

Kışlık Ekmeklik Buğday F₂ Popülasyonlarının Anter Kültüründe Bitki Rejenerasyonuna Tepkisinin Belirlenmesi

Ayten SALANTUR* Selami YAZAR Emin DÖNMEZ Taner AKAR

Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yenimahalle-Ankara
*Sorumlu yazar e-mail: asalantur@mynet.com

Özet

Bu araştırmada bazı kışlık ekmeklik buğday F₂ popülasyonlarının anter kültüründe bitki rejenerasyonuna tepkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Araştırma 2008-2009 yetiştirme sezonunda Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nün Biyoteknoloji laboratuvarında 21 adet F₂ popülasyonu kullanılarak yürütülmüştür. Araştırmada 100 anter başına kallus+embriyoid sayısı, albino bitki sayısı, yeşil bitki sayısı, steril bitki sayısı, katlanma indeksi ve başarı indeksi incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre kullanılan 15 popülasyondan katlanmış haploid bitki elde edilmiş, 4 popülasyonda sadece kallus oluşumu gözlenmiş; 2 popülasyon ise anter kültürüne hiçbir tepki göstermemiştir. İslah materyalinde her bir F₂ popülasyonlarının buğday anter kültüründe haploid bitki rejenerasyonuna tepkisi birbirlerinden oldukça farklı bulunmuştur. F₂-804, F₂-1025, F₂-1037 ve F₂-863 popülasyonların anter kültürüne çok daha iyi tepki verdiği tespit edilmiştir. 15 popülasyondan elde edilen katlanmış haploid bitkilerin tohumları ıslah programında kullanılmak amacıyla tarlaya ekilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ekmeklik buğday, anter kültürü, bitki rejenerasyonu

Determination of Plant Regeneration Response of Winter Bread Wheat F₂ Population under Anther Culture

Abstract

This study was carried out to determine plant regeneration response of some winter bread wheat F₂ population under anther culture conditions. This research was conducted in 2008-2009 cultivation season in Central Research for Field Crops' Biotechnology Laboratory and 21 F₂ populations was used as plant material. Callus + embriyoid number, albino plant number, green plant number, sterile plant number, doubling index and success (final success) index per 100 anther criteria were examined in this study. Results showed that 15 populations produced DH plants while 4 populations produced only callus and 2 populations negatively responded to anther culture. Response of each F₂ bread wheat population to DH plant regeneration was completely different based on preliminary data. F₂-804, 1025, 1037 and 863 population more positively responded than others to anther culture. Seeds of the 15 DH populations were planted into field in order to use in wheat breeding program.

Key Words: Bread wheat, anther culture, plant regeneration

Giriş

Buğday dünyada yaygın olarak yetiştirilen önemli bir üründür. Buğday 8.1 milyon hektar ekim alanı ile Türkiye'de en çok ekim alanına sahip tahıl cinsi konumundadır. Ülkemizde buğdaydan 2002 yılında 19.5 milyon ton üretim ve dekara 209 kg/da verim alınmıştır. 2009 yılında ekiliş alanını azalmasına karşılık buğdayın üretim miktarı 20.6 milyon tona yükselmiş dekara verim 254 kg/da olmuştur (Anonim 2010). Bu artışa son yıllarda ıslah edilip üretime giren çeşitlerin de önemli katkısı olmuştur.

Günümüzde ıslah edilecek buğday çeşitlerinde verim, kalite ve hastalıklara tolerans gibi birçok özelliğin bir arada olması hedeflenmektedir. Bu amaçları başarmak için ıslahçılar geleneksel ıslah tekniklerine yeni bitki biyoteknolojik metotları da entegre

etmeye çalışmaktadırlar. Birçok önemli bitkide olduğu gibi buğdayda da anter kültürü gibi özel doku kültürü metotları homozigot hatların üretiminde etkili olabilmektedir. Buğdayda invitro androgenesis yoluyla tek bir generasyonla homozigot hatlar geliştirilmektedir. Bu yöntemle ıslahçıların melezlemeden sonra homozigot hatlar elde etmek için harcadıkları süre en az 4-5 yıl azalmış, bu da ıslahçılara oldukça fazla bir zaman tasarrufu sağlamıştır. Bununla birlikte tarla denemelerinde homozigot hatlar daha gerçekçi agronomik performans gösterdiklerinden daha etkili bir seleksiyon yapılabilmektedir. Katlanmış haploid bitki üretiminde kullanılan metotlardan birisi anter kültürüdür. 1973'de anter kültürü ile buğdayda katlanmış haploid bitki üretimi başladıktan sonra haploid bitki üretimi git gide artış göstermiştir. Birçok ülkede başarılı sonuçlar

alınmış, bu teknikle Fransa'da Florin adıyla bir çeşit (De Buyser et al. 1987), Çin'de Jinghua No 1 (Hu et al. 1983) ve 764 (Hu et al. 1988), Macaristan'da GK Delibab çeşidi (Pauk et al. 1995) geliştirilerek çiftçilerin hizmetine sunulmuştur. 2005 yılına kadar anter kültürü kullanılarak 15 buğday çeşidi ıslah edilmiştir (Anonim 2005). Anter kültürünün başarısı genotipe bağlı olarak değişmekle beraber; kallus oluşumu, bitki rejenerasyonu, katlanmış haploid bitki miktarı gibi faktörler başarıyı etkilemektedir (Szakacs et al. 1989). Buğdayda anter kültürüne bağlı androjenetik haploidlerin etkili bir şekilde ıslah programlarında kullanılabilmesi için fazla sayıda genotipte ve yeterli sayıda katlanmış haploid bitkinin ekonomik bir şekilde üretilmesi gerekmektedir (Barbanas et al. 2001). Double haploidlerin ilk üretildiği yıllardan günümüze kadar birçok problem (indüksiyon ortamı, karbon kaynakları gibi) çözülmüştür. Double haploid bitki oranının yalnızca genotipe değil aynı zamanda induksiyon ortamına bağlı olarak değiştiği (Orshinsky and Sadasivaiah 1994); ön soğuk uygulamasının doğal katlanmış haploid miktarını artırdığı (Pauk et al. 2003) belirtilmiştir. Ancak katlanmış haploid bitki üretimi için hala en büyük sorun genotip bağımlılığı olarak görülmektedir (Barbanas 2003; Inagaki 2003; Zamanı et al. 2003; Enginöz 2006; Ahmet ve Adak 2007). Belli coğrafik bölgelerdeki genotiplerde daha güçlü bir genotip bağımlılığının bulunduğu buğdayda anter kültürünün Çin, Avrupa'nın merkezi ve doğusunda kuzey ve batı Avrupa'ya göre daha etkin biçimde kullanılabildiği Holme et al. (1999) tarafından ortaya konulmuştur. Bu çalışmada Doğu Avrupa buğday hatları 100 anter başına 3.6 bitki oluştururken; kuzey-batı Avrupa hatları 100 anter başına 0.4 bitki oluşturmuştur. Bunlara ek olarak Avustralya'da olduğu gibi anter kültürü ekmeklik buğday ıslahının vazgeçilmez bir parçası (Çakır ve ark. 2003) olup, ayrıca markır destekli seleksiyon ve genetik haritalama çalışmalarında da kullanılan DH popülasyonların üretilmesinde bu yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır (Anonim 2011).

Ülkemizde buğday ıslahı çoğunlukla geleneksel yöntemlerle yapılmakta, çok az biyoteknolojik yöntemlerden yararlanılmaktadır. Bu çalışmayla, hızlı bir şekilde çeşit ıslah edebilmek açısından mevcut genetik

materyalimizin anter kültüründe bitki rejenerasyonuna tepkileri ortaya konulmuştur.

Materyal ve Yöntem

F₁ generasyonunda bitkiler arasında seçim yapılamaması sebebiyle materyal olarak F₂ ve daha sonraki F₃-F₄ generasyonların bitki materyali olarak kullanılmasının uygun olduğu belirtilmiştir (Pauk et al. 2003). Bu yüzden araştırmamızda ıslah programında yer alan F₂ ekmeklik buğday popülasyonundan faydalanılmış, bu popülasyonun yirmi birinden başak örneği alınmıştır. Farklı kökenli F₂ popülasyonlarının anaçları Çizelge 1'de sunulmuştur. Başak örnekleri alınırken bitki gelişmeleri izlenerek henüz bayrak yaprakтан çıkmamış başakları içeren sapsal kesilmiş ve bu başaklar deneme materyali olarak kullanılmıştır.

Ekmeklik buğdayda anter kültürü yoluyla katlanmış haploid bitki elde edilme yöntemi başlıklar halinde aşağıda verilmiştir.

Başakların toplanması: Başak örneklerinin toplanması için en iyi zaman olan sabahın erken saatleri tercih edilmiştir (Pauk et al. 2003). Güneş doğduktan yaklaşık 2-3 saat sonra başaklar alttaki ilk boğumdan ya da ikinci boğumdan makasla kesilerek içi saf su dolu behere alınmış ve başakların üzeri nem kaybının önlenmesi için şeffaf bir poşet ile kapatılmıştır. Alınan örnekler buzdolabında 4 °C' de 3-4 gün süre ile bekletilmiştir.

Başak sterilizasyonu: Başak sterilizasyonu steril kabin içerisinde %20'lik sodyum hipoklorid solüsyonu içerisinde 30 dakika bekletildikten sonra 2 kez steril su ile yıkanmış ve başaklar steril petrilere alınmıştır (Barbanas 2003).

Başaklardan anter alımı: Başaklar steril edildikten sonra steril kabin içerisinde pens yardımıyla anterler steril edilen indüksiyon ortamına aktarılmıştır. En alt ve en üstteki başakçıklar atıldıktan sonra orta çiçeklerden her bir petriye yaklaşık olarak 30 anter alınmış ve daha sonra petrinin etrafı Parafilm ile kapatılıp 29±1 °C ve %80 nisbi nemi olan inkübatör karanlıkta 1 ay süre ile bekletilmiştir. Anterlerin ovarisi ile birlikte kültüre alınmasının daha yüksek bitki rejenerasyon oranı verdiği için petrilere ovarisi ilave edilmiştir (Hatipoğlu ve ark. 2005).

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan F₂ popülasyonlarının anaçları

Sıra	Popülasyonlar	Anaçlar
1	F2-804	YANAC/3/PRL/SARA/TSI/VEE#5/4/CROC_1/AE.SQUARROSA (224)//OPATA/5/DEMİR-2000
2	F2-807	KRÇ/BEZ1/3/TT-50-18/P101/TT-50-18/VG DWF/4/ SÜRAK 1593- 51
3	F2-809	GRK/5/RRV/WW15/3/BJ2*ON//BON/4/NAC/6/KATIA1/7/BEZOSTAYA
4	F2-813	BABAX/LR42//BABAX*2/3/KURUKU/4/TOSUNBEY
5	F2-817	T.aestivum subsp.aestivumIG-139431/HSPASBAV_S-63
6	F2-822	ALTAY2000/TOSUNBEY
7	F2-843	DEMİR-2000//INQALAB 91*2/KUKUNA
8	F2-854	WA4767/391.56.D.18.14.33/3/1015// 6410/4/W22/5/ANA/6/KÖSE 220/39
9	F2-857	ONEARLY S-63/BEZOSTAJA/BEZOSTAJA-1/3/BEZOSTAJA
10	F2-863	ONEARLY S-171/7/GRK/5/RRV/WW15/3/BJ2*ON//BON/4/NAC/6/KATIA1
11	F2-864	KATE-A 1/GÜN-91
12	F2-885	GÜN-91/3/GRK-79//CO652643/KRÇ-66
13	F2-893	IZGİ 01/RAYZA
14	F2-943	KATE A-1/TOSUNBEY//TOSUNBEY
15	F2-945	KAZAK BEZOSTAJA/7/GRK/5/RRV/WW15/3/BJ2*ON//BON/4/NAC/6/KATIA1
16	F2-947	PM ME1 IRR_S-5/8/HYS/7C//1593-51/3/P101//II50-18/ STACAT/6/LOV11/ BL//MİR264/5/PNC/CM//NB61977/3/EC/İNİA//BBN/4/MXP//KR/FUNO/7/ PEHLİVAN
17	F2-1003	BEZOSTAJA/7/GRK/5/RRV/WW15/3/BJ2*ON//BON/4/NAC/6/KATIA1
18	F2-1025	ÇETİNEL-2000/7/GRK/5/RRV/WW15/3/BJ2*ON//BON/4/NAC/6/KATIA1
19	F2-1027	CBTPSRYR_S-1/BEZOSTAYA//BEZOSTAJA1/3/BEZOSTAJA
20	F2-1037	TÜRKİYE 13/7/GRK/5/RRV/WW15/3/BJ2*ON//BON/4/NAC/6/KATIA1
21	F2-1042	SKAUZ/SULTAN 95/5/ZF/LDS/3/185-1/61-130LDS/4/A

Bitki rejenerasyonu: Anter kültüründen yaklaşık 30 gün sonra petri kutularında oluşan embriyoya benzer yapılar (kallus ve embriyoidler) rejenerasyon ortamına (Tuwesson 2003) aktarılmış ve petrilere etrafı Parafilm ile sarılmıştır. Bu petrilere 24 °C'de beyaz floresan ışığı (1500 lux) ve 16/8 saat gün uzunluğunda yaklaşık 3-4 hafta tutulmuştur. Embriyoidlerden bitkicikler oluştuğunda her petri kutusunda oluşan yeşil ve albino bitkicik sayısı saptanmıştır (Şekil 1a).

Bitkicik nakli: Yeşeren bitkicikler, kök gelişimlerinin daha iyi sağlanması amacıyla hormon ilavesiz rejenerasyon ortamına nakledilmiş, bu ortamda en az 2-4 yapraklı olana kadar bekletilmiştir.

Vernalizasyon: Bitkicikler 1-2 hafta iklim odasında büyütüldükten sonra (en az 3-4 yaprak olduğunda) vernalizasyon için soğuk odaya (2-4 °C, 8 saat ışıklandırma süresi, 62.5 mikromol m⁻² s⁻¹) alınmıştır. Burada bitkicikler 6 hafta tutulmuştur (Barbanas 2003).

Saksılara nakil: Ağardan temizlenen bitkicikler kompost içeren saksılara nakledilmiş, nem kaybını önlemek için üzerleri şeffaf plastik örtü ile kapatılmıştır. İki hafta burada bekletilen bitkicikler daha sonra büyük saksılara aktarılmıştır. Bu bitkiler gün

uzunluğu 16 saat, %80 nisbi nem olan seralarda büyütülmüştür (Şekil 1b).

Kolşisin (Colchicine) uygulaması: bitkilerde kromozom setlerinin katlanması için sıklıkla kullanılan bir bileşiktir. Double haploid bitki üretmek için yapılan çalışmalardan elde edilen yeşil bitkilerde katlanma frekansının düşük olması hasebiyle, kolşisin uygulanması (Hansen and Anderson 1998; Redha et al. 1998; Shahinul Islam 2010) gerekmektedir. Çalışmamızda belli oranda kardeşlenmesini tamamlayan bitkiciklere (7-8 yaprak) sapa kalkmadan önce kolşisin uygulaması yapılmıştır (Pauk et al. 2003).

Bu çalışmada aşağıda belirtilen gözlem ve ölçümlerden; Kallus+embriyoid sayısı/100 anter; rejenere olan yeşil bitki sayısı (YBS/100anter); rejenere olan albino bitki sayısı (ABS/100 anter); yeşil bitki (YBS/100anter); steril (haploid) bitki sayısı (SBS/100 anter) belirlenmiş olup, son olarak da katlanma (KI= katlanmış haploid bitki sayısı / toplam yeşil bitki sayısı x 100) ve başarı indeksleri (katlanmış haploid bitki sayısı/toplam anter sayısı x 100) hesaplanmıştır.

Araştırmada petri başına belirlenen değerler karekök transformasyonu yapıldıktan sonra tesadüf bloklarında dört faktörlü

bölmüş parseller deneme desenine uygun olarak JUMP istatistik paket programından yararlanılarak varyans analizine tabi tutulmuştur.

Bulgular ve Tartışma

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar aşağıda başlıklar halinde sunulmuştur.

Kallus+embrioid sayısı: Araştırmada 100 anter başına oluşan kallus+embrioid sayısı 0-282.5 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 2). F₂-809 ve F₂-843 nolu popülasyonlarda kallus+embrioid (embriyo benzeri yapı) oluşmamış, buna karşın F₂-804, F₂-1025, F₂-1037, F₂-893 nolu popülasyonlarda 100 anter başına ortalama sırasıyla 282.5, 258.3, 130.0 ve 92.5 adet kallus+embrioid sayılmıştır (Çizelge 2). Elde edilen sonuçlar Zhou ve Konzak (1989), Zamani et al. (2003), Ahmet ve Adak (2007) ve Rahman (2008)'nin farklı genotipler kullanarak yaptıkları çalışmalarda embriyo benzeri yapıların (kallus+embrioid) sayısının genotipe bağlı olarak değişim gösterdiği sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Ancak bu çalışmalarda bulunan sonuçların aksine Ascough et al. (2006) tarafından yapılan

başka bir çalışmada embriyo benzeri yapı sayıları bakımından çeşitler arasında çok az farklılık bulunmuştur.

Albino bitki sayısı: F₂ popülasyonlarının anter kültüründe oluşturduğu 100 anter başına albino bitki sayısı 0-13.3 adet arasında değişmiştir. En çok embriyo benzeri yapıların görüldüğü F₂-804 100 anter başına albinolu bitki sayısında da en yüksek değere (13.3/100 anter) sahip olmuştur. Çalışmamızda albino bitki sayısı ile yeşil bitki sayıları birbirine yaklaşık değerlerde olmuş, 100 anter başına ortalama albino bitki sayısı 2.45 iken yeşil bitki sayısı 2.74 adet olmuştur (Çizelge 2). Rejenere olan bitkilerin %47.3'ü albino olmuştur. Bu değer Armstrong et al. (1987)'nin 3 çeşitte bulduğu %25-40 albino oranından yüksek olmuştur. Buğday anter kültüründe albino sayılarının büyük problem olduğunu belirten Redha et al. (1998), erken dönemde kolşisin uygulaması ile albino bitki sayılarının önemli oranda azaldığını bildirmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda erken dönem kolşisin uygulamaları bu sayıyı azaltabilir.

Çizelge 2. F₂ popülasyonlarının anter kültürüne reaksiyonlarını gösteren 100 anter başına kallus+embrioid sayısı, albino bitki say, yeşil bitki sayısı ortalamaları

Sıra	Popülasyonlar	Kallus+embrioid sayısı	Albino bitki sayısı	Yeşil bitki sayısı
1	F2-804	282.5 a	13.3 a	14.2 a*
2	F2-807	17.5 ı	0.0 e	2.5 bcd
3	F2-809	0.0 j	0.0 e	0.0 d
4	F2-813	23.8 ghi	0.8 de	1.7 cd
5	F2-817	35.8 fg	2.5 b-e	1.7 cd
6	F2-822	56.7 de	2.5 b-e	2.5 bcd
7	F2-843	18.3 hı	0.0 e	1.7 cd
8	F2-854	49.2 ef	2.5 b-e	2.5 bcd
9	F2-857	15.0 ı	2.5 b-e	0.8 cd
10	F2-863	14.2 ı	3.3 bcd	3.3 bc
11	F2-864	15.0 ı	1.7 cde	2.5 bcd
12	F2-885	20.8 hı	0.8 de	0.0 d
13	F2-893	92.5 c	5.8 b	2.5 bcd
14	F2-943	0.0 j	0.0 e	0.0 d
15	F2-945	71.7 c	2.5 b-e	2.5 bcd
16	F2-947	23.3 ghi	0.8 de	0.0 d
17	F2-1003	35.0 fg	3.3 bcd	2.5 bcd
18	F2-1025	258.3 a	5.0 bc	6.7 b
19	F2-1027	29.2 gh	3.3 bcd	1.7 cd
20	F2-1037	130.0 b	0.8 de	5.8 b
21	F2-1042	34.8 fg	0.0 e	2.5 bcd
Ortalama		58.3	2.45	2.74

*: Farklı harf ile gösterilen ortalamalar LSD testinde p>0.01 önemlilik seviyesine göre birbirinden istatistiksel olarak önemli derecede farklıdır.

Yeşil bitki sayısı: Yeşil bitki rejenerasyon oranının özellikle genotipe (Barbanas 2003; Inagaki 2003) ve besi ortamlarına bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir (Brian and Sadasivaiah 1994; Ascough et al. 2006). Bu çalışmada 100 anter başına yeşil bitki sayıları 0.0-14.2 bitki arasında değişim göstermiştir. F₂ popülasyonları arasında en yüksek yeşil bitki sayısına F₂-804 (14.2 bitki/100 anter) ve F₂-1025 (6.7 bitki/100 anter) sahip olmuştur. 4 F₂ popülasyonunda (F₂-809, F₂-885, F₂-943, F₂-947) yeşil bitki oluşmamıştır (Çizelge 2). Benzer olarak Löschenberger and Heberle-Bors (1992)'nin kışlık buğday çeşitlerinin anter kültürüne tepkilerinin araştırıldığı çalışmada 31 genotipin 5'inden yeşil bitki elde edilememiştir. Bu araştırmada kültüre alınan 100 anter başına yeşil bitki sayısı 21 popülasyon ortalamasına göre 2.74 olmuştur. Bu değer Hatipoğlu ve ark. (2005)'nin 100 anter başına rejenere olan bitki sayısı ortalamasına (2.7) yakın bir değer olmuşken; Holme et al. (1999)'un Doğu Avrupa Buğday çeşitlerinde elde edilen 3.6 bitki/100 anter ve Tuveesson et al. (2000)'in bulduğu 3.3 yeşil bitki/100 anter değerinden düşük olmuştur.

Steril bitki sayısı: Haploid (steril) bitki sayısını azaltmak amacıyla kolşisin uygulaması yapılmaktadır. Ancak ne etkinlikte

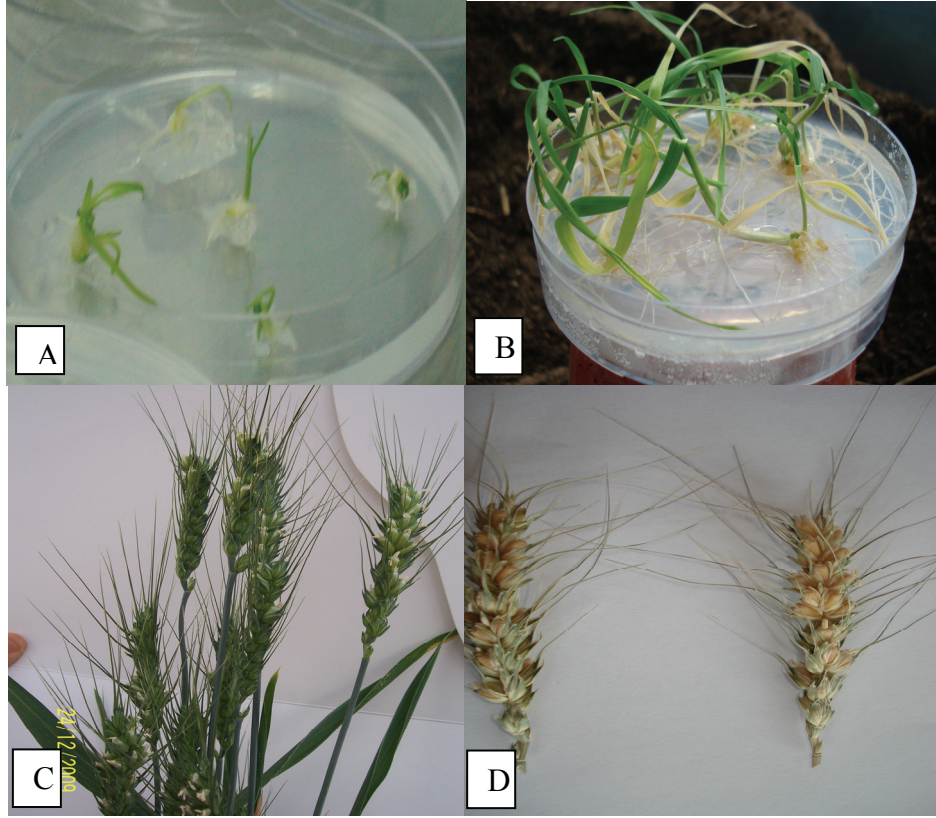
olursa olsun yine de steril yani dane tutmayan bitkiler meydana gelmektedir. Bizim çalışmamızda da kolşisin uygulamasından sonra dane tutmayan bitkiler meydana gelmiş, bitkilerin % 47.9'u steril olmuştur. 100 anter başına yeşil haploid bitki sayısı ortalaması 1.11 olmuş en fazla steril bitki en yüksek yeşil bitki rejenerasyon oranı gösteren F₂-804'ten (4.2/100 anter) alınmıştır (Çizelge 3). Tuveesson et al. (2000) tarafından buğday ve tritikale genotipleri kullanılarak yaptıkları bir çalışmada 91 buğday genotipinde ortalama olarak 100 anterden elde edilen yeşil haploid bitki sayısı 0.0-25.8 arasında değişim göstermiştir. Bu çalışmada elde edilen 0.0-4.2 haploid bitki sayısı/100 anter değerleri daha düşük olmuştur.

Katlanma indeksi: Kolşisin bitkilerde kromozom setlerinin katlanması için sıklıkla kullanılan bir bileşiktir (Levan 1938). Yapılan denemelerde elde edilen yeşil bitkilerde katlanma frekansının düşük olduğu, bunun içinde kolşisin uygulaması yapılması gerektiği belirtilmiştir (Hansen and Anderson 1998; Redha et al. 1998; Shahinul Islam 2010). Redha et al. (2000)'in yaptığı çalışmada kolşisin uygulamaksızın %26.67 katlanma indeksi bulurken kolşisin uygulaması sonrası bu oranın 62.04 değerine ulaştığını belirlemişlerdir.

Çizelge 3. F₂ popülasyonlarının anter kültürüne reaksiyonlarını gösteren 100 anter başına steril bitki sayısı, katlanma indeksi, başarı indeksi ortalamaları

Sıra	Popülasyonlar	Steril bitki sayısı	Katlanma indeksi	Başarı indeksi
1	F2-804	4.2 a	70.6 a	10.0 a*
2	F2-807	0.8 bc	0.0 d	1.7 bcd
3	F2-809	0.0 c	0.0 d	0.0 d
4	F2-813	0.8 bc	50.0 cd	0.8 cd
5	F2-817	0.8 bc	50.0 cd	0.8 cd
6	F2-822	0.8 bc	33.3 cd	0.8 cd
7	F2-843	0.8 bc	50.0 cd	0.8 cd
8	F2-854	0.8 bc	66.7 bcd	1.7 bcd
9	F2-857	0.8 bc	0.0 d	0.0 d
10	F2-863	0.8 bc	75.0 abc	2.5 bc
11	F2-864	0.8 bc	66.7 bcd	1.7 bcd
12	F2-885	0.8 bc	0.0 d	0.0 d
13	F2-893	1.7 abc	33.3 cd	0.8 cd
14	F2-943	0.0 c	0.0 d	0.0 d
15	F2-945	1.7 abc	33.3 cd	0.8 cd
16	F2-947	0.0 c	0.0 d	0.0 d
17	F2-1003	1.7 abc	33.3 cd	0.8 cd
18	F2-1025	2.5 ab	62.5 ab	4.2 b
19	F2-1027	0.8 bc	50.0 cd	0.8 cd
20	F2-1037	1.7 abc	57.1 bcd	3.3 bc
21	F2-1042	0.8 bc	66.7 bcd	1.7 bcd
Ortalama		1.11	-	-

*: Farklı harf ile gösterilen ortalamalar LSD testinde p<0.01 önemlilik seviyesine göre birbirinden istatistiksel olarak önemli derecede farklıdır.



Şekil 1. Araştırmadan bazı aşamalar. A: Bitkicik rejenerasyonu, B: Toprağa nakledilme aşamasındaki bitkicikler, C: Olgunlaşma aşamasında tohum veren bir bitki, D: Tohum bağlamış olgunlaşmış başaklar

Bir başka çalışmada da (Redha et al. 1998) kolşisin konsantrasyonuna bağlı olarak katlanma indeksinin 33.9-100 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu çalışmada da katlanma frekansının %33.3 ile %70.6 arasında değişmiştir (Çizelge 3).

Başarı indeksi: Anter kültürünün kullanılmasının en önemli sebebi çok sayıda katlanmış haploid bitki elde edilmesidir. Kromozom sayısının katlanmasını sağlamak için bitkilere kolşisin uygulanmış, tüm F₂ popülasyonların ortalaması olarak 100 anter başına 1.59 tane veren bitki elde edilmiştir (Çizelge 3). Bu başarı indeksi Redha et al. (1998)'in 200 mg/l kolşisin uygulamasından elde edilen 1.2 başarı indeksinden yüksek olmuştur. 100 anter başına en yüksek tane veren bitki sayısı F₂-804 (10 adet)'ten alınmış, bunu F₂-1025 (4.2 adet), F₂-1037 (3.3 adet) ve F₂-863 (2.5 adet) izlemiştir. 21 F₂ popülasyonunun 5'inden tohum elde edilememiştir.

Sonuç

Bu çalışma kışlık ekmeklik buğdayda anter kültürü tekniğini ıslah programına entegre etmek için bir başlangıç çalışması

olmuştur. F₂ popülasyonları arasında incelenen bütün parametreler bakımından farklılık gözlenmiş, bazı popülasyonlar özellikle F₂-804 anter kültürüne beklenenin üzerinde olumlu reaksiyon göstermiştir (Şekil 1c ve d). Rejenere olan bitkilerin %52.7'si yeşil bitki oluşturmuş, bu yeşil bitkilerin %58.1'i fertil olmuş ve tane bağlamıştır. Tohum elde edilen hatlar ıslah programına entegre edilmiştir. Daha sonra bu hatların tohumları tohum çoğaltılması ve tarla gözlemlerinin alınması amacıyla tarlaya ekilmiştir. DH hatların elde edilmesi amacıyla yapılan bu çalışmanın bulguları gelecek yıllar için daha ümitvar sonuçlara ulaşılabilceğini göstermektedir.

Kaynaklar

- Ahmet H. ve M.S. Adak, 2007. Irak'ta yetiştirilen bazı ekmeklik buğday çeşitlerinde kallus oluşumu ve bitki rejenerasyonu. Tarım Bilimleri Dergisi, 13(3): 285-291.
- Armstrong T.A., S.G. Metz and P.N. Mascia, 1987. Two regeneration systems for the production of plants from wheat anther culture. Plant Science, 51: 231-237.
- Anonim 2005. http://www.scri.ac.uk/assoc/COST_851/DHTable2005.xls (erişim tarihi 24/03/2011).

- Anonim 2010. Tarım İstatistikleri Özeti 1988-2009. T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu.
- Anonim 2011. <http://www.wheatcap.org>.
- Ascough G.D., F. Bakos, E. Balazs, B. Barbanas and J. VanStaden, 2006. Screening South African wheat germplasm for androgenic competence. South African Journal of Botany, 72: 40-45.
- Barbanas E., E. Szakacs, I. Karsai and Z. Bedő, 2001. In vitro androgenesis of wheat: from Fundamentals to practical application. Euphytica, 119: 211-216.
- Barbanas B. 2003. Protocol for producing doubled haploid plants from anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.). Doubled Haploid Production in Crop Plants, 65-70.
- Cakir M., R. Appels, M. Carter, R. Loughman, M. Francki C. Li, J. Johnson, M. Bhave, R. Wilson, R. McLean and I. Barley, 2003. Accelerated wheat breeding using molecular markers. In: Pogna N (ed) X Int. Wheat Genet. Symp. Paestum Italy. Instituto Sperimentale per la Cerealicoltura. Roma-Italy. 1: 117-120.
- De Buyser J., Y. Henry, P. Lonet, R. Hertzog and A. Hepsel. 1987. Florin: A doubled haploid wheat variety developed by the anther culture method. Plant Breeding, 98:53-56.
- Enginözü M. 2006. Donor bitkilerin yetiştirme koşulları ve farklı kültür sıcaklıklarının ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) anter kültüründe haploid bitki rejenerasyonuna etkileri üzerine bir araştırma. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Hansen N.J.P. and S.B. Andersen, 1998. In vitro chromosome doubling with colchicine during microspore culture in wheat (*Triticum aestivum* L.). Euphytica, 102: 101-108.
- Hatipoğlu R., İ. Atış ve S. Altıntaş, 2005. Buğday (*Triticum aestivum* L.) anter kültüründe genotip donör bitki yetiştirme koşulları ovarı ile birlikte kültür ve anterlerin ortama yerleştirilme pozisyonunun haploid bitki rejenerasyonuna etkisi üzerine bir araştırma. Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, 5-9 Eylül, Cilt II: 659-664.
- Holme I.B., A. Olesen, N.J.P. Hansen and S.B. Andersen, 1999. Anther and isolated microspore culture response of wheat lines from northwestern and eastern Europe. Plant Breeding, 118:111-117.
- Hu D., Y. Tang, Z. Yuan and J. Wang, 1983. The induction of pollen sporophyt of winter wheat and development of new variety Jinghua no 1. Science Agricultural Sinica, 1:29-35.
- Hu Y., RR. Bao and XY. Xue, 1988. The new strain '764' of spring wheat by pollen haploid technique from anther culture. Genetic Manipulation in Crops Newsletter, 4:70-85.
- Inagaki M.N. 2003. Doubled haploid production in wheat through wide hybridization. Doubled Haploid Production in Crop Plants, 53-58.
- Löschenberger F.E. and Heberle-Bors, 1992. Anther culture responsiveness of Austrian winter wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. Die Bodenkultur, 43: 115-122.
- Orshinsky B.R. and R.S. Sadasivaiah, 1994. Effect of media on embryoid induction and plant regeneration from cultured anthers of soft white spring wheats (*Triticum aestivum* L.). Plant Science, 102:99-107.
- Pauk J., Z. Kertesz, B. Beke, L. Bona, M. Csösz and J. Matuz, 1995. New winter wheat variety: 'GK Delibab' developed via combining conventional breeding and in-vitro androgenesis. Cer. Res. Com., 23(3):251-256.
- Pauk J., R. Mihaly and M. Puolimatka, 2003. Protocol for wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. Doubled Haploid Production in Crop Plants, 59-64.
- Rahman M.M., A.K.M. Shamsuddin and U. Asad, 2008. In vitro regeneration from mature embryosis in spring wheat. Int. J. Susutain. Crop Product., 3(2):76-80.
- Redha A., T. Attia, B. Büter, S. Saisingtong, P. Stamp and J.E. Schmid, 1998. Improved production of doubled haploids by colchicine application to wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 63: 167-172.
- Redha A., S.M.S. Islam, B. Büter, P. Stamp and J.E. Schmid, 2000. The improvement in regenerated doubled haploids from anther culture of wheat by anther transfer. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 63: 167-172.
- Shahinul Islam S.M. 2010. The effect of colchicine pretreatment on isolated microspore culture of wheat. Australian Journal of Crop Science, 4 (8): 660-665.
- Szakacs E., G. Kovacs, J. Pauk and B. Barbanas, 1989. Substitution analysis of callus induction and plant regeneration from anther culture in wheat (*Triticum aestivum* L.) anthers. Plant Cell Rep., 7: 218-222.
- Tuvesson S., A. Ljungberg, N. Johansson, K.E. Karlson, L.W. Suijs and J.P. Josset, 2000. Large-scale production of wheat and triticale double haploids through the use of a single-anther culture method. Plant Breeding, 119:455-459.
- Zamani I., E. Gouli-Vavdinoudi, G. Kovacs, I. Xynias, D. Roupakias and B. Barbanas, 2003. Plant Breeding, 122: 314-317.
- Zhou H. and C.F. Konzak, 1989. Improvement of anther culture methods for haploid production in wheat. Crop Science, 29: 817-822.