



T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ŞEFTALİ ANAÇLARININ *in vitro*  
MİKROÇOĞALTIMI

SELVER SARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2022

T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI ŞEFTALİ ANAÇLARININ *in vitro*  
MİKROÇOĞALTIMI

SELVER SARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

KAHRAMANMARAŞ 2022

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Selver SARI

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# FARKLI ŞEFTALİ ANAÇLARININ *in vitro* MİKROÇOGALTIMI

## YÜKSEK LİSANS TEZİ

SELVER SARI

### ÖZET

Bu araştırmada, ölkemizde eksikliği hissedilen Şeftali ve bademin karşılıklı melezlenmesi ile elde edilmiş, Şeftali anacı olarak kullanılacak *Prunus* melezlerinin klonal Şeftali anacı olarak kullanılması için *in vitro* mikroçogaltımı üzerine çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda 2 farklı FG-69 ve FG-71 klon anacı ile kontrol olarak standart anaçlardan GN-22 ve GF-677 materyal olarak kullanılmıştır. Anaçların doku kùltürü ile virüsten arı olarak hızlı bir Şekilde üretilme olanaklarını araştırılması hedeflenmiştir. Öncelikle, materyal olarak kullanılan eksplantların, sterilizasyon işleminden sonra hormon ilave edilmemiş ½ MS ve WPM besi ortamlarına dikimleri yapılmıştır. Bitki rejenerasyonu için; BAP (6-Benzilaminopürin)'in 0.5, 0.75, 1.0 mg/l, TDZ (Thidiazuron)'nin 0.5, 0.75, 1.0 mg/l, IAA (Indole Asetik Asit)'in 0.2 mg/l, NAA ( $\alpha$ -naphthalene acetic acid)'nın 0.25 mg/l'lık dozlarda ve iki farklı ½ MS ve WPM besi ortamlarına hormonlar ilave edilerek deneme oluşturulmuştur. Araştırmada; eksplant başına sürgün sayısı, eksplant sürgün uzunluğu, eksplant başına köklenme yüzdesi, eksplant başına kök sayısı, kök uzunluğu, kök çapı ve bitki yaş ağırlık gibi parametreler incelenmiştir. Deneme sonucuna göre; en iyi eksplant başına sürgün sayısı ve besi ortamı KOM3(1.0 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + WP, en iyi eksplant başına sürgün uzunluğu ve besi ortamı KOM6 (1.0 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS, en iyi eksplant başına köklenme yüzdesi ve besi ortamı KOM4 (0.5 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS, en iyi eksplant başına kök sayısı, kök uzunluğu, kök çapı ve besi ortamı KOM5 (0.75 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS, en iyi bitki yaş ağırlık ve besi ortamı ise KOM1 (0.5 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS olarak tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Badem, Şeftali, Doku Kùltürü, Mikroçogaltım, *Prunus*

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Őubat/2022

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yusuf NİKPEYMA

Sayfa sayısı: 67

# ***In vitro* MICRO-PROPAGATION OF DIFFERENT PEACH ROOTSTOCKS**

**(M.Sc. THESIS)**

**SELVER SARI**

## **ABSTRACT**

*In vitro* micropropagation of some *Prunus* hybrids obtained by crossbreeding of peach and almond was studied for use as clonal peach rootstock in this study. FG-69 and FG-71 clonal rootstocks and GN-22 and GF-677 as standard rootstocks were used. After the sterilization process, the explants used as material were planted in ½ MS and WPM medium without added hormon. BAP (6-Benzylaminopurine) 0.5, 0.75, 1.0 mg/l, TDZ (Thidiazuron) 0.5, 0.75, 1.0 mg/l, IAA (Indole Acetic Acid) 0.2 mg/l, NAA ( $\alpha$ -naphthalene acetic acid) 0.25 mg/l as different doses and hormones were added to two different ½ MS and WPM media for plant regeneration. Shoot number per explant, explant shoot length, rooting percentage per explant, root number per explant, root length, root diameter and plant fresh weight parameters were investigated in the research. The best shoot number per explant in the combination KOM3 (1.0 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + WP, the best shoot length per explant in the combination KOM6 (1.0 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS, best rooting percentage per explant in the combination KOM4 (0.5 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS were obtained. On the other hand best number of roots per explant, root length, root diameter and nutrient combination KOM5 (0.75 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS, best plant fresh weight and nutrient combination KOM1 (0.5 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) + ½ MS were obtained at the end of the study.

**Key Words:** Almond, Peach, Tissue Culture, Micropropagation, *Prunus*

Kahramanmaraş Sütçü İmam University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Horticulture, January/ 2022

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Yusuf NİKPEYMA

Page number: 67

## TEŞEKKÜR

“Farklı Şeftali Anaçlarının *in vitro* Mikroçoğaltımı” adlı tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, Değerli Hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yusuf NİKPEYMA’ya, emeğini, bilgisini ve tecrubesini hiç esirgemeyen Değerli Hocam Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Bahçe Bitkileri Bölüm Başkanı Sayın Dr. Remzi UĞUR’a, hem manevi olarak hem bilgisi ile tezimin her aşamasında bana destek olan Biyolog Sayın Dr. Esra BULUNUZ PALAZ’a, laboratuvar çalışmalarımnda bana yardımcı olan Kahramanmaraş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Doku Kültürü Laboratuvarı çalışanları Biyolog Sümeyye ADALI’ya, Teknisyen Bahar ZENGİN’e, Destek Personeli Hüseyin YAPRAK’a ve Laborant Rahime Nur ÖZTAŐ’a, yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Sevgili babam Emrullah KOZ’a, kıymetli annem Güllü KOZ’a, kardeşlerim Duygu KOZ, Ünzile KOZ ve İrem KOZ’a tez süreci boyunca zamanından çaldığım hayatımın en kıymetlisi kızım Elvin SARI’ya ve sevgili eşim Őuayip SARI’ya desteklerini hiçbir zaman eksik etmedikleri için teşekkürü bir borç bilirim.

SELVER SARI

Kahramanmaraş 2022

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	vii
1.GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	6
3. MATERYAL VE METOT .....	16
3.1. Bitki Materyali .....	16
3.2. Metot.....	16
3.2.1. Eksplantların Alımı .....	16
3.2.2. <i>In vitro</i> Kültüre Alınmanın Ön Hazırlığı.....	17
3.2.3. Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu.....	18
3.2.4. Steril Odanın Hazırlığı .....	18
3.2.5. Besin Ortamı Hazırlığı .....	19
3.2.6. Bitki Eksplantlarının Yüzey Sterilizasyonu .....	20
3.2.7. Bitki Rejenerasyonu ve Kardeşlenme Besi Ortamları.....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	25
4.1. Farklı Besi Ortamlarının Bitki Rejenerasyonu Üzerine Etkileri.....	25
4.1.1. Sürgün Kardeşlenme Oranı (adet/eksplant) .....	25
4.1.2. Eksplant Başına Ortalama Sürgün Uzunluğu (mm).....	31
4.1.3. Bitki Başına Ortalama Köklenme Yüzdesi (%) .....	37
4.1.4. Eksplant Başına Ortalama Kök Sayısı (Adet) .....	42
4.1.5. Eksplant Başına Ortalama Kök Uzunluğu (mm).....	46
4.1.6. Ortalama Kök Çapı (mm).....	51
4.1.7. Eksplant Başına Ortalama Yaş Ağırlık (g).....	56
5. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	60
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	67

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.1. Dünya şeftali üretimi (2018) (Ton) (FAO, 2020a).....	2
Şekil 1.2. Türkiye şeftali üretimi (Ton) (TÜİK, 2020) .....	2
Şekil 1.3. Dünya şeftali ihracatı (2018) (Ton) (FAO, 2020b).....	3
Şekil 3.1. Sera koşullarında kontrollü yetiştirilen bitkilerde eksplant alımı .....	17
Şekil 3.2. Steril edilen alet ve ekipmanların ve steril kabin içi görünümü.....	18
Şekil 3.3. Eksplantların aktarılması için hazırlanmış besi ortamı .....	19
Şekil 3.4. Anaçların yüzey sterilizasyonu ve besi ortamlarına dikilmesi.....	21
Şekil 3.5. Yüzey sterilizasyonu tamamlanıp besi ortamına aktarılmış sürgünler .....	23
Şekil 3.6. İklim odasından görünüm .....	24
Şekil 4.1. Seçilmiş anacın KOM3 kombinasyonundan görünüm .....	27
Şekil 4.2. Seçilmiş klon anacının kardeşlenme besi ortamından görünüm .....	28
Şekil 4.3. Seçilmiş klon anacının kardeş bitkilerinin sayısal veri değerlendirilmesi .....	29
Şekil 4.4. Klon anaçların kardeş boylarının (mm) ölçümü .....	34
Şekil 4.5. Klon anaçlar .....	35
Şekil 4.6. Sürgün uzunluğunun ölçümü .....	37
Şekil 4.7. Köklü anaçlardan bir görünüm .....	38
Şekil 4.8. Köklenen anaçların görünüm .....	40
Şekil 4.9. ½ MS besi ortamında FG-69 anacının KOM4 (0.5mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) kombinasyonundan görünüm .....	42
Şekil 4.10. Anaçlarda kök oluşumu .....	45
Şekil 4.11. Kontrol anacının kök uzunluğu ölçülümü.....	49
Şekil 4.12. Kök oluşumu ve kök uzunluğunun ölçümü .....	50
Şekil 4.13. Kumpasla kök çapı ölçümü yapılacak anaç .....	54
Şekil 4.14. Kontrol anacı kök çapı ölçümü .....	55
Şekil 4.15. Yaş ağırlığı tartılan anaçlar .....	58

## ÇİZELGELER DİZİNİ

### Sayfa No

Çizelge 3.1. Doku kültürü çalışmalarında kullanılan anaçların orijinleri .....	16
Çizelge 3.2. MS ve WPM besi ortamı ortamları ve kimyasal bileşimleri.....	20
Çizelge 3.3. Besi ortamlarına ilave edilen hormon kombinasyonları .....	22
Çizelge 4.1. Eksplant başına kardeş bitki oluşumları (adet/eksplant).....	26
Çizelge 4.2. Eksplant başına ortalama sürgün uzunluğu (mm).....	33
Çizelge 4.3. Eksplant başına ortalama köklenme yüzdesi (%)......	39
Çizelge 4.4. Eksplant başına ortalama kök sayısı (adet) .....	43
Çizelge 4.5. Eksplant başına ortalama kök uzunluğu(mm).....	48
Çizelge 4.6. Ortalama kök çapı (mm) .....	53
Çizelge 4.7. Eksplant başına yaş ağırlık (g) .....	57

## SİMGELER VE KISALTMALAR

<b>WPM/ WP</b>	: Woody Plant Medium
<b>½ MS</b>	: Murashige ve Skoog Ortamı
<b>BAP</b>	: 6-Benzylaminopurine
<b>IAA</b>	: Indole Asetik Asit
<b>NAA</b>	: $\alpha$ -Naphthalene Acetic Acid
<b>TDZ</b>	: Thidiazuron
<b>BBD</b>	: Bitki Büyüme Düzenleyici
<b>I / L</b>	: Litre
<b>ml</b>	: Mililitre
<b>g</b>	: Gram
<b>mg</b>	: Miligram
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>NaOCl</b>	: Sodyum Hipoklorit
<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>°C</b>	: Santigrat Derece
<b>KOM / KOMB</b>	: Kombinasyon
<b>BA</b>	: BenzilAdenin
<b>%</b>	: Yüzde
<b>SH</b>	: Shenk ve Hildebrand Ortamı
<b><math>\mu</math>M</b>	: Mikro Molar
<b>M</b>	: Molar
<b>AND</b>	: Anderson Ortamı
<b>QL</b>	: Quoirin ve Lepoivre Ortamı
<b>mM</b>	: Milimolar
<b>AP</b>	: Almehdi ve Parfitt Ortamı

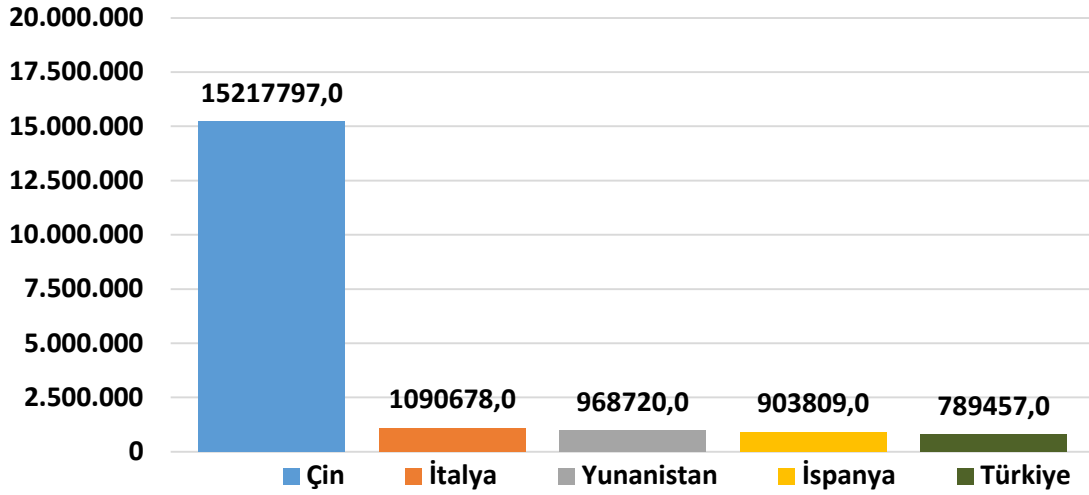
<b>PPM</b>	: Plant Preservative Mixture
<b>MST</b>	: Modifiye MS Ortamı
<b>IBA</b>	: Indol Butirik Asit
<b>Kin / KIN</b>	: Kinetin
<b>DKW</b>	: Driver ve Kuruyuki Ortamı
<b>atm</b>	: Atmosfer (Basınç Birimi)



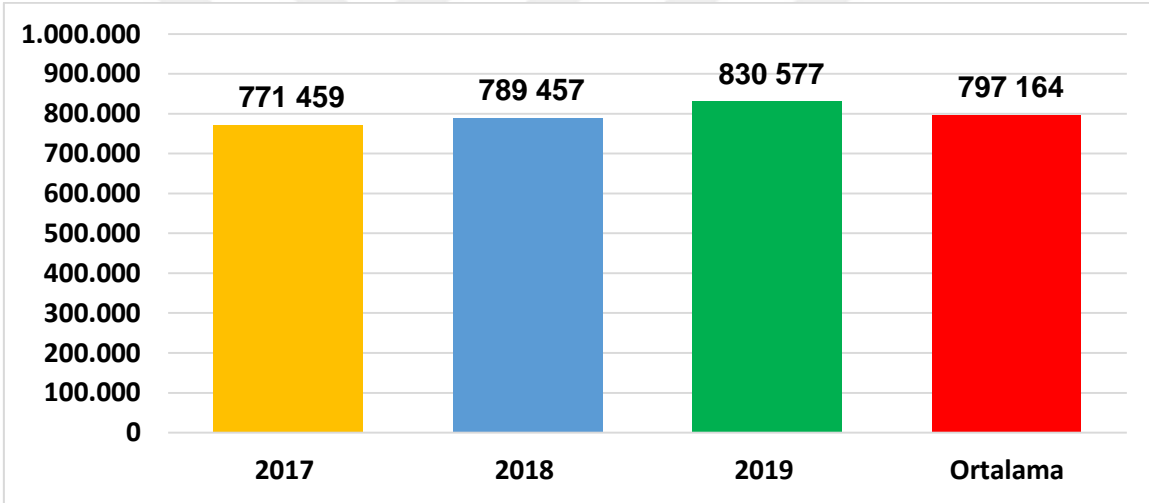
## 1. GİRİŞ

Tropik ve subtropik bölgelerde en fazla yetiştiriciliği yapılan meyve ağaçları *Rosaceae* familyasına aittir. Bu familya 4 alt familyaya ayrılır. Bu alt familyalar *Prunoideae* kayısı (*Prunus armeniaca* L.), kiraz (*Prunus avium*), vişne (*Prunus cerasus*), badem (*Prunus amygdalus*, *Prunus dulcis*), şeftali (*Prunus persica*), erik (*Prunus domestica*) gibi bazı sert çekirdekli meyve türlerini ve kara kiraz (*Prunus serotina*) gibi orman ağaçlarını içermektedir (Kaçar, 2004). Sert çekirdekli meyve türlerinde olan şeftalinin (*P. persica*) çiçek yapısı genellikle taç yaprakları pembe veya beyaz renklere olup beş taç yaprağı, beş çanak yaprağı ve 15-20 adet erkek organ ve bir dişi organ bulunmaktadır. Tekli veya iki, altı ya da daha fazla salkımdan oluşan şemsiye çiçek yapısına sahiptir. Meyveler bütün türlerde oldukça büyük bir çekirdekten meydana gelen drupa meyvedir. Yapraklar basit, genellikle mızraksı, lopsuz olup yaprak kenarı tamamen dişlidir (Köse, 2015).

Şeftali (*P. persica*) meyvesi botanik özellikleri açısından drupa tipi bir meyve olmasından dolayı dıştan içe doğru ekzokarp (kabuk), yenilen kısım mezokarp (meyve eti) ve sert kısım da endokarp olarak adlandırılır. Şeftali, anavatanın İran olduğu düşüncesiyle Linne tarafından *Amygdalus persica* olarak isimlendirilmiştir. Ancak 19. yüzyılda yapılan arkeolojik çalışmalar sonucunda elde edilen veriler doğrultusunda kültürünün M.Ö. 3000 yıllarına dayandığı ve anavatanının Çin olduğu belirlenmiştir. M.Ö. 1. ve 2. yüzyılları arasında İran'a getirilen şeftalinin, 16.-18. yüzyılları arasında kolonizasyon yoluyla Amerika, Afrika, Avusturalya ve Yeni Zelanda kıtalarına yayıldığı öngörülmektedir (Lurie ve Crisosto, 2005; Bassi ve Monet, 2008; Cantin, 2009). Dünya şeftali üretiminde Çin 15.217.797 ton ile ilk sırada yer alırken, Türkiye 789.457 ton ile 5. sırada yer almaktadır (Şekil 1.1.) (FAO, 2020a). Şeftali üretimimiz 1998 yılında 410.000 ton iken 2019 yılı itibarıyla 830.577 tona yükselmiştir (Şekil 1.2.) (TÜİK, 2020).

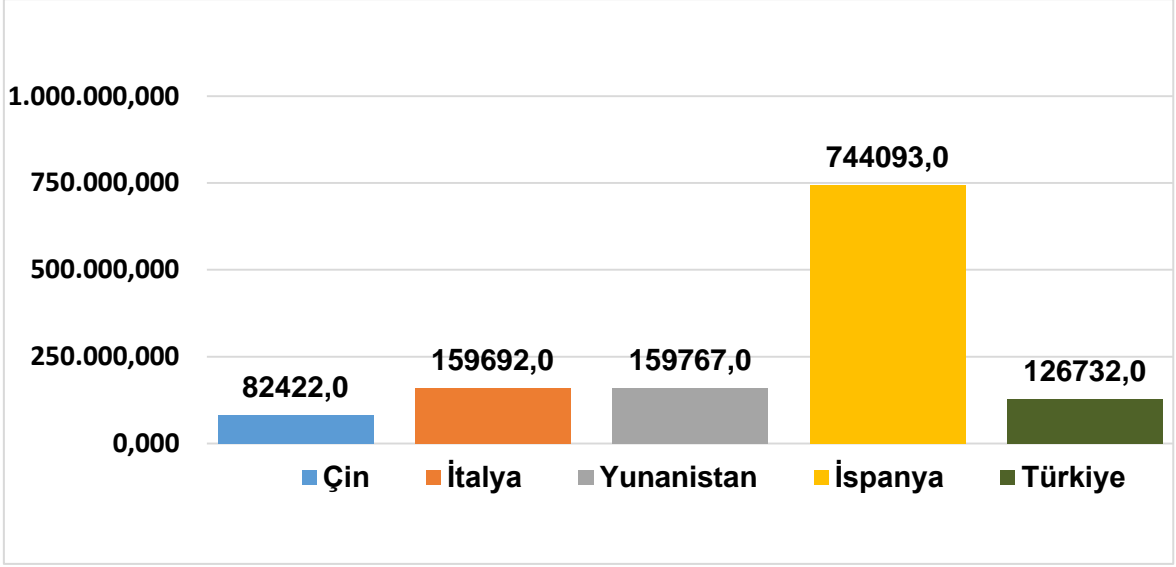


Şekil 1.1. Dünya şeftali üretimi (2018) (Ton) (FAO, 2020a)



Şekil 1.2. Türkiye şeftali üretimi (Ton) (TÜİK, 2020)

Çin üretim açısından açık ara diğer ülkelerin önünde olmasına karşılık üretimini kendi iç pazarında tüketmektedir. Dünya şeftali ihracatında, İspanya üretiminin tamamına yakınına dışarıya satarak 744.093 ton ile birinci sırada yer almaktadır. Ülkemiz ihracatta 126.732 ton ile 4. sırada yer almaktadır (Şekil 1.3.) (FAO, 2020b).



**Şekil 1.3.** Dünya şeftali ihracatı (2018) (Ton) (FAO, 2020b)

İnsanlar tarımla uğraşmaya başladıklarında daha kaliteli meyve alabilmek için özen göstermişlerdir. İlk dönem meyve yetiştiricileri bu nedenle iri meyve veren ağaçların tohumlarını ekmişler fakat bu şekilde orijinal ağacın özelliklerinin aktarılmadığını tespit etmişlerdir (Erbaş, 2011).Çoğunlukla meyve ağaçları rüzgârla ya da böceklerle tozlandıklarından, uzun bir jenerasyon süresine sahip olduklarından ve yeni jenerasyonlarındaki açılım nedeniyle, klonal çoğaltım için aşı ile çoğaltılmaları bir zorunluluktur. Bu sebeple aşı uygulamaları anaç kullanmayı gerektirmektedir (Uğur ve ark., 2021). Meyve yetiştiriciliğinde tohum (generatif) ve klon (vejetatif) anaçları kullanılmaktadır. Klon anaçlar çöğür anaçlara göre üstün özelliklere sahiptir. Klon anaçlar aynı kalıtsal yapıya sahip oldukları için birörnek bireyler meydana getirirler (Ağaoğlu ve ark., 1995).

Meyve ağaçlarının yetiştiriciliğinde en önemli unsurlarından olan anaç seçimi tüm dünyada gelişmeleri dikkatle takip edilen önemli konulardan birini teşkil etmektedir. Özellikle sık dikime yönelik toprak ve iklim koşullarına uygun anaç geliştirme çalışmaları yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Ekonomik açıdan erken ürün verme ve birim alandan maksimum verim almak için klonal anaç kullanmak gerekmektedir. Klonal anaç kullanımında, genotipin devamlılığı sağlanmakta üniform bitkiler oluşturulabilmekte, gençlik kısırlık dönemi kısa sürmesinden dolayı daha erken dönemde meyveye yatmaktadır. Bu nedenlerden dolayı çeşitli yöre ve toprak koşullarına uygun klonal anaçlar kullanılmalıdır (Yılmaz ve ark., 2021).Ülkemizde şeftali yetiştiriciliğinde kullanılan Fransız anaçlarından GF677 ve Cadaman, İspanyol anaçlarından GN serisi, Rootpac serisi

ve Nemaguard anacıları kullanılmaktadır. Kayısı ve erik için Myrobolan 29C anacı yaygın olarak kullanılmaktadır (Özbek, 2011). Meyve türlerinin yetiştiriciliğinde anaç kullanımı oldukça önemlidir. Anaçlar, üzerine aşılanan çeşidin gelişimini, hastalık ve zararlılara dayanımını, verimini, kalitesini, erkenciliğini ya da geççiliğini etkilemektedir. Sert çekirdekli meyvelerin yetiştirilmesinde, yabancı kiraz, şeftali yozları, mahlep çöğürleri, badem, erik, kiraz, Nemaguard ve Garnem uzun yıllar anaç olarak kullanılmıştır. Ancak son yıllarda klon anaçlar üzerine olan çalışmalar artmıştır (Arıcı, 2008).

Meyve ağaçları iki şekilde çoğaltılır; generatif (eşeyli) ve vejetatif (eşseysiz). Eşeyli çoğaltma, tohum kullanılarak gerçekleşen çoğaltma çeşididir. Eşseysiz (vejetatif) çoğaltma ise, yaprak, sürgün, kök gibi farklılaşmış bitki kısımlarının kullanılması ile gerçekleştirilen çoğaltma şeklidir. Son zamanlarda, klon anaçlarının çoğaltılmasında çelik, daldırma gibi geleneksel vejetatif yöntemlerin yanında, kısa sürede çok sayıda materyal elde edilmesini sağlayan doku kültürü teknikleri de yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Bulunuz Palaz ve ark., 2018; Uğur ve Kargı, 2018). Mikroçoğaltımın en önemli avantajı hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyal elde edilebilmesidir. Diğer avantajları ise fenotipik ve genotipik yönden homojen bitkiler, diğer yöntemlerden daha kısa kültür süresi, zor üretilen türlerin daha kolay üretimi, seçilen üstün nitelikli genotiplerin hızlı üretimi, üretimde daha az anaç kullanılması, somaklonal varyasyondan dolayı yeni genotiplerin elde edilmesidir (Aka Kaçar, 2015). Doku kültürü ile üretimde en önemli aşamalardan biri uygun besi ortamlarında, uygun kombinasyonlarda hormon ve bitki büyüme düzenleyicilerinin uygulanarak hızlı ve verimli kitlesel üretimin sağlanmasıdır. Bu nedenle aynı türden elde edilen klon anaçlardan belirli zamanlarda alınan eksplantların kültür ortamına aktarılmasıyla farklı fizyolojik etkilere neden olduğu yapılan araştırmalarda görülmektedir. Bu durum doku kültürü çalışmalarında en uygun eksplant seçimi, ideal besi ortamı ve uygun bitki büyüme düzenleyicisi bileşenlerinin tespit edilmesi için çok sayıda çalışma yapılmasına neden olmaktadır (Bulunuz ve Uğur, 2018).

Bu proje ile ülkemizde eksikliği hissedilen şeftali ve bademin karşılıklı melezlenmesi ile elde edilmiş, şeftali anacı olarak kullanılması düşünülen bazı *Prunus* melezlerinin *in vitro* mikroçoğaltımı üzerine çalışılmıştır. Bu amaç doğrultusunda ele alınan 2 farklı anacın (FG-69- FG-71) doku kültürü ile virüsten arı hızlı bir şekilde çoğaltılması hedeflenmektedir. Bitki rejenerasyonu için BAP, TDZ, IAA, NAA gibi bitki büyüme düzenleyiciler ve bunların değişik konsantrasyonları ile iki besi (½MS, WPM) ortamına ilave edilen farklı hormon kombinasyonları denenmiştir. Tez çalışmalarında

TÜBİTAK 217 O 024 Nolu “Türler Arası Melezleme İle Elde Edilen Bazı *Prunus* Melezlerinin Şeftali Anacı Olarak Değerlendirilmesi” adlı projeden elde edilmiş bireylerden seçilen 2 adet melez *Prunus* anaç adayı (FG-69- FG-71) ile GF-677 ve GN-22 kontrol anaçlarından alınan eksplantlar kullanılmıştır. Aynı zamanda bu anaç adaylarının doku kültürü koşullarında çoğaltım metoduna ait en uygun protokolün oluşturulması amaçlanmıştır. Bunun için *in vitro* kültür koşullarında en uygun besi ortamı ve bu besi ortamına ilave edilen farklı bitki büyüme düzenleyicilerden, bitki gelişimi için en uygun olan belirlenmeye çalışılmıştır.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Gebhardt (1984), yaptığı bir çalışmada *Prunus* anaçlarından Schatten Morelle vişne çeşidinin taze sürgününden alınan eksplantların steril edilmesi sonrası, köklenme durumuna bakılması için oksin grubu hormonlarının etkisini incelemiştir. Sterilizasyondan geçen 0.1-0.5 mm uzunluğundaki eksplantlar, kardeş bitki elde etmek için 1 mg/l BAP eklenen MS besi ortamına aktarılmıştır. Kardeşlendirme ortamından sonra eksplantlar köklendirilmesi için ½ MS besi ortamına aktarılmıştır. Köklenme üzerine yapılan bu denemede beş farklı IBA hormon uygulaması yapılmıştır. İlk yapılan uygulama eksplantların hormon içermeyen besi ortamına aktarılması, ikincisi 1 mg/l IBA eklenen besi ortamına, üçüncüsü besi ortamına ilave edilen 200 mg/l IBA çözeltisinde 3 saniye bekletildikten sonra hormon içermeyen besi ortamında kültüre alınması şeklinde olmuştur. Dördüncü ise 3 gün IBA'lı ortamda kültüre aldıktan sonra bitki büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamı aktarılması ve beşinci uygulama da 8 gün IBA'lı ortamda kültüre aldıktan sonra bitki büyüme düzenleyici içermeyen besi ortamına aktarım uygulanmıştır. En iyi sonuç, üçüncü uygulama olan 200 mg/l IBA çözeltisinde 3 saniye bekletip bitki büyüme düzenleyici içermeyen ortamda kültüre alma uygulamasında görülmüştür.

Randal ve Abner (1986)'e göre mikroçoğaltım *in vitro* koşullarında doğa şartlarının etkisinin olmadığı bir ortamda yapılmaktadır. Doku kültürü, klasik olarak yapılan çoğaltım şekline alternatif olmuştur. Çelikle yapılan çoğaltımın yavaşlığına ve azlığına karşın doku kültürü kitlesel üretimde daha fazla bitki elde etme için hız, zaman ve yer konusunda tasarruf sağlamıştır.

Hammerschlag ve ark. (1987), tarafından yapılan bir çalışmada 8 *Prunus* çeşidi ve bir anacın *in vitro* ortamında katsayısal olarak çoğalmasını ve köklenmeyi etkileyen unsurların yanı sıra iklim koşullarına ve genetik kararlılıkla ilgili sonuçları ortaya koymayı amaçlamışlardır. Besi ortamına ilave edilen 8.8 / ~ M6-benzil amino pürin (BA)'nın en iyi kardeşlenme elde edildiği ortamdır. Sürgünler ½ Murashige ve Skoog (MS) ortamına aktarıldığında, 35-40 gün arasında 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Daha sonra 26 °C'de 14 gün süreyle karanlıkta köklenme ortamında inkübe edildiğinde maksimum köklenme meydana gelmiştir. Tüm besi ortamında, 28.5 / x M Indolasetik Asit (IAA), Indolbutirik Asit (IBA) veya α-Naftalin Asetik Asit (NAA) ilaveli ½ MS ortamına maruz bırakılmıştır. En iyi köklenme NAA ortamında görülmüştür. NAA konsantrasyonunda 5.8/~M'ye 5 kat azalma, IAA artı fenolik köklenme kofaktörlerinin kullanımı ve sürgünlerin uzunluğu gibi

faktörlerin uygulanmasıyla çoğu kültürde önceki köklenme oranlarına göre artış gözlenmiştir. İklimlendirme sırasında hiçbir bitki kaybı meydana gelmemiştir. Mikroçoğaltımla çoğaltılan bitkilerin sitogenetik analizi, tüm bitkilerin diploid,  $2n = 2x = 16$  olduğunu göstermiştir.

Fasolo ve ark. (1987), GF-677 klon anacının mikro çeliklerinin *in vivo* köklenme yeteneğini araştırmak için, çelikler köklendirme denemesine alınmış ve oksin uygulamalarının köklenme üzerine etkisi araştırılmıştır. Düşük konsantrasyondaki oksinlerin kök oluşumunu arttırdığı ve iyi bir kök sistemi gelişiminin yaklaşık 10-15 gün içinde meydana geldiği belirtilmiştir.

Dimassi ve Theriou (1995), sert çekirdekli meyve anaçlarının doku kültürü ortamı çalışmalarında MS besi ortamındaki mineral madde konsantrasyonunun normal dozun  $\frac{1}{2}$ 'si kullanıldığında bitkinin kök uzunluğunu ve kök sayısı yüzdelik oranının arttığını bildirmişlerdir.

Knapp ve ark. (1998), tarafından yapılan çalışmada *Rosaceae* familyasında yer alan *Prunus* anaçlarının doku kültüründe kültüre alma ve mikroçoğaltım yoluyla virüs belirleme denemesinde kullanılmak üzere çoğaltım yapılmıştır. Bu çalışma doğrultusunda hazırlanan MS besi ortamının ilave edilen 0.36 mg/l BAP ve 0.01 mg/l IBA ile desteklendiği bildirilmiştir. Başlangıç materyali olarak, sağlıklı bitkilerden alınan meristem uçları kullanılmıştır.

Perez-Tornero ve ark. (1999), tarafından yapılan çalışmada Canino, Currot, Bulida, Bergeron kayısı çeşitlerinin doku kültüründe çoğaltılması amaçlanmıştır. Apikal meristemlerin bulunduğu noktalardan alınan gözler QL (Quorin ve Lepoivre) besi ortamına, makro-mikro besin elementleri, Myo-inositol, Thiamine, Nikotonik Asit, Biotin, Aminozoik Asit, Ribofilavin, Capantothenate, %2 Sorbitol ve %6 Agar içeren *in vitro* kültür ortamına alınmıştır. Büyüme alanlarından alınan sürgünlerin gelişimi amacıyla bitki büyüme düzenleyiciler BA,  $GA_3$ , IBA kullanılmıştır. Meristem kısımlarından alınan eksplantlara uygulanan BA'nın genotipin sürgün büyümesi üzerine etkisi olduğu gözlemlenmiştir.  $GA_3$  sürgünlerin uzamasında etkili olurken, sürgünlerin canlılığına etkisinin olmadığını vurgusu yapılmıştır. Yapılan bu çalışmanın sonucunda oluşturulan hormon protokolüne göre 0.5-2 mg/l BA'nın kullanımında meristem kültürünün optimum olduğu belirtilmiştir.

Silveira (2000), tarafından yapılan çalışmada Embrapa Temperate Climate Doku Kültürü Laboratuvarında Myrobalan (MYR-29C), Marianna, Mr.S 2/5, GF-677 ve GN-22 anaçları için *in vitro* çoğaltma protokolleri geliştirilmiştir. Bu amaçla MS ve  $\frac{3}{4}$ MS ortamı ve BAP'nin 4 farklı konsantrasyonu (0.1, 0.3, 0.5 ve 0.7 mg/l) denenmiştir. Genotipler, bu iki farklı ortamda ve farklı BAP konsantrasyonlarında farklı tepkiler vermişlerdir. Mr.S 2/5 ve GN-22 anaçları  $\frac{3}{4}$ MS ortamında daha iyi sonuçlar sağlamıştır. Marianna anacı, 0.7 mg/l BAP içeren MS ortamında en iyi sonucu verirken, Myrobalan anacı 0.5 mg/l BAP içeren  $\frac{3}{4}$ MS ortamında en iyi sonucu vermiştir. Kullanılan her iki ortamda (MS ve  $\frac{3}{4}$ MS) BAP dozu arttıkça sürgün uzunluğunda azalma gözlenmiştir. Denemede ayrıca farklı hormon konsantrasyonlarının bulunduğu [(IBA, IAA ve NAA'nın 4 farklı dozu 0, 0.01, 0.1 ve 1.0  $\mu$ M)] ortamların anaçlar üzerindeki etkisi test edilmiştir. Anaçlar, oksinler ve konsantrasyonlarına göre farklı tepkiler vermiştir. IBA ve IAA oksinleri yapılan tüm uygulamalarda NAA'ye göre daha iyi sonuçlar vermiştir. GN-22 anacı en iyi sonucu IBA ve IAA'nın 0.01  $\mu$ M konsantrasyonunda verirken, Marianna anacı 0.01-1.0  $\mu$ M konsantrasyonlarında en iyi sonucu vermiştir. Myrobalan anacında, oksin tipleri ve konsantrasyonlarına göre önemli sonuçlar elde edilmemiştir.

Silveira ve ark. (2001), tarafından yapılan çalışmada *Prunus* anaçlarının çoğaltılması için yan gözlerden alınan eksplantların *in vitro* kültür ortamına aktarılması yapılmıştır. Kardeş bitki elde etmek için en iyi besi ortamının ve BAP konsantrasyonu bulunması amaçlanmıştır. GN-22, 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) içeren iki MS konsantrasyonunda (MS ve  $\frac{3}{4}$  MS) denenmiş ve genotiplerin bu besi ortamlarına farklı tepkiler vermişlerdir. GN-22 ve Mr. S 2/5 anaçları için  $\frac{3}{4}$  MS ortamında 0.7 mg/l BAP daha iyi sonuçlar verirken, Myrobalan anacı 0.5 mg/l BAP içeren  $\frac{3}{4}$  MS ortamında daha iyi sonuçlar vermiştir ve test edildiği iki MS konsantrasyonunda da BAP konsantrasyonunun artmasıyla sürgün uzunluğu azalmıştır. GF-677 anacı ise mikro çoğaltımda iyi sonuçlar göstermemiştir.

Kamali ve ark. (2001), *in vitro* ortamında doku kültürü yöntemi ile GF-677 anacının çoğaltımının araştırıldığı bir çalışmada, eksplantlar bahar döneminde sürgün uçlarından alınmıştır. Farklı hormon konsantrasyonlarının denendiği çalışmada katsayı çoğaltımı için en iyi sonucu 1 mg/l BA vermiştir. 0.3 mg/l NAA ve 1.6 mg/l thiamine içeren ortamda 7 günlük karanlık uygulamasından en yüksek köklenme elde edildiği bildirilmiştir.

Rodrigues ve ark. (2003), tarafından *Prunus* anaç adaylarının *in vitro* koşullarda sürgün çoğaltılması için besi ortam denemeleri kurulmuştur. Sürgün uçlarından 1 cm uzunluğunda eksplant parçaları hazırlanmıştır. Eksplantlar 16 saat fotoperiyot ve  $25 \pm 2$  °C sıcaklıkta tutulmuştur. Kurulan deneme MS,  $\frac{3}{4}$ MS, SH ve Villegas besi ortamları kullanılmış, bitkileri çoğaltmak için kullanılan besi ortamı olarak da SH ve  $\frac{3}{4}$ MS kullanılmıştır. Ayrıca  $\frac{3}{4}$ MS ortamında farklı agar miktarları da (4.5, 5.5 ve 6.5 g/l) denenmiştir. Denemede bitkilerin gelişme, enfeksiyon ve oksidasyon yüzdeleri saptanmıştır. Çoğaltma ortamında en yüksek büyüme, gelişme ve kardeşlenme oranı 5.5 g/l agar içeren  $\frac{3}{4}$  MS ortamında bulunmuştur.

Ahmad ve ark. (2003), tarafından *Prunus* türü anaçlarından olan GF-677 badem x şeftali melez anacının *in vitro* kültür ortamında çoğaltılması, besi ortamının ve BBD (bitki büyüme düzenleyici)'nin çoğaltıma etkisini araştırılmıştır. Yapılan çalışmada iki farklı besi ortamı; Mursahige ve Skoog (MS) ve Anderson (AND) kullanılarak, bitki büyüme düzenleyici olarak da sitokinlerden BA'nın 3 farklı konsantrasyonu (0.3, 0.6, 0.9 mg/l) incelenmiştir. Sürgün proliferasyonu, uzaması ve gelişimi üzerine en iyi sonucu MS besi ortamının verdiği, fakat MS besi ortamına göre AND besi ortamında bitkilerin sarardığı, camlaşma (vitriyifiye) olduğu ve küçük kaldıkları görülmüştür. En fazla sürgün sayısı 0.6 mg/l BA serisinde elde edilirken, en yüksek konsantrasyon olan 0.9 mg/l BA serisinde sürgün ucu ölümüne (apikal nekrozis) rastlanmıştır ve kallus oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen sürgünlerin köklenmesi aşamasında en iyi sonucu 3 mg/l IBA ile desteklenmiş  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamı vermiştir. IBA'nın 4 mg/l'lik konsantrasyonunda kök gelişiminin inhibe olduğu ve kallus meydana geldiği bildirilmiştir.

Channuntapipat ve ark. (2003), tarafından yapılan çalışmada badem x şeftali (Titan x Nemaguard) melezi bir anaç ile Nonpareil 15-1, Ne Plus Ultra badem çeşitleri *in vitro* kültür ortamında mikroçoğaltımı yapmak için sürgün uçlarından yaklaşık 0.7 cm uzunluğunda kültüre alınmıştır. Mikroçoğaltım bakımından 0.049 mM IBA, 3 mM BAP, 0.058 M sakkaroz ve % 0.7 agar içeren AP ortamının Nonpareil 15-1 genotipini iyi geliştirdiği, Ne Plus Ultra genotipini ise 0.049 mM IBA, 5 mM BAP, 0.088 M şeker ve % 0,7 agar içeren MS ortamının iyi geliştirdiği gözlenmiştir, aynı şekilde Titan x Nemaguard melezi için ise en iyi ortamın 10 mM BAP, 0.088 M sakkaroz ve % 0.7 agar içeren MS ortamının olduğu gözlenmiştir. Köklenme bakımından 2.4 mM IBA, 0.088 M şeker, % 0.7 agar içeren  $\frac{1}{2}$  MS ortamında 1 hafta karanlık ve 2 hafta ışıktaki bekletilen mikro sürgünlerde en iyi köklenme (%88) oranı belirlenmiştir.

Hepaksoy (2004)'a göre bitki doku kültüründe *in vitro* çoğaltma sağlandıktan sonra, köklendirmek ve köklü bitkilerin aklimatizasyonunu sağlamak önemli bir aşamadır. Özellikle zor köklenen bitkilerin çoğaltım işlemi başarılrsa da, köklenme sağlanamamaktadır. Son yıllarda bitki doku kültürü tekniği kullanılarak sert çekirdekli meyve anaçlarında mikroçoğaltım yapılmaktadır (Demirsoy ve Macit, 2007).

Paris ve ark. (2004), tarafından yapılan bir çalışmada bitki materyali olarak kullanılan eksplantları kültür ortamına alınması için dokuların olgun olması gen aktarımı kolaylığını sağlamaktadır. Bu nedenle *Prunus* anaçlarda eksplant kaynağı olarak bitkinin; tohum, yaprak, petiyol, internod, kök, çiçek taç yaprağı ve erkek organlarının gibi kısımlar doku kültüründe kullanılmaktadır. Eksplantlardan mikroçoğaltım elde etmek için farklı oksin (NAA, IAA, IBA, 2,4-D) ve sitokinin (BA, TDZ) grubu hormonları kullanılmaktadır. Besi ortamlarına ilave edilen bitki büyüme düzenleyiciler kullanılarak bitki organogenesisde oldukça etkili olmuştur.

Fotopoulos ve ark. (2005), yapmış oldukları bir çalışmada PR 204/84 (şeftali x badem) anacının 2,5 mg/l IBA konsantrasyonlu ½ MS ortamında eksplantlarının köklenme yüzdesinin MS besisi ortamına göre yükseldiği gözlemlenmiştir. Ayrıca ortalama kök sayısı ve kök uzunluğu 2,5 ve 5 mg/l IBA konsantrasyonlu ½ MS ortamında artış gösterdiğini sonucuna varmışlardır. Besi ortamına eklenen IBA konsantrasyonu 0'dan 10 mg/l ye yükseltildiğinde hem yarıya indirilmiş MS hem de MS besisi ortamında eksplant başına ortalama kök sayısının arttığını bildirmişlerdir. Besi ortamına ilave edilen IBA ve mineral madde miktarının ortalama kök uzunluğu üzerine önemli derecede etki etmediği gözlemlenmiştir. Yapılan ikinci bir denemede eksplantlar köklenmeye alındıktan sonra 12 gün karanlıkta bekletilmiş, daha sonra 12 günlük standart gelişme şartlarında bekletilmiştir. 12 saat karanlık uygulamasından sonra 12 saat ışıktaki bırakılan eksplantların 1.0 ve 2.5 mg/l IBA konsantrasyonunda 24 saat 16/8 aydınlık/karanlık şartlarına göre daha iyi köklendiği belirlenmiştir.

Andreu ve Marin (2005), tarafından yapılan çalışmada "Adesoto 101" isimli *Prunus* anacından alınan eksplantların doku kültüründe çoğaltılmasında besisi ortamının etkisini incelemişlerdir. Çalışmada nodal sürgün uçlarının sterilizasyonu için %0.05 etken madde içeren HgCl<sub>2</sub> (civaklorit) içerisinde 15 dakika uygulama yapılmış ve daha sonra 3 defa steril edilmiş saf su ile yıkanmıştır. Tek bir gözü olan (nodal veya lateral tomurcuk) eksplantlar kullanılarak 3 farklı besisi ortamı (MS, WP, QL) 1.12 mg/l BA, 0.1 mg/l IBA, 30 g/l şeker ve 7 g/l agar eklenerek besisi ortamı yapılmıştır. Kültüre alma işleminden sonra

eksplantların katsayısal olarak en iyi sonucun alındığı besi ortamı WP olmuş ve %63.9 oranında başarı sağlanmıştır. WP besi ortamına aktarılan bitkilerde %94.5 canlılık sonucuna varıldığı belirlenmiştir.

Yonghua ve ark. (2005), tarafından çilek yapraklarında sürgün rejenerasyonu üzerine çalışma yapılmıştır. Çalışmada MS besi ortamına sitokin hormonlarından olan TDZ'nin 1.5 mg/l miktarda ki besi ortamına ilave edilmesi ve IBA miktarını 0.2 mg/l'den iki kat artırılması sonucunda bitki başına düşen kardeş sayısının önem derecesinde artmıştır.

Pascual ve Marin (2005), tarafından *Prunus* cinsine ait 'Marianna 2624', 'Myrobalan 605 AD' ve 'Adafuel' anaçların genç sürgünlerinden alınan eksplantların rejenerasyondaki zorluğu üzerine yapılmış bir çalışmadır. Eksplantlara uygulanan 1.7 µM 2,4-D içeren sıvı MS besi ortamında 90 dakika bekletildikten sonra 3 µM tiamin, 2.6 µM NAA, 3.5 µM BAP, 20 mg/l sukroz, 0.5 ml/l PPM (Plant Prezervatife Mixture) içeren, ½ QL besi ortamına aktarılmıştır. Uygulamanın genotiplere göre değişmekle beraber rejenerasyonu teşvik etmektedir. Rejenerasyon besi ortamında BAP'ın bulunması, NAA'nın etkisi 2,4 -D'ye kıyasla rejenerasyonu etkisi daha fazla olmuştur.

Antonopoulou ve ark. (2005), yapıkları bir çalışmada 'GF-677' badem x şeftali melezi anacının 1 mg/l IBA içeren MS ortamına 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/l oranında Riboflavin (B2) ekleyerek köklenme üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Eksplantlarının *in vitro* ortamına alınmasından 4 hafta sonra yapılan gözlemlere göre B2 konsantrasyonun artmasına paralel olarak sürgünlerde köklenme oranı azalmıştır. 2.0 mg/l B2 ortamında hiç köklenme olmadığı, yapraklarda kloroz ve sürgün uçlarında nekrozlar olduğu görülmüştür. Riboflavin bulunmayan MS kontrol besi ortamına aktarılan mikro sürgünlerde köklenme oranı %100 olarak gözlemlenmiştir.

Srinivasan ve ark. (2005), *Prunus* türlerinden alınan eksplantların kaynağı olarak sürgün ucu ve nodal çelikler sterilizasyonda kullanılmıştır. Eksplant yüzeyinde bulunan doğa kaynaklı biyolojik vektörlerin ve viral hastalıkların uzaklaştırılmasıyla steril dokular elde edilmektedir. Birçok anaç çeşidinin (Ishtara, GF-677, Penta, Tetra GN-22 vs.) ticari olarak bu yöntemlerle virüs ve bakteriden arı bitkiler elde edilmiştir. Sürgün proliferasyonu için doku kültüründe en fazla kullanılan sitokin hormonu BAP'tır. Kültüre alma işleminde her genotipin farklı hormon kombinasyonları ve konsantrasyonları vardır.

Demirsoy ve Macit (2007), sert çekirdekli meyveler için kullanılan klon anaçların çelikle ve doku kültürü teknikleriyle çoğaltıldığından bahsetmişlerdir. İlk meyve ağaçlarının çoğaltılmasında şu ana kadar yapılan çalışmalarda köklenmesi kolay olan birkaç tür dışında çelikle üretmede başarılı olunamamıştır. 1930'lu yıllarda bitki büyüme düzenleyicilerinin (hormon) bulunmasıyla çoğaltım hız kazanmış ve hormon kullanımıyla bitkilerin köklendirilmesi mümkün olmuştur (Kankaya ve Özyiğit, 1998). Bununla birlikte doku kültüründe bitki çoğaltmak hızlanmıştır.

Arıcı (2008), yaptığı çalışmada sert çekirdekli türlerinde anaç olarak kullanılan Myrobolan 29-C, Maxma 14, Maxma 60, GF-677 ve Garnem anaçlarının yıllık sürgünlerin yan ve tepe tomurcuklarını *in vitro* kültür ortamında kullanarak mikro çoğaltım olanaklarını araştırdığı çalışmasında, en fazla sürgün oluşumunu Myrobalan-29C klonu için 1 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA, Maxma 60 için 2 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, Maxma 14 için 2 mg/L BAP+0.2 mg/l NAA+0.5 mg/L GA<sub>3</sub>, GF 677 için 1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, GN için 1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA+ 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> içeren MS ortamlarından elde etmiştir.

Canlı ve Tian (2009), Japon eriklerinin (*Prunus salicina* L.) doku kültüründe bitki kardeşlenmesi üzerine yaptıkları çalışmada hormon konsantrasyonlarını karşılaştırmışlardır. Gelişimini tamamlamış kotiledon yapraklarından aktif durumda olmayan sürgünlerden eksplant alınmıştır. Kardeş bitki elde etmek için besi ortamına eklenen TDZ ve BA hormonlarıyla başarılı sonuçlar alınmıştır. Farklı miktarlarda eklenen sitokinin grubu hormonlarının aydınlık ve karanlık ortamlarda bitki üzerinde etkisine gelişimi izlenmiştir. Bu denemenin verilerinden sonuçla BA kullanımının TDZ'ye göre bitki kardeş sayısı daha etkili olduğu bilgisine varılmıştır.

Ying-Ning (2010), yaptığı bir çalışmada erik türlerinden olan *Prunus salicina*'nın yıllık sürgünleri için etkili bir *in vitro* kültür denemesi kurmuştur. Arazi koşullarında yetiştirilen anacın uç sürgünlerin 1 cm uzunluğunda eksplantlar kesilerek steril edilmiştir. En iyi ortam olarak 0.05-0.1 mg/l IBA, 0.5-1.0 mg/l BA, 30 g/l şeker ve 5 g/l agar ilaveli WPN besi ortamı belirlenmiştir. En iyi sürgün oluşumu, 0.05-0.1 mg/l IBA, 0.2 mg/l BA, 0.3 mg/l kinetin ve 1.0 g/l kazein hidrolizat ilaveli WPN besi ortamından elde edilmiştir. Sürgün uzunluğunun en iyi olduğu besi ortamı 0.05 mg/l IBA, 0.3 mg/l Kin/BA ve 1.0 g/l kazein hidrolizat eklenen WPN besi ortamı oluşmuştur. Sürgünler 0.2-0.5 mg/l IBA, 15 g/l şeker ve 20-40 mg/l Phloroglucinol ilave edilmiş ½ MS besi ortamında köklenmiştir.

Rejenere edilen sürgünler başarılı bir şekilde aklimatizasyon (dış koşullara aktarma) sağlanmıştır.

Sarropulou ve ark. (2012), sert çekirdekli meyve türlerinden özellikle badem, şeftali, erik, kiraz, vişne ve bunlardan hariç birçok melezleme yoluyla elde edilen anaçların tohumları ya da yaprak eksplantlarından doku kültürü ortamında sürgün rejenerasyonunun kayda değer şekilde sonuçlar elde etmişlerdir.

Jimener ve ark. (2012), Garnem ve GF-677, UFO-3, Maruja, Flariba ve Alice Bigi şeftali çeşitlerinde rejenerasyon protokolü oluşturmak için çalışma yürütmüşlerdir. Çalışmada kallus elde etmek için BA ve IBA bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır. Rejenerasyonda en iyi sonucu 2 mg/l BA ve 1 mg/l IBA oranlarında kullanılan besi ortamlarında elde edilmiştir.

Yıldırım (2012), sert çekirdekli meyve ağaçlarında embriyo kültürünü; ıslah, mikroçoğaltım, morfoloji gibi temel doku kültürü çalışmalarından birisi olarak tanımlamıştır. Yaptığı çalışmada kayısı çeşitlerinden olan Hacihaliloğlu, Kabaası, Çataloğlu, Tokaloğlu, Alyanak, Sakıt-1, İsmailağa, Hacıkız, İri Bitirgen, Çekirgen-52, Şalak (Aprikoz), İmrahor, Hasanbey ve Karacabey çeşitlerinde doku kültüründe embriyolar izole elde etmiştir. İzolasyondan sonra embriyolar, 1 mg/l BAP ilave edilen MS ve WPM besi ortamlarında kültüre alınmıştır. BAP'ın zigotik embriyo üzerindeki etkisini görmek için 14. günden itibaren; çimlenme oranı, sürgün uzunluğu, kök ağırlığı, kök uzunluğu, sürgün çapı, sürgün ağırlığı gibi veriler alınmıştır. Alınan verilere göre embriyonun çimlenme oranı MS kültür ortamında Kabaası, Tokaloğlu ve Çekirge-52 çeşitlerinde; WPM'de ise Hacihaliloğlu ve Tokaloğlu çeşitlerinde %100 olarak gerçekleşmiştir. Hacihaliloğlu çeşidi sürgün uzunluğu bakımından her iki ortamda da en iyi sonucu vermiştir. Her iki besi ortamında çeşit karşılaştırılması yapıldığında Karacabey çeşidi kök uzunluğunda en iyi sonucu vermiştir.

Özbek ve ark. (2014), yapmış oldukları bir çalışmada, *in vitro* ortamında üretilen Cadaman, Garnem ve Myrobalan-29C klon anaçlarının kök-ur nematodları *Meloidogyne incognita* ve *M. javanica*'ya hassasiyet düzeylerini araştırmışlardır. Bu nedenle, Garnem, Cadaman anaçlarından alınan sürgün uçları 2.0 mg/l BAP + 0.05 mg/l GA<sub>3</sub> hormonu içeren MST ortamında, Myrobalan-29C klonu ise 1.0 mg/l BAP içeren MS besi ortamında kültüre alınmışlardır. Farklı IBA konsantrasyonlarını içeren MS ve MST ortamları sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda üretimi yapılan Garnem,

Cadaman ve Myrobolan 29C klonunun *M. incognita* ırk 2 ve *M. javanica*'nın 1000 adet 2. dönem larvası ile inokule edilmiştir. İnokulasyondan 3 ay sonra anaçların köklerinde kök ur nematodlarının oluşturduğu gal oranı ve topraktaki nematod popülasyonu belirlenmiştir.

Shabani ve ark. (2015)'nin yaptığı denemenin amacı doku kültürü ortamında Myrobolan 29C anacının mikroçoğaltımı için en uygun hormon konsantrasyonlarını belirlemektir. Anaçtan alınan eksplant örneklerinde yapılan sterilizasyonda birçok uygulama yapılmıştır. Steril sürgün ucu elde etmek için kullanılan sterilizasyon kimyasallarından en iyi sonucu %10'luk sodyum hipokloritin 30 dakika uygulaması verilmiştir. Çoğaltma ve köklendirme aşamalarında MS, WPM ve DKW ortamları ile 5 farklı BAP ve TDZ dozu, 3 farklı IBA ve NAA dozu kullanmışlardır. En fazla sürgün sayısı ve en uzun sürgün uzunluğunu MS ortamında 2 mg/l BAP dozundan elde etmişlerdir. En yüksek köklenme oranının DKW ortamında 1 mg/l NAA ve en uzun kök uzunluğunun ise MS ortamında 2 mg/l NAA dozunda gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Sadeghi ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada, *Prunus empyrean*'in 3 çeşidinde *in vitro* doku kültürü mikroçoğaltım yapılması için protokol geliştirmek amaçlanmıştır. Sürgün çoğaltma denemesinde eksplant başına en yüksek sürgün sayısı 0.8 mg/l BAP ve 0,05 mg/l IBA hormon konsantrasyonunda ve MS besi ortamında elde edilmiştir. En yüksek köklenme ise 0,5 mg/l IBA, 1,6 mg/l tiamin ve 150 mg/l demir ekstrası eklenmesi ile ½ MS besi ortamında gözlenmiştir. Bu konsantrasyonda bitkilerde köklenmede %100 başarı sağlanmıştır.

Alam ve Barua (2015), yaptıkları çalışmada Avrupa eriğinin (*Prunus domestica*) yıllık sürgün uçlarından örnek alarak doku kültürüne aktarmışlardır. Yapılan çalışmada ½ MS besi ortamına 1 mg/ l IBA+ 0.5 mg / INAA eklenmiştir. Kültür ortamına alınan yaprak eksplantları kallus oluşması için yapılan denemede kallus oluşumunda düşük bir oluşum gözlemlenmiştir. Taze sürgünlerden 1.5 cm uzunluğunda nodal segmentler kesilip steril edilerek *in vitro* ortama dikilmiştir. MS besi ortamına 2-6 mg/l Kinetin; 2, 3, 5 mg/l BAP ve 2 mg/l BAP ile 4 mg/l KIN hormon kombinasyonlarının eklenilmesi ile iyi sonuçlar alınmıştır. En yüksek sürgün uzunluğu (1.20±0.15 cm), en fazla sürgün sayısı (3.00±0.35 adet) ve en fazla yaprak sayısı (14.25±1.45 adet) 4 mg /l KIN gözlenmiştir. Sürgün sayısı olarak en iyi sonucu 2 mg/l BAP ile 2-6 mg/l KIN ve 4 mg/l KIN kombinasyonlarında elde edilmiştir.

Park ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada *Prunus* anaçlarından *in vitro* ortamında odunsu eksplantlar kullanarak adventif köklenme denemesi yapmışlardır. Olgun eksplantlar gen transformasyonu ve adventif kök oluşumunda etkili olmuştur. Yapılan hormon analizinde şeftali sürgünleri *in vitro* doku kültüründe 1. ve 2. yıl boyunca indol-3-asetik asit (IAA) içeren köklenme ortamında kültüre alınmıştır. Köklenme için yapılan bu denemede en yüksek sonuç 2 yıl boyunca IAA hormonuyla muamele edilmesinden elde edilmiştir.

Hepaksoy (2017), GF-677 klon anacının sürgün ucu tekniğiyle çoğaltılması amacıyla mineral miktarında değişiklik yaparak modifiye ettiği Murashige Skoog (MS) besin ortamını kullanmıştır. Sürgün uçlarının canlılık oranı %38 ile %60 arasında değişmiş ve BAP konsantrasyonu arttıkça canlı bitki oranı da artmıştır. En iyi çoğalma 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> içeren MS ortamından elde edilmiş, genel olarak besin ortamında GA<sub>3</sub> bulunmasının kardeşlenme sayısını arttırdığı tespit edilmiştir.

Bulunuz Palaz ve Uğur (2018), klonal anaç aday SP-2'nin (*Prunus spinosa*) (Uğur ve Paydaş Kargı, 2018) *in vitro* kültür ortamında çoğaltılabilir durumu üzerine çalışmalar yapmışlardır. Doku kültüründe çoğaltılan bitkilerde hastalıktan ve bakteriden arı, adına doğru kitlesel üretim yapılabilir ilkesinden yararlanılarak, çalışmada besi ortamı olarak MS (Murashige and Skoog) ve bu ortama ek olarak dört farklı bitki büyüme düzenleyicinin kombinasyonları kullanılarak hormon içerikleri farklı iki besi ortamı hazırlanmıştır. MS-1 (TDZ 0.75mg/l, NAA 0.5 mg/l, GA<sub>3</sub> 0.5 mg/l, IBA 0.5 mg/l), MS-2 (TDZ 1.5 mg/l, NAA 1.5 mg/l, GA<sub>3</sub> 0.5mg/l, IBA 0.5 mg/l) ve kontrol olarak kullanılacak besi ortamı olan hormonsuz MS-0 denenmiştir. Denemeden elde edilen verilere göre bir bitkiden elde edilen en yüksek kardeşlenme sayısı MS-1 besi ortamından (12.60 adet/ eksplant) ve en uzun kardeş uzunluğu 14.19 mm sonucuyla MS-0 besi ortamından elde edilmiştir. Veri sonucuna göre en yüksek kardeşlenme oranının ve bitki büyüme düzenleyici miktarının daha az miktarda kullanıldığı MS-1 ortamının, MS-2 ortamıyla karşılaştırıldığında daha iyi ve ticari olarak düşünüldüğünde daha ekonomik olduğu belirtilmiştir.

Aydın ve Yarılgaç (2020), tarafından kiraz ve vişne genotiplerinden alınan eksplantlar *in vitro* kültür ortamına alınmıştır. Süren eksplantlar farklı konsantrasyondaki 0, 0.5 ve 1 mg/l BAP ilave edilen MS besi ortamına aktarılmıştır. Uygulanan 1 mg/l BAP hormon düzeyinin kiraz ve vişne genotiplerindeki bitki kardeş sayısı 2.14 - 4.10 adet ve 2.73 - 3.09 adet arasında belirtmişlerdir. Hormon miktarındaki artışın bitki kardeş sayısı üzerine etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

### 3.MATERYAL VE METOT

#### 3.1.Bitki Materyali

Araştırmada bitkisel materyal olarak Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi tarafından yürütülmekte olan, Kahramanmaraş Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nün de proje ortağı olduğu 217 O 024 Nolu "Türler Arası Melezleme İle Elde Edilen Bazı *Prunus* Melezlerinin Şeftali Anacı Olarak Değerlendirilmesi" adlı projeden elde edilen bireyler arasından seçilen 2 adet melez *Prunus* anaç adayı ile GF-677 ve GN-22 anaçlarından alınan eksplantlar kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

**Çizelge 3.1.** Doku kültürü çalışmalarında kullanılan anaçların orijinleri

<b>Klon Adı</b>	<b>Melez Anacın Kökeni</b>
<b>FG-69</b>	<i>P. amygdalus</i> X ( <i>P.amygdalus</i> X <i>P. persica</i> )
<b>FG-71</b>	<i>P. amygdalus</i> X ( <i>P.amygdalus</i> X <i>P. persica</i> )
<b>GN-22</b>	<i>P.amygdalus</i> X <i>P. persica</i>
<b>GF-677</b>	<i>P.amygdalus</i> X <i>P. persica</i>

#### 3.2.Metot

Bu tez çalışması Kahramanmaraş Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü doku kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

##### 3.2.1. Eksplantların Alımı

Serada sulaması ve bakımı gerçekleştirilmiş olan anaçların ilkbaharda uç sürgünlerinin 8-12 cm uzaması sonucunda elde edilen taze sürgünleri kesildikten sonra laboratuvar ortamına getirilmiştir.



**Şekil 3.1.** Sera koşullarında kontrollü yetiştirilen bitkilerde eksplant alımı

- A- Kontrol anacından eksplant alınmadan önceki hali
- B- Kontrol anacının sürgün uçlarından kesimi
- C- Yapraklarından temizlenen taze sürgünler
- D- Sterilizasyona hazır hale getirilmiş eksplantlar

### 3.2.2. *In vitro* Kültüre Alınmanın Ön Hazırlığı

Denemede kullanılacak materyale ait eksplantların *in vitro* koşullarında herhangi bir kaynaktan meydana gelebilecek enfeksiyonu ve kontaminasyonu engellemek için ön hazırlık yapılmıştır. Başlangıç materyalinin hazırlığının yanı sıra, kullanılan alet ve ekipmanlar, steril kabin temizliği, besi ortamı ve kültür kaplar tamamen steril şartlar

altında hazırlanmıştır. Çalışmada izlenen sterilizasyon teknikleri aşamaları aşağıda belirtilmiştir.

### 3.2.3. Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu

Kültüre alma işlerinin yapılması esnasında kullanılacak pens ve bisturiler % 96 etil alkol ile silinerek çift kat alüminyum folyoya sarılmış, iki adet buzdolabı poşetine konulduktan sonra ağzı bağlanıp sterilizasyon işlemine hazırlanmıştır. Cam malzemeler kullanılmadan önce (tüp, kavanoz, petri kutusu, erlen, mezür, balon joje, pipet, beher vs.) sıcak su ve fırça yardımıyla tamamen temizlenmiştir. Eksplantların sterilizasyon aşamasında kullanılmak üzere, saf su otoklavlanabilir şişelere doldurularak kapaklar streç ile sarılmıştır. Steril kabin içinde kullanılmak üzere peçetelerin alüminyum folyoya sarılması ve sterilizasyonu için ön hazırlığı yapılmıştır. Eksplantların sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra kurutma ve kesme işlemlerinin yapılması için steril edilmiş cam petri kapları kullanılmıştır. Cam petri kapları çift kat kurutma kâğıdı yerleştirilerek buzdolabı poşeti içine konup bağlandıktan sonra 121°C'de 20 dakika 1,2 atm basınçta otoklav edilmiştir.



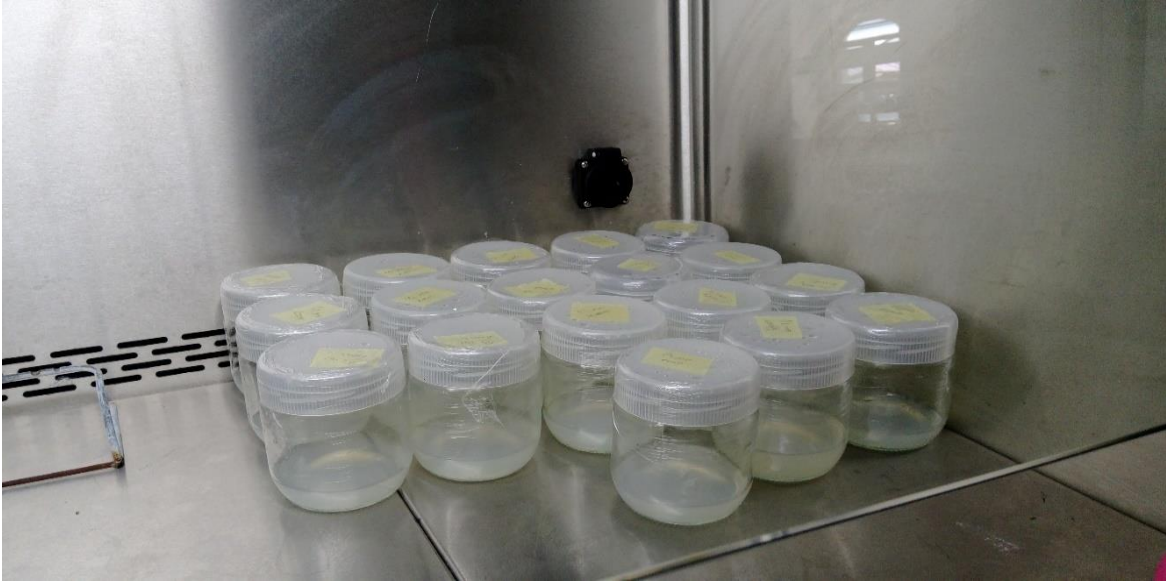
Şekil 3.2. Steril edilen alet ve ekipmanlarınve steril kabin içi görünümü

### 3.2.4. Steril Odanın Hazırlığı

Ön hazırlığın yapıldığı odadan bağımsız olarak fungus ve bakteri gibi doğadan kaynaklı bulaşıcılardan uzak, hava akışlı steril kabin içerisinde kültüre alma işlemi yapılmıştır. Steril oda ticari hypo ile silinmiştir. Steril kabinin içerisi her çalışmadan önce %70'lik etil alkol ile temizlenmiş ve 15 dk. UV lamba açılmıştır.

### 3.2.5. Besin Ortamı Hazırlığı

*In vitro* kültür ortamı olarak ½ MS Murashige and Skoog (1962) ve WPM (Lloyd ve McCown, 1981) besi ortamları kullanılmıştır. 1 L MS besi ortamı hazırlığında kullanılan kimyasallar Çizelge 3.2.'de verilmiştir. ½ MS besi ortamı için tabloda kullanılan makro besin elementleri, mikro besin elementleri, vitamin, Fe EDTA'nın ½'si kullanılmış ve sıvı bir çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözeltiliye (½ MS besi ortamına) 30 g şeker ve agar ilave edilmiştir. Her bir ortamın 1 litrelik hazırlanması için gerekli kimyasallar aşağıdaki Çizelge 3.2.'de verilen oranlarda hesaplamaları yapılmıştır. Her iki besi ortamına ½ MS için 30g/l şeker, WPM için 20g/l şeker ilave edilmiştir. Besi ortamına hormon eklendikten sonra NaOH veya HCl eklemesi sonucunda pH'ı 5.6-5.8'e ayarlanmıştır. Yarı katı ortam elde etmek için 7 g/l agar eklenmiştir. Besin ortamları hazırlandıktan sonra 350 ml'lik şişelere her bir şişede 65 ml olacak şekilde besi ortamları dağıtılmıştır. Şişelerin kapakları kapatıldıktan sonra sterilizasyon için otoklavda 1.2 atmosfer basınç altında, 121 °C sıcaklıkta 15 dakika süre ile bekletilmiştir. MS ve WPM temel besi ortamlarınının 1 L sıvı çözeltisi için kullanılan içerikleri Çizelge 3.2.'de verilmiştir.



**Şekil 3.3.** Eksplantların aktarılması için hazırlanmış besi ortamları

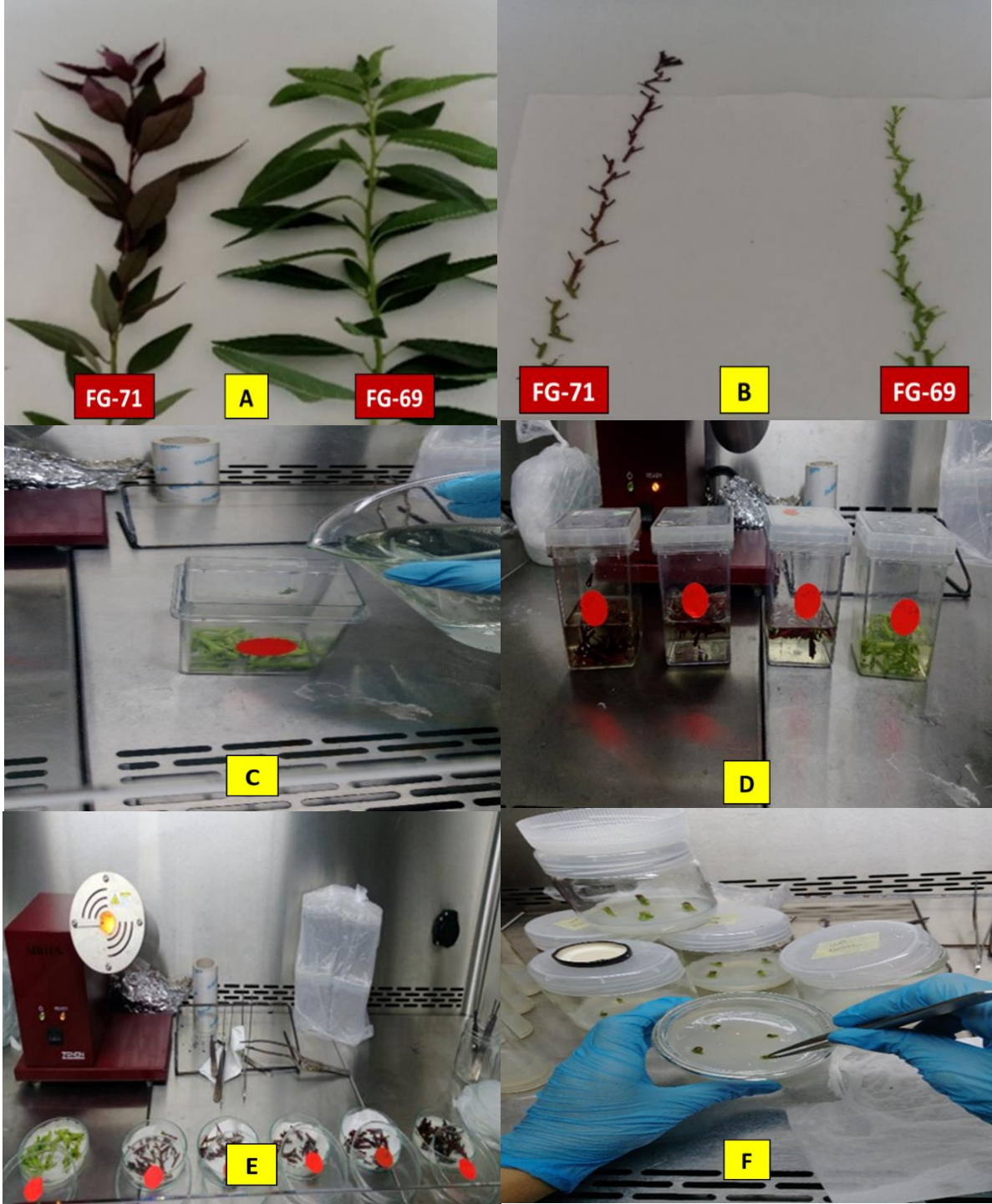
**Çizelge 3.2.** MS ve WPM besi ortamı ortamları ve kimyasal bileşimleri

Kimyasallar	MS (mg/L)	WPM (mg/L)
<b>Makro Elementler</b>		
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> (Amonyum Nitrat)	33.0	8.0
KNO <sub>3</sub> (Potasyum Nitrat)	38.0	0
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Potasyum Fosfat)	3.4	3.4
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 4H <sub>2</sub> O (Kalsiyum Nitrat Tetrahidra)	0	9.425
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (Magnezyum Sülfat Pentahidrat)	7.4	3.61
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O (Kalsiyum Klorür Dihidrat)	8.8	1.45
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (Potasyum Sülfat)	0	19.8
<b>Mikro Elementler</b>		
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O (Mangan Sülfat)	22.3	2.23
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O (Çinko Sülfat Heptahidrat)	8.6	0.86
Na <sub>2</sub> MO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O (Sodyum Molibdat Dihidrat)	0.25	0.025
KI (Potasyum İyodür)	0.83	0,83
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub> .(Borik Asit)	6.20	0.62
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O (Kobalt Klorür Hekzahidrat)	0.025	0.025
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O (Bakır Sülfat Penta Hidrat)	0.025	0.025
<b>Fe EDTA</b>		
FeSO <sub>4</sub> (Demir Sülfat Heptahidrat)	27.8	27.8
Na <sub>2</sub> EDTA (Sodyum EDTA)	37.3	37.3
<b>Vitaminler</b>		
Glycine	2.0	2.0
Nicotinic Acid	0.5	0.5
Thiamin HCl	0.1	0.1
Pyridoxine HCl	0.5	0.5
Myo-İns.	0.1	0.1
Sukroz	30 gr	20 gr
Agar	7-8 gr	7-8 gr
Thiamin HCl	0.1	0.1
Pyridoxine HCl	0.5	0.5

### 3.2.6. Bitki Eksplantlarının Yüzey Sterilizasyonu

*In vitro* ortamına alınacak çelikler ilkbaharda sürmüş olan taze sürgünlerden alınmıştır. Sürgünler ana bitkiden alındıktan sonra mevcut olan yaprakları kesilerek içi su dolu bir kap içerisinde *in vitro* kültüre alınmadan önce laboratuvarın ön hazırlık odasına getirilmiştir. Çelikler, içerisinde en az bir sürgün gözü bulunacak şekilde 15-20 mm'lik bitki parçalarına ayrılmıştır. Ayrılan bu parçalar eksplant kaynağı olarak kullanılmadan önce 15 dakika boyunca su dolu bir kaptaki bekletilip ve arada bir de çalkalanarak fiziksel olarak doku üzerinde yoğunlaşmış olan mikroorganizmalar uzaklaştırılmıştır. Daha sonra bitki eksplantlar, % 70 etanolde 1 dk bekletilip % 30 sodyum hipokloritte (NaOCl) 20 dk bekletilmiştir. Sterilizasyon uygulaması yapıldıktan sonra eksplantlar 3 defa 5'er dakikalık sürelerle steril saf su ile yıkanarak yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır. Daha sonra üzerindeki fazla suyun kuruması için eksplantlar steril edilmiş kurutma kağıdında

kurutulmuştur. Eksplantlar bitki büyüme düzenleyici içermeyen ½ MS ve WPM besi ortamlarına (65 m/l) cam kavanozlara aktarılarak *in vitro* kültüre alınmıştır. Besi ortamına aktarılan eksplantlar 18/6 (aydınlık/karanlık) fotoperiyotta ve 20-22 °C’de iklim odasında inkübe edilmiştir.



Şekil 3.4. Anaçların yüzey sterilizasyonu ve besi ortamlarına dikilmesi

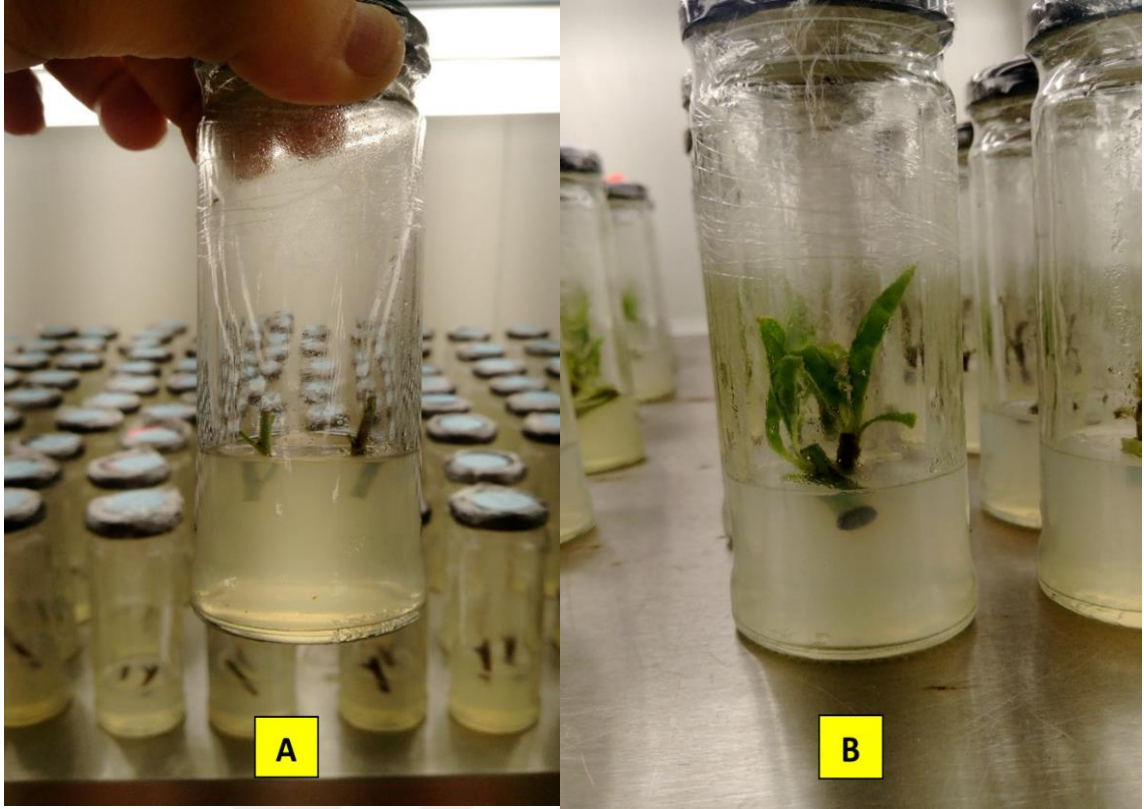
- A- Eksplant kaynağı sürgünlerin laboratuardaki görüntüsü
- B- 2-3 cm uzunluğunda nodal eksplant hazırlanması
- C- Steril kabin içerisinde eksplantların sterilizasyonu
- D- Eksplantların 3 kez saf sudan geçirilerek durulanması
- E- Eksplantların sterilizasyon işlemi sonrası kurutulması
- F- Eksplantların besi ortamlarına aktarılması

### 3.2.7. Bitki Rejenerasyonu ve Kardeşlenme Besi Ortamları

Yüzey sterilizasyonundan geçen eksplantların yaklaşık 3-4 hafta sonra yaprak koltuklarından süren gözlerden elde edilen sürgünler, kardeşlenme besi ortamında eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Bu eksplantlardan bitki rejenerasyonun sağlanması ve kardeşlenme için, farklı bitki büyüme düzenleyicileri ve bunların farklı kombinasyonlarını içeren ½MS ve WPM besi ortamları hazırlanmıştır. Besi ortamı kombinasyonlarında sitokinin grubundan BAP (6-Benzylaminopurine), TDZ (Thidiazuron) ve oksin grubundan NAA ( $\alpha$ -Naphthalene Acetic Acid) ve IAA (Indol Acetic Acid) kullanılmıştır.

**Çizelge 3.3.** Besi ortamlarına ilave edilen hormon kombinasyonları

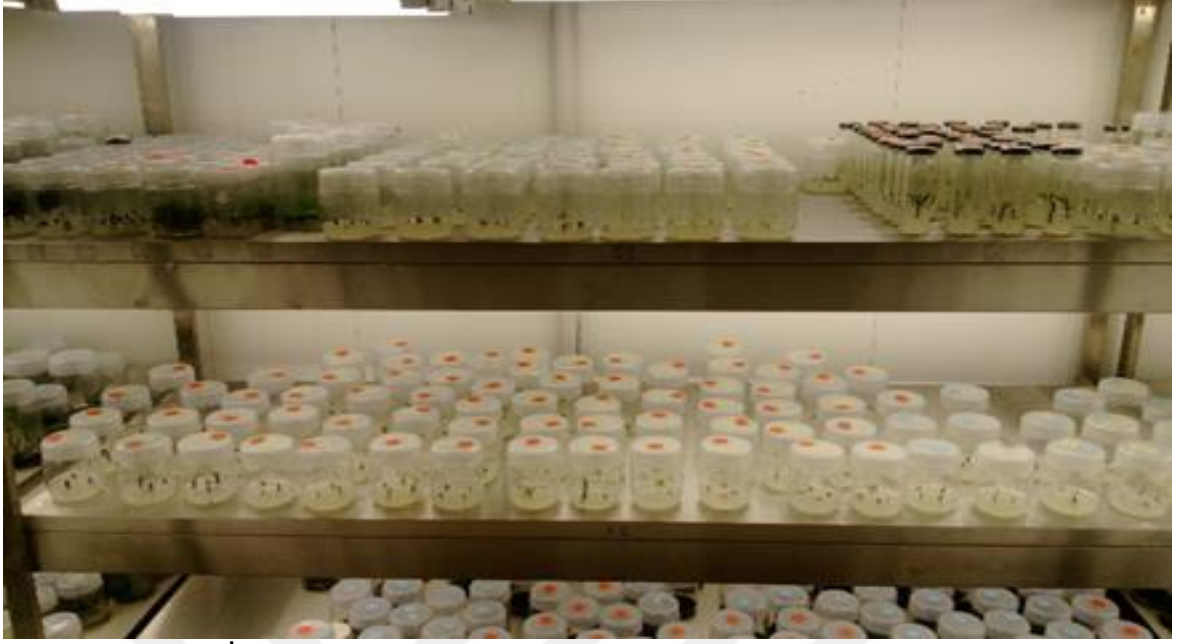
Kombinasyon No	Hormonlar			
	BAP (mg/L)	TDZ (mg/L)	IAA (mg/L)	NAA (mg/L)
<b>KOMB-0</b>	0	0	0	0
<b>KOMB-1</b>	0.5	-	0.2	0.25
<b>KOMB-2</b>	0.75	-	0.2	0.25
<b>KOMB-3</b>	1.00	-	0.2	0.25
<b>KOMB-4</b>	-	0.5	0.2	0.25
<b>KOMB-5</b>	-	0.75	0.2	0.25
<b>KOMB-6</b>	-	1.00	0.2	0.25



**Şekil 3.5.** Yüzeysel sterilizasyonu tamamlandı ve besiy ortamına aktarılmış sürgünler

- A- Sürmeye bırakılan eksplantlar
- B- Besiy ortamında süren eksplantlar

Bitki büyüme düzenleyicilerin farklı kombinasyonlarını içeren 1/2 MS ve WPM besiy ortamlarına transfer edilen eksplantlar 1600 lux'e ayarlanan 16 saatlik fotoperiyotta ve 20-22°C sıcaklığa sahip tam otomasyonlu iklim odasında kültüre alınmıştır. Eksplantlar rejenerasyon ortamına alındıktan sonra bitki gelişim durumuna göre yaklaşık 8-10 hafta sonra besiy ortamlarına ilave edilen bitki büyüme düzenleyicilerin; sürgün uzunluğu (mm), sürgün sayısı (adet), köklenme (%), kök uzunluğu (mm), kök çapı (mm), vitrifikasyon (camlaşma), sararma, kallus oluşumu ve yaş ağırlık (g) üzerine etkileri değerlendirilmiş ve veriler alınmıştır.



**Şekil 3.6.** İklim odasından görünüm

### **İstatistiksel Analizler**

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü, her tekerrürde 3 şişe ve her şişede 5 eksplant olacak şekilde yapılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicileri ilave edilmeyen  $\frac{1}{2}$ MS ve WPM temel besi ortamı kontrol olarak kullanılmıştır. Sonuçlara ilişkin varyans analizleri % 5 önem derecesinde JMP 5.0 istatistik programında yapılmıştır. Ortalamaların karşılaştırılması ise LSD testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

## 4.BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Farklı Besi Ortamlarının Bitki Rejenerasyonu Üzerine Etkileri

#### 4.1.1. Sürgün Kardeşlenme Oranı (adet/eksplant)

İki farklı besi ortamına ( $\frac{1}{2}$  MS, WP) ilave edilen farklı hormon kombinasyonlarının seleksiyon sonucu elde edilen klon anaçlardan seçilmiş (FG-69, FG-71) ve kontrol anaçlarındaki (GN-22, GF-677) kardeş bitki oluşumuna olan etkileri Çizelge 4.1.'de görülmektedir. Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda besi ortamı uygulaması haricindeki tüm uygulama ve bunların interaksiyonlarının anaçlarda kardeş bitki oluşumuna önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır.

Seçilmiş (FG-69, FG-71) ve kontrol (GN-22, GF-677) anaçlarında kardeş bitki oluşumu ortalama 1.35-2.24 adet/eksplant arasında değişim göstermiştir. En yüksek kardeş bitki oluşumu FG-69 anacında (2.24 adet/eksplant) gözlemlenirken bunu aynı istatistiksel grupta yer alan FG-71, GN-22 ve GF-677 ve anaçları sırasıyla 1.56, 1.48 ve 1.35 adet/eksplant değerleriyle takip etmiştir. Anaçların istatistiksel dağılımına bakıldığında ortalama kardeş bitki oluşumlarında yüksek bir dağılımın olmadığı, iki farklı ana grubun oluştuğu, FG-69 anacının diğer seçilmiş ve kontrol anaçlarından daha üstün özellik gösterdiği saptanmıştır.

İki farklı ( $\frac{1}{2}$  MS ve WP) besi ortamının seçilmiş ve kontrol anaçlarındaki kardeş bitki oluşumuna istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmadığı gözlenmiştir. Çalışmada anaçlardan alınan veri sonuçlarına göre besi ortamları toplamı kardeş bitki sayısı WP (Woody Plant)'de 1.76 adet/eksplant olurken,  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamında 1.56 adet/eksplant olmuştur. Aydın ve Yarılgaç (2020), tarafından kiraz ve vişne genotiplerinin *in vitro* koşullarda çoğaltılabilme performansının belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada en fazla bitki sürgün sayısı 1 mg/l BAP dozundan elde edilmiştir. Kiraz genotiplerinde 4.10 adet, vişne genotiplerinde 3.09 adet sonucuna varıldığı bildirilmiştir. Yaptığımız denemede de seçilmiş klon FG-69 anacında uygulanan hormon kombinasyonu KOM3 (1.0 mg/l BAP+ 0.2 mg/l IAA+ 0.25 mg/l NAA) sonucuna göre elde edilen kardeş bitki sayısı 4.43 adet/eksplant olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Eksplant başına kardeş bitki oluşumları (adet/eksplant)

Kombinasyonlar	Anaçlar								Kombinasyon Toplamı
	FG-69		FG-71		GN-22		GF-677		
	Besi Ortamları								
	½MS	WP	½MS	WP	½MS	WP	½MS	WP	
<b>Komb-0</b>	1.33 e-1	1.16 f-1	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.29 e-1	0.96 gh <sub>1</sub>	0.84 ı	0.90 h <sub>1</sub>	<b>1.06 D</b>
<b>Komb-1</b>	2.13d-g	2.50 cde	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.63 d-1	1.72 d-1	1.10 f-1	1.55 d-1	<b>1.58 C</b>
<b>Komb-2</b>	4.30 b	4.16 b	2.66 cd	1.03 gh <sub>1</sub>	1.16 f-1	1.00 gh <sub>1</sub>	1.40 e-1	1.00 gh <sub>1</sub>	<b>2.09 B</b>
<b>Komb-3</b>	4.43 b	3.53 bc	2.10 d-h	1.10 f-1	1.43 e-1	7.33 a	1.40 e-1	6.56 a	<b>3.48 A</b>
<b>Komb-4</b>	2.30 def	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.56 d-1	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	<b>1.23 CD</b>
<b>Komb-5</b>	1.06 gh <sub>1</sub>	1.13 f-1	1.14 f-1	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	<b>1.04 D</b>
<b>Komb-6</b>	1.10 f-1	1.30 e-1	1.36 e-1	1.33 e-1	1.03 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	1.00 gh <sub>1</sub>	<b>1.14 D</b>
<b>Anaç X Besi Ort.</b>	<b>2.38 A</b>	<b>2.11 AB</b>	<b>1.6 C</b>	<b>1.10 D</b>	<b>1.13 D</b>	<b>2.02 ABC</b>	<b>1.10 D</b>	<b>1.86 BC</b>	
<b>Anaç Toplamı</b>	<b>2.24 A</b>		<b>1.56 B</b>		<b>1.48 B</b>		<b>1.35 B</b>		
<b>Besi Ort. Toplamı</b>	<b>½ MS</b>				<b>WP</b>				
	<b>1.56 A</b>				<b>1.76 A</b>				
<b>LSD<sub>0.05</sub></b>	<b>Anaç: 0.45**</b>	<b>Besi Ortamı: Ö.D.</b>	<b>Kombinasyon: 0.61**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı: 0.84*</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon: 1.20**</b>		



**Şekil 4.1.** Seçilmiş anacın KOM3 kombinasyonundan görünüm

Biri kontrol olmak üzere farklı hormon kombinasyonlarından oluşan yedi kombinasyonun seçilmiş ve kontrol anaçlarındaki kardeş bitki oluşumuna etkilerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu çalışmada ortaya çıkmıştır. Kombinasyonlar arasındaki dağılımın yüksek olduğu ve istatistiksel olarak dört farklı gruba ayrıldığı saptanmıştır. 3.48 ile 1.04 adet/eksplant arasında değişim gösteren dağılımda en yüksek değer KOM3 kombinasyonunda 3.48 adet/eksplant değer ile bulunmuş, en düşük kardeş bitki oluşumuna ise KOM5 (0.75mg/l TDZ + 0.2mg/l IAA + 0.25mg/l NAA), KOM0 (Hormonsuz) ve KOM6 (1.0mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA+0.25mg/l NAA) kombinasyonlarında sırasıyla 1.04, 1.06 ve 1.14 adet/eksplant değerlerine rastlanılmıştır. Dağılıma genel olarak bakıldığında kardeş bitki oluşumunun ortalama 1.5 adet/eksplant civarında olduğu ancak KOM3 ve KOM2 (0.75 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) kombinasyonlarının 3.48 ve 2.09 adet/eksplant değerleriyle dağılımda dikkati çekecek yönde yüksek etki yaptıkları anlaşılmıştır. Hepaksoy (2017), GF-677 klon anacının modifiye Murashige Skoog (MS) besin ortamı hazırlanarak mikroçoğaltımını yaptığı çalışmada, %38 ile %60 arasında değişen BAP konsantrasyonlarının, arttıkça canlı bitki oranında arttığını belirtmiştir. En iyi çoğalma 2.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l NAA + 0.1

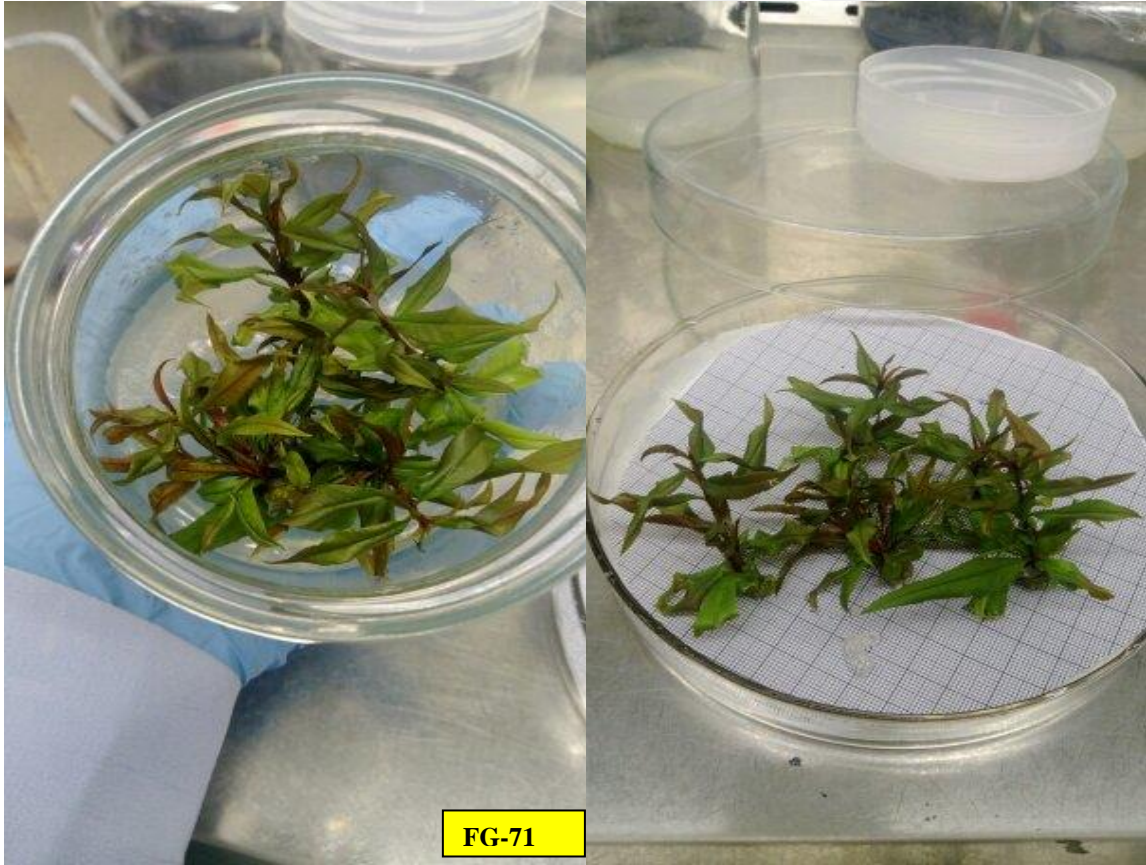
mg/l GA<sub>3</sub> içeren MS ortamından elde edilmiştir. Yaptığımız çalışmada GN-22 kontrol anacını WP besi ortamında KOM3 (7.33 adet/eksplant) interaksiyonlarının kardeş bitki oluşumunda en etkili kombinasyon olduğu belirlenmiştir.



**Şekil 4.2.**Seçilmiş klon anacının kardeşlenme besi ortamından görünüm

Anaç X Besi Ortamı interaksiyonunda besi ortamlarının kendi aralarında kardeş bitki oluşumları istatistiksel olarak önemli çıkmamakla beraber Anaç X Besi Ortamı ile interaksiyonunda aralarında % 1 düzeyinde önemli farklılıkların çıktığı görülmüştür. En yüksek kardeş bitki oluşumuna FG-69 X ½ MS (2.38 adet/eksplant), FG-69 X WP (2.11 adet/eksplant) ve GN-22 X WP (2.00 adet/eksplant) interaksiyonlarında rastlanmıştır. En düşük kardeş bitki oluşumuna ise FG-71 X WP (1.10 adet/eksplant), GF-677 X ½ MS (1.10 adet/eksplant) ve GN-22 X ½ MS (1.13 adet/eksplant) interaksiyonlarında rastlanılmıştır. Anaç X Besi Ortamı interaksiyonu dağılımına genel olarak bakıldığında WP besi ortamının FG-71 dışındaki diğer anaçlarla çok iyi etkileşim halinde olduğu, ½ MS besi ortamının bu etkileşimde daha geride kaldığı ancak FG-69 ile interaksiyonunda ise en yüksek değere ulaştığı ortaya çıkmıştır. Dağılımın normal seyrettiği, istatistiksel olarak altı farklı grubun oluştuğu Çizelge 4.1.'de, ortalama kardeş bitki sayısının 1.5 civarında olduğu 2 adet/eksplant ve üzeri değerlerin istatistiksel anlamda çok önemli farklılıkları

oluşturdukları söylenebilir. Alam ve Barua (2015), Avrupa eriğinin (*Prunus domestica*) yıllık sürgün uçlarından eksplant örnekleri kullanmışlardır. Sürgün sayısında en iyi sonuç MS besi ortamına eklenen 2-6 mg/l Kinetin, 2 mg/l BAP ve 4 mg/l KIN hormon kombinasyonundan ( $3.00 \pm 0.35$  adet) elde etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada en yüksek kardeş sayısı  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamına eklenen hormon KOM3 kombinasyonundan elde ettiğimiz GN-22 anacında 7.33 adet/eksplant, GF-677 anacında 6.56 adet/eksplant ve FG-69 anacında 4.43 adet/eksplant olarak bulunmuştur. Çalışma hali hazırda sürgün sayısı attırmaya yönelik yapılmıştır. BAP değerinin artmasıyla elde edilen sonuçlar paralellik göstermektedir. Dobranszki ve Silva, 2010'da yaptığı çalışmada besin ortamlarında BAP konsantrasyonu arttıkça kardeşlenme sayısının da arttığını bildirmişlerdir. Bu nedenle *in vitro* koşullarda çoğaltma yapılırken kullanılacak sitokinin çeşidinin ve miktarının belirlenmesi son derece önemlidir.



**Şekil 4.3.** Seçilmiş klon anacının kardeş bitkilerinin sayısal veri değerlendirilmesi

Anaç X Besi Ortamı X Hormon Kombinasyon interaksiyonlarında farklılıkların çok yüksek olmamakla beraber 7.33 ile 0.84 adet/eksplant arasında değişim gösterdiği, istatistiksel gruplandırılmalarına bakıldığında 11 farklı grubun, kardeş bitki oluşumu

değerleri bakımından ise % 1 düzeyinde önemli farklılıkların olduğu görülmüştür. En yüksek kardeş bitki oluşumunun GN-22 X WP X KOM3 (7.33 adet/eksplant) ve GF-677 X WP X KOM3 (6.56 adet/eksplant) interaksiyonlarında olduğu çalışmadan anlaşılmıştır. Bununla beraber FG-69 anacının oluşturduğu FG-69 X ½ MS X KOM3 (4.43 adet/eksplant), FG-69 X ½ MS X KOM2 (0.75 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) (4.30 adet/eksplant), FG-69 X WP X KOM2 (4.16 adet/eksplant) ve FG-69 X WP X KOM3 (3.53 adet/eksplant) interaksiyonlarının kardeş bitki oluşumunda dağılımın üst sıralarında yer aldığı görülmüştür. Ayrıca bu anacın (FG-69) iki farklı hormon KOM2 ve KOM3 ile etkileşiminin iyi olduğu ve her iki besi ortamında da olumlu neticeler verdiği sonuçlardan anlaşılmıştır. Dağılımın bundan sonraki kısımlarında ise yüksek farklılıkların oluşmadığı çoğunlukla elde edilen kardeş bitki sayısı değerlerinin 1-2 adet/eksplant arasında değişiklik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon interaksiyonlarında en düşük kardeş bitki değerlerine ise GF-677 X ½ MS X KOM0 (0.84 adet/eksplant) ile GF-677 X WP X KOM0 (0.90 adet/eksplant) interaksiyonlarında rastlanılmıştır. Shabani ve ark. (2015), yaptıkları denemede erik ve kayısı ağaçlarında yaygın olarak kullanılan Myrobalan 29C anacının mikroçoğaltımda en uygun bitki büyüme düzenleyicilerini belirlemeye çalışmışlardır. Çoğaltma ve köklendirme aşamalarında farklı besi ortamlarını kullanmışlardır ve besi ortamlarına 5 farklı BAP ve TDZ dozu, 3 farklı IBA ve NAA dozu kullanmışlardır. Besi ortamına ilave edilen 2 mg/l BAP konsantrasyonundan en fazla sürgün sayısını (5.58 adet) elde etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada 1 mg/l BAP kullanımında en fazla kardeş bitki sayısı 7.33 adet/eksplant olarak belirlenerek BAP'nin daha az konsantrasyonundan daha fazla kardeş bitki elde edilmiştir.

Çizelge 4.1.'e genel olarak bakıldığında besi ortamlarının tek başına seçilmiş ve kontrol anaçlarında kardeş bitki oluşturmada istatistiksel anlamda benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir. FG-69 anacı hariç diğer anaçların da kardeş bitki oluşturmada istatistiksel anlamda yine benzer etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ancak Anaç X Besi Ortamı etkileşimi bakımından bakıldığında farklılıkların arttığı istatistiksel anlamda önemli seviyelere çıktığı, her anacın her besi ortamında benzer etkiyi göstermediği saptanmıştır. Kardeş bitki sayısına besi ortamlarının etkisine baktığımızda melez anaçlarda ½ MS besi ortamı WP besi ortamına göre öne çıkarken GN-22 ve GF-677 anaçlarında WP besi ortamı öne çıkmıştır. Kombinasyonların da tek başına yüksek düzeyde bir varyasyon kaynağını oluşturduğu çalışmada görülmüştür. Tüm etkileşimler göz önüne alındığında KOM2 ve KOM3 kombinasyonlarının her iki besi ortamında ve tüm anaçlarda başarılı sonuçlar

verdiği belirlenmiştir. Genel olarak bakıldığında FG-69 ve FG-71 anaç adayları ile GN-22 ve GF-677 kontrol anaçları kardeş sayısı bakımından kıyaslandığında klon anaçlar kontrol anaçlarına göre üstün özellikler göstermişlerdir. Akdemir ve ark. (2016), Alev ağacında yapmış oldukları çalışmada BAP'nin kardeş bitki oluşturma etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri verilere göre kardeş bitki sayısı 3.7 adet/eksplant oranının en yüksek olduğu 2 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren besi ortamından elde edilmiştir.

Aydın ve ark. (2021), kiraz anaçlarının kullanıldığı *in vitro* çalışmada eksplant olarak sürgün uçlarını kullanılmışlardır. Çoğaltma ortamında farklı (0, 0.5 ve 1 mg/l) BAP dozlarının etkisinin, sürgün sayısını 1.97-2.55 adet arasında değiştirdiğini belirlemişlerdir. Elde ettiğimiz veriler sonucunda 1 mg/l BAP içeren besi ortamında kardeş bitki 7.33 adet/eksplant oranı ile en yüksek değeri almıştır. Denemede BAP dozunun artması ile sürgün sayısının arttığı belirlenirken, en fazla sürgün sayısının 1 mg/l BAP dozunun olduğu kombinasyondan elde edildiği görülmüştür.

#### **4.1.2. Eksplant Başına Ortalama Sürgün Uzunluğu (mm)**

½ MS ve WP (Woody Plant) besi ortamlarına ilave edilen farklı miktarlarda kullanılan hormon (BAP, TDZ, IAA, NAA) konsantrasyonlarının, seçilmiş (FG-69 ve FG-71) ve kontrol (GN-22 ve GF-677) anaçlarındaki eksplantların sürgün uzunluğuna etkileri Çizelge 4.2.'de görülmektedir. Yapılan istatistiksel hesaplamalardan elde edilen veriler sonucunda tüm uygulama ve bunların interaksiyonlarının anaçların bitki sürgün uzunluğu oluşumuna önemli derecede etkili oldukları saptanmıştır.

Denemede kullanılan seçilmiş (FG-69 ve FG-71) ve kontrol (GN-22 ve GF-677) anaçların bitki sürgün uzunluğu bakımından besi ortamı ve hormon uygulamasının sonucunda 7.06-10.69 mm değişim gösterdikleri belirlenmiştir. En uzun bitki sürgün uzunluğu FG-69 klon anacında ½MS ve WP besi ortamlarının etkisi sonucunda 10.69 mm olarak gözlemlenirken, bunu GN-22, FG-71, GF-677 anaçları sırasıyla 7.86, 7.76 ve 7.06 mm değerleriyle takip etmişlerdir. İstatistiksel veriler sonucunda sürgün uzunluğu dağılımına bakıldığında üç grup altında toplanmıştır. Fazla bir dağılım olmadığı, FG-69 klon anacının seçilmiş ve kontrol anaçlarına kıyasla daha üstün özelliklere sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Yıldırım (2012), *in vitro* ortamına alınan kayısı çeşitlerinin MS besi ortamında 1 mg/l BAP'da bitki sürgün uzunluğunun en az olduğu çeşidin Sakıt-I (7.42 mm), en iyi sürgün uzunluğunun ise Hacıhaliloğlu (11.56 mm) çeşidinde olduğunu belirlemiştir. WP 1 mg/l BAP besi ortamına aktarılan kayısı anaçlarından elde edilen

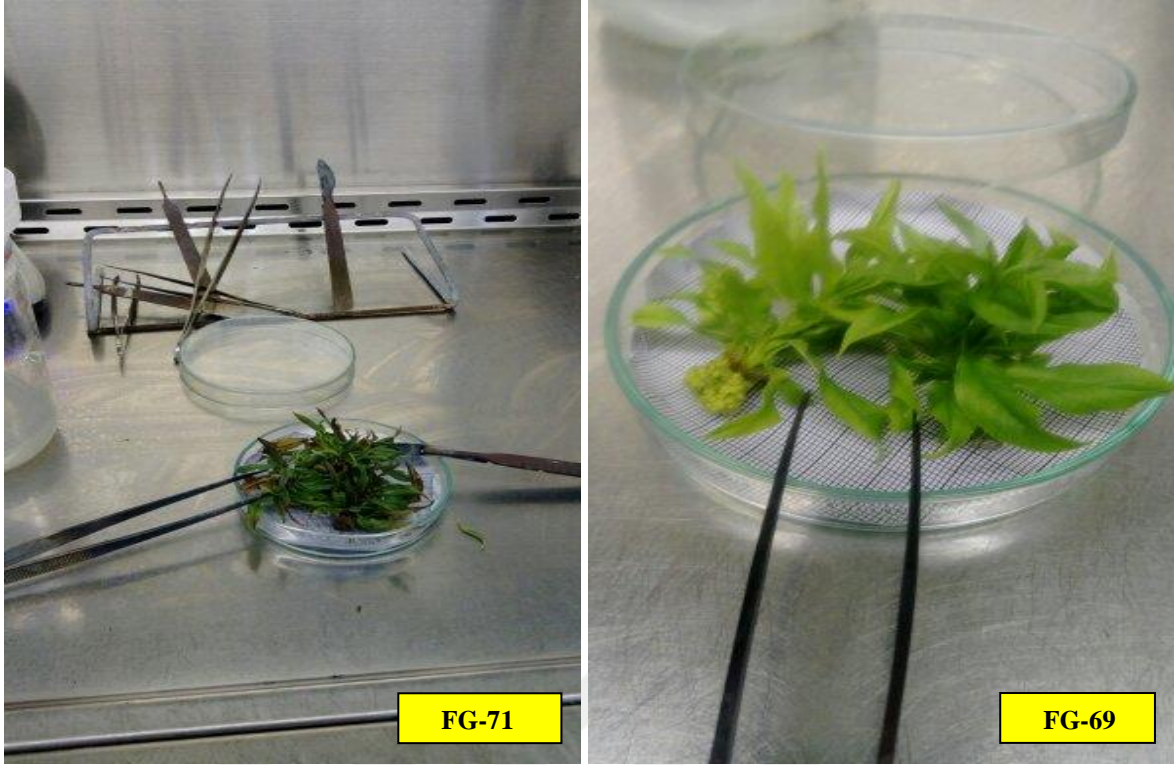
sonuçlara göre; en düşük bitki sürgün uzunluğu Karacabey’de (6.06 mm), en yüksek bitki sürgün uzunluğu ise (11.86 mm) yine Hacihaliloğlu çeşidinden elde edilmiştir. Kurulan bu denemede bitki sürgün uzunluğunda en yüksek değer FG-69 X WP X KOM6 (19.53 mm) ve FG-69 X ½ MS X KOM6 (19.16 mm) kombinasyonlarından elde edilmiştir.

İki farklı besi ortamında seçilen ve kontrol anaçlarındaki bitki sürgün uzunluğu oluşumunda besi ortamı toplamında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır. Yapılan deneme çalışmasında besi ortalaması toplamı sonucunda ½ MS besi ortamına alınan anaçların bitki sürgün uzunluğu oluşumu 8.78 mm olurken, WP besi ortamına alınan anaçların bitki sürgün uzunluğu 7.90 mm olarak tespit edilmiştir.



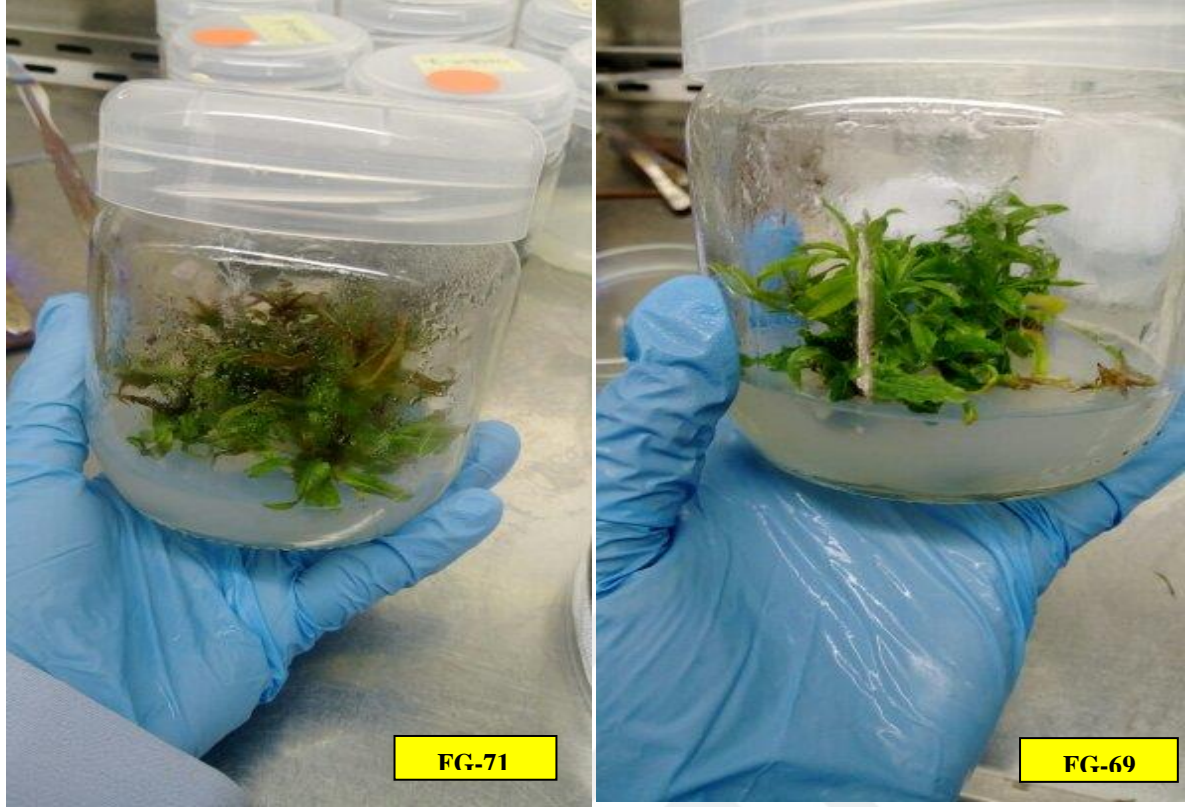
Çizelge 4.2. Eksplant başına ortalama sürgün uzunluğu (mm)

Kombinasyonlar	Anaçlar								Kombinasyon Toplamı
	FG-69		FG-71		GN-22		GF-677		
	Besi Ortamları								
	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	
<b>Komb-0</b>	3.53 y	8.30 ı-p	5.46 t-y	5.13 v-y	5.06wxy	5.76 s-y	4.76 xy	5.26u-y	<b>5.41 D</b>
<b>Komb-1</b>	5.16 uu	9.96 d-ı	9.16 e-l	6.30 o-x	6.06 p-x	10.70 c-h	7.66 j-t	9.10f-m	<b>8.01 C</b>
<b>Komb-2</b>	11.10 c-f	9.56 d-k	11.00 cf	6.03 qx	9.55d-k	5.06 wxy	8.10 ı-q	4.76 xy	<b>8.14 C</b>
<b>Komb-3</b>	9.90 d-j	8.93 f-n	9.93 d-ı	6.83 n-x	12.43 bc	8.49 h-o	9.53 d-k	7.37 k-v	<b>8.32 C</b>
<b>Komb-4</b>	11.40 cde	8.26 ı-q	7.06 l-w	7.26 l-w	11.16 c-f	6.40 o-x	9.03 f-n	6.26 o-x	<b>8.35 C</b>
<b>Komb-5</b>	14.13 b	10.76 c-g	8.33 ı-o	7.40 k-u	6.06 p-x	7.16 l-w	5.91 r-x	6.85 l-w	<b>9.17 B</b>
<b>Komb-6</b>	19.16 a	19.53 a	11.58cd	7.23 l-w	7.41 k-u	8.70 g-n	6.35 o-x	7.90 ı-s	<b>10.98 A</b>
<b>Anaç X Besi Ort.</b>	<b>10.62 A</b>	<b>10.76 A</b>	<b>8.93 B</b>	<b>6.60 E</b>	<b>8.25 BC</b>	<b>7.47 CD</b>	<b>7.33 DE</b>	<b>6.78 DE</b>	
<b>Anaç Toplamı</b>	<b>10.69 A</b>		<b>7.76 B</b>		<b>7.86 B</b>		<b>7.06 C</b>		
<b>Besi Ort. Toplamı</b>	½ MS				WP				
	<b>8.78 A</b>				<b>7.90 B</b>				
<b>LSD<sub>0.05</sub></b>	<b>Anaç:</b> <b>0.59**</b>	<b>Besi Ortamı:</b> <b>0.4**</b>	<b>Kombinasyon:</b> <b>0.79**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı:</b> <b>0.85**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon: 2.25**</b>		



**Şekil 4.4.** Klon anaçların kardeş boylarının (mm) ölçümü

Kontrol besi ortamı ile birlikte yedi ortamın kullanıldığı farklı hormon kombinasyonlarının seçilmiş ve kontrol anaçlarının bitki sürgün uzunluğu üzerine etkilerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu görülmüştür. Kombinasyonlar arasında dağılımın yüksek olduğu ve istatistiksel olarak dört farklı grubun oluştuğu gözlemlenmiştir. Kardeş bitki uzunlukları 5.41 ile 10.98 mm arasında değişim göstermektedir. Kombinasyonlar arasında en yüksek değer KOM6 hormon kombinasyonunda 10.98 mm olurken, en düşük bitki sürgün uzunluğu ise sırayla KOM0, KOM1 (0.25 mg/l BAP + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) ve KOM2 hormon kombinasyonlarında 5.41, 8.01 ile 8.14 mm şeklinde oluşmuştur. Dağılıma genel bakıldığı zaman bitki sürgün uzunluğu oluşumu bakımından ortalama 8.3 mm civarında olduğu ancak KOM6 ve KOM2 kombinasyonlarının 10.98 ve 9.17 mm değeriyle dağılımda dikkat çekecek yönde yüksek etki yaptıkları anlaşılmıştır. Alam ve Barua (2015), Avrupa eriği (*Prunus domestica*) yıllık sürgün uçlarından eksplant örnekleri kullanılmıştır. Sürgün uzunluğu en yüksek sonucu MS besi ortamına eklenen 2-6 mg/l Kinetin, 2 mg/l BAP ve 4 mg/l KIN hormon kombinasyonundan (1.20±0.15 cm) elde etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada besi ortamına ilave edilen KOM6 kombinasyonundan elde ettiğimiz verilere göre FG-69 anacında 19.53 mm sürgün uzunluğu elde edilmiştir.

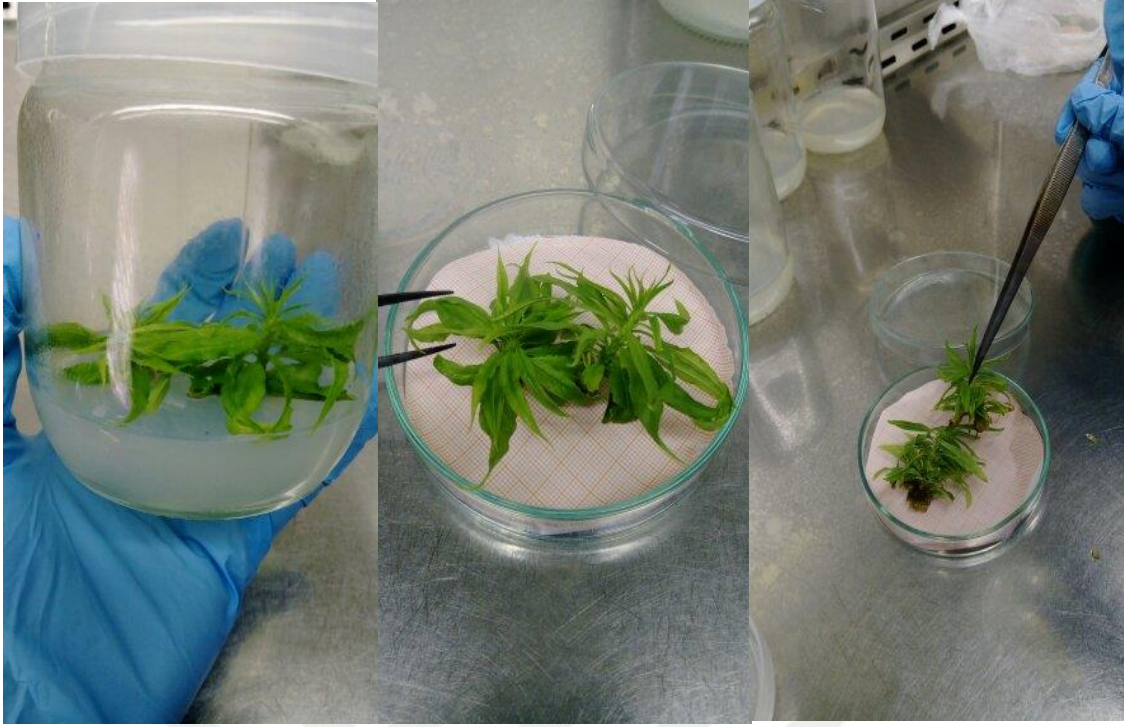


Şekil 4.5. Klon anaçlar

Anaç X Besi Ortamının karşılıklı olarak etkileşimi sonucunda besi ortamlarının kendi aralarındaki bitki sürgün uzunluğu oluşumları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli çıkmamakla birlikte, Anaç X Besi Ortamı ile interaksyonda aralarında %1 seviyesinde önemli farklılıkların çıktığı görülmüştür. En yüksek bitki sürgün uzunluğu sonucu FG-69 X WP (10.76 mm), FG-69 X ½MS (10.62 mm) ve FG-71 X ½ MS (8.93 mm) interaksyonlarında tespit edilmiştir. En düşük bitki sürgün uzunluğuna FG-71 X WP (6.60 mm), GF-677 X WP (6.78 mm) ve GF-677 X ½ MS (7.33 mm) interaksyonlarında rastlanılmıştır. Anaç X Besi Ortamı etkileşimine genel olarak bakıldığında WP besi ortamının FG-71 anacı dışındaki diğer anaçlarla çok iyi bir interaksyon halinde olduğu, ½ MS besi ortamının ile etkileşiminde daha geride kaldığı ancak FG-69 ile interaksyonda ise en yüksek değere ulaştığı sonucuna varılmıştır. Dağılımda farklılıklar görülmediği, istatistiksel olarak altı farklı grubun olduğu Çizelge 4.2.'de, ortalama bitki sürgün uzunluğu 8.3 mm civarında olduğu 9 mm ve üzeri değerlerin istatistiksel anlamda çok önemli farklılıkları oluşturduğu belirlenmiştir. Dobranszki ve Silva (2010), besin ortamların da kullanılan hormon konsantrasyonlarında BAP'ın artması sürgün sayısının artmasında etkili olmuştur. Bununla birlikte *in vitro* koşullarda sitokinin çeşidinin ve

miktarının belirlenmesinde sürgün boylarının uzamasında önemli bir durum haline gelmiştir.

Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyonlarının birbiriyle karşılıklı olarak etkileşim halinde olması durumundan doğan farklılıklar çok yüksek olmamakla birlikte 19.53 ile 3.53 mm arasında değişim gösterdiği, istatistiksel gruplandırılmalarına bakıldığında 11 farklı grubun oluştuğu, bitki sürgün uzunluğu oluşumu değerleri bakımından ise % 1 düzeyinde önemli farklılıklar oluştuğu görülmüştür. Bitki sürgün uzunluğunda en yüksek değerler FG-69 X WP X KOM6 (19.53 mm) ve FG-69 X ½ MS X KOM6 (19.16 mm) interaksiyonlarında görüldüğü yapılan çalışmadan anlaşılmıştır. Bununla birlikte anaçların oluşturduğu kıyaslamada FG-69 X ½ MS KOM5 (0.75 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) (14.13 mm), GN-22 X ½MS X KOM3 (12.43 mm), FG-71 X ½ MS X KOM6 (11.58 mm) ve FG-69 X ½ MS X KOM4 (0.75 mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) (11.40 mm) interaksiyonları bitki sürgün uzunluğu oluşumuna bağlı dağılımın en üst seviyedeki kombinasyonlar olmuşlardır. Yapılan bu karşılaştırmada seçilmiş anaç olan FG-69 anacının diğerlerine kıyasla etkileşimin daha iyi olduğu ve iki besi ortamında da olumlu neticeler verdiği sonuçlardan anlaşılmıştır. Dağılımın bundan sonraki kısımlarında yüksek farklılıkların oluşmadığı, çoğunlukla elde edilen bitki sürgün uzunluğu sayı değeri 3-4 mm arasında değişiklik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon interaksiyonlarında en düşük bitki sürgün uzunluğu değerine ise FG-69 X ½ MS0 (3.53 mm), GF-677 X ½ MS0 (4.76 mm) ve GF-677 X WP X KOM2 (4.76 mm) interaksiyonlarında rastlanmıştır. Erbaş (2011), Myrobalan 29C ile Garnem (GN-15) anaçlarının *in vitro* koşullarda klonal üretimini gerçekleştirmiştir. Anaçlar MS (modifiye MS) ortamında kültüre alınmıştır. En yüksek sürgün uzunluğu 11.16 mm ile 1.0 mg/l BAP+1.0 mg/l KIN+0.5 mg/l IBA içeren modifiye MS ortamında meydana gelmiştir. Yaptığımız çalışmada FG-69 anacını aktardığımız WP besi ortamında KOM6 hormon kombinasyonunda en yüksek bitki sürgün uzunluğu 19.53 mm olarak elde edilmiştir. WP besi ortamının sürgün uzunluğu üzerine etkisi gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.6.** Sürgün uzunluğunun ölçümü

Çizelge 4.2.'ye genel olarak bakıldığında besi ortamlarının seçilmiş ve kontrol anaçlarında bitki sürgün uzunluğu oluşumunda istatistiksel anlamda benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir. FG-69 anacı hariç diğer anaçların da bitki sürgün uzunluğu oluşturmada istatistiksel anlamda yine benzer etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ancak Anaç X Besi Ortamı etkileşimi bakımından farklılıkların arttığı istatistiksel anlamda önemli seviyelere çıktığı, her anacın her besi ortamında benzer etkiyi göstermediği saptanmıştır. Kombinasyonların da tek başına yüksek düzeyde bir varyasyon kaynağını oluşturduğu çalışmada ortaya çıkmıştır. Tüm etkileşimler göz önüne alındığında KOM5 ve KOM6 kombinasyonlarının her iki besi ortamında ve tüm anaçlarda başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür. KOM3 ve KOM4 kombinasyonların kontrol ve klon anaçlarda sürgün uzunluğunda önemli sonuçlar alınmıştır. TDZ ve BAP hormonlarının, klon ve kontrol anaçlarda eksplantların uzunluğunda etkili olduğu belirlenmiştir.

#### **4.1.3. Bitki Başına Ortalama Köklenme Yüzdesi (%)**

Denemede kullanılan iki farklı besi ortamına ( $\frac{1}{2}$  MS, WP) ilave edilen farklı hormon kombinasyonlarının klon anaçları (FG-71, FG-69) ve kontrol (GN-22, GF-677) anaçlardaki bitki köklenme oranına oluşturduğu etkileri Çizelge4.3.'te gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda besi ortamı ve hormon kombinasyonu interaksiyonunun anaçların köklenmesi üzerine önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır.

Seçilen klon (FG-71, FG-69) ve kontrol (G-N22, GF-677) anaçlarında meydana gelen köklenme oluşumu %5.14 - 2.85 oranındaki değerler arasında değişim göstermiştir. Köklenme oranında en yüksek değer GN-22 ve GF-677 ve kontrol anaçlarında (%5.14 - %5.09) gözlemlenirken bunu aynı istatistiksel grupta yer alan FG-69 ve FG-71 anaçları sırasıyla 3.64 ve 2.85 yüzdelik değerleriyle takip etmiştir. Anaçların istatistiksel dağılımına bakıldığında köklenen bitkilerde sayısal değer bakımından dağılımda farklılık olduğu, seçilen klon ve kontrol anaçlarının belirli besi ortamlarında ve belirli bir hormon kombinasyonunda ağırlıklı olarak meydana gelmiştir.



**Şekil 4.7.** Köklü anaçlardan bir görünüm

İki farklı besi ortamının ( $\frac{1}{2}$  MS ve WP) seçilmiş (FG-71, FG-69) ve kontrol (GN-22, G-F677) anaçlarındaki köklenme oranında istatistiksel olarak beklenenin dışında farklı bir köklenme gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamına alınan anaçlarda köklenme oranı % 8.01 olurken, WP besi ortamında bu oran % 0.35 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.3. Eksplant başına ortalama köklenme yüzdesi (%)

Kombinasyonlar	Anaçlar								Kombinasyon Toplamı
	FG-69		FG-71		GN-22		GF-677		
	Besi Ortamları								
	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	
<b>Komb-0</b>	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	<b>0.00 B</b>
<b>Komb-1</b>	0.00 l-v	0.00 l-v	10.00 bc	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	<b>1.25 B</b>
<b>Komb-2</b>	14.00 abc	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	<b>1.75 B</b>
<b>Komb-3</b>	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	<b>0.00 B</b>
<b>Komb-4</b>	33.00 a	0.00 l-v	25.00 ab	0.00 l-v	33.33 a	1.44 f-l	33.33 a	0.00 l-v	<b>15.58 A</b>
<b>Komb-5</b>	4.00 f	0.00 l-v	5.00 cde	0.00 l-v	33.33 a	5.33 cd	33.33 a	4.66 c-f	<b>10.70 B</b>
<b>Komb-6</b>	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	0.00 l-v	<b>0.00 B</b>
<b>Anaç X Besi Ort.</b>	<b>7.28 A</b>	<b>0.00 B</b>	<b>5.71 AB</b>	<b>0.00 B</b>	<b>9.52 A</b>	<b>0.76 B</b>	<b>9.52 A</b>	<b>0.66 B</b>	
<b>Anaç Toplamı</b>	<b>3.64 A</b>		<b>2.85 A</b>		<b>5.14 A</b>		<b>5.09 A</b>		
<b>Besi Ort. Toplamı</b>	½ MS				WP				
	<b>8.01 A</b>				<b>0.35 B</b>				
<b>LSD<sub>0.05</sub></b>	<b>Anaç:</b> <b>3.40</b>	<b>Besi Ortamı:</b> <b>2.39**</b>	<b>Kombinasyon: 4.35**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı:</b> <b>4.81**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon:</b> <b>12.75**</b>		

Kurulan denemede biri kontrol olmak üzere toplamda yedi farklı hormon kombinasyonun klon anaçlar arasında seçilen (FG-71, FG-69) ve kontrol (GN-22, GF-677) anaçlarında uygulama sonucunda köklenme oluşumuna etkisi istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu çalışmanın sonucunda elde edilmiştir. Hormon kombinasyonları arasındaki dağılımın farklılık gösterdiği ve istatistiksel olarak üç farklı gruba ayrıldığı saptanmıştır. Gruplandırmanın en yüksek ve en düşük değerler olarak % 15.58 ile % 0.00 oranlarında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Bu değerlerin elde edildiği kombinasyonlar KOM4 kombinasyonunda %15.58 ile en yüksek ve KOM0, KOM3, KOM6 ve KOM1 ile de en düşük (%0.00, 0.00, 0.00 ve 1.25) sonuçlara ulaşılmıştır. Denemenin durumuna genel olarak bakıldığında köklenme oranına ortalama % 4.5 civarında olduğu ancak KOM4 ve KOM5 kombinasyonlarının % 15.58 ve % 10.70 değerleri ile dikkat çekecek yönde yüksek etki yaptığı anlaşılmıştır.



**Şekil 4.8.** Köklenen anaçların görünüm

Anaç X Besi Ortamı etkileşiminde besi ortamlarının kendi aralarındaki köklenme oranları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, Anaç X Besi Ortamı interaksiyonunda aralarında % 1 düzeyinde önemli farklılıkların çıktığı görülmüştür. En yüksek köklenme oranı değerlerine % 9.52 ile GN-22 X ½ MS ve GF-677 X ½ MS, % 7.28 ile FG-69 X ½ MS ve % 5.71 ile de FG-71 X ½ MS interaksiyonlarında rastlanmıştır. En düşük oranları ise % 0.00 ile FG-69 X WP ve FG-71 X WP’de rastlanırken, GF-677 X WP’de köklenme oranı % 0.66, GN-22 X WP’de ise % 0.76 ile belirlenmiştir. Anaç ve besi ortamı interaksiyonundaki dağılıma genel bakıldığında ½ MS besi ortamının seçilmiş ve kontrol anaçlarında köklenme üzerine etkisini yüksek olduğu görülmüştür. WP besi

ortamında ise anaçlar arasındaki etkileşimin daha geride kaldığı ancak GN-22 ve GF-677 ile interaksiyonunda en yüksek değerlere ulaştığı görülmektedir. Dağılımın normal seyrettiği, istatistiksel olarak iki farklı gruba ayrıldığı Çizelge 4.3.'te, köklenme oranına bakıldığında ortalama olarak 3 civarında olduğu istatistiksel anlamda çok önemli farklılıkların oluştuğu söylenebilir. Hepaksoy (2017), gibi araştırmacılar ise besi ortamında kullanılan besin elementlerinin yarıya indirilmesinin bitki kök gelişimi üzerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Güney (2019a), Myrobalan 29C anacında yaptığı bir çalışmada maksimum kök oluşumu için ½ MS ortamının en iyi sonucu verdiğini bildirmiştir. Güney, (2019b), başka bir çalışmada da *Prunus* anaçları ½ MS'in bitki köklenmesi üzerine olumlu sonuçlar elde edildiğini belirtmiştir.

Anaç X Besi Ortamı X Hormon Kombinasyon interaksiyonlarında farklılıkların çok yüksek olduğu, değerlerin %33.33 - 0.00 arasında değişim gösterdiği, bitkilerde köklenme oranının istatistiksel olarak bakıldığında % 1 düzeyinde önemli olduğu görülmüştür. Köklenme oranının en yüksek olduğu kombinasyonlar %33.33 ile GN-22 X ½ MS X KOM4, GN-22 X ½ MS X KOM5, GF-677 X ½MS X KOM4 ve GF677 X ½MS X KOM5 interaksiyonlarında görülmüştür. Bununla beraber Anaç X Besi Ortamı X Hormon Kombinasyonun karşılaştırmasında klon anaçlarda en yüksek köklenme FG-69 X ½ MS X KOM4 (% 33.00) ve FG-71 X ½ MS X KOM5 (%25.00) interaksiyonlarında görülmüştür. Kontrol (GN-22, GF-677) ve seçilmiş (FG-71, FG-69) anaçlarının KOM4 ve KOM5 kombinasyonlarında ve ½ MS besi ortamında köklenme oranının yüksek olması ile etkileşimin iyi olmasına ve sonucun kayda değer şekilde olduğu kanaatine varılmıştır. Dağılımın geneline bakıldığında köklenme oranının belirli bir ortamda ağırlıklı olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.3.'e genel olarak bakıldığında besi ortamlarının tek başına seçilmiş ve kontrol anaçlarında köklü bitki oranı oluşturmada istatistiksel anlamda benzer etki göstermediği tespit edilmiştir. FG-71, GN-22, GF-677 ve FG-69 anaçlarının köklenme oranlarının istatistiksel anlamda yine benzer etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ancak Anaç X Besi Ortamı etkileşimi bakımından bakıldığında farklılıkların arttığı istatistiksel anlamda önemli seviyelere çıktığı, her anacın her besi ortamında benzer etkiyi göstermediği saptanmıştır. Kombinasyonların da tek başına yüksek düzeyde bir varyasyon kaynağını oluşturduğu çalışmada ortaya çıkmıştır. Tüm etkileşimler göz önüne alındığında KOM4 ve KOM5 kombinasyonlarının ½ MS besi ortamında ve tüm anaçlarda başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür.

#### 4.1.4. Eksplant Başına Ortalama Kök Sayısı (Adet)

Denemede kullanılan iki farklı besi ortamı ( $\frac{1}{2}$  MS, WP) ilave edilen farklı hormon kombinasyonlarının seleksiyon sonucu elde edilen klon anaçlarındaki (FG-71, FG-69) ve kontrol anaçlarındaki (GN-22, GF-677) bitki kök sayısı oluşumu Çizelge 4.4.'te gösterilmiştir. Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda besi ortamı uygulaması haricinde tüm uygulama ve bunların interaksiyonlarının anaçlarda köklü bitki oluşumunda önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır

Denemede kullanılacak olan klon (FG-71, FG-69) ve kontrol (GN-22, GF-677) anaçlarında bitki kök sayıları 2.25 - 0.85 adet arasında değişim göstermiştir. Elde edilen en yüksek kök sayısı FG-69 anacında (2.25 adet) gözlenirken, bunu aynı istatistiksel grupta yer alana FG-71, GN-22 ve GF-677 anaçları 1.35, 0.91 ve 0.85 adet ile takip etmişlerdir. Anaçların istatistiksel olarak bitki kök sayısı oluşumlarında yüksek dağılımın olduğu, iki farklı ana grubun olduğu FG-69 anacının FG-71, GN-22 ve GF-677 anaçlarından daha üstün özellik gösterdiği saptanmıştır. Güler ve ark. (2017), yaptıkları bir çalışmada *in vitro* koşullarında MS ortamına 3 mg/l IBA ilave edilmiştir. Araştırmacılar MaxMa-14 anacında mikro çelik başına 6.77 adet, GF-677'de ise 1.99 adet kök sayısı belirlemişlerdir. Yaptığımız çalışmada kullanılan FG-69 anacında eksplant başına kök sayısı 2.25 adet olarak  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamının KOM4 kombinasyonundan elde edilmiştir.



**Şekil 4.9.**  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamında FG-69 anacının KOM4 (0.5mg/l TDZ + 0.2 mg/l IAA + 0.25 mg/l NAA) kombinasyonundan görünüm

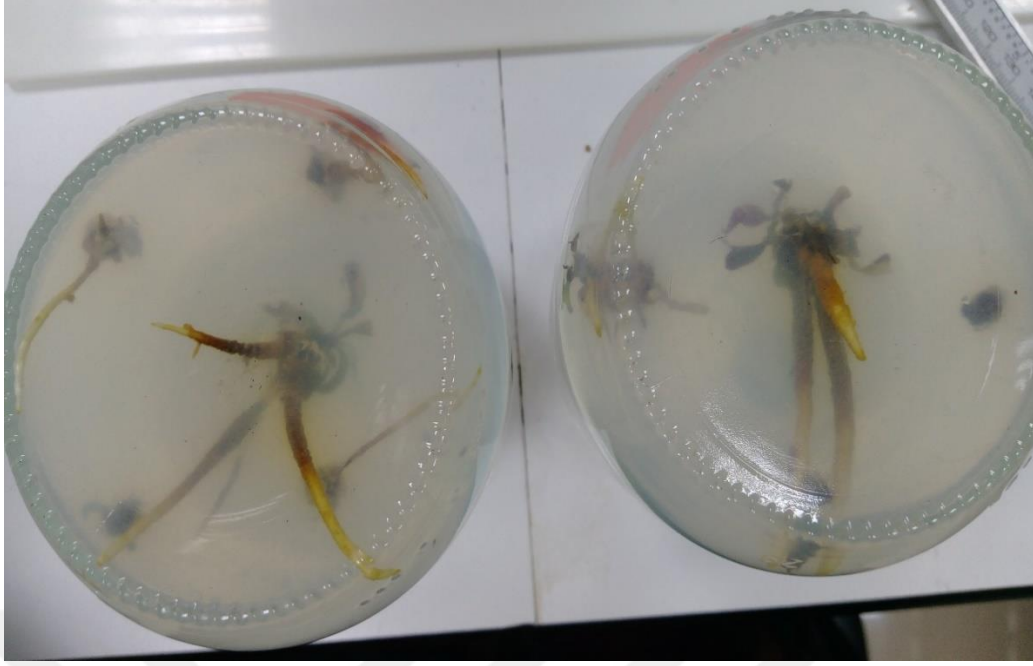
Çizelge 4.4. Eksplant başına ortalama kök sayısı (adet)

Kombinasyonlar	Anaçlar								Kombinasyon Toplamı
	FG-69		FG-71		GN-22		GF-677		
	Besi Ortamları								
	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	
<b>Komb-0</b>	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	<b>0.00 B</b>
<b>Komb-1</b>	0.00 f	0.00 f	6.00 bc	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 cd	0.00 f	<b>0.75 B</b>
<b>Komb-2</b>	6.00 bc	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	<b>0.75 B</b>
<b>Komb-3</b>	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	<b>0.00 B</b>
<b>Komb-4</b>	13.21 a	0.00 f	7.00 b	0.00 f	4.10 cde	0.00 f	2.53 de	0.00 f	<b>3.35 A</b>
<b>Komb-5</b>	12.39 a	0.00 f	6.00 bc	0.00 f	6.61 cd	2.00 ef	7.41 bc	2.00 ef	<b>3.98 A</b>
<b>Komb-6</b>	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	0.00 f	<b>0.00 B</b>
<b>Anaç X Besi Ort.</b>	<b>4.51 A</b>	<b>0.00 D</b>	<b>2.71 B</b>	<b>0.00 D</b>	<b>1.53 BC</b>	<b>0.28 CD</b>	<b>1.42 BC</b>	<b>0.28 CD</b>	
<b>Anaç Toplamı</b>	<b>2.25 A</b>		<b>1.35 AB</b>		<b>0.91 B</b>		<b>0.85 B</b>		
<b>Besi Ort. Toplamı</b>	½ MS				WP				
	<b>2.54 A</b>				<b>0.14 B</b>				
<b>LSD<sub>0.05</sub></b>	<b>Anaç:</b> <b>0.61**</b>	<b>Besi Ortamı:</b> <b>0.43**</b>	<b>Kombinasyon:</b> <b>0.81**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı:</b> <b>0.87**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon: 2.31**</b>		

İki farklı besi ortamının ( $\frac{1}{2}$  MS ve WP) seçilmiş ve kontrol anaçlarının bitki kök sayısında istatistiksel olarak önemli fark oluşturduğu gözlemlenmiştir. Yapılan çalışmada  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamına alınan anaçların bitki kök sayısı değerlendirilmesinde 2.54 adet gibi bir sonuç alınırken WP besi ortamına alınan anaçlarda ise 0.14 adet belirlenmiştir.

Biri kontrol olmak üzere farklı hormon kombinasyonlarında oluşan yedi kombinasyonun seçilmiş ve kontrol anaçlarının kök oluşturmaya etkilerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Kombinasyonlar arasındaki dağılımın yüksek olduğu ve istatistiksel olarak iki farklı gruba ayrıldığı saptanmıştır. 3.98 ve 0.00 adet arasında değişim göstermektedirler. En yüksek değer KOM5 kombinasyonunda 3.98 adet, en düşük bitki kök sayısı KOM0'de 0.00 adet, KOM3'te 0.00 adet ve KOM6'da 0.00 olarak belirlenmiştir. Dağılımın geneline bakıldığında bitki kök sayısına KOM5 ve KOM4 kombinasyonlarının 3.98 ve 3.35 adet ile yüksek etki yaptıkları anlaşılmıştır. Yapılan çalışmada TDZ hormonuna ilave edilen hormon kombinasyonunda NAA'nın bulunması köklenmeyi teşvik etmiştir. Bu durumu diğer yapılan çalışmalarda da görebilmekteyiz. Örneğin Zilkah ve ark. 1992 yılında yaptıkları çalışmada  $M \times M$  (*Prunus avium x P. mahaleb*) hibrit anacının *in vitro* koşullarında köklenmesinde  $\frac{1}{2}$  MS ortamına 0.5 mg/l NAA eklenmesi sonucunda köklenmiş mikrosürgünlerin dış koşullara daha iyi adaptasyon sağladıkları görülmüştür. Siskoi (2011) ise, Gisela 5 anacının *in vitro* köklenmesinde, 1 mg/l NAA içeren ortamda % 65 oranında başarı sağlandığını belirtmiştir.

Anaç X Besi Ortamı interaksiyonunda besi ortamlarının kendi aralarında bitki kök oluşumları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli çıkmıştır. Bununla beraber anaç ile besi ortamı interaksiyonunda aralarında % 1 düzeyinde önemli farklılıklar görülmüştür. En yüksek bitki kök sayısı oluşumunda 4.51 adet ile FG-69 X  $\frac{1}{2}$  MS, 2.71 adet ile FG-71 X  $\frac{1}{2}$  MS ve 1.53 adet ile GN-22 X  $\frac{1}{2}$  MS interaksiyonlarında rastlanmıştır. En düşük bitki kök sayısı oluşumunda 0.00 adet ile FG-71 X WP, 0.00 adet ile FG-69 X WP, 0.28 adet GF-677 X WP ve 0.28 adet GN-22 X WP interaksiyonlarında rastlanmıştır. Anaç X Besi Ortamı interaksiyonu dağılımına genel olarak bakıldığında  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamının FG-69 anacında iyi bir etki yaptığı diğer anaçlardan da etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Dağılımın normal seyrettiği, istatistiksel anlamda ise çok önemli farklılıkların oluşturdukları söylenebilir.



**Şekil 4.10.** Anaçlarda kök oluşumu

Anaç X Besi Ortamı X Hormon Kombinasyon interaksiyonlarında farklılıklarla beraber değerlerin 13.21 ile 0.00 adet arasında değişim gösterdiği, istatistiksel gruplandırılmalarına bakıldığında da köklü bitki oluşumunun % 1 düzeyinde önemli farklılıklar oluşturduğu görülmüştür. En yüksek köklü bitki sayısının FG-69 X ½ MS X KOM4 (13.21 adet) ve FG-69 X ½ MS X KOM5 (12.39 adet) interaksiyonlarında olduğu çalışmadan anlaşılmıştır. Bunun yanı sıra FG-69 X ½ MS X KOM2 (6.00 adet), FG-71 X ½ MS X KOM4 (7.00 adet), FG-71 X ½ MS X KOM5 (6.00 adet), FG-69 X ½ MS X KOM2 (6.00 adet), FG-71 X ½ MS X KOM1 (6.00 adet), GN-22 X ½ MS X KOM5 (6.61 adet) ve GF-677 X ½ MS X KOM5 (7.41 adet) interaksiyonlarının bitki kök sayısı oluşunda dağılımın üst sıralarında yer aldığı görülmüştür. Ayrıca FG-69 anacının iki farklı hormon KOM4 ve KOM5 ile etkileşiminin iyi olduğu ve ½ MS besi ortamında WP besi ortamına göre olumlu neticeler verdiği sonuçlardan anlaşılmıştır. Dağılımın bundan sonraki kısımlarında ise farklılıkların meydana geldiği bitki kök sayısında değerlerin 13.21 adet ile 0.00 adet arasında değişiklik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Anaç X Besi Ortamı X Hormon Kombinasyon interaksiyonlarında klon ve kontrol anaçları bitki kök sayısı değerleri WP besi ortamında; KOM0, KOM3 ve KOM6 hormon kombinasyonlarında (0.00 adet) kök oluşumu meydana gelmemiştir.

Çizelge 4.4.'e genel olarak bakıldığında besi ortamlarının tek başına seçilmiş ve kontrol anaçlarında bitki kök sayısı oluşturmada istatistiksel anlamda benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir. Seçilmiş ve kontrol anaçların istatistiksel anlamda yine benzer etki

gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ancak Anaç X Besi Ortamı etkileşimi bakımından bakıldığında farklılıkların arttığı istatistiksel anlamda önemli seviyelere çıktığı, her anacın her besi ortamında benzer etkiyi göstermediği saptanmıştır. Bitki kök sayısına besi ortamlarının etkisine baktığımızda melez anaçlarda ½ MS besi ortamı, WP besi ortamına göre öne çıkmaktadır. Kontrol anaçlarında da ½ MS besi ortamı bitki kök sayısı değerlendirmesinde WP besi ortamından daha iyi sonuçlar vermiştir. Kombinasyonların da tek başına yüksek düzeyde bir varyasyon kaynağını oluşturduğu çalışmada ortaya çıkmıştır. Tüm etkileşimler göz önüne alındığında KOM4 ve KOM5 kombinasyonlarının ½ MS besi ortamında ve tüm anaçlarda başarılı sonuçlar verdiği görülmektedir. Genel olarak bakıldığında FG-69 ve FG-71 anaç adayları ile GN-22 ve GF-677 kontrol anaçları bitki kök sayısı kıyaslandığı zaman klon anaçlar kontrol anaçlarına göre üstün özellikler göstermişlerdir.

#### **4.1.5. Eksplant Başına Ortalama Kök Uzunluğu (mm)**

*In vitro* ortamda kurulan denemede iki farklı besi ortamına (½ MS, WP) ilave edilen farklı hormon kombinasyonlarının seleksiyon sonucu elde edilen klon anaçlardan seçilen FG-71, FG-69 ve kontrol GN-22, GF-677 anaçları kullanılmıştır. Kök oluşturan bitkilerin kök uzunluğu ile ilgili verilerin istatistiksel sonucu Çizelge 4.5.'te görülmektedir. Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda besi ortamı uygulaması haricinde tüm uygulama ve bunların interaksiyonlarının anaçlarda kök uzunluğu sonucunda önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır.

Klon anaçlardan seçilen ve kontrol anaçlarında kök uzunluğu ortalama 4.92 - 3.54 mm arasında değişim göstermiştir. En yüksek kök uzunluğuna sahip olanın 4.92 mm ile kontrol anacı GN-22 anacı olduğu gözlemlenmiştir. Bunu aynı istatistiksel grupta yer alan GF-677, FG-71 ve FG-69 anaçlarının kök uzunluğu sıralaması ise 4.66, 4.44 ve 3.54 mm olmuştur. Anaçların istatistiksel dağılımına bakıldığında ortalama bitki kök uzunluğunda yüksek farklılık olduğu ve tüm anaçlarda iyi bir sonuç oluşturduğu görülmüştür.

Denemede kullanılan iki farklı besi ortamının, seçilmiş ve kontrol anaçlarındaki bitki kök uzunluğu oluşumunda istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunduğu gözlemlenmiştir. Çalışmada anaçlardan alınan veri sonuçlarına göre besi ortamları toplamı bitki kök uzunluğu ½ MS'de 8.66 mm olurken, WP'de besi ortamında 0.11 mm olmuştur.

Biri kontrol olmak üzere farklı hormon kombinasyonlarından oluşan yedi farklı kombinasyonun seçilmiş ve kontrol anaçlarındaki bitki kök uzunluğu oluşumuna etkilerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu çalışmada ortaya çıkmıştır.

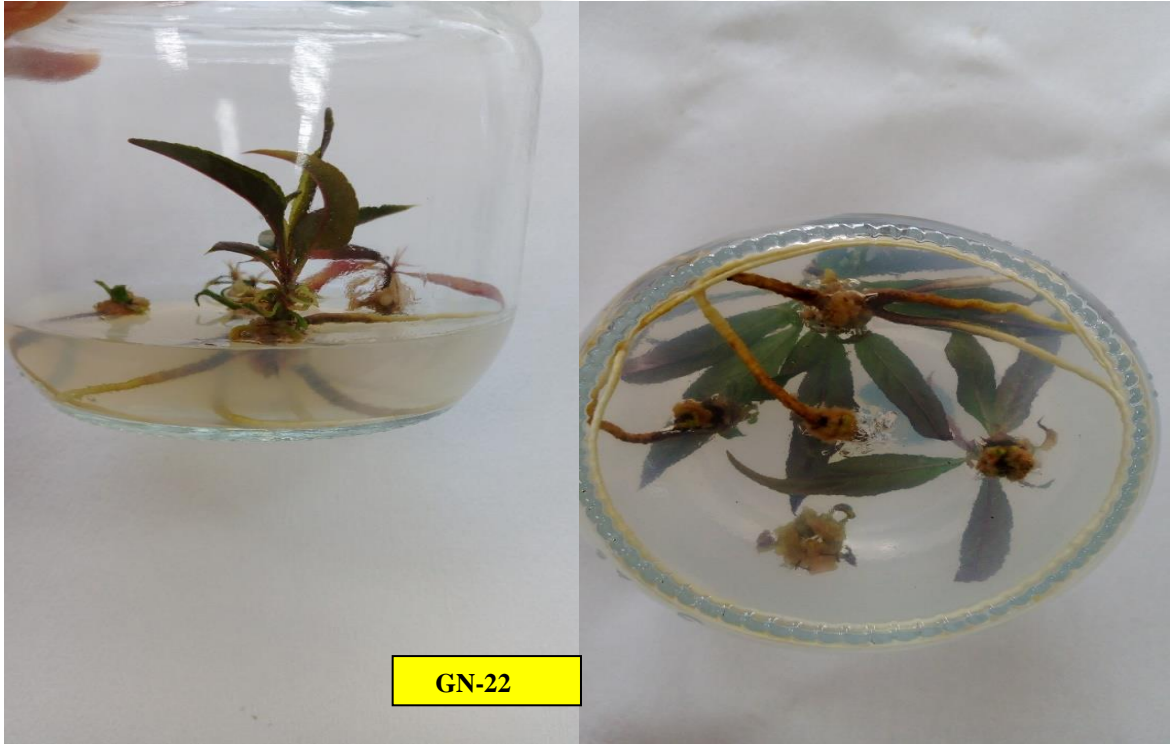
Kombinasyonlar arasındaki dağılımın yüksek olduğu ve istatistiksel olarak dört farklı gruba ayrıldığı saptanmıştır. 14.54 ile 0.00 mm arasında bitki kök uzunluklarının değişim gösterdiği dağılımda, en yüksek kök uzunluğu değerinin bulunduğu KOM5 kombinasyonunda 14.54 mm değeri bulunmuştur. En küçük bitki kök uzunluğu değerinin olduğu KOM3 kombinasyonunda 0.00 mm, KOM0 kombinasyonunda 0.00 mm, KOM6 kombinasyonunda 0.00 mm ve KOM1 kombinasyonunda ise 1.96 mm değerleri elde edilmiştir. Dağılıma genel olarak bakıldığında bitki kök uzunluğu oluşumunun ortalama KOM5 ve KOM4 kombinasyonlarının 14.54 ve 8.03 mm değerleriyle dağılımda dikkat çekecek yönde yüksek etki yaptıkları anlaşılmıştır.



Çizelge 4.5. Eksplant başına ortalama kök uzunluğu (mm)

Kombinasyonlar	Anaçlar								Kombinasyon Toplamı
	FG-69		FG-71		GN-22		GF-677		
	Besi Ortamları								
	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	
<b>Komb-0</b>	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>0.00 D</b>
<b>Komb-1</b>	0.00 d	0.00 d	15.71 b	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>1.96 C</b>
<b>Komb-2</b>	17.46 b	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>2.18 C</b>
<b>Komb-3</b>	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>0.00 D</b>
<b>Komb-4</b>	16.68 b	0.00 d	14.32 bc	0.00 d	17.16 b	0.00 d	16.10 b	0.00 d	<b>8.03 B</b>
<b>Komb-5</b>	15.45 b	0.00 d	32.15 a	0.00 d	33.60 a	1.70 cd	31.86 a	1.56 cd	<b>14.54 A</b>
<b>Komb-6</b>	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>0.00 D</b>
<b>Anaç X Besi Ort.</b>	<b>7.08 A</b>	<b>0.00 B</b>	<b>7.21 B</b>	<b>0.00 B</b>	<b>9.60 A</b>	<b>0.24 B</b>	<b>9.10 A</b>	<b>0.22 B</b>	
<b>Anaç Toplamı</b>	<b>3.54 A</b>		<b>4.44 A</b>		<b>4.92 A</b>		<b>4.66 A</b>		
<b>Besi Ort.</b>	<b>½ MS</b>				<b>WP</b>				
<b>Toplamı</b>	<b>8.66 A</b>				<b>0.11 B</b>				
<b>LSD<sub>0.05</sub></b>	<b>Anaç: 3.46</b>	<b>Besi Ortamı: 2.45**</b>	<b>Kombinasyon: 4.59**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı: 4.91**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon: 13.00**</b>		

Anaç X Besi Ortamı interaksyonunda besi ortamlarının kendi aralarında bitki kök uzunluğu oluşumları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıkların ortaya çıktığı görülmüştür. Bununla beraber anaç ile interaksyonunda aralarında % 1 düzeyinde önemli farklılıkların çıktığı görülmektedir. En yüksek bitki kök uzunluğu oluşumu 9.60 mm ile GN-22 X ½ MS, 9.10 mm ile GF-677 X ½ MS, 7.21 mm ile FG-71 X ½ MS ve 7.08 mm FG-69 X ½ MS kombinasyon interaksyonlarında rastlanmıştır. Bitki kök uzunluğu oluşumu bakımından BAP hormonun olduğu besi ortamlarının bitkilerde kök ve uzunluk olarak, TDZ hormonunun olduğu ortamlara göre daha yetersiz kalmıştır. Elde edilen en düşük bitki kök uzunluğu 0.00 mm ile FG-69 X WP, 0.00 mm ile FG-71 X WP, 0.24 mm ile GN-22 X WP ve 0.22 mm ile GF-677 X WP kombinasyon interaksyonlarında görülmüştür. Anaç X Besi Ortamı interaksyonunun dağılımına genel bakıldığında ½ MS besi ortamının seçilen ve kontrol anaçlarıyla etkileşiminin iyi olduğu, WP besi ortamında ise etkileşiminde yetersiz kaldığı gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.11.** Kontrol anaçının kök uzunluğu ölçümü

Anaç X Besi Ortamı X Hormon Kombinasyon interaksyonlarında farklılıkların çok yüksek olmamakla beraber 33.60 mm ile 0.00 mm kök uzunlukları arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. İstatistiksel olarak bitki kök uzunluğu değerlendirmesi bakımından % 1 düzeyinde önemli farklılıkların olduğu görülmüştür. En yüksek bitki kök uzunluğu oranı 33.60 mm ile GN-22 X ½ MS X KOM5, 32.15 mm ile FG-71 X ½ MS X KOM5 ve

31.86 mm ile GF-677 X ½ MS X KOM5 interaksiyonlarından elde edilmiştir. Bununla beraber seçilmiş anaçlar arasında bitki kök uzunluğu oranları 15.71 mm ile FG-71 X ½ MS X KOM1 ve 16.68 mm ile FG-69 X ½ MS X KOM4 interaksiyonlarında bitki kök uzunluğu bakımından kendi kombinasyonları arasında en üst seviyede olduğu değerler olarak görülmüştür. Ayrıca klon anaçlar arasından seçilen FG-69 ve FG-71 anaçları ve kontrol olarak belirlenen GF-677 ve GN-22 anaçlarının performans olarak en iyi sonuç verdiği kombinasyonlar KOM5 ve KOM4 hormon kombinasyonlarıdır. Güler ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada MaxMa-14 ve GF-677 anaçlarının kök uzunluğu değerine bakmışlardır. MaxMa-14 anacı için MS besisi ortamına ilave edilen 2 mg/l IBA hormonunda kök uzunluğu 2.08 cm ve GF-677 anacı için besisi ortamına ilave edilen 3 mg/l IBA hormon konsantrasyonunda kök uzunluğu 0.51 cm olarak saptanmıştır. Yıldırım (2012), kayısı anaçlarının doku kültürüne aldığı çalışmasında MS besisi ortamına eklenen 1 mg/l BAP'ın kök uzunluğu bakımından en yüksek Karacabey çeşidinde 15.79 mm ile ölçüldüğünü bildirmiştir. Yaptığımız bu çalışmada kültüre alınan en uzun eksplant kök uzunluğu GN-22 klon anacının ½ MS X KOM5 (33.60 mm) kombinasyonundan elde edilmiştir. ½ MS besisi ortamında KOM2 hormon kombinasyonunun FG-69 anacının bitki kök uzunluğuna etkisi olumlu görülmüş ve 17.46 mm olarak ölçülmüştür.



**Şekil 4.12.** Kök oluşumu ve kök uzunluğunun ölçümü

Çizelge 4.5.'e genel olarak bakıldığında besisi ortamlarının tek başına seçilmiş ve kontrol anaçlarında bitki kök uzunluğu oluşturmada istatistiksel anlamda benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak Anaç X Besi Ortamı etkileşimine bakıldığında farklılıkların arttığı istatistiksel anlamda önemli seviyelere çıktığı, her anacın her besisi

ortamında benzer etkiyi göstermediği saptanmıştır. Bitki kök uzunluğunun besi ortamlarına baktığımızda melez anaçlarda ½ MS besi ortamı, WP besi ortamına göre öne çıkmıştır. GN-22 ve GF-677 anaçlarında ½ MS besi ortamında önemli sonuçlar elde edilmiştir. Kombinasyonlarında tek başına yüksek düzeyde bir varyasyon kaynağını oluşturduğu çalışmada ortaya çıkmıştır. Tüm etkileşimler göz önüne alındığında seçilen ve kontrol anaçlarının performans olarak en iyi sonuç verdiği ortam ½ MS besi ortamındaki KOM5 ve KOM4 hormon kombinasyonları olmuştur.

#### **4.1.6. Ortalama Kök Çapı (mm)**

İki farklı besi ortamına (½ MS, WP) ilave edilen farklı hormon kombinasyonlarının seleksiyon sonucu elde edilen klon anaçlardan seçilmiş (FG-71, FG-69) ve kontrol anaçlarındaki (GN-22, GF-677) ortalama kök çapı oluşumuna olan etkileri Çizelge 4.6.'da görülmektedir. Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda besi ortamı uygulaması haricindeki tüm uygulama ve bunların interaksyonlarının anaçlarda ortalama kök çapı oluşumuna önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır.

Seçilmiş ve kontrol anaçlarında ortalama kök çapı (mm) 0.35 - 0.29 mm arasında değişim göstermiştir. En yüksek ortama kök çapı oluşumu FG-71 anacında (0.35mm) gözlemlenirken, bunu aynı istatistiksel grupta yer alan FG-69, GN-22 ve GF-677 ve anaçları sırasıyla 0.32, 0.32 ve 0.29 mm değerleriyle takip etmiştir. Anaçların istatistiksel dağılımına bakıldığında ortalama kök çapı oluşumlarında yüksek bir dağılımın olmadığı, bir farklı ana grubun oluştuğu, FG-69 anacının diğer seçilmiş ve kontrol anaçlarından daha üstün özellik gösterdiği saptanmıştır.

İki farklı (½ MS ve WP) besi ortamının seçilmiş ve kontrol anaçlarındaki ortalama kök çapı oluşumuna istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmadığı gözlenmiştir. Çalışmada anaçlardan alınan veri sonuçlarına göre besi ortamları toplamı istatistiksel olarak ortalama kök çapı, ½ MS'de 0.57 mm olurken, WP'de besi ortamında 0.07 mm olmuştur.

Kombinasyonların ortalama kök çapı oluşumuna etkilerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Kombinasyonlar arasındaki dağılımın yüksek olduğu ve istatistiksel olarak iki farklı gruba ayrıldığı saptanmıştır. 1.01 ile 0.00 mm arasında değişim gösteren dağılımda en yüksek değer KOM5 kombinasyonunda 1.01 mm, en düşük değer ise KOM6, KOM3 ve KOM0 kombinasyonlarında 0.00 mm olarak tespit edilmiştir. Dağılıma genel olarak bakıldığında ortalama kök çapı oluşumunda dikkat çeken

en yüksek değerler KOM5 kombinasyonunda 1.01 mm, KOM4 kombinasyonunda ise 0.73 mm olarak öne çıkmıştır.

Anaç X Besi Ortamı interaksyonunda besi ortamlarının kendi aralarındaki ortalama kök çapı oluşumları arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli çıkmamakla beraber anaç ile interaksyonunda aralarında % 1 düzeyinde önemli farklılıkların çıktığı görülmüştür.



Çizelge 4.6. Ortalama kök çapı (mm)

Kombinasyonlar	Anaçlar								Kombinasyon Toplamı
	FG-69		FG-71		GN-22		GF-677		
	Besi Ortamları								
	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	
<b>Komb-0</b>	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>0.00 D</b>
<b>Komb-1</b>	0.00 d	0.00 d	15.71 b	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>1.96 C</b>
<b>Komb-2</b>	17.46 b	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>2.18 C</b>
<b>Komb-3</b>	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>0.00 D</b>
<b>Komb-4</b>	16.68 b	0.00 d	14.32 bc	0.00 d	17.16 b	0.00 d	16.10 b	0.00 d	<b>8.03 B</b>
<b>Komb-5</b>	15.45 b	0.00 d	32.15 a	0.00 d	33.60 a	1.70 cd	31.86 a	1.56 cd	<b>14.54 A</b>
<b>Komb-6</b>	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	0.00 d	<b>0.00 D</b>
<b>Anaç X Besi Ort.</b>	<b>7.08 A</b>	<b>0.00 B</b>	<b>7.21 B</b>	<b>0.00 B</b>	<b>9.60 A</b>	<b>0.24 B</b>	<b>9.10 A</b>	<b>0.22 B</b>	
<b>Anaç Toplamı</b>	<b>3.54 A</b>		<b>4.44 A</b>		<b>4.92 A</b>		<b>4.66 A</b>		
<b>Besi Ort.</b>	½ MS				WP				
<b>Toplamı</b>	<b>8.66 A</b>				<b>0.11 B</b>				
<b>LSD<sub>0.05</sub></b>	<b>Anaç: 3.46</b>	<b>Besi Ortamı: 2.45**</b>	<b>Kombinasyon: 4.59**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı: 4.91**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon: 13.00**</b>		

En yüksek ortalama kök çapı 0.65 mm ile FG-69 X ½ MS, 0.70 mm ile FG-71 X ½ MS, 0.49 mm ile GN-22 X ½ MS ve 0.45 mm ile de GF-677 X ½ MS interaksiyonlarından elde edilmiştir. En düşük ortalama kök çapı 0.00 mm ile FG-69 X WP ve FG-71 X WP'de görülürken, 0.14 ile de GN-22 X WP'de olmuştur. Anaç X Besi Ortamı interaksiyonu dağılımına genel olarak bakıldığında WP besi ortamı FG-71 ve FG-69 anaçlarında istenilen etkiyi göstermezken, ½ MS besi ortamının kontrol ve seçilmiş anaçlarda etkileşiminin daha yüksek değere ulaştığı ortaya çıkmıştır.



**Şekil 4.13.** Kumpasla kök çapı ölçümü yapılacak anaç

Anaç X Besi Ortamı X Hormon Kombinasyon interaksiyonlarında farklılıklar çok yüksek olmamakla beraber 2.01 ile 0.00 mm arasında değişim göstermiştir. İstatistiksel olarak ortalama kök çapı oluşumu değerleri bakımından ise % 1 düzeyinde önemli farklılıkların oluştuğu görülmüştür. En yüksek ortalama kök çapı oluşumunun FG-69 X ½ MS X KOM5 (2.01 mm) ve FG-71 X ½MS X KOM1 (1.83 mm) interaksiyonlarında oluştuğu çalışmadan anlaşılmıştır. En düşük ortalama kök çapı oluşumuna 0.00 mm ile FG-69 X WP ve 0.93 mm ile de GF-677 X WP interaksiyonunda rastlanmaktadır. Güler ve ark. (2017), GF-677 anacında kök çapının 3mg/l IBA uygulamasında 1.31 mm olarak bulunduğunu bildirmişlerdir. Aydın (2019), kiraz, vişne ve mahlep genotiplerinde 4 farklı IBA (0, 0.5,1.0,2.0 mg/l) dozunun *in vitro* koşullarında köklenmesi için uygulamışlardır.

Araştırmacı yaptığı çalışmada köklenen anaçların kök çapına ilişkin en yüksek değerleri kirazda 0.90 mm ile 1.0 mg/l IBA'lı ortamdan, vişnede 0.85 mm ile 2.0 mg/l IBA'lı ortamdan, mahlepte 0.72 mm ile 1.0 mg/l IBA'lı ortamdan almıştır. Bu sonuçlar ile yaptığımız çalışmadaki veriler benzer şekilde örtüşmüştür. Bu çalışmada elde edilen en yüksek kök çapı verisi FG-69 anacının aktarıldığı ½ MS besi ortamında KOM5 hormon kombinasyonunda 2.01 mm olarak elde edilmiştir.



**Şekil 4.14.** Kontrol anacı kök çapı ölçümü

Çizelge 4.6.'ya genel olarak bakıldığında besi ortamlarının tek başına seçilmiş ve kontrol anaçlarında ortalama kök çapı oluşturmada istatistiksel anlamda benzer etki göstermediği tespit edilmiştir. FG-69 anacı hariç diğer anaçların da ortalama kök çapı oluşturmada istatistiksel anlamda yine benzer etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ancak Anaç X Besi Ortamı etkileşimine bakıldığında farklılıkların arttığı istatistiksel anlamda önemli seviyelere çıktığı, her anacın her besi ortamında benzer etkiyi göstermediği saptanmıştır. Seçilmiş ve kontrol anaçlarında besi ortamı etkisine baktığımızda ½ MS besi ortamı, WP besi ortamına göre öne çıkmıştır. Kombinasyonların da tek başına yüksek düzeyde bir varyasyon kaynağını oluşturduğu çalışmada tespit edilmiştir. Tüm etkileşimler göz önüne alındığında KOM4 ve KOM5 kombinasyonlarının ½ MS besi ortamında ve tüm anaçlarda başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür.

#### 4.1.7. Eksplant Başına Ortalama Yaş Ağırlık (g)

Denemede anaçların bitki yaş ağırlığına ait veriler Çizelge 4.7.'de görülmektedir. Yapılan istatistiksel hesaplamalar sonucunda besi ortamı uygulaması haricindeki tüm uygulama ve bunların interaksiyonlarının anaçlarda bitki yaş ağırlığı oluşumuna önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır.

Seçilmiş ve kontrol anaçların bitki yaş ağırlığı ortalaması 0.39 ile 0.66 g arasında değişim göstermiştir. En yüksek bitki yaş ağırlık oluşumu FG-69 anacında (0.66g) gözlemlenmiştir. Bunu istatistiksel sıralamada GN-22, GF-677 ve FG-71 anaçları sayısal değerler olarak 0.52, 0.43 ve 0.39 g verileri ile takip etmektedir. Anaçların istatistiksel dağılımına bakıldığında ortalama bitki yaş ağırlığı oluşumu bakımından yüksek bir dağılım olmadığı, üç farklı ana grubun oluştuğu, FG-69 anacının diğer seçilmiş ve kontrol anaçlarından daha üstün özellik gösterdiği belirlenmiştir.

$\frac{1}{2}$  MS ve WP besi ortamlarının, kullanılan anaçların bitki yaş ağırlığı oluşumuna istatistiksel olarak önemli etkide bulunmadığı gözlenmiştir. Yapılan çalışmada WP (Woody Plant) besi ortamına alınan anaçların besi ortalaması toplamı sonucunda bitkilerin yaş ağırlığı 0.46 g olurken,  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamına alınan anaçlarda ise bu değer 0.54 g olmuştur.

Biri kontrol olmak üzere farklı hormon kombinasyonlarından oluşan yedi kombinasyonun seçilmiş ve kontrol anaçlarındaki etkisi değerlendirilmiştir. Bitki yaş ağırlığı oluşumuna etkilerinin istatistiksel olarak % 1 düzeyinde önemli olduğu çalışmada ortaya çıkmıştır. Kombinasyonlar arasındaki dağılımın yüksek olmadığı istatistiksel olarak iki farklı gruba ayrıldığı saptanmıştır. 0.87 ile 0.28 g arasında değişim göstermiştir. Dağılımın en yüksek bitki yaş ağırlık değeri 0.87 g ile KOM1 kombinasyonunda, en düşük bitki yaş ağırlık değerleri ise KOM0, KOM6 ve KOM5 kombinasyonlarında sırasıyla 0.28, 0.35 ve 0.38 g olarak belirlenmiştir. Dağılıma genel olarak bakıldığında bitki yaş ağırlığının ortalama 0.4 g civarında olduğu ancak KOM1 ve KOM2 kombinasyonlarında 0.87 ve 0.79 g değerleriyle dağılımda dikkat çekecek yönde yüksek etki yaptığı anlaşılmıştır.

Anaç X Besi Ortamı interaksiyonunda besi ortamlarının kendin aralarındaki bitki yaş ağırlığı arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli çıkmamakla birlikte anaç ile interaksiyonunda aralarında % 1 düzeyinde önemli farklılıklar çıktığı görülmüştür.

Çizelge 4.7. Eksplant başına yaş ağırlık (g)

Kombinasyonlar	Anaçlar								Kombinasyon Toplamı
	FG-69		FG-71		GN-22		GF-677		
	Besi Ortamları								
	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	½ MS	WP	
<b>Komb-0</b>	0.23 klm	0.10 m	0.49 fm	0.28 jm	0.24 klm	0.35 h-m	0.28 j-m	0.32 j-m	<b>0.28 B</b>
<b>Komb-1</b>	0.39 h-m	1.89 a	1.08 cd	1.07 cd	0.77 d-h	0.76 d-ı	0.44 g-m	0.61 e-k	<b>0.87 A</b>
<b>Komb-2</b>	0.32 j-m	1.62 ab	0.32 jm	0.36 hm	1.06 cd	0.93 cde	0.86 c-g	0.89 c-f	<b>0.79 A</b>
<b>Komb-3</b>	0.29 j-m	1.25 bc	0.36 hm	0.34 hm	0.36 hm	0.14 lm	0.39 h-m	0.14 lm	<b>0.40 B</b>
<b>Komb-4</b>	0.89 c-f	0.53 e-m	0.09 m	0.22klm	0.56 e-l	0.35 h-m	0.44 g-m	0.33 ı-m	<b>0.41 B</b>
<b>Komb-5</b>	0.55 e-l	0.35 h-m	0.11 m	0.11 m	0.68 d-j	0.41 h-m	0.38 h-m	0.36 h-m	<b>0.38 B</b>
<b>Komb-6</b>	0.22 klm	0.60 e-k	0.25 jm	0.43 gm	0.39 h-m	0.26 j-m	0.37 h-m	0.26 j-m	<b>0.35 B</b>
<b>Anaç X Besi Ort.</b>	<b>0.41 C</b>	<b>0.90 A</b>	<b>0.38 C</b>	<b>0.40 C</b>	<b>0.58 B</b>	<b>0.46BC</b>	<b>0.45 BC</b>	<b>0.41 C</b>	
<b>Anaç Toplamı</b>	<b>0.66 A</b>		<b>0.39 C</b>		<b>0.52 B</b>		<b>0.43 BC</b>		
<b>Besi Ort.</b>	<b>½ MS</b>				<b>WP</b>				
<b>Toplamı</b>	<b>0.54 A</b>				<b>0.46 B</b>				
<b>LSD<sub>0.05</sub></b>	<b>Anaç: 0.09**</b>	<b>Besi Ortamı: 0.07**</b>	<b>Kombinasyon: 0.13**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı: 0.15**</b>		<b>Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon:0.41**</b>		

En yüksek bitki yaş ağırlık değerlerine 0.90 g ile FG-69 X WP, 0.58 g ile GN-22 X ½ MS ve 0.46 g ile de GN-22 X WP interaksiyonlarında rastlanmıştır. En düşük değerler ise 0.38 g ile FG-71 X ½ MS ve 0.40 g ile FG-71 X WP interaksiyonlarında belirlenmiştir. Anaç X Besi Ortamı karşılıklı etkileşimine genel olarak bakıldığında WP besisi ortamının FG-71 dışındaki anaçlarda iyi bir etkileşim halinde olduğu, ½ MS besisi ortamının etkileşimde daha geride kaldığı ancak FG-69 ile interaksiyonunda ise en yüksek değere ulaştığı ortaya çıkmıştır. Dağılımın normal seyrettiği, istatistiksel olarak üç farklı grubun olduğu Çizelge 4.7.'de, ortalama bitki yaş ağırlığının 0.30 civarında olduğu 0.70 g ve üzeri değerlerin istatistiksel anlamda çok önemli farklılıklar oluşturdukları söylenebilir.



Şekil 4.15. Yaş ağırlığı tartılan anaçlar

Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon interaksiyonlarında farklılıkların çok yüksek olmamakla beraber 1.89 g ile 0.09 g arasında değişim göstermiştir. İstatistiksel bitki yaş ağırlığı değerleri bakımından ise % 1 düzeyinde önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. En yüksek bitki yaş ağırlığı değerlerinin FG-69 X WP X KOM1 (1.89 g) ve FG-69 X WP X KOM2 (1.62 g) interaksiyonlarında olduğu çalışmadan anlaşılmıştır. Bununla beraber anaç oluşturduğu FG-69 X WP X KOM3 (1.25g), FG-71 X ½ MS X KOM1 (1.08 g), FG-71X WP X KOM1 (1.07 g), interaksiyonlarının bitki yaş ağırlığı oluşumunda dağılımın farklılıkları görülmüştür. Dağılımın bundan sonraki kısımlarında ise yüksek

farklılıkların oluşmadığı çoğunlukla elde edilen bitki yaş ağırlığı değerlerinin arasında çok büyük farklar olmamakla birlikte değişiklik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Anaç X Besi Ortamı X Kombinasyon interaksiyonlarında en düşük bitki yaş ağırlığı değerlerine ise FG-71 X ½ MS X KOM4 (0.09 g), FG-69 X WP X KOM0 (0.10 g) ile FG-71 X WP X KOM5 (0.11g) interaksiyonlarında rastlanmıştır. Güler ve ark. (2017), MaxMa-14 anacının *in vitro* koşullarında MS besi ortamına ilave edilen 2 mg/l IBA uygulamasında eksplant yaş ağırlığının en yüksek değere sahip olduğunu (110 mg) bildirmişlerdir. Yaptığımız deneme de WP besi ortamında TDZ, IAA ve NAA hormon kullanımında, FG-69 anacının KOM1 hormon kombinasyonundan en yüksek yaş ağırlık sonuçları (1.89 g) elde edilmiştir.

Çizelge 4.7.'ye genel olarak bakıldığında besi ortamlarının tek başına seçilmiş ve kontrol anaçlarında bitki yaş ağırlığı oluşmasında istatistiksel anlamda benzer etki gösterdiği tespit edilmiştir. FG-69 anacı hariç diğer anaçların da bitki yaş ağırlığı oluşturmada istatistiksel anlamda yine benzer etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. Ancak Anaç X Besi Ortamı etkileşimine bakıldığında farklılıkların arttığı istatistiksel anlamda önemli seviyelere çıktığı, her anacın her besi ortamında benzer etkiyi göstermediği saptanmıştır. Bitki yaş ağırlığı besi ortamlarının etkisine baktığımızda melez anaçlarda WP besi ortamı ½ MS besi ortamına göre öne çıkarken GN-22 ve GF-677 anaçlarında ½ MS besi ortamı öne çıkmıştır. Kombinasyonların da tek başına yüksek düzeyde bir varyasyon kaynağı oluşturduğu görülmüştür. Tüm etkileşimler göz önüne alındığında KOM1 ve KOM2 kombinasyonlarının her iki besi ortamında ve tüm anaçlarda başarılı sonuçlar verdiği görülmüştür

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Melezleme ıslahı ile elde edilmiş ve seçilmiş bazı anaç adaylarının *in vitro* kültür koşullarında çoğaltılmasıyla ilgili 2019-2021 yılları arasında yapılan bu çalışmada, elde edilen bulgulara ilişkin sonuç ve öneriler aşağıdaki gibidir;

Çalışma Kahramanmaraş Doğu Akdeniz Geçit Kuşağı Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne (DAGTEM) ait doku kültürü laboratuvarında yürütülmüştür.

Bu çalışma ile 2 farklı (GN-22, GF-677) ticarete konu olmuş *Prunus* anacı ile melezleme ile elde edilmiş 2 yeni anaç adayının (FG-69, FG-71) *in vitro* kültür koşullarında mikroçoğaltımı ve mikroçoğaltımdaki verimliliği incelenmiştir. *In vitro* kültür ortamı olarak kullanılan besi ortamı ve farklı büyüme düzenleyicilerin anaçların mikroçoğaltımına etkileri ortaya konmuştur.

Çalışmada FG-69 nolu anaç adayının mikroçoğaltımda diğer tüm anaçlara göre genel olarak daha ümitvar sonuçlar verdiği ortaya çıkmıştır. Çalışma sonucunda; doku kültürüne alınan eksplantın genotipik yapısının; eksplant başına düşen sürgün sayısı, eksplant sürgün uzunluğu, eksplant köklenme yüzdesi, eksplant köklenme sayısı, eksplant kök çapı, bitki kök uzunluğu ve bitki yaş ağırlığı gibi parametreler açısından oldukça belirleyici olduğu açıkça görülmüştür.

Melez anaçların mikroçoğaltımında MS besi ortamının çoğalma katsayısına etkisi olurken, GF-677 ve GN-22 anaçlarında WP besi ortamının daha etkili olduğu belirlenmiştir. Eksplant başına düşen bitki sayısı ve bitki sürgün uzunluğu bakımından BAP içeren KOM3 ve KOM2 ortamlarının TDZ içeren diğer ortamlara göre daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Çalışmada farklı büyüme düzenleyicilerin ilave edildiği besi ortamlarında FG-69 ve FG-71 anaçları ½ MS besi ortamında köklenirken diğer anaç ve hormon kombinasyonlarında köklenme gözlemlenmemiştir. Sitokinin gruplarından olan TDZ kurulan denemede bitki katsayısı artırımı için kullanılırken KOM4, KOM5 ve KOM6 hormon kombinasyonunun olduğu besi ortamında bitkilerde köklenme belirlenmiştir.

Anaçlara ait taze ağırlıklar incelendiğinde FG-71 anacının BAP içeren hormon kombinasyonu en öne çıkmıştır. ½ MS besi ortamında genel olarak daha düşük ağırlıklar elde edilirken WP besi ortamında daha yüksek yaş ağırlıklar elde edilmiştir.

Yapılan çalışmada kardeşlenme hormonu olarak kullanılan BAP ve TDZ ekonomi açısından dűřünülmektedir. Kardeřlenme için zeatin gibi pahalı hormonlar bu nedenle tercih edilmemiştir.

Çalışma sonunda seçilmiş anaç adaylarının kontrol grubu anaçlarına göre *in vitro* koşullarda daha olumlu sonuçlar verdiği ortaya konulurken elde edilen bu sonuçların ileride yapılacak benzer çalışmalara da ışık tutacağı dűřünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y. S., Çelik, H., Çelik, M., Fidan, Y., Gülşen, Y., Günay, A., Halloran, N., Köksal, A. İ., Yanmaz, R. (1995). Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No:4, 369 s., Ankara.
- Ahmad, T., Hafeez-Ur, R., Ahmed, Cms., Laghari, M.H. (2003). Effect of Culture Media and Growth Regulators on Micropropagation of Peach Rootstock GF 677. Pakistan Journal Of Botany 35(3): 331-338.
- Aka Kaçar, Y. (2004). Moleküler Markörlerin *Prunus* Türlerinde Kullanımı. Alatarım.
- Aka Kaçar, Y. (2015). Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Ders Notu (Yayınlanmamış).
- Akdemir, H., Akbulut, T., Süzerer, V., Kayıhan, D., Koç, İ., Çiftçi, Y. Ö. (2016).Farklı Sitokinin ve Şeker Türlerinin Alev Ağacı Bitkisinin *In Vitro* Çoğaltımına Olan Etkisi Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi Sayı 2,248 -255, Cilt 31
- Alam, M., Barua, R. (2015). *In Vitro* Regeneration and Antibacterial Activity of *Prunus domestica* L. Journal of Bioscience & Biotechnology, 4(1): 9-15
- Andreu, P., Marin, J.A. (2005). *In Vitro* Culture Establishment and Multiplication of the *Prunus* Rootstock “Adesoto 1001” (*P. insititia* L.) as Affected by Type of Propagation of the Donor Plant and by the Cultur Medium Composition. Scientia Horticulturae, 106: 258-267.
- Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C., Tsirakoglou, V. (2005). Inhibitory Effects of Riboflavin (Vitamin B) on the *In Vitro* Rooting and Nutrient Concentration of Explants of Peach Rootstock GF 677 (*Prunus amygdalus* X *P. persica*). Scientia Horticulturae, 106:268-272
- Arıcı, Ş.E. (2008). Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü ile Çoğaltılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 3(1): 19-23, ISSN 1304-9984.
- Aydın E. (2019). Anaç Adayı Kiraz, Vişne ve Mahlep Genotiplerinin Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltılması. Doktora Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Aydın E., Yarılgaç T. (2020). Anaç Adayı Kiraz ve Vişne Genotiplerinin Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltılması Akademik Ziraat Dergisi 9(2): 171-180
- Aydın E., Yarılgaç T. (2021). *In Vitro* Propagation of Some Mahaleb Genotypes as Candidate Rootstock for Sweet Cherries, Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences Volume 31, Issue 4, DOI: 10.29133/Yutbd.892027
- Bassi, D. Monet, R. (2008). 1. Botany and Taxonomy. In: Layne, D.R. and Bassi, D., Eds., The Peach: Botany, Production and Uses, CAB International, Wallingford, 1-36.

- Bulunuz Palaz E., Uğur, R., Büyükçingil, Y. (2018). Effects of Different Growth Regulator Concentrations Rooting of SP-2 (*Prunus spinosa*) Clonal Candidate Rootstock *In Vitro* Conditions. International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Science. 1(3): 186-191.
- Canlı, F. A., Tian, L. (2009). Regeneration of Adventitious Shoots from Mature Stored Cotyledons of Japanese Plum (*Prunus salicina* Lindl). Scientia Horticulturae, 120: 64-69.
- Cantin, C.M. (2009). Agronomic and Fruit Quality Evaluation as a Criterion for the Selection of New Peach [*Prunus persica* (L.) Bastch] Cultivars (PhD Thesis). University of Zaragoza, Spain, p 191.
- Channuntapipat, C., Sedgley, M., Collins, G. (2003). Micropropagation of Almond Cultivars Nonpareil and Ne Plus Ultra and the Hybrid Rootstock Titan x Nemaguard. Scientia Horticulturae, 98(4): 473- 484.
- Demirsoy, H., Macit, İ. (2007). Meyve Ağaçlarında Bodurluk Mekanizması. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 22(2): 214-218.
- Dimassi-Theriou, K. (1995). *In vitro* Rooting of Rootstock GF-677 (*P. amygdalus* x *P. persica*) as Influenced by Mineral Concentration of the Nutrient Medium and Type of Culture-tube Sealing Material. Journal of Horticultural Science, 70(1): 105-108.
- Dobranszki J., Silva. J.A.T. (2010). Micropropagation of Apple - A Review. Biotechnology Advances 28: 462488.
- Doriç, D., Ognjanov, V., Ljubojeviç, M., Baraç, G., Duliç, J., Pranjiç, A., Dugaliç, K. (2014). Rapid propagation of Sweet and Sour Cherry Rootstocks. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 42(2): 488-494.
- Erbaş, B. (2011). Myrobolan ve Garnem Anaçlarının *In vitro* Doku Kültürü Teknikleri ile Çoğaltımı Üzerinde Araştırmalar. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- FAO, (2014). "Tarım İstatistikleri", FAO Web Sayfası([www.fao.org](http://www.fao.org)).
- Fasolo, F., Malavası, F., Rameri, R. (1987). Preliminary Investigation on *In vivo* Rooting of Microcuttings of GF-677 Peach Rootstock. ISHS Acta Horticulturae 212; Symposium on *In vitro* Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants. <http://www.ishs.org>
- Fotopoulos, S., Sotiropoulos, T. E., (2005). *In vitro* Rooting of PR 204/84 Rootstock (*P. persica* x *P. amygdalus*) as Influenced by Mineral Concentration of the Culture Medium and Exposure to Darkness for a Period. Agronomy Research 3(1): 3-8.
- Gebhardt, K. (1984). Self-Rooted Sour Cherries *In Vitro*: Auxin Effects on Rooting and Isoperoxidases. In International Workshop on Improvement of Sweet and Sour Cherry Varieties and Rootstocks, 169: 341-350.

- Güler S., Eşitken A. (2017). *In Vitro* Şartlarda BBAR Uygulamalarının GF-677 ile MaxMa-14'ün Köklenmesi Üzerine Etkisi. Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi. 31(3): 10-16.
- Güney, M. (2019). Development of an *In Vitro* Micropropagation Protocol for Myrobalan 29C Rootstock. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 43(6): 569-575.
- Hammerschlag, F. A., Bauchan, G. R., Scorza, R. (1987). Factors Influencing *In Vitro* Multiplication and Rooting of Peach Cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 8(3): 235-242.
- Hepaksoy, S., (2004). Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar. E.Ü.Z.F. Dergisi. 41(3): 11-22.
- Hepaksoy, S. (2017). GF 677 (*P. amygdalus* x *P. persica*) Klon Anacının Doku Kültüründe Sürgünucu Tekniği ile Çoğaltılması Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 54(4): 447-451.
- Jimenez., M.P., Navarro., A.C. Terrer., J.C. (2012). Regeneration of Peach (*Prunus persica* L. Batsch) Cultivars And *Prunus persica* 3 *Prunus dulcis* Rootstocks Via Organogenesis. Plant Cell Tissue Organ Culture, 108: 55-62.
- Kamalı, K., Majıdı, E., Zarghamı, R. (2001). Micropropagation of GF- 677 Rootstocks (*P. amygdalus* x *P. persica*). 11. GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds CIHEAM-IAMZ, 56: 175-177.
- Kankaya, A., Özyiğit S. (1998). Bazı Klon Anaçlarının Çelikle Çoğaltılabilirliği. Ege Bölgesi Tarım Kongresi, Aydın. Eğirdir Bahçe Kültürleri Araştırma, 3(2): 85 – 93.
- Knapp, E., Hanzer, V., Mendonça, D., Camara Machado, A., Katinger, H., Camara Machado, M.L. (1998). Improved Virus Detection in Rosaceous Fruit Trees *In Vitro*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 52: 3-6.
- Kose, S. (2015). *In vitro* propagation of ‘Garnem’ (*P. persica* x *P. dulcis*) Rootstock. Journal of Plant Molecular Biology and Biotechnology, 5(1): 25-30.
- Lurie, S., Crisosto, C.H. (2005). Chilling Injury in Peach and Nectarine, Postharvest Biology and Technology, 37: 195-208.
- Lloyd, G., McCown, B. (1981). Commercially-Feasible Micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by use of Shoot Tip Culture. Int. 1. Plant Prop. Soc. Comb. Proc., 30: 421–427.
- Murashige, T, Skoog, F.A. (1962). Revised Medium for Rapid Growth and Biossay with Tobacco Tissue Culture. Phgsiol. Plant 15:473-479.
- Özbek, B. (2011). Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının *In Vitro* Çoğaltımı ve Kök-Ur Nematodlarına Karşı Dayanıklılıklarının Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Adana. S. 63.
- Özbek, B., Kayım, M., Elekçioğlu, İ.H. (2014). *In Vitro* Koşullarda Yetiştirilen Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Kök-Ur Nematodları (*Meloidogyne incognita* ve

*Meloidogyne javanica*, [Tylenchida: Meloidogynidae]]'na Karşı Dayanıklılık Düzeylerinin Saptanması Üzerine Araştırmalar. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 28(2): 27-35.

- P'erez-Tornero, O., Burgos, L., Egea, J. (1999). Introduction and Establishment of Apricot *In Vitro* Through Regeneration of Shoot From Meristem Tips. *In Vitro Cellular Developmental Biology-Plant*, 35: 249-253.
- Pakyurek, M., Hepaksoy, S. (2019). A Study on *In Vitro* Propagation Possibilities of some Clone Rootstocks of *Prunus* Species, International Journal of Scientific and Technological Research [www.iiste.org](http://www.iiste.org) ISSN 2422-8702 (Online), DOI: 10.7176/IJSTR/5-9-10 Vol.5, No.9.
- Paris, R., Pratesi, D., Negri, P. (2004). *In Vitro* Morphogenic Ability of Mature or Embryonic Apricot Tissue. *Acta Horticulturae* 663(1): 487-490.
- Park, S. H., Elhiti, M., Wang, H., Xu, A., Brown, D., Wang, A. (2017). Adventitious Root Formation of *In Vitro* Peach Shoots is Regulated by Auxin and Ethylene. *Scientia Horticulturae*, 226: 250-260.
- Pascual, L., Marin, J.A. (2005). A Liquid 2,4-D Pulse Increased Shoot and Root Regeneration from Leaf Explant of Adult *Prunus* Rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 106:582-592.
- 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. *Rev. Bras. Frutic.* 25 (1) Jaboticabal abr. [www.scielo.br](http://www.scielo.br)
- Sadeghi, F., Yadollahi, A., Kermani, M. J., Eftekhari, M. (2015). Optimizing Culture Media for *In Vitro* Proliferation and Rooting of Tetra (*Prunus empyrean* 3) Rootstock. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 13(1): 19-23.
- Sarropoulou, V. N., Therios, I. N., Dimassi-Theriou, K.N. (2012). Melatonin Promotes Adventitious Root Regeneration in *In Vitro* Shoot Tip Explants of the Commercial Sweet Cherry Rootstocks CAB-6P (*Prunus cerasus* L.), Gisela 6 (*P. cerasus* x *P. canescens*), and MxM 60 (*P. avium* x *P. mahaleb*). *J. Pineal Res.*, 52: 38-46.
- Shabani, Z., Moghadam, E. G., Abedi, B., Tehranifar, A. (2015). The Effect of Plant Growth Regulators and Their Concentration *In Vitro* on Mass Propagation of Myrobalan 29C Rootstock. *Journal of Horticulture and Forestry*, 7(3): 57-64.
- Silveira, C.A.P. (2000). *In vitro* Multiplication of *Prunus* Rootstock. M. Sc., Federal University of Pelotas Adviser: Jose Carlos Fachinello.
- Silveira, C.A.P., Fachinello, S.C., Fortes, G.R. De L., Citadin, I., Rodrigues, A.C., Quezada, A.C., Da Silva, J.B. (2001). *In vitro* multiplication of *Prunus* rootstocks in Different BAP Concentrations in Two Culture Media. *Revista Brasileira Fruticultura*, 23(3): 488-492.

- Šiško, M. (2011). *In Vitro* Propagation of Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *P. canescens*), *Agricultura*, 8: 31-34.
- Srinivasan, C., Isabel, M.G., Scorza, R. (2005). *Prunus* spp. Almond, Apricot, Cherry, Nectarine, Peach and Plum: Biotechnology of Fruit and Nut Cops, Ed.: Litz, R.E., CABI Publishing, Wallingford, UK, 512-542.
- 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.
- TÜİK, (2014). “Tarım İstatistikleri”, Türkiye İstatistik Kurumu Web sayfası, (www.tuik.gov.tr).
- Uğur, R., Yılmaz, C.H., Polat M., Altun, Ö., Özatar H.O. (2021). Investigation of Leaf Nutrient Content of Some Apricot Varieties Grafted on *Prunus microcarpa* Rootstock. III. Balkan Agricultural Congress., 29 August - 1 October 2021 Edirne/Turkey. S:856-863.
- Uğur, R., Paydaş Kargı S. (2018). Klonal Anaç Adayı Bazı Yabani Erik Genotiplerinin Doku Kültürü ile Üretilen Olanaklarının Araştırılması. *International Journal on Mathematic, Engineering and Natural Science*, 2(4): 121-128.
- Ul, Hasan, S.Z., Ahmad, T., Hafız, I.A., Hussain A. (2010). Direct Plant Regeneration from Leaves of *Prunus* Rootstock GF-677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*), *Pak. J. Bot.*, 42(6): 3817-3830.
- Yıldırım, H.(2012). Bazı Yerli Kayısı Çeşitlerinin *In Vitro* Embriyo Kültürleri Üzerine Besi Ortamı ve Genotipin Etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 2(2): 9-16.
- Yılmaz C.H., Uğur R., Sümbül M.R., Özelçi D. (2021). Performance of some *Prunus* Rootstocks to Transmit Micronutrients to Leaves. *International Journal of Agriculture, Environment and Food Sciences*. 5(4): 656-665.
- Ying-Ning, Z.O.U. (2010). Micropropagation of Chinese Plum (*Prunus salicina* Lindl.) Using Mature Stem Segments. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj Napoca*, 38(3): 214-218.
- Yonghua, Q., Shanglong, Z., Asghar, S., Lingxiao, Z., Qiaoping, Q., Kunsong, C., Changjia, X. (2005). Regeneration Mechanism of Toyonoka Strawberry Under Different Color Plastic Films. *Plant Sci.*, 168: 1409-1424.
- Zilkah, S., Faingersh, E., Rotbaum, A. (1992). *In vitro* Propagation of Three MxM (*Prunus avium* x *P. mahaleb*) Cherry Rootstocks. *International Symposium on Propagation of Ornamental Plants. ISHS, Acta Hort.*, 314:201-208.