

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI *PRUNUS* TÜRLERİNDE *IN VITRO* REJENERASYON VE
MULTİPLİKASYON ÇALIŞMALARI**

Duygu GEYİK

**Danışman
Doç. Dr. Fatih Ali CANLI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2014**

© 2014 [Duygu GEYİK]

TEZ ONAYI

Duygu GEYİK tarafından hazırlanan "**Bazı *Prunus* Türlerinde *In Vitro* Rejenerasyon Ve Multiplikasyon Çalışmaları**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman **Doç. Dr. Fatih Ali CANLI**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. Cafer EKEN**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Jüri Üyesi **Prof. Dr. Mustafa KELEN**

Süleyman Demirel Üniversitesi

Enstitü Müdürü **Doç. Dr. Ahmet ŞAHİNER**

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Duygu GEYİK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Multiplikasyon Çalışmaları.....	4
2.2. Rejenerasyon Çalışmaları	8
3. MATERYAL VE METOD.....	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. Bitki materyali	14
3.1.1.1. Stanley erik çeşidinin genel özellikleri.....	14
3.1.1.2. Angeleno erik çeşidinin genel özellikleri.....	14
3.1.1.3. Pixy erik anacının genel özellikleri.....	15
3.1.1.4. Marianna erik anacının genel özellikleri	15
3.1.1.5. Kütahya vişne çeşidinin genel özellikleri	15
3.1.2. Besin ortamının hazırlanması.....	15
3.1.3. Bitkilerin Sterilizasyonu.....	16
3.2. Metod.....	16
3.2.1. Kültür odası şartları	17
3.2.2. Alt kültürler	17
3.2.3. Multiplikasyon denemeleri.....	17
3.2.3.1. Benziladenin (BA)' in Pixy erik anacının multiplikasyon üzerine etkileri.....	17
3.2.3.2. Thidiazuron (TDZ)' nun Pixy erik anacının multiplikasyon üzerine etkileri	18
3.2.4. Rejenerasyon denemeleri.....	18
3.2.4.1. Benziladenin (BA)' in Pixy, Marianna anaçları ile Kütahya, Angeleno ve Stanley çeşitlerinin yaprak rejenerasyonuna etkileri	19
3.2.4.2. Thidiazuron (TDZ)' nun Pixy, Marianna anaçları ile Kütahya, Angeleno ve Stanley çeşitlerinin yaprak rejenerasyonuna etkileri	20
3.2.5. Optimizasyon denemeleri	20
3.2.5.1. Stanley erik çeşidinde rejenerasyon gösteren TDZ+IBA muamelesinde optimizasyon	20
3.2.6. Köklendirme ve alıştırma	20
3.2.7. Veri toplanması ve istatistikî analizlerin yapılması.....	21
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	22
4.1. Multiplikasyon Denemeleri.....	22
4.1.1. Benziladenin (BA) 'in Pixy erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri.....	22
4.1.2. Thidiazuron (TDZ)' nun Pixy erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri.....	23
4.2. Köklenme Denemeleri	24
4.2.1. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Pixy erik anacının köklenmesi üzerine etkisi.....	24

4.2.2. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Marianna erik anacının köklenmesi üzerine etkisi	25
4.2.3. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Stanley erik çeşidinin köklenmesi üzerine etkisi	26
4.3. Rejenerasyon Denemeleri.....	27
4.3.1. Benziladenin (BA) 'in Angeleno, Pixy, Stanley, Marianna ve Kütahya'nın yaprak rejenerasyonu üzerine etkileri.....	27
4.3.1.1. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	27
4.3.1.2. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	28
4.3.1.3. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	28
4.3.1.4. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	29
4.3.1.5. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	30
4.3.1.6. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi	30
4.3.1.7. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	31
4.3.1.8. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi	32
4.3.1.9. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	33
4.3.1.10. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	34
4.3.2. Thidiazuron (TDZ)' nun Angeleno, Pixy, Stanley, Marianna ve Kütahya'nın yaprak rejenerasyonu üzerine etkileri	35
4.3.2.1. Thidiazuron (TDZ)' nun aydınlık ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	35
4.3.2.2. Thidiazuron (TDZ)' nun karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	35
4.3.2.3. Thidiazuron (TDZ)' nun aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	35
4.3.2.4. Thidiazuron (TDZ)' nun karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	36
4.3.2.5. Thidiazuron (TDZ)' nun aydınlık ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	37
4.3.2.6. Thidiazuron (TDZ)' nun karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	37
4.3.2.7. Thidiazuron (TDZ)' nun aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	38
4.3.2.8. Thidiazuron (TDZ)' nun karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	39

4.3.2.9. Thidiazuron (TDZ)' nun aydınlık ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	40
4.3.2.10. Thidiazuron (TDZ)' nun karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	41
4.4. Optimizasyon Denemeleri	42
4.4.1. Stanley erik çeşidinin aydınlık ve karanlık ortamda Thidiazuron (TDZ) ve Indole-3-butyric acid (IBA)'in kombinasyonları üzerinde yapılan çalışmalar	42
4.5. Pixy (<i>P. institia</i> L.), Stanley (<i>P. domestica</i> L.) ve Marianna (<i>P. cerasifera</i> Ehrh.× <i>P. munsoniana</i> Wight&Hedr)' yı Dış Koşullara Alıştırma.....	43
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	45
5.1. Multiplikasyon Çalışmaları.....	45
5.2. Rejenerasyon Çalışmaları.	46
KAYNAKLAR.....	49
ÖZGEÇMİŞ	56

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI *PRUNUS* TÜRLERİNDE *IN VITRO* REJENERASYON VE MULTIPLİKASYON ÇALIŞMALARI

Duygu GEYİK

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih Ali CANLI

Bu tez çalışmasında Stanley (*Prunus domestica* L.), Angeleno (*P. salicina* Lindl.), Kütahya (*P. cerasus* L.) çeşitleri ve Pixy (*P. institia* L.), Marianna (*P. cerasifera* Ehrh. × *P. munsoniana* Wight&Hedr.) anacında yapraktan rejenerasyon, ayrıca Pixy anacında *in vitro* multiplikasyon çalışılmıştır. Pixy anacının multiplikasyon denemesinde, MS (+0,54 µM NAA) ortamında BA ile TDZ büyüme düzenleyicilerinin farklı dozlarının *in vitro* sürgün çoğaltımı üzerinde etkileri araştırılmıştır. En iyi kardeşlenme sonuçları BA 1.25 mg l⁻¹ (1.80 sürgün/explant), TDZ (0.53 sürgün/explant ve 0.46 sürgün/explant) TDZ 0.50 ve 0.25 mg l⁻¹ dozlarından elde edilmiştir.

Yapraklardan çalışılan rejenerasyon denemelerinde MS (+0,54 µM NAA) besin ortamı kullanılmıştır. Denemelerde bitki büyüme düzenleyicilerin, ışık rejimlerinin ve ön muamelerinin yaprak rejenerasyonuna olan etkisi araştırılmıştır. Pixy, Marianna anacı ile Angeleno, Kütahya çeşitlerinde sürgün rejenerasyonu elde edilememiştir. Stanley çeşidinin yapraklarından ise %2.5 oranında TDZ 3,5 µM l⁻¹ (karanlık) içeren ortamdan rejenerasyon elde edilmiştir. Elde edilen rejenerasyon oranını artırmak için uygulanan TDZ+IBA ön mualeme çalışmalarından sonuç alınamamıştır. Rejenerasyon denemelerinde en iyi kallus oluşumu Kütahya' da %92.5, Stanley' de %37.5, Pixy' de ise %22.5 oranında gözlenmiştir. IBA kullanılan köklenme denemelerinin sonuçlarına göre Pixy IBA 0.5 mg l⁻¹, Marianna IBA 1 mg l⁻¹ ve Stanley ise IBA 2 mg l⁻¹ içeren ortamda köklenmeye alınmış ve daha sonra toprağa aktarılarak dış koşullara alıştırmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Prunus* sp., TDZ, BA, Multiplikasyon, Rejenerasyon, IBA

2014, 56 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

IN VITRO REGENERATION AND MULTIPLICATION STUDIES IN SOME *PRUNUS* SPECIES

Duygu GEYİK

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Applied and Natural Sciences
Agricultural Biotechnology**

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Fatih Ali CANLI

In thesis, regeneration of Stanley (*Prunus domestica* L.), Angeleno (*P. salicina* Lindl.), Kütahya (*P. cerasus* L.) types and Pixy (*P. institia* L.), Marianna (*P. cerasifera* Ehrh. × *P. munsoniana* Wight&Hedr.) rootstocks, in addition *in vitro* multiplication of Pixy rootstocks were studied. In multiplication studies of Pixy rootstocks, effects of BA and TDZ and their different concentration on *in vitro* shoot propagation were investigated. The best results on multiplication obtained from BA 1.25 mg l⁻¹(1.80 /explant), TDZ (0.53 /explant and 0.46 /explant) TDZ 0.50 and 0.25 mg l⁻¹.

Leaf regeneration studies, were carried out on MS (+0,54 µM NAA) medium. In regeneration studies the effects of Plant Grow Regulators (PGR), pre-treatments and dark incubation were investigated. No shoot regeneration was obtained in Pixy, Marianna, Angeleno, Kütahya. Shoot regeneration was obtained in %2.5 TDZ 3,5 µM l⁻¹ from the leaves of Stanley in the dark. Optimization studies with TDZ+IBA were carried out to increase the regeneration rates out with success. In regeneration studies, the highest callus formations were; Kütahya %92.5, Stanley %37.5, Pixy %22.5. Based on the results preliminary experiments Pixy was rooted on 0.5 mg l⁻¹ IBA, Marianna was rooted on 1 mg l⁻¹ IBA and Stanley was rooted on 2 mg l⁻¹ IBA. All rooted plantes were acclimatized and then transferred to the pots.

Keywords: *Prunus* sp., TDZ, BA, Multiplication, Regeneration, IBA

2014, 56 pages

TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Fatih Ali CANLI' ya teşekkürlerimi sunarım.

Tezin her kademesinde zorlukları beraber atlattığımız ve yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Fulya DEMİR, Sevde KÖSE ve Ayşe OLYAÇ' a, her konuda bize yardımcı olan ve bilgilerini esirgemeyen Uzman Biyolog Belkıs MUCA' ya, çalışmalarımız sırasında yanımızda yardımcı ve destek olan Özgür YILMAZ' a, Safiye ÖZÇELİK' e ve Ayşe SOYLU' ya teşekkürlerimi sunarım.

3505-YL1-13 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan, anlayışlarını esirgemeyen aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Duygu GEYİK
ISPARTA, 2014

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Dikime hazır olan sürgünler ve dikim	16
Şekil 3.2. Kültür odasından bir görüntü.....	17
Şekil 3.3. Pixy erik anacının çoğalması üzerine Benziladenin (BA)' nin etkisi	18
Şekil 3.4. Karanlık inkübasyonu denemesi için alüminyum folyoya sarılı olan petriler	19
Şekil 4.1. Pixy erik anacının BA multiplikasyon denemesinden bir görünüm	23
Şekil 4.2. Pixy erik anacının çoğalması üzerinde TDZ' nin etkisinden bir görüntü	24
Şekil 4.3. Pixy erik anacında IBA' nın köklenme üzerinde olan etkileri	25
Şekil 4.4. Marianna' nın köklenme denemesinde oluşan köklerden bir görüntü.....	26
Şekil 4.5. Stanley erik çeşidinde IBA köklenme denemesinden görüntü.....	27
Şekil 4.6. Kütahya vişne çeşidinin BA denemesinden elde edilen kalluslar	29
Şekil 4.7. Kütahya vişne çeşidinin BA karanlık uygulamasından elde edilen kök oluşumu	30
Şekil 4.8. Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonundaki BA' nın karanlık denemesinden bir görünüm	31
Şekil 4.9. Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonundaki BA denemesinden bir görüntü.....	32
Şekil 4.10. Pixy erik anacının karanlık uygulamasının yaprak rejenerasyonuna olan etkisinden bir görüntü	33
Şekil 4.11. Aydınlik ortamda BA denemesinin Stanley erik çeşidi üzerine olan etkisi	33
Şekil 4.12. Karanlık ortamda BA' nın Stanley erik çeşidi üzerindeki etkisi.....	35
Şekil 4.13. Kütahya vişne çeşidinde TDZ' nin aydınlık ortamda rejenerasyona yaptığı etki.....	36
Şekil 4.14. TDZ büyüme düzenleyicisi ile karanlık ortamda yapılan Kütahya vişne çeşidi denemesinden bir görüntü.....	37
Şekil 4.15. Marianna erik anacının TDZ ve karanlık ortam denemesinden bir görüntü.....	38
Şekil 4.16. Pixy erik anacında TDZ etkisi ile oluşan kalluslardan bir görünüm	39
Şekil 4.17. Pixy erik anacında TDZ karanlık denemesinden bir görüntü	40
Şekil 4.18. Stanley erik çeşidinde TDZ yaprak denemesinden bir görüntü.....	41
Şekil 4.19. Stanley erik çeşidinde TDZ karanlık denemesinde oluşan rejenerasyon	42
Şekil 4.20. Stanley erik çeşidinde TDZ+IBA kombinasyonlarıyla yapılan rejenerasyon denemeleri	43
Şekil 4.21. Otoklavlanmış topraklı besi ortamına aktarılmış bitkilerden bir görüntü.....	44
Şekil 4.22 (a) Stanley' den elde edilen rejenerasyon bitkisinin dış koşullara alıştırılması. (b) Dış koşullara alıştırılmış Marianna anacı. (c) Pixy anacının dış koşullara alışması.....	44

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Türkiye’ deki erik ve vişne üretim miktarları (ton)	1
Çizelge 2.1. <i>Prunus</i> cinsinin farklı eksplantlarında yapılmış önceki çalışmalarından örnekler	11
Çizelge 4.1. Benziladenin (BA)’in Pixy (<i>P. institia</i> L.) erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri	22
Çizelge 4.2. Thidiazuron (TDZ)’un Pixy erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri.....	24
Çizelge 4.3. Indole-3-butyric acid (IBA)’in Pixy erik anacının köklenmesi üzerine etkisi.....	25
Çizelge 4.4. Indole-3-butyric acid (IBA)’in Marianna erik anacının köklenmesi üzerine etkisi.....	26
Çizelge 4.5. Indole-3-butyric acid (IBA)’in Stanley erik çeşidinin köklenmesi üzerine etkisi.....	27
Çizelge 4.6. Benziladenin (BA)’in aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	28
Çizelge 4.7. Benziladenin (BA)’ in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	29
Çizelge 4.8. Benziladenin (BA)’in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi	30
Çizelge 4.9. Benziladenin (BA)’in aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi	31
Çizelge 4.10. Benziladenin (BA)’in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	32
Çizelge 4.11. Benziladenin (BA)’in aydınlık ortamda Stanley erik çeşidini yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	34
Çizelge 4.12. Benziladenin (BA)’in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	34
Çizelge 4.13. Thidiazuron (TDZ)’un aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	36
Çizelge 4.14. Thidiazuron (TDZ)’un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	37
Çizelge 4.15. Thidiazuron (TDZ)’un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi	38
Çizelge 4.16. Thidiazuron (TDZ)’un aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	39
Çizelge 4.17. Thidiazuron (TDZ)’un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	40
Çizelge 4.18. Thidiazuron (TDZ)’un aydınlık ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi	41
Çizelge 4.19. Thidiazuron (TDZ)’un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi.....	42
Çizelge 4.20. Stanley erik çeşidinin karanlık ortamda Thidiazuron (TDZ) ve Indole-3-butyric acid (IBA)’in kombinasyonları üzerinde yapılan çalışmalar	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

2,4-D: 2,4-dikloro fenoksi acetic acid
2iP: İzopentil Adenin
ABA: Abscisic Acid
BA: Benzyladenin
BAP: Benzylaminopurin
ddH₂O: Çift distile saf su
DKW: Driver and Kuniyuki
GA3: Gibberellic acid
IAA: Indole Asetic Acid
IBA: Indole-3-Butyric Acid
KIN: Kinetin
M: Molar
mg: Miligram
ml: Mililitre
mM: Milimolar
MS: Murashige and Skoog
NAA: Naphtalene Asetic Acid
PG: Phloroglucinol
PGR: Plant Grow Regulators
pH: Hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması
QL: Quoirin and Lepoivre
SH: Schenk and Hildebrant
STS: Silver thiosulfate
TDZ: Thidiaziroun
UV: Ultraviole
WPM: Loyd and McCown
µl: Mikrolitre
µM: Mikromolar

1. GİRİŞ

Sert çekirdekli meyveler (*Prunus* sp.) Rosaceae familyasının Prunoideae alt familyasında yer alan önemli meyve türlerindedir (Canlı vd., 2008). *Prunus*'un çiçekleri genelde pembe ile beyaz renkli, taç ve çanak yaprakları beş, tekli veya iki, altı veya daha fazla salkımdan oluşan şemsiye çiçektir. Bütün türlerinde meyvesi ise oldukça büyük bir çekirdekten oluşan drupa şeklindedir. Yaprakları da basit, genellikle lopsuz, mızraksı ve yaprak kenarları tamamen dişlidir (Anonim, 2012a).

Türkiye, bulunduğu coğrafi konumundan dolayı birçok meyve türünün üretilebildiği büyük bir meyve bahçesi konumundadır. Ülkemizde hemen hemen tüm ılıman iklim meyve türleri yetiştirilmektedir (Demiral ve Ülger, 2008).

Ülkemizde, dünyada kültürü yapılan 138 meyve türünden, 16'sı subtropik meyve türü olmak üzere 75'e yakın tür yetiştirilebilmektedir. Ülkemizde bugün sayılarının azalmış olmasıyla beraber 500'den fazla elma, 600 armut, 200 erik, 100 şeftali ve 1200 üzüm çeşidinin bulunduğu bilinmektedir (Anonim, 2012b).

Türkiye; dünyada kiraz ve kayısı üretimi açısından 1. sırada, şeftali ve nektarin üretimi açısından 7. sırada, erik üretimi açısından 8. sırada, vişne üretimi açısından ise 3. sırada bulunmaktadır (Arıcı, 2008). Yıllara göre ülkemizde erik üretimi artış gösterirken, vişne üretiminde ise dalgalanmalar olmuştur (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Türkiye'deki erik ve vişne üretim miktarları (ton) (Anonim, 2013c).

YILLAR	ERİK	VIŞNE
2002	200.000	100.000
2009	245.782	192.705
2010	240.806	194.989
2011	268.696	182.234
2012	300.046	186.443
2013	301.938	185.583

Türkiye'de erik türünün geniş bir şekilde yayılmasının nedeni, gen merkezi oluşu, farklı ekolojilere sahip bölgelerin ve değişik zamanlarda olgunlaşan erik çeşitlerinin var olmasıdır (Anonim, 2011ç).

Türkiye’ de varolan erik türleri; *Prunus cerasifera* Ehrh., *P. domestica* L., *P. institia* L., *P. spinosa* L., *P. salicina* Lindley ve *P. simonii* Carr. olarak bildirilmiştir (Önal ve Cinsoy, 2003).

Dünyada, şeftali-nektarinden sonra en çok üretilen sert çekirdekli meyve eriktir (Anonim, 2011ç). Erik, dünyada ayrı dönemlerde üretimi, mevcut gen kaynağı çeşitliliği, anaç olarak kullanımı ve farklı tüketim şekilleri gibi özellikleri bakımından önemli meyve türleri arasında bulunmaktadır (Çelikkol, 2011). Avrupa ülkeleri arasında erik üretimi başta Almanya sonra Fransa, İtalya ve İspanya’da yapılmaktadır. Dünya’ daki erik üretimi 6.350.000 tondur ve ilk üç sırayı Rusya (1.150.000 ton), Romanya (750.000 ton) ve A.B.D (601.000 ton) oluşturmaktadır (Anonim, 2012c). Vişne üretimi dünyada 1.172.915 ton olup, Türkiye 194.989 ton ile dünyada en fazla üretime sahip ülke olarak yer almaktadır (Aksu vd., 2012).

Kendine verimli, kendine kısmen verimli ve kendine kısır şeklinde olmak üzere erik çeşitlerini döllenme biyolojisine göre üç grup altında toplanabilir. *Prunus* türlerinde yeni çeşit ıslahı, varolan çeşitlerin az sayıdaki ortak soylardan gelmeleri (Scorza vd., 1985), büyük bitki hacmiyle birlikte sebzelere nazaran uzun gençlik kısırılık dönemlerinin olması, genç ve olgun ağaçlar arasında karakterlerin ekspresyonu yönünden farklılıklar içermesi (Baird vd., 1996), poliploidi, kısırılıklar, karşılıklı ve kendine uyumsuzluklar, geniş popülasyonlardan ümit vaad edenlerin seçiminin ve bunların arazi değerlendirmelerinin senelerce sürmesi gibi zorluklar görülmektedir (Canlı ve Tian, 2008a,b).

Sert çekirdekli meyvelerde, son yıllarda doku kültürü yöntemleri kullanılarak mikroçoğaltım yapılmaktadır (Arıcı, 2008). *In vitro* vejetatif üretimin ilk basamağında, eksplant olarak kullanılacak bitkilerin seçilerek, bakımlarının yapılması gerekir. İyi gelişen, sağlıklı bitkilerin kültüre alınması, başarı şansını artırır. Daha sonraki basamakta ise, meristem veya sürgün ucu gibi eksplantların steril olarak izolasyonu yapılır. Mikroçoğaltım için üretime genelde, sürgün ucuyla başlanılmaktadır. Sürgün uçlarının sürmesi sonucunda oluşan uzun sürgünlerden göz bulunduran boğumların, tekrar kültüre alınması ile çoğaltım gerçekleştirilebilmektedir. Sonraki basamak, eksplantın rejenerasyon yeteneğini kaybetmeden çoğaltmanın gerçekleştiği sürdürme olayıdır (Hepaksoy, 2004).

Bitkilerde istenilen bir karakter, gen transferi ile söz konusu olan çeşidin diğer özelliklerini etkilemeden hızla değiştirilebilmektedir. Geleneksel metotlarla kendini kanıtlamış olan çeşitlerin diğer özelliklerini değiştirmeden bir özellik açısından geliştirilmesi pek mümkün olmamaktadır. Geriye melezleme ile ticari öneme sahip meyve çeşitlerinin bir özellik bakımından geliştirilmeleri, generasyon süreleri yüzünden çok uzun yıllar gerekmekte, belli düzeyde bozulmalar olabilmekte ve de kısırlıklar ve uyumsuzlıklardan dolayı gerçekleşmeyebilmektedir veya oldukça güçtür (Canlı ve Tian, 2008a,b). Birçok odunsu meyve türünün genetik olarak geliştirilebilmesi için gerekli olan ilk şart, ilgili meyve türün ya da çeşidin rejenerasyon sisteminin tamamlanmış olmasıdır (Özden, 2007).

Ticari *Prunus* türleri (erik, kiraz, vişne, kayısı ve şeftali) gen mühendisliği teknikleri ile genomun, kendine verimlilik, virüslere ve çeşitli hastalıklara dirençlilik gibi bazı genlerin hızlı bir şekilde transferi sağlanarak daha etkili genetik iyileştirmelere yardımcı olabilir (Mante vd., 1991; Canlı ve Tian, 2008a,b).

Bir türün transformasyon uygulamalarında kullanılacak seviyede rejenerasyon protokolünün olması, bu türün gen transfer teknolojisini geliştirebilmek için ön koşuldur. Bitki üretiminde genetik mühendisliği tekniklerinin uygulanmasındaki anahtar adımı adventif rejenerasyon oluşturmaktadır. Genetik transformasyon ile odunsu bitkilerin iyileştirilmesi, otsu bitkilere göre rejenerasyon yeteneklerinin çok düşük olması sebebiyle daha zordur (Canlı vd., 2008).

Son seneler içerisinde değişik türlerin başarılı transformasyonu ve rejenerasyonu elde edilse bile meyve ağaçları adventif sürgün rejenerasyonunda dirençliler olarak yer almaktadır (Bartish ve Korkhovi, 1997; Trifonova ve Atanassov, 1999). *Prunus* türleri için oluşturulan transformasyon protokolleri daha çok tohum kaynaklı dokulardır. Bunun sebebi ise, genellikle yaprak ve gövde parçalarının, tohum kaynaklı dokulara göre daha zor rejenerasyon olmalarıdır. Tohumların kullanıldığı gen transfer protokolleri, varolan çeşitlerin özellikle de yabancı döllenmiş odunsu türlerde bir karakter yönünden genetik olarak geliştirilmesi için uygun değildirler. Bunlardan dolayı *Prunus* türlerinin gen transferi alanında, yüksek frekanslı rejenerasyon protokollerine ve yüksek frekanslı gen transfer protokollerinin geliştirilmesine gereksinim vardır. Bunlar için özellikle de yaprak gibi vejetatif dokuların kullanılması gerekmektedir (Canlı vd., 2008).

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Multiplikasyon Çalışmaları

Son yıllarda sert çekirdekli meyve anaçlarında bitki doku kültürü yöntemi kullanılarak mikroçoğaltım uygulanmaktadır (Erbaş, 2011). Olgunlaşmasını tamamlamış olan somatik hücrelerden, henüz olgunlaşmamış ya da organize olmuş meristemlerden direk (organogenesis veya somatik embriyogenesis) veya indirekt (kallus veya protoplast vb.) yöntemlerle bitkilerin çoğaltılması ve köklendirilmesi olayına mikroçoğaltım denmektedir (Babaoğlu vd., 2002).

Mikroçoğaltım, meyve anaçlarının klonal çoğaltımı için birçok yararının olmasıyla beraber rejenerasyonu izleyen transformasyon için de önem taşımaktadır. Sürgün uçları diğer eksplantlara göre daha kolay çoğalmaktadır (Erbaş, 2011).

In vitro koşullarında yapılan mikroçoğaltım ekolojik şartlardan bağımsız olarak yapılmaktadır. Klasik yöntemlerle çoğaltıma alternatif bir yarar sağlamaktadır. Bu da büyük boyutlarda yapılan mikroçoğaltım çalışmaları ile yüksek oranda hız, zaman ve yerden kazanç sağlamaktadır (Randal ve Abner, 1986).

Kamali vd. (2001), çalışmalarında GF-677 bademxşeftali anacının doku kültürüyle mikro çoğaltımını araştırmak için dokuları nisan ayında sürgün uçlarından almışlardır. Çoğaltma için en iyi sonucun 1 mg l⁻¹ BA içeren ortam olduğunu tespit etmişlerdir. En yüksek köklenmeyi ise 0.3 mg l⁻¹ NAA ile 1.6 mg l⁻¹ thiamine bulunan ortamda ve 7 günlük karanlık uygulamasında gözlemlemişlerdir.

Yıldırım vd. (2007), yaptıkları çalışmada Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinin en iyi kültüre başlama zamanının mayıs ayı olduğunu ve *in vitro* kültürlerin başlatılması için, eksplant alım tarihleri arasında belirgin farklılıklar olduğunu rapor etmişlerdir. TDZ, BA ve Kin gibi sitokinlerin ve BA'nın farklı konsantrasyonlarının *in vitro* kültür üzerindeki etkileri çalışılmış, sürgün çoğaltımında BA'nın farklı konsantrasyonları arasında 1 mg l⁻¹ BA'nın en iyi sonucu verdiğini rapor etmişlerdir. Sürgün sayısı açısından 2.0 mg l⁻¹ BA içeren besi ortamı en iyi sonuç veren ortam olarak bildirmişlerdir.

Arıcı (2008), çalışmasında sert çekirdekli meyve anaçlarından Myrobolan 29-C, MaxMa 14, MaxMa 60, GF 677 ve GN'nin sürgün uçları ve yan sürgünlerini kullanarak doku kültüründeki çoğaltma olanaklarını araştırmıştır. Eksplantları 1 mg l^{-1} BAP+ 0.02 mg l^{-1} NAA, 1 mg l^{-1} BAP+ 0.2 mg l^{-1} NAA, 2 mg l^{-1} BAP+ 0.02 mg l^{-1} NAA, 2 mg l^{-1} BAP+ 0.2 mg l^{-1} NAA, 1 mg l^{-1} BAP+ 0.02 mg l^{-1} NAA+ 0.5 mg l^{-1} GA3, 1 mg l^{-1} BAP+ 0.2 mg l^{-1} NAA+ 0.5 mg l^{-1} GA3 ve 2 mg l^{-1} BAP+ 0.02 mg l^{-1} NAA+ 0.5 mg l^{-1} GA3, 2 mg l^{-1} BAP+ 0.2 mg l^{-1} NAA+ 0.5 mg l^{-1} GA3 hormonlarını bulunduran MS ortamında kültüre almıştır. Ortamlar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmediğini tespit etmiştir. En fazla sürgünü Myrobolan için MS+ 1 mg l^{-1} BAP+ 0.2 mg l^{-1} NAA, MaxMa 60 için MS+ 2 mg l^{-1} BAP+ 0.02 mg l^{-1} NAA, MaxMa 14 için MS+ 2 mg l^{-1} BAP+ 0.2 mg l^{-1} NAA+ 0.5 mg l^{-1} GA3, GF 677 için MS+ 1 mg l^{-1} BAP+ 0.02 mg l^{-1} NAA ve GN için MS+ 1 mg l^{-1} BAP+ 0.02 mg l^{-1} NAA+ 0.5 mg l^{-1} GA3 içeren ortamlarda olduğunu bildirmiştir.

Hepaksoy (2004), çalışmasında Gisela 5 ve Gisela 6 klonal kiraz anaçlarının sürgün ucu yöntemiyle *in vitro* koşullarda çoğaltılmasını ve çoğaltım için uygun besin ortamlarını araştırmıştır. Gisela 6 anacının Gisela 5' e göre çoğalma eğiliminin daha fazla olduğunu belirlemiştir. En uygun besin ortamını 1 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} IBA/NAA olarak saptamıştır.

Demiral ve Ülger (2008), araştırmalarında Gisela-5 anacının doku kültürü yoluyla çoğaltma olanaklarını çalışmışlardır. Yıllık sürgünlerin yan ve tepe tomurcukları eksplant olarak kullanılmış ve eksplantları dezenfekte yaptıktan sonra çoğaltım aşamasında 1.0 mg l^{-1} IBA (indol butirik asit) + 0.75 mg l^{-1} BAP (benzil amino pürin), 1.0 mg l^{-1} IBA + 1.0 mg l^{-1} BAP, 2.0 mg l^{-1} IBA + 0.75 mg l^{-1} BAP ve 2.0 mg l^{-1} IBA + 1.0 mg l^{-1} BAP içeren MS besi ortamına almışlardır. Çoğaltım ve köklendirme aşamalarında eksplantları 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık, $24 \pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık ve 2500 lux aydınlatma, içeren bitki büyüme odalarına almışlardır. Köklendirme aşamasında MS ortamına 0, 1, 2, 4 ve 6 mg l^{-1} NAA (naftalin asetik asit) ilave etmişlerdir. Çoğaltım aşamasında en iyi sürgün sayısı 2.93 adet ile 1.0 mg l^{-1} IBA + 0.75 mg l^{-1} BAP ve en iyi sürgün boyu 1.68 cm ile 2.0 mg l^{-1} IBA + 1.0 mg l^{-1} BAP uygulamalarından elde ettiklerini bildirmişlerdir. En iyi köklendirmenin de %92.88 ile 6 mg l^{-1} NAA uygulamasında olduğunu saptamışlardır.

Günel (2006), Gisela 5 ve MaxMa 14 kiraz anaçlarında doku kültürü ile çoğaltılmasını amaçladığı çalışmasında kiraz klon anaçlarının sürgün ucu kültürü ile çoğaltılmasında temel besin ortamı olarak MS ortamını kullanmıştır. Araştırmada yan sürgün çoğaltımında gerek BAP'ın tek başına düşük dozları (0.1 ve 0.5 mg l⁻¹) ve gerekse düşük dozdaki 2,4-D (0.01 mg l⁻¹) ile birlikteki kombinasyonların diğer doz ve kombinasyonlara göre daha başarılı olduğunu saptamıştır. Aynı zamanda çoğalma safhasında altkültür sayısı arttıkça yan sürgün sayısının da arttığını ve üçüncü altkültür safhasında her sürgün ucundan ortalama 3.33 adet yan sürgün elde edilebileceğini belirlemiştir.

Erbaş (2011), bodur şeftali anacı Myrabolan 29C ile kayısı ve erik anacı Garnem (GN15) çeşitlerinin *in vitro*'da klonal üretimi üzerinde araştırmalar yapmıştır. 2-3 yaşındaki anaçların sürgün gözü, yaprak ve petiollerini MS ortamında kültüre almıştır. Sürgün teşviki çalışmalarında, Myrabolan 29C sürgün gözlerinde, en yüksek sürgün sayısı (3.00) ve en uzun sürgün gelişimi (18,67 mm) 4 mg l⁻¹ KIN içeren modifiye MS ortamında meydana geldiğini saptamıştır. Garnem'de ise sürgün gelişiminin olmadığını sadece kallus meydana geldiğini tespit etmiştir. Anaçların yaprak ve yaprak sapı (petiol) eksplantlarında ise kallus oluşumu dışında sürgün gelişimi saptamamıştır. Kardeşlenme denemelerinde, Myrabolan 29 C' nin kültüre alınan her sürgün gözünde ortalama üç kardeş (sürgün) oluşumu tespit edilmiş olup, en yüksek sürgün sayısı (4.778), 2.0 mg l⁻¹ BAP+2.0 mg l⁻¹ KIN+0.5 mg l⁻¹ NAA içeren modifiye MS ortamında, en yüksek sürgün uzunluğu (11.167 mm) 1.0 mg l⁻¹ BAP+1.0 mg l⁻¹ KIN+0.5 mg l⁻¹ IBA içeren modifiye MS ortamında meydana geldiğini bildirmiştir. Köklenme çalışmalarında kullandığı hormon kombinasyon ve konsantrasyonlarında, bitkilerde kök oluşumunu teşvik etmediğini saptamıştır.

Güçlü vd. (2010), araştırmalarında Gisela 5, MaxMa 14, MaxMa 60 ve SL 64 klonal kiraz anaçlarının doku kültürü yoluyla çoğaltma imkânlarını araştırmışlar ve eksplant olarak sürgün uçlarını kullanmışlardır. Bu amaçla eksplantları farklı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonları içeren MS besin ortamı üzerinde kültüre almışlardır. Çalışmasında, uygulamalara göre sürgün sayılarını; Gisela 5 anacında 2.16 ile 5.08 adet/eksplant, MaxMa 14 anacında 3.83 ile 5.00 adet/eksplant, MaxMa 60 anacında 2.33 ile 5.08 adet/ eksplant ve SL 64 anacında 3.58 ile 4.16 adet/eksplant arasında tespit etmişlerdir. Sürgün uzunluğu bakımından ise en iyi sonuçları 1 mg l⁻¹ BAP + 0.02 mg l⁻¹ IBA + 0.5 mg l⁻¹ GA3 (1.44 -1.50 cm) ve 1 mg l⁻¹ BAP + 0.02 mg l⁻¹ IBA + 1 mg l⁻¹ GA3 (1.43-1.61 cm) ilave edilmiş ortamlardan saptamışlardır.

Ružic vd. (2000), Gisela 5' in *in vitro* çoğaltımında MS temel ortamının normal, yarı kuvvette (MS 1/2), 1/4 kuvvette (MS 1/4) ve iki katı kuvvetteki MS temel ortamına 4.4 μM BA, 0.5 μM NAA, ve 0.3 μM GA₃ ilave ederek çalışmışlardır. Çalışmalarında, altkültürlerde başlangıçtan 0, 20 ve 40 gün sonra yaptıkları değerlendirmede, altkültürlerdeki explantların taze ve kuru ağırlıklarında artış gerçekleşirken besi ortamının taze ve kuru ağırlıklarında bir azalma olduğunu saptamışlardır. Bu arada besin ortamının pH' ında altkültürler süresince bir azalma görülürken, yarı kuvvette (MS 1/2) ve 1/4 kuvvette (MS 1/4)'deki besi ortamlarında yavaş bir artış görüldüğünü, Gisela 5'in bu besi ortamları içinde en iyi gelişmeyi normal ve iki katı kuvvetteki MS ortamlarında sağladıklarını belirtmişlerdir.

Pascual vd. (2000), Marianna 2624 (*Prunus cerasifera* \times *P. munsoniana*) eriğinin, yaprakları medial, proksimal ve distal bölümleri takiben enine kesmişler ve 7.5 μM BA ya da TDZ ve 20 veya 30 g sükröz/litre ile desteklenmiş MS ortamında kültüre almışlardır. Fazla sayıda sürgünleri thidiazuron ve 20 g sükröz/litre ile elde etmişlerdir. Proksimal, medial ve distal yaprak bölümler arasında da anlamlı fark olmadığını tespit etmişlerdir.

Pevalek-Kozlina ve Jelaska (1987), çalışmalarında yabani kiraz anacının (*Prunus avium* L.) sürgün ucu ve axillary tomurcuk kullanılarak *in vitro* üretiminde modifiye edilmiş WPM temel besin ortamına 2.2 μM benzyladenine, 2.5 μM indole-3-butyric acid (IBA) ve 0.3 μM GA₃ ilave edilmesi halinde en uygun sürgün çoğaltımını sağlandığını bildirmişlerdir. *In vitro*'da elde edilen sürgünlerdeki en uygun köklenmesinde 4.9 μM IBA içeren besi ortamında veya axillary sürgünlerin 2.46 μM IBA solüsyonuna batırıldıktan sonra elde edildiğini belirtmişlerdir.

Andreu ve Marin (2005), *Prunus* cinsine ait türlerin anaçlarından olan Adesoto 101 (*P. insititia*)'in farklı kültür ortamlarında farklı eksplant kaynaklarının rejenerasyon imkânlarını araştırmışlardır. Mikroçoğaltım ve çelikle çoğaltılarak elde ettikleri bitkilerden aldıkları eksplantlar farklı besin ortamlarına (MS, WPM ve QL) kültüre almışlardır. Sonuç olarak mikroçoğaltım ile elde edilmiş olan bitkilerden alınan eksplantların daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. Kültür besin ortamının içeriği çoğaltım oranı üzerinde etki yapmıştır. 9 alt kültürden sonra QL besin ortamında elde edilen sürgün sayısının MS ve WPM besin ortamlarına oranla fark edilebilecek şekilde düşük olduğunu belirlemişlerdir.

Silveira vd. (2001), yan gözlerden başlatılan *in vitro* çoğaltma için en uygun olan BAP konsantrasyonunu ve kültür ortamının belirlenmesi üzerinde çalışmışlardır. G x N22, GF-677, Mr.S 2/5, Marianna ve Myrobalan erik anaçları, farklı 4 BAP dozu (0.1, 0.3, 0.5 ve 0.7 mg l⁻¹) içeren iki MS konsantrasyonunda (MS ve ¾ MS) test etmişler ve genotipler bu ortamlarda farklı tepkiler vermişlerdir. G x N-22 ve Mr. S 2/5 anaçları için ¾ MS ortamında 0.7 mg l⁻¹ BAP daha iyi sonuçlar verirken, Myrobalan anacı 0.5 mg l⁻¹ BAP içeren ¾ MS ortamında daha iyi sonuçlar verdiğini ve test edildiği iki MS konsantrasyonunda da BAP konsantrasyonunun artmasıyla sürgün uzunluğunun azaldığını saptamışlardır. GF-677 anacı ise mikro çoğaltmada iyi sonuçlar vermediğini belirtmişlerdir.

2.2. Rejenerasyon Çalışmaları

Rejenerasyonu etkileyen birçok etken bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; yaralamalar, besin ortamının içeriği, bitki büyüme düzenleyiciler, ışık rejimleri, bitki genotipi gibi özellikler olarak bildirilmiştir (Canlı ve Tian, 2008a).

Genellikle *Prunus* türlerinin çeşitli eksplantlarında, benziladenin (BA), thidiazuron (TDZ)' dan daha az etkin olduğu bildirilmiştir (Leblay vd., 1990; Korban vd., 1992; Escalettes ve Dosba, 1993; De Bond vd., 1996; Sarwar ve Skirvin, 1997; Hammatt ve Grant, 1998). Diğer türlerde de TDZ hakkında benzer sonuçlar rapor edilmiştir (Bassi ve Cossio, 1991; Ainsley vd., 2001; Yan ve Zhou, 2002; Bhagwat ve Lane, 2004; Matt ve Jehle, 2005; Blando vd., 2007; Canlı ve Tian, 2008b). Bununla birlikte kültürlerde karanlık inkübasyonunun (Nedelcheva ve Tsoneva, 1998; Ainsley vd., 2001; Canlı ve Tian, 2008a,b) ve TDZ inkübasyonlarının rejenerasyonu önemli ölçüde arttırdığını bildirmişlerdir (Song ve Sink, 2005). Aynı zamanda rejenerasyonu etkileyen diğer bir faktörün yaprakların yaralanmasının olduğunu bildirmişlerdir (Bhagwat ve Lane, 2004; Song ve Sink, 2005). *Prunus* türlerinde sürgün rejenerasyonu, hem olgun dokulardan (Lane ve Cossio, 1986; Schmidt ve Kardel-Meisner, 1992) hem de tohum kaynaklı dokular kullanılarak ispat edilmiştir.

Rejenerasyon protokolleri oluşturabilmek için yaprakların yanı sıra kotiledonlar (Mante vd., 1989), embriyolar (Schneider vd., 1992), ve protoplastlarda (Ochatt ve Power, 1988) kullanılmıştır.

Prunus türlerinde (Avrupa erikleri de dahil) transformasyon frekansı oldukça düşüktür. Bundan dolayı gen transformasyon ve rejenerasyon protokollerinin geliştirilmesine ve frekanslarının artırılmasına gerek vardır. Çünkü; bir çok *Prunus* türünde oluşturulan transformasyon protokolleri bir kere sonuç verebilmiş ve bundan da az sayıda transgenik bitki elde edilebilmiştir. Oysaki *P. domestica* için hipokotil dokusundan geliştirilmiş olan transformasyon protokolü tekrar edilebilmiştir. Böylelikle transgenik bitkiler elde edilebilmiştir (Canlı vd., 2008).

Kayısı, şeftali ve kirazın olgunlaşmamış tohum kotiledonları ile şeftalinin olgun tohum kotiledonları kullanılarak başarı elde edilmiştir (Lane ve Cossio, 1986; Mante vd., 1989; Pooler ve Scorza, 1995). Bunların yanında şeftali, erik ve kayısının olgunlaşmamış embriyoları ile somatik hücreleri kullanılarakta rejenerasyon sağlanılmıştır (Hammerschlag vd., 1985; Mante vd., 1989; Pieterse, 1989). Erik (*P. domestica*), badem (*P. dulcis* Mill.), kara kiraz (*P. serotina* Ehrh.), yabani kiraz (*P. avium* L.) ve kuş kirazında (*P. padus* L.) (Mehra ve Mehra, 1974; Bassi ve Cossio, 1991; Hammat, 1993; Miguel vd., 1996; Hammat ve Grant, 1998) yaprak dokusu kullanılarak rejenerasyon elde edilmiştir. Yaprak dokusu ve hipokotil dilimleri kullanılarak erik ve badem de transformasyonla rejenerasyon elde edilmiştir (Mante vd., 1991; Miguel ve Oliveira, 1999). Kiraz ve vişne türlerinde yaprakların yaralanması da rejenerasyonu artırmaktadır (Bhagwat ve Lane, 2004; Song ve Sink, 2005).

Prunus türlerinin farklı eksplantlarında adventif sürgün rejenerasyon raporları bulunmaktadır. Adventif sürgünler *Prunus domestica* (Bassi ve Cossio, 1991), *P. canescens* (Antonelli ve Druart, 1990), *P. dulcis* (Miguel vd., 1996), *P. persica* (Declerck ve Kobran, 1996) ve *P. serotina* ve *P. avium* (Hammatt ve Grant, 1998), yaprak dokusunda elde edilmiştir. Kayısıda (*P. armeniaca* L.) ki, sürgün rejenerasyonu ise adventif indüksiyon yöntemiyle endosperm ve juvenil eksplanttan elde edilmiştir (Lane ve Cossio, 1986; Goffreda vd., 1995).

Yancheva (1993), iki erik -Kjustendilska Sliva, Stanley- çeşidinin yaprak eksplantlarının *in vitro* rejenerasyonunu incelemiştir. Çalışma, MS bazal ortama % 2 sükröz, 0.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ IBA ve 7,5 $\mu\text{M l}^{-1}$ TDZ ilave edilerek yapılmıştır. Optimum rejenerasyonu Stanley için %46.25, Kjustendilska Sliva içinse %31.43 elde ettiğini bildirmiştir.

Pascual ve Marin (2005), *Prunus* cinsine ait 3 çeşidin (Marianna 2624, Myrobalan 605 AD, Adafuel) yaprak eksplantlarından rejenerasyon elde etme yöntemlerini

araştırmışlardır. Rejenerasyon ortamı, BAP ve NAA varlığında, 2,4-D 'den daha etkili olmuştur. Yapraklar, 1.7 µM 2,4-D içeren sıvı MS besin ortamında, 90 dakika bekletilmiş ve daha sonra QL besin ortamına aktarılmıştır. Adafuel çeşidinde köklenmeyi uyarılmış ve Marianna 2624' de ise %58.9 rejenerasyon elde edilmiştir.

Nowak ve Miczyński (2002), Węgierka Zwykła eriğinin, *in vitro* ortamında yaprak eksplantlarında TDZ ve BAP'ın organogenez üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 0.5 veya 1.65 mg l⁻¹ konsantrasyonunda TDZ ile 2,4-D ve 3.0 veya 5.0 mg l⁻¹ BAP konsantrasyonu ile IBA, NAA kombinasyon halinde uygulanmıştır. Sonuç olarak organogenezi iki farklı şekilde gözlemlemişlerdir. 2,4-D, TDZ tarafından uyarılan verimli (60% -72%) dolaylı organogenez, ve doğrudan organogenez, ya da BAP ile birlikte medyada sadece çok küçük kallus oluşumu gözlemlemişlerdir.

Petri ve Scorza (2010), Improved French erik çeşidinin yapraklarından adventif sürgün rejenerasyon için çeşitli faktörlerin optimizasyonunu sağlamak amacıyla yürüttükleri çalışmalarında 3µM BA ve 0,25µM IBA ilave edilen MS ortamından %52 rejenerasyon elde etmişlerdir. 8,9 µM BA ve 0,49 µM IBA ilave edilen QL ortamından %5'in altında bir oran elde ettiklerini bildirmişlerdir. Katılaştırıcı jel olarak 7 g l⁻¹ Bacto agar, 7 g l⁻¹ agar ve 4,5 g l⁻¹ Agargel™ kullanmışlar ve organogenesis en çok Bacto agarın katkı sağladığını bildirmişlerdir. Karanlık inkübasyonunun rejenerasyona olan etkisi de araştırılan bu çalışmada 16:8 saat fotoperiyot uygulanan yapraklarla 1 hafta, 2 hafta ve 3 hafta karanlık uygulanan yapraklar karşılaştırılmıştır ve 1 hafta karanlık denemesinin en iyi sonucu verdiğini tespit etmişlerdir. Etilen inhibitörü olan silver thiosülfat (STS)'in 0, 30, 16, 60 ve 120 µM dozlarının organogenesis karşı en iyi sonucu 60 µM ile 120 µM konsantrasyonların verdiğini saptamışlardır.

Escalettes ve Dosba (1993), yaptıkları çalışmada *Prunus* türlerinden yüksek oranda adventif sürgün rejenerasyonunda başarı elde etmişlerdir. *Prunus* türlerinin *in vitro* rejenerasyon uygulamalarına tepkileri farklılık göstermiştir. H.152 kayısı klonuna yapılan denemede Quoirin (Quorin ve Lepoivre, 1977) makro elementleri kullanılmış, ayrıca H.146 kayısı ve P.1869 hibrit erik klonunun rejenerasyon çalışmasında ½ MS (Murashige ve Skoog, 1962) kültür ortamının kullanılması rejenerasyonu sağlamıştır. Adventif sürgün oluşumuna en etkili faktörün TDZ (thidiazuron)'nun tek başına veya naftalen asetik asit (NAA) ile kombinasyonların olduğu belirtilmiştir. Optimum konsantrasyonlar genotipe bağlı olarak farklılık göstermiştir. Besin ortamına gümüş nitrat (AgNO₃) eklenmesi rejenerasyonu %10-40 oranında yükseltmiştir. Yine besin

ortamına AgNO₃ eklenmesinin, *P. Marianna*, *P. domestica* ve *P. insititia* türlerine ait erik klonlarının da rejenerasyonunun sağlandığı bildirilmiştir.

Tang vd. (2002), çalışmalarında *P. avium* L. (Burlat, Hedelfinger, Napoleon ve Schneiders) ve *P. cerasus* L. (Beutal, Spacher, Rexelle ve Morellenfeuer) türlerine ait toplam 6 çeşidin yaprak eksplantlarını rejenerasyon için kullanmışlardır. Rejenerasyon elde edebilmek amacı ile 1-2 mg l⁻¹ BAP veya TDZ, 0.5-1.0 mg l⁻¹ NAA veya IBA içeren, MS, DKW, QL (Quoirin ve Lepoivre, 1977) ve WPM besin ortamları kullanılmıştır. Yaprak eksplantlarının üzerine kesikler atıldıktan sonra alt yüzü besin ortamına değecek şekilde petrilere yerleştirilmiş ve yaprak eksplantlarında 14 gün içerisinde rejenerasyonun başladığını gözlemlemişlerdir. BAP (2 mg l⁻¹) ve 0.5-1.0 mg l⁻¹ NAA içeren WPM besin ortamında Early Burlat dışındaki tüm çeşitlerde rejenerasyonu sağlamışlardır. Çalışmada BAP'ın TDZ'ye oranla rejenerasyonu daha çok teşvik ettiği bildirilmiştir.

Çizelge 2.1. *Prunus* cinsinin farklı eksplantlarında yapılmış önceki çalışmalardan örnekler

Tür	Çeşit	Eksplant	Rejenerasyon (%)	Besin Ortamı	Kaynak
<i>P. armeniaca</i>	Zard, NJA82, Royal	embriyo kallus	92-100	MS MS+4.4 µM BA 1.0 µM 2-4 D	Goffreda vd., 1995, Pieterse, 1989
<i>P.persica</i> <i>x</i> <i>P.davidiana</i>	Nemaquard, Suncrest, Bailey, Loring Belle	yaprak olgunlaşmamış tohumlardan kotiledonlar	3.3-60	1/2MS, MS, WPM, SH	Zhou vd., 2010, Mante vd., 1989
<i>P. persica</i>	P16CL5 Babygold 6 842 Standard San Flordaguard Nemared Medaguard Jingyan Lühua 9 Wanmi and Dajiubao Taif pecah	yaprak olgun kotiledon embriyo	5.4- 73.5	LP, MS MS+ %2.5 sucrose +I BA(1.25 or 2.5 µM)+ TDZ(6.25 or 12.5 µM) M2,4-D ve0.44 u0. µM BA , NAA ve 2.2 µM BA	Gentile vd., 2002 , Pooler ve Scorza, 1995, Hammerschlag vd., 1985, Yan ve Zhou, 2002, Nagaty, 2012
<i>P. avium</i>	Heidelfingen Vogue Tehranivee Sunburst Schneiders Giorgia Benisyuho Benitemari Benisayaka Satonishik	olgun kotiledon yaprak ve boğum kısmı yaprak	3-70	TDZ, WPM WPM+5 mg/l-1 TDZ	Canlı ve Tian 2008a, Matt ve Jehle, 2005, Blando vd., 2007, Takashina vd., 2003

Çizelge 2.1. *Prunus* cinsinin farklı eksplantlarında yapılmış önceki çalışmalardan örnekler (Devam)

Tür	Çeşit	Eksplant	Regenerasyon (%)	Besin Ortamı	Kaynak
<i>P. salicina</i>	Bruce Shiro Redheart Gladstone Early Golden	olgun kotiledon-	6.7-66.7	QL	Canlı ve Tian, 2009
<i>P. cerasus</i>	Beutal Spacher Rexelle Morellenfeuer Gerema Scharo Schattenmorelle Montmorency Black Eagle	yaprak olgunlaşmamış embriyo kotiledonları	0.04-57	MS, QL MS+ 0.10 mg l ⁻¹ TDZ, WMP	Tang vd., 2002, Song ve Sink 2005, Dolgov ve Firsov, 1999
<i>P. domestica</i>	Italian Damson V70033 Blue Vanette Bluefre Bluebell V72481 Veeblue President Angelino Larry Anne Susina di Dro and Bluefre Improviet French Stanley- Marianna 2624 Wegierke Zwykla	hipokotil yaprak	60-10 11-19 46.25 72	MS IBA BA MS+%2 sukrose+ 0.5 ul IBA+ 7.5 ul TDZ 90dk sıvı 2,4-D (1.7)ul+ MS + 0.5 TDZ+ 1.65 mg l ⁻¹ 2-4 D	Bassi ve Cossio, 1991, Petri ve Scorza, 2010 Yancheva, 1993, Marin ve Pascual, 2005, Nowak ve Miczynski, 2002
<i>P. persica</i> <i>x</i> <i>P. dulcis</i>	UFO-3, Alice bigi, Garnem, GF677, Maruja, Flariba	kallus	2.8-82.2	BA IBA NAA	Perez-Jimenez vd., 2012
<i>P. avium</i>	Lapins Sweetheart	yaprak	54- 71.4	WPM	Bhagwat ve Lane, 2004
<i>P. serotina</i>	Black cherry Seedling A PBS 2322 2339 Pavia E	yaprak	8-91	WPM	Liu ve Pijut, 2008 Hammatt ve Grant, 1998, Espinosa vd., 2006
<i>P. persicax</i> <i>P. davidiana</i>	Nemaguard	yaprak	71.7	WPM MS SHM	Zhou vd., 2010

Çizelge 2.1. *Prunus* cinsinin farklı eksplantlarında yapılmış önceki çalışmalardan örnekler (Devam)

Tür	Çeşit	Eksplant	Regenerasyon (%)	Besin Ortamı	Kaynak
<i>P. armeniaca</i>	Helena	yaprak	44.3	Ethylene inhibitors silver thiosulphate or aminoethoxyvnylyglycine	Burgos ve Alburquerque, 2003
<i>P. dulcis</i>	Nonpareil, Ne Plus Ultra	yaprak	5.5 - 44.4	TDZ BA 2-4 D	Ainsley vd., 2001, Miguel vd., 1996
<i>Prunus microcarpa</i>		yaprak	0-77	TDZ BA	Nas vd., 2010
<i>P. marianna</i> , <i>P. domestica</i> <i>P. insititia</i>		adventif tomurcuk	10-43	MS TDZ NAA, AgNO ₃	Escalettes ve Dosba 1993
<i>P. armeniaca</i>	Canino Dorada Moniqui	hipokotil tohum	31.7-46.9		Wang vd., 2011
<i>P. amygdalus x P. persica</i>	GF 677	kallus	63.4	MS+ 1 mg l ⁻¹ BA	Özden, 2007
<i>P. armeniaca</i>	Apricot Sweet cherry	embriyo	70-100	2,4-D+BA	Lane ve Cossio, 1986
<i>P. campanulata</i> <i>P. maackii</i> <i>P. sargentii</i> <i>P. serrula</i> <i>P. serrulata</i> <i>P. subhirtella</i> <i>P. virginiana</i> <i>P. yedoensis</i>	Kotiledon ve hipokotil	kotiledon hipokotil	5-50	2,4D+BA+ TDZ+IBA+ NAA	Hokanson ve Pooler, 2000

Bu çalışmada Pixy erik anacında multiplikasyon ile Stanley, Marianna, Kütahya, Pixy ve Angeleno' da rejenerasyon protokolleri geliştirilmeye çalışılmıştır. Böylece çalışılacak olan meyve türlerinde bir gen transformasyon protokolünün geliştirilmesi için önemli bir adım gerçekleştirilmiş olacak ve meyve türlerinde gen transfer teknolojisi geliştirilmesi için yeni bir çalışma başlatılmış olacaktır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki materyali

Çalışmada kullanılan bitki materyalleri Eğirdir Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü parsellerinde bulunan Stanley, Pixy, Kùtahya ve Marianna ağaçlarından alınmıştır. Angeleno çeşidi ise Doç. Dr. Ali Fatih Canlı'nın bahçesinden alınmıştır. Bitkiler 2012'nin baharında sürgün veren uç kısımlarından toplanarak plastik torbalar içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Çalışma, 2011-2013 yılları arasında S.D.Ü Gül ve Gül Ürünleri Araştırma ve Uygulama Doku Kùltürü Laboratuvarı ile S.D.Ü Ziraat Fakùltesi Tarımsal Biyoteknoloji Bölümü Doku Kùltürü Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1.1.1. Stanley erik çeşidinin genel özellikleri

Stanley (*P. domestica* L.) erik çeşidinin orjini Amerika olup New York eyaletinde elde edilmiştir. Ağacı orta derecede kuvvetli, küresel yapıda, düzenli ve yüksek verimlidir. Stanley kendine verimli bir erik çeşididir. Meyvesi ise, orta irilikte, uzun-elips şeklinde olup, mavi-morumsu kabuklu ve üzeri püslüdür. Meyve eti sarı renkte, çok sert, çekirdeğine az bağlı ve liflidir. Hasat zamanı ağustos'un 4., eylül'ün 1. haftasıdır. Bu çeşit sofralık, kurutmalık ve meyvelerin çekiciliği açısından ilginç bir çeşittir (Karamürsel, 2011).

3.1.1.2. Angeleno erik çeşidinin genel özellikleri

Angeleno (*P. salicina* Lindl.) erik çeşidinin orjini Kaliforniya'dır. Friar ve Formosa' nın tozlanmasıyla elde edilen bir çeşittir. Ağacı yüksek verimli, orta kuvvette ve yarı diktir. Meyvesi basık yuvarlak şekilli, çok büyük, siyah kabukludur. Yeşil-sarı renkte, çekirdeği küçük ve meyve etine bağlıdır. Hasatı eylül'ün 4., ekim'in 1. haftası olur. Angeleno farklı tozlayıcılara gereksinim duymaktadır. Aralık ayı sonuna kadar soğuk hava depolarında saklanabilmektedir. Geç dönemde hasat edilmesi, depoda dayanma zamanının 3 aydan fazla olması pazar değerinde artışı sağlamaktadır (Karamürsel, 2011).

3.1.1.3. Pixy erik anacının genel özellikleri

Pixy (*P. institia* L.), bodur ve vegetatif olarak (odun çelikleri ile) üretilen bir erik anacıdır. Bütün erik çeşitleriyle iyi bir uyuşma gösterir. Bu anaca aşılı eriklerde 2. yıl ürün alınabilmektedir. Bu anaç üzerine aşılı olan erik çeşitleri erken meyveye yatmakta, daha büyük meyveli ve şeker oranı yüksek meyve meydana getirmektedir. Pixy anacı ağır toprak koşullarına ve toprak yorgunluğuna dayanıklılık göstermektedir. Verimli topraklarda, sulak arazilerde gayet iyi sonuçlar vermiştir. Kökleri yüzeysel gelişim gösterdiğinden dolayı kurak arazilerde yetiştirilmesi tavsiye edilmez. Sık dikim için ve destek sistemli kurulacak bahçeler için uygun olan bir anaçtır (Karamürsel, 2011).

3.1.1.4. Marianna erik anacının genel özellikleri

Marianna erik anacının *P. cerasifera* Ehrh. ile *P. munsoniana* Wight&Hedr.'nın doğal hibritlenmesi sonucunda oluştuğu tahmin edilmektedir. Kültür çeşitleri ile uyuşması genellikle iyidir ve nemli topraklarda da iyi gelişmektedir. Sadece President çeşidi ile iyi uyuşma göstermez. Meyveleri ise küçük ve kırmızı renklidir (Anonim, 2012d).

3.1.1.5. Kütahya vişne çeşidinin genel özellikleri

Kütahya vişnesi ülkemizdeki en önemli vişne çeşididir. Meyvesi yuvarlak ve kalp şeklinde, uç tarafı ise küt şeklindedir. Meyve kabuğu parlak koyu kırmızı renktedir. Kütahya vişnesi sulu, aromalı ve mayhoştur. Meyvenin suyu koyu renkli olup çok sert ve suludur. Aynı zamanda az lifli ve kalitelidir. Verimli ağaçlar olup, meyve çatlaması yapmamaktadır (Anonim, 2011f).

3.1.2. Besin ortamının hazırlanması

Yapılan çalışmada multiplikasyon ve rejenerasyon için 3 µM BA, 0.54 µM NAA, 4,4 g l⁻¹ MS, 30 g l⁻¹ sukroz ve 7 g l⁻¹ agar içeren MS (Murashige and Skoog, 1962) besin ortamı kullanılmıştır. pH değeri, NaOH ve HCl kullanılarak 5.8'e ayarlanmıştır. Steril saf su ile hazırlanan besin ortamları, daha önce steril hale getirilen kültür tüplerine (her tüpe 10 ml) koyduktan sonra, 121 °C'de 1.2 atmosfer basıncındaki otoklavda 25 dakika tutularak sterilizasyonunu gerçekleştirilmiştir.

3.1.3. Bitkilerin sterilizasyonu

Sürgünler 4-5 cm'lik parçalara ayrılmış ve sürgünlerin üzerinde bulunan bütün yapraklar temizlenmiştir. Sonra bu örnekler ilk olarak çeşme suyuyla arıtılarak deterjanlı su şişelerine aktarılmıştır ve çalkalayıcı üzerinde 10 dakika boyunca yıkanmıştır. Deterjanlı sudan arındırıldıktan sonra 1-2 damla tween-20 (Merck) ve fungusitle (Oncapan) 3 dakika boyunca çalkalanıp arındırılmıştır. Daha sonra % 15 lik (% 0.787 sodyum hipoklorit) çamaşır suyuyla 15 dakika boyunca çalkalanarak sterilizasyon yapılmış ve otoklavlanmış su ile steril kabin içinde en az üç kere arındırılmıştır. Sterilizasyonu tamamlanmış olan eksplantlar 1-2 sürgün verecek göz bulundurulacak şekilde 1,5-2 cm'lik parçalara ayrılarak 1mg l^{-1} BA, 0.1mg l^{-1} NAA, 30 g l^{-1} sukroz ve 7 g l^{-1} agar içeren, pH'sı 5.8'e 1 N NaOH veya HCl ile ayarlanmış MS kültür ortamına alınmışlardır (Şekil 3.1). Kültür başlangıcından 4 hafta sonra yeni sürgünler alınıp, yeni bir MS kültür ortamına alınmıştır.



Şekil 3.1. Dikime hazır olan sürgünler ve dikim

3.2. Metod

Çalışmada hava akışlı steril kabinler kullanılmıştır. Yapılacak çalışmalardan önce UV lambaları açılmış ve çalışmadan en az 15 dk. önce % 70' lik etil alkolle kabin içi silinerek steril hale getirilmiştir.

3.2.1. Kültür odası Şartları

Kültür tüpleri 24 ± 1 °C sıcaklık ve beyaz floresan lamba ile sağlanan 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık periyotta olmak üzere bir kültür odasında raflara yerleŐtirilmiŐtir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Kültür odasından bir görüntü

3.2.2. Alt kültürler

Her 4 haftada bir bitkiler steril kabin içinde yeni ortama alınarak, 4-6 aylık bir zaman diliminde denemeler için yeterli popülasyon elde edilmeye çalışılmıştır.

3.2.3. Multiplikasyon denemeleri

Bu çalışmada rejenerasyon protokolü hazırlamak önemli olduğu kadar, çeşitlerin hızlı çoğaltımında bu çalışmanın tekrar edilebilir olması bakımından önemlidir. Bundan dolayı çalışmada rejenerasyona ilave olarak çalışma bitkilerinin multiplikasyonuna da yer verilmiştir.

3.2.3.1. Benziladenin (BA) 'nin Pixy erik anacının multiplikasyon üzerine etkileri

Multiplikasyon denemeleri için literatür kapsamında belirlenmiş olan BA'nın 0, 1.25, 2.50, 5.0, 10 ve 20 mg l⁻¹ (+0,54 µM NAA) dozları MS ortamında Pixy anacına uygulanarak çoğaltımına teşvik edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Pixy erik anacının çoğaltılması üzerine Benziladenin (BA) 'nin etkisi

3.2.3.2. Thidiazuron (TDZ)'nun Pixy erik anacının multiplikasyon üzerine etkileri

Multiplikasyon denemeleri için literatür kapsamında belirlenmiş olan TDZ' nin 0, 0.125, 0.25, 0.50, 1, 1.50, 2 mg l⁻¹ (+0,54 µM NAA) dozları MS ortamında Pixy anacına uygulanarak çoğaltıma teşvik edilmiştir.

3.2.4. Rejenerasyon denemeleri

Stanley, Angeleno, Kütahya çeşitleri ile Pixy ve Mariana anacının 4 ile 6 aylık alt kültür uygulamaları sonucunda yeterli bitki sayısına ulaşıldığında, *in vitro* ortamında gelişen bitkiciklerden yaprak parçacıkları alınarak *in vitro* ortamda rejenerasyona teşvik edilmişlerdir.

Rejenerasyon denemesi için hazırlanan MS ortamının pH'ı otoklav olmadan önce HCl veya NaOH ile 5,78-5.80'e ayarlanmış ve 121 °C ve 1.2 atmosfer basınçta 15 dakika otoklavlanmıştır. Sonra ortam steril petri kaplarına 15 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Rejenerasyon denemelerinde steril kabin içinde örneklerden alınan yaprak parçacıklarının orta damarı dik şekilde 3 çizgi yani yaralama işlemi yapılmıştır. Orta damar yukarıda olacak şekilde petri kaplarına konulmuş ve petri kaplarının etrafları parafilm ile sarılmıştır.

Tüm rejenerasyon denemelerinde her faktör aydınlık denemesi için 4, karanlık denemesi için de 4 petri olmak üzere sekiz tekerrür (petri kabı) yapılmıştır.

Her tekerrürde (petri kabında) on yaprak veya yaprak parçacığı kullanılmıştır. Karanlık ile inkübasyonda petriyer alüminyum folyoya sarılarak 10 gün tutulmuştur (Şekil 3.4). 10. gün sonunda folyolar çıkarılmış ve ışık altında 20 gün daha bekletilmiştir. Aydınlık denemeleri de ışık altında 1 ay bekletilmiştir. Daha sonra ise karanlıkla inkübe edilen petrideki yapraklarla aydınlıkla inkübe edilen yapraklar karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.4. Karanlık inkübasyonu denemesi için alüminyum folyoya sarılı olan petriyer

3.2.4.1. Benzilydenin (BA) 'nin Pixy, Marianna anaçları ile Kütahya, Angeleno ve Stanley çeşitlerinin yaprak rejenerasyonuna etkileri

Çalışmada literatür ışığında belirlenen BA' nın 0, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 mg l⁻¹ dozları ile farklı ışık muameleleri (aydınlık/karanlık) ve ön muamelelerle (TDZ ve BA inkübasyonları) Pixy, Kütahya, Angeleno ve Stanley bitkilerinde rejenerasyonun elde edilmesi amaçlanmıştır.

Marianna için literatür ışığında belirlenen BA' nın 0, 1.75, 3.5, 5.25, 7, 8.75 µM l⁻¹ dozları (+NAA 2.6 µM) QL ortamında uygulanarak rejenerasyonun elde edilmesi amaçlanmıştır.

3.2.4.2. Thidiazuron (TDZ)'nin Pixy, Marianna anaçları ile Kütahya, Angeleno ve Stanley çeşitlerinin yaprak rejenerasyonuna etkileri

Çalışmada literatür ışığında belirlenen TDZ 0, 0.125, 0.250, 0.50, 1, 1.5, 2 mg l⁻¹ (+0,54 µM NAA) dozları ile farklı ışık muameleleri (aydınlık/karanlık) ve ön muamelelerle (TDZ ve BA inkübasyonları) Pixy, Kütahya, Angeleno ve Marianna bitkilerinde rejenerasyon elde edilmesi amaçlanmıştır.

Stanley için literatür ışığında belirlenen TDZ' nin 0, 3.5, 5, 7.5, 10, 15 µM l⁻¹ (+0.5 µM l⁻¹ IBA) uygulanarak rejenerasyon elde edilmesi amaçlanmıştır.

3.2.5. Optimizasyon Denemeleri

3.2.5.1. Stanley erik çeşidinde rejenerasyon gösteren TDZ+IBA muamelesinde optimizasyon

Stanley' de elde edilen rejenerasyon oranını arttırmak için literatür ışığında belirlediğimiz TDZ 3,5 µM l⁻¹+ IBA 0,5 µM l⁻¹, TDZ 3,5 µM l⁻¹+ IBA 2,5 µM l⁻¹, TDZ 7 µM l⁻¹+ IBA 0,5 µM l⁻¹ ve TDZ 7 µM l⁻¹+ IBA 2,5 µM l⁻¹ (+MS) dozları uygulanmıştır.

3.2.6. Köklendirme ve Alıştırma

Pixy, Mariana ve rejenerasyon elde edilen bitkiler için literatür ışığında araştırılan IBA' nın farklı konsantrasyonlarını (0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg l⁻¹) içeren besi ortamlarında köklendirme denemesi kurulmuştur. Daha sonra ise rejenerasyon elde ettiğimiz bitki ile Pixy ve Mariana' nın en iyi köklenme gösteren konsantrasyonda köklendirildikten sonra içlerinde torf:perlit bulunan 8x8 cm ebatlarında ki saksılara aktarılarak dış ortama alıştırılmaya çalışılmıştır.

3.2.7. Veri toplanması ve istatistikî analizlerin yapılması

Multiplikasyon ve rejenerasyon denemeleri kurulduktan bir ay sonra ilgili veriler toplanmıştır.

Multiplikasyon denemelerinde veriler; kardeşlenen explant yüzdesi, explant başına kardeş sayısı, en uzun kardeşin uzunluğu, köklenen explant yüzdesi, explant başına kök sayısı, en uzun kökün uzunluğu, kallus oluşturan explant yüzdesi ve kallus çapı olarak alınmıştır.

Rejenerasyon denemelerinde veriler; rejenerasyon oluşturan explant yüzdesi, explant başına sürgün sayısı, en uzun sürgünün uzunluğu, köklenen explant yüzdesi, en uzun kökün uzunluğu, explant başına kök sayısı, kallus oluşturan explant yüzdesi, explant başına kallus sayısı ve en geniş kallus çapı olarak alınmıştır.

SAS istatistik programında verilere varyans (ANOVA) analizi uygulanmış ve ortalamalar LSD çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır ($P < 0,05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Multiplikasyon Denemeleri

4.1.1. Benziladenin (BA) 'in Pixy erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri

Farklı dozlardaki BA' nın, Pixy erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1' de verilmiştir. En yüksek kardeşleme yüzdesi 1.25 mg l⁻¹ BA dozunda % 70 iken 0, 10 ve 20 mg l⁻¹ BA' da kardeş elde edilememiştir. Explant başına kardeş sayısı en yüksek 1.25 mg l⁻¹ BA (1.80 sürgün/explant) içeren ortamda ve 1.6 mm uzunluğunda elde edilmiştir. BA yokluğunda köklenme gerçekleşirken (%23.3), BA varlığında köklenme elde edilememiştir. BA içermeyen ortamdan elde edilen kökün uzunluğu 1.85 mm' dir. Explant başına kallus en yüksek 1,25 mg l⁻¹ BA' da gözlemlenmiştir. Kallus oluşumu en yüksek % 53.3 oranıyla 2.5 mg l⁻¹ elde edilmiştir.

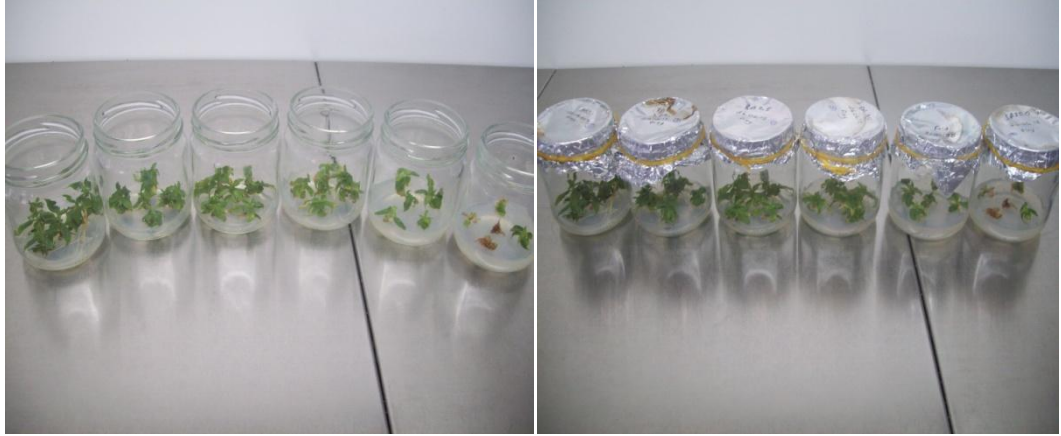
Çizelge 4.1. Benziladenin (BA)'in Pixy (*P. institia* L.) erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri

Muamele BA (mg l ⁻¹)	Kardeşlenen explant %	Sürgün/ ^x explant	Kardeşin uzunluğu (mm)	Köklenen explant %	Explant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %	Explant ^y başına koloni kallus sayısı
0	0d	0d	0c	23.3a	0.46a	1.85a	0d	0c
1,25	70a ^w	1.80a	1.6a	0b	0b	0b	53.3a	0.22a
2,5	50.8b	1.15b	0.03b	0b	0b	0b	16.6b	0.05b
5	33.3c	0.45c	0.03b	0b	0b	0b	3.33c	0.01b
10	0d	0d	0c	0b	0b	0b	0d	0c
20	0d	0d	0c	0b	0b	0b	0d	0c

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^xSürgün başına kardeş sayısında ana explant sayılmamıştır.

^y0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.1. Pixy erik anacının BA multiplikasyon denemesinden bir görünüm

4.1.2. Thidiazuron (TDZ)'un Pixy erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri

Farklı TDZ dozları, Pixy anacında explant başına düşen kardeş sayısı ve kallus oluşumu bakımından istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.2). Kardeşlenen explant yüzdesi 0.25 ve 0.5 mg l⁻¹ TDZ içeren ortamda %16.6 oranında en yüksek gözlemlenirken, 0, 0.125, 1, 1.5 ve 2 mg l⁻¹ TDZ'li ortamda %10.0 oranında kardeşlenme elde edilmiştir (Çizelge 4.2). En düşük kardeş sayısı 1.5 mg l⁻¹ TDZ hormonu bulunan (0.06 sürgün/explant) dozda elde edilmiştir. En düşük kardeş uzunluğu 0.03 mm olarak gözlemlenen TDZ 1.5 mg l⁻¹ dozudur. İstatistikî açıdan köklenme sadece kontrol ortamında önemli bulunmuştur. TDZ 0 mg l⁻¹ dozunda %40 sonucu gözlemlenirken TDZ içeren diğer ortamlarda kök elde edilmemiştir. Kontrol ortamında elde edilen kökün uzunluğu 20.3 mm' dir. Kallus oluşumu TDZ hormonu içeren ve içermeyen bütün dozlarda gözlemlenmiştir. %3.33 oranıyla TDZ içermeyen ortamda en düşük kallus oluşumu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2. Pixy erik anacının çoğalması üzerinde TDZ' nin etkisinden bir görüntü

Çizelge 4.2. Thidiazuron (TDZ)'un Pixy erik anacının multiplikasyonu üzerine etkileri

Muamele TDZ (mg l ⁻¹)	Kardeşlenen explant %	Sürgün/ ^x explant	Kardeşin uzunluğu (mm)	Köklenen explant %	Explant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %	Explant ^y başına koloni kallus sayısı
0	10.0b ^w	0.16c	0.13b	40.0a	0.6a	20.3a	3.33c	0.01b
0,125	10.0b	0.26b	0.20ab	0b	0b	0b	73.3ab	0.35a
0,25	16.6a	0.46ab	0.30a	0b	0b	0b	70.0ab	0.54a
0,5	16.6a	0.53a	0.20ab	0b	0b	0b	83.3a	0.41a
1	10.0b	0.23bc	0.10b	0b	0b	0b	66.6b	0.33a
1,5	10.0b	0.06d	0.03c	0b	0b	0b	86.6a	0.40a
2	10.0b	0.20bc	0.10b	0b	0b	0b	76.6ab	0.39a

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^xSürgün başına kardeş sayısında ana explant sayılmamıştır.

^y0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.

4.2. Köklenme Denemeleri

4.2.1. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Pixy erik anacının köklenmesi üzerine etkisi

Pixy erik anacı üzerinde IBA' nın farklı dozlardaki köklenme üzerine olan etkileri incelenmiş (Şekil 4.3) ve istatistikî sonuçları Çizelge 4.3' de verilmiştir. IBA 0.5, 2 ve 0.05 mg l⁻¹ içeren ortamlarda sırasıyla %40, %36.6 ve %33.3 oranlarında en yüksek köklenme elde edilmiştir. Kök sayısı kontrol ortamında 0.16 olup en düşük olarak saptanmıştır. Bu denemede 15.5, 10.7,10.4 ve 6.66 mm uzunluğunda kök IBA 0.05, 2, 0.5 ve 0 mg l⁻¹ içeren ortamda en yüksek bir şekilde saptanmıştır. %96.6 (IBA 0.5 mg l⁻¹) ve %93.3 (IBA 2 mg l⁻¹) oranlarıyla en yüksek kallus oluşumu tespit edilmiştir.

Kallus çapı bakımından en düşük kontrol ortamında 1.7 ve IBA 0.05 ile 0.1 mg l⁻¹ de 2.3 mm çapında elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Pixy erik anacında IBA'nın köklenme üzerindeki etkileri

Çizelge 4.3. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Pixy erik anacının köklenmesi üzerine etkisi

Muamele IBA (mg l ⁻¹)	Köklenme %	Eksplant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %	En geniş* kallus çapı(mm)
0	10.0c ^w	0.16c	6.66ab	50.0b	1.7b
0,05	33.3ab	0.36b	15.5a	56.6b	2.3b
0,1	10.0c	0.20bc	5.83b	63.3b	2.3b
0,5	40.0a	0.96a	10.4ab	96.6a	4.2a
1	13.3bc	0.23bc	3.56b	63.3b	3.8a
2	36.6a	0.83a	10.7ab	93.3a	4.6a

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

*0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.

4.2.2. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Marianna erik anacının köklenmesi üzerine etkisi

IBA'nın farklı dozları ile Marianna erik anacının köklenme üzerine olan etkisi araştırılmış ve sonuçları Çizelge 4.4' de gösterilmiştir. IBA'nın etkisi istatistikî açıdan önemli bulunmuştur (Şekil 4.4). En iyi köklenme IBA 1mg l⁻¹ dozunda %92.0 oranında ve bunu takiben %84 (IBA 2 mg l⁻¹), %83.3 (IBA 0 mg l⁻¹) oranında görülmüştür. En düşük köklenme ise 0.1 ve 0.5 mg l⁻¹ IBA içeren ortamda %56.6 ve %66.6 oranında tespit edilmiştir. Explant başına kök sayısı en yüksek IBA 2 ve 1 mg l⁻¹ da 3.48 ve 2.92 olarak saptanmıştır. Kontrol ortamında 16.6mm uzunluğunda en yüksek kök uzunluğu tespit edilmiştir. IBA 1 ve 2 mg l⁻¹ dozunda 2.5 ile 3.3 mm çaplarında ve %52.0 ile %72 oranında en yüksek kallus oluşumu gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.4. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Marianna erik anacının köklenmesi üzerine etkisi

Muamele IBA (mg l ⁻¹)	Köklenme %	Ekspant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %	En geniş* kallus çapı(mm)
0	83.3ab ^w	1.63b	16.6a	3.33b	0.1b
0,05	73.3b	1.70b	11.7b	6.66b	0.2b
0,1	56.6c	1.06b	12.1b	13.3b	0.5b
0,5	66.6bc	1.63b	6.63c	16.6b	0.6b
1	92.0a	2.92a	8.20bc	52.0a	2.5a
2	84.0ab	3.48a	7.24c	72.0a	3.3a

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

*0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.4. Marianna' nın köklenme denemesinde oluşan köklerden bir görüntü

4.2.3. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Stanley erik çeşidinin köklenmesi üzerine etkisi

IBA' nın farklı dozları ile Stanley çeşidinin köklenme üzerine olan etkisi araştırılmış ve sonuçları Çizelge 4.5' de gösterilmiştir. En iyi köklenme IBA 0, 1 ve 2 mg l⁻¹ dozlarında sırası ile %90.8, %88.5 ve %93.2 şeklinde tespit edilmiştir. Explant başına kök sayısı en yüksek IBA 2 ve 0 mg l⁻¹ de sırası ile 1.02 ve 0.76 olarak tespit edilmiştir. En uzun kök ise 20.5 mm' dir. Kallus oluşumu %62.5 (IBA 2 mg l⁻¹), %60.7 (IBA 0.5 mg l⁻¹) ve %57.2 (IBA 1 mg l⁻¹) oranlarında tespit edilmiştir. Kallus çapı en yüksek IBA 0.5, 1 ve 2 mg l⁻¹ oranlarında saptanmıştır (Şekil 4.5).

Çizelge 4.5. Indole-3-butyric acid (IBA)'in Stanley erik çeşidinin köklenmesi üzerine etkisi

Muamele IBA (mg l ⁻¹)	Köklenme %	Eksplant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %	En geniş ^x kallus çapı(mm)
0	90.8a ^w	0.76ab	12.2c	20.9bc	0.5b
0,05	50.1bc	0.45bc	15.1b	19.3c	0.7b
0,1	43.3c	0.23c	20.5a	30.3b	0.6b
0,5	64.3b	0.55bc	9.32cd	60.7a	1.2a
1	88.5a	0.68b	5.84d	57.2ab	2.3a
2	93.2a	1.02a	7.60cd	62.5a	3.1a

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x 0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.5. Stanley erik çeşidinde IBA köklenme denemesinden görüntü

4.3. Rejenerasyon Denemeleri

4.3.1. Benziladenin (BA) 'in Angeleno, Pixy, Stanley, Marianna ve Kütahya'nın yaprak rejenerasyonu üzerine etkileri

4.3.1.1. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Angeleno yaprak rejenerasyonu üzerine BA' nın etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak rejenerasyon, kök ve kallus oluşumu olmamıştır.

4.3.1.2 Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Angeleno yaprak rejenerasyonu üzerine yapılan BA ile karanlık ortam uygulamasının istatistikî sonuçları değerlendirilmiştir. Fakat kök, kallus ve rejenerasyon elde edilememiştir.

4.3.1.3 Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

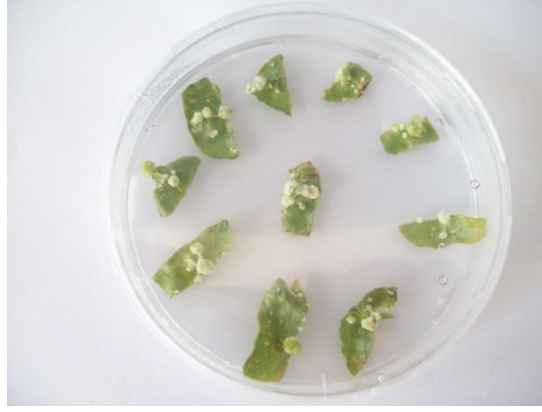
Kütahya vişne çeşidinde BA' nın MS ortamında yapraktan kallus oluşumu istatistikî bakımından önemli bulunmuştur (Çizelge 4.6). Kütahya vişne çeşidinde farklı BA konsantrasyonları içeren ve aydınlık ortamda bulunan yaprakları üzerinde rejenerasyon ve köklenme elde edilememiştir. Explant başına kallus sayısı en yüksek BA 0, 1.25 ve 2.5 mg l⁻¹ da sırasıyla 1.55, 1.47, 1.50 oranlarında tespit edilmiştir (Şekil 4.6). BA 20mg l⁻¹ içeren ortamda da kallus elde edilememiştir. Kallus oluşumu en yüksek 0, 1.25 ve 2.5 mg l⁻¹ de %95, %92.5 ve %90, en düşük ise 20 mg l⁻¹ de %0 oranında gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.6. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele BA (mg l ⁻¹) aydınlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
0	0	0	95a ^w	1.55a
1,25	0	0	90a	1.47a
2,5	0	0	92.5a	1.50a
5	0	0	57.5b	0.77b
10	0	0	17.5c	0.17c
20	0	0	0d	0d

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.6. Kütahya vişne çeşidinin BA denemesinden elde edilen kalluslar

4.3.1.4 Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

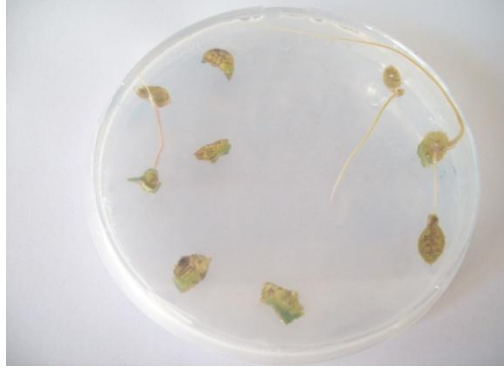
BA' nın bitki büyüme düzenleyicisinin farklı dozları ile karanlık ortam denemesinden elde edilen sonuçlar Çizelge 4.7' de verilmiştir. Kök oluşumu sadece BA içermeyen ortamda gözlemlenirken BA içeren ortamlarda tespit edilmemiştir (Şekil 4.7). Kök oluşumu BA 0 mg l⁻¹ da %12.5 oranında ve 2.7 mm uzunluğunda elde edilmiştir. Explant başına kök sayısı 0.15 olarak BA içermeyen ortamda gözlemlenmiştir. Kallus oluşumu BA 10 ve 20 mg l⁻¹ de oluşmamışken, BA 0 mg l⁻¹ (%5), 1.25 mg l⁻¹ (%43.3), 2.5 mg l⁻¹ (%63.3) ve 5 mg l⁻¹ (%40)' da elde edilmiştir. Karanlık uygulamasındaki explant başına kallus sayısı en düşük TDZ 10 ve 20 mg l⁻¹ de 0 olarak tespit edilmiştir. En yüksek kallus koloni sayısı ise 0.73 (TDZ 2.5 mg l⁻¹), 0.53 (TDZ 1.25 mg l⁻¹) ve 0.40 (TDZ 5 mg l⁻¹) oranlarında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.7. Benziladenin (BA)' in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele BA (mg l ⁻¹) karanlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Explant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
0	0	12.5a ^w	0.15a	2.7a	5.0c	0.05c
1,25	0	0b	0b	0b	43.3ab	0.53ab
2,5	0	0b	0b	0b	63.3a	0.73a
5	0	0b	0b	0b	40.0b	0.40b
10	0	0b	0b	0b	0d	0d
20	0	0b	0b	0b	0d	0d

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.7. Kütahya vişne çeşidinin BA karanlık uygulamasından elde edilen kök oluşumu

4.3.1.5. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Aydınlık ortamda BA bitki büyüme düzenleyicisinin farklı dozlarıyla yapılan çalışmanın istatistiki sonuçları incelenmiş ve rejenerasyon, kallus ile kök oluşumu gözlenmemiştir.

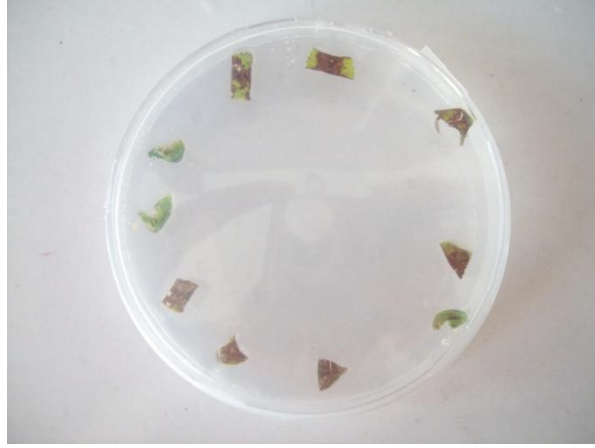
4.3.1.6. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Marianna'nın yaprak rejenerasyonundaki karanlık çalışmasının sonuçlarına bakıldığında (Çizelge 4.8.) rejenerasyon ve kallus oluşumu gözlemlenmemiştir. Bu çalışmada sadece kontrol ortamında %2.5 oranında köklenme saptanmıştır (Şekil 4.8). Explant başına kök TDZ $0 \mu\text{M l}^{-1}$ de 0.02 oranında ve en uzun kökte 0.45 mm elde edilmiştir.

Çizelge 4.8. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele BA ($\mu\text{M l}^{-1}$) karanlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Explant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %
0	0	2.50a ^w	0.02a	0.45a	0
1,75	0	0b	0b	0b	0
3,5	0	0b	0b	0b	0
5,25	0	0b	0b	0b	0
7	0	0b	0b	0b	0
8,75	0	0b	0b	0b	0

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.



Şekil 4.8. Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonundaki BA'nın karanlık denemesinden bir görünüm

4.3.1.7. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Aydınlık ortamda farklı BA dozları ile uygulanan denemenin sonuçları (Çizelge 4.9.) incelendiğinde sadece kallus oluşumu gözlenmiştir. Rejenerasyon ve köklenme oluşumu olmamıştır. Kallus sayısı BA 0 mg l⁻¹ de 0.02 olarak saptanmıştır. Kallus yüzdesi de %2.5 oranında (Şekil 4.9) kontrol ortamında gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.9. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele BA (mg l ⁻¹) aydınlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x basına koloni kallus sayısı
0	0	0	2.50a ^w	0.02a
1,25	0	0	0b	0b
2,5	0	0	0b	0b
5	0	0	0b	0b
10	0	0	0b	0b
20	0	0	0b	0b

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.9. Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonundaki denemesinden bir görüntü

4.3.1.8. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonunda BA' nın farklı dozları ile karanlık ortam muamelesinden elde edilen istatistikî sonuçları verilmiştir (Çizelge 4.10). Bu karanlık denemesinde rejenerasyon ve köklenme saptanmamıştır. Kallus oluşumu 1.25 mg l⁻¹ BA dozunda %5 oranında elde edilmiştir (Şekil 4.10).

Çizelge 4.10. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele BA (mg l ⁻¹) karanlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
0	0	0	0b	0b
1,25	0	0	5.0a ^w	0.05a
2,5	0	0	0b	0b
5	0	0	0b	0b
10	0	0	0b	0b
20	0	0	0b	0b

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.10. Pixy erik anacının karanlık uygulamasının yaprak rejenerasyonuna olan etkisinden bir görüntü

4.3.1.9. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Aydınlık ortamda, farklı BA dozlarıyla yapılan bu denemede kontrol ortamı dışında bütün dozlarda kallus oluşumu elde edilmiştir (Şekil 4.11). % 37.5 ve % 22.5 oranları ile BA 10 ve 1.25 mg l⁻¹ içeren dozlarda en yüksek kallus saptanmıştır (Çizelge 4.11). Explant başına koloni kallus sayısı BA 10 mg l⁻¹ da 0.40, BA 1.25 mg l⁻¹ da ise 0.27 olarak görülmüştür. Kontrol ortamında ise kallus oluşmamıştır. Rejenerasyon ve köklenme oluşumu tespit edilememiştir.



Şekil 4.11. Aydınlık ortamda BA denemesinin Stanley erik çeşidi üzerine olan etkisi

Çizelge 4.11. Benziladenin (BA)'in aydınlık ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele BA (mg l ⁻¹) aydınlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
0	0	0	0d	0d
1,25	0	0	22.5ab ^w	0.27ab
2,5	0	0	5.0c	0.05c
5	0	0	5.0c	0.05c
10	0	0	37.5a	0.40a
20	0	0	10.0bc	0.10bc

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.

4.3.1.10. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Stanley erik çeşidinde karanlık ortamda yapılan denemeden elde edilen istatistikî sonuçlar Çizelge 4.12' de yer almaktadır. Stanley erik çeşidinde farklı BA dozları ile karanlık ortamının rejenerasyon ve köklenme üzerinde bir etkisi görülmemiştir. Sadece kallus olmuştur (Şekil 4.12). %32.5 oranıyla 5mg l⁻¹BA' da en yüksek kallus oluşumu gözlenmiştir. Kallus 0 ve 1.25 mg l⁻¹BA dozunda görülmemiştir.

Çizelge 4.12. Benziladenin (BA)'in karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele BA (mg l ⁻¹) aydınlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına kallus sayısı
0	0	0	0c	0c
1,25	0	0	0c	0c
2,5	0	0	7.50b ^w	0.07b
5	0	0	32.5a	0.32a
10	0	0	2.50bc	0.02b
20	0	0	2.50bc	0.02b

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.12. Karanlık ortamda BA'nın Stanley erik çeşidi üzerindeki etkisi

4.3.2. Thidiazuron (TDZ)'un Angeleno, Pixy, Stanley, Marianna ve Kütahya'nın yaprak rejenerasyonu üzerine etkileri

4.3.2.1. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

MS ortamında TDZ' nin farklı dozları içeren aydınlık uygulamasının rejenerasyona olan etkisinin sonuçlarına bakılmıştır. Ancak kallus, kök ve rejenerasyondan sonuç alınamamıştır.

4.3.2.2. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Angeleno erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Angeleno' nun yaprak rejenerasyonuna karanlığın ve TDZ dozlarının etkileri araştırılmıştır. Kök, kallus ve rejenerasyon saptanamamıştır.

4.3.2.3. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

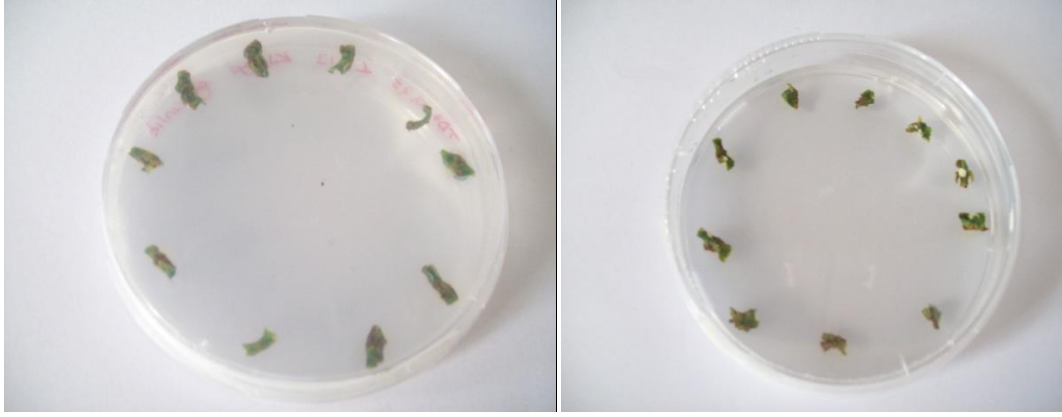
MS ortamında farklı TDZ konsantrasyonları içeren ve aydınlık ortamda yapılan uygulamanın istatistikî sonuçları verilmiştir (Çizelge 4.13). Bu uygulamada aydınlık ortamın ve farklı TDZ dozlarının rejenerasyon ve köklenme üzerinde etkisi görülmemiştir. TDZ 1.5 mg l⁻¹bulunan dozda % 10.0 kallus oluşumu ve explant başına kallus sayısı 0.10 olarak gözlemlenmiştir (Şekil 4.13).

Çizelge 4.13. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele TDZ (mg l ⁻¹) aydınlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına kallus sayısı
0	0	0	0b	0b
0,125	0	0	0b	0b
0,25	0	0	0b	0b
0,5	0	0	0b	0b
1	0	0	10.0a ^w	0.10a
1,5	0	0	0b	0b
2	0	0	0b	0b

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.13. Kütahya vişne çeşidinde TDZ' nin aydınlık ortamda rejenerasyona yaptığı etki

4.3.2.4. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

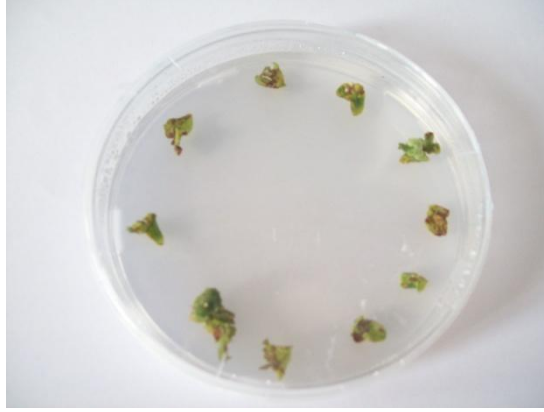
Çizelge 4.14' de Kütahya çeşidinin karanlık ortamın ve farklı TDZ dozlarının yaprak rejenerasyonuna olan etkileri istatistikî olarak verilmiştir. Sonuçlara bakıldığında da sadece TDZ 1.5 mg l⁻¹ (%32.5) ve 2 mg l⁻¹ (%16.6) içeren ortamda kallus oluşumu gözlenmektedir. Explant başına kallus sayısı da TDZ 1.5 mg l⁻¹' de 0.42, TDZ 2 mg l⁻¹' de ise 0.23 olarak saptanmıştır (Şekil 4.14). Bu denemeden rejenerasyon ve köklenme elde edilememiştir

Çizelge 4.14. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Kütahya vişne çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele TDZ (mg l ⁻¹)	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant* başına koloni kallus sayısı
karanlık				
0	0	0	0c	0c
0,125	0	0	0c	0c
0,25	0	0	0c	0c
0,5	0	0	0c	0c
1	0	0	0c	0c
1,5	0	0	32.5a ^w	0.42a
2	0	0	16.6b	0.23b

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.14. TDZ büyüme düzenleyicisi ile karanlık ortamda yapılan Kütahya vişne çeşidi denemesinden bir görüntü

4.3.2.5. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Marianna erik anacında farklı TDZ dozları ile aydınlık ortamda yapılan yaprak rejenerasyon uygulamasının sonuçlarına bakılmıştır. Kallus, kök ve rejenerasyondan sonuç alınamamıştır.

4.3.2.6. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

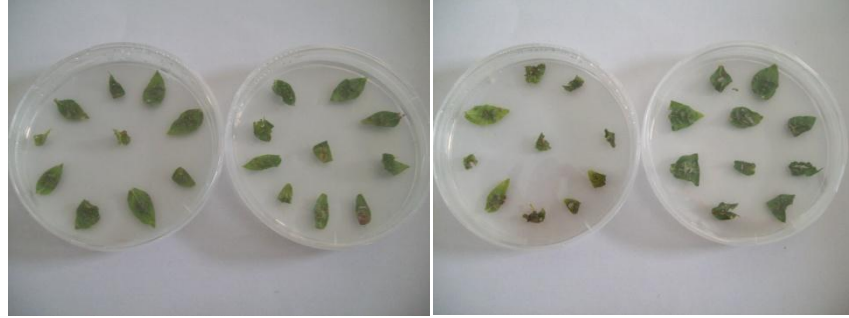
Çizelge 4.15' de verilen istatistikî veriler incelendiğinde Marianna erik anacında yapılan karanlık uygulamasının sonuçlarından sadece köklenme olduğu gözlenmektedir.

Rejenerasyon ve kallus oluşumu üzerinde etki yapmamıştır. Kök oluşumu da TDZ 0.25 ve 1.5 mg l⁻¹ içeren ortamda %2.5 oranında saptanmıştır. Explant başına kök sayısı her iki dozda da 0.02 olarak tespit edilmiştir. En uzun kök 0.2 mm TDZ 0.25mg l⁻¹ ve 0.07 mm TDZ 1.5 mg l⁻¹ de görülmektedir (Şekil 4.15).

Çizelge 4.15. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Marianna erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele TDZ (mg l ⁻¹)	Rejenere Eksplant %	Köklenen explant %	Explant başına kök sayısı	En uzun kök (mm)	Kallus veren explant %
karanlık					
0	0	0b	0b	0b	0
0,125	0	0b	0b	0b	0
0,25	0	2.50a ^w	0.02a	0.2a	0
0,5	0	0b	0b	0b	0
1	0	0b	0b	0b	0
1,5	0	2.50a	0.02a	0.07a	0
2	0	0b	0b	0b	0

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.



Şekil 4.15. Marianna erik anacının TDZ ve karanlık ortam denemesinden bir görüntü

4.3.2.7. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

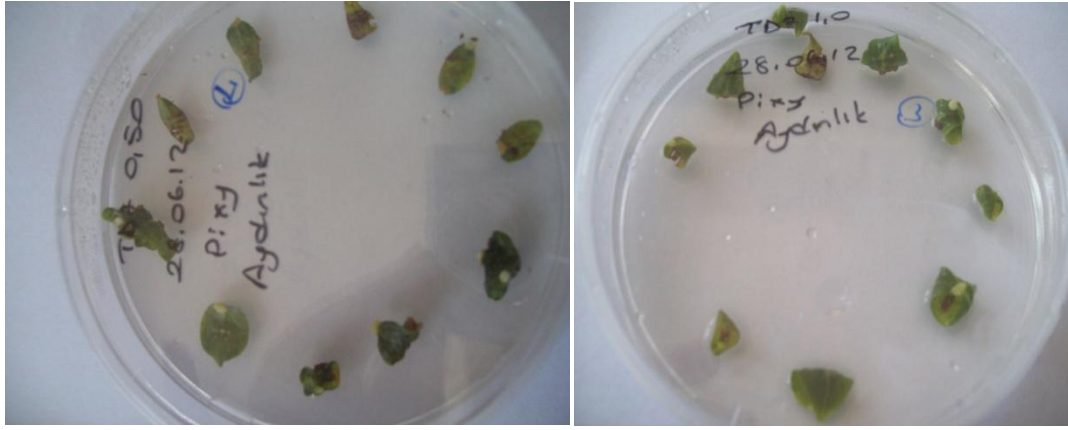
Aydınlık ortamda TDZ' nin farklı dozlarıyla yapılan rejenerasyon denemesinden elde edilen sonuçlara göre rejenerasyon ve köklenme gözlenmemiştir (Çizelge 4.16). TDZ 2 mg l⁻¹ haricindeki çalışılan bütün TDZ dozlarında kallus oluşumu gözlenmiştir. En yüksek kallus oluşumu %22.5 oranında (TDZ 0.5 mg l⁻¹) saptanmıştır (Şekil 4.16). Explant başına koloni kallus sayısı en yüksek 0.5 mg l⁻¹ TDZ içeren ortamda 0.22 olarak gözlenmiştir.

Çizelge 4.16. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele TDZ (mg l ⁻¹) aydınlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
0	0	0	5.0bc ^w	0.05b
0,125	0	0	7.5b	0.07b
0,25	0	0	2.5cd	0.02bc
0,5	0	0	22.5a	0.22a
1	0	0	3.33bc	0.03bc
1,5	0	0	2.50cd	0.02bc
2	0	0	0d	0c

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.16. Pixy erik anacında TDZ etkisi ile oluşan kalluslardan bir görünüm

4.3.2.8. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

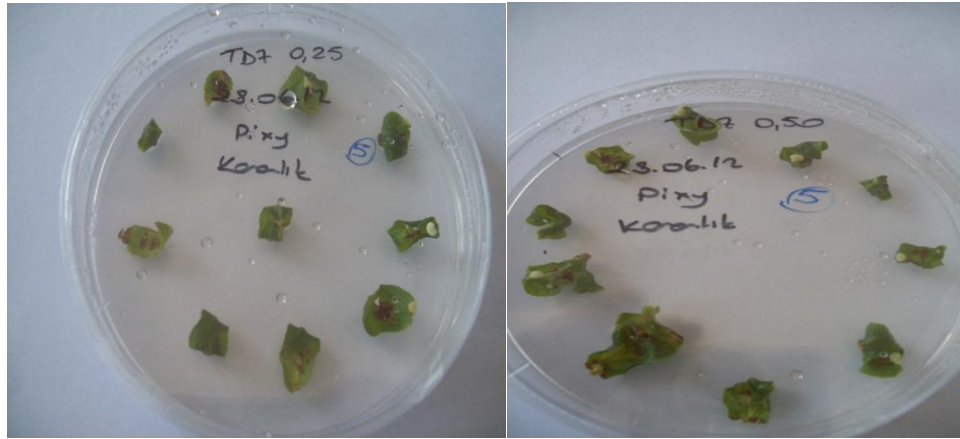
Pixy erik anacında uygulanan karanlık ortamın rejenerasyona olan etkileri istatistiksel olarak hesaplanmış ve rejenerasyon ile köklenme de bir etkisi olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.17). Çalışılan bütün TDZ dozlarında kallus oluşmuştur. Kallus oluşumu %20, %17.5, %12.5 oranları ile yüksek olarak görülmektedir (Şekil 4.17). En düşük kallus oluşumu da TDZ 0 ile 1mg l⁻¹ de %2.50 oranında görülmüştür. Koloni kallus sayısında en az etki kontrol ortamında ve TDZ 1mg l⁻¹ de dozunda görülmüştür.

Çizelge 4.17. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Pixy erik anacının yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele TDZ (mg l ⁻¹)	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
karanlık				
0	0	0	2.50c ^w	0.02c
0,125	0	0	7.50bc	0.07bc
0,25	0	0	20.0a	0.20a
0,5	0	0	17.5ab	0.17a
1	0	0	2.50c	0.02c
1,5	0	0	7.50bc	0.07bc
2	0	0	12.5ab	0.12ab

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.17. Pixy erik anacında TDZ karanlık denemesinden bir görüntü

4.3.2.9. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

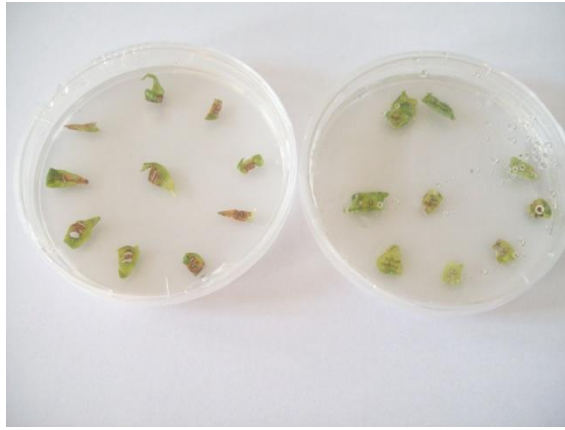
Aydınlık ortamda Stanley erik çeşidi üzerinde MS ortamında TDZ'nin farklı dozları ile yaprak rejenerasyonuna olan etkisi çalışılmıştır. Bu uygulamanın istatistikî sonuçları Çizelge 4.18' de verilmiştir. TDZ 0 ve 3.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ içeren ortamlarda sadece kallus oluşumu gözlemlenirken, rejenerasyon ve köklenme gözlemlenmemiştir. Diğer TDZ ortamlarında ise kallus, rejenerasyon ve köklenme de elde edilememiştir. Explant başına kallus sayısı 0.02 ile 0.10 olarak TDZ 3.5 ve 0 $\mu\text{M l}^{-1}$ bulunan ortamlarda saptanmıştır (Şekil 4.18). En yüksek kallus oluşumu kontrol ortamında (TDZ 0 $\mu\text{M l}^{-1}$) %10.0 oranında gözlemlenmiştir. Aydınlik ortamın ve bu farklı TDZ dozlarının kallus oluşumu üzerinde de pek etkisi görülmemiştir.

Çizelge 4.18. Thidiazuron (TDZ)'un aydınlık ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele TDZ ($\mu\text{M l}^{-1}$) aydınlık	Rejenere explant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
0	0	0	10.0a ^w	0.10a
3,5	0	0	2.50b	0.02b
5	0	0	0c	0c
7,5	0	0	0c	0c
10	0	0	0c	0c
15	0	0	0c	0c

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



Şekil 4.18. Stanley erik çeşidinde TDZ yaprak denemesinden bir görüntü

4.3.2.10. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

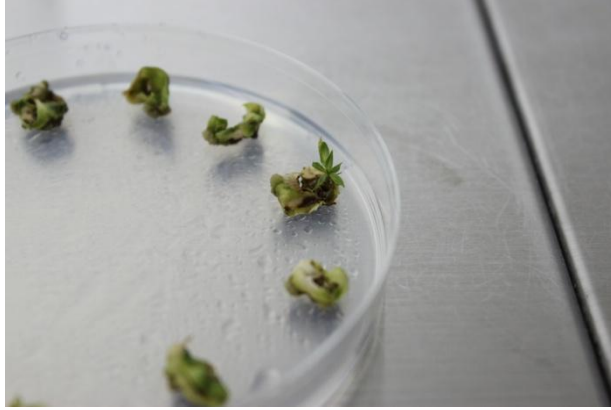
Çizelge 4.19' da Stanley erik çeşidinde karanlık ortam ve farklı TDZ dozlarının uygulamasının sonuçları verilmiştir. Rejenerasyon gösteren explant % 2.5 oranında TDZ 3.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ içeren ortamda tespit edilmiştir. Explant başına sürgün sayısı da 0.02 oranında görülmektedir. Kallus oluşumu %5.0 oranında 7.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ TDZ dozunda ve kallus sayısı da 0.05 oranında saptanmıştır (Şekil 4.19). Köklenme ise hiçbir dozda görülmemiştir.

Çizelge 4.19. Thidiazuron (TDZ)'un karanlık (10 günlük inkübasyon uygulaması) ortamda Stanley erik çeşidinin yaprak rejenerasyonuna etkisi

Muamele TDZ ($\mu\text{M l}^{-1}$)	Rejenere explant %	Sürgün/explant	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x başına koloni kallus sayısı
karanlık					
0	0b	0b	0	0b	0b
3,5	2.5a ^w	0.02a	0	0b	0b
5	0b	0b	0	0b	0b
7,5	0b	0b	0	5.0a	0.05a
10	0b	0b	0	0b	0b
15	0b	0b	0	0b	0b

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

*0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.



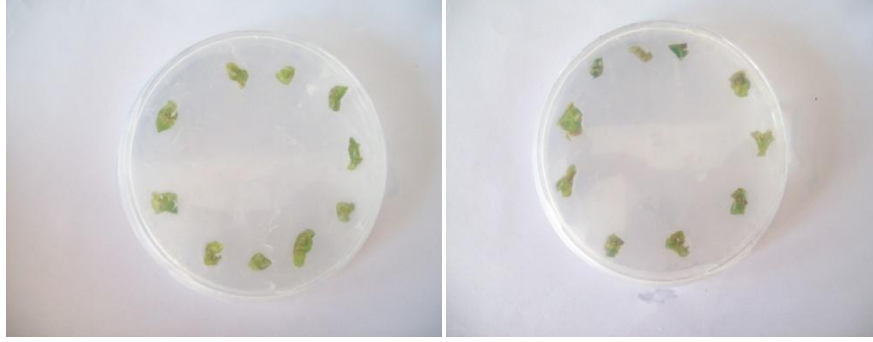
Şekil 4.19. Stanley erik çeşidinde TDZ karanlık denemesinde oluşan rejenerasyon

4.4. Optimizasyon Denemeleri

4.4.1. Stanley erik çeşidinin aydınlık ve karanlık ortamda Thidiazuron (TDZ) ve Indole-3-butyric acid (IBA)'in kombinasyonları üzerinde yapılan çalışmalar

Stanley erik çeşidinde karanlık ortamda ve TDZ $3.5 \mu\text{M l}^{-1}$ dozunda elde edilen %2.5 rejenerasyon oranını arttırmak için TDZ ve IBA ile kombinasyonu denemeleri yapılmıştır (Şekil 4.20). Bu denemenin aydınlık ortamdaki istatistikî sonuçlarına bakılmıştır. Ancak kök, kallus ve rejenerasyon elde edilememiştir. Karanlık ortamdaki sonuçları ise Çizelge 4.20' de yer almaktadır. Karanlık ortamda rejenerasyon ile köklenme elde edilememiştir. Ancak kallus oluşumu vardır. TDZ $3.5 + \text{IBA } 0.5 \mu\text{M l}^{-1}$ dozunda kallus sayısı 0.40 ve kallus oluşumu ise %40 oranındadır.

TDZ 7+ IBA 2.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ dozunda kallus oluşumu %12.5 ve kallus sayısı ise 0.12 oranında saptanmıştır. Diğer karanlık kombinasyonlarında ise kallus oluşumu gözlenmemiştir.



Şekil 4.20. Stanley erik çeşidinde TDZ+IBA kombinasyonlarıyla yapılan rejenerasyon denemeleri

Çizelge 4.20. Stanley erik çeşidinin karanlık ortamda Thidiazuron (TDZ) ve Indole-3-butyracacid (IBA)'in kombinasyonları üzerinde yapılan çalışmalar

Muamele TDZ +IBA ($\mu\text{M l}^{-1}$)	Rejenere Eksplant %	Köklenen explant %	Kallus veren explant %	Explant ^x basına koloni kallus sayısı
karanlık				
3.5+0.5	0	0	40.0a ^w	0.40a
3.5+2.5	0	0	0c	0c
7+0.5	0	0	0c	0c
7+2.5	0	0	12.5b	0.12b

^wAynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar %5 ANOVA testine göre önemsizdir; ortalamalar LSD testi ile ayrıştırılmıştır.

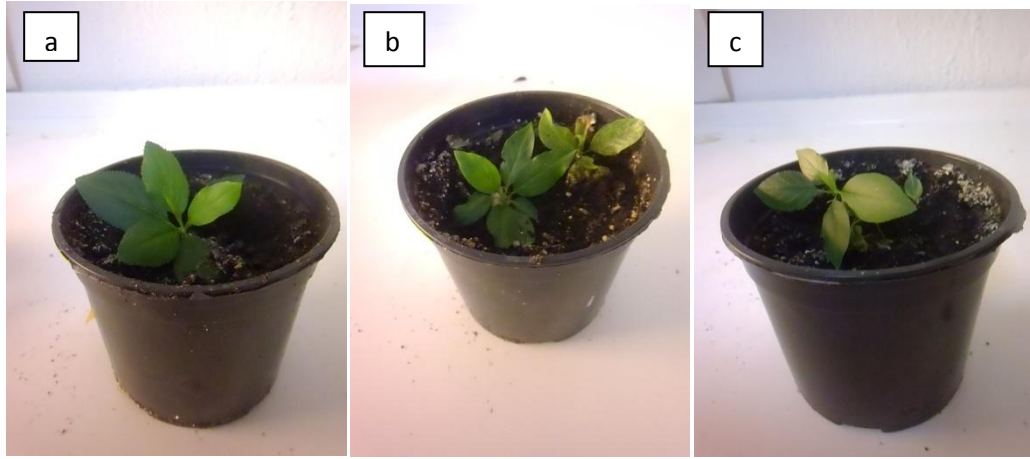
^x0,3 cm' den küçük kalluslar değerlendirilmeye alınmamıştır.

4.5. Pixy (*P. institia* L.), Marianna (*P. cerasifera* Ehrh.×*P. munsoniana* Wight&Hedr) ve Stanley (*P. domestica* L.)'i Dış Koşullara Alıştırma

Yapılan araştırmanın bu bölümünde, literatür ışığında Pixy IBA 0.5 mg l^{-1} , Marianna IBA 1 mg l^{-1} ve Stanley ise IBA 2 mg l^{-1} içeren MS ortamına köklendirilmeye alınmıştır. Bitkiler köklendikten sonra otoklavlanmış topraklı besi ortamına alınmıştır (Şekil 4.21). Bu işlem 2-3 ay yapılarak bitkinin gelişmesi sağlanmıştır. Daha sonra içerisinde 1:1 oranında torf:perlit bulunan 8x8 cm saksılara aktarılmış ve bu şekilde bitkilerin dış koşullara alıştırılması sağlanmıştır (Şekil 4.22).



Şekil 4.21. Otoklavlanmış topraklı besi ortamına aktarılmış bitkilerden bir görüntü



Şekil 4.22. (a) Stanley' den elde edilen rejenerasyon bitkisinin dış koşullara alıştırılması. (b) Dış koşullara alıştırılmış Marianna erik anacı. (c) Pixy erik anacının dış koşullara alışması.

5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

5.1. Multiplikasyon Çalışmaları

Çalışmamızda pH' sı 5.7-5.8' e ayarlanan ve 7 gr/l agar içeren MS (+0,54 µM NAA) (Murashige ve Skoog, 1962) ortamı kullanılmıştır. Rodrigues vd. (2003), *Prunus* anaçların *in vitro* koşullarda çoğaltılması için anaç sürgünlerinden ortalama 1 cm uzunluğunda kesip sürgün uçlarını 16 saat fotoperiyot ve 25 ± 2 °C sıcaklıkta bekletmişlerdir. Deneylerini, MS, $\frac{3}{4}$ MS, SH ve Villegas içeren ortamlar şeklinde kurmuşlardır. SH ve $\frac{3}{4}$ MS' i de çoğaltma ortamı olarak kullanmışlardır. Bunların yanı sıra $\frac{3}{4}$ MS ortamında farklı agar miktarlarını (4.5, 5.5 ve 6.5 g/l)'da ele almışlardır. Çoğaltma ortamında en iyi büyüme, gelişme ve kardeşlenme oranını 5.5 g/l agar içeren $\frac{3}{4}$ MS ortamında olduğunu saptamışlardır. Başka bir çalışmada ise Hammatt ve Grant (1993), çalışmalarında F 12/1 (*P. avium*), Colt (*P.avium* ×*P.pseudocerasus*) kiraz anaçlarını sürgün ucu ile çoğaltımını sağlamaya çalışmışlardır. Bunun için besin ortamının pH' sınırın 5.0'a düşürülmesi, BA konsantrasyonunun 2.2 µM, agar konsantrasyonunun 5.5 veya 6.5 gr/l olması ve besin ortamına 1.0 µM phloroglucinol eklenmesiyle birlikte sürgün çoğaltımının arttırdığını saptamışlardır.

Yaptığımız çalışmada, Pixy erik anacında BA bitki büyüme düzenleyicisi içeren ortamda en iyi kardeşleme $1,25 \text{ mg l}^{-1}$ da 1.80 sürgün/explant olarak gözlemlenirken, TDZ büyüme düzenleyicisinde ise en iyi kardeşlenme 0.5 mg l^{-1} (0.53 sürgün/explant) ve 0.25 mg l^{-1} (0.46 sürgün/explant)' da gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara yakın Kamali vd. (2001), çalışmalarında GF-677 anacının doku kültürüyle mikro çoğaltımını araştırmışlar ve en iyi sonucun 1 mg l^{-1} BA içeren ortam olduğunu tespit etmişlerdir.

Silveira vd. (2001), yan gözlerden başlatılan *in vitro* çoğaltma için en uygun olan BAP konsantrasyonunu ve kültür ortamınının belirlenmesi üzerinde çalışmışlardır. G x N22, GF-677, Mr.S 2/5, Marianna ve Myrobalan erik anaçları, farklı 4 BAP dozu (0.1 , 0.3 , 0.5 ve 0.7 mg l^{-1}) içeren iki MS konsantrasyonunda (MS ve $\frac{3}{4}$ MS) test etmişlerdir. G x N-22 ve Mr. S 2/5 anaçları için $\frac{3}{4}$ MS ortamında 0.7 mg l^{-1} BAP daha iyi sonuçlar verirken, Myrobalan anacı 0.5 mg l^{-1} BAP içeren $\frac{3}{4}$ MS ortamında daha iyi sonuçlar verdiğini ve test edildiği iki MS konsantrasyonunda da BAP konsantrasyonunun artmasıyla sürgün uzunluğunun azaldığını saptamışlardır. Marianna anacı içinse MS ortamında 0.7 mg l^{-1} da en iyi sonuçlar verdiğini saptamışlardır. Bizim çalışmamızda da BA konsantrasyonu arttıkça bitki boyu azalmıştır.

Ružić (2008), Lapins tatlı kiraz çeşidinin *in vitro* multipikasyonun olması için MS ortamına ilave edilen sitokininlerin etkisine bakıldığında BA, isopentenyl adenine (2iP), Kinetin ve TDZ, 1, 2, 5, 10 ve 15 µM konsantrasyonları ile; IBA 0, 0.5, 2.5 ve 5 µM konsantrasyonlarını kombinasyon halinde uygulamıştır. Çalışma sonucunda BA ortamı ile en yüksek multipikasyon sağladığını bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise Pixy' nin multiplikasyonu üzerinde TDZ' nin BA' dan daha etkili olduğu görülmüştür. Bu da bitki büyüme düzenleyicilerin farklı bitkilerde farklı etkileri olabileceğinden kaynaklanmıştır.

Sonuç olarak, Pixy erik anacının *in vitro* multiplikasyona elverişli olduğu gözlemlenmiştir. Ancak çoğaltımda TDZ' nin gerek kardeş açısından gerekse kallus oluşumu açısından daha da etkilediği görülmüştür. Diğer bitki büyüme düzenleyicelerle farklı kombinasyonlar ve farklı konsantrasyonlar deneyerek çoğaltım daha da arttırılabilir.

5.2. Rejenerasyon Çalışmaları

Rejenerasyon çalışmalarımızda Stanley, Kütahya, Angeleno ve Pixy MS, Marianna ise QL besi ortamına konulmuştur. Katılaştırıcı olarak 7 g l⁻¹ agar kullanılmıştır. Yaraladığımız yaprakları 16:8 (aydınlık/ karanlık) saat fotoperiyot halinde 10 günlük karanlık ve bir ay süresince aydınlık ortamda beklettik. Stanley erik çeşidinin karanlık ortamında rejenerasyon elde edilmiştir. Bizim çalışmamıza yakın olarak, Perez-Tornero vd. (2000), Helena kayısı besin ortamının agar ile katılaştırılması, kültürün başlangıcında eksplantların 2-3 hafta karanlıkta kültüre alınması sürgün rejenerasyonunu teşvik ettiğini rapor etmişlerdir. Aynı zamanda Petri ve Scorza (2010), Improved French erik çeşidinin yapraklarından 3µM BA ve 0,25µM IBA ilave edilen MS ortamından %52 rejenerasyon elde etmişlerdir. Katılaştırıcı jel olarak 7 g l⁻¹ Bacto agar, 7 g l⁻¹ agar ve 4,5 g l⁻¹Agargel™ kullanmışlar. Karanlık inkübasyonun rejenerasyona olan etkisi de araştırılan bu çalışmada 16:8 saat fotoperiyot uygulanan yapraklarla 1 hafta, 2 hafta ve 3 hafta karanlık uygulanan yapraklar karşılaştırılmıştır ve 1 hafta karanlık denemesinin en iyi sonucu verdiğini tespit etmişlerdir.

Yaprak dokularıyla (yaralayarak) yaptığımız çalışmamızda, bitkilerin rejenerasyona verdikleri tepki farklı olmuştur. Stanley' den rejenerasyon elde edilirken, Kütahya, Marianna, Angeleno ve Pixy' den rejenerasyon elde edilememiştir. Canlı ve Tian (2009), rejenerasyonu genotip farklılığın etkilediğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda

rejenerasyon üzerinde yaprakların yaralanmasının (Bhagwat ve Lane, 2004; Song ve Sink, 2005) etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Canlı ve Tian (2008b), *Prunus salicina* Lindl'in olgun kotiledonlarından adventif sürgün oluşumunu teşvik amacıyla yaptıkları çalışmada TDZ' nin, BA' dan daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra BA' nın, rejenerasyonda daha etkili olduğu (Tang vd., 2002) veya aralarında rejenerasyonda etki yönünden çok önemsenecek fark bulunmadığını bildirmişlerdir (Yang ve Schmidt, 1992). Canlı ve Tian (2008a), karanlık inkübasyonunun rejenerasyonu arttırdığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Stanley erik çeşidinin yapraklarından % 2.5 oranında TDZ 3.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ + IBA 0.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ içeren ve karanlık ortamda rejenerasyon elde edilmiştir. Çalışmamızda karanlık ve TDZ rejenerasyona etki gösterirken BA bitki büyüme düzenleyicisinin etkisi olmamıştır.

Yancheva (1993), çalışmasında, Kjustendilska Sliva ve Stanley erik çeşitlerinde farklı TDZ+IBA kombinasyon uygulamaları yapmış ve rejenerasyon elde etmiştir. Çalışmamızda Stanley' de uyguladığımız TDZ+IBA (3.5+0.5, 3.5+2.5, 7+0.5, 7+2.5 $\mu\text{M l}^{-1}$) kombinasyonundan bir sonuç alınamamıştır. Rejenerasyon denemelerinde ortama eklenen TDZ+IBA kombinasyonun farklı kombinasyonları üzerinde oynanması sürgün rejenerasyonunu teşvik edebilir.

Çalışmalarımızda kallus oluşumu TDZ ortamında Kütahya' da %32.5, Stanley' de %10 ve Pixy' de %22.5 oranındayken, BA ortamında ise bu oranlar sırasıyla %95, %37.5 ve %5' dir. Sonuçlara bakıldığında da TDZ' den daha çok BA' nın etkili olduğu saptanmıştır. Bizim çalışmamızla ilişkili olarak Nowak ve Miczyński (2002), Węgiełka Zwykła eriğinin, *in vitro* ortamında yaprak eksplantlarında TDZ ve BAP'ın organogenez üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. 0.5 veya 1.65 mg l^{-1} konsantrasyonunda TDZ ile 2,4-D ve 3.0 veya 5.0 mg l^{-1} BAP konsantrasyonu ile IBA, NAA veya 2,4-D kombinasyon halinde uygulanmıştır. Sonuç olarak organogenezini iki farklı şekilde gözlemlemişlerdir. TDZ tarafından verimli (60% -72%) dolaylı organogenez, ve doğrudan organogenez gözlemlemişlerdir. TDZ içeren medyada ki eksplantlar küçük boyutta bir tane tomurcuk meydana getirmişlerdir. BAP içeren medyada ise kümeler halinde çok sayıda adventif tomurcuklar farklılaşarak kallus üretmişlerdir.

Prunus türlerinde bugüne kadar fazla sayıda rejenerasyon çalışmaları vardır. Bunların içerisinde Pixy, Angeleno ve Kütahya' da rejenerasyon rapor edilmemiştir. Ancak Marianna anacında Pascual ve Marin (2005), yaprak eksplantlarını 1.7 μM 2,4-D içeren sıvı MS besin ortamında, 90 dakika bekletmişler ve daha sonra QL besin ortamına aktarmışlar ve %58.9 rejenerasyon elde etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise rejenerasyon elde edilememiştir. Yaprığın boyutu, ortama temas şekli ve eksplantın alındığı zaman gibi sebeplerden dolayı rejenerasyon elde edilememiş olabilir. Stanley' de ise yaprak eksplantlarından MS bazal ortama % 2 sukroz, 0.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ IBA ve 7,5 $\mu\text{M l}^{-1}$ TDZ ilave edilerek %31.43 rejenerasyon elde etmiştir. Bizim çalışmamızda Yancheva (1993) çalışmasından farklı olarak 3,5 $\mu\text{M l}^{-1}$ TDZ ve 0.5 $\mu\text{M l}^{-1}$ IBA içeren MS ortamından rejenerasyon elde edilmiştir.

Rejenerasyon çalışmalarında yaprak dokuları üzerinde farklı ortamlar ve bitki büyüme düzenleyiciler etkili olabilmektedir. Kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerin çeşitleri (IBA, TDZ, NAA vs.) ve konsantrasyonları ile kombinasyonları değiştirilerek, bitki genotipine bağlı olarak farklı sonuçlar elde edilebilir. Ayrıca değişik ışık yoğunlukları, yaprağın ortama temas etme şekli ve ön muameleler gibi faktörlerde çalıştığımız türlerde rejenerasyonu teşvik etmek için denenebilirler.

KAYNAKLAR

- Ainsley, P.J., Hammerschlag, F.A., Bertozzi, T., Collins, G.G., Sedgley, M., 2001. Regeneration of Almond from Immature Seed Cotyledons. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 67, 221-226.
- Aksu, M., Sarısu, H.C., Kaymak, S., Öztürk, Y., Gür, İ., Koçalı, H., 2012. Bazı Yabani Vişne (*Prunus cerasus* L.) Tiplerinin RAPD Tekniği ile Moleküler Karakterizasyonu. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 5(1), 78-81.
- Andreu, P., Marin, J.A., 2005. *In vitro* Culture Establishment and Multiplication of the *Prunus* rootstock "Adesoto 101" (*P. institia* L.) as Affected by the Type of Propagation of the Donor Plant and by the Culture Medium Composition. *Scientia Horticulturae*, 106(2), 258-267.
- Anonim, 2011ç. Erişim Tarihi:30.08.2013. <http://xa.yimg.com/kq/groups/21632987/423187433/name/Dilek+KARAM%C3%9CRSEL+Sonu%C3%A7+Raporu.pdf>
- Anonim, 2011f. Erişim Tarihi:20.05.2012. http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/
- Anonim, 2012a. Erişim Tarihi:01.06.2012. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Prunus>
- Anonim, 2012b. Erişim Tarihi:05.05.2012. <http://www.belgeler.com/blg/2dki/bahebtkler-temel-blmler-ders-world>
- Anonim, 2012d. Erişim Tarihi:30.08.2013. <http://ebkae.freeservers.com/turkce.htm>
- Anonim, 2012e. Erişim Tarihi:21.12.2012. http://cine-tarim.com.tr/dergi/arsiv46/sektorel_05.htm
- Anonim, 2013c. Erişim Tarihi:01.10.2013. <http://www.tarim.gov.tr/bugem/Sayfalar/Anasayfa.aspx>
- Antonelli, M., Druart, P., 1990. The Use of a Brief 2,4-D Treatment to Induce Leaf Regeneration on *Prunus canescens* Bois. *Acta Horticulturae*, 280, 45-50.
- Arıcı, E.Ş., 2008. Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü ile Çoğaltılması. *SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 3, 19-23.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., Özcan S., 2002. Bitki Biyoteknolojisi-1- Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374s, Konya.
- Baird, W.V., Ballard, R.E., Rajapakse, S., Abbott, A.G., 1996. Progress in *Prunus* Mapping and Application of Molecular Markers to Germplasm Improvement. *Horticulture Science*, 31, 1099-1106.
- Bartish, I.V., Korkhovoi, V.I., 1997. The Composition of Nutrient Medium and the Efficiency of Shoot Induction *In Vitro* from Apple Leaf Explants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 44, 381-385.
- Bassi, G., Cossio, F., 1991. *In vitro* Shoot Regeneration on "Bluefre" and "Susina Di Dro" Prune Cultivars (*Prunus domestica* L.). *Acta Horticulture*, 289, 81-82.

- Bhagwat, B., Lane, W.D., 2004. *In vitro* Regeneration from Leaves of Sweet Cherry (*Prunus avium*) 'Lapins' and 'Sweetheart'. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 78, 173-181.
- Blando, F., Chiriaco, L., Gerardi, C., Lucchesini, M., Rampino, P., 2007. Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) 'Giorgia', Adventitious Regeneration from Leaves of Microplants. *European Journal Horticulture Science*, 72,130-137.
- Burgos, L., Albuquerque, N., 2003. Ethylene Inhibitors and Low Kanamycin Concentrations Improve Adventitious Regeneration from Apricot Leaves. *Plant Cell Reports*, 21,1167-1174.
- Canli, F.A., Tian, L., 2008a. *In vitro* Shoot Regeneration from Stored Mature Cotyledons of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Cultivars. *Scientia Horticulturae*, 116, 34-40.
- Canli, F.A., Tian, L., 2008b. Regeneration of Adventitious Shoots from Mature Stored Cotyledons of Japanese Plum (*Prunus salicina* Lindl.). *Scientia Horticulturae*, 120, 64-69.
- Canli, F.A., Tian, L., 2009. Assessment of Regeneration and Transient Expression Factors for Agrobacterium Mediated Transformation of *Prunus salicina* Lindl. *European Journal of Horticultural Sciences*, 74, 66-72.
- Canli, F.A., Yasar, K., Yılmaz, O., 2008. Advances and Future Perspectives in Genetic Transformation of *Prunus* Species. *Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 1, 30-38.
- Çelikkol, B.P., 2011. Önemli Erik (*Prunus* sp.) Gen Kaynaklarının SSRs (Simple Sequence Repeats)'a Dayalı Genetik Karakterizasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 49s, Ankara.
- De Bond, A., Eggermont, K., Pennickx, I., Goderis, I., Broekaert, W.F., 1996. Agrobacterium-Mediated Transformation of Apple (*Malus x domestica* Borkh.): an Assessment of Factors Affecting Regeneration of Transgenic Plants. *Plant Cell Reports*, 15, 549-554.
- Declerck, V., Korban, S.S., 1996. Influence of growth Regulators and Carbon Sources on Callus Induction, Growth and Morphogenesis from Leaf Tissues of Peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Horticultural Science Biotechnology*, 71, 49-55.
- Demiral, S., Ülger, S., 2008. Gisela 5 Kiraz Anacının Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerine Bir Araştırma. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21, 117-121.
- Dolgov, S.V., Firsov, A.P., 1999. Regeneration and Agrobacterium Transformation of Sour Cherry Leaf Discs. *Acta Horticultural*, 484, 577-580.
- Erbaş, B., 2011. Myrobalan ve Garnem Anaçlarının *In Vitro* Doku Kültürü Teknikleri ile Çoğaltımı Üzerinde Araştırmalar. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 56s, Gaziantep.
- Escalettes, V., Dosba, F., 1993. *In Vitro* Adventitious Shoot Regeneration from Leaves of *Prunus* spp. *Plant Science*, 90, 201-209.

- Espinosa, A.C., Pijut, M.P., Michler, H.C., 2006. Adventitious Shoot Regeneration and Rooting of *Prunus serotina* *In Vitro* Cultures. Horticulture Science, 41, 193-201.
- Gentile, A., Monticelli, S., Damiano, C., 2002. Adventitious Shoot Regeneration in Peach [*Prunus persica* L. Batsch]. Plant Cell Reports, 20, 1011-1016.
- Goffreda, J.C., Scopel, A.L., Fiola, J.A., 1995. Indole Butyric Acid Induces Regeneration of Phenotypically Normal Aprico (*Prunus armeniaca*) Plants from Immature Embryos. Plant Growth Regulation, 17, 41-46.
- Güçlü, F., Koyuncu, F., Şan, B., 2010. Bazı Klon Kiraz Anaçlarının Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü Dergisi, 14, 144-147.
- Günel, F., 2006. Gisela 5 (*P.cerasus* x *P. canescens*) ve Maxma 14 (*P. mahaleb*) Anaçlarından *In Vitro*' da Sürgün Elde Edilmesi Üzerine Değişik BAP ve 2,4- D Düzeylerinin Etkilerinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 78s, Isparta.
- Hammatt, N., 1993. Micropropagation of Fastigate Bird Cherry (*Prunus padus* L.) and Adventitious Shoot Formation from Leaves. Journal Hortical Science, 68, 975-982.
- Hammatt, N., N.J. Grant, 1993. Apparent Rejuvenation of Mature Wild Cherry (*Prunus avium* L.) During Micropropagation. J. Plant Physiol. 141,341-346.
- Hammatt, N., N.J. Grant, 1998. Shoot Regeneration from Leaves of *Prunus serotina* Ehrh. (Black Cherry) and *P. avium* L. (Wild Cherry). Plant Cell Reports, 17, 526-530.
- Hammatt, N., N.J. Grant, 1997. Micropropagation of Mature British Wild Cherry. Plant Celuler Tissue Organ, 47, 103-110.
- Hammerschlag, F.A., Bauchan, G., Scorza, R., 1985. Regeneration of Peach Plants Callus Derived from Immature Embryos. Theoretical and Applied Genetics, 70, 248-251.
- Hepaksoy, S., 2004. Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar I. Gelişme ve Çoğalma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 41(3), 11-22.
- Hokanson, K.E., Pooler, M.R., 2000. Regeneration of Ornamental Cherry (*Prunus*) Taxa from Mature Stored Seed. Hortical Science, 35, 745-748.
- Kamali, K., Majidi, E., Zarghami, R., 2001. Micropropagation of GF 677 (*Prunus amygdalus* x *P.persica*). XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds Ciheam-Iamz, 56, 175-177.
- Karamürsel, Ö.F., 2011. Erik Yetiştiriciliği. Meyvecilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü Yayınları, 6, Isparta.
- Korban, S.S., O'Connor, P.A., Elobeiday, A., 1992. Effects of Thidiazuron, Naphthaleneacetic Acid Dark Incubation and Genotype on Shoot Organogenesis from Malus leaves. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 67, 341-349.

- Lane, W.D., Cossio, F., 1986. Adventitious Shoots from Cotyledons of Immature Cherry and Apricot Embryos. *Canadian Journal of Plant Sciences*, 66, 953–959.
- Leblay, C., Chevreau, E., Raboin, L.M., 1990. Adventitious Shoot Regeneration from *In Vitro* Leaves of Several Pear Cultivars (*Pyrus communis* L.). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 25, 99-105.
- Liu, X., Pijut, P., M., 2008. Plant Regeneration from *In Vitro* Leaves of Mature Black Cherry (*Prunus serotina*). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 94, 113–123.
- Mante, S., Morgens, P.H., Scorza, R., Cordts, J.M., Callahan, A.M., 1991. Agrobacterium-Mediated Transformation of Plum (*Prunus domestica* L.) Hypocotyl Slices and Regeneration of Transgenic Plants. *Nature Biotechnology*, 9, 853–857.
- Mante, S., Scorza, R., Cordts, J.M., 1989. Plant Regeneration from Cotyledons of *Prunus persica*, *Prunus domestica* and *Prunus cerasus*. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 19, 1–11.
- Marin J. A., Pascual L., 2005. A liquid 2,4-D Pulse Increased Shoot and Root Regeneration from Leaf Explants of Adult *Prunus* rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 106, 582-592.
- Matt, A., Jehle, J.A., 2005. *In vitro* Plant Regeneration from Leaves and Internode Sections of Sweet Cherry Cultivar (*Prunus avium* L.). *Plant Cell Reports*, 24, 468-476.
- Mehra, A., Mehra, P.N., 1974. Organogenesis and Plantlet Formation *In Vitro* in Almond. *Botanical Gazette*, 135, 61–73.
- Miguel, C.M., Druart, P., Oliveira, M.M., 1996. Shoot Regeneration from Adventitious Buds Induced on Juvenile and Adult Almond (*Prunus dulcis* Mill.) Explants. *In vitro Cellular and Developmental Biology Plant*, 32, 148–153.
- Miguel, C.M., Oliveira, M.M., 1999. Transgenic Almond (*Prunus dulcis* Mill.) Plants Obtained by Agrobacterium Mediated Transformation of Leaf Explants. *Plant Cell Reports*, 18, 387–393.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassay with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol Plant*, 15, 473-497.
- Nagaty, M.A., 2012. Establishment of Regeneration System for Taif Peach (*Prunus persica* L. Batsch) Cultivar (Balady cultivar) in Taif. *Journal of American Science*, 8, 1-8.
- Nas, M.N., Bolek, Y., Sevgin, N., 2010. The Effects of Explant and Cytokinin Type on Regeneration of *Prunus microcarpa*. *Scientia Horticulturae*, 126, 88–94.
- Nedelcheva, S., Tsoneva, E., 1998. Callus formation and the Possibility of Regenerating Complete Apricot Plants. I. Induced Primary and Organogenic Callus from Isolated Cotyledons. *Rasteniev" Dni Nauki*, 35, 296-300.
- Nowak, B., Miczynski, K., 2002. The Course and Efficiency of Organogenesis on Leaf Explants of Plum 'Węgierka Zwykła' (*Prunus domestica* L.) Induced by Cytokinins. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 5(1).

- Ochatt, S.J., Power, J.B., 1988. An Alternative Approach to Plant Regeneration from Protoplasts of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.). *Plant Science*, 56, 75–79.
- Önal, M.K., Cinsoy, A.S., 2003. Bazı Erik (*Prunus salicina* Lindl., *Prunus domestica* L.) Çeşitlerinde Pomolojik Özellikler Arasındaki İlişkiler ve Çeşitlerin Dağılımının Ana Bileşen Analizi ile Belirlenmesi. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 16(1), 43-50.
- Özden, A.N., 2007. GF-677 Hibrit (*Prunus amygdalus x P. persica*) Anacının *In Vitro* Rejenerasyonu ve Mikro Çoğaltımı. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 50s, Şanlıurfa.
- Pascual, L., Andreu, P., Marín, J.A., 2000. Effect of the Cytokinins BA and TDZ on the Regeneration of Adventitious Shoots of the Clonal Rootstock 'Mariana 2624'. *Itea*, 21, 63-65.
- Pe´rez-Jime´nez, M., Navarro, A.C., Cos-Terrer, J.,2012. Regeneration of Peach (*Prunus persica* L. Batsch) Cultivars and *Prunus persica x Prunus dulcis* Rootstocks via Organogenesis. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 108, 55–62.
- Perez-Tornero, O., Egea, J., Vanoostende, A., Burgos, L., 2000. Assessment of Factors Affecting Adventitious Shoot Regeneration from *In Vitro* Cultured Leaves of Apricot. *Plant Science*, 158, 61-70.
- Petri, C., Scorza, R., 2010. Factors Affecting Adventitious Regeneration from *In vitro* Leaf Explants of 'Improved French' Plum, the Most Important Dried Plum Cultivar in the USA. *Annals of Applied Biology*, 156, 79–89.
- Pevalek-Kozlina B., S. Jelaska, 1987. Microclonal Propagation of *Prunus avium* L. Symposium on *In vitro* Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants. *ISHS Acta Horticulture*, 212, 599-602.
- Pieterse, R.E., 1989. Regeneration of Plants from Callus and Embryos of 'Royal' Apricot. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 19, 175–179.
- Pooler, M.R., Scorza, R., 1995. Regeneration of Peach [*Prunus persica* L. Batsch] Rootstock Cultivars from Cotyledons of Mature Stored Seed. *Horticulture Science*, 30, 355–356.
- Quoirin, M., Lepoivre, P., 1977. Improved Media for *In Vitro* Culture of *Prunus* sp. *Acta Horticultural* 78, 437–442.
- Randal, A.S., Abner, G., 1986. Large Scale Tissue Culture Production for Horticultural Crops. *Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture*, 2, 367-371.
- Rodrigues, A.C., Silveira, C.A.P., Fortes, G.R. de L., Fachinello, J.C., Silva, J.B., 2003. Establishment and Multiplication *In vitro* of *Prunus* sp. in Different Culture Media. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25 (1), 131-133.
- Ružić, D., 2008. The Effects of Cytokinin Types and Their Concentration on *In Vitro* Multiplication of Sweet Cherry cv. Lapins. *Horticultural Science*, 35, 12-21.

- Ružić, D., Sarić, M., Cerović R., Čulafić L., 2000. Relationship Between the Concentration of Macroelements, Their Uptake and Multiplication of Cherry Rootstock Gisela 5 *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63, 9-14.
- Sarwar, M., Skirvin, R.M., 1997. Effect of Thidiazuron and 6-benzylaminopurine on Adventitious Shoot Regeneration from Leaves of Three Strains of 'McIntosh' Apple (*Malus X domestica* Borkh.) *In vitro*. *Science Horticulture*, 68, 95-100.
- Schmidt, H., Kardel, Meisner, U., 1992. Adventivsproß Regeneration *In vitro* Ei Kirschen III. Adventivsproßbildung an Kotyledonen von Süßkirschensorten. *Gartenbauwissenschaft*, 57, 267-270.
- Schneider, K.E., Speranzini, D., Biggs, A.R., 1992. Ontogeny of Shoot Regenerants on Excised Immature Peach Embryos. *Canadian Journal Plant Science*, 72, 497-506.
- Scorza, R., Mehlenbacher, S.A., Lightner, G.W., 1985. Inbreeding and Coancestry of Freestone Peach Cultivars of the Eastern United States and Implications for Peach Germplasm Improvement. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 110, 547-552.
- Silveira, C.A.P., Fachinello, J.C., Fortes, G.R.De.L., 2001. *In vitro* Multiplication of *Prunus* Rootstocks in Different BAP Concentrations in Two Culture Media. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23(3), 488-492.
- Song, G.Q., Sink, K.C., 2005. Optimizing Shoot Regeneration and Transient Expression Factors for *Agrobacterium tumefaciens* Transformation of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) Cultivar Montmorency. *Science Horticulture*, 106, 60-69.
- Takashina, T., Nakano, H., Kato, R., 2003. Efficient Plant Regeneration Culture from Leaf Explants of *In Vitro* Grown Sweet Cherry. *Acta Horticulture*, 622, 123-127.
- Tang, H.R., Ren, Z.L., Reustle, G., Krczal, G., 2002. Plant Regeneration from Leaves of Sweet and Sour Cherry Cultivars. *Scientia Horticulture*, 93, 235-244.
- Trifonova, A.S., Atanassov, A.I., 1999. Studies on Genetic Transformation of Apple. *Acta Horticulture*, 484, 591-594.
- Wang, H., Albuquerque, N., Burgos, L., Petri C., 2011. Adventitious Shoot Regeneration from Hypocotyl Slices of Mature Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Seeds, a Feasible Alternative for Apricot Genetic Engineering. *Scientia Horticulturae*, 128, 457-464.
- Yan, G.H., Zhou, Y., 2002. Plant Regeneration from Excised Immature Embryos of Peach (*Prunus persica* L.). *Acta Horticulture Sinica*, 29, 480-482.
- Yancheva, S., 1993. Preliminary Studies on Regeneration Capacity of Plum (*Prunus domestica* L.) Somatic Tissues *In Vitro*. *Institute of Agricultural Economics*, 7, 49-52.
- Yang, H.Y., Schmidt, H., 1992. Untersuchungen zur Adventivsproß-regeneration *in vitro* bei Kirschen, II. Adventivsproßbildung an *in vitro*-Blättern verschiedener *Prunus avium*-Idiotypen. *Gartenbauwiss*, 57(1), 7-10.

Yıldırım, H., Tilkat, E., Onay, A., Özen, H.Ç., 2007. *In Vitro* Embry Culture of Apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hacıhaliloğlu). International Journal of Science and Technology, 2, 99-104.

Zhou, H., Ming, L., Zhao, X., Fan, X., Guo, A., 2010. Plant Regeneration from *In Vitro* Leaves of the Peach Rootstock 'Nemaguard' (*Prunus persica* x *P. davidiana*). Plant Cell Tissue Organ Culture, 101, 79-87.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Duygu GEYİK
Doğum Yeri ve Yılı : Bursa, 1988
Medeni Hali : Bekâr
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : yl1130139004@sdu.edu.tr

Eğitim Durumu

Lise : Hacı Halit Erkut Lisesi, 2005
Lisans : SDÜ, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji
Yüksek Lisans : SDÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Mesleki Deneyim

GÜLAR (Gül ve Gül Ürünleri Araştırma ve Uygulama Merkezi) : 2011-2012 Doku Kültürü Laboratuvarı-İSPARTA