



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**Badem (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A Weeb)'in *in vitro*
Mikroçoğaltılması ve Mikrosürgünlerin Köklenmesini
Etkileyen Bazı Faktörlerin Araştırılması**

NEVZAT SEVGİN

YÜKSEK LİSANS

**KAHRAMANMARAŞ
AĞUSTOS 2010**



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**Badem (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A Weeb)'in in vitro
Mikroçoğaltılması ve Mikrosürgünlerin Köklenmesini
Etkileyen Bazı Faktörlerin Araştırılması**

NEVZAT SEVGİN

YÜKSEK LİSANS

**KAHRAMANMARAŞ
AĞUSTOS 2010**

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Badem (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A Weeb)'in *in vitro* Mikroçoğaltılması ve Mikrosürgünlerin Köklenmesini Etkileyen Bazı Faktörlerin Araştırılması

NEVZAT SEVGİN

YÜKSEK LİSANS

Kod No: 379968

Bu Tez 06/08/2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

Doç. Dr. Mehmet Nuri NAS
DANIŞMAN

Doç. Dr. Yüksel BÖLEK
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Süleyman TOLUN
Enstitü Müdürü

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.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	IV
ÖNSÖZ.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
3. MATERYAL VE METOT.....	8
3.1. Materyal.....	8
3.2. Metot.....	9
3.2.1. Aşama 0 (Eksplant Kaynağının Kültür için Hazırlanması).....	9
3.2.2. Aşama I (Kültüre Başlangıç).....	9
3.2.3. Aşama II (Uygun Ortam ve Bitki Büyüme Düzenleyici Konsantrasyonunun Belirlenmesi ve Mikroçoğaltım).....	13
3.2.4. Aşama III (Köklendirme).....	13
3.2.4.1. Karanlık Uygulamasının Köklenme Üzerine Etkisi.....	13
3.2.4.2. Aktif Kömür Kullanımının ve Karanlık Uygulamasının Köklenme Üzerine Etkisi.....	14
3.2.4.3. Mikrosürgünlerin Doğrudan IBA ile Muamele Edilmesinin Köklenme Üzerine Etkisinin Araştırılması.....	14
3.2.4.4. Phloroglucinol'un Köklenme Üzerine Etkisi.....	14
3.2.4.5. Altkültür ve IBA Etkisinin Köklenme Üzerine Etkisi.....	14
3.2.4.6. Kültür Ortamı Yoğunluğunun Köklenme Üzerine Etkisinin Araştırılması.....	15
3.2.5. Aşama IV (Pişkinleştirme ve Dış Ortama Aktarma).....	15
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	16
4.1. Genel Gözlemler.....	16
4.2. Uygun Ortam ve Bitki Büyüme Düzenleyici Konsantrasyonunun Belirlenmesi ve Mikroçoğaltım.....	16
4.3. Mikrosürgünlerin Köklendirilmesi.....	20
4.3.1. Karanlık Uygulaması ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisi.....	20

4.3.2. Aktif Kömür Kullanımının ve Karanlık Uygulamasının Köklenme Üzerine Etkisi.....	22
4.3.3. Mikrosürgünlerin Doğrudan IBA ile Muamele Edilmesinin Köklenme Üzerine Etkisi.....	22
4.3.4. Phloroglucinolun Köklenme Üzerine Etkisi.....	23
4.3.5. Altkültür ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisi.....	23
4.3.6. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisi.....	25
4.3.7. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA'nın Kök Sayısı Üzerine Etkisi.....	27
4.4. Aşama IV (Pişkinleştirme ve Dış Ortama Aktarma).....	27
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	31
KAYNAKLAR.....	33
ÖZGEÇMİŞ.....	37

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

ÖZET

Badem (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A Weeb)'in *in vitro* Mikroçoğaltılması ve Mikrosürgünlerin Köklenmesini Etkileyen Bazı Faktörlerin Araştırılması

NEVZAT SEVGİN

DANIŞMAN: Doç. Dr. Mehmet Nuri NAS

Yıl: 2010 Sayfa: 48

Jüri: Doç. Dr. Mehmet Nuri NAS

: Doç. Dr. Yüksel BÖLEK

: Yrd. Doç. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ

Bu çalışmada, ekonomik açıdan önemli olan fakat zor köklenen badem çeşitleri için *in vitro* mikroçoğaltmada köklendirme aşamasının optimizasyonu amaçlanmıştır. Denemede GF-677, Nonpareil, Ferragnes ve Tuano badem çeşitleri kullanılmıştır. Sürgün gelişimi bakımından badem için yeni geliştirilen kültür ortamı Nas ve Read Ortamından daha iyi sonuç vermiştir. Sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından meta-Topolin (mT) Benzyladenine (BA)'den daha üstün bulunmuştur. Mikrosürgünler, köklendirme amacıyla; karanlıkta bırakma, köklendirme ortamına aktif kömür ilavesi, mikrosürgünlerin dip kısımlarının doğrudan IBA solüsyonuna bandırılması, köklendirme ortamına phloroglucinol ilavesi, ortam yoğunluğunun değiştirilmesi ve alt kültür sayısının arttırılması gibi muamelelere maruz bırakılmışlardır.

Köklendirme ortamına aktif kömür ilavesi, phloroglucinol ilavesi ve mikrosürgünlerin bir hafta karanlıkta bırakılması köklenmeyi olumlu etkilememiştir. Tam ve ½ yoğunlukta ortam üzerinde köklenme oranları benzer bulunmuştur. Ferragnes ve Nonpareil badem çeşitlerinde köklenme elde edilememiştir. En iyi köklenme, GF-677 (badem x şeftali) anacında %64 oranında 1 mg·L⁻¹ IBA varlığında elde edilmiştir. Phloroglucinol köklenmeyi olumlu etkilememiş fakat sürgün gelişmesini teşvik etmiştir. Altkültür bakımından en iyi köklenme %67 oranında 8. altkültürden elde edilmiştir.

Anahtar kelimeler: IBA, köklenme, *Prunus dulcis*, *in vitro*, Phloroglucinol

**UNIVERSITY OF KAHRAMANMARAŞ SUTÇU IMAM
INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES IN SCIENCE AND ENGINEERING
DEPARTMENT OF HORTICULTURE**

MSc THESIS

ABSTRACT

**Micropropagation of Almonds (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A Weeb) and
Analysis of Some Factors Affecting Rooting of Microshoots**

NEVZAT SEVGİN

SUPERVISOR: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Nuri NAS

Year: 2010 Pages: 48

**Jury: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Nuri NAS
: Assoc. Prof. Dr. Yüksel BÖLEK
: Assist. Prof. Dr. Mehmet SÜTYEMEZ**

The aim of this study was to optimize the rooting stage of some economically important almond cultivars that are difficult to root *in vitro*. Almond cultivars Nonpareil, Ferragnes, Tuano and peach x almond hybrid rootstock GF-677 were used as the experimental material. For the growth of cultures, a new culture medium developed for almond micropropagation was superior to Nas and Read Medium. Off the plant growth regulators tested meta-Topolin provided higher shoot numbers and produced longer shoots compared to Benzyladenine. To induce root induction, microshoots were subjected to various root inducing treatment: Microshoots were left in the dark, active charcoal and phloroglucinol were added into the rooting medium, bottom parts of microshoots were dipped into IBA solution, the concentration of the rooting medium was modified, or the number of subcultures was increased.

Addition of active charcoal or phloroglucinol into the rooting medium and leaving microshoots in the dark for one week had no positive effects on rooting. Rooting ratio on full strength and half-strength media were similar. No rooting was observed with cultivars Nonpareil and Ferragnes. Best rooting percentage (64%) was obtained with GF-677 in the presence of 1 mg·L⁻¹ IBA. Phloroglucinol had no positive effects on rooting but enhanced shoot growth. The highest rooting percentage (67%) was obtained using microshoot that were sub cultured eight times.

Keywords: IBA, rooting, *Prunus dulcis*, *in vitro*, phloroglucinol

ÖNSÖZ

Badem (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb)'in *in vitro* mikroçoğaltılması ve mikrosürgünlerin köklenmesini etkileyen bazı faktörlerin araştırılması isimli yüksek lisans çalışmamda bana maddi ve manevi her türlü desteğini esirgemeyen, her türlü tecrübelerini benimle paylaşan, çalışmam boyunca beni her zaman motive eden ve yönlendiren danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet Nuri NAS' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımda yardımlarıyla her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarım; Mustafa KAYMAZ, Murat AYDEMİR, Zahide SÜSLÜOĞLU, Ajlan YILMAZ ve Merve DAĞLI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

KAHRAMANMARAŞ
AĞUSTOS 2010

NEVZAT SEVGİN

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 1.1. Dünya Badem Üretiminde Önemli Ülkeler.....	1
Çizelge 3.1. Çalışmada Kullanılan Nas ve Read Ortamının Kimyasal Bileşimi.....	12
Çizelge 4.1. Çeşit, Ortam ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Sürgün Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	17
Çizelge 4.2. Çeşit, Ortam ve BA' nın Sürgün Uzunluğu Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	19
Çizelge 4.3. Karanlık ve IBA' nın Köklenme Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	20
Çizelge 4.4. Karanlık ve IBA' nın Kök Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	21
Çizelge 4.5. Altkültür Sayısı ve IBA' nın Köklenme Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	23
Çizelge 4.6. Altkültür ve IBA' nın Kök Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	24
Çizelge 4.7. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA' nın Köklenme Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	25
Çizelge 4.8. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA' nın Kök Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans Analizi (GLM).....	27

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 3.1.	Eksplant Kaynağı Olarak Kullanılan Damızlık Bitkiler.....	8
Şekil 3.2.	Sürdürme Solüsyonuna Konulan Yarı Odunsu Çeliklerin Sürmesiyle Meydana Gelen Yeni Sürgünler.....	10
Şekil 3.3.	Yüzeysel Sterilizasyon Öncesi Yaprakları Kesilmiş Yeşil Çelikler.....	10
Şekil 3.4.	Yeşil Çeliklerin Boğum Aralarından Kesilmesiyle Meydana Gelen Tek-Boğum ve Sürgün-Ucu Eksplantler.....	11
Şekil 4.1.	Ferragnes, Nonpareil ve GF-677 Mikrosürgünlerinin B2 ve NRM Kültür Ortamı Üzerindeki Ortalama Sürgün Sayısı	17
Şekil 4.2.	BA ve mT' ye Bağlı Olarak Bir Eksplantten Meydana Gelen Ortalama Sürgün Sayısı.....	18
Şekil 4.3.	Çeşitlere Bağlı Olarak Bir Eksplanttan Meydana Gelen Ortalama Sürgün Sayısı.....	18
Şekil 4.4.	BBD' ye Bağlı Olarak Ortalama Sürgün Uzunluğu.....	19
Şekil 4.5.	Çeşitlere Bağlı Olarak Ortalama Sürgün Uzunluğu.....	20
Şekil 4.6.	IBA Konsantrasyonunun Köklenme Oranı Üzerine Etkisi.....	21
Şekil 4.7.	IBA Konsantrasyonunun Kök Sayısı Üzerine Etkisi.....	22
Şekil 4.8.	Altkültür Sayısının Köklenme Üzerine Etkisi.....	24
Şekil 4.9.	IBA' nın Kök Sayısı Üzerine Etkisi.....	25
Şekil 4.10.	IBA' nın Köklenme Oranı Üzerine Etkisi	26
Şekil 4.11.	Köklenme Oranı Üzerine Çeşitlerin Etkisi.....	27
Şekil 4.12.	Çeşit ve Ortam Yoğunluğunun Kök Sayısı Üzerine Etkisi.....	28
Şekil 4.13.	Köklendirme Muamelesinden Sonra Mikrosürgünlerde Meydana Gelen Kökler.....	29
Şekil 4.14.	<i>In vitro</i> Köklendirilen ve Aklimitize Edildikten Sonra Dış Ortama Aktarılan Mikrosürgünler.....	30

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BA	: Benziladenin (N-6 Benzyladenine)
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyici
GA₃	: Gibberallik Asit 3 (Giberallie Acid 3)
IBA	: İndolbütirik Asit (Indole-3-butyric Acid)
NRM	: Nas ve Read Ortamı
mT	: meta-Topolin
PG	: Phloroglucinol
B2	:Badem için yeni geliştirilen, henüz yayınlanmamış kültür ortamı

1. GİRİŞ

Türkiye'nin sahip olduğu coğrafik konumu ve iklim koşulları birçok meyve türünün doğal olarak yetişmesine imkan sağlamaktadır. Bu durum, ülkemizin meyve üretimi açısından önemli ülkeler arasında yer almasıyla sonuçlanmıştır. Diğer meyve türleriyle beraber sert kabuklu meyve türleri ülkemiz ekonomisinde önemli bir rol oynamaktadır. Türkiye 1,201,970 tonla dünyadaki sert kabuklu meyve üretiminin %10,7'sini üretmektedir (FAO, 2009). Ülkemizde badem sert kabuklu meyve türleri içerisinde fındık, ceviz, fıstık ve kestaneden sonra beşinci sırada yer almaktadır (FAO, 2009).

Badem (*Prunus dulcis* (Miller) DA. Webb), *Rosales* takımının *Rosaceae* familyasından *Pruniodeae* alt familyasının *Amygdalus* cinsinde yer almaktadır. Botanik olarak sert çekirdekli meyveler gurubuna girer ancak ticari olarak sert kabuklu meyve olarak değerlendirilen ve tohumları için üretilen bir meyve türüdür (Ülkümen, 1973; Özbek, 1978; Ağaoğlu ve ark., 1987). Bademin anavatanı Orta Asya'nın dağlık bölgeleridir. Günümüzde badem yetiştiriciliğinin yapıldığı alanlar Asya, Akdeniz kıyıları ve Kaliforniya olmak üzere üç ana bölgeye ayrılmıştır. Ayrıca Avustralya, Güney Afrika, Arjantin ve Şili'de de kısmi miktarda yetiştiricilik yapılmaktadır (Lansari ve ark., 1994).

Badem dünyada en çok üretilen ve ekonomik değeri en yüksek olan sert kabuklu meyve türlerinin başında gelmektedir (Kester ve ark., 1991). Dünyada badem üretim miktarı 2005 yılında 1,835,090 ton iken 2008 yılında 2,112,815 ton olmuştur (FAO, 2009). Türkiye badem üretimi 2005 yılında 45,000 ton iken 2008 yılında 52,774 tona yükselmiştir (Çizelge 1.1). Bu durum Türkiye badem üretiminin gelecek yıllarda daha da artacağını göstermektedir. Bu artışın nedeni; badem üretimi için son derece uygun iklim koşullarına sahip olan ülkemizde, daha önce ticari yönden bakılmayan bademin artık ticari ve ekonomik yönünün farkına varılmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 1.1. Dünya Badem Üretiminde Önemli Ülkeler (FAO, 2008).

Ülkeler	Yıllara göre üretim miktarı (ton)				
	2004	2005	2006	2007	2008
ABD	785.985	703.431	846.131	1.043.266	1.103.733
İspanya	86.622	217.869	312.702	203.500	203.500
Suriye	123.000	229.035	107.117	76.093	76.093
İtalya	105.245	118.344	112.796	112.644	118.723
İran	69.989	108.677	110.000	110.000	110.000
Fas	60.200	70.629	83.000	81.437	86.902
Tunus	44.000	43.000	56.000	58.000	51.500
Yunanistan	48.177	47.088	50.721	46.130	34.500
Türkiye	37.000	45.000	43.285	50.753	52.774
Dünya	1.595.281	1.835.090	1.992.692	2.043.379	2.112.815

Ülkemizde badem üretimi daha çok Ege, Akdeniz, İç Anadolu ve Marmara bölgelerinde yoğunlaşmıştır. Ancak üretim uzun yıllar tohumdan yetişen ağaçlarla yapıldığından elde edilen bitkiler genellikle bir birinden farklılık gösterir. Eski bahçelerin büyük bir kısmı çöğür fidanlarla kurulmuş olduğundan bu bahçelerden elde edilen meyveler arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. Bununla beraber, yetiştiricilikte çöğürlerin uzun yıllar kullanılmış olmasından dolayı geniş bir genetik varyasyon ve badem yetiştiriciliği için büyük bir potansiyel ortaya çıkmıştır.

Ülkemizde mevcut olan badem potansiyelinin değerlendirilmesi amacıyla birçok çalışma yürütülmüştür. Araştırmalar genellikle genetik materyalin belirlenmesi ve korunması, mevcut popülasyonlar içerisinde en iyi tiplerin seleksiyonu, melezleme ve yabancı çeşitlerin ülkemiz ekolojik koşullarına adaptasyonu konularında yapılmıştır. Yerli tiplerle karşılaştırıldığında yabancı çeşitler genellikle daha üstün özelliklere sahip olduğundan çalışmalar bu çeşitlerin ülkemiz ekolojisine adaptasyonları ve çoğaltılmaları üzerine yoğunlaşmıştır (TÜBİTAK 107O068 nolu proje sonuç raporu).

Son yıllarda çeşitli devlet kuruluşları tarafından yürütülmüş olan badem adaptasyon çalışmaları sonucunda geç çiçek açan bazı yabancı badem çeşitlerinin ülkemizde yetiştiricilik için uygun oldukları belirlenmiştir. Bu badem çeşitlerinin en kısa sürede yeterli sayıda çoğaltılmaları ve üreticilere dağıtılmaları amacıyla çeşitli çalışmalar yürütülmüştür.

Bütün meyve türlerinde olduğu gibi modern yetiştiricilikte bademlerin vegetatif yollarla çoğaltılmaları gerekmektedir. Badem, köklenmesi zor olan bir tür olduğu için klonal çoğaltılması aşı yoluyla yapılmaktadır. Ancak aşıyla çoğaltılmada karşılaşılan çeşitli nedenlerden dolayı yetiştiricilerin fidan taleplerinin karşılanması yavaş olmaktadır.

Yukarıdaki nedenlerden dolayı mikroçoğaltım gibi daha etkili alternatif çoğaltma metodlarının araştırılmasına ihtiyaç vardır. Çünkü mikroçoğaltım en hızlı klonal çoğaltma şeklidir (Bhojwani ve Razdan, 1996; Nas ve Read, 2004a; Suttle, 1996) ve piyasaya yeni sürülen çeşitlerin fidanlarının hızlı bir şekilde üreticilere dağıtılmasında önemli avantajlar sağlamaktadır.

Mikroçoğaltılan bitkiler genellikle daha kolay köklendiklerinden aşıya gerek kalmamakta ve aşı ile çoğaltmada görülen problemler ortadan kalkmaktadır (Nas ve Read, 2003a). Ancak, bademin mikroçoğaltımı üzerine yapılan ilk çalışmalar diğer birçok odunsu bitkide olduğu gibi bazı badem çeşitlerinin mikroçoğaltımının güç olduğunu göstermiştir. *In vitro*'da kültürlerin devam ettirilememesi ve düşük köklenme oranı başarıyı engelleyen faktörler olarak bildirilmiştir (Rugini ve Verma, 1982). Daha sonra yapılan çalışmalarda bademin mikroçoğaltımında bazı ilerlemeler sağlanmıştır. Rugini ve Verma (1982) tarafından kültürleri devam ettirilemeyen çeşitler, kısmen geliştirilmiş ortam üzerinde ard arda alt kültürlerle alınabilmiş fakat düşük köklenme tam olarak çözülememiştir (Channuntapipat ve ark., 2003).

Badem mikroçoğaltımında karşılaşılan kültürlerin devam ettirilememesi ve düşük köklenme sorunu fındık gibi diğer bazı odunsu türler için de bildirilmiştir (Nas ve Read, 2001; Nas ve Read, 2003b). Bazı odunsu türlerde görülen düşük köklenme oranı alt kültür sayısının arttırılması ile çözülebilmektedir. Ancak yeterli bir köklenme oranı için gerekli

alt kültür sayısı tür ve çeşitlere göre değişiklik göstermektedir (Economou ve Read, 1986; Howard ve Marks, 1987; Tetsumura, 1997; Nas ve Read, 2004b). Ayrıca iki aşamalı köklendirme protokolünün uygulanması (Dai ve ark., 2007) ve köklendirme ortamına aktif kömür ilavesi (Hepaksoy ve Tanrısever, 2004) gibi muamelelerin köklendirme oranını arttırdığı bildirilmiştir.

Mikroçoğaltım alanında yapılan son çalışmalar dikkate alındığında düşük köklenme oranının çeşitli muamelelerle arttırabildiği görülmektedir. Bu çalışmada *in vitro*'da badem mikrosürgünlerinin köklendirilmesinde karşılaşılan düşük köklenme probleminin çeşitli uygulamalarla giderilmesi hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Fasolo ve ark. (1987) ekonomik öneminden dolayı, badem ve badem anaçları üzerine farklı amaçlara yönelik önemli sayıda doku kültürü çalışmaları yürütmüşlerdir. Bir badem şeftali anacı olan GF-677'nin mikroçeliklerinin *in vivo* köklenme yeteneğini araştırmak için, çelikleri köklendirme ortamına alıp ve oksin uygulamasının köklenme üzerine etkisini test etmişlerdir. Düşük konsantrasyonda oksinlerin kök oluşumunu arttırdığı ve iyi bir kök sistemi gelişiminin yaklaşık 10-15 günde meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Escalettes ve Dosba. (1993) *Prunus* türlerinin rejenerasyonu üzerine yapmış oldukları bir çalışmada 'H.152' kayısı klonu için Quoirin (Quoirin ve ark., 1997) makro elementleri, 'H.146' kayısı ve 'P.1860' hibrit erik klonu için ise ½ MS (Murashige ve Skoog, 1962) kullanımının rejenerasyonu büyük oranda teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Adventif sürgün oluşumuna TDZ'nin tek başına kullanımı veya naftalen asetik asit (NAA) ile kombinasyonunun en etkili olduğunu bildirmişlerdir. Optimum TDZ kullanımı genotipe bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Kültür ortamına Gümüş Nitratın (AgNO₃) ilave edilmesi sonucu rejenerasyonda %10-40 oranında artış gözlenmiştir. Kültür ortamına AgNO₃ ilave edilmesi *P. marianna*, *P. domestica* ve *P. Insititia* erik klonlarında rejenerasyonu teşvik etmiştir.

Gürel ve ark. (1998) Nanporeil ve Texas badem çeşitlerinin sürgün ucu kültürü ile *in vitro* çoğaltma olanaklarının araştırıldığı bir çalışmada farklı IBA ve BAP konsantrasyonlarının etkisi araştırılmıştır. Üç farklı kültür aşamasından (kültüre alma, çoğaltma ve dış ortama alıştırma) elde edilen sonuçlar sürgün gelişmesinin IBA içermeyen veya düşük miktarda IBA içeren MS ortamında daha iyi olduğunu göstermiştir. Çoğaltma ve sürgün gelişmesi bakımından 0.1 mg/l IBA ve 1.0 mg/l BAP içeren MS ortamı en iyi sonucu vermiştir. Genel itibariyle BAP'ın sürgün gelişimi için hem şaşırtma hem de çoğaltma aşamasında gerekli olduğu tespit edilmiş fakat yüksek miktardaki (2.0-3.0 mg/l) BAP'ın hiperhidrasyona ve sürgün ölümlerine yol açtığı görülmüştür.

Kamali ve ark. (2001) GF-677 anacının doku kültürü yöntemiyle mikroçoğaltılmasının araştırıldığı bir çalışmada eksplantlar Nisan ayında sürgün uçlarından alınmıştır. Bir mg/l BA içeren ortam çoğaltma için en iyi sonucu vermiştir. En yüksek köklenme 0.3 mg/l NAA ile 1.6 mg/l thiamine içeren ortamda ve 7 günlük karanlık uygulamasından elde edilmiştir.

Ainsley ve ark. (2001) *in vitro*'da bulunan Nonpareil ve Ne Plus Ultra badem çeşitlerinin mikrosürgünlerini köklendirmek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Köklendirme ortamına karanlık uygulaması ve kültür ortamına phloroglucinol, IBA ve NAA ilavesinin köklenme üzerine etkisine bakılmıştır. Ne Plus Ultra çeşidine ait olan sürgünleri büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamında, Nonpareil sürgünlerini ise büyüme düzenleyici içermeyen AP (Almehdi ve Parfitt., 1986) besi ortamı üzerinde 24 °C'de, düşük ışık şiddeti uygulayarak 4 haftalığına kültüre almışlardır. Dört hafta sonunda sürgünler köklendirme için IBA ve NAA (0, 2.5, 5.0 veya 10.0 µM)'nın farklı konsantrasyonlarını içeren ½ MS ortamına aktarılmıştır. Mikrosürgünlerin 12 saat boyunca 1.0 µM IBA içeren su-agar (%0.6 w/v) ½ MS içerisinde kaldıktan sonra, 100 µM phloroglucinol içeren ortamda iki hafta kültüre alınması köklenmeyi teşvik etmiştir.

Ne Plus Ultra çeşidinin köklenmesinde en iyi sonucu $\frac{1}{2}$ MS besi ortamı, Nonpareil badem çeşidinin köklendirilmesinde en iyi sonucu AP besin ortamında elde etmişlerdir. Her iki badem çeşidinde köklenme oranı %60 olarak bildirilmiştir.

Ainsley ve ark. (2001) yapmış oldukları bir çalışmada ‘Ne Plus Ultra’, ‘Nonpareil’, ‘Carmel’ ve Parkinson çeşitlerinde olgunlaşmamış embriyo kotiledonlarından rejenerasyon yollarını araştırmışlardır. Açık tozlanmış olan ağaçlardan çiçeklenmeden 100-115 gün sonra meyveler toplanmış ve kotiledonların embriyoya yakın olan kısmı kesilerek embriyonun geri kalan kısmı atılmıştır. Bu çalışmada farklı konsantrasyonlardaki TDZ, IBA ve kültürün ilk 7 gün karanlıkta tutulmasının rejenerasyona olan etkileri araştırılmıştır. Sürgün rejenerasyonu, eksplantların 8 hafta 10 μ M TDZ ihtiva eden MS ortamında bırakıldıktan sonra 4 hafta hormonsuz MS ortamında bekletilmesinde en yüksek bulunmuştur. Kotiledonlardan alınan eksplantların 7 gün karanlıkta bırakılması rejenerasyonu teşvik etmiştir. IBA (0.5 μ M) ihtiva eden MS ortamında sürgün rejenerasyonu kayda değer bir şekilde azalma göstermiştir. Optimum kültür şartları altında ‘Nonpareil’. ‘Ne Plus Ultra’. ‘Carmel’ ve ‘Parkinson’ çeşitlerinde elde edilen adventif sürgün rejenerasyonun sırasıyla %73.3, %80.0, %100 ve %86.7 olduğunu belirtmişlerdir.

Lauri ve ark. (2001) yapmış oldukları bir çalışmada sert kabuklu meyve türlerinin sürgün ucu kültürü ile çoğaltmasında sürgün çoğaltımını teşvik etmek amacıyla bir protokol geliştirmişlerdir. *In vitro*’daki sürgünlerden alınan eksplantlar rejenerasyon için 8.8 μ M BA, 1.0 μ M NAA ve 250 mg/l sefatoksin içeren LP ortamında 30 gün süreyle tutulmuştur. Daha sonra bu eksplantlar oksin içermeyen fakat 1.4 μ M GA₃ içeren ortam üzerinde 28 gün tutulmuştur. M-55 badem genotipinin kullanıldığı bu çalışmada üzerinde yapılan histolojik çalışmalar sürgünlerin yara dokudan meydana geldiğini göstermiştir. Yara dokusunun uzun süre sürgün oluşturma yeteneğini koruduğunu bildirmişlerdir.

Rodrigues ve ark. (2003) bazı *Prunus* anaç adaylarının *in vitro* koşullarda çoğaltılması için farklı kültür ortamlarını kullanmışlardır. Sürgün uçları 16 saat fotoperiyot ve 25 ± 2 °C sıcaklıkta tutulmuştur. Deneme MS, $\frac{3}{4}$ MS, SH ve Villegas ortamlarıyla kurulmuş, çoğaltma ortamı olarak SH ve $\frac{3}{4}$ MS kullanılmıştır. Ayrıca $\frac{3}{4}$ MS ortamında farklı agar miktarları (4.5, 5.5 ve 6.5 g/l) denenmiştir. Çoğaltma ortamında en yüksek büyüme, gelişme ve kardeşlenme oranı 5.5 g/l agar içeren $\frac{3}{4}$ MS ortamında bulunmuştur.

Channuntapipat ve ark. (2003) Nonpareil 15-1, Ne Plus Ultra ve Titan x Nemaguard (badem x şeftali melezi) anaçlarından sürgün uçları kültüre alınarak, başarılı bir şekilde çoğaltılmıştır. Nonpareil 15-1 genotipi için 0.049 μ M IBA, 3 μ M BAP, 0.058 M sukroz ve % 0.7 agar içeren AP ortamı, Ne Plus Ultra genotipi için ise 0.049 μ M IBA, 5.0 μ M BAP, 0.088 M sukroz ve %0.7 agar içeren MS ortamı uygun bulunmuştur. Titan x Nemaguard melezi için 10.0 μ M BAP, 0.088 M sukroz ve %0.7 agar içeren MS ortamı en iyi sürgün çoğalmasını sağlamıştır. Yaklaşık 2 cm uzunluğundaki sürgünler, 2.4 μ M IBA, 0.088 M sukroz %0.7 agar içeren $\frac{1}{2}$ MS ortamında 1 hafta karanlıkta ve 2 hafta ışıқта bekledikten sonra % 88 oranında köklenmiştir.

Molassiotis ve ark. (2003) yapmış oldukları bir çalışmada organik (Fe-EDTA ve FeEDDHA) ve inorganik (FeCl₃) Fe kullanımının *in vitro* koşullarda GF-677 anacının köklenmesi üzerine etkisine bakmışlardır. FeEDDHA ilave edilmiş ortamda eksplantlarda 100% oranında köklenme gözlenirken demir eksikliğinde veya FeCl₃ kullanıldığında daha az köklenme elde edilmiştir. Fe-EDTA ilave edilen ortamda köklenme görülmemiş ve bitkicikler düşük klorofil ve yüksek Fe içeriği göstermiştir.

Nas ve Read. (2003) NRM kültür ortamı üzerinde bulunan kestane, asma ve hibrit fındıkta *in vitro* sürgünlerden elde edilen 2 - 4 cm uzunluktaki aşı kalemlerini yine *in vitro* koşullarda çoğaltılmış 2 - 3 cm uzunluktaki köksüz anaçlar üzerine mikro aşılama yöntemiyle aşılama yapmışlardır. Aşılama anaç ve kalemi sabit tutmak için elastik elektrik kablusunun kılıfı ve jel boncukları kullanmışlardır. Aşılama sonrası kestane ve fındık anaçlarının dip kısmı 10 saniye, asma ise 5 saniye süreyle 1000 ppm IBA solüsyonuna bandırıldıktan sonra *in vitro* ya da *ex vitro* koşullarda jiffy tabletlere dikilmiştir. *In vitro* koşullarda kültüre alınan aşılı bitkilerde ortam dışında kökler (hava kökler) oluşmuş fakat mikro aşılama başarısızlıkla sonuçlanmıştır. *Ex vitro* koşullarda kültüre alınan aşılı bitkilerde hayatta kalma oranı 2 ayın sonunda asmada %50, fındıkta %70 ve kestanede %80 olarak kaydedilmiştir.

Antonopoulou ve ark. (2005) yapmış olduğu bir çalışmada *in vitro* doku kültüründe Riboflavin'in badem x şeftali hibriti olan GF- 677 sürgünlerinin köklenmesi üzerine etkisine bakmışlardır. Köklendirme ortamına ilave edilen 5 farklı konsantrasyonda (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg·L⁻¹) Riboflavin'in kontrol grubuna göre mikrosürgünlerde herhangi bir adventif kök oluşumunu teşvik etmediğini görmüşlerdir. Bunun yanında yüksek konsantrasyonlarda (1.5 - 2.0 mg·L⁻¹) Riboflavin içeren ortam üzerindeki mikrosürgünlerde kloroz ve sürgün uçlarında kurumalar görüldüğünü bildirmişlerdir.

Fotopoulos ve ark. (2005) yapmış oldukları bir çalışmada PR 204/84 (şeftali x badem) anacının 2,5 mg/l IBA konsantrasyonlu ½ MS ortamında eksplantların köklenme oranının normal MS ortamına göre artış gösterdiğini gözlemlemişler. Ayrıca ortalama kök sayısı ve kök uzunluğu 2,5 ve 5 mg/l IBA konsantrasyonlu ½ MS ortamında artış gösterdiğini bildirmişler. IBA konsantrasyonunun 0 dan 10 mg/l ye yükseltildiğinde hem ½ MS hemde normal MS ortamında sürgün başına ortalama kök sayısının arttığını bildirmişler. Ortamdaki mineral madde ve IBA miktarının ortalama kök uzunluğu üzerine önemli derecede etki etmediğini bildirmişler. Yapılan ikinci bir denemede eksplantlar köklenmeye alındıktan sonra 12 gün karanlıkta bırakılmış daha sonra 12 günlük standart gelişme koşullarında bırakılmıştır. On iki saat karanlık uygulamasının ardından on iki saat ışıktaki bırakılan eksplantların 1.0 ve 2.5 mg/l IBA konsantrasyonunda 24 saat 16/8 aydınlık/karanlık koşullarına göre daha iyi köklendiğini belirlemişlerdir.

Can ve ark. (2006)'nın yapmış oldukları bir çalışmada *Pistacia vera* L. Var. Siirt'in sürgün uçlarının *in vitro* mikro aşılması üzerinde çalışmışlardır. *In vitro*'da geliştirilen *P. Mutica*, *P. Terebinthus*, *P. Atlantica* ve *P. Khinjuk* bitkileri anaç olarak kullanılmıştır. Farklı yüzeysel sterilizasyon yöntemleri ve embriyo kültürünü denemişlerdir. *P. vera* cv Siirt'in *in vivo*'da gelişen sürgün uçlarının, *P. Mutica*, *P. Terebinthus*, *P. Atlantica* ve *P. Khinjuk* anaçları üzerindeki uyumluluk ve gelişmesini araştırmışlardır. Verim yaşındaki Antep fıstığı anaçlarından alınan sürgün uçlarının *in vitro*'da geliştirilen anaçlar üzerine mikro aşılama sürgün gelişiminin meydana gelmediğini bildirmişlerdir.

Morini ve ark. (2006) *in vitro* koşullarda bazı meyve ağaçlarının anaçlarında kısa süreli ışık/karanlık (4 saat ışık uygulamasına takiben 2 saat karanlık) uygulamasının köklenme üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada, GF-677, Mr. S. 2/5 (*Prunus cerasifera*), MM 106 elma anacı ve BA 29 (*Cydonia oblonga*) anaçları kullanılmıştır. Uygulanan bu kısa süreli aydınlık ve karanlık ışık döngüsünde GF- 677, Mr. S. 2/5 ve MM 106 daki sürgün başına köklenme oranında 16/8 saat ışık/ karanlık uygulamasına göre %100 arttığı gözlenmiştir. BA 29 sürgünlerinde ise köklenme oranı %65 oranında artmıştır. Ayrıca 4 saat ışık takibinde 2 saat karanlık uygulamasına maruz bırakılan tüm anaçlarda kök sayısı ve kök uzunluğunda artışlar ve ilk köklenmenin normal 16/8 ışık/karanlık uygulamasına göre 4-5 gün erken başladığı gözlenmiştir.

Işıksız ve ark. (2008) olgun badem tohumlarından izole edilen zigotik embriyolar üzerinde BA ve Kinetinin (0,0 - 0,5 - 1,0 - 2,0 mg/l) etkisine bakmışlardır. Düşük konsantrasyondaki BA (0,1 - 0,5 - 1,0 - 2,0 mg/l) ve oksin + sitokinin interaksiyonunun sürgün çoğaltımı üzerindeki etkisini araştırmışlar. Yeni sürgün oluşturmada en iyi sonucu 1,0 mg/l BA içeren MS ortamında olduğunu kaydetmişlerdir. Köklenmeyi ise 8,0 mg/l IAA içeren ½ MS kültür ortamında kaydetmişlerdir. Köklendirilen mikrosürgünler iklim odasında alıştırma aşamasından sonra araziye aktarılmışlardır. Bu metodun ileride badem için *in vitro*’da hızlı çoğaltımda kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Canlı ve ark. (2008) *in vitro*’da kirazın olgun kotiledonlarının regenerasyonunda başarı elde etmişler. TDZ ve BA’nın farklı miktarlarına 10 günlük karanlık uygulamasının ve TDZ ön uygulamasının sürgün rejenerasyonu üzerine etkisine bakılmıştır. Bütün çeşitlerin rejenerasyonu TDZ varlığında kültüre ilk başlangıçta 10 günlük karanlık uygulamasının sonunda sağlanmıştır. Karanlık uygulaması yapılmayan çeşitlerin sadece bir kısmında düşük düzeyde rejenerasyon elde edilmiştir. Kültür başlangıcında karanlık uygulamasının rejenerasyon üzerine önemli etkisi olduğu görülmüştür. Sürgün rejenerasyonunda TDZ uygulaması BA dan daha etkili bulunmuştur. Yüksek orandaki rejenerasyon 3.6 ve 7.2 mM TDZ konsantrasyonunda ‘Vista’, ‘Sunburst’, ‘Tehranivee’, ‘Vouge’ ve ‘Heidelfingen’ çeşitlerinin kotiledonlarından sırasıyla %70.0, %53.3, %23.3, %30 ve %26.6 elde edilmiştir.

Zhao ve ark. (2010) şeftali anacı olan ‘Nemaguard’ (*Prunus persica* 9 *P. davidiana*)’ın *in vitro*’da adventif sürgün rejenerasyonu için başarılı bir protokol geliştirmişlerdir. Sürgün eksplantları 3.55 µM BA ve 7.38 µM IBA ile desteklenmiş MS ortamı üzerinde kültüre alınmışlardır. Eksplant olarak 3 hafta süreyle *invitro*’da tutulan sürgünlerden yaprak saplarıyla birlikte alınan yapraklar kullanılmıştır. Rejenerasyonun başarı yüzdesi kullanılan kültür ortamı, kullanılan hormonlar, kullanılan eksplantın tipi, karanlık uygulaması ve katılaştırmada kullanılan komponentler göz önünde bulundurulmuştur. En iyi rejenerasyon oranı 9.08 µM TDZ (thidiazuron), 0.54 µM IBA ile desteklenmiş ½ MS, WPM, SH ortamı üzerinde yaprak orta damarı boyunca çaprazlamasına çizilen yaprağın, çizilen tarafın kültür ortamına degecek şekilde 3 hafta karanlıkta kültür ortamı üzerinde bırakıldıktan sonra çizilen kısmın üst tarafta kalacak şekilde kültür ortamına aktarılmasıyla elde edilmiştir. ½ MS ortamı üzerinde rejenerasyon oranı %71.7 ve sürgün başına ortalama 5.74 ± 3.24 sürgün oluşmuştur. Rejenerasyonun sonunda mikrosürgünlerin %93,3-100 arasında köklendikleri görülmüştür.

3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma, 2008 – 2010 yılları arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada Nanporeil, Ferraduel, Ferragnes, Tuano badem çeşitleri ve GF-677 (şeftali x badem) anacının *in vitro* mikroçoğaltılmasını ve mikrosürgünlerin köklenmesini etkileyen bazı faktörler araştırılmıştır.

3.1. Materyal

Çalışmada Nanporeil, Ferraduel, Ferragnes ve Tuano badem çeşitleri ile GF-677 (şeftali x badem) anacı kullanılmıştır. Eksplantlar Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bahçelievler Kampüsü'nde bulunan seradaki damızlık bitkilerden alınmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Eksplant Kaynağı Olarak Kullanılan Damızlık Bitkiler.

3.2. Metot

Başarılı bir mikroçoğaltım için 5 aşamalı bir protokolün gerektiği belirtilmektedir (Debergh ve Read, 1993). Bu aşamalar: 1) hazırlık aşaması, 2) başlangıç aşaması, 3) sürgün çoğaltma aşaması, 4) sürgün gelişimi ve köklendirme aşaması 5) dış ortama alıştırma aşaması. Çalışmada yukarıda belirtilen mikroçoğaltım aşamaları aşağıda belirtilen şekilde uygulanmıştır.

3.2.1. Aşama 0 (Damızlık Bitkilerin Kültür İçin Hazırlanması)

Çalışmada kullanılan çeşitler TÜBİTAK 107O068 nolu proje kapsamındaki badem çeşitlerinden seçilmiştir. Badem çeşitlerinin bir yaşındaki damızlık bitkileri, genç badem çöğürlerinin aşılansıyla elde edilmiştir. Bir yaşındaki GF-677 anacının bitkileri ise ticari bir firmadan elde edilmiştir. Bütün damızlık bitkiler kontrolsüz sera koşullarında yetiştirilmiştir (Şekil 3.1).

Damızlık bitkilerden alınan yarı-odunsu çelikler yüzeysel sterilizasyon amacıyla litreye 10 damla Tween-20 ilave edilerek hazırlanan %20'lik ticari çamaşır suyunda (orijinal ambalajda %5 aktif klorin) 10 dakika bekletildikten sonra akan çeşme suyu altında durulanmıştır. Yüzeysel sterilizasyon ve durulama işlemlerinden sonra çeliklerin alt ve üst kısımları 0,5 – 1,0 cm kadar kesilmiş ve daha sonra tomurcuk dormansisini kırmak amacıyla çeliklerin dip kısımları cam kavanozlardaki sürdürme solüsyonuna (Read ve Yang, 1987) konulmuştur.

Her kavanoza (200 ml sürdürme solüsyonu) 25 – 35 cm uzunlukta 2-3 çelik konulmuştur. Çeliklerin sürdürülmesinde kullanılan sürdürme solüsyonu litreye 200 mg 8-Hydroxyquinoline sülfat, 20 g sukroz ve 10 mg Gibberallic acid (GA₃) içermektedir. Bu sürdürme solüsyonunun kullanılmasıyla normal vejetasyon mevsiminin dışında aktif büyüyen, taze sürgünler oluşmakta ve böylece morfogjenik potansiyeli daha yüksek eksplantler elde edilebilmektedir.

Sürdürme solüsyonuna konulan çelikler iklim odasında (23 ± 2 °C, 16/8 ışık/karanlık) sürmeye bırakılmıştır. Sürdürme solüsyonu üç günde bir yenilenmiş ve solüsyon yenilenirken çeliklerin solüsyona batan alt kısımları yıkandıktan sonra 0,5 cm kadar kesilip tekrar solüsyona konulmuştur. Solüsyon yenileme işlemi 4 – 5 kez tekrarlanmıştır. Uç ve yan tomurcuklardan süren yeni sürgünler (Şekil 3.2) eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır.

3.2.2. Aşama I (Kültüre Başlangıç)

Sürdürme solüsyonuna konulan çeliklerin sürmesiyle meydana gelen yeni sürgünler (Şekil 3.2) eksplant olarak kullanılmıştır. Meydana gelen yeni sürgünler çeliklerin solüsyona konulmasından yaklaşık üç hafta sonra (tomurcuk patlamasından 10 – 15 gün sonra) eksplant olarak kullanılmıştır. Yeni çeliklerin hasat zamanının belirlenmesinde aktif büyümenin yavaşlaması fakat yeni sürgünlerin henüz solmaya başlamamış olması kriter olarak değerlendirilmiştir.



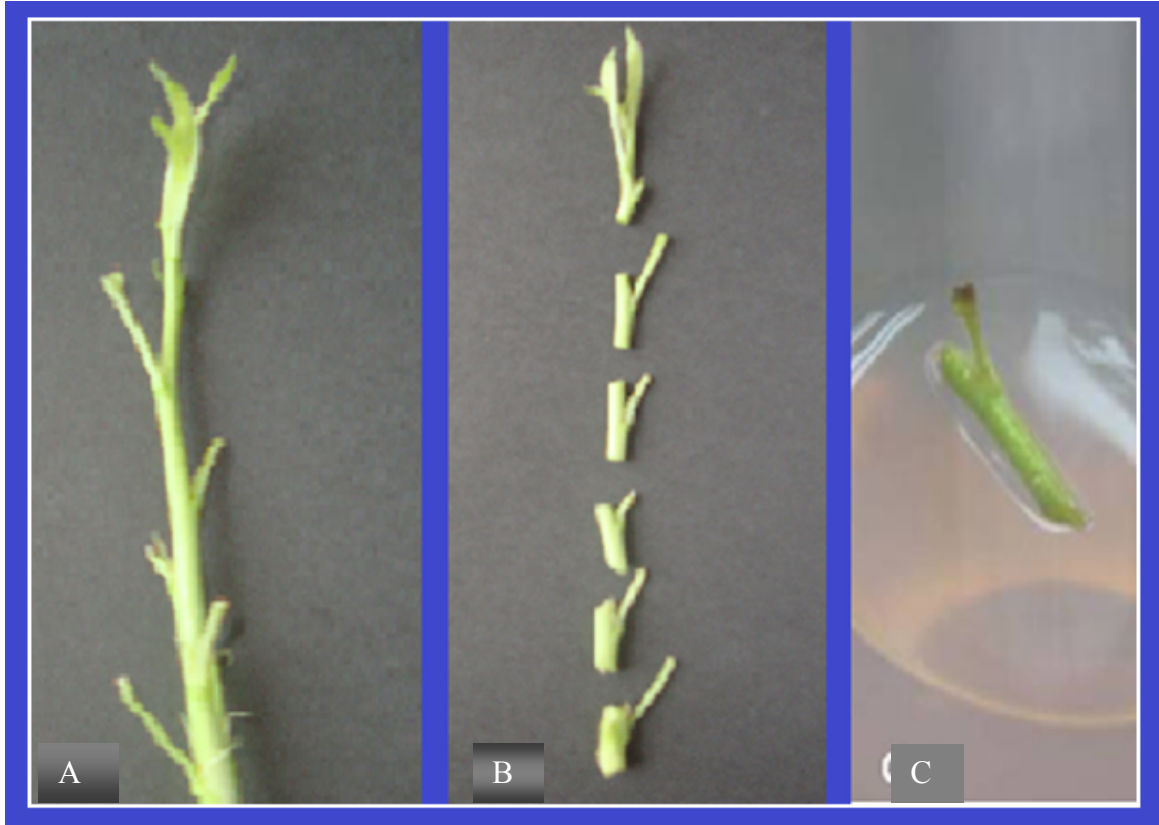
Şekil 3.2. Sürdürme Solüsyonuna Konulan Yarı-Odunsu Çeliklerin Sürmesiyle Meydana Gelen ve Eksplant Olarak Kullanılan Yeni Sürgünler (Yeşil Çelikler).

Sürdürme solüsyonu kullanılarak elde edilen Nanporeil ve Ferraduel badem çeşitleri ile GF-677 anacına ait yeni sürgünlerin yaprakları kesildikten (Şekil 3.3) iki gün sonra sürgünler yüzeysel sterilizasyona (disinfestasyona) tabi tutulmuşlardır. Sürgünlerin yüzeysel sterilizasyon işlemi steril kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. Yüzeysel sterilizasyon amacıyla yaprakları kesilmiş yeşil çelikler, ilk önce %70 etil alkol (EtOH) içerisinde yaklaşık 20 saniye süreyle bekletildikten sonra steril saf su ile iki kez durulanmışlardır. Daha sonra yeşil çelikler litreye 10 damla Tween-20 içeren %20'lik ticari çamaşır suyu solüsyonu içerisinde ara-sıra karıştırılarak 15 dakika bekletildikten sonra üç kez steril saf su ile durulanmışlardır.



Şekil 3.3. Yüzeysel Sterilizasyon Öncesi Yaprakları Kesilmiş Yeşil Çelikler.

Yüzeysel sterilizasyon işleminden sonra yeşil çelikler boğum aralarından kesilmiştir (Şekil 3.4). Tek-boğum ve sürgün ucundan oluşan eksplantlar 25 x 150 mm'lik cam tüpler içerisinde $1,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Benzyladenine (BA) + $0,01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Indole-3- butyric acid + $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sukroz içeren ve $5,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar ile jelleştirilmiş NRM (Nas ve Read, 2004) ortamı (Çizelge 3.1) üzerinde kültüre alınmışlardır. Tüplere aktarılan eksplantlar $23 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklığa sahip iklim dolabında 16/8 ışık/karanlık fotoperiyot altında büyümeye bırakılmışlardır.



Şekil 3.4. Yaprakları Kesilmiş Yeşil Çeliklerin (A) Yüzeysel Sterilizasyon İşleminden Sonra Boğum Aralarından Kesilmesiyle Meydana Gelen Tek-Boğum ve Sürgün-Ucu Eksplantlar (B) 25 X 150 mm'lik Cam Tüpler İçerisinde (C) $1,0 \text{ Mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Benzyladenine (BA) + $0,01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Indole-3- Butyric Acid + $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Sukroz İçeren Nas ve Read (NRM) Ortamı Üzerinde Kültüre Alınmışlardır.

Çizelge 3,1. Nas ve Read (2004) Ortamının (NRM) Kimyasal Bileşimi

<u>Mineraller</u>	<u>Miktarı (mg/L)</u>
	<u>NRM</u>
NH ₄ NO ₃	530
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	700
CaCl ₂ 2H ₂ O	90
MgSO ₄ 7H ₂ O	1600
KNO ₃	550
KH ₂ PO ₄	1300
K ₂ SO ₄	-
H ₃ BO ₃	6.22.
CuSO ₄ 5H ₂ O	2.5
MnSO ₄ H ₂ O	20
Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O	2.5
ZnSO ₄ 7H ₂ O	8.8
Sequestrene 330 Fe	50
FeSO ₄ 7H ₂ O	-
Na ₂ EDTA	-
<u>Organikler</u>	
Thiamine (B1)	0.6
Riboflavin (B2)	0.21
Nicotinic acid (B3)	1.15
Pyrodoxine (B6)	0.6
Vitamin E (a-tocopherol)	20
Vitamin C (Ascorbic acid)	1
Glycine	0.85
Myo-inositol	200

In vitro'ya alındıktan sonra, kültürler her gün kontrol edilerek meydana gelen eksplant ölümleri, kararma ve mikrobiyal bulaşmalar belirlenmiştir. Üç hafta sonunda, mikrobiyal bulaşmadan arı ve sağlıklı görünen eksplantlar alt kültüre alınmışlardır. Aşama II için mikrobiyal bulaşmadan arı yeterli sayıda ekplant elde etmek için eksplantlar her dört-haftada-bir alt kültüre alınmışlardır.

3.2.3. Aşama II (Uygun Ortam ve Bitki Büyüme Düzenleyici Konsantrasyonunun Belirlenmesi ve Mikroçoğaltım)

Kültürlerin, en iyi *in vitro* mikroçoğaltımını sağlayacak sitokinin [Benzyladenine (BA) ve meta-Topolin (mT)] konsantrasyonu ve kültür ortamını belirlemek amacıyla, Aşama I'den alınan eksplantlar farklı konsantrasyonlarda BA (7.5 - 12.5 - 17.5 mg/l) ve mT (7.5 - 12.5 - 17.5 mg/l) içeren NRM ve TÜBİTAK 107O068 nolu proje kapsamında badem için yeni geliştirilen bir kültür ortamı (B2) üzerinde kültüre alınmıştır (B2 ortamının bileşimi adı geçen proje sonuç raporunda verilmiştir). Kültür ortamlarına 0,01 mg/l IBA ilave edildikten sonra pH 5.5'e ayarlanıp ve 5.5 g/l agar (Merck 1.016.13) ilave edilip 15 dakika süreyle 121 °C ve 1.0 atm basınçta otoklavlanmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Böylece 2 ortam x 2 büyüme düzenleyici x 3 büyüme düzenleyici seviyesi olmak üzere 12 muamele kombinasyonu elde edilmiştir. Her muamele kombinasyonu için üç tekerrür (her biri dört sürgün içeren Magenta kabı) kullanılmıştır. Dört hafta süren alt kültür süresinin sonunda kültürlerin gelişmesiyle ilgili veriler alındıktan sonra deneme tekrarlanmıştır. En uygun bitki büyüme düzenleyici (BBD) konsantrasyonu ve kültür ortamının belirlenmesinde çoğalma katsayısı (kardeşlenme) ve mikrosürgünlerin kalitesi (uzunluk, kalınlık, renk, kallus durumu, nekroz, uç kuruması ve eksplant canlılığı) temel ölçütler olarak değerlendirilmiştir.

3.2.4. Aşama III (Köklendirme)

Yukarıda sözü edilen kriterlere göre en iyi mikroçoğaltımı sağlayan büyüme düzenleyici ve konsantrasyon belirlendikten sonra köklenmeyi etkileyen bazı faktörlerin etkileri araştırılmıştır.

3.2.4.1. Karanlık Uygulamasının Köklenme Üzerine Etkisi

Ferraduel, Nonpareil badem çeşidi ve GF-677 anacının mikrosürgünleri 0.1, 1.0, 10 ve 100 mg/l IBA içeren, 5.5 g·l⁻¹ Merck agar ile jelleştirilmiş olan ve 50 mg·l⁻¹ Sequestrene 330 Fe içeren NRM ortamı üzerinde köklenmeye alınmıştır. Köklenme ortamı üzerine alınan bitkilerin bir kısmı 23 ± 2 °C'de ve 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyot altında, diğer kısmı ise bir hafta karanlıkta tutulduktan sonra 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyot altında tutulmuştur. Her muamele kombinasyonu (IBA x ışık rejimi) için dört tekerrür (Magenta kabı) ve her tekerrürde dört sürgün kullanılmıştır. Sürgünler köklendirme ortamına alındıktan 30 gün sonra, kallus oluşumu, sürgün gelişimi ve köklenme ile ilgili veriler alınmıştır. Bu deneme dört kez (altıncı, sekizinci, dokuzuncu ve onuncu altkültür) tekrarlanmıştır.

3.2.4.2. Aktif Kömür Kullanımının ve Karanlık Uygulamasının Köklenme Üzerine Etkisi

Aktif kömür kullanımının köklenme üzerine etkisini araştırmak amacıyla iki katmanlı köklendirme ortamı kullanılmıştır. İlk önce 0.1, 1.0 veya 5 mg·L⁻¹ IBA içeren ve agar ile jelleştirilmiş NRM ortamı kültür tüplerine (2.5 x 15cm) dağıtılmış ve ortamın katılaşması sağlanmıştır. Ortam katılaştıktan sonra, tüplerin bir kısmına 100 mg·L⁻¹ aktif kömür içeren NRM ortamı ilave edilmiş böylece bu tüplerde iki katmanlı ortam elde edilmiştir.

Yedinci altkültür sonunda elde edilen Ferraduel, Nonpareil ve GF-677 mikrosürgünleri tek katmanlı (kömürsüz) ve iki katmanlı (alt katı kömürsüz, üst katı aktif kömür içeren) köklenme ortamına alınmıştır. Köklenme ortamına alınan sürgünlerin bir kısmı doğrudan 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyot altında, diğer kısmı ise bir hafta karanlıkta tutulduktan sonra 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyot altında tutulmuştur. Her muamele kombinasyonu (IBA x aktif kömür x ışık rejimi x çeşit) için 6 tekerrür (bir sürgün içeren kültür tüpü) kullanılmıştır. Sürgünler köklendirme ortamına alındıktan 30 gün sonra, kallus oluşumu, sürgün gelişimi ve köklenme ile ilgili veriler alınmıştır.

3.2.4.3. Mikrosürgünlerin Doğrudan IBA ile Muamele Edilmesinin Köklenme Üzerine Etkisinin Araştırılması

Dokuzuncu altkültür sonunda elde edilen Ferraduel, Nonpareil ve GF-677 mikrosürgünlerinin dip kısımları 1 mg·L⁻¹ IBA (1000 ppm) solüsyonuna yaklaşık 10 sn süreyle bandırıldıktan sonra mikrosürgünler büyüme düzenleyici içermeyen NRM ortamı üzerinde köklenmeye alınmıştır. Her çeşit için iki tekerrür (altı mikrosürgün içeren Magenta kabı) kullanılmıştır. Köklenme için kültürler 16/8 (aydınlık/karanlık) fotoperiyot altında ve 23 ± 2 °C’de tutulmuştur. Köklenme ile ilgili veriler IBA ile muamele edildikten 30 gün sonra alınmıştır.

3.2.4.4. Phloroglucinolun Köklenme Üzerine Etkisinin Araştırılması

Phloroglucinolun köklenme üzerine etkisini araştırmak amacıyla on altıncı altkültürden alınan Nonpareil, Tuano, GF-677 ile onuncu altkültürden alınan Ferragnes mikro sürgünleri IBA (0.1, 0.25, 0.50, 0.75) ile Phloroglucinol·2H₂O (0 ve 0.2 mg·L⁻¹) içeren kültür ortamı üzerinde köklenmeye alınmışlardır. Her muamele kombinasyonu için iki tekerrür (magenta kabı) ve her tekerrürde dört sürgün kullanılmıştır. Köklenme ile ilgili veriler 30 gün sonra alınmıştır.

3.2.4.5. Altkültür ve IBA’nın Köklenme Üzerine Etkisi

Altkültür ve IBA konsantrasyonunun köklenme üzerine etkisini araştırmak amacıyla 7, 8, 9 ve 10. altkültürlerden alınan Nonpareil, Tuano ve GF-677’nin mikrosürgünleri 0.1, 1.0, ve 5.0 mg·L⁻¹ içeren ½ yoğunluktaki NRM kültür ortamı üzerinde köklenmeye alınmışlardır. Her muamele kombinasyonu için en az iki tekerrür (dört sürgün içeren Magenta kabı) kullanılmıştır. Köklenme ile ilgili veriler 30 gün sonra alınmıştır.

3.2.4.6. Kültür Ortamı Yoğunluğunun Köklenme  zerine Etkisinin Araştırılması

Kültür ortamı yoğunluğunun köklenme üzerine etkisini araştırmak amacıyla on sekizinci altkültürden alınan Nonpareil, Tuano, GF-677 ile on ikinci altkültürden alınan Ferragnes mikrosürgünleri 0.25, 0.50, 0.75 ve 1.0 mg L⁻¹ IBA içeren tam ve  /2 yoğunlukta kültür ortamı üzerinde köklenmeye alınmışlardır. Her muamele kombinasyonu için iki tekerrür ve her tekerrürde dört sürgün kullanılmıştır. Köklenme ile ilgili veriler 30 gün sonra alınmıştır. Bu deneme iki kez tekrarlanmıştır.

3.2.5. Aşama IV (Pişkinleştirme ve Dış Ortama Aktarma)

Köklendirme denemeleri sonucu köklenen mikrosürgünler *in vitro* dan çıkartılarak kökleri  eşme suyu altında iyice yıkanarak köklerin ortam ve agardan temizlenmesi sağlanmıştır. Kök yıkama işleminden sonra mikrosürgünler 3:1 oranında torf ve perlit karışımı içeren köpük bardaklara aktarılmış ve üzeri şeffaf plastik bardak ile kapatılarak yüksek nispi nem sağlanmıştır. Daha sonra bardaklar 23   2  C sıcaklığa sahip iklim odasında 16/8 (aydınlık/karanlık) fotoperiyot altında pişkinleşmeye bırakılmıştır. Bir hafta sonra bardakların üst tarafından yaklaşık 1,5 - 2 cm² büyüklüğünde delik açılarak nispi nemin tedrici olarak düşmesi sağlanmıştır.  kinci haftanın sonunda şeffaf bardakların tamamı kaldırılmış ve iki hafta süreyle bitkilerin büyümesi sağlanmıştır. Dış ortama aktarıldıktan bir ay sonra, tedrici olarak dış ortama alıştırılan (aklimitize edilen) bitkiler seraya aktarılıp büyümeleri sağlanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Genel Gözlemler

In vitro çalışmalarda bitki materyalinin etkili bir şekilde yüzeysel sterilizasyonu kültüre başlangıç aşamasının en önemli safhalarından biridir. Yüzeysel sterilizasyon için eksplantların damızlık bitkilerden alındığı dönem ve explant çeşidi (boğum, boğum arası, sürgün, yaprak vs.) çok önemlidir. Bundan dolayı bu çalışmada aktif büyüme döneminde bulunan damızlık bitkilerden alınan yarı-odunsu çelikler sürmeleri için sürdürme solüsyonuna konmuştur. Sürdürme solüsyonuna konulduktan bir hafta sonra çeliklerin üzerindeki tomurcuklar sürmeye başlamıştır. İkinci haftanın sonundan itibaren süren tomurcukların solmaya başladığı gözlenmiştir. Bu sebepten dolayı yeni sürgünlerin kültüre alınması için en iyi zaman olarak tomurcukların sürmesinden yaklaşık olarak 2 hafta sonra olduğu sonucuna varılmıştır. Tomurcuklar sürmeye başladıktan iki hafta sonra sürgünler hala canlı ve parlak bir görünüme sahiptirler. Bu şekilde laboratuvar koşullarında sürdürülen çelikler dış faktörlerden uzak olduğundan mikrobiyal bulaşmalardan daha az etkilenmektedir (Şekil 3.2). Bu aşamada sürgünlerin büyümeleri halen devam ettiğinden kültüre alındıklarında eksplantlerin canlı kalmaları ve daha iyi morfogenez reaksiyon göstermeleri beklenmektedir.

Eksplantler kültüre ilk alındıktan bir kaç gün sonra mikrobiyal bulaşma (kontaminasyon) görülmeye başlanmıştır. Fakat çeşitlerde kayda değer bir bulaşma görülmemiştir. Ayrıca beklenilenin aksine eksplantlerde herhangi bir kararma durumuyla karşılaşılmamıştır. Daha sonraki altkültürlerde mikrobiyal (bakteriyel ve fungal) bulaşmalar devam etmiş ve bu bulaşıklıkların, çalışma hatalarından kaynaklanabileceği gibi bu genotiplerde endogen (içsel) mikroorganizmaların bulunulabileceği sonucuna varılmıştır.

4.2. Uygun Ortam ve Bitki Büyüme Düzenleyici Konsantrasyonunun Belirlenmesi ve Mikroçoğaltım

En iyi mikroçoğaltımı sağlayacak bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) ve kültür ortamını belirlemek amacıyla eksplantler farklı konsantrasyonlarda BA ve mT içeren NRM ve B2 ortamları üzerinde kültüre alınmışlardır.

Sürgün sayısı incelendiğinde BBD ve Kültür Ortamı x Çeşit interaksiyonunun etkisi önemli, diğer ana faktör ve interaksiyonların etkisi ise önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.1).

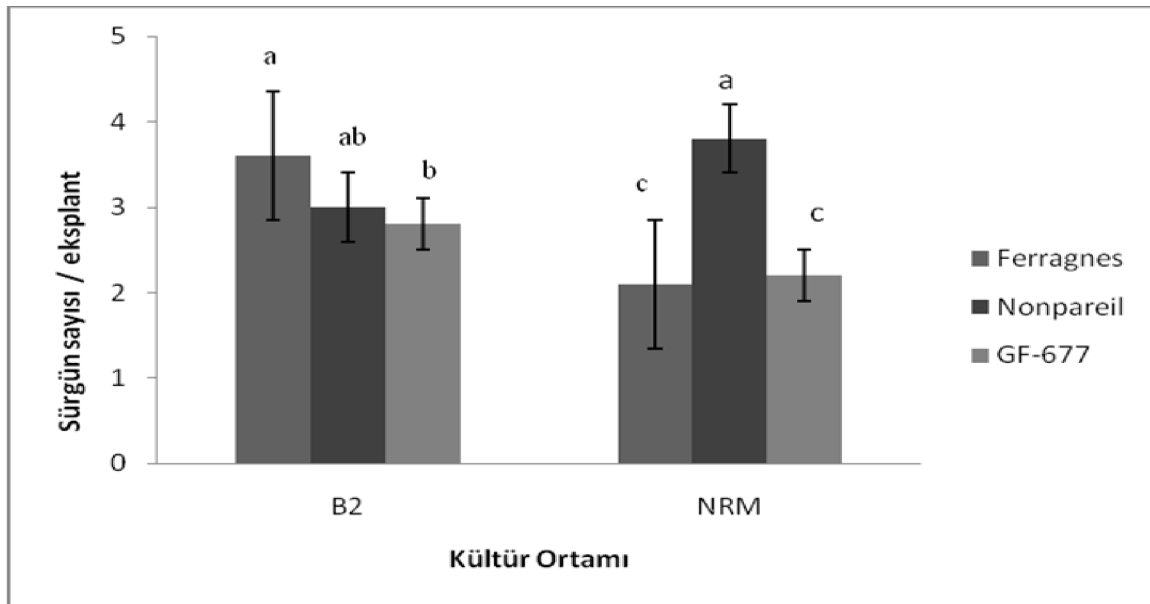
Çizelge 4.1. Çeşit, Ortam ve BBD'nin Sürgün Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyasyon kaynağı	SD	KT	KO	F
Ortam	1	5.60	5.60	1.79
Çeşit	2	14.32	7.16	2.29
BBD	1	19.67	19.67	6.30***
Ortam x Çeşit	2	25.30	12.65	4.05***
Ortam x BBD	1	0.31	0.31	0.10
Ortam x BBD x Çeşit	2	4.76	2.38	0.76
Çeşit x BBD	2	6.53	3.26	1.05

***: Ortalamalar arasındaki fark $p=0.005$ seviyesinde önemli.

Sürgün sayısı bakımından her iki kültür ortamı (NRM ve B2) benzer sonuçlar sağlamıştır. Badem için yeni geliştirilen B2 ortamı üzerinde kültüre alınan her eksplantten ortalama 3.1 sürgün elde edilirken, NRM ortamı üzerinde bu değer 2.7 olmuş fakat ortalamalar arasındaki fark istatistiki bakımından önemli bulunmamıştır.

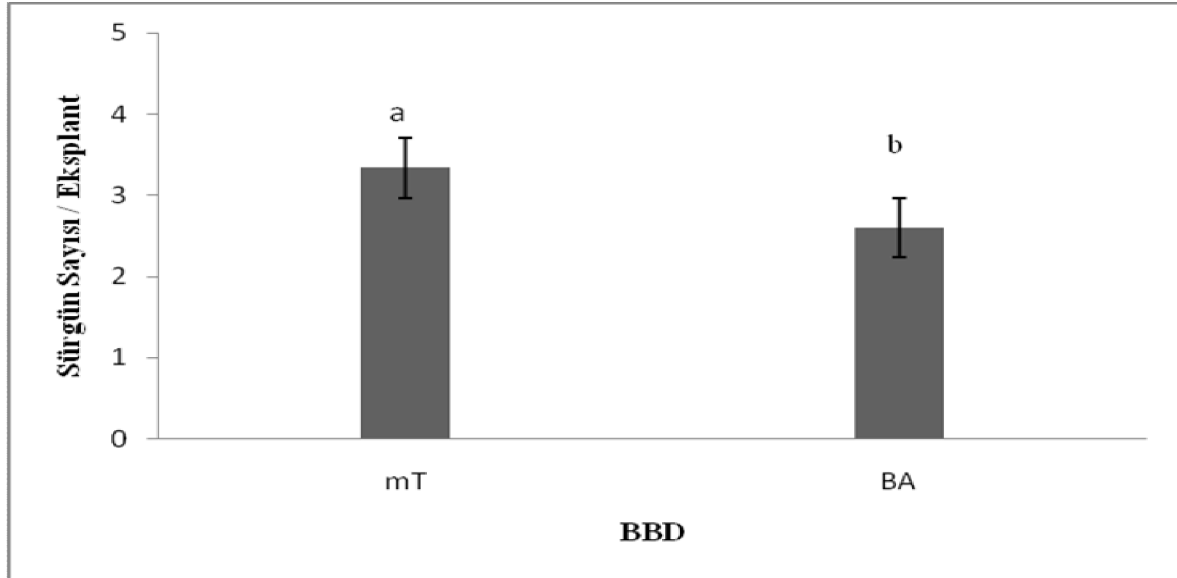
B2 ortamı üzerinde Ferragnes, Nonpareil ve GF-677'nin ortalama sürgün sayıları ortalama olarak sırasıyla, 3.6, 3.0 ve 2.8 iken NRM ortamı üzerinde bu değerler 2.1, 3.8 ve 2.2 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Ferragnes, Nonpareil ve GF-677 Mikrosürgünlerinin B2 ve NRM Kültür Ortamı Üzerindeki Ortalama Sürgün Sayısı (Aynı Harf İle Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiki Olarak Önemli Değildir).

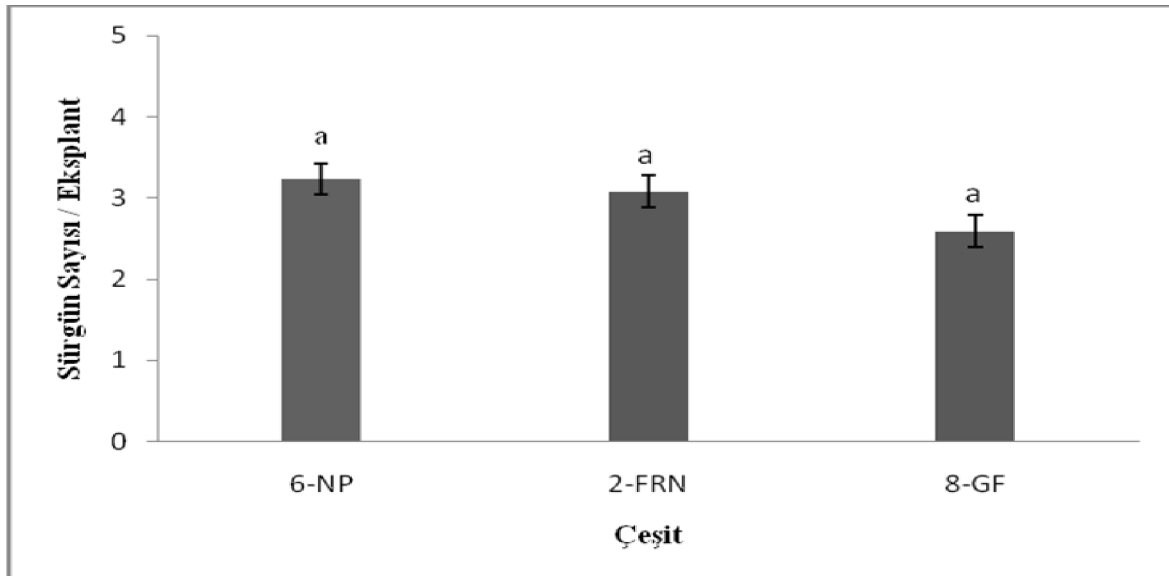
Sürgün sayısı bakımından meta-Topolin (mT), Benzyladenine (BA)'den daha üstün bulunmuştur. Kültüre alınan her eksplantten mT varlığında ortalama 3.4 adet sürgün elde

edilirken BA varlığında ortalama 2.6 adet sürgün elde edilmiş ve ortalamalar arasındaki fark istatistiki bakımından önemli bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. BA ve mT'ye Bağlı Olarak Bir Eksplantten Meydana Gelen Ortalama Sürgün Sayısı (Değerler mT ve BA'nın Kullanılan Bütün Konsantrasyonlarının Ortalamalarını Temsil Etmektedir).

Sürgün sayısı bakımından çeşitler arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Kültüre alınan her eksplantten Nonpareil için ortalama 3.2 adet sürgün, Ferragnes için ortalama 3.0 adet sürgün ve GF-677 için ortalama 2.6 adet sürgün meydana gelmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Çeşitlere Bağlı Olarak Bir Eksplantten Meydana Gelen Ortalama Sürgün Sayısı (Aynı Harf ile Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiki Olarak Önemi Değildir).

Sürgün uzunluğu incelendiğinde Çeşit ve BBD'nin etkisi önemli diğer ana faktör ve interaksiyonların etkisi önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.2).

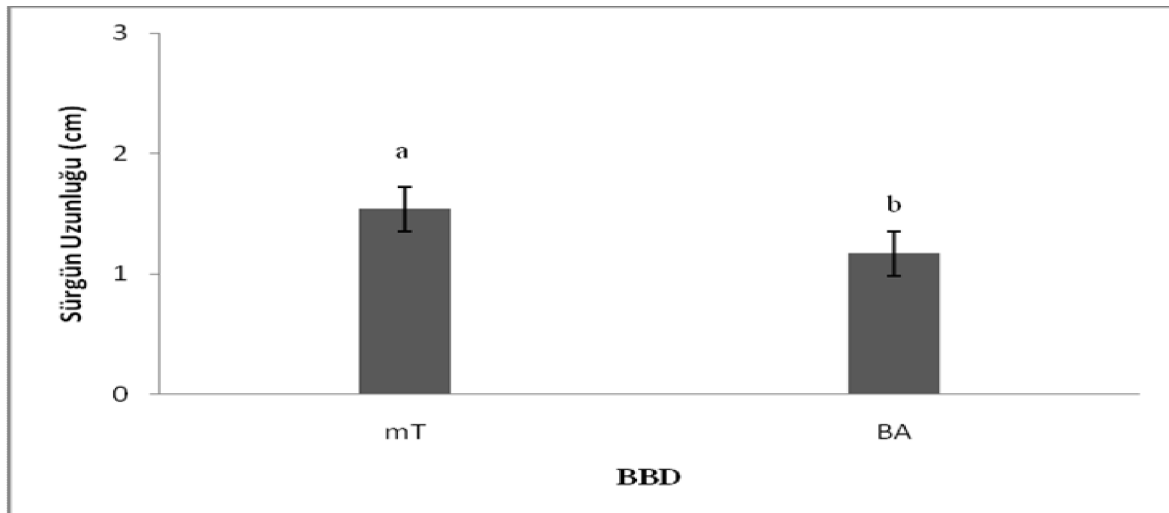
Çizelge 4.2. Çeşit, Ortam ve BBD'nin Sürgün Uzunluğu Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyasyon kaynağı	SD	KT	KO	F
Ortam	1	0.51	0.51	1.45
Çeşit	2	7.51	3.75	10.48***
BBD	1	2.59	2.59	7.23***
Ortam x Çeşit	2	0.03	0.01	0.04
Ortam x BBD	1	1.11	0.11	3.12
Ortam x BBD x Çeşit	2	0.37	0.18	0.52
Çeşit x BBD	2	0.09	0.04	0.13
Çeşit x BBD x konsantrasyon	8	1.13	0.14	0.40
Ortam x Konsantrasyon	4	1.51	0.37	1.06

***: ortalamalar arasındaki fark $p=0.005$ seviyesinde önemli.

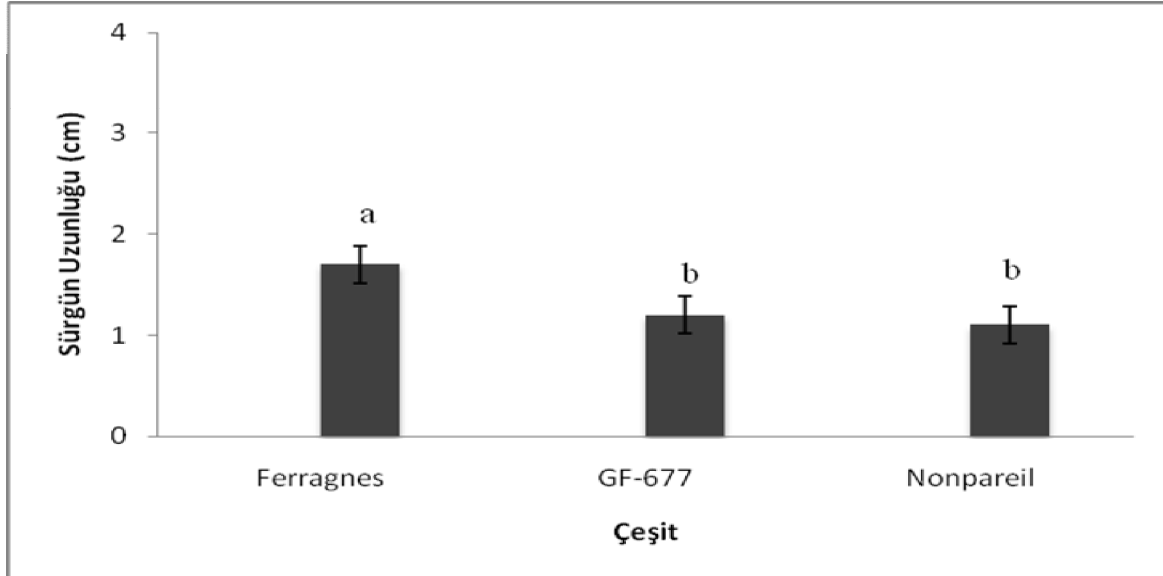
Sürgün uzunluğu bakımından her iki kültür ortamı (B2 ve NRM) benzer sonuçlar sağlamıştır. Badem için yeni geliştirilen B2 kültür ortamı üzerinde meydana gelen sürgünlerin ortalama uzunlukları 1.4 cm, NRM kültür ortamı üzerinde ise bu değer 1.3 cm olmuş ve ortalamalar arasındaki fark önemli bulunmamıştır.

Sürgün uzunluğu bakımından meta-Topolin Benzyladenine'den daha üstün bulunmuştur. Ortalama sürgün uzunluğu mT varlığında ortalama 1.5 cm, BA varlığında ise 1.2 cm olmuş ve ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. BBD'ye Bağlı Olarak Ortalama Sürgün Uzunluğu (Değerler mT ve BA'nın Kullanılan Bütün Konsantrasyonlarının Ortalamasını Temsil Etmektedir. Aynı Harf İle Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiksel Olarak Önemli Değildir).

Sürgün uzunluğu bakımından çeşitler arasındaki farka bakıldığında en büyük sürgün uzunluğu Ferragnes çeşidinde 1.7 cm, GF-677 ve Nonpareil için ise sürgün uzunluğu, sırasıyla, 1.2 ve 1.1 cm olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak GF-677 ve Nonpareil çeşitlerine ait sürgün uzunluğu arasındaki fark önemli bulunmamıştır (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Çeşitlere Bağlı Olarak Ortalama Sürgün Uzunluğu (Aynı Harf İle Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiksel Olarak Önemli Değildir).

4.3. Mikrosürgünlerin Köklendirilmesi

4.3.1 Karanlık Uygulaması ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisi

NRM kültür ortamına aktarılan mikrosürgünlerin köklenmesi üzerine karanlık uygulaması ve IBA'nın farklı dozlarının etkisi araştırılmıştır. Denemede kullanılan Nonpareil ve Ferraduel badem çeşitlerinde hiç köklenme olmadığından istatistiksel değerlendirmeye bu çeşitler alınmamış, sadece GF-677 istatistikî açıdan değerlendirilmiştir.

Sürgünlerin köklenmesi üzerine sadece IBA'nın etkisi önemli bulunmuştur. Karanlık uygulaması ile karanlık uygulaması x IBA interaksiyonunun etkisi önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.3).

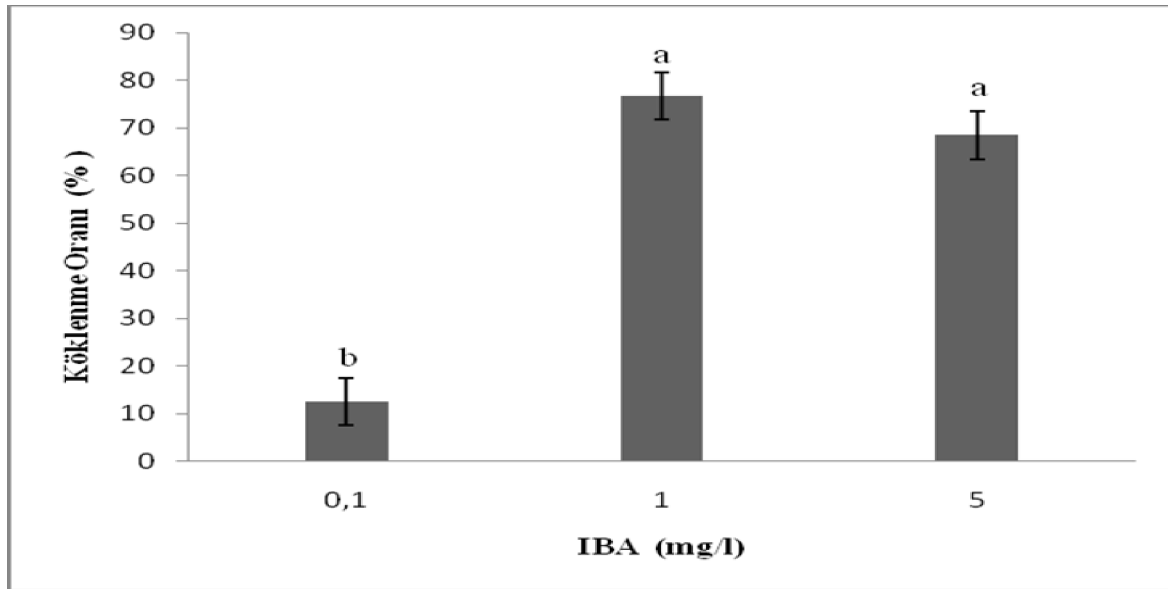
Çizelge 4.3. Karanlık ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyans kaynağı	SD	KT	KO	F
IBA	2	6985.34	34.92	6.57***
Muamele	1	612.56	612.56	1.15
Muamele x IBA	2	147.58	73.79	0.14

***: Ortalamalar arasındaki fark, $p=0.005$ seviyesinde önemli.

Bir haftalık karanlık uygulamasında mikrosürgünlerdeki köklenme oranı %58 iken karanlık uygulanmayan mikrosürgünlerde bu oran %47 olmuştur. İstatistiki açıdan bu fark önemsiz bulunmuştur. Oysaki Rugini ve Verma (1982) 10 günlük karanlık uygulamasının badem mikrosürgünlerinde köklenmeyi arttırdığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde Fotopoulos ve ark. (2005) 12 günlük karanlık uygulamasının şeftali x badem melezi olan PR 204/84 anacında köklenmeyi teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Düşük ($0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) IBA varlığında köklenme oranı yetersiz (%13) kalmıştır. En yüksek köklenme oranı (%77) $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA varlığında elde edilmiş ve istatistiksel bakımdan benzer sonuçlar (%69) $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA varlığında da elde edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. IBA Konsantrasyonunun Köklenme Oranı Üzerine Etkisi (Aynı Harf ile Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiksel Olarak Önemli Değildir).

Sürgünlerde oluşan kök sayısı bakımından karanlık ve IBA'nın etkisine bakıldığında sadece IBA'nın etkisi önemli bulunmuştur. Karanlık uygulaması ile Karanlık uygulaması x IBA interaksiyonunun etkisi önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.4).

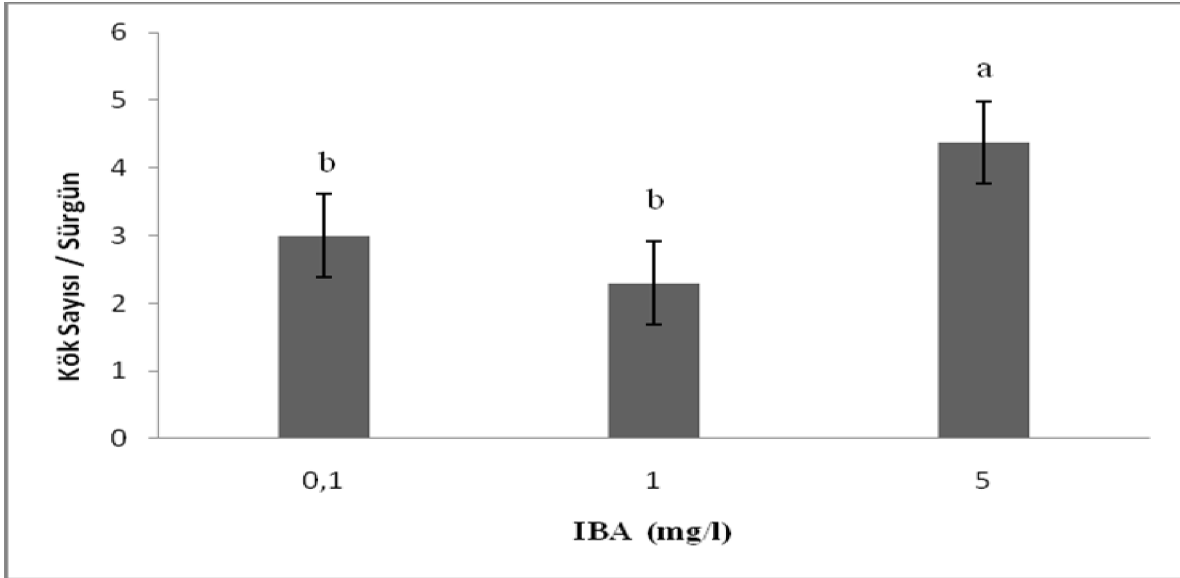
Çizelge 4.4. Karanlık ve IBA'nın Kök Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyasyon kaynağı	SD	KT	KO	F
IBA	2	8,69	4,34	0,39***
Muamele	1	0,001	0,00	0,98
Muamele x IBA	1	0,011	0,011	0,95

***: Ortalamalar arasındaki fark, $p=0.005$ seviyesinde önemlidir.

Bir haftalık karanlık uygulaması sonucu oluşan köklerdeki ortalama kök sayısı 3.2 adet iken karanlık uygulanmayan mikrosürgünlerdeki ortalama kök sayısı 3.3 adet olmuştur ve ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Karanlık uygulaması denemesinde sürgün başına oluşan kök sayısı 0.1, 1.0, 5.0 mg·L⁻¹ IBA varlığında sırasıyla 3.0, 2.3 ve 4.3 adet olmuştur ve ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. IBA Konsantrasyonunun Kök Sayısı Üzerine Etkisi (Aynı Harf ile Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiksel Olarak Önemli Değildir. Değerler Karanlık Uygulanan ve Uygulanmayan Ortamları Temsil Etmektedir).

4.3.2 Aktif Kömür Kullanımının ve Karanlık Uygulamasının Köklenme Üzerine Etkisi

Bu denemede Nonpareil ve Ferraduel badem çeşitlerinde köklenme meydana gelmemiştir. GF-677 mikrosürgünlerinde ise aktif kömür kullanımının olumlu veya olumsuz herhangi bir etkisi ve karanlık uygulamasıyla interaksyonu belirlenememiştir. Bu nedenle daha sonra yürütülen denemelerde aktif kömür kullanımı yoluna gidilmemiştir.

4.3.3 Mikrosürgünlerin Doğrudan IBA ile Muamele Edilmesinin Köklenme Üzerine Etkisi

Doğrudan IBA solüsyonuyla muamele edilen Nonpareil ve Ferraduel çeşitlerine ait mikrosürgünlerde köklenme olmamıştır. GF-677 mikrosürgünlerinde ise doğrudan IBA solüsyonuyla muamelenin köklendirme ortamı üzerinde kültüre almaya göre herhangi bir olumlu etkisi olmamıştır. Bu nedenle mikrosürgünlerin doğrudan IBA ile muamele edilmesinden vazgeçilmiştir.

4.3.4 Phloroglucinolun Köklenme Üzerine Etkisi

Bu denemede beklenilenin aksine Nonpareil, Tuano, Ferragnes badem çeşitleri ile GF-677 şeftali x badem anacı mikrosürgünlerinde hiç köklenme elde edilmemiştir. Ancak, Phloroglucinol içeren ortam üzerinde sürgünler normal çoğaltma ortamı üzerindeymiş gibi büyümeye devam etmiştir. Bu sebepten dolayı köklendirme ortamında phloroglucinol kullanımından vazgeçilmiştir. Köklenmenin meydana gelmemesi, bunun yerine kültürlerin normal bir büyüme göstermeye devam etmesi kullanılan Phloroglucinol formundan kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Daha önceki çalışmalarda köklendirme için kullanılan kimyasal sadece Phloroglucinol olarak bildirilmektedir. Oysa bu çalışmada Phloroglucinol·2H₂O kullanılmıştır.

4.3.5 Altkültür ve IBA Etkisinin Köklenme Üzerine Etkisi

NRM kültür ortamına aktarılan mikrosürgünlerin köklenmesi üzerine altkültür ve IBA'nın farklı dozlarının ve altkültür x IBA interaksiyonunun etkisi araştırılmıştır.

Araştırmanın bu kısmında kullanılan Nonpareil ve Ferragnes badem çeşitlerinde hiç köklenme elde edilemediğinden bu çeşitler istatistiksel değerlendirmeye alınmamış, sadece GF-677 mikrosürgünlerinin köklenmesi istatistiki açıdan değerlendirilmiştir.

Sürgünlerin köklenmesi üzerine IBA ve altkültür sayısının etkisi istatistiki olarak önemli bulunurken, IBA x altkültür interaksiyonu önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.5).

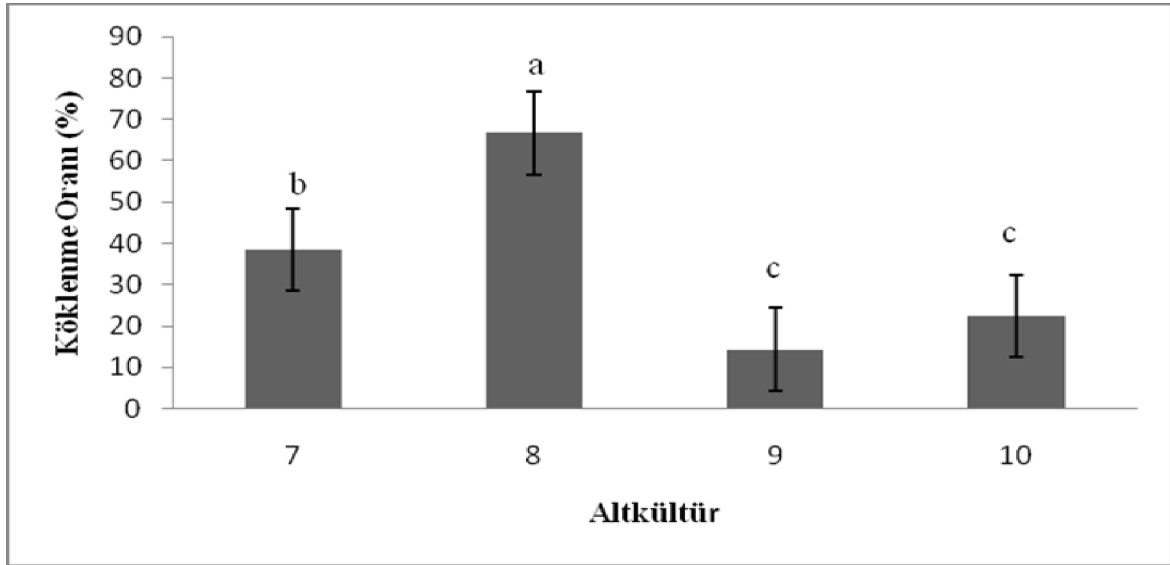
Çizelge 4.5. Altkültür sayısı ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyasyon Kaynağı	SD	KT	KO	F
IBA	2	4109.47	2054.73	5.87***
Altkültür sayısı	3	3961.59	1320.53	3.78*
Altkültür sayısı x IBA	6	1565.38	260.89	0.75

*, ***: Ortalamalar arasındaki fark, sırasıyla, p=0.1 ve p=0.005 seviyesinde önemli.

En yüksek köklenme oranı (%61) 1 mg·L⁻¹ IBA varlığında elde edilmiştir ve bunu %52 köklenme oranıyla 5 mg·L⁻¹ IBA takip etmiştir. En düşük köklenme oranı (%11) 0.1 mg·L⁻¹ IBA varlığında elde edilmiştir.

Altkültürlere göre köklenme oranı, 7., 8., 9. ve 10. altkültürlerde sırasıyla %39, %67, %14 ve %22 olmuştur (Şekil 4.8). Altkültürlere göre elde edilen bu düzensiz köklenme oranı laboratuvarı sık sık meydana gelen elektrik kesintilerinden ve havaların ısınmasına bağlı olarak değişen laboratuvar sıcaklığından kaynaklanmış olabilir.



Şekil 4.8. Alt kültür Sayısının Köklenme Üzerine Etkisi (Aynı Harf ile Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiksel Olarak Önemli Değildir).

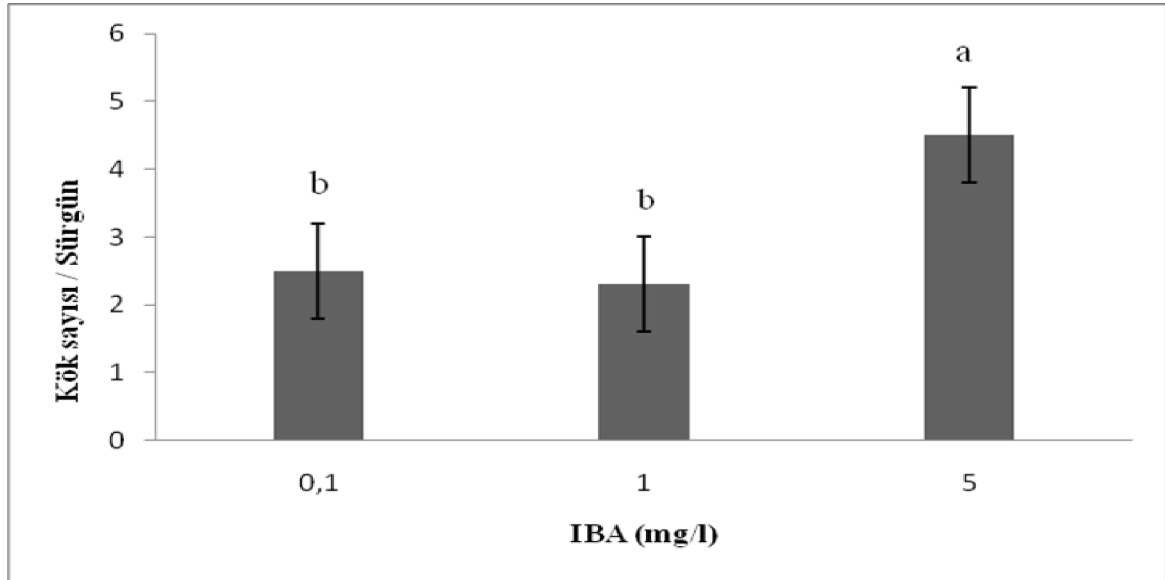
Sürgünlerde oluşan kök sayısı bakımından sadece IBA'nın etkisi istatistikî olarak önemli bulunmuştur. Alt kültür ve alt kültür x IBA interaksiyonunun etkisi istatistikî olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Alt kültür ve IBA'nın Kök Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyasyon Kaynağı	SD	KT	KO	F
IBA	2	15.06	7.53	8.31***
Alt kültür sayısı	3	3.22	1.07	1.19
Alt kültür sayısı x IBA	4	10.91	2.72	3.01

***: Ortalamalar arasındaki fark, $p=0.005$ seviyesinde önemli.

Alt kültüre bağlı olarak $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA varlığında sürgün başına ortalama 4.5 adet kök elde edilirken 0.1 ve $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA varlığında sırasıyla 2.5 ve 2.3 adet olmuştur. Ortalamalar arasındaki fark istatistikî olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. IBA'nın Kök Sayısı Üzerine Etkisi (Aynı Harf ile Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark İstatistiksel Olarak Önemli Değildir).

4.3.6. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisi

Bu denemede kullanılan Nonpareil ve Ferragnes çeşitleri hiç köklenmediğinden istatistiksel olarak bu çeşitler değerlendirilmeye alınmamıştır. İstatistiki bakımdan sadece Tuano badem çeşidi ile GF-677 anacı mikrosürğünlerinin köklenmesi değerlendirilmiştir.

Sürğünlerin köklenmesi üzerine Çeşit, IBA ve Çeşit x IBA interaksiyonunun etkisi istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Ortam yoğunluğu (OY), OY x Çeşit, OY x IBA ve OY x Çeşit x IBA interaksiyonlarının etkisi istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.7).

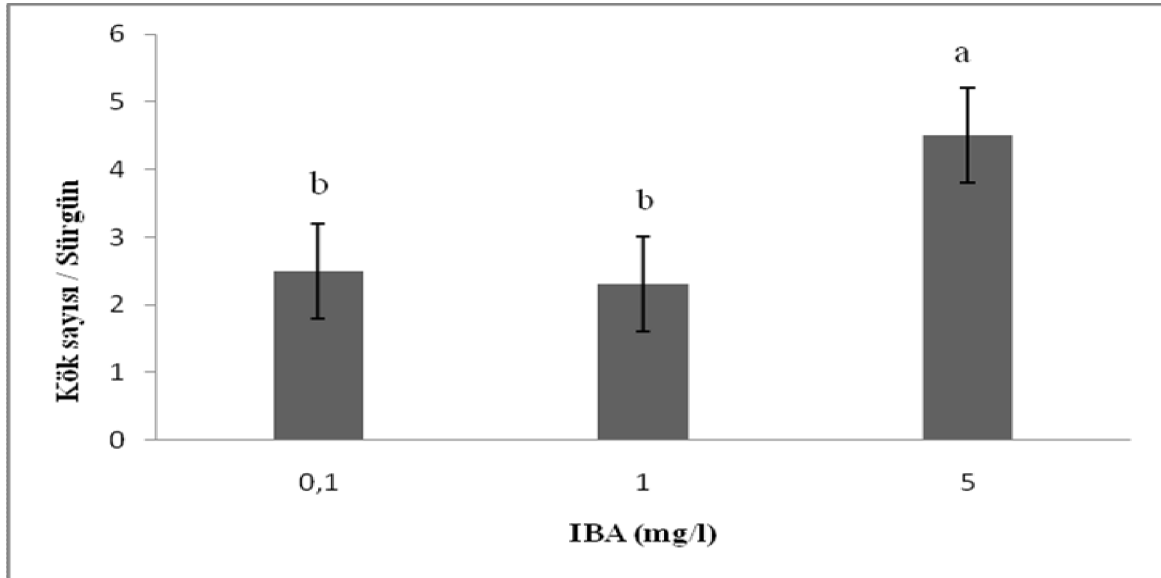
Çizelge 4.7. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA'nın Köklenme Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyans Kaynağı	SD	KT	KO	F
Ortam yoğunluğu (OY)	1	196.31	196.31	0.33
Çeşit	1	17984.77	17984.77	30.60***
IBA	3	5404.64	1801.54	3.06***
OY x Çeşit	1	484.77	484.77	0.82
OY x IBA	3	949.51	316.50	0.54
OY x Çeşit x IBA	3	1526.44	508.81	0.87
Çeşit x IBA	3	13385.41	4461.80	7.59***

***: Ortalamalar arasındaki fark, $p=0.005$ seviyesinde önemli.

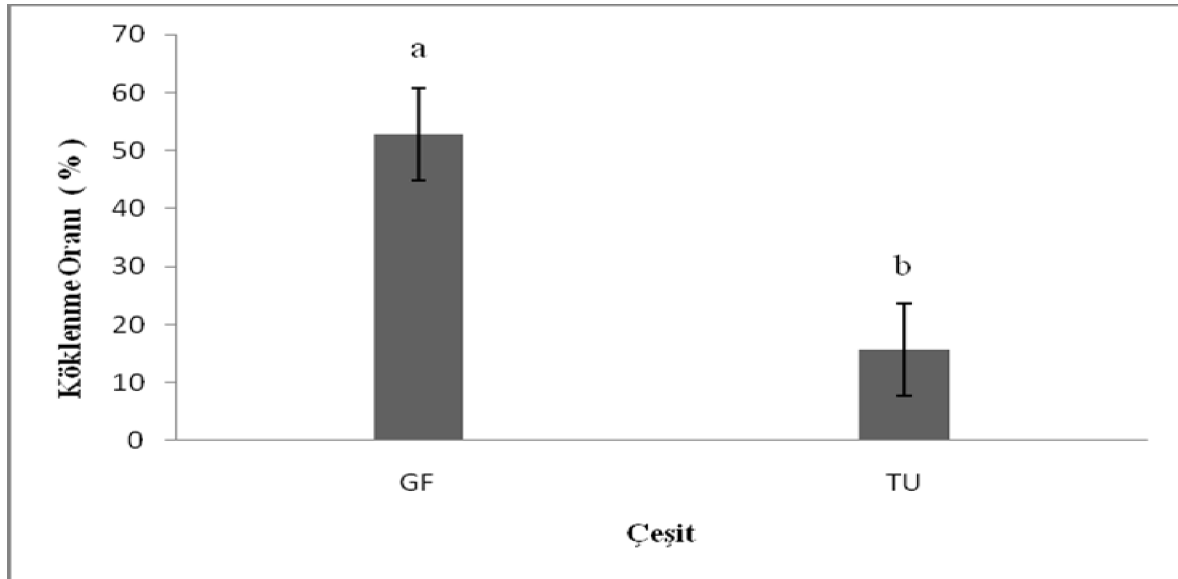
Tam ve ½ yoğunlukta kültür ortamları üzerinde köklenme oranları istatistiksel olarak benzer bulunmuştur. Dimassi ve ark. (1995) MS ortamının mineral konsantrasyonunun yarıya indirilmesinin GF-677 anacında köklenmeyi arttırdığını bildirmişlerdir. Fotopoulos ve ark. (2005) PR 204/84 anacında MS ortamındaki mineral konsantrasyonunun yarıya indirdiklerinde köklenme oranında artış olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Durkovic (2006), kirazda boğum eksplantlarından elde ettiği *in vitro* sürgünleri en iyi 0.3 mg·L⁻¹ IBA içeren ½ MS besi ortamında köklendirmişlerdir (%73.2).

Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA'nın köklenme üzerine etkisi incelendiğinde en iyi köklenme oranı sırasıyla %54.17 ve %51.4 olarak 0.75 ve 1.0 mg·L⁻¹ IBA varlığında belirlenirken, en düşük köklenme oranı, sırasıyla %22.2 ve 32 olarak 0.5 ve 0.25 mg·L⁻¹ IBA varlığında tespit edilmiştir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Ortam Yoğunluğuna Bağlı Olarak IBA'nın Köklenme Oranı Üzerine Etkisi (Değerler Tam ve ½ Yoğunluktaki Ortamlar Üzerinde Elde Edilen Ortalamaları Göstermektedir. Aynı Harf ile Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark Önemli Değildir).

Çeşitlerin köklenme oranları arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur. GF-677 ortalama %53 köklenme oranı ile Tuano çeşidine göre (%16) daha yüksek oranda köklenmiştir (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Köklenme Oranı Üzerine Çeşitlerin Etkisi (Değerler Tam ve ½ Yoğunluktaki Ortamlar Üzerinde Elde Edilen Ortalamaları Göstermektedir. Aynı Harf ile Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark Önemli Değildir).

4.3.7. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA'nın Kök Sayısı Üzerine Etkisi

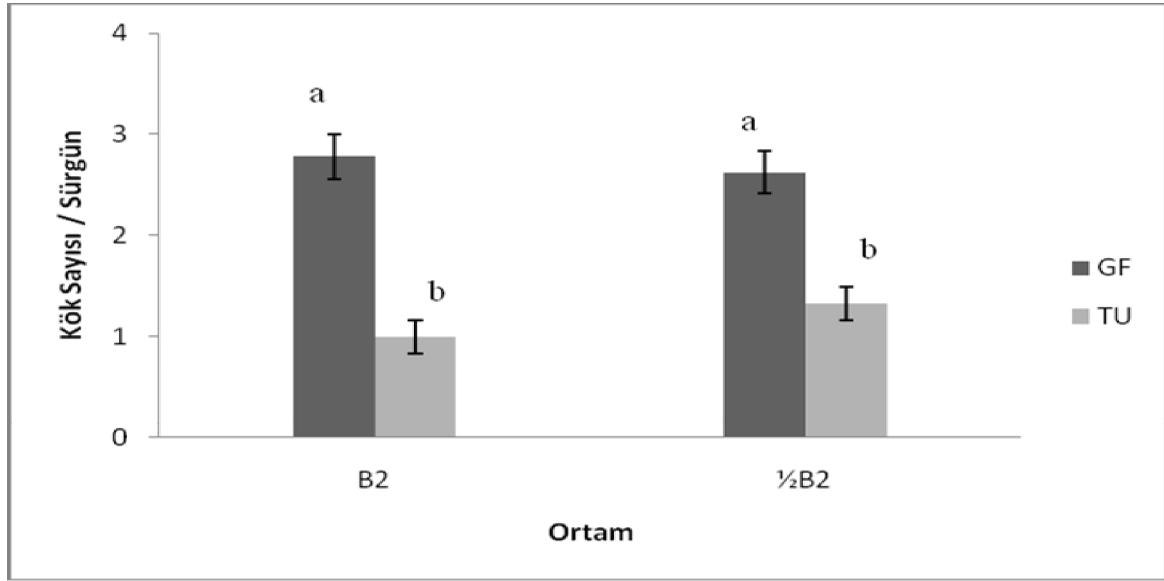
Bir sürgünde meydana gelen kök sayısı üzerine sadece çeşit etkisi önemli bulunmuştur. Ortam Yoğunluğu (OY), IBA, OY x Çeşit, OY x IBA, OY x Çeşit x IBA ve Çeşit x IBA'nın kök sayısı üzerine etkisi önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Ortam Yoğunluğu, Çeşit ve IBA'nın Kök Sayısı Üzerine Etkisinin Varyans (GLM) Analizi

Varyans Kaynağı	SD	KT	KO	F
Ortam Yoğunluğu (OY)	1	0.22	0.22	0.11
Çeşit	1	14.83	14.83	7.09***
IBA	3	4.10	1.36	0.65
OY x Çeşit	1	0.28	0.28	0.14
OY x IBA	3	0.32	0.10	0.05
OY Çeşit x IBA	2	0.60	0.30	0.15
Çeşit x IBA	2	2.03	1.01	0.49

***: Ortalamalar arasındaki fark, $p=0.005$ seviyesinde önemli.

Ortam yoğunluğundan bağımsız olarak GF -677 mikrosürgünlerindeki kök sayısı Tuano çeşidi sürgünlerindeki kök sayısından yüksek olmuştur (Şekil 4.12). GF-677 sürgünlerinde ortalama 2.7 kök meydana gelirken Tuano çeşidinde bu değer 1.2 olmuş ve ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 4.12. Çeşit ve Ortam Yoğunluğunun Kök Sayısı Üzerine Etkisi (Değerler Tam ve 1/2 Yoğunluktaki Ortamlar Üzerinde Elde Edilen Ortalamaları Göstermektedir. Aynı Harf İle Gösterilen Ortalamalar Arasındaki Fark Önemli Değildir).

4.4 Aşama IV (Pişkinleştirme ve Dış Ortama Aktarma)

Köklendirme denemeleri sonucu köklenen (Şekil 4.13) mikrosürgünler tedrici olarak dış ortama alıştırıldıktan sonra başarılı bir şekilde dış ortama (Şekil 4.14) aktarılmışlardır (%99).



şekil 4.13. Köklendirme Muamelesinden Sonra Mikrosrgnlerde Meydana Gelen Kökler



şekil 4.14. *In vitro* Köklendirilen ve Aklimitize Edildikten Sonra Dış Ortama Aktarılan Mikrosürgünler.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Badem, ülkemiz için ekonomik öneme sahip bir meyve türüdür. Kurak ve kıraç topraklara iyi adaptasyon gösterdiği için özellikle küresel ısınmayla birlikte badem yetiştiriciliğine olan talebin önümüzdeki yıllarda daha da artacağı beklenmektedir. Bu talebi karşılamak amacıyla ismine doğru hızlı fidan üretim yoluna gidilmelidir. Bu yollardan biri de mikroçoğaltmadır. Ancak badem zor köklenen bir tür olduğundan bu yöntem badem için tam anlamıyla kullanılamamaktadır.

Bu çalışmada *in vitro*'da badem mikrosürgünlerinin köklendirilmesinde karşılaşılan düşük köklenme oranı probleminin çeşitli uygulamalarla giderilmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada sürgün çoğaltımı için uygun ortam ve BBD konsantrasyonunu bulmak amacıyla farklı konsantrasyonlarda mT ve BA içeren NRM ve B2 ortamları kullanılmıştır. Sürgün sayısı bakımından her iki ortam benzer sonuçlar sağlamıştır.

Sürgün sayısı bakımından meta-Topolin etkisinin Benzyladenine'den daha üstün olduğu bulunmuştur. Benzer şekilde, mT kullanımı BA kullanımına göre daha iyi sürgün uzunluğu sağladığından dolayı tavsiye edilmektedir. Ancak mT'nin fiyatı halen daha yüksek olduğundan bu büyüme düzenleyicinin kullanımını sınırlayabilir.

Bütün çeşitler dikkate alındığında badem için yeni geliştirilen B2 ortamı daha üstün bulunmuştur. Bundan sonra yürütülecek badem mikroçoğaltım çalışmaları için B2 ortamının kullanımı tavsiye edilmektedir. Sürgün uzunluğu bakımından her iki ortamdan (NRM ve B2) benzer değerler elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu üzerine mT'nin etkisi BA'dan daha üstün bulunmuştur.

Mikrosürgünlerin köklenmesi üzerine IBA konsantrasyonu önemli bir etkiye sahiptir. Bu çalışmada kullanılan bütün IBA konsantrasyonları göz önüne alındığında, iyi bir köklenme oranı için $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA varlığının yeterli olduğu söylenebilir. Bundan sonra yürütülecek badem mikroçoğaltma çalışmalarında köklendirme aşamasında $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA kullanımı tavsiye edilmektedir. Diğer taraftan Fotopoulos ve Sotiropoulos'un (2005) yapmış olduğu bir çalışmada en iyi köklenme oranı 2.5 ve $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA varlığında MS ortamı üzerinde elde edilmiştir.

Bu çalışmada, köklenmenin teşvik edilmesi amacıyla uygulanan karanlık muamelesinin köklenme oranı üzerine etkisi incelenmiştir. Bir hafta karanlıkta bekletilen sürgünlerde köklenme oranı (%58), karanlıkta bekletilmeyen sürgünlerin köklenme oranından (%47) daha yüksek olmakla beraber ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Bu durum tekerrürler arasındaki yüksek varyasyondan kaynaklanmış olabilir. Daha iyi kontrol edilen şartlarda denemelerin yapılması durumunda karanlık uygulamasının köklenme üzerine olumlu etki yapması beklenebilir. Ainsley ve ark., (2001) yapmış oldukları bir çalışmada 3 günlük karanlık uygulamasının köklenmeyi arttırdığı bildirilmiştir. Benzer şekilde Fotopoulos ve Sotiropoulos (2005) 1 ve $2.5 \mu\text{M}$ IBA varlığında 12 günlük karanlık uygulamasının köklenmeyi arttırdığını bildirmişlerdir. Rugini ve Verma (1982) 10 günlük karanlık uygulamasının badem de köklenmeyi arttırdığını bildirmişler.

Mikrosürgünlerin doğrudan IBA solüsyonuyla muamele edilmesinin mikrosürgünleri köklendirme ortamı üzerinde kültüre almaya göre her hangi bir olumlu etkisine rastlanılmamıştır.

Phloroglucinol $2H_2O$ varlığında hiçbir IBA konsantrasyonunda köklenme elde edilmemiştir. Phloroglucinolun köklenme üzerine etkisi hakkındaki çalışma sonuçları arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ainsley ve arkadaşlarının (2000) yapmış olduğu bir çalışmada bademin köklendirilmesinde Phloroglucinolun etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Ancak George (1996) yapmış olduğu bir çalışmada Phloroglucinolun köklenme üzerine olumlu etkisinin olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde phloroglucinolun şeftalinin *in vitro* köklenmesini teşvik ettiği bildirilmektedir (Hammerschlag ve ark., 1987). Bizim çalışmamızda köklenmenin aksine sürgünler phloroglucinol varlığında normal çoğaltma ortamı üzerindeymiş gibi büyümeye devam etmişlerdir.

Altkültür sayısının köklenme üzerine etkisine baktığımızda en yüksek köklenme oranı (%67) sekizinci altkültürde meydana gelmiştir. Altkültürlere göre elde edilen düzensiz köklenme oranları laboratuvarda sık sık meydana gelen elektrik kesintilerinden ve havaların ısınmasına bağlı olarak önemli derecede değişen laboratuvar sıcaklığından kaynaklanmış olabilir. Bu sonuçlar, köklendirme ortamının daha kararlı iklim şartlarına sahip olması gerektiğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada kültür ortamı yoğunluğunun köklenme oranı üzerine etkisi önemli bulunmamıştır. Oysa birçok araştırmada yarım yoğunlukta ortam kullanımının köklenme oranı bakımından daha iyi sonuç verdiği bildirilmektedir. Fouad ve ark. (1997) IBA' nın farklı konsantrasyonlarını içeren $\frac{1}{2}$ MS ortamının *Prunus* anaçları için köklendirmeyi teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Işıksalan ve ark. (2008) $8.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA içeren $\frac{1}{2}$ MS ortamında badem de en iyi köklenmeyi elde etmişlerdir.

Elde edilen bulgular bademin köklenmesi oldukça güç olan bir tür olduğunu ve çeşitlerin köklenme kabiliyeti arasında önemli fark olduğunu göstermektedir. Şeftali x badem hibriti olan GF-677'de köklenme oranı Tuano badem çeşidinin köklenme oranından çok daha yüksek olurken, Nonpareil ve Ferragnes badem çeşitlerinde köklenme hiç elde edilememiştir.

Bu çalışmada güç köklenen bazı badem çeşitlerinin köklenmesini etkileyen bazı faktörlerin köklenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Ancak Nonpareil ve Ferragnes çeşitlerinde hiç köklenme sağlanamamış ve Tuano çeşidinde köklenme düşük olmuştur.

Bundan sonra yapılacak çalışmalarda alt kültür sayısının artırılması ve daha detaylı BBD konsantrasyonlarının denenmesi gerekmektedir. Ayrıca deneme yapılan kültür koşullarının standardizasyonu sağlanmalıdır. Ayrıca bu zor köklenen çeşitlerin kolay köklenen anaçlar üzerinde mikroaşı yöntemine başvurulmalıdır. Uygun kültür koşulları altında yapılacak çalışmalardan daha iyi sonuçların alınması beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- AĞAOĞLU, Y.S., AYFER, M., FİDAN, Y., KÖKSAL, İ., ABAK, K., ÇELİK, H., KAYNAK, L., GÜLŞEN, Y. 1987. Bahçe Bitkileri. Ankara Üniver. Zir. Fak. Yay: 1009. Ofset Baskı ANKARA. 280 sf.
- AINSLEY, P. J., HAMMERSCHLAG, F. A., BERTOZZI, T., COLLINS, G. G. And SEDGLEY, M. 2001a. Regeneration of Almond from Immature Seed Cotyledons. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 67: 221-226.
- ALMEHDI, A. A., and PARFITT, D. E. 1986. *In vitro* Propagation of Peach: Propagation of ‘Lovell’ and ‘Nemaguard’ Peach Rootstocks. Fruit Var.J., 40:12-17.
- ANTONOPOULOU, C., DIMASSI, K., THERIOS, I., CHATZISSAVVIDIS, C., and TSIRAKOĞLOU, 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.
- BHOJWANI S.S., M.K. RAZDAN. 1996. Clonal Propagation, p. 483-536. In: S.S. Bhojwani and M.K. Razdan (eds.). Plant Tissue Culture: Theory and Practise, Rev. Ed. Elsevier, Amsterdam.
- CAN, C., ÖZASLAN, M., TÖREMEN, H., SARP KAYA, K. and İSKENDER, E., 2006. *In vitro* Micrografting of *Pistachio*, *Pistacia Vera L.* var. Siirt, on Wild *Pistachio* Rootstocks. Journal of Cell and Molecular Biology 5: 25-31, Haliç Universty, Printed in Turkey
- CANLI, F.A., TIAN, L. 2008. *In vitro* Shoot Regeneration From Stored Mature Cotyledons of Sweet Cherry (*Prunus Avium L.*) Cultivars. Scientia Horticulturae 116:34-40
- CHANNUNTAIPAT C., M. SEDGLEY, G. COLLINS. 2003. Micropropagation of Almond Cultivars Nonpareil and Ne Plus Ultra and Hybrid Rootstock Titan x Nemaguard. Sci. Hort. 98: 473-484.
- DAI, H., Z. ZHANG, X. GUO. 2007 Adventitious Bud Regeneration From Leaf and Cotyledon Explants of Chinese Hawthorn (*Crataegus Pinnatifida* Bge. Var. Major N.E.Br.). *In Vitro* Cell. Dev. Biol.-Plant. 43: 2-8.
- DEBERGH PC, READ PE. 1993. Micropropagation. In: Debergh PC, Zimmerman RH (eds.), Micropropagation – Tecnology and Application., pp. 1-15, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Hollanda.
- DIMASSITHERIOU, 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.

- DURKOVIC, J. 2006. Rapid Micropropagation of Mature Wild Cherry. *Biologia Plantarum*, 50(4):733-736.
- ECONOMOU A.S., P.E. READ. 1986. Microcutting Production From Sequential Reculturing of Hardy Deciduous Azalea Shoot Tips. *Hortscience*. 21 (1): 137-139.
- ESCALETTES V., and DOSBA F. 1993. *In vitro* Adventitious Shoot Regeneration from Leaves of *Prunus* spp. *Plant Science*, 90(2):201-209.
- FAO. 2009. <http://apps.fao.org/>
- FASOLO, F., MALAVASI, F. and RANIERI, 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. Amygdalus* x *P. Persica*) as Influenced by Mineral Concentration of the Culture Medium and Exposure to Darkness for a Period. *Agronomy Research* 3(1), 3-8.
- GEORGE, E. F. 1996. Plant Propagation by Tissue Culture. Part 2: In Practice. London: Exegetics;
- GÜREL, S., ve GÜLŞEN, Y. 1998a GÜREL, S., ve GÜLŞEN, Y., 1998b. The Effects of Different Sucrose, Agar, and pH Levels on *In vitro* Shoot Production of Almond (*Amygdalus Communis* L.). *Tr.Horticultural Breeding*. <http://www.ishs.org>
- HAMMERSCHLAG, F. A.; BAUCHAN, G. R.; SCORZA, R. 1987. Factors Influencing *In vitro* Multiplication and Rooting of Peach Cultivars. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 8: 235-242
- HEPAKSOY, S., TANRISEVER,a. 2004. Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar II. Köklenme ve Dış Koşullara Alıştırma. *Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (3): 23-34.
- HOWARD B.H., T.R. MARK. 1987. The *In Vivo* Interface, p. 101-111, In: Jakson MB, Mantell SH, Blake J (eds.) *Advances In Chemical Manipulation of Plant tissue culture*, British Plant Gro. Reg. Grp, Monograph No. 16, Bristol.
- IŞIKALAN, Ç., AKBA, F.A., NAMLI,S., TİLKAT, E. And BARAN, D. 2005. *In vitro* Micropropagation of Almond (*Amygdalus Communis* L. Cv.) Nonpareil. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (12), pp. 1875-1880, 17. <http://www.academicjournals.org/AJB>

- KAMALI, K., MAJIDI, E. and ZARGHAMI, R. 2001. Micropropagation of GF-677 Rootstocks (*P. Amygdalus* x *P. Persica*). 11. GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds CIHEAM-IAMZ. 56(175-177)
- KESTER D.E., T.M GRADZIEL, C. GRASSELLY. 1991. Almond (*Prunus*), p. 701-758. In: More, J.N., Ballington, J.R. (eds.), Genetic Resources of Temperate Fruit and Nut Crops. ISHS, Belgium.
- KESTER D.E., T.M. GRADZIEL. 1996. Almonds, p. 1-98. In: Janik J. And More JN (eds.), Fruit Breeding, vol. III, Nuts, John Willey & Sons, Inc. New York.
- LANSARI, A., KESTER, D.E., LEZZONI, A.F., Inbreeding, Coancestry, and Founding Clones of Almonds of California, Mediterranean Shores, and Russia, J.Amer. Soc. Hort. Sci. 119(6):1279-1285, (1994).
- LAURI, P., CABONI, E. and DAMIANO, C. 2001. *In vitro* Adventitious Shoot Regeneration from Vegetative Apices of Almond and Other *Prunus* Species. ISHS Acta Horticulturae 560: IV International Symposium on *In vitro* Culture and Multiplication and Rooting of Peach Cultivars. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 8:235-242;
- MORINI, S., PERRONE, S. 2006. Effects of Short Light-Dark Regimes on *In vitro* Shoot Rooting of Some Fruit Tree Rootstocks. Biologia Plantarum 50 (3) : 429-432
- MURASHIGE, T., and SKOOG, F. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant., 15: 473-497.
- MURASHIGE T. (1974). Plant Propagation Through Tissue Cultures. Ann. Rev. Plant Physiol., 25: 135-166.
- NAS M.N., P.E. Read. V. Miller, P.A. Rutter. 2003. *In vitro* Rejuvenation of Woody Species is Temporary. Acta Hort. 625:211-215
- NAS M.N., N. Mutlu ve P.e. Read. 2004. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Analysis of Long-termcultured Hybrid Hazelnut. HortScience 39(5): 1079-1082.
- NAS M.N., P.E. Read. 2003b. *Ex Vitro* Survival of Hybrid Hazelnut Shoots Produced *In vitro*. I. Int. Symp. on Accl. and Estab. Of Micropropogated Plants. 19-22 September, 2001. Sani-Halkidik, GR. Acta Hort. 616: 215-219
- NAS M.N., P.E. Read. 2004a. A Hypothesis for The Development of a Defined Tissue Culture Medium of Higher Plants and Micropropagation of Hazelnuts. Sci. Hortic. 101: 189-200.
- NAS M.N., P.E. Read. 2004b. Improved Rooting and Acclimatization of Micropropagated Hazelnut Shoots. HortScience 39(7):1688-1690.

- ÖZBEK. S. 1978. Özel Meyvecilik. Ç.Ü.Zir. Fak. Yayınları:128, Ders kitabı:11, A.Ü. Basımevi, ANKARA. 486 SF.
- QUOIRIN, M. LEPOIVRE, P., and BOXUS, P., 1977. Un Premier Bilande 10 Annees de Recherches Sur Les Cultures de Meristemes et La Multiplication *In vitro* de Fruitiers Ligneux. C.R. Rech. Stn. Cult. Fruit. Maraicheres Gembloux, 93-117.
- READ PE, YANG Q. (1987). Novel Growth Regulator Delivery Systems for *In vitro* Culture of Horticultural Crops. Acta Hort. 212: 55-59.
- RODRIGUES, A.C., SILVEIRA, C.A.P., FORTES, G.R. de L., FACHINELLO, J.C. and 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
- RUGINI E, D.C. VERMA. 1982. Micropropagation of a Difficult-To-Propagate Almond (*Prunus Amygdalus Batsch*). Plant Sci. Lett. 28:273-281.
- SUTTLE G.R. L. 1996. Commercial Laboratory Production, p. 331-339. In: Tigiano RN, Gray DJ (eds.), Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises, CRC Press, New York
- TETSUMURA T, 1997. Effect of Types of Cytokinin Used for *in vitro* Shoot Proliferation of Japanese Persimmon on The Subsequent Rooting of Shoots. Acta Hortic. 436:143-148.
- TSIPOURIDIS C, T. THOMIDIS. 2004. Improved Rooting of Peach Rootstock GF 677 Hardwood Stem Cuttings Through Cultural Pratics. HortScience 39(2):333-334.
- ÜLKÜMEN, L. 1973. Bağ-Bahçe Ziraatı. Atatürk Univer. Yay. No: 75, Zir. Fak. Yay. No: 128. Ders Kitapları Serisi No:22, Erzurum. 404 sf.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Siirt'te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Adana'da tamamladı. 2003 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde yüksek öğrenimine başladı ve 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında aynı üniversitede Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı.