



Irak'ta Yetiştirilen Bazı Ekmeklik Buğday Çeşitlerinde Kallus Oluşumu ve Bitki Rejenerasyonu*

Hüseyin AHMET¹

M. Sait ADAK¹

Geliş Tarihi: 11.04.2007

Öz: Bu çalışmada, Irak florasında genetik materyal olarak ve yetiştiricilik açısından önem taşıyan ekmeklik buğday çeşitleri Temmuz 2, Irak, Eliz 66, İba 99 Musaddak, İba 99 Müsaccel materyal olarak kullanılmıştır. Araştırmada, kullanılan çeşitlerde kallus ve rejeneratif bitki potansiyelinin *in vitro* koşullarında belirlenmesine çalışılmıştır. Kallus oluşumu için 8 ml/L 2,4-D içeren katı MS ortamı oranı ve bitki rejenerasyonu için 20 g/l sukroz ve 7 g/l agar içeren katı MS ortamı kullanılmıştır. Çalışmada, kallus oluşumu, kallus ağırlığı, rejenerasyon kapasitesi, kültür etkisi ve rejeneratif bitki sayısı parametreleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre; kallus oluşumu % 88.75 (Eliz 66) – % 98.75 (İba 99 Musaddak), kallus ağırlığı 0.7025 g (Temmuz 2) – 7.2179 g (Eliz 66), rejenerasyon kapasitesi % 86.75 (Eliz 66) – % 98.75 (İba 99 Musaddak), kültür etkisi % 77.50 (Eliz 66) – % 97.50 (İba 99 Musaddak) bitki sayısı ise de 3.500 (İba 99 Musaddak) – 16.26 (Temmuz 2) arasında belirlenmiştir. Ayrıca, karakterler arasındaki ilişkiler incelendiğinde; kallus ağırlığının yüksek olması bitki sayısını arttırmıştır ($r = 0.674^{**}$). Artan kallus ağırlığı, rejenerasyon yeteneğinin yüksek olmasını ($r = 0.900^{**}$) sağlamıştır. Irak'ta geliştirilip tescil edilen ve yaygın olarak yetiştirilen (kuraklık, tuzluluk gibi bazı abiyotik stres faktörlerine dayanıklı / toleranslı) bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde kallus oluşumu ve rejenerasyon yetenekleri; bir başka deyişle bu çalışmada adı geçen buğday çeşitlerinin doğrudan gen aktarma yöntemlerinde kullanılabilme potansiyelleri belirlenmiş, bunlardan Irak çeşidinin bu tip çalışmalarda en uygun çeşit olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Buğday, doku kültürü, Irak, kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu

Callus Induction and Plant Regeneration in Some Iraqi Common Wheat Varieties

Abstract: Some common wheat varieties such as Temmuz 2, Iraq, Eliz 66, İba 99 Musaddak, İba 99 Müsaccel which are important as genetic material and in agriculture of Iraq were used in this study. Experiment was carried out at the biotechnology laboratories of Department of Field Crops, Agriculture Faculty of Ankara University; the aim of this research was to determine the callus induction and plant regeneration for these varieties under *in vitro* conditions. For this purpose 8 ml/l 2,4-D was used for callus induction and 20 g/l agar was used for plant regeneration as MS. Parameters such as callus induction, callus weight, regeneration capacity, culture efficiency and number of regenerated plant were measured in this study. According to obtained result; callus induction was % 88.75 (Eliz 66) – % 98.75 (İba 99 Musaddak), callus weight was 0.7025 g (Temmuz 2) – 7.2179 g (Eliz 66), regeneration capacity was % 86.75 (Eliz 66) – % 98.99 Musaddak, culture efficiency was % 77.50 (Eliz 66) – % 97.50 (İba 99 Musaddak) and number of regenerated plants was 3.500 (İba 99 Musaddak) – 16.26 (Temmuz 2). In addition, when investigated relationships among traits; there was significant relationship between callus weight and number of regenerated plants ($r = 0.674^{**}$). And also, regeneration capacity was effected as significantly by callus weight ($r = 0.900^{**}$). Callus induction and regeneration capacity or their potential of the production process of trans genetic plant were investigated of some Iraqi common wheat varieties (which are resistant / tolerant to the drought, salt and some abiotic stress factors) in this research; and also, it was determined Iraq variety is most favorable for this kind of studies.

Key Words: Wheat, tissue culture, Iraq, callus induction, plant regeneration.

Giriş

Tüm dünyada, buğday iyi bir besin hammaddeyi oluşu, adaptasyon sınırının genişliği, üretiminin sadeliği, taşıma, depolama ve işleme kolaylığı gibi nedenlerden dolayı dünya nüfusunun yaklaşık %35'

inin temel besini durumundadır. Buğday tanesi yaklaşık olarak % 65–75 nişasta, % 8–15 protein, % 1–5 yağ, % 1.5–3 şeker, % 1–2 kül, % 11–13 nem içerir. Buğday tanesinde karbonhidrat, yağ ve proteinin

* Yüksek Lisans Tezinden Hazırlanmıştır.

¹ Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü-Ankara

yanında insan ve hayvan beslenmesinde önemli derecede rol oynayan vitaminler de bulunmaktadır (Kün 1988).

Dünyada ve Türkiye’de, tarım yapılabilecek alanların son sınırlarına ulaşılmış olması, çalışmaların birim alandan elde edilen ürün verimini yükseltmek üzerine yoğunlaşmasına neden olmuştur. Verimin artırılması için bölge koşullarına uygun çeşitlerin elde edilmesi, bu çeşitlerin üretime alınması, agronomik uygulamaların zamanında ve yeterli ölçüde yerine getirilmesi kaçınılmazdır. Günümüzde sağlanan üretim artışında; çeşitlerin verimlerinin yüksek olmasının yanında, uygulanan bazı ıslah yöntemlerinin de önemi büyüktür. Ancak artan nüfusun beslenme ihtiyaçlarının giderilebilmesi için verimin daha da yükseltilmesi gerekmektedir. Bu nedenle verimi yüksek çeşitlerin elde edilmesi isteği, bitki ıslahçılarının temel amacı olmuştur.

Günümüzde buğday ıslahında birçok yöntemden yararlanılmakta olup, her geçen gün yeni özellikler taşıyan çeşitlerle verim ve kalite artışına katkıda bulunmaktadır. Uygulanan ıslah yöntemleri klasik ve biyoteknolojik yöntemler olarak 2 ana başlık altında toplanmaktadır. Tahılların klasik ıslahındaki mevcut sorunları aşabilmek için, doku kültürü ve biyoteknolojik yöntemlerden yararlanabilmek, istenen sonuçların elde edilmesi için gereklidir. Genetik mühendisliği çalışmalarından yararlanılarak gen aktarmada önemli bir aşama olan embriyo kültürü ile kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonunda başarının başta genotip olmak üzere birçok faktöre bağlı olduğu bilinmektedir.

Biyoteknolojik yöntemler ile bitkilerin tarımsal niteliklerinin geliştirilmesi amacıyla laboratuvar koşullarında uygulanan doku kültürü teknikleri, zamanla tarla koşullarında yapılan çalışmalarda karşılaşılan sorunların giderilmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Sonuçların daha kısa sürelerde alınabildiği, bitkilerin hücre, doku ve çeşitli organlarının kullanıldığı bu çalışmalarda, bitkilere biyoteknolojik sistemler için gelişmiş tüm yöntemler uygulanabilmektedir.

Bitki doku işlemlerinde ve genetik iyileştirmelerde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonudur (Purnhauser ve ark. 1987). *In vitro* bitki rejenerasyon yöntemlerinin amacı, kallusta meristematik bölgelerin ve meristematik sürgünlerin oluşumunu arttırmaktır (Vnuchkova ve ark. 1993). Bitki rejenerasyonu, kültürü yapılan hücrelerin özellikleri itibarıyla üç kısma incelenir: 1) organize olmuş meristematik hücreleri içeren somatik dokulardan rejenerasyon, 2) meristematik olmayan somatik hücrelerden rejenerasyon ve 3) mayoz bölünme geçirmiş gametik hücrelerden rejenerasyon. Buğdayın en önemli besin

maddelerden biri olması nedeniyle, *in vitro* kültürde rejenerasyonu çok çalışılan bir bitkidir (Delporte ve ark. 2001). Buğdayın doku kültüründe kallus oluşturmaya ve oluşan kalluslardan bitki rejenerasyonu genellikle eksplant kaynağı, genotip ve kültür ortamına bağlıdır (Özgen ve ark. 1998). Genotipin etkisi nuklear veya sitoplazmik bileşenlerden kaynaklanmaktadır. Buğdayda doku kültürü yanıtı tek veya birkaç kromozomla kontrol edilir (Özgen ve ark. 2001).

Buğdayda farklı eksplant kaynakları somatik kallus kültürü için kullanılmaktadır. Bu eksplant arasında olgunlaşmış embriyo, olgunlaşmamış yaprak ve çiçek durumu, olgun embriyo, mezokotil, tohum, apikal meristem (Özgen ve ark. 1996), anter ve izole edilmiş mikrosporlar (Delporte ve ark. 2001) bulunmaktadır. Bu dokuların bütün bir bitkiye rejenerasyon olabileceği kabiliyeti birbirinden farklıdır (Delporte ve ark. 2001). Kültüre alınan eksplantlarda hücre bölünmeleri ve DNA sentezi üç gün içerisinde başlamakta ve proliferasyon bir hafta içerisinde fark edilmektedir. Hücre bölünmeleri prokambiyal / vasküler dokulardan meydana gelmektedir (Bürün 1996). Olgunlaşmamış embriyo, *in vitro* koşullarda rejenerasyon olabileceği en etkili doku olarak bulunmuştur (Delporte ve ark. 2001, Özgen ve ark.1998).

Buğdayın klasik ıslahındaki mevcut sorunları aşabilmek için, doku kültürü ve biyoteknolojik yöntemlerden yararlanmak kaçınılmazdır. Genetik mühendisliği tekniklerinden yararlanılarak gen aktarmada önemli bir adım olan kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu çalışmalarında başarının büyük ölçüde genotip ile bağlı olduğu bilinmektedir (Şehirali ve Özgen 1988).

Bu araştırmanın amacı, Irak’ta geliştirilip tescil edilen ve yaygın olarak yetiştirilen (kuraklık, tuzluk gibi bazı abiyotik stres faktörlerine dayanıklı / toleranslı) bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde kallus oluşumu ve rejenerasyon yeteneklerinin bir başka deyişle doğrudan gen aktarma yöntemlerinin uygulanabileceği buğday genotiplerinin belirlenmesidir. *In vitro* koşullarında olgunlaşmış embriyo kullanılarak gerçekleştirilen bu çalışmada, Irak’taki kurak iklim bölgelerinde yetiştirilen bazı ekmeklik buğday çeşitlerinin kallus oluşturma ve rejenerasyon yetenekleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı’nda 2005–2006 yılları arasında yürütülmüştür. Denemede

Irak'tan getirilen 5 buğday çeşidi (Irak, Temmuz 2, Eliz 66, İba 99 Müsseccel, İba 99 Mussaddak) materyal olarak kullanılmıştır.

Sterilizasyon: Tüm çalışmaların yapılacağı steril kabinin, kabinde kullanılacak malzemelerin ve eksplantların sterilizasyonu yapılmıştır. Steril kabin her çalışma öncesinde etil alkolle silinmiştir ve boş olarak 10 dakika çalıştırılmıştır. Ayrıca her çalışma öncesinde çalışma sırasında kullanılacak malzemeler, eksplant ve saf su sterilizasyon kuralları doğrultusunda steril edilmiştir.

Eksplantların yüzey sterilizasyonu: Olgunlaşmış tohumlarda yüzey sterilizasyonu, tamamen steril kaplar içinde steril kabinde yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonu için steril kabin içerisine manyetik karıştırıcı, steril bir beher, içerisinde steril pens ve bistüri ile %70'lik etil alkol bulunan cam kavanoz ve içerisinde yine %70'lik alkol bulunan pisetlerden yararlanılmıştır.

Yüzey sterilizasyonunda ilk aşamada tohumlar manyetik karıştırıcı üzerinde % 70'lik etil alkol içerisinde 5 dakika bekletilmiş ve 3 kez steril saf suyla durulanmıştır. Durulama sırasında her çalkalama 30 saniyede tamamlanmıştır. Ardından yine manyetik karıştırıcı üzerinde ticari çamaşır suyu (sodyum hipoklorit, % 5) içerisinde 30 dakika bekletilmiş ve 7 defa steril saf su ile durulanmıştır.

Yüzey sterilizasyonu sonunda, tohumlar embriyo çıkarma işleminin kolay olması amacıyla yine steril kabin içerisinde ağız alüminyum kağıt ya da streç filmle kapatılarak steril saf su içerisinde 33 °C'de yaklaşık 2 saat süreyle bekletilmiştir (Özgen ve ark. 1998).

Kallus ortamının hazırlanması: Kallus oluşumu, manyetik karıştırıcı üzerinde yerleştiren beher içerisinde hazırlanmıştır. Olgunlaşmış embriyolarda kallus oluşumu için 2 mg/l 2,4-D, 20 g/l sukroz, 7 g/l agar, 4.43g/l MS ortamı kullanılmıştır ve ortamın pH'sı 5.8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan karışımlar otoklavda 121°C' de, 15 psi basınç altında 45 dakika tutularak steril edilmiştir. Otoklavdan çıkarılan ortamlar steril kabinde daha önceden steril edilmiş, 10 cm'lik petri kaplarına dökülerek, katılaşması beklenmiş, böylece ortamlar kullanıma hazır hale getirilmiştir.

Rejenerasyon ortamı hazırlığı: Olgunlaşmış embriyolardan elde edilen kalluslardan sürgün ve kök oluşumu ve gelişimini sağlamak için rejenerasyon ortamı hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda hazırlanan ortama 20 g/l sukroz, 7 g/l agar ile 4.43 g/l MS ilave edilerek pH'sı 5.8'e ayarlanmıştır. Otoklavlanan ortam 10 cm'lik petri kaplarına dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir.

Embriyoların çıkarılması ve kallus ortamına yerleştirilmesi: Sterilizasyonu tamamlanmış embriyoların, canlılıkları bozulmadan tohumlarından ayrılması ve daha önceden hazırlanmış ortamlarına aktarılması büyük önem taşımaktadır. İki saat süreyle suda bekletilen olgunlaşmış steril tohumlardan pens ve bistüri yardımıyla embriyolar çıkarılarak kalkancık tarafı ortama değmeyecek şekilde kallus ortamı içeren petri kaplarına yerleştirilmiştir. Petri kaplarının kapakları kapatılarak etrafı streç filmle sıkıca sarılmıştır. Bu şekilde hazırlanan olgunlaşmış embriyolar ışığı ve ısıyı ayarlanabilen inkübatörde karanlık koşullarda 26 °C' de 14 gün süreyle tutulmuştur.

Rejenerasyon çalışmaları: Kallus oluşumunu tamamlamış olan 14 günlük olgunlaşmış embriyolar rejenerasyon sağlanması amacıyla hazırlanan ortamlara aktarılmıştır. Kalluslar rejenerasyon hâle gelebilmeleri için kültür odasına yerleştirilmiştir. Kalluslar, burada 30 gün süreyle, 16 saatlik fotoperiyotta (1500 lux) ve 25 °C sıcaklıkta tutularak, sürgün gelişimi saptanmıştır.

30 gün sonunda 10–20 mm yüksekliğe ulaşan rejenerasyon bitkicikler kültür odasında magenta kapları içinde aynı ortamlarda 25 °C sıcaklıkta, 16 saatlik fotoperiyotta (1500 Lux) 30 gün süreyle yetiştirilmiştir. İkinci bir 30 günün sonunda bitkicikler 10–15 cm yüksekliğe ulaşmış ve rejenerasyonu tamamlamışlardır.

Alıştırma (Aklimatizasyon) çalışmaları: Kültür odasında magenta kapları içerisinde 10-15 cm yüksekliğe ulaşan bitkicikler, iklim odasına alınmıştır. Bitkicikler 1;1;3 oranında kum, perlit ve turba toprağı karışımından oluşan saksılara aktararak 25 ±1 °C' de 16 saatlik fotoperiyotta 30 gün süreyle büyütülmüştür. % 90'la başlayan ortam nemi periyodik olarak azaltılarak normal koşullara indirilmiş ve 30 gün sonunda yaşayan bitkiler seraya alınmıştır. Bu aşamada bazı bitkilerin başak oluşturduğu saptanmıştır.

Verilerin elde edilmesi:

Kallus oluşumu, kültürün onördüncü gününde her petride kallus oluşturan embriyoların sayısının toplam embriyo sayısına oranlanmasıyla,

Kallus ağırlığı, kültürün onördüncü gününde embriyolarda oluşan kallusların tartılmasıyla,

Rejenerasyon kapasitesi, rejenerasyon ortamı hazırlanan ortama 20 g/l sukroz, 7 g/l agar ile 4.43 g/l MS ilave edilerek pH'sı 5.8'e ayarlanmıştır. Otoklavlanan ortam 10 cm'lik petri kaplarına dökülmüş ve katılaşması beklenmiştir.

Kültür etkisi, rejenere olan kallus sayısının ortama alınan toplam embriyo sayısına oranlanmasıyla,

Bitki sayısı, sürgün ve kökü olan toprağa aktarılan bitkilerin sayılması ile elde edilmiştir.

Verilerin değerlendirilmesi: Olgun embriyoların eksplant olarak kullanıldığı denemede her petriye 20 tohum 4 tekrarlı olarak konulmuştur. Elde edilen verilerle istatistik analizleri, MSTAT-C programı kullanılarak yapılmıştır. Deneme faktöriyel deneme desenine göre 4 tekrarlamalı olarak kurulmuştur. Çeşitler arasındaki farklılığın belirlenmesinde varyans analizi ve AÖF testinden yararlanılmıştır. Ayrıca, incelenen karakterler arasındaki ilişki de belirlenmiştir (Düzgüneş ve ark. 1983).

Bulgular ve Tartışma

İncelenen karakterlere ilişkin elde edilen verilerle yapılan varyans analiz sonuçları Çizelge 1 'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi, kallus oluşumu oranı, kallus ağırlığı, kültür etkisi ve bitki sayısı bakımından çeşitler arasında istatistiki olarak % 1; rejenerasyon kapasitesi yönünden % 5 düzeyinde önemli farklar elde edilmiştir.

Çeşitler arasındaki farklılığı belirlemek için yapılan AÖF sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Çizelge 2 incelendiğinde, çeşitlerin kallus oranlarının % 88.75 (Eliz 66) – 98.75 (İba 99 musaddak) arasında değiştiği görülmektedir (Şekil 1). Kallus oluşturma oranı bakımından çeşitler % 5 düzeyinde 3 farklı grup oluşturmuştur. Kallus oluşturma oranının genotiplere bağlı değişiklikler gösterdiği bu çalışmanın sonucundan da saptanmıştır. Benzer sonuçlar, 8 ekmeklik buğdayda yaptıkları araştırmada Tuberosa ve ark. (1998), 7 kışık buğday genotipi ile çalışan Özgen ve ark. (1996), 12 kışık buğday genotipi ile çalışan Özgen ve ark. (1997), diploid, tetraploid ve heksaploid buğdaylarda çalışan Sayar ve ark. (1999), sekiz kışık buğday çeşidi ile çalışan Keresa ve ark. (2004) tarafından da belirlenmiştir. Sonuçlarımız adı geçen araştırmacıların sonuçları ile uyum içindedir.

Çeşitlerin kallus ağırlığı 1.217 g (Temmuz 2) ile 0.7025 g (Eliz 66) arasında değiştiği görülmektedir. Çeşitler % 5 göre iki farklı grup oluşturmuşlardır. Bulgularımız, 8 ekmeklik buğday çeşidinde yaptıkları araştırmada Tuberosa ve ark. (1988), farklı buğday çeşitlerinde saptadıkları sonuçlarda Bommineni ve Jauhar (1996), üç yazlık buğday çeşidinde yaptıkları çalışmada Bahieldin ve ark. (2000), makarnalık buğday çeşitlerinde olgunlaşmamış çiçek taslağından ve koleoptilden kallus elde ettikleri çalışmalarında

Benkirane ve ark. (2000), ayrıca Delporte ve ark. (2001), Zale ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Çeşitlerin rejenerasyon kapasitesi en düşük % 86.75 ile Eliz 66 çeşidinde, en yüksek ise % 98.75 ile İba 99 Musaddak çeşidinde elde edilmiştir (Şekil 2). Çeşitler % 5 göre 2 farklı gruba ayrılmışlardır. Farklı buğday çeşitlerinin olgun embriyolarından gelişen kalluslardan sürgün rejenerasyonun değişiklikler gösterdiği bu çalışmanın sonucundan da elde edilmiştir. Benzer sonuçlar, buğdayda yaptıkları araştırmada Abd-el maksoud ve Bedo. (1993), Bommineni ve Jauhar (1996), kışık buğday çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyolarla çalışan Özgen ve ark. (1996), üç yazlık buğday çeşidi ile yaptıkları çalışmada Bahieldin ve ark. (2000) tarafından da saptanmıştır.

Kültür etkisi bakımından çeşitler % 77.50 ile % 97.50 arasında değişim göstermişlerdir. En yüksek değer (97.50) İba 99 Musaddak çeşidinde belirlenirken buna en yakın değeri %92.50 ile Temmuz 2 çeşidi göstermiştir, en düşük değer (%77.50) ise Eliz 66 çeşidinde elde edilmiştir. Yapılan AÖF gruplandırmasında çeşitler %5 göre 3 gruba ayrılmışlardır. Kültür etkisinin genotiplere bağlı olarak değiştiğini gösteren sonuçlarımız; bu konuda daha önce farklı buğday genotipleri üzerinde sürdürdükleri araştırmada Maddock ve ark. (1983), Batı Asya ve Kuzey Afrika'dan elde edilen bazı buğday genotiplerinde anter kültürü çalışmalarında, genotipler arasında varyasyon gözlemlendiğini belirten Lashermes ve ark. (1990), buğdayda yaptıkları çalışmada anter kültüründe genotip ve ortamın etkisini inceleyen Abd-el maksoud ve Bedo. (1993), 10 buğday genotipi ile yaptıkları çalışmalarında anter kültürü, rejenerasyon oranının genotiplere bağlı olarak % 0 ile % 13 arasında değiştiğini saptayan Hatipoğlu ve ark. (1994), Turbo ve Nandu yazlık buğday çeşitlerinde yaptıkları araştırmada, bitki rejenerasyonunun sadece embriyogenesis yoluyla gerçekleştiğini belirten Viertel ve Hess (1996), in vitro kültürde 6 yazlık buğday çeşidine ait bitkilerin olgun tohumlarıyla sürdürdükleri araştırmada kök büyümesi ve genç bitkilerin büyüme hızları arasında farklılıkları gözleyen Xiayi ve ark. (1997), buğdayda yaptıkları araştırmada olgunlaşmamış embriyolardan kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu elde eden Hailoğlu'nun (2002), bulgularıyla uyum göstermektedir.

Buğday çeşitlerinde toprağa aktarılan bitki sayısı en düşük 3.500 ile İba 99 Musaddak çeşidinde, en yüksek 16.25 ile Temmuz 2 çeşidinde elde edilmiştir. Diğer çeşitler bu değerler arasında yer almıştır (Şekil 3,4,5). Çeşitler AÖF gruplandırmasında % 5 göre 3 grupta toplanmışlardır.

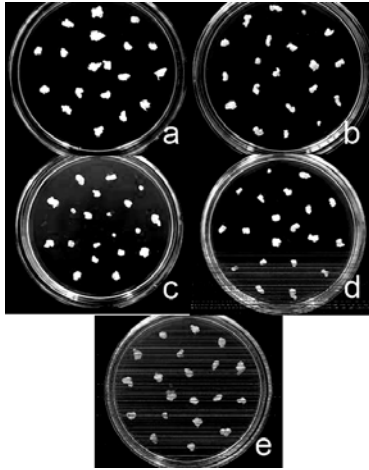
Çizelge 1. Buğday çeşitlerinde incelenen karakterlere ilişkin varyans analiz sonuçları (Kareler Ortalaması)

Varyasyon kaynakları	S.D	Kallus oluşumu oranı	Kallus ağırlığı	Rejenerasyon kapasitesi	Kültür etkisi	Bitki sayısı
Tekerrür	3	1.667	0.013	17.600	11.250	2.400
Çeşitler	4	61.250**	0.168**	97.950*	230.000**	101.425**
Hata	12	7.917	0.013	19.850	38.333	2.692
Genel	19					

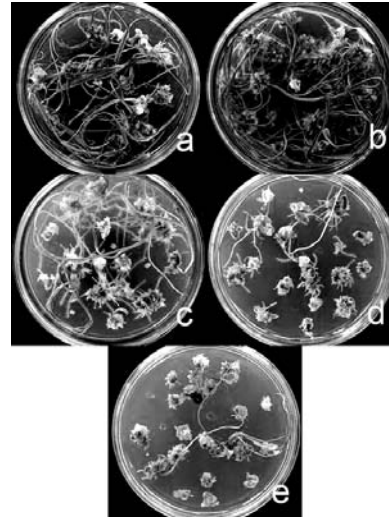
** : %5 düzeyinde önemli, * : %1 düzeyinde önemli

Çizelge 2. Buğday çeşitlerinde incelenen karakterlere ilişkin ortalama değerler

Çeşitler	Kallus oluşumu oranı (%)	Kallus ağırlığı (g)	Rejenerasyon kapasitesi	Kültür etkisi	Bitki sayısı
Temmuz 2	97.50 ± 2.86 ab	1.217 ± 0.195 a	97.25 ± 3.20 a	92.50 ± 8.66 ab	16.25 ± 1.707 a
Irak	93.75 ± 2.50 b	0.7700 ± 0.065 b	90.25 ± 2.50 ab	85.00 ± 0.00 bc	9.000 ± 1.825 b
Eliz 66	88.75 ± 2.50 c	0.7025 ± 0.036 b	86.75 ± 8.61 b	77.50 ± 8.66 c	7.750 ± 1.892 b
İba 99	93.75 ± 2.50 b	0.7725 ± 0.105 b	94.00 ± 0.00 ab	88.75 ± 2.50 ab	4.500 ± 1.732 c
Müseccel İba 99	98.75 ± 2.50 a	0.8725 ± 0.092 b	98.75 ± 2.50 a	97.50 ± 2.88 a	3.500 ± 0.577 c
Musaddak AÖF %5	4.335	0.1757	6.864	9.538	2.52



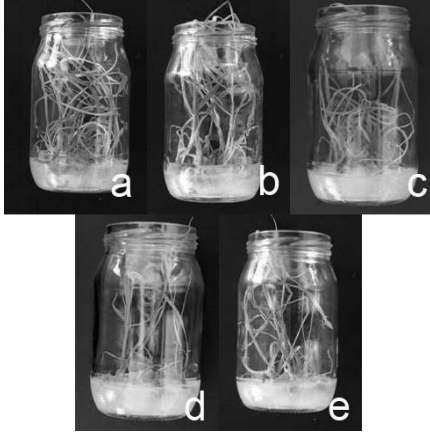
Şekil 1. Buğdayda a. Temmuz 2, b. Irak, c. Eliz 66, d. İba 99 Müseccel, e. İba 99 Musaddak çeşitlerinin olgun embriyolarından kallus gelişimi



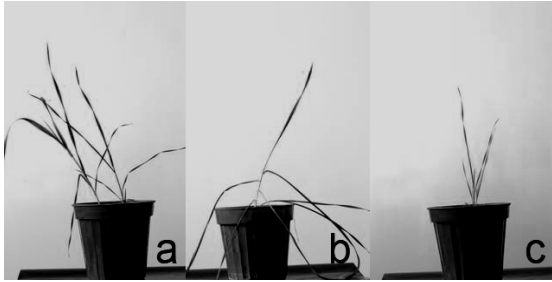
Şekil 2. Farklı buğday çeşitlerinin olgun embriyolarından gelişen kalluslardan sürgün Rejenerasyonu a. Temmuz 2, b. Irak, c. Eliz 66, d. İba 99 Müseccel, e. İba 99 Musaddak

Rejenere bitki sayısının genotipe göre değiştiğini gösteren bulgularımız, Bregitzer ve ark. (1991), 6 yazlık buğday çeşidi ile *in vitro* kültürde bitkilerin olgun tohumlarıyla yaptıkları çalışmada, kök büyümesi ve genç bitkilerin büyüme hızları arasında farklılıklar olduğunu belirleyen Xiayi ve ark. (1997), Bered ve ark. (1998), olgunlaşmamış embriyolarda yaptıkları çalışmada, değişik ortamlara göre farklı bitki oluşumu gözleyen Tahiliani ve Kothari (2004)'ün sonuçlarıyla uyumludur.

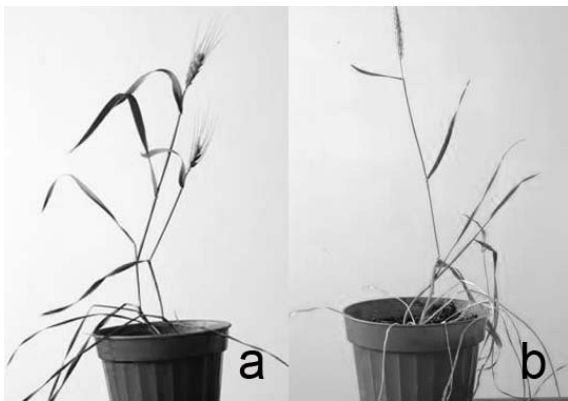
Buğday çeşitlerinde incelenen karakterler arası ilişkiler: Olgun embriyolardan elde edilen kültür tepkileri bakımından ele alınan ögeler arasındaki ilişkiler Çizelge 3'de verilmiştir. Çizelge 3 incelendiğinde kallus oluşumu ve kallus ağırlığı ($r = 0.662^{**}$), kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi ($r = 0.616^{**}$), kallus oluşumu ve kültür etkisi ($r = 0.834^{**}$), kallus ağırlığı ve rejenerasyon kapasitesi ($r = 0.455^{*}$), kallus ağırlığı ve kültür etkisi ($r = 0.557^{**}$), kallus ağırlığı ve bitki sayısı ($r = 0.674^{**}$) ile rejenerasyon



Şekil 3. Buğday a. Temmuz 2, b. Irak, c. Eliz 66, d. İba 99 Müsajcel, e. İba 99 Musaddak çeşitlerinde gelişen sürgünlerin köklendirilmesi



Şekil 4. Buğday a. Irak, b. İba 99 Müsajcel, c. İba 99 Musaddak çeşitlerinde köklenen bitkilerin saksılarda yetiştirilmesi



Şekil 5. Saksılarda a. Irak, b. İba 99 Müsajcel çeşitlerinde başak oluşturan bitkiler

kapasitesi ve kültür etkisi ($r = 0.900^{**}$) arasında önemli ilişkiler görülmektedir; rejenerasyon kapasitesi ve bitki sayısı ($r = 0.104$) ile

kültür etkisi ve bitki sayısı ($r = 0.047$) arasında ise önemsiz ilişkiler saptanmıştır.

Buğday çeşitlerinin olgun embriyolarından elde edilen kültür tepkileri incelendiğinde kallus ağırlığının yüksek olmasının, bitki sayısını arttırdığı düşünülebilir ($r = 0.674^{**}$). Rejenere kallus sayısı ve kültüre alınan embriyo sayısının etkin olduğu kültür verimi ile diğer öğelerin ilişkilerini dikkate aldığımızda artan kallus ağırlığı ve oluşan kallusların rejenerasyon yeteneğinin yüksek olması ($r = 0.900^{**}$) şeklinde bir ilişki ortaya çıkmaktadır.

Kültür tepkileri bakımından kallus oluşumu ile diğer öğeler (bitki sayısı dışında) arasında önemli bir ilişki bulunmuştur. Sadece kallus ağırlığı ve bitki sayısı arasında olumlu ve önemli bir ilişki ortaya çıkmış, rejenerasyon kapasitesi ve kültür etkisi arasında da önemli ilişki bulunmuştur.

Kallus oluşumu ve kallus ağırlığı ($r = 0.662^{**}$), kallus oluşumu ve rejenerasyon kapasitesi ($r = 0.616^{**}$), kallus oluşumu ve kültür etkisi ($r = 0.834^{**}$) arasında olumlu ve önemli ilişkiler saptanırken; kallus oluşumu ve bitki sayısı ($r = 0.133$) arasında olumlu fakat önemli olmayan ilişkiler saptanmıştır. Benzer bulgular Sayar ve ark. (1999) ve Şimşek (2004) tarafından da bildirtmişlerdir.

Sonuç

Bu çalışmada, Irak tarımında hem yetiştiricilik hem de genetik materyal olarak önem taşıyan Temmuz 2, Irak, Eliz 66, İba 99 Müsajcel ve İba 99 Musaddak buğday çeşitlerinin; olgun embriyolarından elde edilen kalluslar ile bunların rejenerasyonu ve rejenere bitkilerin in vitro koşullarında geliştirilmesine yönelik elde edilen sonuçlar verilmiştir.

Denemede kullanılan buğday çeşitlerinden en iyi kallus oluşturan İba 99 Musaddak çeşidi olmuştur. En zayıf kallus oluşturma ise Eliz 66 çeşidinde görülmüştür. Kallus ağırlığı en yüksek Temmuz 2 çeşidinde görülürken elde edilen bitkiler, iklim odasındaki alıştırmaya döneminden sonra, saksılara aktarılacak bitkilerden bitki gelişimi en düşük ise Eliz 66 çeşidinde gözlenmiştir. Ayrıca, rejenerasyon kapasitesi yönünden en yüksek değer İba 99 Musaddak çeşidinde, en düşük ise Eliz 66 çeşidinde elde edilmiştir. Kültür etkisi bakımından İba 99 Musaddak en yüksek değeri göstermiştir. Bu özellik yönünden Eliz 66 çeşidi en düşük değeri vermiştir. Toprağa aktarılan bitki sayısı yönünden ise Temmuz 2 çeşidi en iyi durumdadır. Ayrıca, karakterler arasındaki ilişkiler incelendiğinde; kallus ağırlığının yüksek olması

Çizelge 3. İncelenen karakterler arası ilişkiler

Karakterler	K.O.	K.A.	R.K.	K.E.	B.S.
Kallus oluşumu	-	0.662**	0.616**	0.834**	0.133
Kallus ağırlığı	-	-	0.455*	0.557**	0.674**
Rejenerasyon kapasitesi	-	-	-	0.900**	0.104
Kültür etkisi	-	-	-	-	0.047
Bitki sayısı	-	-	-	-	-

* : % 5 düzeyinde önemli.

** : % 1 düzeyinde önemli.

bitki sayısını artırmıştır ($r = 0.674^{**}$). Artan kallus ağırlığı ve oluşan rejenerasyon yeteneğinin yüksek olmasını ($r = 0.900^{**}$) sağlamıştır. Elde edilen sonuçlardan, optimize edilmiş yöntem ile bu çeşitlerin gen aktarım çalışmalarında kullanılabileceğini ve sonuçların buna uygun olacağı düşünülmektedir. Irak çeşidinin bu tip çalışmalarda en uygun çeşit olduğu belirlenmiştir.

Kaynaklar

- Abd-el maksoud, M. M. and Z. Bedo. 1993. Genotypes and genotype x medium interaction in wheat (*Triticum aestivum* L.). Cereal Research Communications 21 (1):17–24.
- Bahieldin, A., W. E. Dwre and R. Qu. 2000. Concentration effects of dicamba on shoot regeneration in wheat. Plant Breeding 119: 437–439.
- Benkirane, H., K. Sabounji, A. Chlyah and H. Chlyah. 2000. Somatic embryogenesis and plant regeneration from fragments of immature inflorescences and coleoptiles of durum wheat. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 61: 107-113.
- Bered, F., M. J. C. D. Sereno, F. De Carvalho, C. E. Lange, C. L. Handel and A. L. C. Dornelles. 1998. Plant regeneration from embryonic and organogenic calli in oat. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 33 (11): 1827–1833.
- Bommineni, V. R. and P. P. Jauhar. 1996. Reperation of plantlets through isolated scutellum culture of durum wheat. Plant Science 116: 197-203.
- Bregitzer, P., W. R. Bushnell, H. W. Rines and D. A. Somers. 1991. Callus formation and plant regeneration from somatic embryos of oat (*Avena sativa* L.). Plant Cell Reports 10: 243–246.
- Bürün, B. 1996. Buğdaygillerde in vitro kültürler. Yüzüncü yıl Üniv. Ziraat Fak. Dergisi 6(4): 18–95.
- Delporte, F., O. Mostade and J. M. Jacquemin. 2001. Plant regeneration through callus initiation from thin mature embryo fragments of wheat. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 67: 73-80.
- Düzgüneş, O., T. Kesici ve F. Gürbüz. 1983. İstatistik Metodları I. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları. 861. Ders Kitabı, 229, Ankara.
- Haliloğlu, K. 2002. Wheat immature embryo culture for embryogenic callus induction. Online Journal of Biological Sciences 2: 520–521.
- Hatipoğlu, R., İ. Genç ve T. Yağabasanlar. 1994. Ekmeklik Buğday (*Triticum aestivum* L.) İslahında Anther Kültüründe Yararlanma Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Tarla Bitkileri Kongresi Bitki İslahı Bildirileri (II): 254–256, Bornova, İzmir.
- Keresa, S., M. Baric, H. Sarcevic and S. Marchetti. 2004. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos and immature inflorescences of eight caotina winter wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). Die bodenkultur- austria Journal of Agricultural Research Inhalte / Contents, 45. band / heft 3.
- Kün, E. 1988. Serin İklim Tahılları. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 1032. 322 s., Ankara.
- Lashermes, P., G. Engin and G. O. Ferrara. 1991. Anther culture of wheat (*Triticum aestivum*) adapted to dry areas of West Asia and North Africa. J. Genet. Breed. 45: 33–38.
- Maddock, S. E., V. A. Lancaster, R. Risiott and J. Franklin. 1983. Plant regeneration from cultured İmmature embryos and inflorescences of 25 cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). J.Exp. Bot., 34 (144): 915–926.
- Özgen, M., M. Türet, S. Özcan and C. Sancak. 1996. Callus induction and plant regeneration from immature and mature embryos of winter durum wheat genotypes. Plant Breeding 115: 455–458.
- Özgen, M., M. Türet, S. Altınok and C. Sancak. 1997. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Plant Cell Reports 18: 331–335.
- Özgen, M., M. Türet, S. Altınok and C. Sancak. 1998. Efficient callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Plant Cell Rep. 18: 331-335.
- Özgen, M., M. Türet and M. Avci. 2001. Cytoplasmic effects on the tissue culture response of callus from winter wheat mature embryos. Plant Cell Tiss. Org. Cult., 64: 81-84.
- Purnhauser, L., P. Medgyesy, M. Czako, P. J. Dix and L. Marton. 1987. Stimulation of shoot regeneration in *Triticum aestivum* and *Nicotiana plumbaginifolia* Viv. tissue cultures using the ethylene inhibitor AgNo3. Plant Cell., 6: 1-4.

- Sayar, M. T., M. A. Birsin, H. Ulukan and M. Özgen 1999. Effect of seed size on the tissue culture response of callus from mature embryos of wheat species. *Wheat Information Service* 89: 1–6.
- Şehirali, S. ve M. Özgen, 1998. Bitki ıslahı, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları:1059, Ders kitabı: 310, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara 261 s.
- Şimşek, S. 2004. Yulafta (*Avena sativa* L.) tohum iriliğinin bitki rejenerasyonuna etkisi. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Ankara 45 s.
- Tahiliani, S. and S. L. Kothari. 2004. Increased copper content of the medium improves plant regeneration from immature embryo derived callus of wheat (*Triticum aestivum* L.). *J. Plant Biochemistry and Biotechnology* 13: 85–88.
- Tuberosa, R., S. Rauaglia and C. Lucchese. 1998. Callus induction and plan regeneration in Italian cultivars of bread wheat. *Agriculture in Mediterrian.*, 18: 361–365.
- Viertel, K. and D. Hess. 1996. Shoot tips of wheat as an alternative source for regenerable embryogenic callus cultures. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 44: 183-188.
- Vnuchkova, V. A., I. I. Maryakima and G. I. Eisner. 1993. Effect of acetone in the culture medium on the regeneration efficiency and on the resistance to root of regenerants of various plant species. *Plant Cell Rep.*, 12: 577-580.
- Xiayi, K., C. Chunhong, Y. FAng, L. Baojian and C. Jiawang. 1997. Factors influencing tissue culture of mature wheat embryo. *Plant Breeding Abstracts* 67. 1–140.
- Zale, J. M., H. B. Wier, K. K Kidwell and C. M. Steber. 2003. Cllus induction and plant regeneration from mature embryos of a diverse set of wheat genotypes. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 76: 277-281.

İletişim adresi:

M. Sait ADAK

Ankara Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü-Ankara

Tel: 0 312 596 14 72

E-posta: adak@agri.ankara.edu.tr