulgular aşağıdaki gibi özetlenebilir.

1) Araştırmada tüm faktör kombinasyonlarının ortalaması olarak anter reaksiyon oranı % 2.6 olmuştur. Anter reaksiyon oranı genotiplere bağlı olarak % 0.7 ile % 6 arasında değişmiş ve bu değişimin önemli olduğu ortaya çıkmıştır.

Esperial x 1013 melezi % 6 anter reaksiyon oranı ile en yüksek anter reaksiyon oranı gösteren genotip olmuştur. Esperial x Özkan melezi ile Alora ve Bologna çeşitleri söz konusu melezden istatistiksel olarak farksız olan anter reaksiyon oranları göstermiştir.

Besi ortamları ve oksinler anter reaksiyon oranını istatistiksel olarak önemli derecede etkilememiştir. Ancak, P2 ortamında test edilen oksinler anter reaksiyon oranında istatistiksel olarak önemli farklılık yaratmamasına karşılık, N6 ortamında 2,4-D piclorama göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek anter reaksiyon oranı sağlamıştır. Dicambanın anter reaksiyon oranı açsından etkinliği ise hem 2,4-D ve hem de picloramdan istatistiksel olarak farksız olmuştur.

Genotiplerin anter reaksiyon oranları besi ortamına bağlı olarak farklılık göstermiştir. P2 ortamında kültüre alınan Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer tüm genotiplerden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek reaksiyon oranı ortalaması göstermiştir. N6 ortamında ise söz konusu melezin anterleri yalnızca Esperial x Bologna melezi ve Esperial çeşidinin anterlerinden istatistiksel olarak daha yüksek reaksiyon oranı göstermiştir.

2) Bitki rejenerasyon oranı genotipler ve oksinlere bağlı olarak istatistiksel olarak önemli derecede farklılık göstermiştir. Besi ortamları anterlerden bitki rejenerasyon oranında istatistiksel olarak önemli farklılık yaratmamıştır. Besi ortamı x genotip, oksin x genotip ve besi ortamı xoksin xgenotip interaksiyonlarının istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Tüm faktör kombinasyonlarının ortalaması olarak ortalama bitki rejenerasyon oranı 1.7 bitki/100 anter olarak gerçekleşmiştir.

Dicamba veya picloram içeren ortamlarda kültüre alınan anterler 2,4-D içeren ortamlarda kültüre alınan anterlere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir.

Genotiplere bağlı olarak bitki rejenerasyon oranı 0 ile 10.4 bitki/100 anter arasında değişmiş ve bu değişimin önemli olduğu ortaya çıkmıştır.

Genotiplerin bitki rejenerasyon oranları anterlerin kültüre alındığı ortama bağlı olarak farklılık göstermiştir. P2 ortamında Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer tüm genotiplerin anterlerine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiş, diğer genotipler arasında bu açıdan önemli farklılık ortaya çıkmamıştır. N6 ortamında da Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer genotiplere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiştir. Ancak, söz konusu ortamda Bologna ve Alora çeşitlerinin anterleri Esperial x Bologna melezinin anterlerinden istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiştir.

2,4-D içeren ortamlarda genotipler arasında bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli farklılık ortaya çıkmamasına karşılık, dicamba ve picloram içeren ortamlarda Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer genotiplerin anterlerine göre önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiştir.

Esperial x 1013 melezinin anterleri dicamba veya picloram içeren P2 ortamlarında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonlarındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermiş, Bologna ve Alora çeşitlerinin anterleri ise dicamba içeren N6 ortamında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonlarındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermişlerdir.

3) Yeşil Bitki rejenerasyon oranı genotipler ve oksinlere bağlı olarak istatistiksel olarak önemli derecede farklılık göstermiştir. Besi ortamları anterlerden yeşil bitki rejenerasyon oranında istatistiksel olarak önemli farklılık yaratmamıştır. Besi ortamı x genotip, oksin x genotip ve besi ortamı xoksin xgenotip interaksiyonlarının istatistiksel olarak önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Tüm faktör kombinasyonlarının ortalaması olarak ortalama yeşil bitki rejenerasyon oranı 0.8 yeşil bitki/100 anter olarak gerçekleşmiştir.

Dicamba içeren ortamlarda kültüre alınan anterler 2,4-D veya picloram içeren ortamlarda kültüre alınan anterlere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir. Picloram içeren ortamlarda kültüre alınan anterler ise 2,4-D içeren ortamlarda kültüre alınan anterlere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı ortalaması göstermiştir.

Genotiplere bağlı olarak yeşil bitki rejenerasyon oranı 0 ile 8.6 yeşil bitki/100 anter arasında değişmiş ve bu değişimin önemli olduğu ortaya çıkmıştır.

Genotiplerin yeşil bitki rejenerasyon oranları anterlerin kültüre alındığı ortama bağlı olarak farklılık göstermiştir. P2 ortamında Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer tüm genotiplerin anterlerine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermiş, diğer genotipler arasında bu açıdan önemli farklılık ortaya çıkmamıştır. N6 ortamında da Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer genotiplere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermiştir. Ancak, söz konusu ortamda Bologna ve Alora çeşitlerinin anterleri Esperial x 1013 melezinin anterlerine göre önemli derecede daha düşük yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermesine karşılık, söz konusu çeşitler Esperial x Tosunbey melezi ile Özkan çeşidi dışındaki genotiplerin anterlerine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermişlerdir

2,4-D içeren ortamlarda genotipler arasında yeşil bitki rejenerasyon oranı açısından istatistiksel olarak önemli farklılık ortaya çıkmamasına karşılık, Dicamba ve picloram içeren ortamlarda Esperial x 1013 melezinin anterleri diğer genotiplerin

anterlerine göre önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermiştir.

Esperial x 1013 melezinin anterleri dicamba veya picloram içeren P2 ortamlarında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonlarındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı göstermiş, Bologna ve Alora çeşitlerinin anterleri ise dicamba içeren N6 ortamında diğer besi ortamı x oksin kombinasyonlarındakine göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yeşil yüksek bitki rejenerasyon oranı göstermişlerdir.

4) Tüm faktör kombinasyonlarının ortalaması olarak ortalama albino bitki rejenerasyon oranı 1 albino bitki/100 anter olarak gerçekleşmiştir. Anterlerden albino bitki rejenerasyon oranında besi ortamı, oksin çeşidi ve genotip faktörleri istatistiksel olarak önemli bir farklılık yaratmamıştır.

Araştırmadan elde edilen sonuçlara dayanarak, ekmeklik buğday ıslah programlarında anter kültüründen etkin bir şekilde yararlanabilmek için, ıslah programındaki genotiplerin anter kültürüne reaksiyonlarının bilinmesi gerektiği ve söz konusu genotipler için uygun besi ortamı x oksin çeşidi kombinasyonunun saptanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

ACQUAAH, G., 2007. Principles of Plant Genetics and Breeding. Black Well Pub., Oxford. PP: 567

AGURTO, M.G.M., 1998. Production of Haploid Plants in Selected Winter Wheat Genotypes through Anther Culture and Intergeneric Crosses with Maize. PhD thesis, Oregon State University ABD, PP: 151

AL-ASHKAR, I.M., 2013. Anther culture response and salt tolerance in some wheat genotypes. Annals of Agricultural Science 58(2): 139–145.

ALTINTAŞ, S., HATİPOĞLU, R. ve GENÇ, İ., 2005. Donor Bitkilerin Yetişme Koşulları ve Anterlere Farklı Sürelerle Soğuk Uygulamasının Ekmeklik Buğdayda Haploid Bitki Rejenerasyonuna Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. Türkiye 6. Tarla Bitkileri Kongresi 5-9 Eylül 2005, Antalya, Cilt: II, S: 679-684.

ANDERSEN, S.B., DUE, I.K. and OLESEN, A., 1987. The Response of Anther Culture in a Geneticaliy Wide Material of Winter Wheat (Triticum aestivum L.). Plant Breeding 99: 18 1-186.

BALL, S.T., ZHOU, H.P. and KONZAK, C.F., 1993. Influence of 2,4-D, IAA, and Duration of Callus Induction in Anther Cultures of Spring Wheat. Plant Science, 90: 195-200.

BAENZIGER, P.S. and DEPAUW, R.M., 2009. Wheat breeding: Procedures and strategies. In: B.F. Carver (ed.) Wheat: Science and Trade. Wiley-Blackwell Publishing, Ames, IA.

CAN, E., HATİPOĞLU, R., ÇELİKTAŞ, N. AND GENÇ, İ., 2002. Effects of medium and 2,4-D concentration on anther culture of some spring wheat (Tritcum aestivum L.) genotypes. J. Biotechnology & Biotechnological Equipment 16(2): 47-50

CHAUDHARY, H.K. , DHALIWAL, I., SINGH, S. and SETHI, G.S 2003. Genetics of androgenesis in winter and spring wheat genotypes. Euphytica 132: 311–319.

CHU, C. C., HILL, R. D., AND BRULE-BABEL, L., 1990. High Frequency Of Pollen Embryoid Formation and Plant Regeneration İn Triticum Aestivum L. On Monosaccharide Containing Media, Plant Sci., 66: 255-262.

CHUANG, C.C., OUYANG, T.W., CHIA, H., CHOU, S.M., and CHING, C. K., 1978. A set of potato media for wheat anther culture. In: Proc. Symp. on Plant Tissue Culture, (pp. 51—56) Sci. Press, Peking, China.

CONDİC- SPİKA, A.B., KOBİLJSKİ, B.D., HRİSTOV, N.S.J.2008. Efficiency Of Anther Culture Technıque In The Production Of Wheat Double Haploids. Proc. Nat. Sci , Matica Srpska Novi Sad, 115:35-40

CZAPLICKI, A. Z., 1994. Anther Culture of Winter and Spring Wheat. Abs. VII th. Int. Cong. Plant Tissue and Cell Culture pp 51-56

DAĞÜSTÜ, N., 2002. Factors affecting the anther culture of wheat (Triticum aestivum L.)', Biotechnology and Biotechnological Equipment 1(16): 30-34.

DAĞÜSTÜ, N., 2008. Diallel analysis of anther culture response in wheat', African Journal of Biotechnology, 7(19): 3419-3423.

DE BUYSER, J., HENRY, Y., LONET, P., HERTZOG, R. and HESPEL, A., 1987. "Florin: A Doubled Haploid Wheat Variety Developed by the Anther Culture Method. Plant Breeding, 98:53-56.

DEATON, W. R., METZ, S. G., ARMSTRONG, T. A., AND MASCİA, P. N., 1987. Genetic Analysis Of The Anther Culture Response Of The Spring Wheat Crosses, Theor. Appl. Genet., 74: 334-338.

EL-HENNAWY, M.A., ABDALLA, A.F., SHAFEY, S.A. and AL-ASHKAR, I.M., 2011. Production of doubled haploid wheat lines (Triticum aestivum L.) using anther culture technique. Ann. Agric. Sci. 56:63-72.

FAO, 2013. Faostat. www.fao.orgFENG, G. J., AND OUYANG, J. W., 1989. Studies On Effects Of Different Nitrogen Sources İn Anther Culture Medium Of Wheat, İn: C. S. Kuo (Ed.), Recent Advantages On Studies Of Applied and Fundamental Aspects Of Plant Cell Engineering, Science J. Press, Beijing, Pp 129-132.

FENG, G.H. and QUYANG, J.W., 1989. Fertility of *Triticum aestivum* Plants Derived from Anther Culture, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 18: 227-

230.

FOROUGHI-WEHR, B. and ZELLER, F.J., 1990. in Vitro Microspore Reaction of Different German Wheat Cultivars. Theor. Appl. Genet., 79: 77-80.

GHAEMI, M., SARRAFI, A., BARTHOU, H., AND ALIBERT, G., 1993. Genetic Variability For Anther Culture Responses İn Tetraploid and Hexaploid Wheat Species, Cereal Res. Com., 21: 231-237.

GHAEMI, M. and SARRAFI, A., 1994. The Effect of the "D" Genome from Synthetic Wheat Lines in Anther Culture Responses. Plant Breed., 112: 76-79.

GRAUDA, D., LEPSE, N., STRAZDIŅA, V., KOKINA, I., LAPIŅA, L., MIĶELSONE, A., ĻUBINSKIS, L. and RASHAL, I., 2010. Obtaining of doubled haploid lines by anther culture method for the Latvian wheat breeding. Agron. Res. 8:545-552.

HASSAWI, D.S., QI, J. and LIANG, G.H. 1990. Efects of Growth Regulator and Genotype on Production of Wheat and Triticale Polyhaploids from Anther Culture. Plant Breeding 104 (1): 40–45.

HASSAWI, D. S., 2004: Evaluaion of Jordanian Wheat and Barley Genotypes for Anther Culture Response. Food, Agriculture & Environment, 2 (1), 193-197.

HASSAWI, D. S., I. QRUNFLEH, AND N. DRADKAH, 2005: Production of Doubled Haploids from Some Jordanian Wheat Cultivars via Anther Culture Technique. Journal of Food, Agriculture, and Environment, 3(1): 161-164.

HATİPOĞLU, R. und DOĞRAMACI, M., 1995. Die Wirkungen von Genotyp, Kulturmedium sowie Gelierstoff auf die Antherenkultur von Weizen (Triticum aestivum L.). Deutsch-Türkische Agrarforschung, Deutsch-türkisches Symposium, 12-17 September 1995, Ankara, S: 139-146, Herusgeber: Verband deutsch-türkischer Agrar- und Naturwissenschaftler e.V.,Verlag Ulrich E.Grauer-Stuttgart.

HATİPOĞLU, R., GENÇ, I., YAĞBASANLAR, T., OZKAN, H., CELİKTAŞ, N., and TOKLU, F., 1998 . Production of Doubled Haploid Wheat Plants (Triticum aestivum L.) By Anther Culture. Agricoltura Mediterranean 28(3): 192-197

HATİPOĞLU, R., ATIŞ, İ. ve ALTINTAŞ, S., 2005. Buğday (Triticum aestivum) Anter Kültüründe Genotip, Donor Bitki Yetişme Koşulları, Ovari İle Birlikte Kültür ve Anterlerin Ortama Yerleştirilme Pozisyonunun Haploid Bitki Rejenerasyonuna Etkisi Üzerinde Bir Araştırma. Türkiye 6. Tarla Bitkileri Kongresi 5-9 Eylül 2005, Antalya, Cilt II , S: 659-664.

HATİPOĞLU, R. 2013. Bitki Biyoteknolojisi. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Genel YayınNo: 190, Ders Kitaplan Yayın No: A-58

HE, D. G. VE J. W. OUYANG, 1984. Callus and Plantlet Formation from Cultured Wheat Anthers at Different Developmental Stages. Plant Sci. Lett., 33: 71-79

HENRY, Y. and DE BUYSER, J., 1990. Wheat anther culture : Agronomjc Performance of Doubled Haploid Lines and the Release of a New Variety "Florin". İn: Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol. 13 wheat (ed. By Y.P.S. Bajaj), pp: 285-352.

HOLME, I. B., OLESEN, A., HANSEN, J.P. and ANDERSEN, S.B., 1999. Anther and Isolated Microspore Culture Response of Wheat Lines from Northwestern and Eastern Europe. Plant Breed., 118: 111-117.

HOU, L., ULRICH, S. E. and KLEINHOFS, A., 1994. Inheritance of Anther Culture Traits in Barley. Crop Sci., 34: 1243-1247.

HU, D., TANG, Y., YUAN, Z. and WANG, J. 1983. The induction of pollen sporophyte of winter wheat and the development of the new variety Jinghua no 1. . Sci. Agric. Sin 1: 29-35.

HU, Y., BAO, R.R. and XUE, X.Y. 1988. The new starin "764" of spring wheat by pollen haploid technique from anther culture. Genetic Manipulation in Crops Newsletter 4: 70- 85

HU, H., 1997. In Vitro Induced Haploids İn Wheat, İn: S. M. Jain, S. K. Sopory, and R. E. Veilleux (Eds.), In Vitro Haploid Production İn Higher Plants, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 4: 73-97.

JAUHAR, P. P., AND CHİBBAR, R. N., 1999. Chromosome-Mediated and Direct Gene Transfer İn Wheat, Genome, 42: 570-583.

JONES, A.M. and PETOLİNO, J.F., 1987. Effects of donor plant genotype and growth environment on anther culture of soft-red winter wheat. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 8: 215-226

KAO, K. N., SALEEM, M., ABRAMS, S., PEDRAS, M., HORN, D., AND MALLARD, C., 1991. Culture Conditions For Induction Of Green Plants From Barley Microspores By Anther Culture Methods, Plant Cell Rep., 9: 595-601.

KARIMZADEH, G., KOVÁCS, G. and BARNABÁS, B. 1995. Effects of cold treatment and different culture media on the androgenic capacity of two winter wheat genotypes. Cereal Res. Commun. 23:223-227.

KARSAI, I., BEDO, Z. and HAYES, P.M., 1994. Effect of induction medium pH and maltose concentration on in vitro androgenesis of hexaploid winter triticale and wheat. Plant Cell Tissue Organ. Cult. 39:49-53.

KIM, K.M. and BAENZIGER, P.S., 2005. A Sımple Wheat Haploıd And Doubled Haploıd Productıon System Usıng Anther Culture. In Vitro Cell. Dev. Biol.—Plant 41:22–27,

KHIABANI, B.N., VEDADI, C., RAHMANI, E. and SHALMANI, M., 2008. Response of some Iranian wheat genotypes to anther culture system. Indian J. Biotechnol. 7:531-535.

LAST, D. I. VE R. I. S. BRETTEL, 1990. Embryo Yield in Wheat Anther Culture as Influenced by the Choice of Sugar in Culture Medium. Plant Cell Rep., 9: 14-16.

LAZAR, M.D., SCHAFFER, G.W. and BAENZİGER, P.S., 1984. Cultivar and cultivar x environment effects on the development of callus and polyhaploid plants from anther cultures of wheat. Theor. Appl. Genet. 68: 131-134.

LORZ, H., GOBEL, E. and ROWN, P., 1988. Advences in Tissue Culture and Progress Towards Genetic Transformation of Cereals, PIant Preeding, 100: 1-25.

ORSHINSKY, B. R. and SADASIVAIAH, R.S., 1994. Effects of Media on Embryoid Induction and Plant Regeneration from Cultured Anthers of Soft Spring Wheats (Triticum aestivum L.). Plant Sci., 102: 99-107.

ÖZÜ, M.E. ve HATİPOĞLU, R., 2006. Donor Bitkilerin Yetişme Koşulları Ve Farklı Kültür Sıcaklıklarının Ekmeklik Buğday (Triticum Aestivum L.) Anter Kültüründe Haploid Bitki Rejenerasyonuna Etkileri Üzerine Bir Araştırma. Ç.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi 15(3): 89-98.

PAUK, J., MANNINEN, 0., MATTILA, 1., SALO, Y. and PULLI, S.,1991. Androgenesis in Hexaploid Spring Wheat F2 Populations and Their Parents Using a Multiple-Step Regeneration System, Plant Breeding, 107, 18-27.

PAUK, J., KERTESZ, Z., BEKE, B., BONA, L., CSÖSZ, M. ve MATUZ, J. 1995. New Winter Wheat Variety: GK Delibab' Developed via Combining Conventional Breeding and In-Vitro androgenesis,Cer. Res. Comm., 23(3), 251-256.

PRATAP, A., SETHI, G.S, CHAUDHARY, H.K.,2006. Relative efficiency of anther culture and chromosome elimination techniques for haploid induction in triticale × wheat and triticale × triticale hybrids. Euphytica 150:339-345.

RAKOCZY-TROJANOWSKA, M., SMIECH, M. and MALEPSZY, S., 1997. The influence of Genotype and Medium on Rye (Secale cereale L.) Anther Culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 48: 15—21.

SESEK, S., BOROJEVİC, K., AND SCHAEFFER, G. W., 1988. In Vitro Production Of Dihaploids Via Anther Culture İn Wheat, İn: T. E. Miller, and R. M. D. Koebner (Eds.), Seventh International Wheat Genetics Symposium, 2: 1171-1174.

SİMONSON, R. L., AND BAENZİGER, P. S., 1992. The Effect Of Gelling Agents On Wheat Anther and Immature Embryo Culture, Plant Breed., 109: 211-217.

TAWKAZ, S., 2011.. Response of Some Wheat Genotypes to Anther Culture Technique for Doubled Haploid Production. M.Sc Thesis. Sudan Academy of Science, Kartum.

TÜİK, 2013. Tarım istatistikleri. www.tuik.gov.tr

XYNIAS, I.N., ZAMANI, I.A., GOULI-VAVDINOUDI. E. AND ROUPAKIAS, D.G., 2001. Effect of cold pretreatment and incubation temperature on bread wheat (Triticum aestivum L.) anther culture. Cereal Res. Comm. 29:331-338.

YILDIRIM, M., BAHAR, B., GENÇ, İ., HATİPOĞLU, R. and ALTINTAŞ, S., 2008. Reciprocal effects in anther cultures of wheat hybrids. Biologia Plantarum 52 (4): 779-782.

ZHENG, M.Y. and KONZAK, C.F ,1999. Effect of 2-4- dichlorophenoxy-acetic acid on callus induction and plant regeneration in anther culture of wheat (Triticum aestivum L.). Plant Cell Rep. 19: 69−73

ZIAUDDIN, A., MARSOLAIS, A., SIMION, E. and KASHA, K.J., 1992. Improved plant regeneration from wheat anther and barley microspore culture using phenylacetic acid (PAA). Plant Cell Rep. 11:489–498.

ÖZGEÇMİŞ

09/07/1988 tarihinde Adana'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2006 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edb. Fakültesi Biyoloji Bölümün'e girdi. 2010yılında Mezun oldu. 2011 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı ve öğrenimini halen devan ettirmekte.