

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI ÇELTİK ÇEŞİT ve HATLARINDA ANTER KÜLTÜRÜ YAPMA
OLANAKLARI**

Sultan ŞAHİN

TARLA BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT

TEKİRDAĞ-2009

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT danışmanlığında, Sultan ŞAHİN tarafından hazırlanan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Tarla Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT *İmza :*

Üye : Prof. Dr. İsmet BAŞER *İmza :*

Üye : Prof. Dr. Nuray ÖZER *İmza :*

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 14.08.2009 tarih ve 32/08 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Orhan DAĞLIOĞLU
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI ÇELTİK ÇEŞİT ve HATLARINDA ANTER KÜLTÜRÜ YAPMA OLANAKLARI

Sultan ŞAHİN

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT

Yirmi altı çeltik genotipinin 5 farklı besi ortamında anter kültürü olanaklarını belirlemek amacıyla yapılan bu araştırmadan elde edilen bulgular, çeltik genotiplerinin anter kültürüne yanıtlarının farklı olduğunu, kullanılan İndika tipi çeltik genotiplerinin anter kültürüne Japonika tipinden daha iyi yanıt verdiklerini göstermiştir.

Çeltik genotiplerinin anter kültürüne yanıtlarının kullanılan besi ortamına göre değişebileceği, genotiplerin en iyi yanıt verdikleri besi ortamlarının “B5- NAA+2,4 D sıvı” ve “N6 - NAA+2,4 D sıvı” ortamları olduğu bulunmuştur. İki besi ortamının ortak paydalarından çeltikte anter kültürü için besi ortamında NAA+2,4 D sıvı komponentlerinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Anter kültürü, haploid, çeltik ıslahı, dihaploid, besi ortamı

2009, 49 sayfa

ABSTRACT

MSc. Thesis

ANTHER CULTURE POSSIBILITIES ON SOME RICE VARIETIES AND LINES

Sultan SAHIN

Namık Kemal University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Main Science Division of Field Crops

Supervisor : Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT

This study was conducted to determine the anther culture possibility of twenty six rice genotypes in 5 different media. The results of the research showed that the responses of rice genotypes to anther culture was different, and Indica type rice genotypes gave better responses to anther culture than Japonica types.

It found that, according to the medium used, the responses of varieties may be changed and the rice genotypes gave the best responses to the liquid “B5- NAA+2,4-D” and the liquid “N6 - NAA+2,4-D” media. The liquid NAA+2,4-D component is common for the both media. Therefore it can be concluded that the liquid NAA+2,4-D component is of great importance for rice anther culture.

Keywords : Anther culture, haploidy, rice breeding, double-haploid, medium

2009, 49 pages

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleşmesinin her aşamasında çok büyük yardım ve desteğini gördüğüm değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kayıhan Z. KORKUT ve Sayın Prof. Dr. İsmet BAŞER'e, Yüksek Lisans eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürüm Dr. Necmi BEŞER ve Çeltik Şubesi Şefim Dr. Halil SÜREK'e, teşekkürü borç biliyorum.

15 Temmuz 2009

Sultan ŞAHİN

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

2,4-D	2,4 Dikloro fenoksi asetik asit
ABA	Absisik asit
BAP	Benzil amino purin
DH	Double haploid
DKN	Sulandırılmış potasyum nitrat ortamı
EKÖF	En küçük ortak fark
IAA	İndol-3-Asetik asit
IBA	İndol butirik asit
IRRI	International Rice Research Institute (Uluslararası Çeltik Araştırma Enstitüsü)
KO	Kareler ortalaması
KT	Kareler toplamı
mM	Milimol
MS	Murashige ve Skoog kültür ortamı
NAA	Naftalin asetik asit
PAA	Fenil asetik asit
PAS	Doku boyamada kullanılan periyodik asit schiff
SD	Serbestlik derecesi
CV	Varyasyon katsayısı

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2. Anter kültürü ile çeltik ıslahı akış diyagramı	5
Şekil 3.2.1.1. Çeltik bitkisine ait anterler	14
Şekil 3.2.1.2. Çeltik anterinden elde edilmiş bir kallus	15
Şekil 3.2.1.3. Anter kültürü şeması	16
Şekil 3.2.2. Gerçek kallus sonuçlarının normalite grafiği	24
Şekil 3.2.2.1. Karekökü alınmış kallus sonuçlarının normalite grafiği	25
Şekil 3.2.2.2. Logaritması alınmış kallus sonuçlarının normalite grafiği	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1. İndica, Japonica ve Javonica çeşit gruplarının genel özellikleri	1
Çizelge 3.1.1. Kullanılan hatlar/çeşitler ve pedigrileri	10
Çizelge 3.1.2. Kullanılan besi ortamları	11
Çizelge 3.1.3. N6 Besi ortamı	12
Çizelge 3.1.4. B5 Besi ortamı	13
Çizelge 4.1. Varyans Analiz Tablosu	27
Çizelge 4.2. Genotiplerin tekrarlamalara göre besi ortamlarındaki kallus sayıları	28
Çizelge 4.1.1. Çeşitlerin tekrarlamalara göre kallus oluşturma değerleri	32
Çizelge 4.2.1. Besi ortamlarında oluşan kallus sayıları	33
Çizelge 4.3.1. Genotip x besi ortamı interaksyonu ve önemlilik grupları	35

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.2.1.2. Erken bivalent dönemde alınmış çeltiğe ait resim	17
Resim 3.2.1.3.1. +6 °C 'de soğuk işleme tabi tutulan çeltikler	18
Resim 3.2.1.3.2. Sterilizasyon işlemi sırasındaki çeltikler	19
Resim 3.2.1.5.1. Filamentlerin açılması	20
Resim 3.2.1.5.2. Anterleri çıkarılan çeltik	21
Resim 3.2.1.5.3. Anterlerin çıkartılması	21
Resim 3.2.1.5.4. Durağan	22
Resim 3.2.1.5.4. DS 14 (Sarıklılık)	22
Resim 3.2.1.6. İnkübatöre koyulan petri kapları	23
Resim 4.1. N6 NAA 2,4-D Sıvı besi ortamında Durağan genotipi kallusu	40
Resim 4.2. N6 Katı besi ortamında DS 14 (Sarıklılık) genotipi kallusu	40
Resim 4.3. N6 Katı besi ortamında DS 14 (Sarıklılık) genotipi kallusu-1	40
Resim 4.4. B5 Sıvı besi ortamında DS 15(Serhat 92) genotipi kallusu	41
Resim 4.5. B5 Sıvı besi ortamında DS 15 (Serhat 92) genotipi kallusu-1	41
Resim 4.6. B5 Sıvı besi ortamı DS 15 (Serhat 92) genotipi kallusu-2	42
Resim 4.7. N6 Sıvı besi ortamında Aeron 21 genotipi kallusu	42
Resim 4.8. N6 NAA 2,4-D Sıvı besi ortamında Durağan genotipi kallusu-1	43
Resim 4.9. B5 NAA 2,4-D Aeron 17 genotipi kallusu	43
Resim 4.10. B5 Sıvı besi ortamında DS 15 (Serhat 92) genotipi kallusu-3	44
Resim 4.11. N6 NAA katı besi ortamında Akçeltik genotipi kallusu	44

İÇİNDEKİLER	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM	10
3.1. Materyal	10
3.2. Yöntem	14
3.2.1. Anter kültürü	14
3.2.1.1. Bitki materyalinin seçimi	16
3.2.1.2. Çiçek tozu gelişim dönemi	16
3.2.1.3. Ön soğuk uygulaması ve anterlerin sterilizasyonu	17
3.2.1.4. Besi ortamlarının hazırlanması	19
3.2.1.5. Anterlerin besi ortamına aktarılması	20
3.2.1.6. Anterlerin inkubasyonu	22
3.2.2. Biyometrik değerlendirme	23
3.2.2.1. Karekök transformasyonu	25
3.2.2.2. Logaritma transformasyonu	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	27
4.1. Kallus Oluşturma Sayılarına Göre Çeşitlerin Karşılaştırılması	31
4.2. Kallus Oluşturma Sayılarına Göre Besi Ortamlarının Karşılaştırılması	33
4.3. Çeşitlere Göre En Uygun Besi Ortamları	34
5. SONUÇ	47
6. KAYNAKLAR	48
ÖZGEÇMİŞ	51

1. GİRİŞ

Oryza cinsi 20 yabani tür ve 2 kültür türü içermektedir. Bu iki kültür türleri Asya kültürü (*O. sativa*) ve Afrika kültürü (*O. glaberrima*) olup her ikisi de A genomuna sahiptir. Bir çok cins diploid ($2n=24$)'tir ve 7 cins ise tetraploid ($4x=48$)'tir (Bajaj, 1991).

Kültürü yapılan çeltik çeşitleri; 1930 yılında Kato tarafından İndika ve Japonika olmak üzere 2 eko-coğrafik gruba ayrılmıştır. 1979 yılında Nanda ve Chaudhury, 3. grup olarak Javanika'yı eklemiştir. İndika grubunda yer alan çeşitler Asya'nın nemli tropik ve subtropik bölgelerine; Japonika grubundaki çeltikler subtropik bölgelerin çok sıcak olmayan bölgelerine yayılmıştır. Javanika grubundaki çeltikler, genellikle Endonezya'nın belli bölgelerinde yetiştirilmektedir. (Kün, 1994)

Çizelge 1. İndica, Japonica ve Javanica çeşit gruplarının genel özellikleri (Kün, 1994)

	İndika	Japonika	Javanika
Adaptasyonu	Daha çok tropik	Daha çok subtropik	Tropik ve subtropik
Gün uzunluğuna tepki	Duyarlılık değişir	duyarlılık değişir	Az duyarlı
Bitki boyu	Genellikle uzun	Genellikle kısa	Uzun
Kardeşlenme	Çok kardeşlenir	Orta düzeyde kardeşlenir	Az kardeşlenir
Çimlenme durgunluğu	Fazla	Orta	Az
Yapraklar	Geniş, parlak yeşil	Dar, koyu yeşil	Geniş-kalın, açık yeşil
Bayrak yaprağı	Dikçe	Yatıkça	Yatıkça
Kavuz tüylülüğü	Kısa, sık tüylü	Uzun, seyrek tüylü	Uzun, kalın tüylü
Kılçık durumu	Genellikle kılçıksız	Genellikle kılçıklı	Genellikle kılçıklı
Tane şekli	Uzun, ince	Kısa, geniş, yuvarlak	Kısa, geniş, kalın
Tane dökme	Kolay tane döker	Az döker	Dökmez
Pişme özelliği	Tane biçimini korur	Lapalaşır	Tane biçimini korur

Tropik veya indika tipi çeltik (*Oryza sativa*) 7 bin yıl önce Güney Çin'de ekilmekteyken daha sonraları Japonya ve diğer Asya ülkelerine yayılmıştır. Çeltik Avrupa'da 8. ve 9. yüzyıllarda İspanya ve Portekiz'de ekilmiş; 10. yüzyıldan sonra Güney İtalya'da ekilmeye başlanmıştır. Günümüzde ise dünyanın birçok bölgesinde ekilmektedir (Chang, 1985).

Dünya tahıl ekiliş ve üretiminde önemli bir paya sahip olan çeltik bitkisi; ekiliş alanı yönünden buğdaydan sonra ikinci, üretim yönünden ise buğday ve mısırdan sonra üçüncü sırayı almaktadır. Çeltik bitkisinden elde edilen pirinç, insan vücut enerjisi gereksiniminin %

23'ünü ve protein gereksiniminin % 16'lık kısmını karşılayabilen çok önemli bir gıda maddesidir (Arias ve ark. 2000).

Dünya'nın birçok bölgesinde her yıl açlık ve yetersiz beslenme binlerce insanı olumsuz etkilemektedir. 1988 IRRI verilerine göre Çeltik (*Oryza sativa* L.) bitkisi 144.641 milyon hektar ekiliş alanına ve 468.275 milyon ton üretime sahiptir (Bajaj, 1991).

İnsanın yeterli ve dengeli bir şekilde beslenerek yeryüzündeki varlığını devam ettirebilmesi için; bitki besin maddeleri üretiminin artırılması gerekmektedir. Artan insan nüfusuna paralel olarak 320 milyon ton olan pirinç tüketimi önümüzdeki 20 yıl içinde 420 milyon tona ulaşacaktır (Arias ve ark., 2000).

Türkiye'de çeltik üretimi 1990 yılında 51 bin hektar iken bu tarihten sonra çeltik üretimi sürekli bir artış eğilimi göstermiş ve 2007 yılında 100 bin hektar dolayında olmuştur. Türkiye'de 1979 yılında yapılan melezlemelerden ilk çeltik çeşitleri geliştirilmiş ve daha sonraki yıllarda yeni çeşitler birbirini izlemiştir. 1997 yılından sonra Melezleme yoluyla ıslah edilen çeşitlerin devreye girmesi ile tohumluk üretimi sürekli bir artış eğilimi göstermiş ve introduksiyon yoluyla tescil edilen çeşitlerin üretimi hızla azalmıştır. Çeltik tohumluğu gereksinimi önceleri dış alımla karşılanırken, yapılan ıslah çalışmaları sonucunda artan üretim sayesinde 2007 yılından itibaren az da olsa yurt dışına sertifikalı olarak çeltik tohumluğu ihraç edilmeye başlanmıştır (Beşer ve ark. 2008).

Günümüzde insanların beslenmesi açısından yaşamsal öneme sahip olan tahıllarda, üretim ve kalite sorunlarının çözümü için genetik varyabilitenin sınırlarına yaklaşılmıştır. Bu nedenle, önemli kültür bitkilerinin ıslahında kullanılacak yeni ve daha geniş genetik varyabiliteye gereksinim vardır. Böyle bir genetik varyabiliteyi elde etmek, klasik bitki ıslahı yöntemlerinin etkinliğini artırmak ve süresini kısaltmak için yeni teknolojilere gereksinim vardır. Bu teknolojiler içinde en yaygın yararlandığımız biyoteknolojidir.

Bitki biyoteknolojisinin temelleri 1838 yılında Schwann ve Schleiden'in *Totipotens Teorisi* ile atılmıştır. Bitki biyoteknolojisindeki ciddi gelişmeler 1900'lü yıllarda başlamıştır. Watson ve Crick tarafından genetik yapının moleküler düzeyde tanımlanması, özellikle bitkilerde moleküler tekniklerin kullanılmasının önünü açmıştır. 1970'li yıllarda haploid bitkilerin elde edilmesi, protoplast kaynaştırması ve somatik melezlemeler, taksonomik veya genetik olarak farklı türler arasındaki eşeysel uyumsuzluk engellerinin aşılması, mutasyonlar, DNA formundaki genetik materyal transferleri gibi önemli çalışmalar yapılmıştır. Günümüzde ise haploid bitkilerin elde edilmesinde anter kültürü yaygın olarak kullanılan bir biyoteknoloji yöntemidir (Vasil ve ark., 1994).

Çok genç çiçektozu hücrelerinden haploid bitkilerin elde edilmesi tekniğine anter kültürü adı verilmektedir. İlk çiçekli haploid bitkiler Blakesler ve arkadaşları tarafından 1922 yılında açıklanmasına karşın, o yıllarda kromozom katlaması başarısız olduğu için bu konuda pek fazla çalışma yapılmamıştır. Anter kültürünün haploid bitkilerin üretiminde kullanılmasına kadar sınırlı sayıda çalışmalar yapılmıştır.

Anter kültürü yöntemi ile haploid bitkilerin elde edilmesi bitki ıslahı çalışmalarında çok önem taşımaktadır. Haploid bitkilerin kromozom sayılarını katlayarak, kısa sürede homozigotluğa ulaşmak olasıdır. Böylece çeşit ıslahı için gereken zamanın kısaltılması sağlanabilir. Ayrıca, haploid bitkilerde katlama sırasında resesif özellikleri belirleyen genler, homozigot halde muhafaza edilebilir (Lynch ve ark., 1991).

Fazla miktarda haploid (n kromozomlu) bitki üretimi sağlayacak olan anter kültürü ile istenilen mutant tiplerin seçimi ve yeni kültür varlarının geliştirilmesi mümkündür. Haploid bitkiler ıslah çalışmalarında genetik analizlerde ve benzer çalışmalarda kullanılan önemli materyellerdir, haploid bitkilerin ıslah çalışmalarında kullanabilmesi için, o türe ait haploid bitkilerin istenildiği zaman yeterli miktarda ve kolay elde edilebilmesi gerekmektedir. Kendine döllen bitkilerde 6-7 yıl gibi çok uzun süre kendileme generasyonuna ihtiyaç duyulurken, anter kültürü yöntemi ile bu süre oldukça kısaltılmaktadır. Süre kısaltımının yanında anter kültürü, ıslahın değişik alanlarında önemli bir kaynak olarak kullanılmaktadır. Anter kültürü ile elde edilen haploid bitkilerde kromozom sayısının ikiye katlanması ile homozigot bitkilerin elde edilmesi özellikle yabancı döllen bitkilerde melez çeşit ıslahında, ıslah sürecinin kısaltılması ve ıslah etkinliğinin artırılması için umut olmuştur.

Çeltik ıslahında da anter kültürü ile homozigot di-haploid çeltik hatları elde etmek mümkündür. Böylece, yeni çeşitlerin ıslahında yöntemin etkinliği artırılacak ve ıslah süresi kısaltılacaktır. Bu çalışma, böyle bir kapsamlı çalışmanın ilk ayağını oluşturmaktadır.

Bu çalışma ile çeltik ıslahı programında kullanılacak uygun anter kültürü yöntemi konusunda bilgi sahibi olunacaktır. Bu temel bilgi kullanılarak ıslah çalışmaları sonucunda geliştirilen çeltik çeşitleri ile önümüzdeki yıllarda tescil edilmesi düşünülen bazı çeltik hatlarının anter kültürüne olan tepkilerini ölçmek mümkün olabilecektir. Anter kültürü yöntemi ile haploid bitki elde ederek anter kültürüne elverişli çeltik çeşitlerini saptamak, çeltik çeşitlerinin farklı besi ortamlarına olan tepkilerini ölçmek ve çeltikte anter kültürü yöntemi için uygun besi ortamlarını bulmak bu çalışmanın başlıca amacıdır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Anter kültürü tekniğinin geliştirildiği ilk yıllarda haploid bitkilerin elde edilmesinin ancak *Solanaccae* ve *Gramineae* gibi belirli bazı bitki familyalarındaki türlerde mümkün olabileceği düşünülmüştür. İlk defa 1967 yılında Bourgin ve Nitsch, *Nicotiana sylvestris* ve *Nicotiana tabacum* türlerinde anter kültürü yoluyla haploid bitkileri elde etmişlerdir. Bourgin ve Nitsch'in bu başarılarından sonra genetikçiler ve bitki ıslahçıları, diğer bitki türlerinde de haploid bitkilerin elde edilmesi için büyük çaba harcamışlardır.

Kessel ve ark. (1977), oksijen düzeyinin düşük olduğu kültürlerde artan adenosine düzeyinin yeşil bitkicik oranını *Daucas carota*'da azalttığını bulmuşlardır.

Imamura ve Harada (1980), aspirasyon ile azalan atmosferik basınç uygulaması ile tütün anterlerine ön soğuk uygulamasının polen embriyogenesisini artırdığını belirtmişlerdir.

Hassawi ve Liang (1990), buğday ve triticale'de yaptıkları çalışmada; çeşit, inkübasyon sıcaklığı ve çiçek tozu gelişimi döneminin anter kültürü üzerine etkilerini araştırmışlardır. İnkübasyon sıcaklığının kallus oluşturma ve bitki jenerasyonu üzerine fazla etkisi olmadığını fakat çiçek tozu gelişim dönemi ile çeşit interaksiyonunun kallus oluşumunu önemli derecede artırdığını bulmuşlardır.

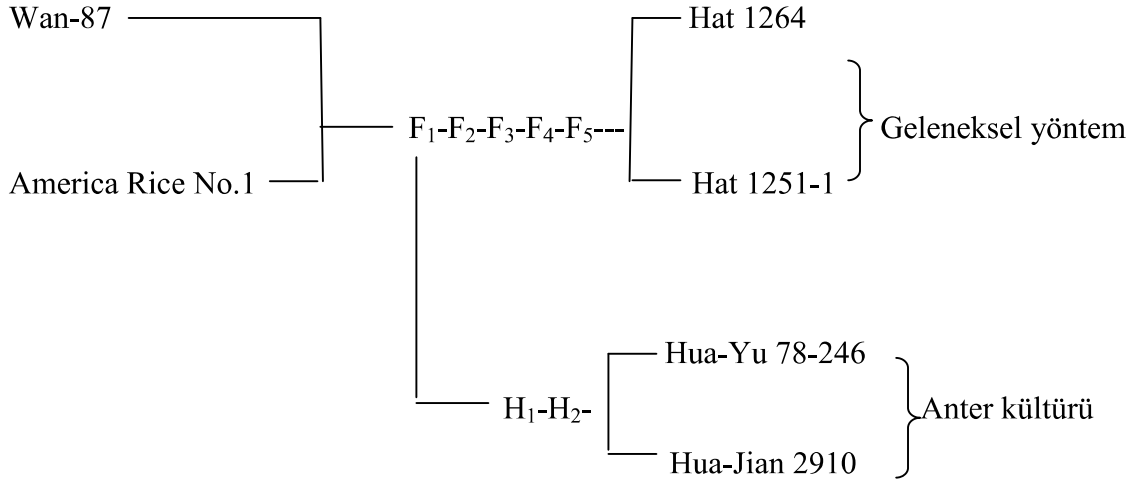
Hatipoğlu ve ark. (1994), ekmeçlik buğday ıslahında anter kültüründen yararlanma olanakları üzerine yürüttükleri çalışmada genotipin anter kültürü reaksiyonunu büyük ölçüde etkilediği sonucuna varmışlardır.

Korkut ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada yerli ve yabancı kökenli ekmeçlik buğday çeşit ile hatlarında haploid ve dihaploid genotiplerin elde edilme olanaklarını araştırmışlardır. Ekmeçlik buğday genotiplerinin kallus, albino ve yeşil bitki yanıtlarını düşük bulmuşlardır. Yirmibeş genotipten 23'ü kallus geliştirmiş, bunlardan 3 tanesinde hiçbir organogenesis görülmemiş, 20 tanesinde ise organogenesis görülmüştür. Yirmi genotipin 15'inden ise yeşil bitki elde etmişlerdir.

Sürek (2002)'e göre artık günümüzde birçok bitki türünde özellikle çeltik de dahil birçok tahılda anter kültürü yoluyla haploid bitkiler elde edilebilmektedir. Çeltikte anter kültürü yöntemi ile ilk haploid bitkiler Niizeki ve Oono tarafından 1968 yılında elde edilmiştir.

Çin'de yapılan bir araştırmada çeltik ıslahında ıslah süresini kısaltmak ve ıslah etkinliğini arttırmak için anter kültüründen yararlanılmıştır (Hua ve ark.. 1983). Ayrıca, geleneksel ıslah yöntemi ile anter kültürüne dayanan haploid ıslah yöntemi karşılaştırılmıştır.

Bu amaçla, Wan-87 ve America Rice No.1 melezleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmaya ait anter kültürü ile çeltik ıslahının akış diyagramı Şekil 2’de verilmiştir.



Şekil 2. Anter kültürü ile çeltik ıslahı akış diyagramı (Hua ve ark., 1983).

Bu araştırmada geleneksel ıslah yöntemiyle F_5 generasyonunda 2 hat geliştirmek mümkün olmuştur. Oysa, anter kültürü ile desteklenmiş yöntemle 2 yıl daha önce sonuca ulaşılmıştır. Stabil 2 anter kültürü hattı H_2 generasyonundan seçilmiştir. Bitki boyu, salkım uzunluğu, salkımda dane sayısı ve bayrak yaprağı ayası alanı özelliklerinde tekdüzelik açısından bu 4 hat arasında önemli fark bulunmamıştır. Oysa, anter kültürü hatlarında varyasyon katsayısı, geleneksel yöntem hatlarının varyasyon katsayısından daha düşük bulunmuştur. Bu da anter kültürü yöntemi ile hatların daha çabuk durulduğunu yani varyabilitenin daha çabuk azaldığını göstermektedir.

Geleneksel eşeyssel melezleme yöntemi ile homozigot hatların geliştirilmesinde en az 5-7 generasyona ihtiyaç duyulmaktadır. Fakat anter kültürü ile iki generasyonda homozigot hatlar elde edilebilir. 1976 yılında haploid ıslahı sonucu ilk ticari çeltik çeşidi tescil edilmiştir. Daha sonraları bu yolla 100’e yakın çeşit geliştirilmiştir (Lynch ve ark., 1991)

Afza ve ark. (2000), Taipei 309 Japonika çeltik çeşidinde salkımın farklı parçalarından alınan anterlerin kallus oluşturma potansiyellerini incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda salkımın farklı pozisyonlarından alınan anterlerin kallus oluşturma yeteneklerinin de farklı

olduğu gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar daha yüksek etkinlikte anter kültürü yapabilmek için salkımın alt bölgelerinden alınan anterlerin kullanılmasının daha doğru olacağını ortaya koymuştur.

Arias ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada, Taipei-309 çeltik çeşidinde sürgün elde edilmiş ve sürgün elde edilmemiş bitkilerden alınan anterleri karşılaştırmışlardır. Embriyogenik benzeri her yapı için en yüksek sayıda yeşil bitkilerin, sürgün elde edilmiş bitkilerden alınan anterlerden oluştuğunu bulmuşlardır.

Bishnoi ve ark. (2000) “İndika x Basmati çeltik melezinde anter kültürü çalışmaları” isimli yaptıkları çalışmada; geliştirilmiş anter kültürü yöntemi kullanılarak çeşitli İndika x Basmati çeltik F₁ melezlerinde ve/veya F₂ bitki populasyonlarında yüksek frekanslarda yeşil fertil dihaploid bitkiler elde etmişlerdir. Altı İndika (HKR120, HKR86-3, HKR-86-217, PR-106, Gobind ve CH2 çift cüce), iki Basmati (Basmati-370, Taraori Basmati) çeltik çeşitleri ve 14 Heterotik İndika x Basmati F₁/F₂ melezlerinin ön soğuklama işlemine (10 °C 10 dakika) tabi tutulmuş salkımları agar ile katılaştırılmış N6M, Heh5M ve RZM modifiye edilmiş besi ortamlarında kültüre alınmıştır. En iyi kallus oluşturma frekansı (%2.6-78) % 4 (w/v) maltoz, 2,4-D, NAA ve kinetin içeren RZM besi ortamından elde edilmiştir. F₁ melezleri ve anaç çeltik çeşitleri ile karşılaştırıldığında F₂ bitkilerinin anter kültürüne daha uygun olduğu görülmüştür. RZM besi ortamında tam 30 dakikada İndika Basmati F₂ bitkilerinden androgenesis frekansları % 31-78 olarak elde edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bu değerler Japonika çeltik çeşitleri ve Japonika anaçları içeren çeltik melezleri için daha önce açıklanan değerlerden daha yüksek olarak bulunmuştur. Yüksek bitki rejenerasyon frekansları (her 1000 anter için 67-337 yeşil bitki) çeşitli F₁ melezlerinden (Gobint x Basmati 370 ve HKR120 x Taraori Basmati) ve F₂ bitkilerinden (Gobind x Basmati 370, Gobind x Taraori Basmati, HKR86-3 x Taraori Basmati) elde edilmiştir. Bu melezlerden 498 bitki örneği saksılara şaşırtılmıştır ve % 90’ı canlı kalmayı başarmıştır. Bu bitkilerin % 8-78’i % 5’in üzerinde başakçık fertilitesi göstermiş ve diploittir. Ayrıca haploid bitkilerin % 18’inde % 0.1 kolkisin solüsyonuna batırma ile diploitleştirme gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada anter kültürü işleminin iyileştirilmesi sağlanmıştır. Böylece daha önce yayınlanan sonuçlarla karşılaştırıldığında Rekalsitrant İndika x Basmati çeltik melezlerinde yeşil bitkilerin elde edilmesi bir kaç kat arttırılmıştır. Bu çalışma; İndika çeltiklerinden arzulanan genlerin Basmati çeltiğine anter kültürünü bir ıslah aracı olarak kullanarak aktarılması işlemini hızlandırmıştır.

Daigen ve ark. (2000) “Japonika çeltik çeşidi Koshihikari’de etkili anter kültürü yöntemi” konulu çalışmalarında; Japonika çeltik çeşidi Koshihikari’yi yüksek yeme

kalitesinde çeltik çeşidi ıslahı için melezlemede anaç olarak kullanmışlardır. Anter kültürü yöntemi kısa bir süre içinde yeni bir çeltik çeşidi ıslah etmek amacıyla geliştirilmiştir. Son yıllarda çok sayıda çeşit bu sayede üretime sunulmuştur. Bununla birlikte Koshihikari'nin anter kültürü etkinliği düşük bulunmuştur. Anter kültürü etkinliğini arttırmak için Koshihikari kallus kültürüne uygun bir kültür besi ortamı geliştirilmiştir. Bu besi ortamı R2 besi ortamının bir modifikasyonudur. Yani R2 ortamındaki KNO_3 ve $(NH_4)_2SO_4$ 1/5 ortamında sulandırılmıştır. 5mM aspartik asit ve 5 mM gulitamin eklenmiştir. Vitaminler yerine B5 besi ortamı konulmuştur. Böylece DKN (sulandırılmış KNO_3) ortamı elde edilmiştir. DKN besi ortamının bazal (ana) besi ortamı olarak kullanıldığı anter kültürü yönteminde 3 aşamada Koshihikari anterleri kültüre alınmıştır. Verici bitkiler serada yetiştirilmiştir. DKN besi ortamı üzerinde her anter için yeşil bitki rejenerasyon oranı 4.3 katı bulunmuştur. Verici bitkiler tarlada yetiştirildiğinde anter kültürü ile çeltik ıslahında kullanılan 1/2 R2 besi ortamındakine kıyasla 21.4 kat daha fazla kallus oluşmuştur. Buradan Koshihikari çeltik çeşidinin anterlerinin kültüre alınmasında 3 aşamalı anter kültürü yöntemi ve DKN besi ortamı kombinasyonunun daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Dane ve Meriç (2001), “bazı çeltik çeşitlerinde (*Oryza sativa* L.) anter kültürü yoluyla kallus üretimi ve kallusun sitolojik özelliklerinin incelenmesi” konulu çalışmalarında *Oryza sativa*'nın Japonika alt türüne ait 4 çeltik çeşidine N6 ve B5 besi ortamlarında anter kültürü tekniği yöntemini uygulamışlardır. Bütün çeşitler her iki ortamda da benzer şekilde cevap vermiştir. B5 besi ortamındaki kallus oluşum oranını Sürek-95'te % 318, Baldo çeşidinde %122, Rocca çeşidinde % 74 ve Osmancık'ta % 88 olarak saptamışlardır. N6 besi ortamındaki kallus oluşum oranını ise Sürek 95'te % 262, Baldo'da % 148 Rocca'da % 95 ve Osmancık'ta % 76 olarak gözlemişlerdir. Kallusların mikrospor ve çiçektozu tanelerinden oluştuğu gözlenmiştir. Çiçektozu tanelerinden embriyonik olmayan kallus, mikrosporlardan ise embriyonik kallus oluşturmuşlardır. Çiçektozu tanelerinin ve mikrosporların bazı sitolojik değişiklikler geçirdiği görülmüştür. Kallus gelişiminin ileri evrelerinde çok sayıda tümör, iletim sistemi gelişimi ve kallus hücrelerinde nişasta birikimi ortaya çıkmıştır. Kallusun histolojisinde bazı bölgeler PAS ile daha kuvvetli boyanmıştır. Flow sitometri sonuçları kallus hücrelerinin % 58.3'ünün diploit % 41.7'sinin ise aneuploid olduğunu göstermiştir.

Boyadjiev (2002), “anter kültürü yöntemi ile Bulgar çeltik çeşitlerinin geliştirilmesini kolaylaştırmayı zenginleştiren biyoteknoloji uygulamaları” isimli çalışmasında, Japonika x İndika F₁ hibrit kombinasyonundan DH hattı sağlanması için MS katı ve N6 katı ortamlarını kullanmıştır. Ortama kallus indüksiyonu için 2.0 mg/l 2,4-D ve bitki gelişimi için ise 0.5 mg/l kinetin ilave etmiştir. N6 media ortamına toplam 2975 adet anter ilave edilmiştir. Bunlardan 4

adet F₁ Japonika x Indika, 2 adet F₁ Japonika x Japonika melezi kullanılmıştır ve 1 adet Marina DH ise standart olarak kullanılmıştır. Bu çalışmadan 458 adet kallus sağlanmış (%15.3) 379 adet kallus yeni besi ortamına aktarılmış ve bunlardan da 164 adet albino bitki ile 86 adet yeşil bitki elde edilmiştir. MS besi ortamına ise 2988 adet anter konulmuş, 335 adet kallus elde edilmiş (%11.2) ve 264 adet kallus yeni besi ortamına aktarılmıştır. Bu çalışmadan 54 adet albino bitki ile 93 adet yeşil bitki elde edilmiştir.

Quintero ve ark. (2002) “çeltik anter kültürü için geçici olarak daldırma sistemi (RITA)” isimli çalışmada, anterleri RITA sistemine daldırmanın diğer sıvı besi ortamlarına nazaran faydalarını incelemişlerdir. Bunlar, anterlerin yeni besi ortamına aktarılmasındaki kolaylıklar, özdevinim rahatlığı, artan sterilizasyon, kolay yıkanma gibi faydalar olmuştur. Anter kültürü için İndika çeltik çeşitlerinden Cica 8, Cimarron, Fedearroz 2000, CT 11275 çeşitleri kullanılmış ve Japonika çeşidi olarak ise CT 6241-17-1-5-1 hattı kullanılmıştır. Verici bitkiler tarlada yetiştirilip hasat edildikten sonra anterler RITA ortamında tutulmuştur. Standart ortam olarak ise bebek maması besi ortamı kullanılmıştır. Oluşan kalluslar yeni besi ortamına taşınmıştır.

Shahnewaz ve ark. (2003), haploid çeltik bitkileri elde etmek için geç tek çekirdekli mikrospor evresindeki 3 çeltik çeşidinin anterlerini kullanmışlardır. Oksinlerin ve kinetin (sitokinin) çeşitli kombinasyonları ve yoğunlukları ile desteklenmiş Z2 besi ortamında anterler kültüre alınmıştır. Kültüre alınan anterler içinde 2,4-D 2.0 mg/L, NAA 2.5 mg/L, kinetin 0.5 mg/L içeren Z2 besi ortamında en iyi kallus oluşturma gözlenmiştir. Anterlerden elde edilen kalluslardan haploid bitkiciklerin rejenerasyonu için bu kalluslar 1.0 mg/L NAA, 1.0 mg/L kinetin, 1.0 mg/L BAP ile zenginleştirilmiş ve modifiye edilmiş MS besi ortamına transfer edilmiştir. Daha sonra ışıkta 251 °C de inkübe edilmiştir. BRRI Dhan-29 çeşidi hem yeşil hem de albino bitkiler oluşturmuştur. Oysa BR-3 çeşidi salt yeşil bitkiler oluşturmuştur. BRRI Dhan-29 çeşidinden elde edilen yeşil bitkicikler incelendiğinde % 69.2 oranında haploid bitkiler oluştuğu ortaya çıkmıştır.

Chu ve ark. (2005), yaptıkları ıslah çalışmalarında köprü anaç kullanarak çeltik melezlemeleri yapmış ve bunun için de anter kültüründen yararlanmışlardır. Japonika tip çeltiklerin anter kültürü ile melezlenmesinde % 6 başarı sağlarken İndika tipi çeltiklerin melezlenmesindeki başarı %1'in altında olarak hesaplamışlardır. Javanika tipi çeltiklerle yapılan anter kültürü melezlemelerinde % 1.2 başarı elde etmişlerdir. Javanika tipi çeltikler; Japonika ile İndika tipi eko-coğrafik ırkları arasında yer almaktadır. Melez bahçesi için bu çalışmada anter kültürü yapılabilirliği yüksek olan tipler köprü anaç olarak kullanılmıştır.

Güney Amerika'nın ileri gelen yöresel çeşitleri ile melezlenen köprü anaçlar anter kültürüne alınabilirlikte döngüsel ilerleme göstermişlerdir.

Otani ve ark. (2005) anter kültürü kullanarak transgenik çeltikte dihaploid elde etmeye çalışmışlardır. Bunun için yabancı iki homozigot gen kullanmışlardır. Transgenik hatlar anter kültürüne farklı yanıtlar vermiştir. Mikrospor türemiş kallustan yeşil bitkicikler rejenere edilmiştir. % 5.9 - 88.9 oranında rejenere edilmiş bitkilerle birçok tohum seraya koyulmuştur. Analiz sonunda ise aynı oldukları ya da yabancı gen içermedikleri ve transgen edilenlerden hiç heterozigot bitki elde edilmediği görülmüştür.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada materyal olarak Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından tescil edilmiş olan Japonika tipe ait Serhat 92, Beşer, Demir, Ece, Edirne, Durağan, Osmancık-97 çeltik çeşitleri ile yerli Akçeltik ve Sarıklık çeşitlerinin yanı sıra IRRI'den getirilen İndika tipi Aeron kodlu bazı hat ve çeşitler olmak üzere toplam 26 çeltik genotipi kullanılmıştır. Çizelge 3.1.1'de bu hat ve çeşitlere ait bilgiler bulunmaktadır.

Çizelge 3.1.1. Kullanılan hatlar/çeşitler ve pedigrileri

Sıra No	Çeşit	Pedigri Numarası
1	Aeron 14	IR79915-B-83-4-4
2	Aeron 15	IR78875-176-B-1-B
3	Aeron 17	IR79971-B-204-1-4
4	Aeron 21	IR81024-B-61-3
5	Aeron 32	IR80508-B-57-4-B
6	Aeron 33	IR81024-B-21-3
7	Aeron 37	IR80508-B-57-2-B
8	Aeron 53	IR80508-B-194-2-B
9	Aeron 61	IR79907-B-481-2-3
10	Akçeltik	Yerel Çeşit
11	Beşer	İpsala Mutasyon
12	CL-161	Kaynağı bilinmiyor
13	Demir	84050-TR778-5-1
14	Durağan	94038-TR1607-4-3-1
15	Ece	90059-TR1251-4-1-2

16	Edirne	88029-TR1054-6-1-1
17	IR 50	IR2153-14-1-6-2/IR 28//IR36
18	Irton 306	94052-TR1621-2-1-1-1
19	Kızıltan	94010-TR1579-1-2-2
20	MB 36	81020-TR295-3-1-2
21	Osmancık	82017-TR427-1-1-1-1
22	(DS 14) Sarıklıçık	Yerel Çeşit
23	(DS 15) Serhat 92	7954-TR54-14-1-1
24	Thaibonnet	723761/7232278//L-201
25	TR 2343	Rocca mutasyon/Sakka-102
26	YRF 204 M. 46-1	YRF 204 Mutant

Anter kültüründe yanıtın aynı türdeki genotipler arasında bile farklılık gösterdiği bir durumda, çeltik çeşitleri için ortak bir besi ortamı önermek zordur. Bunun için çalışmamızda N6 (Chu ve ark., 1975) ve B5 (Gamborg ve ark., 1968) besi ortamları ile bu ortamların 2,4-D ve NAA hormonu ile desteklenmiş ortamları katılarak 5 farklı besi ortamı kullanılmıştır. Kullanılan besi ortamları Çizelge 3.1.2.'de verilmiştir. N6 ve B5 besi ortamlarının içeriği Çizelge 3.1.3 ve Çizelge 3.1.4'te verilmiştir. Katı N6 besi ortamı elde etmek için ortama agar katılmıştır.

Çizelge 3.1.2. Kullanılan besi ortamları

No	Besi Ortamı
1	N6 Katı
2	N6 NAA Katı
3	N6 NAA 2,4-D Sıvı
4	B5 Sıvı
5	B5 NAA 2,4-D Sıvı

Çizelge 3.1.3. N6 Besi ortamı

Stok	Bileşik	Konsantrasyon (mg/L)	Stok solüsyon (g/L)	Litre başına düşen stok (ml)
G-1	KNO ₃	2500	250	10.00
G-2	(NH ₄) ₂ SO ₄	134	13.40	10.00
	MgSO ₄ .7H ₂ O	150	15.00	
G-3	NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	150	15.00	10.00
G-4	MnSO ₄ .H ₂ O	10.0	1.00	10.00
	H ₃ BO ₃	3.00	0.30	
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1.50	0.15	
G-5	KI	0.75	0.075	10.00
G-6	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	0.025	10.00
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025	0.0025	
	CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025	0.0025	
Demir, Tuz ve Kalsiyum	Na ₂ EDTA	37.25	3.725	10.00
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27.85	2.785	
	CaCl ₂ .2H ₂ O	150	15.00	
Myo-Inositol		160		
Vitamin	Nikotinik asit	1.00	100 mg/100 ml	1.00
	Pyridoxine HCl	1.00	100 mg/100 ml	1.00
	Thiamine HCl	10.0	100 mg/1 ml	10.00
Hormonlar	2,4 -D	1.00	10.00	10.00
Diğer	Sukroz	20000		
	Agar	8000		
	pH	5.6-5.8		

Çizelge 3.1.4. B5 Besi ortamı

Bileşik	(mg/L)
MgSO ₄ .7H ₂ O	250
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	150
KNO ₃	2500
CaCl ₂ .2H ₂ O	150
(NH ₄) ₂ SO ₄	134
H ₃ BO ₃	3.00
MnSO ₄ .H ₂ O	10.00
ZnSO ₄ .7H ₂ O	2.00
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
KI	0.75
Na ₂ Edta	37.30
Myo-inositol	100
Tiamin	10.00
Pyridoxine	1.00
Nikotinik asit	1.00
Glisin	200
Sukroz	20.00
Hormon 2.4 D	1.00
pH	5.8

3.2. Yöntem

Anaç bitkilere ait çeltik tohumları Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarlalarında çeltik ekim sezonunda ekilmiştir. Çalışmada kullanılan çeltik tarlalarındaki ekim bakım ve gübreleme işleri diğer çeltik tarlalarında olduğu gibi yapılmıştır.

Anter kültürü çalışması, 26 çeltik genotipi 5 besi ortamı üzerinde denemeye alınmıştır. Çalışma 3 tekrarlamalı olarak tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre laboratuvar koşullarında yürütülmüştür. Yirmi altı genotip ana-parsellerde, 5 besi ortamı ise alt-parsellerde yer almıştır.

3.2.1. Anter kültürü

Anter kültürü, bir bitkiden izole edilen anterlerin uygun bir besi ortamına alınarak yeni bitkilerin yetiştirilmesi tekniğidir. Anter kültürünün temel prensibi; normal olarak erkek gameti oluşturacak çiçektozu hücrelerinin gelişmesini durdurmak ve somatik hücrelerde olduğu gibi çiçektozu hücrelerini doğrudan bir bitki oluşturmaya zorlamaktır. Şekil 3.2.1.1'de görüldüğü gibi çeltik bitkisinde her çiçekte altı adet anter bulunmaktadır.



Şekil 3.2.1.1. Çeltik bitkisine ait anterler

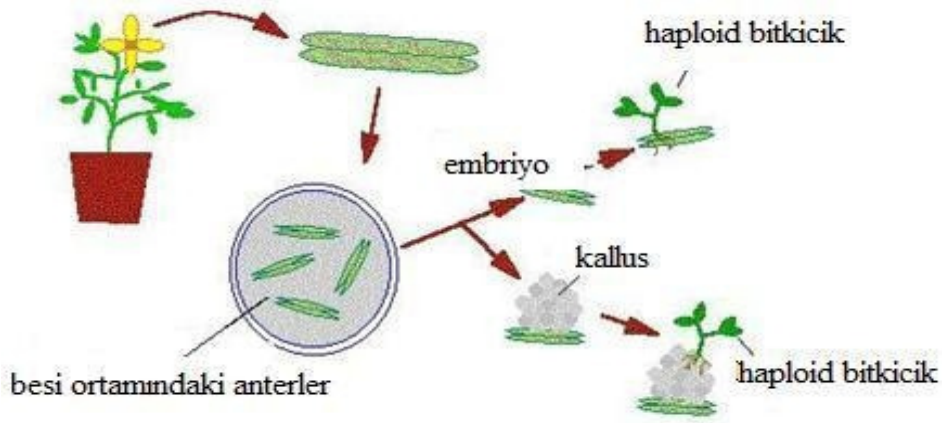
Anter kültürü, polen oluşumu sırasında anterlerin çiçek tomurcuklarından çıkarılıp steril koşullarda besi ortamına aktarılması ile başlar. Anterler bu kültür ortamında mitoz bölünme geçirerek gelişirler. Oluşan kallusların gelişme süreçlerinin tamamlanması sonucu

haploid bitkicikler elde edilir. Şekil 3.2.1.2’de çeltik anterinden elde edilmiş bir kallus görülmektedir.



Şekil 3.2.1.2. Çeltik anterinden elde edilmiş kallus

Elde edilen haploid bitkilerin kromozom sayıları yaygın olarak kullanılan mutajen olan kolkisin ya da diğer mutagenler kullanılarak 2 katına çıkarılır. Kromozom katlaması sağlanarak elde edilen bitkilerin homozigotluğu % 100 homozigotluğa çok yakındır. Şekil 3.2.1.3’de anter kültürü çalışmasına ait bir şema görülmektedir.



Şekil 3.2.1.3 Anter kültürü şeması

Anter kültürü çalışmasının diğer in vitro haploid bitki elde etme tekniklerine göre avantajı, bir anter içerisinde binlerce çiçektozunun bulunması ve uygun bir in vitro kültür sistemi ortaya konulabildiğinde bir anterden çok daha fazla sayıda haploid bitki elde edilebilmesidir.

Anter kültürü çalışmasında kullanılan başlıca evreler; bitki materyalinin seçimi, çiçek tozu gelişim dönemi, ön soğuk uygulaması ve sterilizasyon işlemleri, besi ortamlarının hazırlanması, anterlerin besi ortamına aktarılması ve anterlerin inkubasyonudur. Bu evreler alt başlıklar halinde tek tek açıklanmıştır.

3.2.1.1 Bitki materyalinin seçimi

Bu çalışmanın birinci aşamasında verici bitkilerin seçimi gerçekleştirilmiştir. Anter kültürü çalışması için yapılan literatür araştırmalarında çoğunlukla indika tip çeltikler kullanıldığı için çalışmada daha çok indika tip genotipler verici bitki olarak seçilmiştir.

3.2.1.2 Çiçek tozu gelişim dönemi

Anter kültüründeki başarı kullanılan besi ortamının yapısına ve kültüre alınan çiçek tozunun gelişme devresine bağlıdır. Haploid bitki elde etmek için anterleri belirli dönemde ortama almak gerekir. Resim 3.2.1.2'de alınma zamanına uygun bir çeltik resmi görülmektedir.



Resim 3.2.1.2. Erken bivalent dönemde alınmış çeltiğe ait resim (orijinal)

Anterler birinci çiçek tozu mitosisi döneminde kültüre alınırsa haploid bitkiler elde edilebilir. Çeltik salkımı bayrak yaprağından henüz çıkmamışken sabah saat 7-9 arası ya da öğleden sonra 4-6 arası saatlerinde, yani anterlerdeki çiçek tozları orta tek çekirdekli erken bivalent dönemde iken bitkilerdeki salkımlar sapla birlikte kesilerek alınmıştır. Bayrak yaprağı kulakçık merkezi ile ikinci alt bayrak yaprağının kulakçık merkezinden olan mesafesi 5 ile 9 cm arasında iken alınmıştır (Arias, 2000).

3.2.1.3 Ön Soğuk uygulaması ve anterlerin sterilizasyonu

Deneme parsellerindeki bitkilerden alınan çeltik salkımları ön soğuk uygulaması yapılması amacıyla içinde su bulunan kaplara konmuş ve üstleri hafifçe kapatılmıştır. Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne ait soğuk odada 8 gün boyunca +6 °C de karanlık ortamda bekletilmişlerdir (Resim 3.2.1.3.1).

Anter kültüründe soğuk uygulamasının olumlu etki yapmasının nedeni; nişasta birikiminin bloke edilmesi, tek çekirdekli mikrospor döneminde tutulan mikrospor sayısının artırılması, anter duvarının yaşlanmasının geciktirilmesi ve absisik asit gibi bazı engelleyici maddelerin etkisinin azaltılmasıdır (Arias, 2000).



Resim 3.2.1.3.1. +6 °C 'de soğuk işleme tabi tutulan çeltikler (orijinal)

Daha sonra çeltiklerin salkımlarına Namık Kemal Üniversitesi Tarla Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı' nda sterilizasyon işlemi uygulanmıştır. Bu işlem için salkımlar laboratuvar ortamında sap ve yapraklarından uzaklaştırılmıştır.

Salkımlar içinde 3 damla Twin 80 bulunan % 2'lik sodyum hipoklorit solüsyonunda 20 dakika süre ile çalkalanmıştır (Resim 3.2.1.3.2). Daha sonra bu çeltikler steril kabin içinde steril su ile 3 kez durulanmıştır (Arias ve ark., 2000).



Resim 3.2.1.3.2. Sterilizasyon işlemindeki çeltikler (orijinal)

3.2.1.4. Besi ortamlarının hazırlanması

Anter kültüründe ilk aşamada gametofitik dokuları sporofitik gelişmeye dönüştürme yönünde uyaracak oksinler gerekli iken; bitkiciğe dönüşüm aşamasında sitokininlerin varlığına gereksinim duyulur. 2,4-D ve NAA'nın sıklıkla kullanıldığı çeltik anter kültürlerinde oksin kaynağı olarak IAA kullanılmaktadır.

Bu amaçla, çalışmamızda N6 (Chu ve ark., 1975) ve B5 (Gamborg ve ark., 1968) besiy ortamları ile bu ortamların 2,4-D ve NAA hormonu ile desteklenmiş ortamları kullanılmıştır.

Çalışmamızda B5 Sıvı ve N6 Sıvı ortamlarına 2 mg/L naftalin asedik asit ve 0.5 mg/L kinetin ilave edilerek besiy ortamının pH'ı 5.8'e ayarlanmıştır.

N6 besiy ortamları ve B5 besiy ortamları laboratuvar koşullarında 0.001 hassas terazi kullanılarak bileşiklerden çizelgelerdeki miktarlar alınıp stoklar hazırlanmıştır. Daha sonra stoklar otoklavda sterilize edilmiştir. Sterilize edilen besiy ortamlarından katı olanlar aynı gün laboratuvarında steril kabin içinde petri kaplarına dökülmüştür, sıvı olanlar ise sterilize edildikleri kaplarda bırakılarak anterlerin aktarılması esnasında steril petri kaplarına dökülmüştür. Petri kaplarına 10 ml besiy ortamı konulmuştur. Her petri kabına 100 adet çeltik anterleri aktarılmıştır.

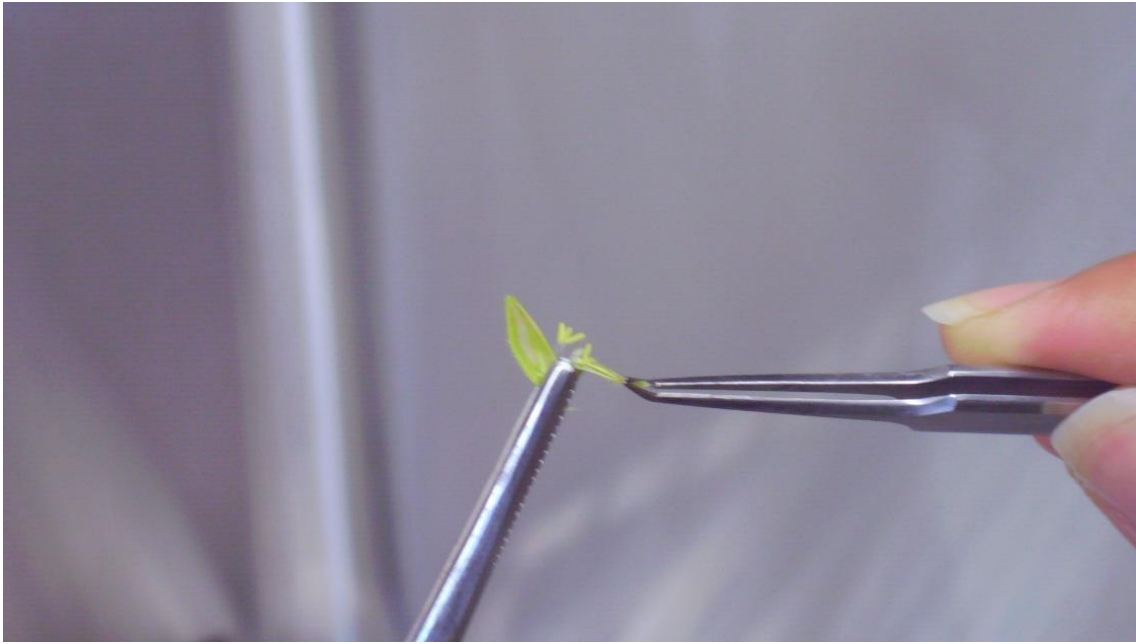
3.2.1.5. Anterlerin besi ortamına aktarılması

Steril hale getirilen salkımlardan alınan anterler steril pensler ile çıkarılarak daha önce petri kaplarında hazırlanmış steril besi ortamları üzerine aktarılmışlardır.

Anterlerden kahverengi ve açık sarı renkli olanlar, anter kültürüne yanıt vermeyeceklerinden dolayı kültüre alınmamıştır. Yeşil renge sahip olan anterler, anter kültürü çalışması için en uygun olanlarıdır.

Anterler izole edilirken çok dikkatli davranmak ve anterleri yaralamamak gerekir. Anterlere inokülasyon esnasında zarar verilirse bu anterler besi ortamında yanıt vermezler.

Kapalı olan filamentler Resim 3.2.1.5.1, 3.2.1.5.2 ve 3.2.1.5.3'te görüldüğü gibi ince bir pens ile dikkatli bir şekilde açılarak, anterler stamenlerinden alınmış ve içinde besi ortamı bulunan petri kaplarına konulmuştur.



Resim 3.2.1.5.1. Filamentlerin açılması (orijinal)



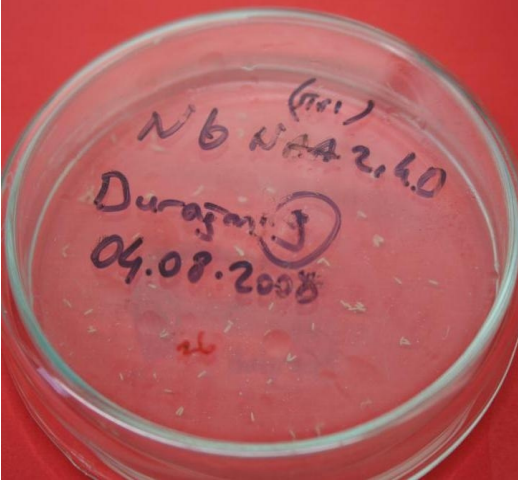
Resim 3.2.1.5.2. Anterleri çıkarılan çeltik (orjinal)



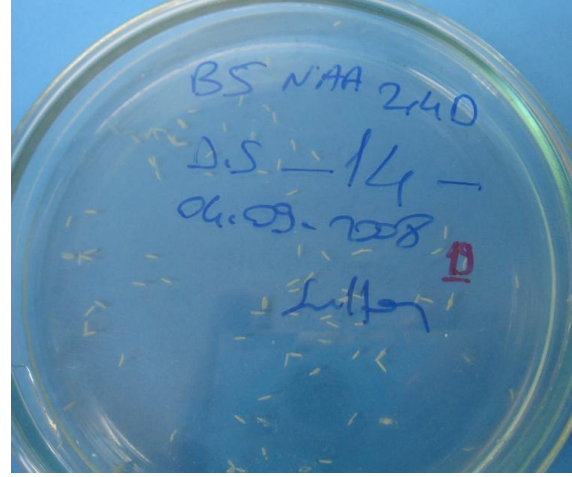
Resim 3.2.1.5.3. Anterlerin çıkartılması (orjinal)

Anterleri çıkarırken stamentlerinden tamamen koparıldığına dikkat edilmiştir. Petri kabına stament ya da dişi organ girmemiştir.

Petri kapları üzerine, Resim 3.2.1.5.4 ve Resim 3.2.1.5.5'te görüldüğü gibi, çeşit, besi ortamı ve aktarılma tarihi yazılmış ve petri kaplarının ağzı lesco film ile kapatılarak sıkıca sarılmıştır.



Resim 3.2.1.5.4. Durağan (orijinal)



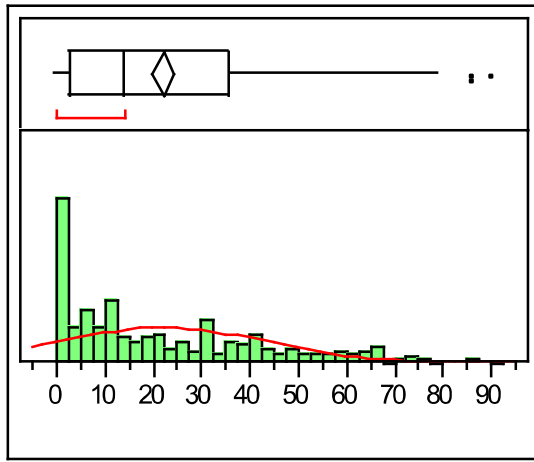
Resim 3.2.1.5.5. (DS 14) Sarıkılık (orijinal)

3.2.1.6. Anterlerin inkubasyonu

Anterlerin aktarıldığı petri kapları, 28 °C'de inkubatörde karanlıkta bırakılmıştır. Burada yaklaşık 5 hafta süresince anterlerden kallus gelişimi izlenmiştir. Kallus gelişimi gösteren anterler yeni besi ortamına aktarılmıştır (Resim 3.2.1.6).

görülmektedir. Karekök Transformasyonuna ait önemlilik değeri 0.928 bulunurken Logaritma Transformasyonuna ait önemlilik değeri 0.892 olarak bulunmuştur.

Karekök Transformasyonunun normalitesinin, gerçek kallus değerlerinin normalitesinden ve Logaritma Transformasyonuna ait normalite testinden, daha normal bir dağılım gösterdiği ve Karekök Transformasyona ait önemlilik derecesinin de diğerlerinden daha büyük olduğu için çalışmamızda Karekök Transformasyon yöntemi kullanılmıştır. Yapılan JPM İstatistik Programına ait normalite sonuçları ve grafikleri aşağıda verilmektedir.



— Normal(22,041,21,3392)

Şekil 3.2.2. Gerçek kallus sonuçlarının normalite grafiği

Ortalama	22.041026
Standart Sapma	21.339184
Ortalamanın Standart Hatası	1.0805516
Üst % 95 Ortalama	24.165478
Alt % 95 Ortalama	19.916574
N	390

Tahmin Edilen Parametreler

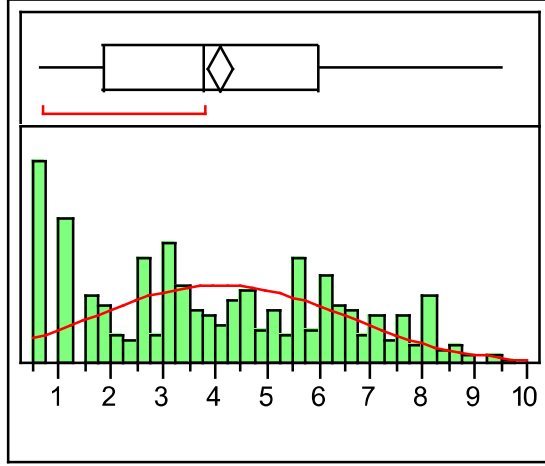
Tip	Parametre	Tahmin	Alt % 95	Üst % 95
Lokasyon	Mu	22.04103	19.91657	24.16548
Dağılım	Sigma	21.33918	19.93932	22.95206

Uygunluk Testi

Önemlilik (W)	Olasılık (P) <W
0.864356	0.0000

3.2.2.1 Karekök transformasyonu

Karekök Transformasyonu uygulandığında normaliteye ait önemlilik değeri 0.928 bulunmuştur.



— Normal(4,11448,2,37202)

Şekil 3.2.2.1 Karekökü alınmış kallus sonuçlarının normalite grafiği

Ortalama	4,1144832
Standart Sapma	2,3720203
Ortalamanın Standart Hatası	0,1201119
Üst % 95 Ortalama	4,350633
Alt % 95 Ortalama	3,8783334
N	390

Tahmin Edilen Parametreler

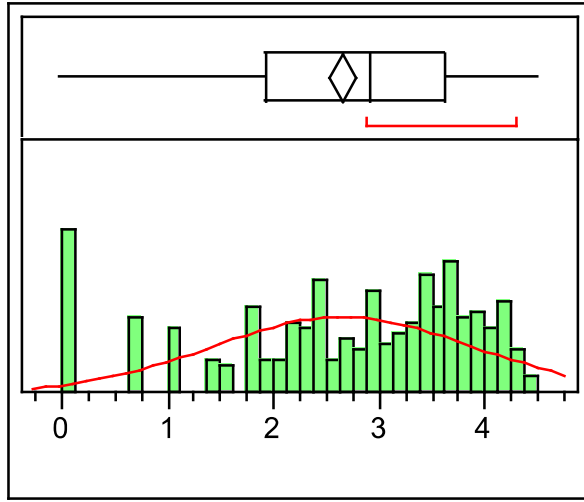
Tip	Parametre	Tahmin	Alt % 95	Üst % 95
Lokasyon	Mu	4,114483	3,878333	4,350633
Dağılım	Sigma	2,372020	2,216415	2,551304

Uygunluk Testi

Önemlilik (W)	Olasılık (P) <W
0,927865	0,0000

3.2.2.2 Logaritma transformasyonu

Logaritma Transformasyonuna ait normalitenin önemlilik değeri 0.892 olarak bulunmuştur.



Normal(2,66054,1,24071)

Şekil 3.2.2.2. Logaritması alınmış kallus sonuçlarının normalite grafiği

Ortalama	2.6605367
Standart Sapma	1.2407124
Ortalamanın Standart Hatası	0.0665092
Üst % 95 Ortalama	2.7913485
Alt % 95 Ortalama	2.5297249
N	348

Tip	Parametre	Tahmin	Alt % 95	Üst % 95
Lokasyon	Mu	2.660537	2.529725	2.791349
Dağılım	Sigma	1.240712	1.154873	1.340443

Önemlilik (W)	Olasılık (P) <W
0.892154	0.0000

Transforme edilmiş değerler ile varyans analizi ve önemlilik testleri Steel ve Torrie (1960) tarafından önerilen yöntemle göre JMP istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Elde edilen kallus sayıları tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme deseni modeline göre varyans analizine tabii tutulmuş ve belirlenen önemlilik testi sonuçlarına göre genotip ve besi ortamları anter kültürüne yanıtta kallus gelişimi üzerine etkileri önemli bulunmuştur. Çalışmada genotiplerin farklı besi ortamlarında yanıtlarını ortaya koyan genotipxbesi ortamı interaksyonu önemli bulunmuştur.

Bu denemede incelenen 26 genotipin 5 farklı besi ortamı üzerinden ortalama kallus oluşturma sayılarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Varyans analiz çizelgesi

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F hesap	F çizelge
Genotip	25	83.0869	70.1443	1.70 *
Hata 1	52	1.18451	3.1987	
Besi Ortamı	4	10.76	29.0564	2.37*
GenotipxBesiOrtamı İnteraksyonu	100	2.08195	5.6221	1.22*
Hata 2	208	0.3703		
Genel	389			
* : 0.05 olasılıkla istatistik olarak önemlidir.			CV=15.30	

Çizelge 4.1’deki varyans analiz tablosundan da görüldüğü gibi, genotiplerin oluşturduğu kallus sayıları arasındaki farklılıklar, farklı besi ortamlarında oluşan kallus sayıları ve genotiplerin farklı besi ortamlarında oluşturdukları kallus sayıları arasındaki farklılıklar istatistik olarak 0.05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu denemenin varyasyon katsayısı (CV) değeri 15.30 bulunmuştur. Tahıllar için genellikle 13.00 değeri güvenilir bir katsayıdır. Burada elde edilen 15.30 değeri bu denemenin sonuçlarına yüksek oranda güvenebileceğini göstermektedir.

Bu sonuçlar çeltikte anter kültüründe, genotipik farklılıkların ve besi ortamlarının kallus oluşturma üzerine önemli etki yaptığını göstermektedir.

Çalışmamızda elde edilen bu sonuçlar Bishnoi ve ark. (2000) “İndika x Basmati çeltik melezinde anter kültürü isimli çalışmaları ve Boyadjiev (2002) “anter kültürü yöntemi ile Bulgar çeltik çeşitlerinin geliştirilmesinde biyoteknoloji uygulamaları” isimli yaptığı çalışmalar ile benzer sonuçları vermiştir.

Bu denemede incelenen 26 genotipin her birinin 3 tekrarlama üzerinden 5 farklı besi ortamındaki ortalama kallus oluşturma sayıları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Genotiplerin tekrarlamalara göre besi ortamlarındaki kallus sayıları

Genotip	Besi ortamları	Tekrarlama			Ortalama
		I	II	III	
Irtan 306	B5 S _{1V1}	7.90	8.60	8.20	8.23
	B5 NAA 2.4-D S _{1V1}	8.20	8.90	8.40	8.50
	N6 Katı	7.80	6.00	7.00	6.93
	N6 NAA Katı	8.00	6.60	7.10	7.23
	N6 NAA 2.4 D S _{1V1}	8.20	6.80	7.30	7.43
Aeron 33	B5 S _{1V1}	8.00	7.70	7.20	7.63
	B5 NAA 2.4-D S _{1V1}	8.70	8.60	8.40	8.57
	N6 Katı	6.20	6.30	6.20	6.23
	N6 NAA Katı	6.40	6.50	6.40	6.43
	N6 NAA 2.4 D S _{1V1}	6.60	6.80	6.50	6.63
Aeron 14	B5 S _{1V1}	7.30	7.70	7.50	7.50
	B5 NAA 2.4-D S _{1V1}	9.50	9.30	9.30	9.37
	N6 Katı	6.30	5.20	6.20	5.90
	N6 NAA Katı	6.00	5.70	5.60	5.77
	N6 NAA 2.4 D S _{1V1}	6.40	7.00	5.80	6.40
Cl-161	B5 S _{1V1}	7.20	6.20	8.00	7.13
	B5 NAA 2.4-D S _{1V1}	7.60	8.60	8.80	8.33
	N6 Katı	7.80	4.00	4.60	5.47
	N6 NAA Katı	8.20	6.30	5.30	6.60
	N6 NAA 2.4 D S _{1V1}	8.00	7.00	5.50	6.83
Aeron 17	B5 S _{1V1}	6.60	6.90	6.80	6.77
	B5 NAA 2.4-D S _{1V1}	7.50	7.60	7.30	7.47
	N6 Katı	6.50	6.20	6.20	6.30
	N6 NAA Katı	6.80	6.70	6.40	6.63
	N6 NAA 2.4 D S _{1V1}	6.90	7.10	6.60	6.87
Aeron 21	B5 S _{1V1}	6.40	6.30	7.70	6.80
	B5 NAA 2.4-D S _{1V1}	7.90	8.00	8.00	7.97

	N6 Katı	5.60	5.50	5.60	5.57
	N6 NAA Katı	5.80	6.00	5.70	5.83
	N6 NAA 2.4 D S1V1	6.20	6.30	5.80	6.10
MB 36	B5 S1V1	5.10	4.50	2.40	4.00
	B5 NAA 2.4-D S1V1	6.20	5.50	3.30	5.00
	N6 Katı	5.50	6.60	7.50	6.53
	N6 NAA Katı	6.40	7.50	8.20	7.37
	N6 NAA 2.4 D S1V1	6.60	8.30	8.10	7.67
YRF 204 Mutant 46-1	B5 S1V1	7.00	7.20	6.60	6.93
	B5 NAA 2.4-D S1V1	7.30	7.00	7.70	7.33
	N6 Katı	5.50	3.30	5.70	4.83
	N6 NAA Katı	5.60	3.60	5.70	4.97
	N6 NAA 2.4 D S1V1	6.00	3.90	5.90	5.27
Thaibonnet	B5 S1V1	6.00	6.30	7.30	6.53
	B5 NAA 2.4-D S1V1	5.70	8.20	8.20	7.37
	N6 Katı	5.00	4.40	3.00	4.13
	N6 NAA Katı	5.30	4.60	3.30	4.40
	N6 NAA 2.4 D S1V1	5.80	4.90	3.50	4.73
Serhat 92	B5 S1V1	5.00	3.70	4.40	4.37
	B5 NAA 2.4-D S1V1	5.70	6.00	5.60	5.77
	N6 Katı	4.50	4.20	4.40	4.37
	N6 NAA Katı	4.70	4.60	4.90	4.73
	N6 NAA 2.4 D S1V1	4.90	4.80	5.10	4.93
Aeron 32	B5 S1V1	5.70	6.00	5.70	5.80
	B5 NAA 2.4-D S1V1	6.00	6.20	6.00	6.07
	N6 Katı	5.30	3.00	3.20	3.83
	N6 NAA Katı	5.50	3.30	3.20	4.00
	N6 NAA 2.4 D S1V1	5.80	3.70	3.30	4.27
Durağan	B5 S1V1	3.70	4.00	3.00	3.57
	B5 NAA 2.4-D S1V1	4.50	5.00	3.30	4.27
	N6 Katı	4.40	5.10	4.40	4.63
	N6 NAA Katı	4.50	5.50	4.90	4.97
	N6 NAA 2.4 D S1V1	5.10	4.90	5.30	5.10
TR 2343	B5 S1V1	4.10	3.20	2.80	3.37
	B5 NAA 2.4-D S1V1	4.40	3.30	3.00	3.57
	N6 Katı	4.70	4.60	3.30	4.20
	N6 NAA Katı	5.20	5.20	3.60	4.67
	N6 NAA 2.4 D S1V1	5.50	5.40	3.60	4.83
Beşer	B5 S1V1	5.40	3.00	4.60	4.33
	B5 NAA 2.4-D S1V1	5.70	5.90	5.00	5.53
	N6 Katı	3.60	1.40	3.30	2.77
	N6 NAA Katı	4.00	4.20	3.30	3.83
	N6 NAA 2.4 D S1V1	4.40	3.90	3.50	3.93
Sarıkılçık	B5 S1V1	3.70	4.00	3.30	3.67
	B5 NAA 2.4-D S1V1	4.40	4.50	4.20	4.37
	N6 Katı	3.60	3.70	3.50	3.60

	N6 NAA Katı	3.90	4.00	4.00	3.97
	N6 NAA 2.4 D S1V1	4.20	4.60	4.10	4.30
IR 50	B5 S1V1	2.80	1.00	2.40	2.07
	B5 NAA 2.4-D S1V1	3.20	1.70	3.00	2.63
	N6 Katı	4.20	2.40	3.30	3.30
	N6 NAA Katı	4.50	3.00	3.30	3.60
	N6 NAA 2.4 D S1V1	4.90	3.30	3.60	3.93
Edirne	B5 S1V1	3.20	3.20	2.40	2.93
	B5 NAA 2.4-D S1V1	3.70	3.50	3.30	3.50
	N6 Katı	2.40	1.00	2.00	1.80
	N6 NAA Katı	2.80	1.70	2.40	2.30
	N6 NAA 2.4 D S1V1	2.80	2.00	2.60	2.47
Osmancık	B5 S1V1	3.50	1.00	1.40	1.97
	B5 NAA 2.4-D S1V1	4.60	1.70	1.40	2.57
	N6 Katı	3.20	1.70	1.70	2.20
	N6 NAA Katı	3.70	2.20	3.00	2.97
	N6 NAA 2.4 D S1V1	3.30	2.40	3.20	2.97
Ece	B5 S1V1	1.40	0.00	0.00	0.47
	B5 NAA 2.4-D S1V1	1.40	1.70	1.00	1.37
	N6 Katı	2.20	2.40	0.00	1.53
	N6 NAA Katı	2.60	3.00	2.60	2.73
	N6 NAA 2.4 D S1V1	3.20	3.20	3.00	3.13
Akçeltik	B5 S1V1	0.00	0.00	0.00	0.00
	B5 NAA 2.4-D S1V1	0.00	0.00	2.40	0.80
	N6 Katı	2.80	2.40	2.60	2.60
	N6 NAA Katı	3.00	2.60	3.00	2.87
	N6 NAA 2.4 D S1V1	2.40	2.40	3.20	2.67
Kızıltan	B5 S1V1	1.70	1.00	1.00	1.23
	B5 NAA 2.4-D S1V1	2.40	1.70	1.00	1.70
	N6 Katı	2.20	1.00	1.70	1.63
	N6 NAA Katı	2.40	2.00	2.00	2.13
	N6 NAA 2.4 D S1V1	2.40	2.20	2.00	2.20
Demir	B5 S1V1	1.00	0.00	1.40	0.80
	B5 NAA 2.4-D S1V1	1.40	1.00	1.70	1.37
	N6 Katı	2.40	0.00	2.20	1.53
	N6 NAA Katı	3.20	1.40	2.80	2.47
	N6 NAA 2.4 D S1V1	2.60	1.40	3.00	2.33
Aeron 37	B5 S1V1	0.00	0.00	0.00	0.00
	B5 NAA 2.4-D S1V1	0.00	1.40	0.00	0.47
	N6 Katı	1.40	1.00	1.00	1.13
	N6 NAA Katı	1.00	1.70	1.00	1.23
	N6 NAA 2.4 D S1V1	2.00	1.40	1.70	1.70
Aeron 15	B5 S1V1	1.00	1.40	1.00	1.13
	B5 NAA 2.4-D S1V1	0.00	0.00	0.00	0.00
	N6 Katı	0.00	0.00	1.00	0.33
	N6 NAA Katı	0.00	1.00	0.00	0.33

	N6 NAA 2.4 D S _{IV1}	1.40	1.00	1.00	1.13
Aeron 53	B5 S _{IV1}	0.00	0.00	0.00	0.00
	B5 NAA 2.4-D S _{IV1}	1.00	1.00	1.00	1.00
	N6 Katı	0.00	0.00	0.00	0.00
	N6 NAA Katı	0.00	0.00	0.00	0.00
	N6 NAA 2.4 D S _{IV1}	1.00	0.00	1.00	0.67
Aeron 61	B5 S _{IV1}	0.00	0.00	0.00	0.00
	B5 NAA 2.4-D S _{IV1}	1.00	1.00	1.00	1.00
	N6 Katı	0.00	0.00	0.00	0.00
	N6 NAA Katı	0.00	0.00	0.00	0.00
	N6 NAA 2.4 D S _{IV1}	0.00	1.00	1.00	0.67

4.1. Kallus Oluşturma Sayılarına Göre Çeşitlerin Karşılaştırılması

Çizelge 4.1.1.'de görüldüğü gibi denemeye alınan çeltik genotipleri arasında istatistik olarak en yüksek sayıda (58.88) kallus oluşturma oranını Irton-306 genotipi vermiştir. Bu genotipi kallus sayısı bakımından sırasıyla Aeron-33 çeşidi 50.41 kallus sayısı ve Aeron-14 çeşidi de 48.81 sayısı ile ikinci grup olarak izlemiştir. CL-161 genotipi ise 47.24 kallus sayısı ile istatistik olarak 3. grubu oluşturmuştur.

Akçeltik (3.19), Kızıltan (3.17) ve Demir (2.89) çeşitleri ise en az sayıda kallus oluşturan genotipler olmuştur. Tüm genotiplerin kallus oluşturma genel ortalaması 15.76'dır. Aeron-15, Aeron-53 ve Aeron-63 genotiplerinden kallus yanıtı alınamamıştır. Bu genotiplerin Türkiye iklim koşullarında kuraklığa dayanaksız genotipler olduğunu düşünmekteyiz.

Denemeye alınan çeltik genotiplerinden 15 adedi genel ortalamanın üzerinde kallus oluşturmuştur. Genotipler arasında kallus sayısı bakımından ilk ona giren çeşitler İndika tipi genotipler olmuştur. Çalışmamızda Japonika tiplerine ait çeltiklerin kallus sayıları daha düşük bulunmuştur. Bu sonuç; Daigen ve ark. (2000)'in Japonika çeltik çeşidinin anter kültürü etkinliğinin düşük olduğu sonucu ile uyumludur. Oysa elde ettiğimiz bu sonuç Chu ve ark. (2005)'in sonucu ile uyumsuzdur, yapılan çalışmada köprü anaç kullanarak çeltik melezlemeleri için anter kültüründen yararlanılmıştır. Japonika tip çeltiklerin anter kültürü ile melezlenmesinde %6 başarı sağlarken İndika tipi çeltiklerin melezlenmesinde %1'in altında başarı hesaplamışlardır. Bunun nedeni olarak çalışmalarında Güney Amerika'nın ileri gelen yöresel çeşitlerini köprü anaç olarak kullanmış olmalarını gösterebiliriz. Bizim kullanmış olduğumuz İndika tipi çeltik/hatlar ise IRRI'den getirilen ve Türkiye'de yetiştirilen çeltik çeşit/ hatlarıdır.

Çizelge 4.1.1. Çeşitlerin tekrarlamalara göre kallus oluşturma değerleri

	Çeşitler	Tekrarlamalar			Transformasyon değerleri	Orijinal Kallus Değerleri (%)	Önemlilik Grupları
		I	II	III			
1	Irton 306	8.02	7.40	7.60	7.667	58.88	A
2	Aeron 33	7.18	7.18	6.94	7.100	50.41	AB
3	Aeron 14	7.10	6.98	6.88	6.987	48.81	AB
4	CL-161	7.76	6.42	6.44	6.873	47.24	ABC
5	Aeron 17	6.86	6.90	6.66	6.807	46.33	BC
6	Aeron 21	6.38	6.42	6.56	6.453	41.65	B-D
7	MB 36	5.96	6.48	5.90	6.113	37.37	C-E
8	YRF 204 Mutant 46-1	6.28	5.00	6.32	5.867	34.42	DE
9	Thaibonnet	5.56	5.68	5.06	5.433	29.52	EF
10	Serhat 92	4.96	4.66	4.88	4.833	23.36	FG
11	Aeron 32	5.66	4.44	4.28	4.793	22.98	FG
12	Durağan	4.44	4.90	4.18	4.507	20.31	GH
13	TR 2343	4.78	4.34	3.26	4.127	17.03	GH
14	Beşer	4.62	3.68	3.94	4.080	16.65	GH
15	Sarıkılçık	3.96	4.16	3.82	3.980	15.84	H
16	IR 50	3.92	2.28	3.12	3.107	9.65	I
17	Edirne	2.98	2.28	2.54	2.600	6.76	IJ
18	Osmancık	3.66	1.80	2.14	2.533	6.42	I-K
19	Ece	2.16	2.06	1.32	1.847	3.41	J-L
20	Akçeltik	1.64	1.48	2.24	1.787	3.19	KL
21	Kızıltan	2.22	1.58	1.54	1.780	3.17	KL
22	Demir	2.12	0.76	2.22	1.700	2.89	LM
23	Aeron 37	0.88	1.10	0.74	0.907	0.82	MN
24	Aeron 15	0.48	0.68	0.60	0.587	0.34	N
25	Aeron 53	0.40	0.20	0.40	0.333	0.11	N
26	Aeron 61	0.20	0.40	0.40	0.333	0.11	N
EKÖF (0.05) =0.797							

4.2. Kallus Oluşturma Sayılarına Göre Besi Ortamlarının Karşılaştırılması

Denemeye alınan 5 farklı besi ortamı arasında B5-NAA+2,4-D sıvı besi ortamında istatistik olarak en yüksek sayıda (19.86) kallus elde edilmiştir.

Bu besi ortamını N6-NAA+2,4-D sıvı ortamı 17.63 kallus sayısı ile ikinci olarak izlemiştir. N6 Katı ortamı ise 12.35 adet kallus sayısı ile en az sayıda kallus oluşturan besi ortamı olmuştur.

Çizelge 4.2.1. Besi ortamlarında oluşan kallus sayıları

Besi Ortamı	Tekrarlama			Ortalama	Orijinal Kallus Değerleri	Önemlilik Grupları
	I	II	III			
B5 NAA 2,4-D Sıvı	4.54	4.51	4.32	4.46	19.86	A
N6 NAA 2,4 D Sıvı	4.48	4.07	4.05	4.20	17.63	B
N6 NAA Katı	4.21	3.80	3.76	3.92	15.40	C
B5 Sıvı	4.00	3.57	3.66	3.74	13.99	C
N6 Katı	3.97	3.13	3.45	3.51	12.35	D
EKÖF (0.05) =0.192						

Bu bulgular Shahnewaz ve ark. (2003)'nın yaptıkları çalışmada elde ettikleri bulgu olan 2,4D ve NAA katıldığında en iyi sayıda kallus oluşturma bulgusunu doğrulamaktadır. Shahnewaz ve ark.,(2003) oksinlerin ve kinetinin (sitokin) çeşitli kombinasyonları ve yoğunlukları ile desteklenmiş Z2 besi ortamında anterleri kültüre almışlardır. Kültüre alınan anterler içinde 2.0 mg/L 2,4-D, 2.5 mg/L NAA ve 0.5 mg/L kinetin içeren Z2 besi ortamında en iyi kallus oluşturma gözlenmiştir. Anterlerden elde edilen kalluslardan haploid bitkiciklerin rejenerasyonu için bu kalluslar 1.0 mg/L NAA, 1.0 mg/L kinetin, 1.0 mg/L BAP ile zenginleştirilmiş ve modifiye edilmiş MS besi ortamına transfer edilmiştir.

Çalışmamız, Dane ve ark. (2001) 'Bazı çeltik çeşitlerinde (*Oryza sativa* L.) anter kültürü yoluyla kallus üretimi ve kallusun sitolojik özelliklerinin incelenmesi' konulu çalışma ile de benzer düşmektedir. Yapılan çalışmada çeltik çeşitlerine N6 ve B5 besi ortamları kullanılmıştır fakat bütün çeşitler her iki ortamda da benzer şekilde cevap vermiştir. Bizim

yaptığımız çalışmada ise N6 ve B5 sıvı besi ortamları NAA ve 2,4 D katılarak daha zengin hale getirilmiştir ve NAA ile 2,4-D katılmış besi ortamları katılmamış olan besi ortamlarımıza göre daha çok kallus oluşturmuştur.

Çalışmamız ayrıca Bishnoi ve ark. (2000) “İndika x Basmati çeltik melezinde anter kültürü çalışmaları” isimli çalışma ile uyum halindedir. Yapılan bu çalışmada en iyi kallus oluşturma frekansı 2,4-D, NAA ve Kinetin içeren RZM besi ortamından elde edilmişti. Bu da gösteriyor ki 2,4-D ve NAA içeren besi ortamları anter kültürü için daha elverişli olmaktadır.

4.3. Çeşitlere Göre En Uygun Besi Ortamları

Çizelge 4.3.1.’den de görüldüğü gibi Aeron 14 genotipi, B5 NAA+2,4-D sıvı besi ortamında istatistik olarak en yüksek sayıda (87.73) kallus oluşturmuştur.

Bunu sırasıyla Aeron 33 genotipi B5 NAA sıvı besi ortamında kullanıldığında 73.39 adet kallus sayısı ile ve Irton 306 genotipi yine B5 NAA+2,4-D sıvı besi ortamında kullanıldığında 72.25 adet kallus sayısı ile ikinci grup olarak izlemiştirlerdir. CL-161 çeşidi ise yine aynı besi ortamında kullanıldığında 69.44 kallus sayısı ile izleyerek istatistik olarak 3. grubu oluşturmuştur.

Aeron 37 ve Akçeltik genotipleri B5 sıvı ortamında; Aeron 53 ile Aeron 61 genotipleri B5 sıvı, N6 NAA katı ve N6 katı ortamında; Aeron 15 ise B5 NAA 2,4-D sıvı besi ortamında en az sayıda kallus oluşturan genotipler olmuşlardır.

Genotiplerin besi ortamlarına göre kallus oluşturma genel ortalaması 15.73 adettir. Ortalamayı geçen besi ortamı kallus interaksiyonu 65 adettir .

Çalışmamızda İndika tip çeltik genotiplerinin NAA ve 2,4-D katılan B5 besi ortamında kullanıldığında en iyi kallus yanıtını verdiği belirlenmiştir. Bu da besi ortamlarının genotiplere göre değişebileceğini göstermektedir. Daigen ve ark. (2000) ‘Japonika çeltik çeşidi Koshihikari’de etkili anter kültürü yöntemi’ isimli çalışmalarında Koshihikari isimli çeşitin anter kültürü etkinliğini japonika tipine ait olduğu için düşük bulmuşlardır. Ve anter kültürü etkinliğini arttırmak için Koshihikari kallus kültürüne uygun bir kültür besi ortamı geliştirmişlerdir. Bu besi ortamı R2 besi ortamının bir modifikasyonudur. Yani R2 ortamındaki KNO_3 ve $(NH_4)_2SO_4$ 1/5 ortamında sulandırılmıştır. 5mM aspartik asit ve 5 mM Gulitamin eklenmiştir ve vitaminler yerine B5 besi ortamını kullanmışlardır.

Yaptığımız çalışmada çeşit ve besi ortamına göre kallus oluşumunun önemli oranda değiştiği, bu nedenle de her genotipe göre besi ortamının ayrı önem arz edeceği sonucu çıkmaktadır.

Çizelge 4.3.1. Genotip x besi ortamı interaksyonu ve önemlilik grupları

No	Genotip x Besi Ortamı	Transformasyon değeri	Orijinal Kallus Değerleri (%)	Önemlilik Grupları
1	Aeron 14 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	9.37	87.80	A
2	Aeron 33 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	8.57	73.44	AB
3	Irton 306 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	8.50	72.25	AB
4	CL-161 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	8.33	69.39	BC
5	Irton 306 x B5 Sıvı	8.23	67.73	B-D
6	Aeron 21 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	7.97	63.52	B-E
7	MB 36 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	7.67	58.83	B-F
8	Aeron 33 x B5 Sıvı	7.63	58.22	B-F
9	Aeron 14 x B5 Sıvı	7.50	56.25	C-G
10	Aeron 17 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	7.47	55.80	C-G
11	Irton 306 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	7.43	55.20	C-G
12	Thaibonnet x B5 NAA 2,4-D Sıvı	7.37	54.32	C-H
13	MB 36 x N6 NAA Katı	7.37	54.32	C-H
14	YRF 204 Mutant 46-1 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	7.33	53.73	D-H
15	Irton 306 x N6 NAA Katı	7.23	52.27	E-I
16	CL-161 x B5 Sıvı	7.13	50.84	E-J
17	YRF 204 Mutant 46-1 x B5 Sıvı	6.93	48.02	F-K
18	Irton 306 x N6 Katı	6.93	48.02	F-K
19	Aeron 17 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	6.87	47.20	F-L
20	CL-161 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	6.83	46.65	F-L
21	Aeron 21 x B5 Sıvı	6.80	46.24	F-M
22	Aeron 17 x B5 Sıvı	6.77	45.83	F-N

23	Aeron 17 x N6 NAA Katı	6.63	43.96	G-O
24	Aeron 33 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	6.63	43.96	G-O
25	CL-161 x N6 NAA Katı	6.60	43.56	G-O
26	Thaibonnet x B5 Sıvı	6.53	42.64	G-P
27	MB 36 x N6 Katı	6.53	42.64	G-P
28	Aeron 33 x N6 NAA Katı	6.43	41.34	H-Q
29	Aeron 14 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	6.40	40.96	H-Q
30	Aeron 17 x N6 Katı	6.30	39.69	I-Q
31	Aeron 33 x N6 Katı	6.23	38.81	J-R
32	Aeron 21 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	6.10	37.21	K-R
33	Aeron 32 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	6.07	36.84	K-S
34	Aeron 14 x N6 Katı	5.90	34.81	L-T
35	Aeron 21 x N6 NAA Katı	5.83	33.99	M-T
36	Aeron 32 x B5 Sıvı	5.80	33.64	N-U
37	Serhat 92 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	5.77	33.29	O-U
38	Aeron 14 x N6 NAA Katı	5.77	33.29	O-U
39	Aeron 21 x N6 Katı	5.57	31.02	P-V
40	Beşer x B5 NAA 2,4-D Sıvı	5.53	30.58	Q-V
41	CL-161 x N6 Katı	5.47	29.92	Q-V
42	YRF 204 Mutant 46-1 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	5.27	27.77	R-W
43	Durağan x N6 NAA 2,4 D Sıvı	5.10	26.01	S-X
44	MB 36 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	5.00	25.00	T-X
45	YRF 204 Mutant 46-1 x N6 NAA Katı	4.97	24.70	T-Y
46	Durağan x N6 NAA Katı	4.97	24.70	T-Y
47	Serhat 92 x N6 NAA 2.4 D Sıvı	4.93	24.30	T-Z
48	YRF 204 Mutant 46-1 x N6 Katı	4.83	23.33	U-[
49	TR 2343 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	4.83	23.33	U-[
50	Serhat 92 x N6 NAA Katı	4.73	22.37	V-\
51	Thaibonnet x N6 NAA 2,4 D Sıvı	4.73	22.37	V-\

52	TR 2343 x N6 NAA Katı	4.67	21.81	V-\
53	Durağan x N6 Katı	4.63	21.44	V-]
54	Thaibonnet x N6 NAA Katı	4.40	19.36	W-^
55	Sarıklıçık x B5 NAA 2,4-D Sıvı	4.37	19.10	W-^
56	Serhat 92 x B5 Sıvı	4.37	19.10	W-^
57	Serhat 92 x N6 Katı	4.37	19.10	W-^
58	Beşer x B5 Sıvı	4.33	18.75	W- _
59	Sarıklıçık x N6 NAA 2,4 D Sıvı	4.30	18.49	W- -
60	Aeron 32 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	4.27	18.23	X-'
61	Durağan x B5 NAA 2,4-D Sıvı	4.27	18.23	X-'
62	TR 2343 x N6 Katı	4.20	17.64	X-'
63	Thaibonnet x N6 Katı	4.13	17.06	X-'
64	Aeron 32 x N6 NAA Katı	4.00	16.00	Y-a
65	MB 36 x B5 Sıvı	4.00	16.00	Y-a
66	Sarıklıçık x N6 NAA Katı	3.97	15.76	z-a
67	IR 50 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	3.93	15.44	[-b
68	Beşer x N6 NAA 2,4 D Sıvı	3.93	15.44	[-b
69	Beşer x N6 NAA Katı	3.83	14.67	\-c
70	Aeron 32 x N6 Katı	3.83	14.67	\-c
71	Sarıklıçık x B5 Sıvı	3.67	13.47] -d
72	IR 50 x N6 NAA Katı	3.60	12.96	^ -e
73	Sarıklıçık x N6 Katı	3.60	12.96	^ -e
74	TR 2343 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	3.57	12.74	^ -f
75	Durağan x B5 Sıvı	3.57	12.74	^ -f
76	Edirne x B5 NAA 2,4-D Sıvı	3.50	12.25	^ -g
77	TR 2343 x B5 Sıvı	3.37	11.36	_ -h
78	IR 50 x N6 Katı	3.30	10.89	-i
79	Ece x N6 NAA 2,4 D Sıvı	3.13	9.80	a-j
80	Osmancık x N6 NAA 2,4 D Sıvı	2.97	8.82	b-k

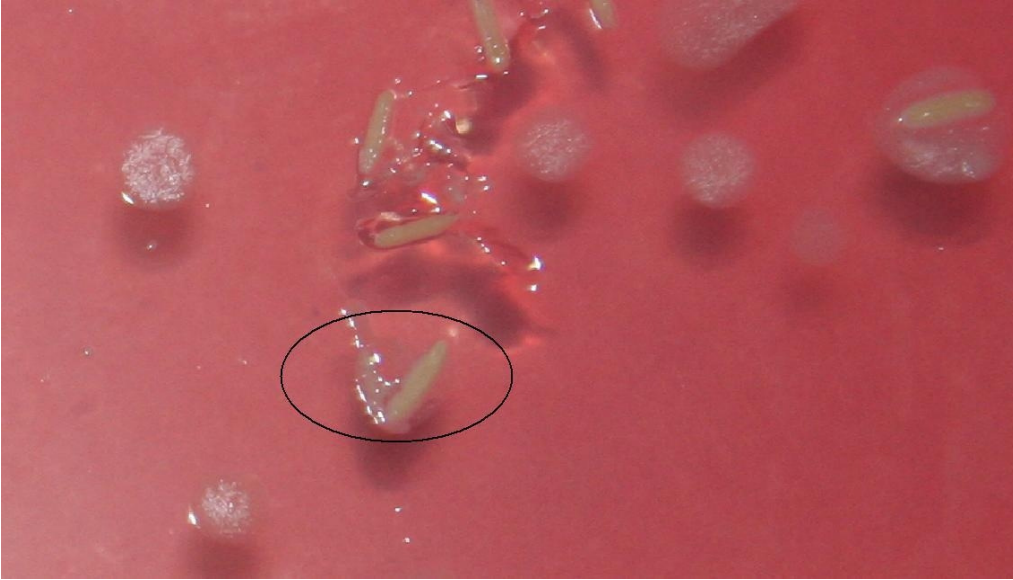
81	Osmancık x N6 NAA Katı	2.97	8.82	b-k
82	Edirne x B5 Sıvı	2.93	8.58	c-l
83	Akçeltik x N6 NAA Katı	2.87	8.24	c-l
84	Beşer x N6 Katı	2.77	7.67	d-m
85	Ece x N6 NAA Katı	2.73	7.45	d-m
86	Akçeltik x N6 NAA 2,4 D Sıvı	2.67	7.13	e-n
87	IR 50 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	2.63	6.92	e-n
88	Akçeltik x N6 Katı	2.60	6.76	f-o
89	Osmancık x B5 NAA 2,4-D Sıvı	2.57	6.60	g-o
90	Edirne x N6 NAA 2,4 D Sıvı	2.47	6.10	h-p
91	Demir x N6 NAA Katı	2.47	6.10	h-p
92	Demir x N6 NAA 2,4 D Sıvı	2.33	5.43	i-q
93	Edirne x N6 NAA Katı	2.30	5.29	j-q
94	Kızıltañ x N6 NAA 2,4 D Sıvı	2.20	4.84	j-r
95	Osmancık x N6 Katı	2.20	4.84	j-r
96	Kızıltañ x N6 NAA Katı	2.13	4.54	k-r
97	IR 50 x B5 Sıvı	2.07	4.28	k-s
98	Osmancık x B5 Sıvı	1.97	3.88	l-t
99	Edirne x N6 Katı	1.80	3.24	m-t
100	Aeron 37 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	1.70	2.89	n-u
101	Kızıltañ x B5 NAA 2,4-D Sıvı	1.70	2.89	n-u
102	Kızıltañ x N6 Katı	1.63	2.66	o-v
103	Demir x N6 Katı	1.53	2.34	p-v
104	Ece x N6 Katı	1.53	2.34	P-v
105	Ece x B5 NAA 2,4-D Sıvı	1.37	1.88	q-w
106	Demir x B5 NAA 2,4-D Sıvı	1.37	1.88	q-w
107	Aeron 37 x N6 NAA Katı	1.23	1.51	r-x
108	Kızıltañ x B5 Sıvı	1.23	1.51	r-x
109	Aeron 37 x N6 Katı	1.13	1.28	s-x

110	Aeron 15 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	1.13	1.28	s-x
111	Aeron 15 x B5 Sıvı	1.13	1.28	s-x
112	Aeron 53 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	1.00	1.00	t-x
113	Aeron 61 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	1.00	1.00	t-x
114	Akçeltik x B5 NAA 2,4-D Sıvı	0.80	0.64	u-y
115	Demir x B5 Sıvı	0.80	0.64	u-y
116	Aeron 53 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	0.67	0.45	v-y
117	Aeron 61 x N6 NAA 2,4 D Sıvı	0.67	0.45	v-y
118	Aeron 37 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	0.47	0.22	w-y
119	Ece x B5 Sıvı	0.47	0.22	w-y
120	Aeron 15 x N6 Katı	0.33	0.11	x-y
121	Aeron 15 x N6 NAA Katı	0.33	0.11	x-y
122	Aeron 61 x B5 Sıvı	0.00	0.00	y
123	Aeron 53 x B5 Sıvı	0.00	0.00	y
124	Aeron 53 x N6 Katı	0.00	0.00	y
125	Aeron 53 x N6 NAA Katı	0.00	0.00	y
126	Aeron 61 x N6 NAA Katı	0.00	0.00	y
127	Aeron 15 x B5 NAA 2,4-D Sıvı	0.00	0.00	y
128	Akçeltik x B5 Sıvı	0.00	0.00	y
129	Aeron 61 x N6 Katı	0.00	0.00	y
130	Aeron 37 x B5 Sıvı	0.00	0.00	y
EKÖF (0.05)= 0.980				

Bu araştırmada kullanılan besi ortamları ve bu besi ortamlarında genotiplerin performansları ile ilgili orijinal resimler (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 ve 4.11) aşağıda verilmiştir.



Resim 4.1. N6 NAA 2.4-D Sıvı besi ortamında Durağan genotipi kallusu.



Resim 4.2. N6 Katı besi ortamında DS 14 (Sarıklık) genotipi kallusu.



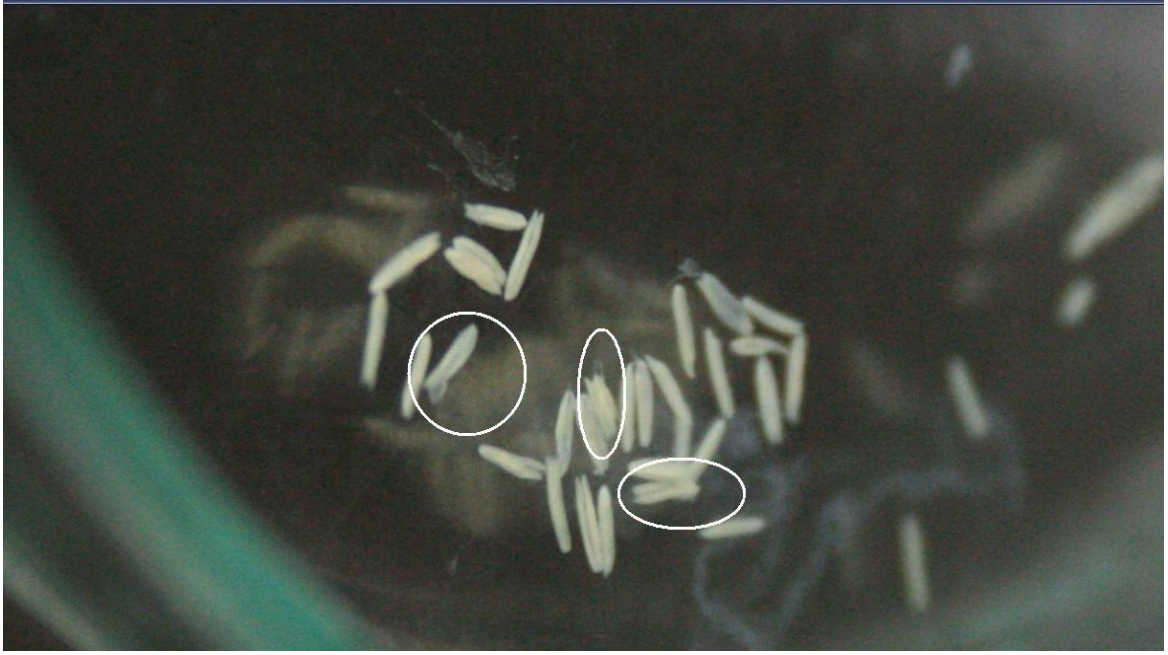
Resim 4.3. N6 Katı besi ortamında DS 14 (Sarıklık) genotipi kallusu-1.



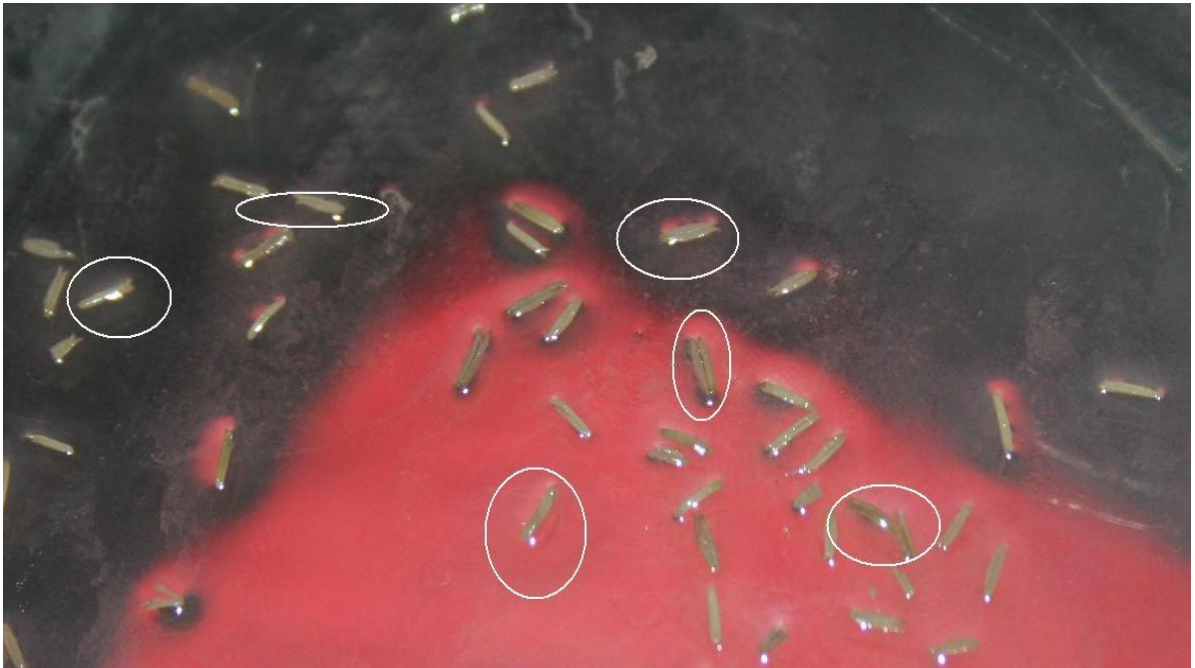
Resim 4.4. B5 Sıvı besi ortamında DS 15(Serhat 92) genotipi kallusu.



Resim 4.5. B5 Sıvı besi ortamında DS 15 (Serhat 92) genotipi kallusu-1



Resim 4.6. B5 Sıvı besi ortamı DS 15 (Serhat 92) genotipi kallusu-2



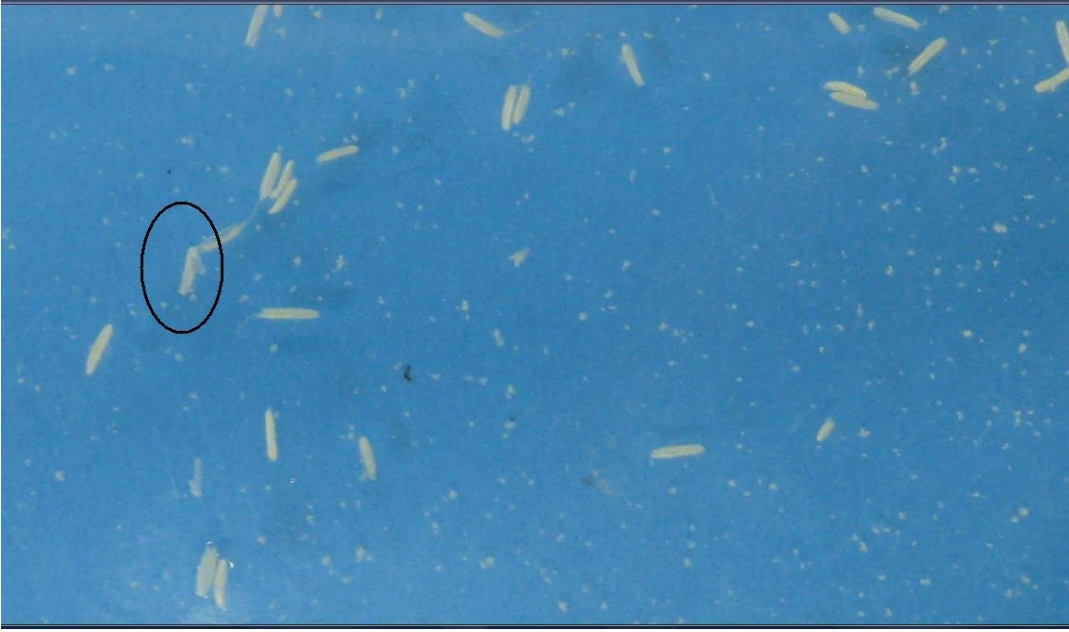
Resim 4.7. N6 Sıvı besi ortamında Aeron 21 genotipi kallusu.



Resim 4.8. N6 NAA 2,4-D Sıvı besi ortamında Durağan genotipi kallusu-1.



Resim 4.9. B5 NAA 2,4-D Aeron 17 genotipi kallusu.



Resim 4.10. B5 Sıvı besi ortamında DS 15 (Serhat 92) genotipi kallusu-3



Resim 4.11. N6 NAA katı besi ortamında Akçeltik genotipi kallusu.

5. SONUÇ

Yirmi altı çeltik genotipinin 5 farklı besi ortamında anter kültürü olanaklarını belirlemek amacıyla yapılan bu araştırmadan elde edilen bulgular, çeltik genotiplerinin anter kültürüne yanıtlarının farklı olduğunu, kullanılan İndika tipi çeltik genotiplerinin anter kültürüne daha iyi yanıt verdiklerini göstermiştir.

Çeltik genotiplerinin anter kültürüne yanıtlarının kullanılan besi ortamına göre değişebileceği, genotiplerin en iyi yanıt verdikleri besi ortamlarının “B5- NAA+2,4-D sıvı” ve “N6-NAA+2,4-D sıvı” ortamları olduğu bulunmuştur. İki besi ortamının ortak paydaşlarından çeltikte anter kültürü için besi ortamında NAA+2,4-D sıvı komponentlerinin önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Bu çalışma sonucunda anter kültürü tekniğinin çeltik ıslahı çalışmalarında gelecekte önemli bir araç olabileceği deneysel olarak kanıtlanmıştır. Bu saptama, bitki ıslahı programlarında yeni stratejiler belirlenirken biyoteknolojik yöntemlerin de mutlak dikkate alınması gerektiğini vurgulamaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Acar M., Gizlenci Ş., (2006). Tarımsal Araştırmacılar İçin JMP Kullanımı. Tarım ve Köyşleri Bakanlığı Karadeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü. Samsun.
- Afza R, Shen M., Arias F.J., Xie J., Fundi H.K., Lee K.S., Bobadilla-Mucino E., Kodym A., (2000). Effect of spikelet position on rice anther culture efficiency. Plant Sci. 153 (2): 155-159 (5).
- Babaoğlu M., Gürel E., Özcan S., (2001). Bitki Biyoteknolojisi I Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniv. Vakfı Yay. ISBN: 975-6652-04-7 Konya.
- Bajaj Y.P.S., (1991). Rice. Biotechnology in Agriculture and Forestry 14. ISBN 3-540-51810-X. Springer- Verlag New York.
- Beşer N., Sürek H., Kaya R., Şahin. S., (2008). Türkiye’de Son Yirmi Yılda Çeltik Tohumluk Üretim Çalışmaları. Ülkesel Tahıl Sempozyumu 2-5 Haziran 2008. Konya.
- Bishnoi U., Jain R.K., Rohilla J.S., Chowdhury V.K., Gupta K.R., Chowdhury J.B., (2000). Anther culture of recalcitrant indica × Basmati rice hybrids. Bibliographic Citation. Euphytica 114(2) : 93-101.
- Bourgin JP., Nitsch JP., (1967). Obtention de Nicotiana haploïdes à partir d’étamines cultivées *in vitro* (*Production of haploid Nicotiana from excised stamen*). Ann. Physio.Veg.9:377-382
www.ijpb.versailles.inra.fr/en/institut/images_ijpb/Bourgin%20&%20Nitsch%201967.pdf (erişim tarihi. 20.04.2008)
- Boyadjiev P., (2002). Application of Biotechnology to Rice Breeding by Enhancing the Bulgarian Anther Culture to Facilitate Rice Variety Institute of Introduction and Genetic Resources. CIHEAM-Options Mediterraneennes. vol. 8:75-76 Development. <http://ressources.ciheam.org/om/pdf/c08-2/CI020571.pdf> (erişim tarihi. 20.04.2008)
- Chang TT (1985). Crop history and genetic conservation: rice- a case study. Lowa State J. Res. 59(4): 425-455
- Chu C.C., Wang C.C, Sun C.S., Hsu K.C., Yen K.C., Chu C.Y., and Bi F.Y., 1975. Establishment of an efficient medium for anther culture of rice through comparative experimentation on the nitrogen source. Scientia. Sinica. 13:659-668
- Chu. Q. R., Linscombe S. D., (2005). Use of Bridge Parents with High Anther Culturability in Doubled Haploid Breeding of Southern U.S Long-Grain Rice (*Oryza sativa* L.)
- Daigen M., Kawakami O., Nagasawa Y., (2000). Efficient anther culture method of the japonica rice (*Oryza sativa*) cultivar Koshihikari. Breeding-Sci. 50(3):197-202. Japan.
- Dane F., Meriç Ç., (2001). Bazı çeltik çeşitlerinde (*Oryza sativa* L.) anter kültürü yoluyla kallus üretimi ve kallusun sitolojik özelliklerinin incelenmesi. TUBAP-306. Edirne.

- Gamborg O., Miller R., and Ojima K., 1968. Nutrient requirement suspensions of cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research* 50: 151-158.
- Gürel A., (1989). Kallus kültürü ile tütün ve datura dihaploidlerin elde edilmesinde bitki büyüme maddelerinin etkisi. Doktora Tezi. Ege Üniv. Fen Bil. Enst. Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı. Bornova-İzmir.
- Hassawi D.S., and Liang G.H., (1990). Effects of Growth Regulator and Genotype on Production of Wheat and Triticale Polyhaploids from Anther Culture. *Plant Breed.* 104:40-45.
- Hatipoğlu R., (1997). Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Tarla Bitkileri Bölümü. Yayın No: 58. Adana.
- Hatipoğlu R., Genç İ. ve Yağbasanlar T., (1994) Ekmeklik buğday (*Triticum aestivum* L.) ıslahında anter kültüründen yararlanma olanakları üzerine araştırmalar. Tarla Bitkileri Kongresi. 25-29 Nisan, Bitki Islahı s. 108-111, İzmir.
- Imamura J. and Harada H., (1980). Stimulatory effects of reduced atmospheric pressure on pollen embryogenesis. *Naturwissenschaften.* 67: 357-358.
- Jensen N. F., (1988). *Plant Breeding Methodology*. ISBN 0-471-60190-X. Wiley-Interscience Publication John Wiley & Sons. New York, USA.
- Hua. S., Mei-fang L., Yin-quan C., Zhen-hua Z., (1983). Improving Rice by Anther Culture. *Cell and Tissue Culture Techniques for Cereal Crop Improvement*. Science Press Book No. 3319-26. p. 183. IRRI. China.
- Kessel R., Goodwin H.J., Philip C.J., (1977). The relationship between dissolved oxygen concentration. ATP and embryogenesis in carrot (*Daucus carota*) tissue cultures. *Plant Sci. Lett.* 10: 265-274
- Khush G. S., Toenniessen G. H., (1991). *Rice Biotechnology*. ISBN 971 22 0013 2 IRRI. Philippines.
- Korkut K.Z., Başer İ., Turhan H., Bilgin O., (2001). Yerli ve yabancı kökenli emeklik buğday çeşit ve hatlarında haploid ve dihaploid genotiplerin elde edilme olanakları. TÜAF-232. Tekirdağ.
- Kün E., (1994). Tahıllar II (Sıcak İklim Tahılları) ISBN 975-482-216-6. A.Ü Ziraat Fakültesi Yayınları. Sayfa 49-140. Ankara
- Lynch P. T., Finch R. P., Davey M.R., and Coching E.C., 1991. Rice tissue culture and its application in rice biotechnology. Ed. G.S. Khush and G.H. Toenniessen. IRRI. Manila. Philippines. p 175-177.
- Otani M., Wakita Y., Shimada T., (2005). Doubled haploid plant production of transgenic rice (*Oryza sativa* L.) using anther culture. *The Japanese Society for Plant Cell and Molecular Biology. Plant Biotechnology* 22(2). 141-143.

- Quintero M., Tabares E., Escobar R., Delgado G., Lentini Z., (2002). Temporary Immersion System (RITA) for Anther Culture of Rice. . Output 1. Enhancing Gene Pools. page 48-52. http://www.ciat.cgiar.org/riceweb/pdfs/rice_2002_1.pdf (erişim tarihi. 20.04.2008)
- Shahnewaz S., Bari M.A., Siddique N.A., Khatun N., Rahman M.H., Haque M.E., (2003). Induction of haploid rice plants through in vitro anther culture. Pakistan J. of Biol. Sci. Volume ve sayfa <http://www.ansijournals.com/pjbs/2003/1250-1252.pdf> (erişim tarihi. 20.04.2008).
- Sokal R.R., and Rohlf F. J., (1969). Biometry. The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. W. H. Freeman and Company. USA. 776 pp.
- Steel R.G.D., and Torrie J.H., (1960). Principles and Procedures of Statistic. Mc Graw-Hill Book Co., New York, 481 p.
- Sürek H., (2002). Çeltik Tarımı. Hasad Yayınları. ISBN 975-8377-17-5 İstanbul.
- Tisserat B., and Murashige T., (1977). Regression of asexual embryogenesis in vitro by some plant growth regulators. In Vitro 13: 799-805.
- Vasil I. K., Thorpe T. A.. (1994). Plant Cell and Tissue Culture. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Boston, London, 584 p.
- Yurtsever N., (1989). Deneysel İstatistik Metotlar. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları. Genel Yayın No: 121. Teknik Yayın No: 56. Ankara.
- Arias F.J., Guzman M., (2000). Increasing anther culture efficiency in rice (*Oryza sativa* L.) Plant Sci.. 151 (2) : 107-114.
- Arias F.J., (2003). Laboratory protocol for anther culture technique in rice. In M. Maluszynski et al. (eds). Doubled Haploid Production in Crop Plants. (109-116). 2003 IAEA, Netherlands.
- Ziauddin A., Marsolais. A.. Simion. E. and K.J.. Kahsa. (1992). Improved plant regeneration from anther and barley microspore culture using phenyl acetic acid (PAA). Plant Cell Reports. 11: 489-498.
- Zhou H., and Konzak C. F., (1989). Development of anther culture method for haploid plant production in wheat. Crop Sci. 29(3): 817-821.

ÖZGEÇMİŞ

Sultan ŞAHİN 1978 yılı Ankara doğumlu olup Başkent Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesini bitirdikten sonra Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Teknolojisi Bölümü'nden mezun olmuştur. 2006 yılında Kamu Personeli Seçme Sınavını kazanarak T.C Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne Ziraat Mühendisi olarak atanmıştır. Halen Enstitünün çeltik şubesinde Araştırmacı Mühendis ve çeltik ıslahçısı olarak görevinde çalışmakta olup uzmanlık için Namık Kemal Üniversitesinde eğitimine devam etmektedir.