



Ayçiçeğinde Olgunlaşmamış Embriyo Kültürünün Generasyon Atlama Amaçlı Kullanımında Uygun Embriyo Yaşının Saptanması

Ayşe Nuran ÇİL¹, Abdullah ÇİL¹, Hacer Mendi Burun¹, Hatice Hızlı¹, Uğur Sevilmiş¹, Rüştü Hatipoğlu²

¹ Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Adana, Türkiye

² Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Adana, Türkiye

Ayşe Nuran ÇİL ORCID No: 0000-0001-8520-6013

Abdullah ÇİL ORCID No: 0000-0003-3482-6946

Hacer Mendi Burun ORCID No: 0000-0002-5451-1397

Hatice Hızlı ORCID No: 0000-0003-3820-8387

Rüştü Hatipoğlu ORCID No: 0000-0002-7977-0782

*Sorumlu yazar: aysenuran.cil@tarimorman.gov.tr

(Alınış: 30.06.2020, Kabul: 28.01.2021, Online Yayınlanma: 31.12.2021)

Anahtar Kelimeler

Ayçiçeği,
Embriyo kültürü,
Genotip,
Embriyo yaşı

Öz: Ayçiçeği, yüksek düzeyde yabancı tozlanan bir tür olduğundan, homozigot hatların eldesi hem genetik çalışmalar hem de hibrit tohum üretimi için önemlidir. Geleneksel yöntemler, homozigot hatları elde etmek için en az altı kuşak gerektirmektedir. Alternatif yöntemlerden olan olgunlaşmamış embriyo kültürü yöntemi ise generasyon döngüsünü yarı yarıya kısaltabilme avantajına sahiptir. Olgunlaşmamış ayçiçeği embriyolarının embriyo kültürüne verdiği yanıt ve yöntemin başarısı, donör bitkinin genotipine, donör bitkinin yetiştirme koşullarına, embriyonun yaşına, in vitro kültürde kullanılan besi ortamının bileşimine, in vitro kültür koşullarına ve kültür süresine bağlıdır.

Bu çalışmada, ayçiçeği ıslahında olgunlaşmamış embriyo kültürü tekniğiyle hızlı generasyon atlatılmak amacıyla en uygun embriyo yaşının saptanması amaçlanmıştır. Çalışma Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesindeki Generasyon Atlama Merkezi'nde yürütülmüştür. In vitro kültür çalışmalarında temel besi ortamı olarak MS ortamının modifiye bir versiyonu tercih edilmiştir. Araştırmada 5 adet yağlık restorer hatta ait açık arazi koşullarında yetiştirilen bitkilerden tozlanmadan 8-20 gün sonra alınan 7 farklı yaştaki (tozlanmadan 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 gün sonra) olgunlaşmamış embriyolar test edilmiştir. Kültüre alınan embriyoların bitki oluşturma oranları, rejenera olan bitkilerde bitki ağırlığı, bitki kök uzunluğu, bitki boyu ve bitkicik başına yaprak sayısı incelenmiştir. Araştırma bulguları, seçilen MS ortamında en uygun embriyo yaşının 14 gün olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada kullanılan modifiye MS besi ortamında 14 günlük embriyoların kültüre alınmasıyla hızlı bir generasyon atlama olanağı bulunduğu ortaya konmuştur.

Determination of the Appropriate Embryo Age in the Use of Immature Embryo Culture in Sunflower for Shortening The Generation Time

Keywords

Sunflower,
Embryo culture,
Genotype,
Embryo age

Abstract: Since sunflower is a highly cross-pollinated species, obtaining homozygous lines is important for both genetic studies and hybrid seed production. Traditional methods require at least six generations to obtain homozygous lines. Immature embryo culture method, which is one of the alternative methods, has the advantage of shortening the generation cycle by half. The response of immature sunflower embryos to embryo culture and the success of the method depends on the genotype of the donor plant, the growing conditions of the donor plant, the age of the embryo, the composition of the medium used in in vitro culture, the in vitro culture conditions and the culture time.

In this study, it was aimed to determine the most appropriate embryo age in order to overcome rapid generation with immature embryo culture technique in sunflower breeding. The study was

conducted in the Generation Shortening Center within the Eastern Mediterranean Agricultural Research Institute. A modified version of MS medium was preferred as the main medium in in vitro culture studies. In the study, immature embryos of 7 different ages (8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 days after pollination) taken from plants grown in open field conditions of 5 oil restorer lines were tested 8-20 days after pollination. Plant formation rates of the cultured embryos, plant weight in regenerated plants, plant root length, plant height and number of leaves per plantlet were examined. Research findings showed that the optimum embryo age in the selected MS environment was 14 days. It has been shown that there is an opportunity to overcome a rapid generation by culturing 14-day-old embryos in the modified MS medium used in this study.

1. GİRİŞ

Ayçiçeği yüksek düzeyde yabancı tozlanan bir türdür ve yetiştiricilikte melez çeşitler kullanılır. Homozigot hatların eldesi hem genetik çalışmalar hem de hibrit tohum üretimi için önemlidir. Geleneksel yöntemler, homozigot hatları elde etmek için en az altı kuşak gerektirir. Bu nedenle ardışık birkaç neslin kısa bir süre içinde elde edilmesi, bitkilerdeki genetik iyileştirme faaliyetlerini hızlandırabilir [1,13].

Tarlada yetişen bir ayçiçeği bitkisi, bir sonraki neslin tohumunu elde etmek için ekimden olgunluğa kadar en az 4-5 aya ihtiyaç duymaktadır. Bu süre zarfında tozlaşmadan tohumun olgunluğa erişmesine kadar geçen süre bitki yaşam döngüsünün yarısını oluşturmaktadır[4]. Ayçiçeği embriyosu çimlenme kapasitesini, tozlaşmadan yaklaşık altı gün sonra elde etmekte, tozlaşmadan 16 gün sonra uyku durumuna geçmekte [6], 45-60 gün boyunca uykuda kalmakta [5] ve ayçiçeğinin tohum olgunlaşma süresi yaşam döngüsü süresinin %50-60'ını kapsamaktadır [9]. Embriyo kültürü kullanıldığında ayçiçeği üreme döngüsü yarı yarıya kısalmaktadır [12].

Embriyo, yeni bir bitki oluşturma potansiyeli olan çok hücreli bir yapıdır. Yeni bir sporofitik neslin başlangıcını temsil etmektedir. Embriyo, özelleşmiş bir hücreden, yani zigottan veya somatik bir hücreden ortaya çıkabilmektedir. İlki zigotik embriyo olarak bilinmekte, ikincisi ise somatik veya aseksüel embriyo olarak adlandırılmaktadır. Bir embriyo esasen kök ve sürgün primordial yapıları olan bipolar bir yapıdır [10].

Embriyo kültürü, yarım yüzyıldan fazla bir süredir, özellikle türler arası melez bitkilerin elde edilmesi ve yetiştirme ve ıslah sürecinin kısaltılması gibi farklı amaçlarla kullanılan bir in vitro kültür tekniğidir [2]. Embriyo kültürü, pratikte uygulanan en eski in vitro kültür yöntemlerinden biridir ve ıslahçıların uzun yıllardan beri kullandığı bir tekniktir [2]. Embriyo kültürünün ayçiçeği ıslahındaki ana uygulama alanı türlerarası melezlemelerde uyumsuzluğun üstesinden gelmek olmuştur [11]. Sonraları, olgunlaşmamış embriyo kültürü, ayçiçeğindeki üreme döngüsünü kısaltmak için yaygın olarak kullanılan ve yılda dört ila beş döl kuşağı elde edilmesine olanak sağlayan bir teknik olmuştur [8,5]. Kendilenmiş hatların kısa sürede elde edilmesi amacıyla yürütülen olgunlaşmamış embriyo kültürü, ancak aynı anda seleksiyona olanak sağlıyorsa ilgi çekici olmaktadır [1].

Bu çalışmada, ayçiçeği ıslahında olgunlaşmamış embriyo kültüründen yararlanarak hızlı generasyon atlatmada genotip ve embriyoların kültüre alınma yaşının embriyoların çimleme oranı, bitkicik ağırlığı, bitkicik kök uzunluğu, bitkicik boyu ve yaprakçık sayısına etkileri incelenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

Araştırmada, yağlık restorer beş ayçiçeği genotipinden (DAYR13-01, DAYR13-02, DAYR13-03, DAYR13-04 ve DAYR13-5) izole edilen olgunlaşmamış embriyolar kullanılmıştır. Tozlanmadan sonra geçen süreye bağlı olarak 7 farklı yaşta (8. gün, 10. gün, 12. gün, 14 gün, 16. gün, 18. gün ve 20. gün sonra) hasat edilen tek ayçiçeği tablası hangi genotipe ait olduğu etiketlendikten sonra laboratuvar ortamına alınmıştır. Embriyo kültüründe tablanın en dış kısmında yer alan ilk 5 sıradaki meyveler içindeki embriyolar kullanılmıştır. Her bir tabladan ayrılan meyveler bir cam kap içerisinde steril kabin içerisinde çok kısa süre % 70'lik alkol ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulduktan sonra, alkol dökülmüş ve kaba % 20'lik çamaşır suyu (% 5 Sodyum hipklorit içeren, parfümsüz) + 3-5 damla Tween 80 içeren sterilizasyon çözeltisi ile sterilizasyonu tamamlandı. Meyveler söz konusu çözeltide 10 dakika çalkalanarak sterilize edilmiştir [3]. Bunu takiben meyveler 4-5 kez steril distile su ile çalkalanarak yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır.

Embriyo izolasyonu ve izole edilen embriyoların kültürü için yüzey sterilizasyonuna tabi tutulan meyvelerin kabukları kesilip uzaklaştırılmış, embriyolar embriyo kesesinden çıkarılıp ayrıldıktan sonra içerisinde 7 ml embriyo geliştirme ortamı bulunan 60 x 15 mm boyutlarındaki her bir petri kabında 10 embriyo kültüre alınmıştır. Araştırma ile ilgili laboratuvar denemesi, genotipler ana parsel, embriyo yaşı alt parsel olarak kabul edilerek tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desenine göre yürütülmüştür. Her genotip-embriyo yaşı kombinasyonu için 4 petri kabında 40 embriyo kültüre alınmıştır.

Embriyolar için besi ortamı olarak, %3 sukroz ve %0.6 agar içeren MS [7] ortamı kullanılmıştır. Besi ortamının pH' sı, 1N KOH ve 1N HCl kullanılarak 5.8'e ayarlanmıştır. Besi ortamının sterilizasyonu otoklavda 1.2 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dk tutularak sağlanmıştır. Tüm kültürler 20 saat ışık ve 4 saat karanlık (6000-8000 Lux ışık şiddeti) fotoperiyotta ve 24±2 °C sıcaklık koşullarını sağlayan iklim dolaplarında tutulmuştur. Kültür başlangıcından 3-4 hafta sonra her

petri kabında çimlenerek bitki oluşturan embriyolar sayılmış ve bitki oluşturan embriyo sayısı petri kabında kültüre alınan embriyo sayısına oranlanarak rejenerasyon oranı saptanmıştır. Bu aşamada aynı zamanda rejenerasyon olan bitkilerde bitki ağırlığı, bitki kök uzunluğu, bitki boyu ve yaprak sayısı ölçümleri alınmıştır.

Araştırmadan elde edilen verilere, tesadüf parsellerinde bölünmüş parseller deneme desine göre JMP 7.0 (Copyright© 2007 SAS InstituteInc.) istatistik paket programı kullanılarak varyans analizi uygulanmıştır. İstatistiksel olarak önemli bulunan faktör ortalamaları LSD testi ile gruplandırılmıştır.

3. BULGULAR

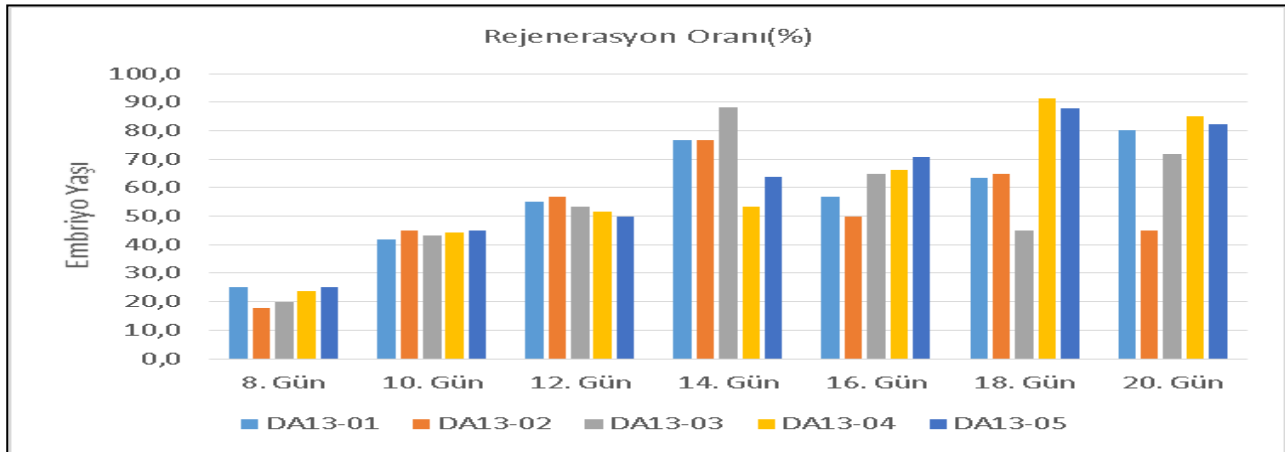
Varyans analiz sonuçlarına göre; incelenen tüm özelliklerde embriyo yaşları arasındaki farklılıklar önemli çıkarken, genotipler arasındaki farklılıkların ise rejenerasyon oranı, bitkicik ağırlığı, bitkicik kök uzunluğu ve bitkicik boyu açısından önemsiz, bitkicik yaprak sayısı açısından önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca, rejenerasyon oranı ve bitkicik boyu özellikleri için genotip x embriyo yaşı etkisinin önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 1, 2, 3, 4, 5).

Araştırmada embriyo yaşına bağlı olarak rejenerasyon oranları %22.31 ile 72.81 arasında önemli derecede değişmiştir. Genotiplere bağlı olarak ise rejenerasyon oranı % 56.39 ile 66.55 arasında değişmiş, ancak bu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Çizelge 1 ve Şekil 1).

Çizelge 1. Farklı ayçiçeği genotiplerinde olgunlaşmamış embriyolardan rejenerasyon oranları (%) ile ilgili ortalamaların çoklu karşılaştırma sonuçları

Embriyo Yaşı	Genotipler										Ortalama	
	DA13-01		DA13-02		DA13-03		DA13-04		DA13-05			
8. Gün	25.00	ı ¹	17.83	ı	20.00	ı	23.60	ı	25.10	ı	22.31	E*
10. Gün	41.67	h	45.00	h	43.33	h	44.33	h	44.83	h	43.83	D
12. Gün	55.00	f-h	56.67	f-h	53.33	f-h	51.50	f-h	49.77	gh	53.25	C
14. Gün	76.67	a-d	76.67	a-d	88.33	a	53.20	f-h	63.70	d-g	71.71	A
16. Gün	56.67	e-h	50.00	gh	65.00	c-g	66.20	c-f	70.70	b-e	61.71	B
18. Gün	63.33	d-g	65.00	c-g	45.00	h	91.30	a	88.00	a	70.53	A
20. Gün	80.00	a-c	45.00	h	71.67	b-e	85.07	ab	82.30	ab	72.81	A
Ortalama	62.22		56.39		61.11		65.27		66.55		62.31	
DK (%):16.79	LSD (%) EY:6.94*		Genotip:6.40,			EY*Gen:15.52**						

* Aynı sütün içinde benzer büyük harf ile gösterilen ortalamalar LSD testine göre $P \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.



Şekil 1. Farklı ayçiçeği genotipleri ve embriyo yaşlarına ait rejenerasyon oranları

Benzer harf ile gösterilen Genotip x Embriyo yaşı kombinasyon ortalamaları LSD testine göre $P \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. Embriyoların bitkiye dönüşünün %0.8 ile 33.8 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar sonuçlarımızın biraz altında kalmıştır. Farklı sonuçların olması genotip ve kullanılan besi ortamdan kaynaklandığı söylenebilir [3]. Çizelge ve Şekil 1'de izlendiği gibi, embriyo yaşı 8 günden 14 güne doğru arttıkça rejenerasyon oranı istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır. 16 günlük embriyoların rejenerasyon oranı 14 günlük embriyolardan önemli derecede daha düşük olmuştur. 18 ve 20 günlük embriyoların rejenerasyon oranı ise 14 günlük embriyolardan istatistiksel olarak önemli derecede farklılık göstermemiştir Ancak, genotip x

embriyo yaşı etkisinin istatistiksel olarak önemli olması rejenerasyon oranının embriyo yaşının rejenerasyon oranı üzerindeki etkisinin genotiplere bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Nitekim DA13-01, DA13-02 ve DA13-03 nolu genotiplerde 14 günlük embriyoların rejenerasyon oranı diğer yaşlardaki embriyolara göre önemli derecede daha yüksek olmasına karşılık, DA13-04 ve DA13-05 nolu genotiplerde 18 günlük embriyolar daha genç embriyolara göre önemli derecede daha yüksek, 20 günlük embriyolara göre ise istatistiksel olarak önemli derecede farklı olmamıştır (Şekil 1). Ceccani ve ark., (1996) yürüttükleri benzer bir çalışmada en yüksek rejenerasyon oranının 14. günlük embriyolardan elde

edildiğini saptamışlardır. Bitkicik ağırlığı bakımından genotipler arasında istatistikî açıdan fark bulunmamış ve genotiplere bağlı olarak bitkicik ağırlığı 0.66 ile 0.69 gr arasında gerçekleşmiştir. Genotipler bitkicik ağırlığı

bakımından farklı tepkiler göstermemesine rağmen, embriyo yaşı bitkicik ağırlığını önemli derecede etkilemiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Farklı ayçiçeği genotiplerinden izole edilen farklı yaşlardaki embriyolardan rejenere olan bitkilerde saptanan bitkicik ağırlığı (gr) değerleri ile ilgili ortalamaların çoklu karşılaştırma sonuçları

Embriyo Yaşı	Genotipler					Ortalama	
	DA13-01	DA13-02	DA13-03	DA13-04	DA13-05		
8. Gün	0.65	0.59	0.57	0.58	0.60	0.60	d*
10. Gün	0.66	0.62	0.63	0.62	0.64	0.63	cd
12. Gün	0.61	0.67	0.67	0.78	0.77	0.70	b
14. Gün	0.80	0.83	0.82	0.84	0.83	0.82	a
16. Gün	0.67	0.64	0.70	0.67	0.65	0.66	bc
18. Gün	0.69	0.66	0.66	0.66	0.66	0.67	bc
20. Gün	0.62	0.59	0.63	0.61	0.69	0.63	cd
Ortalama	0.67	0.66	0.67	0.68	0.69	0.67	
DK (%):11.33	LSD (%) EY:0.56**	Genotip:0.33	EY*Gen:0.12				

* Aynı sütün içinde benzer büyük harf ile gösterilen ortalamalar LSD testine göre $P \leq 0.01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Çizelge 2’de izlendiği gibi, embriyo yaşı 8 günden 14 güne doğru ilerledikçe söz konusu embriyolardan elde edilen bitkiciklerin ağırlığı önemli derecede artış göstermiştir. 14 günden daha yaşlı embriyolardan elde edilen bitkiciklerin ağırlığında ise 14 günlük embriyolardan elde edilenlere göre önemli derecede azalma görülmüştür.

Araştırmamızda embriyonik bitkinin daha sonraki aşamalarda bitkiye dönüşmesinde en önemli kriterlerden biri olan bitkicikte kök uzunluğu ortalaması 16. günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerde 4.16 cm ile en yüksek olmuş, 18, 14 ve 12. günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerde saptanan kök uzunluğu ortalamaları 16 günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerde saptanan kök uzunluğu ortalamasından istatistiksel olarak farklı olmuştur.

Çizelge 3. Farklı ayçiçeği genotiplerinden farklı zamanlarda izole edilen embriyolardan rejenere olan bitkilerde saptanan bitkicik kök uzunluğu (cm) değerleri ile ilgili ortalamaların çoklu karşılaştırma sonuçları

Embriyo Yaşı	Genotipler					Ortalama	
	DA13-01	DA13-02	DA13-03	DA13-04	DA13-05		
8. Gün	3.55	3.64	3.60	3.75	4.03	3.72	b**
10. Gün	4.08	3.95	3.94	3.73	3.52	3.84	b
12. Gün	3.98	4.17	4.16	4.09	4.19	4.12	a
14. Gün	4.16	4.10	3.98	4.20	4.16	4.12	a
16. Gün	4.19	4.17	4.17	4.19	4.08	4.16	a
18. Gün	4.19	4.16	4.16	4.12	4.15	4.15	a
20. Gün	3.73	3.98	4.20	3.75	3.73	3.88	b
Ortalama	3.98	4.03	4.03	3.98	3.98	4.00	
DK (%):6.28	LSD (%) EY:0.18**	Genotip:0.17	EY*Gen:0.41				

** Benzer harf ile gösterilen Genotip x Embriyo yaşı kombinasyon ortalamaları LSD testine göre $P \leq 0.01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Araştırmamızda incelenen farklı genotiplerde en yüksek bitkicik boyu 3.60 cm ile 14 günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerde, en düşük değer ise 2.07 cm ile 20 günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerde saptanmıştır (Çizelge 4).

16 günlük embriyolardan rejenere olan bitkilerde saptanan bitki boyu ortalaması (2.93 cm) ve 12 günlük embriyolardan rejenere olan bitkilerde saptanan ortalama

bitki boyu değeri (2.47 cm) 14 günlük embriyolardan rejenere olan bitkilerde saptanan bitki boyu ortalamasından istatistiksel olarak farklı olmuştur. Embriyolardan rejenere olan bitkilerin boyları genotiplere bağlı olarak önemli derecede farklılık göstermemiştir. Ancak, embriyo yaşı x genotip interaksyonunun önemli olması, embriyo yaşının bitkicik boyuna etkisinin farklı genotiplerde farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur (Şekil 2).

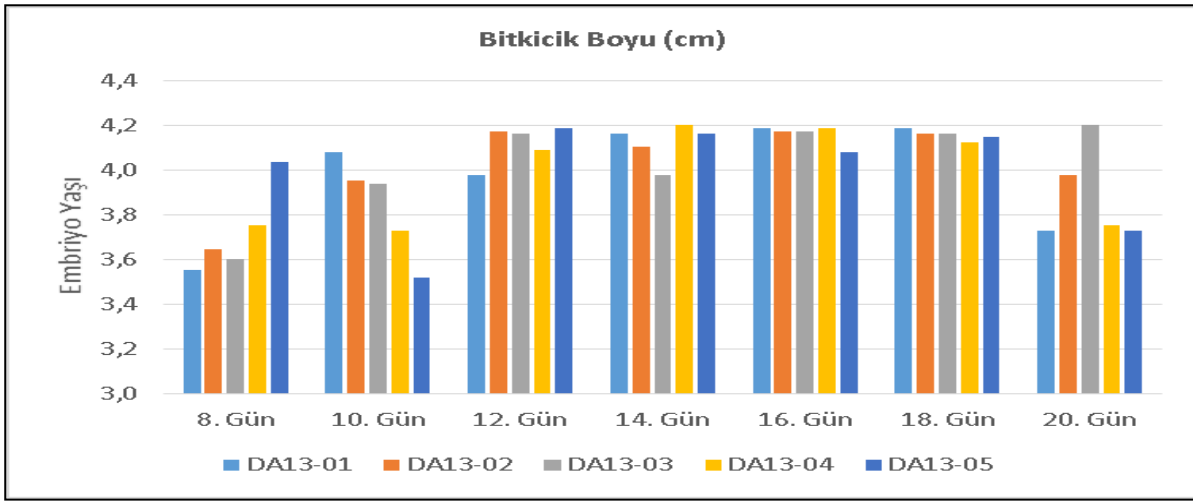
Çizelge 4. Farklı ayçiçeği genotiplerinden farklı zamanlarda kültüre alınan embriyolarından rejenere olan bitkilerde saptanan bitkicik boyu (cm) değerleri ile ilgili ortalamaların çoklu karşılaştırma sonuçları

Embriyo Yaşı	Genotipler					
	DA13-01	DA13-02	DA13-03	DA13-04	DA13-05	Ortalama
8. Gün	2.00 c**	2.67 bc	2.00 c	2.00 c	2.67 bc	2.27 c*
10. Gün	2.33 c	2.00 c	2.00 c	2.00 c	2.67 bc	2.20 c
12. Gün	2.00 c	2.00 c	2.33 c	3.33 a-c	2.67 bc	2.47 bc
14. Gün	3.33 a-c	4.67 a	4.00 ab	2.67 bc	3.33 a-c	3.60 a
16. Gün	2.00 c	4.00 ab	4.00 ab	2.67 bc	2.00 c	2.93 b
18. Gün	2.00 c	2.00 c	2.00 c	2.00 c	4.00 ab	2.40 bc
20. Gün	2.00 c	2.00 c	2.00 c	2.00 c	2.33 c	2.07 c
Ortalama	2.24	2.76	2.62	2.38	2.81	2.56

DK (%):32.18 LSD (%) EY: 0.60**, Genotip: 0.43. EY*Gen:1.35*

* Aynı sütün içinde benzer harf ile gösterilen ortalamalar LSD testine göre $P \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. (**)

Benzer harf ile gösterilen Embriyo yaşı ortalamaları LSD testine göre $P \leq 0.01$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

**Şekil 2.** Farklı ayçiçeği genotipleri ve embriyo yaşlarına ait bitkicik boyları

Nitekim DA13-01 ve DA13-04 nolu genotiplerde embriyo yaşı bitkicik boyunda önemli bir farklılık yaratmamasına karşılık, DA13-02 nolu genotipte 14 günlük embriyolar 16 günlük embriyolar dışındaki diğer embriyo yaşlarına göre istatistiksel olarak daha uzun boylu bitkiciklerin oluşmasına neden olmuştur. DA13-03 nolu genotipte ise 14 ve 16 günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerin bitki boyu ortalaması diğer

embriyo yaşlarındaki embriyolardan rejenere olan bitkiciklere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek olmuştur. DA13-05 nolu genotipte ise 18 günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerin bitki boyu ortalaması 16 ve 20 günlük embriyolardan rejenere olan bitkiciklerin bitki boyu ortalamasından istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek olmuştur.

Çizelge 5. Farklı ayçiçeği genotiplerinden farklı zamanlarda izole edilen embriyolarından rejenere olan bitkilerde saptanan yaprakçık sayısı (adet) değerleri ile ilgili ortalamaların çoklu karşılaştırma sonuçları

Embriyo Yaşı	Genotipler					
	DA13-01	DA13-02	DA13-03	DA13-04	DA13-05	Ortalama
8. Gün	2.82	2.79	1.69	3.20	2.74	2.65 c*
10. Gün	3.20	2.64	2.85	3.37	2.43	2.90 bc
12. Gün	2.84	3.15	3.38	3.02	3.02	3.08 ab
14. Gün	3.38	3.38	3.03	3.38	3.38	3.31 a
16. Gün	3.36	3.36	2.95	3.12	3.37	3.23 ab
18. Gün	3.38	2.82	2.47	3.38	3.38	3.08 ab
20. Gün	3.20	3.20	3.14	3.02	2.96	3.10 ab
Ortalama	3.17 a*	3.05 a	2.79 b	3.21 a	3.04 a	3.05

DK (%):16.09, LSD (%) EY:0.36*, Genotip:0.24*, EY*Gen:0.80

* Aynı sütün içinde benzer harf ile gösterilen ortalamalar LSD testine göre $P \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır. (**)

** Benzer harf ile gösterilen ortalamalar LSD testine göre $P \leq 0.05$ hata sınırları içinde istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

Yaprakçık sayısı bakımından, DA13-03 genotipinden izole edilen embriyolardan rejenere olan bitkiciklerde yaprak sayısı diğer genotiplerden izole edilen embriyolardan rejenere olan bitkiciklere göre istatistiksel olarak önemli derecede daha düşük olmuştur. Embriyo yaşı embriyolardan rejenere olan bitkilerde yaprak sayısının önemli derecede etkilemiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5’de izlendiği gibi, en yüksek yaprak sayısı 14 günlük embriyolardan izole edilen bitkiciklerde saptanmıştır Yaprak sayıları embriyo yaşının 8 günden 14 güne kadar artması ile artmış, embriyo yaşının 14 günden daha fazla olması söz konusu embriyolardan rejenere olan bitkiciklerdeki yaprak sayısında 14 günlük embriyolardan rejenere olanlara göre önemli bir farklılık yaratmamıştır.

4. SONUÇ

Bu araştırmanın sonuçları, olgunlaşmamış embriyo kültürü tekniğinin in vivo koşullarda döllenmeden 2-2.5 ay sonra elde edilebilecek ayçiçeği bitkilerinin döllenmeden sonra yaklaşık 1 aylık sürede elde edilmesini sağlayarak ayçiçeğinin üreme döngüsünün kısaltılmasına ve böylelikle yılda 1-2 generasyon yerine 3-5 generasyon alınmasına olanak sağlayabileceğini göstermiştir. Araştırma sonuçlarına göre, kültüre alınacak embriyo yaşının tekniğin başarısında çok önemli bir faktör olduğu, ancak optimum embriyo yaşının genotiplere bağlı olarak farklılık gösterdiğini ortaya koymuştur.

Teşekkür

Bu çalışma, Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Çukurova Bölgesi Ayçiçeği İslah Çalışmaları projesi tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Breccia, G., VegaT, N. G., Mayor, M. L., Zorzoli, R., & Picardi, L. (2009). Immature embryo culture for early screening of imidazolinone resistance in sunflower. *International Journal of Plant Breeding*, 3(1), 37-40.
- [2] Bridgen, M. P. (1994). A review of plant embryo culture. *HortScience*, 29(11), 1243-1246.
- [3] Dağüstü, N., Bayram, G., Sincik, M., & Bayraktaroğlu, M. (2012). The short breeding cycle protocol effective on diverse genotypes of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Turkish Journal of Field Crops*, 17(2), 124-128.
- [4] Hahne, G., (2002). Sunflower seed. In: *Transgenic Plants and Crops*. Eds., G.G. Khachatourians, A. McHughen, R. Scorza, W-K. Nip, Y. H. Hui, pgs: 813-830.

- [5] Jambhulkar, S. J. (1995). Immature embryo (*Helianthus annuus* L.). *Helia*, 8(22), 45-50.
- [6] Maiti, R. K., Vidyasagar, P., Shahapur, S. C., Ghosh, S. K., & Seiler, G. J. (2006). Development and Standardization of a Simple Technique for Breaking Seed Dormancy in Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Helia*, 29(45), 117-126.
- [7] Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
- [8] Plotnikov, V. A. (1983). Use of the method of culturing young embryos for accelerated development of sunflower cytoplasmic male sterility analogues. *Cytology and genetics (USA)*.
- [9] Serieys, H. (1992). Cytoplasmic effects on some agronomical characters in sunflower. In *Proceedings of the 13th International Sunflower Conference (Vol. 2, pp. 1245-1 250)*.
- [10] Sharma, D. R., Kaur, R., & Kumar, K. (1996). Embryo rescue in plants—a review. *Euphytica*, 89(3), 325-337.
- [11] Sukno, S., Ruso, J., Jan, C. C., Melero-Vara, J. M., & Fernandez-Martinez, J. M. (1999). Interspecific hybridization between sunflower and wild perennial *Helianthus* species via embryo rescue. *Euphytica*, 106(1), 69-78.
- [12] Torresan, A., Kesteloot, J., Castaño, F., Rodríguez, R., & Colabelli, M. (1996). Use of immature seed germination technique as an alternative to in vitro culture of sunflower (*Helianthus annuus* L.) embryos. *Euphytica*, 91(1), 1-3.
- [13] Williams, P. H., & Hill, C. B. (1986). Rapid-cycling populations of *Brassica*. *Science*, 232(4756), 1385-1389.