

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Merve ELÇİÇEK

FOŞA, ÇAKILDAK VE TOMBUL FINDIK ÇEŞİTLERİNİN *in vitro* KOŞULLARDA KİTLESEL ÜRETİMİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA-2020

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FOŞA, ÇAKILDAK VE TOMBUL FINDIK ÇEŞİTLERİNİN *in vitro* KOŞULLARDA KİTLESEL ÜRETİMİ

Merve ELÇİÇEK

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİYOTEKNOLOJİ ANA BİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Ebru KAFKAS
Yıl: 2020 Sayfa: 99
Jüri : Prof. Dr. Ebru KAFKAS
: Prof. Dr. Ali İSLAM
: Doç. Dr. Burhanettin İMRAK

Bu tez çalışmasında Türkiye için ticari değeri yüksek Foşa, Tombul ve Çakıldak fındık çeşitlerinin farklı dozlardaki bitki büyüme düzenleyicileri kullanılarak virüsten ari kitlesel üretim olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Elma mozaik virüsünden ari Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin kitlesel üretimi için eksplant olarak nodal segmentler kullanılmıştır. Bu bitkiciklerin çoğaltımı için DKW temel besi yerinde bitki büyüme düzenleyicilerinden BAP (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/L), IBA (0, 0.01, 0.1, 0.2 mg/L), GA₃ (0.05 mg/L) ve MT'nin (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/L) farklı dozları denenmiştir. Foşa ve Tombul için en iyi sürgün gelişimi 2 mg/L MT, 0.2 mg/L IBA ve 0.05 mg/L GA₃, Çakıldak için en iyi sürgün gelişimi 3 mg/L MT, 0.2 mg/L IBA ve 0.05 mg/L GA₃ kombinasyonlarından elde edilmiştir. Köklenme için farklı dozlardaki IBA (0, 1, 2, 3 mg/L), NAA (0, 0.01, 1, 2 mg/L) ve Sequestren Fe 138 (200 mg/L) içeren MS temel besi yerinde bitkilerin kök sayıları ve kök uzunlukları belirlenmiştir. Foşa, Çakıldak ve Tombul için en iyi köklendirme besi yerinin 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA'nı içeren besi yeri olduğu saptanmıştır. Ayrıca bu tez çalışmasında Elma mozaik virüsü ile bulaşık olan bitkilere *in vitro* koşullarda termoterapi uygulaması yapılmıştır. Termoterapi uygulamasında 16 saat ışık 8 saat karanlık fotoperiyot, 40 µmol·m⁻²·s⁻¹ ışık şiddetinde, 25°C ile başlayan ve her gün bir derece artırılarak gündüz 36 °C - gece 32 °C de 28-32 hafta bekletilmiştir. Termoterapi uygulama aşamasındaki bitkiler DAS-ELISA ve RT-PCR ile test edilmiştir ve termoterapinin 45. gününde bu bitkilerin virüsten arındırıldığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fındık, *in vitro*, mikro çoğaltım, virüs arındırma

ABSTRACT

MSc THESIS

MASS PRODUCTION of FOŞA, TOMBUL AND ÇAKILDAK HAZELNUT VARIETIES via *in vitro* CONDITIONS

Merve ELÇİÇEK

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY

Supervisor : Prof. Dr. Ebru KAFKAS
Year :2020 Pages: 99

Jury : Prof. Dr. Ebru KAFKAS
: Prof. Dr. Ali İSLAM
: Assoc. Prof. Dr. Burhanettin İMRAK

The purpose of this thesis is to investigate the possibilities of mass propagation of Foşa, Tombul and Çakıldak which are the most important hazelnut varieties in Turkey using different PGRs. For shoot development DKW basic nutrient medium including different doses of PGRs like BAP (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/L), IBA (0, 0.01, 0.1, 0.2 mg/L), GA₃ (0.05 mg/L) and MT (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/L) were tested. The best shoot development was obtained in the media including 2 mg/L MT, 0.2 mg/L IBA and 0.05 mg/L GA₃ for Foşa and Tombul and for Çakıldak the media including 3 mg/L MT, 0.2 mg/L IBA and 0.05 mg/L GA₃. For rooting MS basic nutrient medium including different doses of PGRs like IBA (0, 1, 2, 3 mg/L), NAA (0, 0.01, 1, 2 mg/L) and 200 mg/L Sequestren Fe 138 were tested. The best root obtained the media including 2 mg/L IBA and 1 mg/L NAA for Foşa, Çakıldak and Tombul. Thermotherapy was applied to the plants infected with ApMv *in vitro* for elimination of this virus. During thermotherapy, these plants were kept in 16 h light/8 h dark photoperiod, 40 µmol·m⁻²·s⁻¹ light intensity with 25°C and day by day temperature increasing 1°C reached to 36°C in light and 32°C in dark at 28-32 weeks. In thermotherapy application, these plantlets were tested with DAS-ELISA and RT-PCR and the virus in these plants were eliminated with thermotherapy application in 45th days.

Key Words: Hazelnut, *in vitro*, micropropagation, virus elimination

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Fındık *Magnoliopsida* sınıfının *Fagales* takımının *Betulaceae* familyası *Corylus* cinsi içerisinde yer alır. Fındığın anavatanı Orta Asya, Kafkasya ve Anadoludur. Sert kabuku meyveler grubunda yer alan fındık sahip olduğu besin içeriği nedeniyle dünyada ve ülkemizde son derece önemli bir yere sahiptir. Dünyada ve ülkemizde çok önemli bir yeri olan fındığın bitki doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması birçok ülkenin araştırma konusu olmasına rağmen Türkiye’de fındığın *in vitro* koşullarda çoğaltılması için yapılan araştırmalar çok azdır. Diğer bitkilerde olduğu gibi fındıkta da üretim miktarının azalmasına neden olan çeşitli hastalıklar ve zararlılar mevcuttur. Hastalık ve zararlılardan arı fidan üretimi modern fındık yetiştiriciliğinin temelini teşkil eder.

Bu tez çalışmasında, Türkiye için ticari değeri yüksek Foşa, Tombul ve Çakıldak fındık çeşitlerinin farklı dozlardaki sitokin ve oksin gibi farklı büyüme düzenleyiciler kullanılarak kitlesel üretim olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

İlk aşamada tüm fındıklar DAS-ELISA serolojik yöntemi ile testlenmiş ve bu fındıkların elma mozaik virüsü ile bulaşıklık durumları belirlenmiştir. Elma mozaik virüsten arı olduğu belirlenen fındık çeşitlerine ait materyallerden alınan nodal segmentler *in vitro* koşullarda farklı sterilizasyon, farklı dozlardaki sitokin ve oksin kaynağının kullanıldığı çoğaltma ortamı ve farklı dozlarda oksin kombinasyonlarının kullanıldığı köklenme ortam denemeleri kurularak kardeşlenme ve köklenme aşaması için en uygun ortam belirlenmiştir.

Eksplantların yüzey sterilizasyonu aşamasında farklı dozlarda (5%, 10% ve 20%) sodyum hipoklorit (NaOCl) uygulamaları yapılmış ve canlılığın en fazla 20% lik dozdaki sodyum hipokloritin 10 dakikalık muamelesinin yapıldığı sterilizasyon uygulamasından elde edildiği görülmüştür. Bu uygulamada çoğu bitkinin yaşadığı ve kontaminasyonun çok az olduğu görülmüştür.

Bu bitkilerin çoğaltımı için DKW temel besin ortamında, sabit dozda GA₃ (0.05 mg/L) ve farklı dozlardaki (0, 0.01, 0.1 ve 0.2 mg/L) IBA ile sitokinin kaynağı olarak farklı dozlarda (0, 1, 2, 3, 4 ve 5 mg/L) BAP ve MT yi içeren 48 farklı kardeşlenme ortam denemesi yapılmıştır. Söz konusu çeşitlerin bu çoğaltım ortamlarında eksplant başına oluşturdukları sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu belirlenmiştir. Foşa ve Tombul için eksplant başına oluşan sürgün sayısı en fazla 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu, Çakıldak için ise en fazla 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonlarından elde edilmiştir. Eksplant başına oluşan en uzun sürgün uzunluğu Foşa için 4 mg/L BAP ve 0.1 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda, Çakıldak fındık çeşidi için ise 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda ve Tombul fındık çeşidinde ise 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda elde edildiği görülmüştür.

Köklenme için ise farklı dozlardaki IBA (0, 1, 2 ve 3 mg/L) ve farklı dozlardaki NAA (0, 0.01, 1 ve 2 mg/L) ve 200 mg/L Sequestren Fe 138 içeren MS temel besin ortamında ise sürgünlerin kök sayıları ve kök uzunlukları belirlenmiştir. Köklenme denemeleri sonucunda ise en fazla kök sayısının Foşa, Çakıldak ve Tombul için 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA'nın bulunduğu ortamda elde edilmiştir. En uzun kök uzunluğunun ise Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitleri için 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA'nın bulunduğu ortamdan elde edilmiştir.

Ayrıca bu tez çalışmasında Elma Mozaik virüsü ile bulaşık olduğu belirlenen bitkilere *in vitro* koşullarda termoterapi uygulamasına tabi tutulmuştur. Termoterapi uygulamasında 16 saat ışık/8 saat karanlık fotoperiyot, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti koşullarında, 25°C ile başlayan ve her gün bir derece artırılıp gündüz 36 °C, gece 32 °C sıcaklığa kadar çıkılmış 28-32 hafta süre bekletilmiştir. Termoterapi uygulama aşamasındaki bitkilerde düzenli olarak DAS-ELISA ve RT-PCR ile testlenmiş ve virüsten arı olma durumları belirlenmiştir. Termoterapinin 45 gününde bitkilerin virüsten arındırıldığı tespit edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansım süresince yapıcı ve yönlendirici fikirlerini ve kıymetli yorumlarını esirgemeyen ve yüksek lisansımın her aşamasında yardım ve katkılarıyla bana daima yol gösteren çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ebru KAFKAS'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezim süresine bana daima destek veren ve sahip olduğu bilgi ve tecrübeleri ile her zaman yanımda olan Dr Emine TANRIVER'e ve BETA Fidan ekibine yardımlarından ve desteklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Tezim süresince istatistiksel analiz çalışmalarımnda bana yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Burhannettin İMRAK'a teşekkür ederim.

Tüm çalışmalarım boyunca yardımlarını asla esirgemeyen ve her zaman yanımda olan değerli arkadaşım Şihab Sakıb BAYRAKTAR'a içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen arkadaşım Ziraat Yüksek Mühendisi Semih ALAN'a teşekkür ederim.

Ve son olarak tüm hayatım boyunca maddi ve manevi yardımları ile her daim yanımda olan, kıymetli annem Nimet ELÇİÇEK, abim Yunus ELÇİÇEK, sevgili ablam Ceylan ELÇİÇEK, canım kardeşlerim İsmail ve Kübra ELÇİÇEK'e sonsuz şükranlarımı ve içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

ÖZ	I
ABSTRACT.....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET	III
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XVI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	11
2.1. Fındığın Generatif Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	11
2.2. Fındığın Vejetatif Çoğaltımına İlgili Yapılan Çalışmalar	11
2.2.1. Fındığın Daldırma Tekniğiyle Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	12
2.2.2. Fındığın Dip Sürgünü Tekniğiyle Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	12
2.2.3. Fındığın Aşısı ile Çoğaltılmasıyla İlgili Yapılan Çalışmalar	13
2.2.4. Fındığın Çelikle Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar	14
2.2.5. Fındığın Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltımına İlgili Yapılan Çalışmalar.....	17
2.3. Elisa Virüs Testleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	24
3. MATERYAL VE METOT	29
3.1. Materyal.....	29
3.2. Metod.....	32
3.2.1. Materyallerin Alınması ve Yüzey sterilizasyonu.....	32
3.2.2. Besin Ortamının İçeriği ve Hazırlanması	33

3.2.3. Farklı Sitokin kaynaklarının Kardeşlenme Üzerine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalar.....	35
3.2.4. Farklı Oksin kaynaklarının Köklenme Üzerine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalar.....	38
3.3. Fındıkta ApMV karşı arılık durumlarının Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi	39
3.3.1. Serolojik Testlemeler	39
3.3.2. Moleküler Testlemeler	39
3.4. Jel Elektroforezi ile PCR sonuçlarının Değerlendirilmesi	41
3.5. Sekanslama ve BLAST Analizi	41
3.6. Filogenetik Analiz	42
3.7. Elma Mozaik Virüsünün Arındırılması	42
3.7.1. Termoterapi Uygulaması	42
3.8. İstatistiksel Analizler	42
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	43
4.1. Yüzey Sterilizasyon Uygulamalarının Etkisi.....	43
4.2. Farklı Konsantrasyonlardaki Sitokin ve Oksin Kombinasyonlarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kardeş Sayısına Etkisi.....	48
4.2.1. Farklı Dozlarda BAP ve IBA Kombinasyonları Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kardeş Sayısına Etkisi	48
4.2.2. Farklı Dozlarda Metatoplin ve IBA Kombinasyonları Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kardeş Sayısına Etkisi	54
4.3. Farklı Konsantrasyonlardaki Sitokin ve Oksin Kombinasyonlarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Sürgün Uzunluğuna Etkisi.....	59
4.3.1. Farklı Dozlarda Meta topolin ve IBA Kombinasyonları Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Sürgün Uzunluğuna Etkisi.....	64
4.4. Farklı Oksin kaynaklarının Köklenme Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi...	69

4.4.1. Farklı Dozlardaki IBA ve NAA Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kök Sayısına Etkisi	69
4.4.2. Farklı Dozlardaki IBA ve NAA Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kök Uzunluğuna Etkisi	73
4.5. Fındıkta ApMV karşı arılık durumlarının Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Elde Edilen Sonuçlar	79
4.5.1. DAS-ELISA Test Sonuçları.....	79
4.5.2. RT-PCR Sonuçları	80
4.6. Filogenetik Analiz	85
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	87
KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	99



ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.	Kabuklu fındık üretiminin kıtalar arası dağılımı (FAO, 2018).....	3
Çizelge 1.2.	Önemli Fındık Üreticisi Ülkelerin 2018 Yılı Üretim Miktarları.....	4
Çizelge 1.3.	Türkiye’de fındık üretim alanı, üretim durumu ve verimi	6
Çizelge 1.4.	Türkiye’de fındık üretiminin bölgeler arası dağılımı	7
Çizelge 1.5.	2018 yılı iller düzeyinde Türkiye fındık üretimi	8
Çizelge 3.1.	Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin özellikleri.....	31
Çizelge 3.2.	MS Besin Ortam İçeriği.....	34
Çizelge 3.3.	DKW Besin Ortam İçeriği.....	35
Çizelge 3.4.	DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak BAP ve oksin kaynağı olarak IBA’nın kullanıldığı kombinasyonlar	36
Çizelge 3.5.	DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak MT ve oksin kaynağı olarak IBA’nın kullanıldığı kombinasyonlar	37
Çizelge 3.6.	ApMV ’nin 1-step RT-PCR ile tesbitinde kullanılan primerler dizileri.....	41
Çizelge 4.1.	Foşa, Çakıldak ve Tombul’a uygulanan farklı dozlardaki NaOCl’nin canlılığa etkisi	44
Çizelge 4.2.	Foşa fındık çeşidinde farklı konantrasyonlardaki BAP ve IBA’nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı.....	50
Çizelge 4.3.	Çakıldak’ın farklı konantrasyonlardaki BAP ve IBA’nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı.....	51
Çizelge 4.4.	Tombul fındık çeşidinde farklı konantrasyonlardaki BAP ve IBA’nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı.....	52

Çizelge 4.5. Foşa'nın farklı konantrasyonlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı.....	55
Çizelge 4.6. Çakıldak fındık çeşidinde farklı konantrasyonlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı.....	56
Çizelge 4.7. Tombul fındık çeşidinde farklı konantrasyonlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı.....	57
Çizelge 4.8. Foşa'nın farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu	60
Çizelge 4.9. Çakıldak'ın farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu.....	61
Çizelge 4.10. Tombul'un farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu.....	62
Çizelge 4.11. Foşa'nın farklı dozlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamında elde edilen sürgün uzunluğu	65
Çizelge 4.12. Çakıldak'ın farklı dozlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamından elde edilen sürgün uzunluğu.....	67
Çizelge 4.13. Tombul fındık çeşidinde farklı dozlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu.....	68
Çizelge 4.14. Foşa fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren köklenme ortamından elde edilen kök sayısı	70

Çizelge 4.15. Çakıldak fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren köklenme ortamından elde edilen kök sayısı	71
Çizelge 4.16. Tombul fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren köklenme ortamından elde edilen kök sayısı	72
Çizelge 4.17. Foşa fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kök uzunluğu	73
Çizelge 4.18. Çakıldak fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kök uzunluğu	74
Çizelge 4.19. Tombul fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kök uzunluğu	75
Çizelge 4.20. DAS-ELISA ve RT-PCR sonucunda Foşa, Çakıldak ve Tombul fındıklarının Elma mozaik virüsü ile bulaşıklık durumları.....	84



ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1.1.	Türkiye Fındık Üretim Haritası.....	5
Şekil 3.1	Foşa fındık çeşitlerinin meyvelerinin görüntüleri	30
Şekil 3.2.	Çakıldak fındık çeşitlerinin meyvelerinin görüntüleri.....	30
Şekil 3.3.	Tombul fındık çeşitlerinin meyvelerinin görüntüler	31
Şekil 3.4.	Eksplant olarak kullanılan nodal segmentler.....	32
Şekil 3.5.	Nodal segmentlerin kabin içi sterilizasyonun aşaması.....	33
Şekil 3.6.	Nodal segmentlerin giriş ortamına alınma aşamaları	33
Şekil 3.7.	Doku kültürü yöntemi ile fındığın çoğaltım aşamaları.....	38
Şekil 4.1.	Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine %5 lik sodyum hipoklorit uygulaması.....	46
Şekil 4.2.	Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine %10 lik sodyum hipoklorit uygulaması.....	47
Şekil 4.3.	Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine %20 lik sodyum hipoklorit uygulaması.....	47
Şekil 4.4.	Sırasıyla 4 mg /L BAP ve 0.1 mg/L IBA içeren ortamdaki Foşa, 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA dozlarını içeren ortamdaki Çakıldak ve Tombul bitkilerinin gelişimleri	54
Şekil 4.5.	Sırasıyla 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamdaki Foşa ve Tombul fındık çeşitlerine ait sürgünler ve 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamdaki Çakıldak fındık çeşidine ait sürgünler.....	59
Şekil 4.6.	Sırasıyla 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'yı içeren ortamlardaki Foşa ve Çakıldak, 3 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamdan elde edilen Tombul fındık çeşitlerine ait sürgünler.....	63

Şekil 4.7.	Sırasıyla 2 mg/L MT ve 0.1 mg/L IBA ortamından elde edilen Foşa, 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA dozlarını içeren Çakıldak ve 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA ortamından elde edilen Tombul fındık çeşitlerine ait sürgünler.....	69
Şekil 4.8.	Foşa, Çakıldak ve Tombul fındıklarının 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren kök ortamından elde edilen kökleri.....	76
Şekil 4.9.	Adaptasyon seralarında büyütülen Foşa, Çakıldak ve Tombul fındıklarına ait fotoğraflar	76
Şekil 4.10.	In vitro koşullarda çoğaltılan Foşa fındığının tam otomasyonlu seralarda büyütülmesi.....	77
Şekil 4.11.	Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin DAS-ELISA sonucunda elde edilen renk değişimleri	80
Şekil 4.12.	Termoterapi uygulamasının 45.günündeki örneklere ait PCR ürünlerinin jel görüntüsü	81
Şekil 4.13.	Termoterapi uygulamasının 60. gününde örneklere ait PCR ürünlerinin jel görüntüsü	82
Şekil 4.14.	Termoterapinin 75.gününde yapılan PCR ürünlerinin kapiler jel elektroforezi ile yürütülmesi.....	83
Şekil 4.15.	Termoterapinin 90 gününde yapılan PCR ürünlerinin kapiler jel elektroforezi ile yürütülmesi.....	83
Şekil 4.16.	Fındık örneklerinden elde edilen ApMv izolatlarının gen bankasındaki kayıtlı izolat ile karşılaştırılması sonucu çizilen filogenetik ağaç	86

SİMGELER VE KISALTMALAR

GA ₃	: Gibberellik asit
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
DKW	: Driver and Kuniyaki Walnut
MS	: Murashige and Skoog
BAP	: 6-Benziaminopürin
MT	: Meta topolin
L	: Litre
Mg	: Miligram
IBA	: Indol-3-bütirik asit
NAA	: Naftalin asetik asit
M	: Metre
FAO	: Food and Agriculture Organization
s	: Saniye
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
PGR	: Plant Growth Regulator
TDZ	: Thidiazuron
°C	: Santigrat derece



1. GİRİŞ

Fındık *Magnoliopsida* sınıfının *Fagales* takımının *Betulaceae* familyası *Corylus* cinsi içerisinde yer alır. Fındığın anavatanı Orta Asya, Kafkasya ve Anadoludur. Fındık monoik çiçek yapısına sahiptir. Kromozomları çok küçük ve diploid kromozom ($2n=22$) yapısına sahip olan fındık türlerinin hepsinin meyvesi yenir. Kış mevsiminde fındık yapraklarını döker ve bu dönemde rüzgârla tozlanır. Fındık ağaç veya çalı formunda yetişir. *Corylus avellana*, *C. americana* Marshall, *C. cornuta* Marshall, *C. heterophylla* Fischer ve *C. sieboldiana* Blume türler yüksek çalı olarak bilinmektedir. Ağaç formu olarak bilinen türler ise *C. colurna* L, *C. jacquemontii* Decaisne, *C. ferox* Wallich, *C. chinensis* Franchet dir (İslam, 2019).

Ekonomik anlamda yetiştiriciliği yaygın olarak yapılan ve yüksek çalı ve çok gövdeli olarak şeklinde yetişen fındık türü *Corylus avellana* dır. *Corylus avellana*, Avrupa fındığı olarak bilinir (Özkurt, 1950). *Corylus colurna* tek gövdeli 15-25 m boylarında ağaç formundadır (Polat, 2014).

Tarım yapmaya başladığından beri insanoğlunun fındık yetiştirdiği bilinmektedir. İnsan sağlığı ve beslenme açısından büyük öneme sahip olan doymamış yağ asitlerince zengin olan fındık %60-70 oranında yağa sahiptir. Bu yüzden fındık sağlık açısından birçok görevi yerine getirmektedir. Kolesterolün yükselmesini engelleyen linoleik asit ve oleik asitler damar ve kalp gibi hastalıklarda engelleyici role sahiptir. Fındığın düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oranını düşürmesi sebebiyle kalp ve damar hastaları üzerinde engelleyici görevi görmektedir (Orem ve ark., 2013).

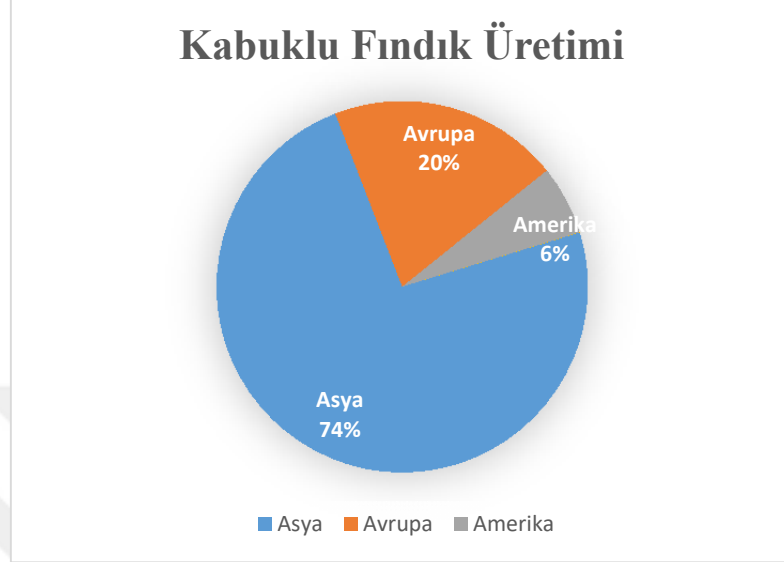
Metabolizmayı düzenleyerek insan vücuduna önemli etkisi olan karbonhidrat, yağ ve protein bakımından oldukça zengindir. Fındık gelişme çağındaki çocukların gelişiminde oldukça etkili olan B2 ve B6 vitaminini de bünyesinde barındırır. Kalp ve kasların sağlığında ve üretim sisteminde önemli rol oynayan E vitamini bakımından da zengindir. Ayrıca kansere neden olan

etmenlerin oluşmasını engelleyerek vücudu korur. Hemogloblin üretimi için gerekli olan ve kanın yapısında görev alan demir, dişlerin ve kemiğin oluşumu için görev alan kalsiyum, çinko gibi cinsiyet hormonlarının gelişiminde görev alan minarelleri bünyesinde barındırır. Kas sisteminin çalışması ve sinirlerin uyarılmasında görev alan potasyum bakımından da oldukça zengindir. Bu minareller bakımından zengin olan fındık, kan basıncının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Fındığın çocuklar ve yetişkinler için önemli bir enerji kaynağı olduğu bilinmektedir. Sağlıklı yaşam içinde oldukça gerekli olan fındığa günlük beslenmede yer verilmesi, beslenme uzmanları tarafından tavsiye edilmektedir (Cosmulescu ve ark., 2013).

Fındık kendine özgü iklim isteklerine sahiptir ve bu yüzden sınırlı bölgelerde yetiştirilmektedir. Fındığın ekolojik koşullarına uygun olan ve fındığın anavatanı olan Anadolu topraklarında fındık bakımından genetik zenginlik vardır. En verimli fındıklar Anadolu da yetişmiştir (Ayfer ve ark., 1986; Yılmaz, 2009).

Asya kıtası, fındık üretiminin ve yetiştiriciliğinin en çok yapıldığı bölgedir. 2018 yılı FAO verilerine göre Asya kıtası % 73.4 lik yüzdeliği ile 634441 ton kabuklu fındık üretimi gerçekleştirip ilk sırada yer alırken, Avrupa %20.1 yüzdelik ile 173946 ton, Amerika kıtasında ise %6.4 lik 55289 ton kabuklu fındık üretitimi gerçekleşmiştir.

Çizelge 1.1. Kabuklu fındık üretiminin kıtalar arası dağılımı (FAO, 2018)



2018 yılı FAO verilerine göre Türkiye 515000 ton üretim miktarı dünya fındık üretiminin %60 ini karşılamaktadır. Çizelge 1.1 göre Türkiye ve devamında sırasıyla İtalya ve Gürcistan fındık üretim miktarı yönünden uzun yıllar ilk üç sırayı paylaşmışlardır.

Çizelge 1.2. Önemli Fındık Üreticisi Ülkelerin 2018 Yılı Üretim Miktarları (FAO, 2018)

Sıra	Ülkeler	Üretim (ton)	Üretim Alanı (ha)	Verim (hg/ha)
1	Türkiye	51500 0	72838 1	7.07
2	İtalya	13269 9	78593	16.884
3	Gürcistan	17000	9484	17.925
4	ABD	46270	17806	25.986
5	Azerbeycan	52067	39021	13.343
6	Çin	24790	11775	21.053
7	İran	15839	17957	8.820
8	İspanya	8033	11350 5	5.948
9	Fransa	14988	6644	22.559
10	Polonya	6642	3716	17.874

Ülkemizde fındık yetiştirilen alanlar 40-41° enlemde ve 37-42° boylamları arasında bulunmaktadır. Karadeniz bölgesi ülkemizde fındık yetiştiriciliği bakımından en uygun bölge olarak görülmektedir. Bu bölgede *Corylus avellana* ve *Corylus maxima*'nın melezleri yetişmektedir. (Ayfer ve ark., 1986; Marangoz, 1999; Köksal, 2002; Beyhan ve ark., 2007).

Ülkemiz kuzey bölgesi uygun iklim yapısına ve ekolojik koşullara sahip olduğu için fındık geniş alanlara yayılmıştır. Ülkemizde geleneksel üretim ile yapılan fındık yetiştiriciliğinde modern tekniklerin kullanımı kısıtlı kalmıştır (Bostan, 1998). Uzun yıllar boyunca fındık yetiştiriciliğinde geleneksel üretim teknikleri kullanılmıştır. Bu yüzden ülkemizdeki bahçelerde karışık çeşitlerin ve standartlardan oldukça uzak bahçelerin yer alması kaliteli ve verimi oldukça yüksek

Çizelge 1.3. Türkiye’de fındık üretim alanı, üretim durumu ve verimi

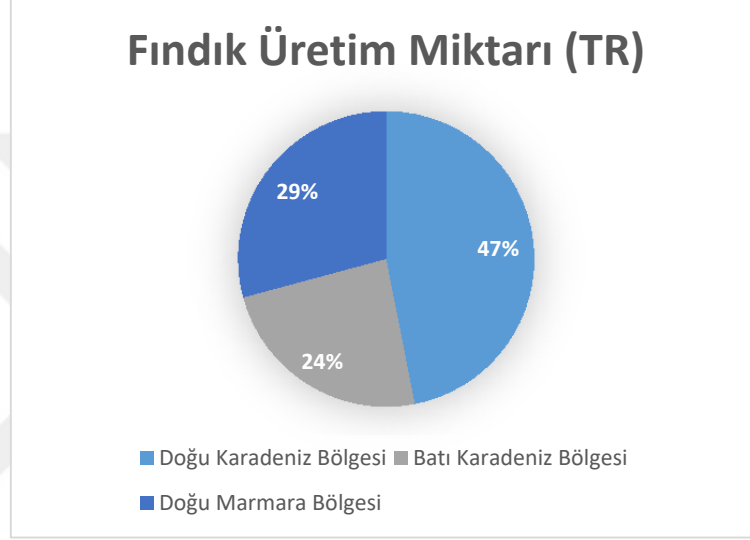
Yıllar	Üretim Alanı (ha)	Üretim Miktarı (ton)	Verim (kg/da)
2001	555000	625000	113
2002	560000	600000	107
2003	600000	480000	80
2004	650000	350000	54
2005	655000	530000	81
2006	666226	661000	99
2007	663817	530000	80
2008	663192	800791	121
2009	642867	500000	78
2010	667865	600000	90
2011	696964	430000	62
2012	701407	660000	94
2013	702144	549000	78
2014	701141	412000	59
2015	702628	646000	92
2016	705445	420000	60
2017	705500	670000	95
2018	705510	550000	78

Kaynak: TÜİK, 2018

Fındık üretiminde yıllar arasında büyük dalgalanmalar görülmektedir (Çizelge 1.3). Fındık üretim miktarındaki bu dalgalanmaların nedenleri sırasıyla şunlardır; girdi fiyatlarında ve kullanımındaki değişimler, ilaçlama gibi bakım tekniklerindeki değişimler, toprağın veriminin düşmesi ve iklim şartlarının değişimidir. Üretim alanları ve ocak sayılarında bir azalma olmamasına karşın üretimde meydana gelen bu düşüşün en önemli nedenlerden biri de pek çok bölgede ve yerde yaşanan ilkbahar geç donlarıdır.

TÜİK (2018) verilerine göre Türkiye'deki fındık üretimi yapılan bölgelerde üretim miktarlarına bakıldığında üretimin %47 lük kısmı Doğu Karadeniz Bölgesi'nde, %24 lik kısmı Batı Karadeniz, %29 lık kısmı ise Doğu Marmara Bölgesi'nde gerçekleşmektedir (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.4. Türkiye'de fındık üretiminin bölgeler arası dağılımı (TÜİK, 2018)



TÜİK (2018) verilerine göre ülkemizde fındık üretim miktarı açısından Ordu ilk sırada yer alırken, bunu Samsun, Giresun, Sakarya, Düzce, Trabzon ve Zonguldak illeri takip etmiştir (Çizelge 1.5).

Çizelge 1.5. 2018 yılı iller düzeyinde Türkiye fındık üretimi (TÜİK, 2018)

Sıra	İller	Üretim Miktarı (ton)	Üretim Alanı (da)	Toplam Alan İçindeki Payı (%)	Toplam Üretim Miktarı İçindeki Payı (%)
1	Ordu	213572	2270923	32.14	31.64
2	Samsun	96240	936182	13.25	14.26
3	Giresun	93339	1171020	16.57	13.83
4	Sakarya	88840	730838	10.34	13.16
5	Düzce	74350	631440	8.94	11.01
6	Trabzon	41594	655524	9.28	6.16
7	Zonguldak	30932	238342	3.37	4.58
8	Kocaeli	11898	79808	1.13	1.76
-	Diğer İller	24235	352593	4.99	3.59
	Toplam	675000	7066670	100	100

Türkiye’de üretilen fındığın %80-85’inin dış satımı yapılırken, %15–20 kadarı iç piyasada tüketilmektedir. Fındık ticaretinin önemli kısmını fındık ihracatı oluşturmaktadır (TMO, 2018). Önemli bir ihraç ürünü olan fındıkta kaliteyi verimi artırmak çoğu araştırmannın konusu olmuştur. Ülkemizde yer alan mevcut popülasyon içinden üstün niteliklere sahip olan fındık çeşitlerinin seçilmesi için detaylı araştırmalar yapmak büyük önem arz etmektedir (İslam ve Özgüven; Bostan ve ark., 2008; Karadeniz ve ark., 2009; Bozkurt, 2010).

Bitki doku kültürü ile steril koşullarda ve kontrollü iklim koşullarında çok hızlı ve kısa sürede hastalıktan arı bitkiler üretilmektedir. Ayrıca bitki doku kültürü yöntemi ile çoğaltılan bitkilerde genetik açılım söz konusu değildir. Doku kültürüne kıyasla diğer üretim teknikleri çoğaltımda daha az bitki elde edilmesi, hastalık ile bulaşık olma riskinin yüksek olması ve üretimin çok uzun sürmesi gibi olumsuzluklar söz konusudur. Bitki doku kültürü yönteminde kontrollü iklim

koşullarında ve steril besiyerlerde çoğaltıldığından hastalıklardan ari bitkilerin meydana gelmektedir (Hatipoğlu, 1995).

Çoğaltılması planlanan eksplant çeşidine göre bitki doku kültüründe farklı yöntemler geliştirilmiştir. Çoğaltılacak bitkinin türüne göre eksplantların bitkinin hangi kısmından alındığı (sürgün ucu, yaprak, çiçek, tomurcuk, kök tohum, yumru soğan vb.) ve hangi formda üretileceği, bitkinin gelişim aşamalarına göre embriyo kültürü, sürgün ucu kültürü gibi farklı şekilde isimlendirilir (Kocaçalışkan, 2002).

Bitki doku kültürü safhaları şu şekilde sıralanmaktadır; giriş-hazırlık, sürgün rejenerasyonu, köklendirme ve aklimatizasyon, toprağa alıştırma. Bitkinin *in vitro* koşullarda klonal çoğaltımının sağlanması için uygun bitki materyallerinin seçilip, uygun sterilizasyon yöntemi kullanılarak uygun besin ortamına ihtiyaç duyulmaktadır. Uygun sterilizasyon yöntemi yapıldıktan sonra uygun ortamlarda eksplantların kallus oluşumu sağlanıp, bu kalluslardan rejenerasyonun uyarılması gerçekleştirilir. Bu rejenerasyondan oluşan sürgünlerde çoğaltım ve uzama sağlanır (Pierik, 1997).

Dünyada ve ülkemizde çok önemli bir yeri olan fındığın bitki doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması birçok ülkenin araştırma konusu olmasına rağmen Türkiye’de fındığı *in vitro* koşullarda çoğaltılması için yapılan araştırmalar çok azdır. Fındıkta da diğer bitkiler gibi üretim miktarının azalmasına neden olan hastalıklar ve zararlılar vardır. Bu hastalık ve zararlılardan ari fidan üretimi ile modern tarım tekniklerine geçilebileceği gibi fındık üretim miktarı ve kalitesinin artırılmasına da katkı sağlanabilir.

Fındık ağaçlarında verim düşüklüğüne neden olan Elma Mozaik Virüsü (ApMV) ülkemizde yaygın olarak görülmektedir. Bu virüsün en önemli belirtisi mozaik belirtileridir. Enfekteli bitkilerde meydana gelen belirtiler, virüs ırkına göre değişebilmekle birlikte, bazen enfeksiyon gerçekleşmesine rağmen fındık yapraklarında simptom oluşmayabilmektedir (Arlı Sökmen ve ark., 2004). Elma mozaik virüsü, damar aralarında bantlaşmaya, yapraklarda mozaik lekelere, klorotik halkalı lekelere neden olmaktadır. Bu virüs ile bulaşık olan bitkilerde Mn, Zn, Fe ve Mg gibi element eksikliğinden veya yaprak bitlerinin de neden olduğu

renk değişimleri ve mozaik belirtileri olması nedeniyle bu semptomlarla çok karıştırılır.

Tohumla veya polen ile taşınabilen Elma Mozaik Virüsünün vektörü bilinmemektedir (Arambaru ve Rovira, 2000). Yaz aylarında enfekte olan bitkilerin takip eden ilkbaharında gösterebildiği bildirilmiştir. Elma fidanında da Nisan ve Mayıs ayında bu etmen ile enfekte olduktan sonra bir kaç hafta içinde semptom gösterdiği görülmüştür (Nemeth 1986; Şevik, 2009).

Türkiye’de fındık yetiştiriciliğinde kullanılan en yaygın çoğaltma yöntemi dip sürgünleri ile çoğaltmadır (İslam 2018). Diğer yandan bu çoğaltma yöntemi tek bir bireyden kontrollü olarak yapılmadığından elde edilen fidanlar üniform olmayıp fidanların genetik varyabilitesi de sözkonusu olabilmektedir. Nitekim bu yaygın çoğaltma yönteminden dolayı Türk fındık çeşitlerinin tek bir klon olmayıp klonlar topluluğu olduğu ve varyabilitenin sözkonusu olduğu da ifade edilmektedir (İslam, 2003). Bu bakımdan doku kültürü ile çoğaltmanın avantajlarından biri de tek klon kullanıldığında bu varyabilitenin önüne geçilebilecek ve yeni dikilen bahçeler üniform olacaktır.

Ülkemiz için ekonomik rolü büyük olan fındık üretimi Türkiye’de geleneksel yöntemler ile devam etmektedir. Ülkemizde ve dünyada fındığın kitlesel üretiminde bitki doku kültürü ile çoğaltım tekniği çok az başvurulan bir teknik olmuştur. Elma mozaik virüsü (ApMv) fındıkta bitki büyümesinin geciktiren, kaliteyi etkileyen ve verimi azaltan önemli bir hastalık etmenidir. Bu nedenle virüs içermeyen çoğaltım materyallerinin üretimi ve yeni meyve bahçelerinin kurulması virüs hastalıklarının etkin kontrolü için temel şartlardır.

Bu tez çalışmasında, Türkiye için ticari değeri yüksek Foşa, Tombul ve Çakıldak fındık çeşitlerinden alınan nodal segmentlerin eksplant olarak kullanarak farklı büyüme düzenleyiciler ile kitlesel üretim olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca çoğaltılacak Foşa, Tombul ve Çakıldak fındık çeşitlerine ait başlangı materyallerinin Elma Mozaik Virüsünden arılık durumları serolojik yöntemlerden ELİSA virüs testi ile belirlenmesi ve virüs ile bulaşık olduğu belirlenen fındıklara *in vitro* koşullarda termoterapi uygulaması yapılarak virüsten arıdırılma düzeyleri saptanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Fındığın Generatif Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Eşeyli çoğaltımda dişi gamet ile erkek gametin birleşmesi sonucunda meydana gelen zigotun gelişimini tamamladıktan sonra yeni bir bitkinin oluşmasını sağlayan üretim materyaline tohum denir. Tohumun oluşması için tozlanma ve döllenme gerçekleşmelidir. Fındıkta tohum ile çoğaltım, üzerine aşı yapılacak ve kök sistemini oluşturacak anaçların elde edilmesi için kullanılır. Fındığın ticari üretiminde tohum ile çoğaltım tercih edilen bir yöntem değildir. Ayrıca tohum ile çoğaltımda bitkiler heteroizgotik yapıda olduğu için bu bitki türlerinde genetik açılım meydana gelir. Bu yüzden ana bitkinin özelliklerini taşıyan bitki elde edilmemektedir. Fındıkta çoğaltım materyali olarak daha güçlü, derin kök üreten aynı zamanda dik ve kalın gövde oluşturan *Corylus colurna* türüne ait tohumlar kullanılmaktadır (İslam, 2018).

2.2. Fındığın Vejetatif Çoğaltım ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Fındığın çoğaltılması için kullanılan diğer bir yöntem de vejetatif olarak çoğaltma yöntemidir. Vejetatif çoğaltımda bitkinin genetik yapısında değişiklik olmadan ana bitkinin bütün özelliklerini taşıyan yeni bitkiler elde edilir. Çelik, daldırma, aşılama ve bitki doku kültürü gibi vejetatif yöntemlerle çoğaltılan ve kökeni tek bir bitkiden çoğaltılan bitki topluluklarına klon denir. Bu bitki topluluklarında kalıtsal olarak farklılık bulunmaz (İslam, 2018). Daldırma, aşı ve çelik ile çoğaltım teknikleri kullanılmakla birlikte, dünyada yaygın olarak tepe daldırma tekniği kullanılmaktadır (Wu, 2013; İslam, 2018). Türkiye’de fındık çoğaltım için yaygın olarak kullanılan yöntem ise dip sürgünü ile çoğaltımdır.

2.2.1. Fındığın Daldırma Tekniğiyle Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Daldırma ile fındık çoğaltımı ticari olarak Amerika, İtalya ve Fransa gibi ülkelerde kullanılmaktadır. Adi daldırma ve tepe daldırması fındıkta kullanılan daldırma yöntemlerindedir (Barut, 2012).

Acı ve Beyhan (2017), yaptıkları çalışmada 2013 ile 2015 yılları arasında Tombul, Palaz, Foşa, Cavcava, Uzunmusa, Kalınkara, İncekara ve Sivri fındık çeşitlerinin tepe daldırması yöntemi ile çoğaltım performanslarını belirlemiştir. 2013-2014 yılları arasında kontrol, tomurcuk koparma, kabuk alma ve boğma uygulamaları yapılırken, 2014-2015 yılları arasında kontrol, kabuk alma+boğma ve IBA+boğma uygulanmıştır. Fidan gelişimi ve köklenme özellikleri incelendiğinde Tombul, Palaz, Foşa ve Kalınkara fındık çeşitlerinde en yüksek sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir. Basit daldırma yöntemi, köklü ana bitkinin yatay olarak sığ bir açıda bükülmesini ve sürgünlerin yeni sürgünler olarak gelişmesini içerir (Erdogen, 2005). Köklü bitki yere yakın kesilir. Ana bitkiden yeni filizler ortaya çıkar. Yeni sürgünlerin köklenmesi için Indol butirik acit (IBA) uygulanır. Sürgünler kök oluşturur, köklü bitkiler kesilerek, meyve bahçesine dikilir (Achim, 2000).

2.2.2. Fındığın Dip Sürgünü Tekniğiyle Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Vejetatif olarak kolay bir çoğaltım tekniği olan dip sürgünü yöntemi ile fındık fidanları yetiştirilmektedir. Yapılan bir çalışmada bahçe tesis ederken kullanılan fındık fidanlarının tamamını (%100) dip sürgünlerinden elde edildiği belirlenmiştir. Bu çalışmada dip sürgünlerini bol ürün veren ocaklardan bol köklü ve sağlıklı fidanlardan aldıkları görülmüştür (İslam, 2001).

Arıkan (1963), en kolay fındık fidanı üretme yöntemi olan dip sürgünü (piç) olduğunu ve bu dip sürgünlerinin sürmemiş olması gerektiğini bildirmiştir. Bu sürgünler 1-2 yaşında ocakların çevresinde sürmüş fişkınlardan, bol köklü ve sağlıklı bitkilerden oluşması gerektiğini bildirmiştir.

Ocakların içinden elde edilen fidanların zayıf kök durumları, çapı ve boyunun yetersiz oluşu ayrıca hastalık ve zararlı testi yapılmamış olması bu çoğaltım yönteminin dezavantajlarıdır (İslam, 2018).

2.2.3. Fındığın Aşısı ile Çoğaltılmasıyla İlgili Yapılan Çalışmalar

Fındığın çoğaltılması için kullanılan diğer bir vejetatif yöntem aşılama değildir. Aşılama için genellikle köklenmiş *Corylus colurna* 'nın tohumları üzerine aşılama yapılır (Korac, 1997). Fındık için en çok kullanılan kalem aşısı dilcikli aşısı ve yarma aşısıdır (Lagerstedt, 1970; Bassil ve ark. 1991; Ercişli, 2000).

Korac ve Todorovic (1997), 4 farklı fındık çeşidini Tonda Gentile, Romana, Rome, Ennis ve Contorta'yı Türk fındıklarına (*Corylus colurna L.*) aşlamış ve aşılama başarısının en yüksek Tonda Gentile Romana ve Ennis çeşitlerinde olduğunu, Concorta'nın ise daha düşük uyuma gösterdiğini bildirmişlerdir.

Wyzgolik ve Piskornik (2001), kalem aşısı kullanarak Warsaw Red fındık çeşidini *Corylus colurna* anacına aşlamış ve kallus oluşumunun başarılı bir şekilde olduğunu, fenolojik bileşiklerin ise azaldığını gözlemlemişleridir. Çalışma sonucunda, fenolojik bileşiklerin kallus oluşumunu ve aşısı başarısını olumsuz etkilediğini bildirmişlerdir.

Cerevic ve Todorovic (2009), 6 farklı fındık çeşidini Tonda gentile Romana, Istarski dugi, Halls Giant, Cosford, Redleaf Lambert ve Contorta'yı Türk fındık çeşidi (*Corylus colurna L.*) üzerine aşlamış ve 2006-2008 yılları arasında sürekli test edilmiş ve gözlemlerini yapmışlardır. Aşılama başarısının en yüksek Tonda gentile Romana olduğu, Concorta'nın ise en düşük uyuma başarısına sahip olduğu bildirilmiştir.

Miletic ve Rakicevic (2009), *Corylus colurna L.* anacına 5 farklı fındık çeşidi Rimski, Istarski, Dugi, Tonda Gentile Romana ve Kosford aşlanmıştır ve bu çeşitlerin pomolojik ve fizyolojik özelliklerini incelemişlerdir. Meyve ağırlıklarının en yüksek Istarski ve Dugi için 3.429 olduğu, en düşük ağırlığın ise Rimski için

2.05 g olduğunu bildirmişlerdir. Meyve ağırlıklarının ise 0.98 g ile 1.55 g arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Tous ve Romero (2009), İspanya'nın Tarragona şehrinde yetişen Negret fındık çeşidini 4 farklı Dundee, Nweberg, Tonda Bianca ve IRTA-MB-69 klonal anaçlara aşılama ve Negret IRTA-N-9 klonukontrol olarak kullanılarak karşılaştırma yapılmış ve araştırmacılar Dundee ve MB-69 anaçlarında en iyi vejetatif gelişimin ve verimin olduğunu bildirmişlerdir.

Rahemi ve Taghevi (2016), yaptıkları çalışmada fındığın hızlı çoğaltımı ve erken meyveye yatması için aşılama yöntemini kullanmıştır. Çalışmalarında aşı olarak yarma aşısı kullanmışlardır. Fakat fındıktaki kallus oluşumunun çok yavaş olduğunu ayrıca yarma aşısı parafinli ve parafinsiz olarak test etmişler ve aynı araştırmacılar parafinli aşının daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.4. Fındığın Çelikle Çoğaltılması ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Çelikle çoğaltma düşük maliyet ve kolay uygulanması nedeniyle yaygın olarak kullanılır (Hartmann ve Kester, 1968). Yarı odun çelikleri Haziran ortasından Temmuz ortasına kadar alınır. Çeliklerde köklenmeyi uyarmak için oksinler kullanılır (Hartmann ve Kester, 1968; Erdoğan ve Smith, 2005). IBA yaygın olarak kullanılan bir köklendirme hormonudur ve etkili konsantrasyonu çeşitler arasında değişmektedir (Lagerstedt, 1981; Santelices ve Palfner, 2010). 1000-3000 ppm'den IBA konsantrasyonları kullanılarak bazı çeşitler ile % 100'e kadar köklenme elde edilmiştir. Odun çelikleri Aralık, Şubat ve Mart aylarında alınır (Kantarci ve Ayfer, 1992). Cristofori ve diğ. (2010) '*Tonda Gentile Romana*'nın yeni oluşmuş kesme ve bir yıllık odun parçalarının IBA (1000 ppm) ve putresin (1600 ppm) ile muamelesinin, kesimlerin Eylül ayında toplanmasına rağmen %80 başarı oranı gösterdiğini tespit etmiştir. Hem odun hem yarı odun çeliklerinde, yüksek IBA konsantrasyonu, köklenme sırasında terminal ve lateral sürgün oluşumuna neden olmuştur (Bassil, 1991).

Ercisli ve Read (2001), 18 farklı melez fındık (*C. americana x C. avellana*) genotipinde çelikle çoğaltımında IBA'nın ve toplama zamanının köklenme üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yumuşak odunsu çeliklere 0, 750, 1.500 ve 3.000ppm IBA uygulanmış, yarı odunsu çeliklere ise 1.000, 2.000 ve 4.000 ppm IBA uygulanmıştır. IBA muamelesi yapılan çelikleler %50 perlit ve %50 vermikülit içeren plastik tepsilere eklenip daha sonra seraya taşınmışlardır. Dikimden 2 hafta sonra köklenmeleri değerlendirilmiştir. Köklenme yüzdesi, kök sayısı, kalluslu çeliklelerin yüzdesini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda yumuşak odun çeliklelerin köklenmesi için en uygun IBA dozunun 1500 ppm olduğu belirlenmiştir. Yarı odunsu çeliklelerin için en yüksek köklenmeyi 2000 ppm IBA dozunda elde etmişlerdir.

Bassil ve Proebsting (1991), Ennis ve Casina fındık çeşitlerini 1987 ve 1988 yıllarında Haziran ve Temmuz aylarında yarı odunsu çelikleme ile çoğaltmışlardır. Gövde çeliğinin köklenmesi için *Agrobacterium* inokulasyonu ile IBA uygulamasını karşılaştırılmışlardır. Ancak IBA muamelesi tomurcuk dökülmesine neden olmuştur. Casina'nın Ennis'e göre daha iyi köklendiği bildirilmiştir. *Agrobacterium* inokulasyonlu çeliklelerin kuvvetli kök sistemine sahip olduğu bildirilmiştir.

Kantarcı ve Ayfer (1994), IBA'nın farklı dozlarını (0, 1000, 3000 ve 5000 ppm) kullanarak Tombul, Palaz ve Silivri fındık çeşitlerini çelikle çoğaltıp köklenme yüzdesi ve derecesi, kallus oluşturma yüzdesi ve derecesi, kök sayısı, kök uzunluğu ve köklerin ağırlığını incelemişlerdir. Odun çeliklelerin en iyi Şubat ve Martta alındığı, IBA dozunun ise en iyi 5.000 ppm olduğunu belirtmişlerdir. Odun çelikleler için iki ayın köklenme için yeterli olmadığını rapor etmişlerdir. En yüksek köklenme yüzdesinin Palaz'da (%95) en düşük köklenme yüzdesinin ise Tombul'da (%40) olduğunu gözlemlemişlerdir.

Ughini ve Roversi (2005), fındığın çelikle çoğaltılmasında köklenmeyi sağlamak için bir araştırma yapmışlardır. 1 yıllık Tonda Gentile dele Langhe

sürgünlerinden uç çeliği ve dip çeliği alınmış 2.500 ppm IBA ile muamele edilmiş ve en iyi köklenmenin uç çeliğinde olduğu gözlenmiştir.

Cecilia ve Valentini (2011), 4 farklı İtalyan fındık çeşidi Tonda di Giffoni, Tonda Gentile delle Langhe, Daria ve Tonda Romana'yı yarı odunlaşmış çelikli üretimi yapılmış ve köklenmesi için IBA ve putrescine uygulayıp, köklenme üzerine etkisine bakmışlardır. Yarı odunlaşmış sürgünler temmuzda toplanmıştır. Sürgünlerin apikal ve bazal kısımlarındaki çelikler 1000 mg/L IBA, 1000 mg/L IBA ile 1.600 mg/L putrescine, 1.500 mg/L IBA ve 2.000 mg/L IBA ile muamele edilmiş ve köklenmeleri karşılaştırılmıştır. Kallus oluşumu ve kök sayıları kaydedilmiştir. Hormonal dozajlar, genotip ve çelik çapı köklenme kabiliyetini etkilemektedir. Tonda di Giffoni ve Tonda Gentile delle Langhe'nin 1000 mg/L IBA, 1000 mg/L IBA ile 1.600 mg/L putrescine ve 1.500 mg/L IBA uygulaması köklenmeyi artırdığını bildirmişlerdir. Tonda Romana da ise köklenmenin zayıf olduğu bildirilmiştir.

Revord (2014), *Corylus americana x C. avellana* melez fındığın vejetatif çoğaltımını çelikle yapmış ve yüksek, düşük dozlu IBA'nın köklenme üzerine etkisine bakmıştır. Düşük dozlu IBA'nın tek başına veya AgNO₃ ile birlikte kullanımında köklenmenin olduğunu bildirmiştir. Çalışmalarının sonucunda melez fındığın çelikle üretimi sağlanmış ve düşük dozlu IBA'nın AgNO₃ ile kullanımı köklenmeyi sağladığı ancak, AgNO₃ uygulamasının çeliklerde köklenmeyi önemli şekilde etkilemediğini rapor etmiştir.

İslam ve arkadaşları (2019) yaptıkları çalışmada Türk fındığı olarak bilinen *Corylus colurna*'nın odun çeliklerine 1000 ppm, 2000 ppm, 4000 ppm ve 8000 ppm IBA çözeltisi ile muamele edilmiştir. Bu çelikler ısıtma ve mistlemem bulunan ortama dikilmiştir. 90 gün sonra bu çeliklerin canlı olmayan çelik sayısı, canlı çelik sayısı, köklenen çelik sayısı, kallus oluşturmuş çelik sayısı, kök sayısı ve kök uzunlukları belirlenmiştir. IBA'nın 4000 ppm dozunda en yüksek çelik oranı ve köklenen çelik sayısı elde edilmiştir. En yüksek kök sayısı ise 8000 ppm uygulamasında elde edilmiştir. En yüksek köklenme yüzdesi 4000 ppm IBA

uygulamasında elde edilmiştir. Bu araştırma sonucunda *Corylus colurna* odun çeliklerinin köklenmesi için 4000 ve 8000 ppm IBA dozu önerilmektedir.

2.2.5. Fındığın Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltımı ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Tohumdan elde edilen fındıkların çoğalması, ortaya çıkan popülasyonların genetik çeşitliliğinden dolayı çok tercih edilmemektedir. Bu bitkilerden ileride vejetatif yayılma mümkündür, ancak bu durum çok zaman gerektiren bir süreçtir (Srimathi, 1995). Seçilmiş ve istenen genotiplerin mikro-çoğaltılması, çok sayıda bitkicik üretimi için önemlidir. Mikro çoğaltım, genetik olarak hastalıktan arı bir bitki türünün kısa sürede hızlı bir şekilde üretilmesidir. Mikro çoğaltım için apikal meristem, nodal segment, sürgün ve aksiller tomurcuk eksplant olarak kullanılır.

Ekonomik açıdan önemli odunsu bitkilerin kitlesel üretimi büyük önem arz etmektedir. Odunsu bitki türlerinin mikroçoğaltılması, otsu bitkilerden çok daha zordur (Thorpe ve Harry, 1990). Son 20 yılda, meyve ağaçları ve orman ağaçlarının mikro çoğaltımıyla ilgili çalışmalar yapılmış ve önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Debergh ve Zimmerman, 1990). Ağaç türlerinin mikro çoğaltımında etkin protokolün oluşturulması için birçok zorlukla karşılaşmıştır. Odunsu bitkilerin kültür ortamında çoğaltılmasındaki zorlukların yanında köklenme ve adaptasyon aşamasında da önemli zorluklarla karşılaşmıştır. Bugüne kadar kapsamlı araştırmalar yapılmasına rağmen, fındığın mikro çoğaltımının zor ve kitlesel üretimde optimizasyon gerektirdiği bildirilmiştir. Bazı araştırmacılar, *in vitro* kültür ortamının etkin biçimde sağlanması için büyüme düzenleyicileri kullanmış ve fındık mikro çoğaltımını optimize etmeye çalışmışlardır.

Yu ve Reed (1995), Barcelona, Gasaway, Willamette, Dundee, ve Newbergfındık çeşitlerinin *in vitro* koşullarda çoğaltılması üzerinde bir çalışma yapmışlardır. 22.2 uM BA, 0.04 uM IAA ortamına ve 200 mg Sequestrene 138 Fe takviyesi yapılmış DKW ortamında eksplantların rejenerasyonunu araştırmışlardır. DKW ortamına 4.9 uM IBA'nın eklenmesi ile köklenme sağlanmıştır. Çalışmaları

sonucunda Dundee için Mart ayında alınan eksplantların Temmuz ayında alınanlara göre daha yüksek bir büyüme performansı gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Al Kai (1984), *Corylus avellana L.*'nin doku kültürü yöntemi ile çoğaltılmasını araştırmıştır. Yaptığı çalışmada aksiler tomurcuklardan sürgün oluşmasını sağlamak için 0.01 mg/l NAA, 0.1 mg/l GA₃ ve 5 mg/l BAP ile zenginleştirilmiş MS ortamlarının sürgün oluşumu üzerindeki etkisini araştırmıştır. Sürgünlerde sarılık olduğu bildirilmiştir. 200 mg/l Sequestrene Fe kullanarak bitkide herhangi bir modifikasyon olmadan sürgünlerin yeşil rengini koruduğunu bildirmiştir.

Diaz-Sala ve ark. (1990), *Corylus avellana L.* fındığında, IAA ve GA₃ varlığında ve yokluğunda farklı BA konsantrasyonlarının sürgün oluşumu ve uzunluğu üzerindeki etkisini karşılaştırmışlardır. *Tonda Gentile delle Langhe*, yarı BA (5 mg /L) + IAA (0.01 mg/L) + GA₃ (0.1 mg /L) 'nin bulunduğu ortamda daha uzun sürgünlerin elde edildiğini bulmuşlardır.

Nas ve Read (2001), Amerika fındıkları (*Corylus americana* Marsh.) ile Avrupa fındıklarının (*C. avellana L.*) melezlenmesiyle elde edilen olgun melez fındıklarını (E-295- S, G-029-N ve S-182-C) *in vitro* koşullarda çoğaltılması için bir çalışma yapmışlardır. Melez fındıklarından alınan eksplantlar 39 g/L sakkaroz şekeri, 4 mg/L BA, 0.01 mg/L IBA ve B5 Gamborg vitaminlerini içeren WPM besin ortamına eklenmişlerdir ve bu ortamda 2 hafta bekletilmiştir. 2 hafta sonra eksplantlar 30 g/L sakkaroz, 5 mg/L BA, 0.01 mg/L içeren WPM besin ortamına aktarılmıştır. Araştırmacılar demirin eksplantların gelişimindeki etkisini belirlemek için 138 Fe (Seq 138) ve 330 Fe (Seq 330) gibi farklı demirler kullanmışlardır. Ayrıca WPM, DKW, MS ve NN ortamları kullanılmış sürgün uzunluğu ve sürgün sayısına göre en iyi besin ortamları belirlenmiştir. Çalışma sonucunda Seq. 138 demir kaynağında sürgünlerin koyu yeşil rengi ile çok sağlıklı olduğu bildirilmiştir. Ancak Seq 330 demir kaynağını içeren ortamlarda yetişen sürgünlerin çok kısa olduğu, yapraklarında ise camlaşmalar olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, WPM ortamında kültürlenmiş eksplantlarda sürgün gelişiminin olduğunu bildirmişlerdir.

Nas (2003), verime yatmış melez fındık *Corylus avellana* dan alınan bitkilerden dormant çelikler almış ve bunları sürme çözeltilisine koyup çeliklerin sürmelerini sağlamıştır. Sürme sonucu oluşan taze sürgünlerden alınan gözler 6.7 uM-15.5 uM N-6 Benziladenin (BA) ile poliaminler (0.2 mM putresin, 0.2 mM spermidine ve 0.05 mM spermin) ile zenginleştirilmiş MS ve DKW ortamına eklenmiştir. Poliaminlerle zenginleştirilmiş ortamların BA'lı ortamlara göre sürgün uzunluğunun ve eksplant başına düşen kardeş sayısının daha fazla olduğunu bildirmiştir.

Damiano ve ark. (2005), fındığın *in vitro* kültürdeki başlıca zorluklarından birinin inokülasyondan sonra sürgünlerde nekroz olduğunu bildirmişlerdir. Mayıs-Eylül ayları arasında toplanan eksplantların % 95'in de kontaminasyon ve nekroz görülmüştür. Doku nekrozu ile ilişkili ana nedenler sterilizasyon sırasında farklı kimyasalların kullanımı ve kültür ortamındaki uygun besinlerin eksikliğinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Na-mertiolat ve Na-hipokloritin kombinasyonunun daha etkili olduğu ve eksplantın% 60'ının sterilize edildiği, %95'inin de her iki sterilize edici ajanın tek tek kullanıldığı durumlarda kontaminasyon ve nekroz olduğu bildirilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre inokülasyon ortamının içeriği kültürün oluşum aşamalarını etkilediğini bildirmişleridir. Ayrıca ince dalların soğuk depolanmasının kontaminasyonu büyük ölçüde azaltabildiğini ve morfojenik kapasiteyi artırabildiğini bildirmişlerdir. Köklerin *in vitro* koşullarda 9.8 uM IBA'nın eklediği ortamlarda uyarıldığını bildirmişlerdir.

Read ve Nas (2007), *Corylus avellana* 'nın Kuzey Amerika türleri olan *C. cornuta* and *C. americana*'nın melezlenmesiyle elde edilen sert kış koşullarına karşı dayanıklı ve hastalıklara dirençli olan melez fındıkların mikro çoğaltımı ile ilgili bir çalışma yürütmüşlerdir. Melez fındıkların mikro çoğaltımı için MS, WPM ve NRM gibi farklı besin ortamlarını kullanmış ve sürgün gelişimini en iyi NRM ortamında elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Bacchetta ve Aramini (2008), İtalyan fındık çeşitlerini doku kültürü yöntemiyle çoğaltmaya çalışmıştır. Öncelikli olarak Tonda Romana, Tonda

Giffoni, Avellana Speciale, Mortarella, Napoletaneda ve Ghirara çeşitleri eksplant olarak kullanılmıştır. Sterilizasyon işleminde Na- mertiolate ve Na-hipoklorit kullanılmış ve bunlar karşılaştırmıştır. Sonuç olarak sterilizasyon işlemi için Na- mertiolate'in kullanımının, sodyum hipokloritten daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Kültür ortamında 1.0 mg/l Zeatin ve 1.5 mg/l 6-Bezylaminopurine (BA) kullanmış ve bunların sürgün oluşumundaki etkileri karşılaştırılmıştır. Sitokinlerin sürgün oluşumundaki etkileri çeşitler arası farklılık göstermiştir. Tonda Romana, Avellana Speciale ve Mortarella'nın Zeatinli ortamda sürgün gelişiminin fazla olduğu, Ghirara, Tonda Giffoni ve Napoletaneda'nın ise BA'lı ortamda kardeş sayısının daha fazla olduğu rapor edilmiştir.

Gao ve ark. (2008), *Corylus heterophylla* × *C. avellana* melezi olan 5 genotipin *in vitro* koşullarda çoğaltılmasını amaçlamıştır. Eksplant olarak aksiler tomurcuklar kullanılmıştır. Örnek alma zamanının en iyi Mayıs ayı ortası olduğunu bildirmişlerdir. Kültür ortamı için DKW besin ortamı kullanılmıştır. Farklılaşma için en iyi ortamın 1.5 mg/L thidiazuron (TDZ) ve 0.01 mg/L IBA ile zenginleştirilmiş DKW ortamı olduğunu bildirmişlerdir. En iyi köklenmenin (%90) ise 0.1mg/L NAA ile zenginleştirilmiş ½ MS besin ortamı olduğu belirtilmiştir.

Caboni ve ark. (2009), 'Montebello' ve 'Tonda Romana'nın sürgün uçlarının bir gün boyunca 80 mg/l IBA'ya batırıp, agarlı ortama aktarmış ve bu uygulama sonucunda köklenmenin oluşmaya başladığını gözlemiştir. Bu uygulama sonucunda Montebello'nun %100, Tonda Romana'nın ise %80 köklendiği bildirilmiştir.

Kosenko ve Boyko (2009), *Corylus colurna L*'nin *in vitro* koşullarda çoğaltımı ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. 2-3 cm boyundaki sürgünler % 0.1 lik HgCl₂ ile sterilizasyonu yapıldıktan sonra MS ortamına aktarmışlardır. Farklı kombinasyonlu sitokinler ve oksinler ile zenginleştirilmiş 14 farklı MS ortamı denemesi yapmışlardır. En iyi sürgün gelişiminin 30 g/L sakkaroz şekeri içeren 1.0 mg/L GA₃, 0.75 mg/L BAP, 0.5 mg/L thiamine HCl, 0.5 mg/L pyridoxine HCl, 0.5 mg/L ascorbic acid, 1.0 mg/L nicotinic acid, 1.0 mg/L GA₃, glycine, 100 mg/L

myo-inositol ile zenginleştirilmiş ½ MS ortamında olduğunu bildirmişlerdir. En iyi köklenmenin 30 g/L sakkaroz içeren 0,8 mg/L IBA, 1 mg/L GA₃, 0.1 mg/L BAP, 1.0 mg/L thiamine HCl, 0.5 mg/L pyridoxine HCl, 1.0 mg/L ascorbic acid, 0.5 mg/L nicotinic acid, 1.0 mg/L adenine sulfate dihydrate, 1.0 mg/L glycine, 100 mg/L myo-inositol ile zenginleştirilmiş ½ MS ortamında elde etmişlerdir.

Thomson ve Deering (2011), yürüttükleri çalışmada Daviana fındık çeşidinin *in vitro* koşullarda farklı dozlardaki BAP, Kinetin, Zeatin ve IPA sitokinleriyle zenginleştirilmiş Knoxfield ortamında çoğaltımını yapmışlardır. 4 farklı sitokinin sürgün oluşumu üzerindeki etkileri karşılaştırmışlardır. Fındık için en iyi sitokinin 5 mg/L dozundaki BAP olduğu bildirilmiş en az sürgün oluşumunun ise Kinetin içeren ortamda olduğu rapor edilmiştir.

Hand ve Maki (2014), yürüttükleri çalışmada fındığın mikro çoğaltımı için gerekli olan besinlerin optimizasyonu için denemeler kurmuşlardır. *Corylus avellana L*'nin mikro çoğaltımı için DKW besin ortamında NH₄NO₃, Ca(NO₃)₂, MgSO₄, KH₂PO₄, K₂SO₄, bor, bakır, mangan, çinko ve molibdene bağlı olarak farklı ortam içerikleri oluşturmuşlardır. Ca(NO₃)₂'in fındıkta kardeşleme üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Çalışma sonucunda fındık mikro çoğaltımı için yüksek dozda NH₄NO₃, Ca(NO₃)₂, MgSO₄, KH₂PO₄, bor, bakır, mangan, çinko ve molibden içeren yeni ortamların oluşturulmasının gerekliliğini belirtmişlerdir.

Sandoval Prando ve Chiavazza (2014), Avrupa için önemli olan *C. avellana*'nın *in vitro* koşullarda çoğaltılması için bir çalışma yürütmüşlerdir. Fındıkta mikro çoğaltılması için birçok protokolün geliştirildiği ancak, zayıf proliferasyonun ve düşük verim sebebiyle, etkili protokol henüz bulunamamıştır. Araştırmacılar, GA₃ ve sitokinlere ek olarak Hindistan cevizi suyunun fındık proliferasyonu ve gelişimi üzerindeki etkisine bakmışlar ve 1-2 nodlu 10 cmlik sürgünleri eksplant olarak kullanmışlardır. Kültür ortamı olarak DKW kullanılmıştır. 2 mg/L BAP, 0.01 mg/L IAA, 0.5 mg/L GA₃ ve % 20 lik hindistan cevizi suyu ile zenginleştirilmiş DKW ortamındaki bitkilerde sürgün oluşumunun ve sürgün uzunluğunun arttığı bildirilmiştir.

Gentile ve Frattarelli (2016), *Corylus colurna* L. fındık türünde mikro çoğaltma denemeleri yapmışlardır. Eksplant olarak aksiler tomurcuklar kullanılmıştır. 4.1 ve 8.2 uM Meta-topolin sitokinin sürgün çoğaltımında, köklenmede ve adaptasyon aşamasındaki etkisini BA ile karşılaştırarak bakmışlardır. 8.2 uM MT ve BA'nın, fotosentez pigment içeriğine ve katalaz ve peroksidad antioksidant enzim aktiviteleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. En fazla sürgün oluşumunun ve en iyi köklenmenin 8.2 uM mT içeren ortamda olduğu bildirilmiştir. Yine en yüksek klorofil içeriğinin 8.2 uM mT uygulanan bitkilerde olduğu gözlenmiştir.

Pincelli-Souza ve Tillmann (2018), *Corylus americana* x *C. avellana* melez olan fındıkların *in vitro* koşullarda doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması üzerine bir araştırma yürütmüşlerdir. Aksiler tomurcuklu sürgünler Mayıs ortasında toplanmıştır. Eksplantların sterilizasyonu sodyum hipokloritle yapılmış ardından etanole batırılmıştır. Ayrıca eksplantlar methylchloroisothiazolinone ve methylisothiazolinone içeren PPM fungusitinde bekletilmiş ve durulaması yapılmıştır. PPM kültür ortamlarına eklenmiş ve ortamda ve eksplantlarda çok az kontaminasyon gözlenmiştir.

Sgueglia ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada Carrello, Panottara, Minnulara ve Ghirarar'nın İtalyan fındık çeşitlerinin doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir. Yürüttükleri bu çalışmada koltuk tomurcukları eksplant olarak kullanılmıştır. Yüzey sterilizasyonu için %1 sodyum hipoklorit ile 40 dakika devamında %0,1 sodyum mertiholate ile 40 dakika muammele edilmiştir. Ghirara ve Minnulara fındık çeşitlerinde en fazla kardeşlemeyi 6.6 µM BAP içeren DKW ortamında elde edildiği bildirilmiştir. Carrello ve Panottara fındık çeşitlerinin ise en fazla sürgün sayısına 8.2 µM MT içeren DKW ortamında elde edildiği bildirilmiştir.

Merdani ve ark. (2020), yaptıkları çalışmada ticari değeri yüksek olan Gercheh, Gerdooyi ve Pashmineh fındık çeşitlerini doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması üzerine bir çalışma yürütmüşlerdir. Eksplant olarak yan ve tepe

tomurcuğu kullanılmıştır ve kültür ortamı olarak NRM ortamı (Nas ve Read, 2004) seçilmiştir. Sürgün gelişimi için 4 farklı dozdaki BAP (0.50, 1.0, 2.0 ve 4.0 mg/l) ve 0.25 mg/l dozundaki Kinetin ve Kinetin içermeyen ortamlar kullanılmıştır. Bitkinin sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, eksplant başına düşen yaprak sayısı ve gelişme kalitesi incelenmiştir. Köklenme aşamasında farklı dozlarda IBA ve NAA içeren 6 farklı deneme ortamı kullanılmış bitkiler kök oluşumu için öncelikle karanlıkta bekletilmiş ardından 16 saat ışıklı 8 saat karanlık ortamda bekletilmiştir. Bitkiciklerin kök sayısı, kallus oluşumu ve gelişim kalitesi incelenmiştir. Gercheh fındık çeşidinde en iyi sürgün gelişimi 0.5 mg/l BAP ve 0.25 mg/l Kinetin içeren ortamda en iyi köklenmenin ise 1.0 mg/l IBA ve 1.0 mg/l NAA içeren ortamlardan elde edildiği belirtilmiştir. Gerdooyi fındık çeşidinde ise 4.00 mg/l BAP ve 0.25 mg/l Kinetin içeren ortamda en fazla kardeş sayısının elde edildiği, en iyi köklenmenin de 0.5 mg/l IBA ve 0.5 mg/l NAA içeren ortamda olduğu belirtilmiştir. Pashmineh fındık çeşidinin en iyi sürgün gelişimi ise 0.5 mg/l BAP ortamında elde edilmiştir.

Kaplan (2020), Çakıldak fındık çeşidinin bitki doku kültürü yöntemi ile çoğaltılması için bir çalışma yürütmüştür. Eksplant materyeli olarak Çakıldak fındık çeşidine ait sürgün uçları kullanılmıştır. Yüze sterilizasyonu bitkilerin bir kısmı için %70 lik etil alkolde 10 saniye bekletilmiş bir kısma ise etil alkol uygulanmamıştır. Bu bitkilere farklı dozlarda sodyum hipoklorit (%0, %5, %10 ve %15) solüsyonunda farklı sürelerde (10, 15 ve 20 dakika) bekletilerek ekplantlerin canlılığı belirlenmiştir. Sürgün teşviki amacıyla farklı dozlarda (1, 2, 3, 4, 5 mg/L) BA içeren MS ve DKW ortamları kullanılmıştır. Ayrıca sürgün gelişimini sağlamak için de DKW (5 mg/L BA+ 100 µl IBA+50 µl GA₃) ve MS (1 mg/L BA+ 100 µl IBA+50 µl GA₃, 1 mg/L BA+ 100 µl IBA+50 µl GA₃ + 0.05 138 Fe-EDDHA) kombinasyonları test edilmiştir. Çalışma sonucunda Çakıldak fındık çeşidi için en iyi sürgün gelişiminin 1 mg/L BA+100 µl IBA+50 µl GA₃ ortamında elde edilmiştir.

2.3. Elisa Virüs Testleri ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Fındık ağaçlarını enfekte edebilen ve enfeksiyon sonucunda, konukçu bitkilerde önemli miktarlarda verim düşüklüğü ortaya çıkarabilen, viral etmenlerden birisi de Elma Mozaik Virüsü (Apple Mosaic Virus, ApMV)'dür. Viral hastalık etmeni olarak 19 uncu yüzyılın başlarında ilk belirlenmesini takiben bugün elma yetiştiriciliği yapılan birçok ülkede tespit edilmiştir (Howell, 1991). ApMV'nin ilk kez ABD'de 1928 yılında White tarafında güllerde ve 1933 yılında da Bradford ve Joley tarafından elmada tanımlandığı bildirilmiştir. ApMV elmada ilk olarak Granny Smith çeşidinde belirlenmiş ve bu çeşitle birlikte yayılmıştır (Anonim 2002).

Elma mozaik virüsü, yurdumuzda yumuşak çekirdekli meyve üretim alanları, sert çekirdekli meyve üretim alanları ve yağ gülü üretim alanlarında, s oluşturan, viral etmenlerden biridir (Ulubaş ve Ertunc, 2003; Çağlayan ve ark., 2003; Gümüş ve ark., 2008; Yardımcı ve Culal, 2009). Elma mozaik virüsü *Bromoviridae* familyasından *İlarvirus* cinsindedir. ApMV İlarvirus cinsi, serolojik karakterlerine göre 3 alt gruba ayrılmıştır. ApMV, *İlarvirus* cinsinin alt grup 3'ünde yer almaktadır (Brunt, 1996). ApMV partikülleri tek sarmal RNA içerir, yuvarlaktır ve yaklaşık 25-29 nm çapında izometrik partiküle sahiptir. Virüs partikülü içinde bir adet subgenomik mRNA tespit edilmiş olup, bu dizilimin örtü proteini geninden sorumlu olduğu belirlenmiştir (Brunt, 1996). ApMV partikülleri %16 nükleik asit ve %84 proteinden oluşmaktadır. Virüs, üç ayrı genomik (RNA 1, RNA 2 ve RNA 3) ve bir subgenomik RNA (RNA 4)'ya sahiptir. *İlarvirusler* için 2 özellik geneldir; birincisi viral RNA'lar ile büyüklüğü orantılı, nükleoprotein partikülleri oluşturulur ikincisi ise konukçu hücrelerde viral genom aktivasyonunun başlatılması için CP'nin gerekli olmasıdır (Bol, 1971; Smith, 1981). Bu özellikler *İlarvirüsleri Bromoviridae* familyasında farklı kılmaktadır.

Virüs aşı ile taşınabilen ancak, mekanik olarak zor taşınabilen bir virüs olmakla birlikte bu virüsün tohum ve vektörlerle taşındığına ilişkin bir kayıt bulunmamaktadır (Zeki 1991). ApMV'nin enfekteli ve sağlıklı bitkiler arasında

doğal taşınma yollarının bilinmediği ifade edilmektedir (Brunt, 1996). Ülkemizde etmenin varlığı kiraz (Gümüş, 2008), elma (Çağlayan, 2003; Akbaş ve İlhan 2005, Dursunoğlu ve Ertunç 2008) konukçularında tespit edilmiştir. ApMV'nin en önemli belirtisi yapraklarda yeşilin farklı tonlarında meydana gelen ve mozaik adı verilen belirtilerdir. ApMV'nin yapraktaki neden olduğu belirtiler daha ziyade ilkbahar ve yaz başlarında daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır.

Fındıkta *Prunus necrotic ringspot virus* (PNRSV) ve *Tulare apple mosaic virus* (TAMV) gibi bazı virüsler enfeksiyon yapabilmesine rağmen, en yaygın görülen virüs etmeni ApMV' dir. Belirtiler hastalığın ilk dönemlerinde yaprak bitlerinin beslenme zararından kaynaklanan mozaik belirtisi ya da iz element eksikliğinden kaynaklanan (özellikle Mn, Zn, Fe ve Mg) ve yaprakta meydana gelen klorotik renk değişiklikleri ile karıştırılabileceği belirtilmiştir. İnkübasyon periyodu, enfeksiyonun meydana geldiği mevsime bağlıdır. Yaz aylarında oluşan enfeksiyon sonucu bitkilerin sadece takip eden ilkbaharda simptom gösterebileceği ayrıca, genç elma fidanlarının ve bazı ticari çeşitlerin ise Nisan ve Mayıs aylarında enfeksiyonu takip eden birkaç hafta içerisinde simptom gösterebileceğini bildirmiştir (Nemeth 1986). ApMV, fındık yapraklarında çoğunlukla sarı renkte olmak üzere çeşitli desenlerde belirtiler oluşturabilmektedir. Bunun yanında bazen enfekteli bitkide enfeksiyon, latent olarak kalabilmektedir. Fındık, ApMV ile enfekteli olmasına rağmen, bazen hiçbir belirti göstermemektedir. Fındıkta ApMV enfeksiyonuna bağlı olarak, içi boş meyve oluşumu meyvelerde çürüklük ve lekelenme görülmemekte, yapraklarda sadece renk değişikliği ortaya çıkmamaktadır. Ancak virüs meyve sayısını azaltarak dolaylı olarak verim kaybına neden olabilmektedir (Şevik 2009).

Bu virüsle kimyasal mücadele yöntemi olmadığından virüs etmenin saptanması çok önemlidir. Bunun için ise örneğin hangi dokudan ve hangi fizyolojik dönemden alınacağı oldukça önemlidir. Teşhis yöntemlerinden biri olan ELİSA test ile bitkinin virüsten arılık durumu belirlenebilir.

Bauman (1972), yaptığı çalışmada bazı virüs hastalıkları doğrudan meyve de zarar yapmasına rağmen, bazıları ağacın gelişmesine, verimine ve meyve kalitesine zarar verdiğini belirtmişlerdir. ApMV ağacın büyümesini %50, gelişmesini %20 geriletmekte ve meyve verimini de %30 oranında düşürmektedir. ApMV belirtileri, elma çeşidi, virüs ırkı ve virülensi, çevre şartlarına göre yıldan yıla değişmektedir. ApMV'nin elmada tipik belirtileri, yapraklarda sarımsı-beyaz renklenmeler, halkalı lekeler ve damar bantlaşması şeklindedir. Kuvvetli güneş ışığında yapraklarda nekrozlar oluşmakta ve erken dökülme ortaya çıkmaktadır. Hastalık belirtileri genellikle yazın erken dönemde görülmekte olup, sıcaklığın yükselmesiyle maskelenebilmektedir.

Şevik (2009), yaptığı çalışmada fındık üretimini tehdit eden unsurlardan olan ve yaygın olarak görülen *Elma mozayik virüsü (Apple mosaic virus; ApMV)* 'nün yayılımını ele almıştır. Ayrıca, derlemesinde *Elma mozayik virüsü (Apple mosaic virus; ApMV)*'nün morfolojik özellikleri, doğal konukçuları, belirtileri, taşınma durumları, coğrafi dağılım ve kontrol yöntemlerine değinmiş ve bulaşık olan fındıklarda verimin düştüğünü bildirmişlerdir.

Akbaş ve Değirmenci (2010), belirli fındık çeşitlerinde *Elma mozayik virüsü (ApMV)*'nün belirlenmesi için RT-PCR tekniğini ve ELISA tekniğini kullanmışlardır. Araştırmacılar bu amaçla Bartın, Düzce ve Zonguldak şehirlerindeki farklı fındık çeşitlerinden yaprak örneği almışlardır. Örneklerin 150 tanesini RT-PCR tekniğiyle virüsün bulaşıklığı belirlenirken, toplanan 150 tane örneğin 24 tanesinde ELISA testinde yapılmıştır.

Şevik (2015), fındık için tehlikeli olan *Elma mozayik virüsü (Apple mosaic virus; ApMV)* 'nün belirlenmesi ve yayılmasını konu alan bir çalışma yürütmüştür. Çalışmasında 2011-2012 yılları arasında ApMV'nin Giresun ilinde yetişen fındıklarda görülmesini ve yayılmasını incelemiştir. Patojenin belirtilerini gösteren ve göstermeyen 229 tane fındık yaprak örneği toplamıştır. Araştırmacı, ELISA virüs testi ile patojenin varlığını belirlemiştir. Elisa virüs testi sonuçlarına göre 229 örnekten 19 tanesinin ApMV ile bulaşık olduğu bildirilmiştir.

Cieslinska ve Vlasevich (2016), içerisinde fındığında bulunduğu Rosaceae ailesinden 65 tane bitki türüne bulaşabilen *Elma mozayik virüsü* (*Apple mosaic virus; ApMV*)'nün Polonya'da yetişen fındık çeşitlerinde virüs ile bulaşıklığını belirlemek için bir çalışma yürütmüştür. Aynı araştırmacılar, 125 tane fındık örneğinin 13 tanesinin ELİSA testi sonucunda hastalıkla bulaşık olduğunu bildirmişlerdir.





3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu araştımda bitkisel materyal olarak Beta Fidan Doku Kültürü Islah Arge Ziraat Tarım Sulama Hayvancılık Gıda Turizm İnşaat Sanayi ve Ticaret Limited Őirketi'nin kontrollü fındık seralarında yetiştirilen Tombul, Foşa ve akıldak fındık çeşitlerine ait nodal segment eksplant kaynağı kullanılmıştır. Bu eşitler Fındık Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Foşa yaygın olarak Trabzon ve Akçakoca yörelerinde yetiştirilmektedir. Bu çeşit geç yapraklanan ve ilkbahar geç donlarından fazla etkilenmezler. Bu çeşit % 67 oranında yağ içermektedir (Ayfer ve ark., 1986; Demir, 2004).

akıldak fındık çeşidi yüksek adaptasyon yeteneğine sahiptir. Yüksek soğuklama isteği (750-1050 saat) olan akıldak geç olgunlaşan bir fındık çeşididir. eşit %56,7-58,7 oranında yağ ve %17,72-18,75 oranında proteine sahiptir (Turan, 2016). Bu çeşidin meyveleri diğer çeşitlere kıyasla daha açık renkli ve tabla kısmı daha geniştir (Demir, 2004).

Dünyanın en kaliteli fındık çeşidi olarak bilinen Tombul'un meyveleri yuvarlak ve beyazlaşma oranı çok yüksektir. Olduğa verimli bir çeşit olan Tombul, %69-72 oranında yağa sahiptir. İlkbahar geç donlarına hassastır (Ayfer ve ark., 1986; Demir, 2004).

Doku kültürü ile ilgili ortam denemeleri Beta Fidan Doku Kültürü Islah Arge Ziraat Tarım Sulama Hayvancılık Gıda Turizm İnşaat Sanayi Ve Ticaret Limited Őirketi'ne ait araştırma ve kitlesel üretim yapıldığı doku kültürü laboratuvar ile Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesine ait bitki doku kültürü laboratuvarında yapılmıştır. Doku kültürü yöntemi ile elde edilen bitkiler yine aynı firmada yer alan tam otomasyonlu alıştırma seralarına aktarılmıştır.



Şekil 3.1 Foşa fındık çeşitlerinin meyvelerinin görüntüleri



Şekil 3.2. Çakıldak fındık çeşitlerinin meyvelerinin görüntüleri



Şekil 3.3. Tombul fındık çeşitlerinin meyvelerinin görüntüleri

Çizelge 3.1. Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin özellikleri

ÖZELLİKLER	FOŞA	ÇAKILDAK	TOMBUL
Kabuk Genişliği (mm)	17,87	17,8	17
Kabuk Kalınlığı (mm)	1,2	1,2	1,1
1 Kg Kabuklu Âdeti	475-550	580 - 610	670 - 730
Randıman (%)	50-53	52 - 54	50 - 52
Yağ Oranı (%)	67	58 - 63	69 - 72
Çiçeklenme	Orta	Geç	Orta

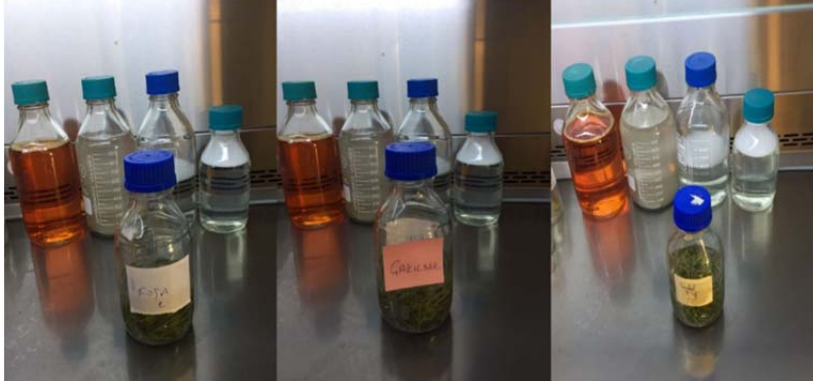
3.2. Metod

3.2.1. Materyallerin Alınması ve Yüzey sterilizasyonu

Foşa, Tombul ve Çakıldak fındık çeşitlerinden 1-2 aylık sürgünlerinden 2018 yılı Mayıs ayında alınan nodal segmentler başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Yeşil yapraklar temizlenerek üzerinde koltuk tomurcukları bulunan eksplantların her biri 2-3 cm boyunda kesilip yüzey sterilizasyonu işlemlerine tabi tutulmuştur. Eksplantlar 60 dakika musluk suyunda bekletilmiş, daha sonra antibakteriyel sabun ile temizlenip, musluk suyu ile 3 kez durulanmıştır. Durulanan sürgünler % 70'lik alkolde 5 saniye bekletilmiş, ardından ticari olarak satılan kıvamlı çamaşır suyunun (Domestos, %37 lik sodyum hipoklorit) saf su ile seyreltilip %5, %10 ve %20 lik sodyum hipoklorit (1:20, 1:10, 1:5; v:v) çözeltileri ile 10 dakika muamele edilip 3 kez steril saf suda durulama işlemi yapılmıştır. Sodyum hipoklorit uygulamalarından elde edilen dezenfeksiyon başarısı (%) olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.4. Eksplant olarak kullanılan nodal segmentler



Şekil 3.5. Nodal segmentlerin kabin içi sterilizasyonun aşaması



Şekil 3.6. Nodal segmentlerin giriş ortamına alınma aşamaları

Tüm bu işlemlerden sonra eksplantlar bistüri ve pens kullanarak her biri 1 cm olacak şekilde kesilerek kültür ortamına dikilmiştir.

3.2.2. Besin Ortamının İçeriği ve Hazırlanması

Başlangıç ortamı thiamine, nikotinik asit, pyridoxine HCl ve myo-inositol vitaminleri ve 4 mg/l 2-isopentenyladenine (2-IP) sitokinini içeren MS temel besin ortamı, 30 g/l sakkaroz, 7.0 g/l agar ve pH 5.7 olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan ortamlar 100°C' ye kadar karıştırıcılı ısıtıcı da kaynatılıp cam deney

tüplerine her birinde yaklaşık 10 ml olacak şekilde paylaştırılarak otoklavda 121°C'de 20 dakika steril edilmiştir.

Çizelge 3.2. MS Besin Ortam İçeriği

MİKROELEMENTLER	mg/L
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.2
MnSO ₄ 7H ₂ O	22.3
ZnSO ₄	8.6
NaMoO ₄	0.25
CuSO ₄	0.025
CoCl ₂	0.025
MAKROELEMENTLER	mg/L
CaCl ₂	333,02
KH ₂ PO ₄	170.00
MgSO ₄ 7H ₂ O	370
NH ₄ NO ₃	1650.000
KNO ₃	1900
VİTAMİNLER	mg/L
Myo-Inositol	100.00
Nicotinic acid(free acid)	0.500
Pyridoxine HCl	0.500
Thiamine hydrochloride	0.100

Cam tüplerdeki besin ortamlarına, her tüpte bir eksplant olacak şekilde (100 tüp) dikim yapılmıştır. Dikimden sonra tüpler kontrollü koşulların sağlandığı bitki büyütme odasına yerleştirilmiştir. Büyütme odasının sıcaklığı 24±1° C, ışık koşulları ise 16/8 (aydınlık/karanlık) saat fotoperiyottur.

3.2.3. Farklı Sitokinin Kaynaklarının Kardeşlenme Üzerine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalar

Denemede thiamine, nikotinic asit, pyridoxine HCl ve myo-inositol vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamına GA₃ 0.05 mg/L dozu sabit tutulup IBA (0, 0.01,0.1 ve0.2 mg/L,) BAP (0,1,2, 3, 4 ve 5 mg/L) ve Meta-topolin (0,1,2,3, 4 ve 5 mg/L) gibi farklı bitki büyümeyi düzenleyicilerin (0, 1, 2, 3, 4 ve 5 mg/L) dozlarının kardeşlenme üzerine etkisi karşılaştırılmıştır. Ortamlarda Karbon (C) kaynağı olarak 30 g/L sakkaroz kullanılmıştır. Denemeler 5 tekerrürlü olup ve her çeşit için tekerrürde 20'şer bitki kullanılmıştır. Büyütme odalarında 16 saat ışık, 8 saat karanlık, 24±1 °C koşulları sağlanmıştır. Deneme sonuçlarına göre 48 farklı ortamda ortalama bitki başına kardeş sayısı (OBBKS) belirlenmiştir.

Çizelge 3.3. DKW Besin Ortam İçeriği

MİKROELEMENTLER	mg/L
CuSO ₄ 5H ₂ O	0.25
FeNaEDTA	44.63
H ₃ BO ₃	4.80
MnSO ₄ .H ₂ O	33.80
NaMoO ₄ .2 H ₂ O	0.39
ZnSO ₄ .7H ₂ O	17.00
MAKROELEMENTLER	mg/L
CaCl ₂	112.5
Ca(NO ₃) ₂ .2H ₂ O	1664.64
KH ₂ PO ₄	265.00
K ₂ SO ₄	1559.00
MgSO ₄	361.49
NH ₄ NO ₃	1416.00

Çizelge 3.4. DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak BAP ve oksin kaynağı olarak IBA'nın kullanıldığı kombinasyonlar

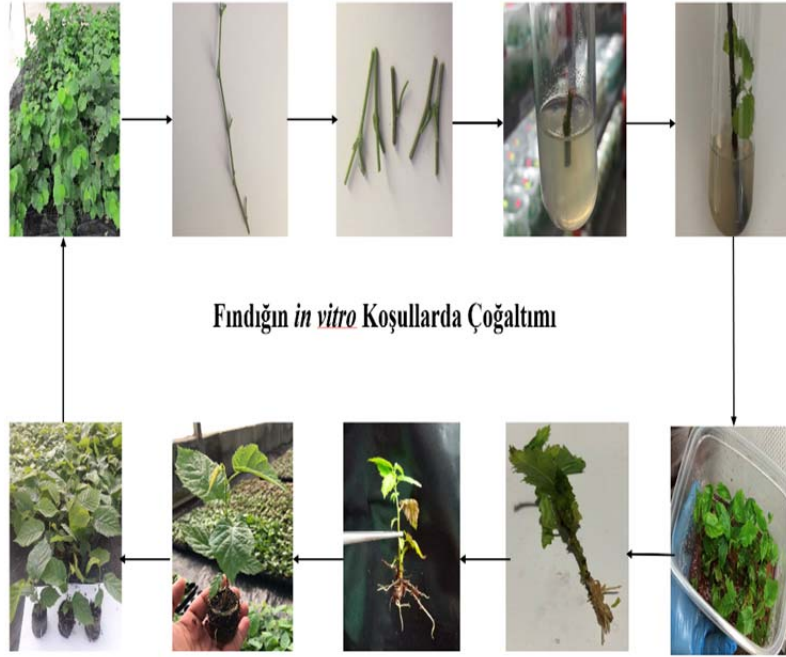
Ortam No	BAP (mg/L)	IBA (mg/L)	GA ₃ (mg/L)
1	0	0	0.05
2	0	0.01	0.05
3	0	0.1	0.05
4	0	0.2	0.05
5	1	0	0.05
6	1	0.01	0.05
7	1	0.1	0.05
8	1	0.2	0.05
9	2	0	0.05
10	2	0.01	0.05
11	2	0.1	0.05
12	2	0.2	0.05
13	3	0	0.05
14	3	0.01	0.05
15	3	0.1	0.05
16	3	0.2	0.05
17	4	0	0.05
18	4	0.01	0.05
19	4	0.1	0.05
20	4	0.2	0.05
21	5	0	0.05
22	5	0.01	0.05
23	5	0.1	0.05
24	5	0.2	0.05

Çizelge 3.5. DKW besin ortamında sitokinin kaynağı olarak MT ve oksin kaynağı olarak IBA'nın kullanıldığı kombinasyonlar

Ortam No	MT (mg/L)	IBA (mg/L)	GA ₃ (mg/L)
1	0	0	0.05
2	0	0.01	0.05
3	0	0.1	0.05
4	0	0.2	0.05
5	1	0	0.05
6	1	0.01	0.05
7	1	0.1	0.05
8	1	0.2	0.05
9	2	0	0.05
10	2	0.01	0.05
11	2	0.1	0.05
12	2	0.2	0.05
13	3	0	0.05
14	3	0.01	0.05
15	3	0.1	0.05
16	3	0.2	0.05
17	4	0	0.05
18	4	0.01	0.05
19	4	0.1	0.05
20	4	0.2	0.05
21	5	0	0.05
22	5	0.01	0.05
23	5	0.1	0.05
24	5	0.2	0.05

3.2.4. Farklı Oksin Kaynaklarının Köklenme Üzerine Etkisinin Belirlenmesine Yönelik Uygulamalar

Köklenme denemesinde thiamine, nikotinik asit, pyridoxine HCl ve myo-inositol vitaminlerini içeren, MS temel besin ortamına 200 mg/L Sequestrene Fe 138, IBA (0, 1, 2 ve 3 mg/L) ve NAA (0.01, 0.1, 1 ve 2 mg/L) nin farklı doz ve kombinasyonlardan oluşan 16 farklı ortamda kök sayısı ve kök uzunluğuna bakılarak en iyi köklenme ortamı belirlenmiştir. Ortamlarda 30 g/L sakkaroz kullanılmıştır. Kök denemeleri her çeşit için 5 tekerrürlü olarak yapılmış ve her tekerrürde 20'şer adet bitkicik kullanılmıştır.



Şekil 3.7. Doku kültürü yöntemi ile fındığın çoğaltım aşamaları

3.3. Fındıkta ApMV karşı arılık durumlarının Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Belirlenmesi

3.3.1. Serolojik Testlemeler

DAS-ELISA yöntemi Clark ve Adams (1977)'e göre yürütülüp ve Bioreba firmasından temin edilen kit kullanılmıştır. Fındık çeşitlerinin dokularında (~ 200 tip/hat) ApMV'nin varlığını belirlemek için bir serolojik tanı yöntemi olan ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) kullanılmıştır. Poliklonal ve monoklonal antibadiler kullanılarak hem etmenin hem de mevcut ırkın belirlenmesi sağlanmıştır.

Doku kültüründe çoğaltılmadan önce fındıkların genç yapraklar alınıp etiketlenmiş polietilen torbalar içerisinde buz kabına konmuştur. ELISA yönteminde; ticari olarak temin edilen ApMV'ye spesifik ELISA kitleri, çözeltiler, 96 kuyulu ELISA tabakları, otomatik pipetler ve pipet uçları saf su ile 405 nm dalga boyunda absorbans değerlerine sahip ELISA okuyucusu kullanılmıştır. DAS-ELISA yöntemi ile pozitif bulunan örnekler moleküler olarak spesifik primerler ile testlenmiştir.

3.3.2. Moleküler Testlemeler

RT-PCR çalışmalarında kullanılan test materyallerinden CTAB (Foissac ve ark., 2001) ve ticari firmaya ait Total RNA ekstraksiyon kiti (Norgen/Qiagen) ile total RNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Kit ile yapılan ekstraksiyon sonucunda total RNA'lar Real Time PCR çalışmalarında kullanılmak üzere -80°C'de muhafaza edilmiştir. CTAB için ise; sıvı azot ile ezilmiş 100 mg bitki dokusuna 1 ml buffer (6 M guanidine thiocyanate, 0.2 M sodium acetate, 25 mM EDTA, 1 M potassium acetate, % 2.5PVP-40 ve %1 mercaptoethanol, %0.05 spermidine) ilave edilerek karıştırılmıştır. Bu karışımdan 500 ml alınarak 100 ml %10 sodium lauryl sarcosyl solusyonu ile karıştırılmıştır. Bu karışım 70°C de 10 dakika karıştırılarak inkube edildikten sonra 5 dakika buzda bekletilmiştir. Sonra 14.000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. 300 µl supernatant yeni bir tüpe transfer edildikten sonra

üzerine 150 µl ethanol, 25 µl silicon di oksit ve 300 µl 6 M sodium iodide ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında 10 dakika karıştırılarak bekletildikten sonra 6000 rpm de 1 dakika santrifüj edilmiştir. Sonra supernatant atılıp ve pellet 500 µl washing buffer (10 mM Tris-HCl containing 0.05 mM EDTA, 50 mM NaCl ve %50 ethanol) içerisinde çözdürülmüştür. Bu işlem iki kez tekrarlandıktan sonra pellet 150 µl RNase free su içerisinde çözdürülmüştür. Sonra 70°C de 4 dakika bekletilip 14.000 rpm de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra supernatant yeni bir tüpe alınarak - 20°C de saklanmıştır. Elde edilen total RNA lar ApMV 'ye spesifik primerler kullanılıp RT-PCR amplifikasyonu ile çoğaltılmıştır. Klasik PCR çalışmalarında Çizelge 1'de verilen primer dizileri Thermo Scientific Verso 1*step RT-PCR Hot Start Kit (Thermo Scientific, Cat. No: AB-1455/B) kullanılarak kit protokolünde belirtildiği şekilde, 0,2 ml'lik steril PCR tüplerine ddH₂O 7.75µl, 2X 1-Step PCR Hot Start MM 12.5µl, Forward Primer (10µM) 0.5µl, Reverse Primer (10µM) 0.5µl, Verso Enzim Mix 0.5µl ve RNA 2µl eklenerek toplamda 25 µl hacimde PCR mixi hazırlanmıştır. Ayrıca bir tüpe de 2 µl RNase-Free su ilave edilerek negatif kontrol olarak analize dahil edilmiştir. Aynı işlem pozitif kontrol için de gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, 50°C'de 15dk (cDNA sentezi), 95°C'de 15 dk (Verso Enzim İnaktivasyonu), 40 döngü (95°C'de 20 sn, 60°C'de 30 sn, 72°C'de 1 dk), 72°C'de 5 dk (Son Uzama) koşullarında ve PCR döngülerinde analize tabi tutulmuştur (Hassan ve ark., 2006).

Çizelge 3.6. ApMV 'nin 1-step RT-PCR ile tesbitinde kullanılan primerler dizileri

ApMV Primerler	Sekans Dizilimi (5'-3')	Çoğaltılan bölge
ApMV Fw	CGTAGAGGAGGACAGCTTGG	450 bp
ApMV Rev	CCGGTGGTAACTCACTCGTT	

3.4. Jel Elektroforezi ile PCR Sonuçlarının Değerlendirilmesi

PCR ürünleri %1.5 luk agaroz jel elektroforezi ile yürütülüp analizi yapılmıştır. 1,5 g Agaroz, 150 ml 1X Tris Asetat EDTA (TAE) tampon çözeltisi içerisine eklenmiş ve mikro dalga fırında çözündürülmüştür. 3 ul Etidyum bromür (0.5 µg/ml) çözeltinin üzerine eklenmiş ve tarak yerleştirilmiş jel tepsinin üzerine dökülmüştür. Agarozun polimerize olması için 20 dk bekletilmiştir. Poimerize olan jelden taraklar yavaşça çıkartılmış ve agazor jel tepsi elektroferez tankına yerleştirilmiştir. 1X TAE tampon çözeltisi jelin üstünü tamamen kapatacak şekilde tankın içerisine dökülmüştür. 100 bp lik DNA ladder ve PCR ürünleri yükleme boyası ile jel çukurlarına yüklenmiştir. Örnekler 140 volt ile 40 dakika yürütülmüştür. Yürüme bittikten sonra jel UV ışığın altında görüntülenmiştir. Ayrıca RT-PCR sonucu elde edilen PCR ürünleri Qiexcel Kapiler Jel Elektroforezi ile bantlar belirlenmiştir. Görüntüleme sonucunda yaklaşık 450 bp lik bant veren örnekler Elma mozaik virüsü ile bulaşık olduğu belirlenmiştir.

3.5. Sekanslama ve BLAST Analizi

Elde edilen pozitif örnekler sekanslama yapılmak üzere Makrogen-İtalya firmasına gönderilmiştir. BLAST-NCBI veritabanı kullanılarak bu dizilerin analizi yapılmıştır.

3.6. Filogenetik Analiz

Elde edilen DNA sekansları MEGA X (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) programı kullanılarak En Yüksek İhtimal, Maximum Likelihood metodu ile sınıflandırılmıştır.

3.7. Elma Mozaik Virüsünün Arındırılması

3.7.1. Termoterapi Uygulaması

Serolojik ve moleküler yöntemler sonucunda Elma mozaik virüsü ile bulaşık olduğu belirlenen fındıkların yüzey sterilizasyonu yapılarak Foşa, Çakıldak ve Tombul fıkılarına ait nodal segmentler tüplerde kültüre alınmıştır. Yüzey sterilizasyonu yapılan nodal segmentlerin besin ortamı içeren tüplere (4 mg/l 2-isopentenyladenine (2-IP), MS, 30 g/l sakkaroz, 7.0 g/l agar ve pH 5.8) dikilmiştir. Materyaller iklim dolabında 24 °C sıcaklık ve fotoperiyot (16-h ışık/8-h karanlık) koşullarında tutulmuştur. Bu tek tomurcuklu segmenlerde sürgün gelişimi 3-4 hafta içinde sağlandıktan sonra örnekler alt kültür yapılmış ve bu işlemde iki hafta sonra termoterapi uygulamasına başlanmıştır. Seçilen her çeşit için 10 adet *in vitro* sürgün kullanılmıştır. Sürgünler iklim dolabında 16-h ışık/8-h karanlık fotoperiyot, 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ışık şiddeti koşullarında, 25°C ile başlayan ve her gün bir derece artırılıp gündüz 36°C - gece 32°C sıcaklıkta 28-32 hafta süresince bekletilmiştir (Zhao vd 2018). Termo terapiye maruz bırakılan örnekler haftalık olarak serolojik ve moleküler yöntem olan DAS-ELISA ve PCR ile testlenmiştir.

3.8. İstatistiksel Analizler

Denemelerden elde edilen veriler JMP (15 versiyonu) istatistik paket programında tesadüf parselleri deneme desenine kullanılarak analizleri yapılmış ve bu verilerin ortalamaları Student's testi ile karşılaştırılmıştır. Yüzdelerle değerlere açıl transformasyonu uygulanarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Denemelerde yer alan Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin *in vitro* koşullarda çoğaltımı ile ilgili yüzey sterilizasyon uygulamaları ile farklı kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri içeren ortamların eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, kardeş sayısı ve köklenme üzerindeki etkisi belirlenmiştir.

4.1. Yüzey Sterilizasyon Uygulamalarının Etkisi

Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin *in vitro* koşullarda çoğaltımında fungal ve bakteriyel hastalık etmenleri ile bulaşık olması doku kültürü yönteminin giriş aşaması olan sterilizasyon uygulamalarının belirlenmesi büyük önem arz etmektedir. Bu amaçla bu tezde Foşa, Çakıldak ve Tombul'un fındık fidanlarının 1-2 aylık 2018 Mayıs ayında alınan boğumlarına farklı konsantrasyonlarda (%0, %5, %10 ve %20) NaOCl (sodyum hipoklorit) ile 10 dakika muamele edilmiştir. Yüzey sterilizasyonu için farklı dozlardaki NaOCl uygulamaları sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 4.1 de verilmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde farklı dozlardaki NaOCl'nin yaşayan kültürler arasında istatistiksel olarak önemli farklar olduğu belirlenmiştir. Yüzey sterilizasyonunda NaOCl'nin kullanılmadığı uygulamalarda fungal ve bakteriyel sebeplerden ölümler olduğu, NaOCl'nin sterilizant olarak kullanıldığında ise bu ölümlerin azaldığı saptanmıştır. Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinde farklı dozlardaki sodyum hipoklorit uygulamalarından %5 lik sodyum hipokloritin kullanıldığı sterilizasyon protokolünde Foşa fındık çeşidinde canlılığın %17,5, Çakıldak fındık çeşidinde canlılığın %37,5 ve Tombul fındık çeşidinde ise canlılığın %10,5 olduğu görülmüştür. %20 lik NaOCl'nin 10 dakikalık uygulamasında ise Foşa ve Çakıldak fındık çeşitlerinde canlılığın çok yüksek olduğu görülmektedir. %20 lik NaOCl'nin 10 dakikalık muamelesinde Foşa fındık

çeşidindeki canlılığın %90,5, Çakıldak fındık çeşidinde %96 ve Tombul fındık çeşidinde %87 olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.1. Foşa, Çakıldak ve Tombul'a uygulanan farklı dozlardaki NaOCl'nin canlılığa etkisi

Çeşit	Uygulama	Canlılık(%)
Foşa	%0 NaOCl	0.0d (0)*
	%5 NaOCl	17,5c** (24.72)*
	%10 NaOCl	52.5b** (46.43)*
	%20 NaOCl	90.5a** (72.04)*
	LSD %5	0,0681
Çakıldak	%0 NaOCl	1.5d** (7.03)*
	%5 NaOCl	37.5c** (37.7)*
	%10 NaOCl	79b** (62.7)*
	%20 NaOCl	96a** (78.46)*
	LSD %5	0.06625
Tombul	%0 NaOCl	0.0d** (0)*
	%5 NaOCl	10.5c** (18.9)*
	%10 NaOCl	51b** (45.5)*
	%20 NaOCl	87a** (68.8)*
	LSD %5	0,066
	Prob>f	0.0001

**Aynı sütündeki farklı harflere sahip değerler arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlıdır.

*Açı transformasyonu uygulanmış değerlerdir.

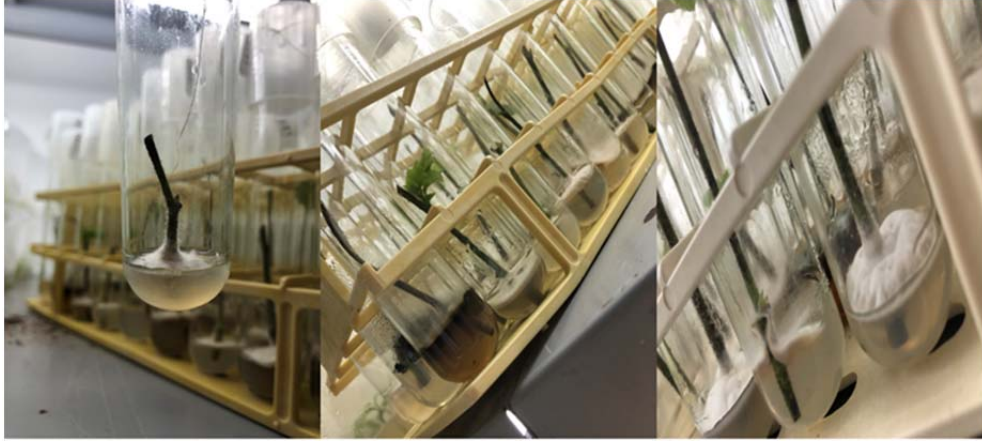
Sgegria ve arkadaşlarının (2018) yapmış olduğu çalışmada Carrello, Ghirara, Minnulara ve Panittara olan 4 farklı İtalyan fındık çeşidine farklı sterilizasyon yöntemleri uygulanmış ve bitkilerin gelişimine etkisi incelenmiştir. Yaptıkları çalışmada dalları ticari olarak satılan Lysoform sabununa batırıp 2 saat musluk suyu ile duruladıktan sonra kontaminasyonu engellemek için dalları %70 lik etil alkol de bir dakika bekletmiş ve %1 lik sodum hipokloirte ve %0.1 lik sodyum methiolate ile 35 dakika ve 40 dakika olmak üzere farklı sürelerde bu uygulamalar yapılmıştır. Minnulara (%26,7) ve Ghirara (%20) çeşitleri için en yüksek canlılığı 40 dakikalık %1 sodyum hipoklorit ve %0.1 sodyum metiolat uygulamasında elde edildiği bildirilmiştir. Carrello (%33) ve Panottara (%46,7) çeşitleri için ise en yüksek canlılığı 35 dakikalık uygulamada olduğu belirtilmiştir.

Bacchetta ve arkadaşlarının (2008) yapmış olduğu çalışmada 6 farklı İtalyan fındık çeşitlerinden Tonda Romana, Tonda Giffoni, Avellana Speciake, Mortarella, Napoletaneda ve Ghirara çoğaltımı için sürgünleri 1 saat musluk suyu ile yıkamışlardır. Antibakteriyel sabun ile yıkayıp ve su ile 3 kez durulamışlardır. Daha sonra %70 lik alkolde 5 sn bekletmişlerdir. Bitkinin alt tabanına Na Merthiolate (CgHgHgNaO2S Carlo Erba) ile 10 dakika muamele yapılmıştır. 10 dakika sonra 5 sn steril su ile 3 kez durulanmıştır. %20 lik sodyum hipoklorit ile 10 dk muamele edilmiştir. Kontaminasyonun %20-30 oranında olduğu bildirilmiştir.

Damiano ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada “Montebello” ve “Tonda Gentile Romana” İtalyan fındık çeşitlerinin mikroçoğaltımı için Mayısın Eylülü kadar gözler alınmıştır. Bu gözlerin sterilizasyonu için gözler 1 dk %70 lik etil alkolde bekletilmiş ve steril su ile durulanmıştır. Devamında ise bir kısmını %0.08 lik NaOCl ile 30 dakika muamele etmiş, bir kısmına %0.05 lik Na mertiolate ile 30 dk muamele etmiş bir kısmına ise ilk önce 20 dk %0.08 lik NaOCl uygulamış ve devamında %0.05 lik Na mertiolate ile 20 dakika muamele etmişlerdir. Bu uygulamalardan sonra tüm gözler 3 kez steril saf su ile durulanmıştır. Çalışma sonucunda kontaminasyonun ve nekrozun en az NaOCl ve Na mertiolate ın birlikte uygulandığı sterilizasyon uygulamasında elde edildiği

bildirilmiştir. Diğer sterilizasyon uygulamalarının %95 oranında olduğu gözlenmiştir.

Silvestri ve arkadaşlarının (2019) yılında yapmış oldukları bir çalışmada araştırmacılar eksplant olarak nodal segment kullanmışlardır. Sterilizasyona başlamadan önce dalların apekslerini kesmiş ve bu nodal segmentleri 1 saat 250 mg/L askorbik asit, 250 mg/L sitrik asit, 5 mg/L GA₃ ve %0.1 PPM içeren solüsyonda bekletmiştir. Devamında yüzey sterilizasyonu için bu sürgünlere %20 lik çamaşır suyu ile 30 dakika muamele edilmiş ve hemen saf su ile 2 kez durulamışlardır. Ayrıca kültür besiyerine 2.5 mg/L CuSO₄5H₂O ekleyerek bakteriyel kontaminasyonu önemli miktarda azaltıkları bildirilmiştir.



Şekil 4.1. Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine %5 lik sodyum hipoklorit uygulaması



Şekil 4.2. Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine %10 lik sodyum hipoklorit uygulaması



Şekil 4.3. Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine %20 lik sodyum hipoklorit uygulaması

Sürgün gelişimi göz önünde bulundurulduğunda sodyum hipokloritin en iyi dozu Foşa, Çakıldak ve Tombul fındıkları için %20 lik olduğu saptanmıştır. En fazla kontaminasyonun (%80) ise %5 lik NaOCl de olduğu görülmüştür. %20 lik NaOCl dozunun ise kontaminasyonu önlediği görülmüştür. Bu tezde elde edilen sonuçlar ile yapılan çalışmalarda kullanılan sterilizasyon uygulamalarının sonuçları kıyaslandığında sonuçların benzer olduğu görülmektedir.

4.2. Farklı Konsantrasyonlardaki Sitokin ve Oksin Kombinasyonlarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kardeş Sayısına Etkisi

Bitkilerin kitlesel üretimi için bitki doku kültürü yöntemiyle çoğaltım büyük önem arz etmektedir. Bu kitlesel üretimi sağlamak için eksplant başına düşen kardeş sayısının oldukça fazla olması gerekmektedir. Bu kardeş sayısını artırmak için bitki büyüme düzenleyicisi olan sitokin ve oksin grubu bileşikler kullanılır. Uygun dozlardaki sitokin ve oksinin birlikte kullanıldığı kombinasyonlar genellikle bitki gelişiminde olumlu sonuçlar vermektedir. Büyüme düzenleyicilerden biri olan GA₃ sürgün oluşumunu ve gelişiminin hızlandırdığı birçok araştırma sonucunda bilinmektedir.

Bu tezde de GA₃'ün sabit dozunda BAP ve MT olarak farklı sitokin kaynakları, oksin kaynağı olarak IBA ile farklı dozlardaki kombinasyonları kullanılmış ve denemeler sonucunda elde edilen bulgular ve istatistiksel analizleri yapılarak aşağıda verilmiştir.

4.2.1. Farklı Dozlarda BAP ve IBA Kombinasyonları Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kardeş Sayısına Etkisi

Denemede thiamine, nikotinic asit, pyridoxine HCl ve myo-inositol vitaminlerini içeren DKW temel besin ortamına 0.05 mg/L GA₃ dozu sabit tutulup farklı dozlardaki BAP (0, 1, 2, 3, 4, ve 5 mg/l) ve IBA(0, 0.02, 0.1 ve 0.2 mg/L) kombinasyonlarının explant başına ortalama kardeş sayısı üzerine etkisi karşılaştırılmıştır. Denemeler 5 tekerrürlü olarak yapılmış ve her tekerrürde 20'şer

bitki kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre her fındık çeşidi için ortalama bitki başına kardeş sayısı (OBBKS) belirlenerek en iyi kardeşleme ortamı belirlenmiştir. 21 günden sonra bu deneme DKW ortamlarında 0 mg/L BAP ve 0 mg/L IBA kombinasyonlarını içeren ortamlarda 3 fındık çeşidinde de hiç bitki gelişimi olmadığı gözlenmiştir diğer ortamlarda ise bitki gelişiminin oldukça iyi olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.2 Foşa fındık çeşidinde farklı konstantrasyonlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı verilmiştir. Çizelge 4.2 incelendiğinde Foşa fındık çeşidinin BAP ve IBA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kardeş oluşum sayısının birbirinden farklı olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak ($p < 0.05$) önemli olduğu görülmektedir. Nitekim bu Çizelge incelendiğinde BAP'ın ve IBA'nın 0 mg/l olduğu kombinasyonlarda yeni kardeşin oluşmadığı, eksplant başına düşen kardeş sayısının en fazla 4 mg/L BAP ve 0.1 mg/L IBA hormonlarını içeren besin ortamlarında elde edildiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Foşa fındık çeşidinde farklı konstantrasyonlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı

BAP (mg/L)	IBA(mg/L)	OBBKS (Kardeş Sayısı)
		Adet
0	0	0.0m
	0,01	0.0m
	0,1	0.0m
	0,2	0.0m
1	0	0,05lm
	0,01	0,4jm
	0,1	0,63gk
	0,2	0,8gk
2	0	0,85gj
	0,01	1,1eg
	0,1	0,75gk
	0,2	0,9fi
3	0	1,04fh
	0,01	1,35df
	0,1	1,55ce
	0,2	1,58ce
4	0	1,8bd
	0,01	2bc
	0,1	2,5a
	0,2	2,2ab
5	0	0,55hk
	0,01	0,5ul
	0,1	0,4jm
	0,2	0,35km
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,505

Çizelge 4.3 incelendiğinde Çakıldak fındık çeşidinde explant başına oluşan kardeş sayısı en fazla 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın olduğu ortamda elde edildiği görülmektedir. 0 mg/L BAP ve 0 mg/L IBA'nın kombinasyonlarında ise kardeş oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 4.3. Çakıldak'ın farklı konantrasyonlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı

BAP (mg/L)	IBA(mg/L)	OBBKS (Kardeş Sayısı) Adet
0	0	0.0j
	0,01	0.0j
	0,1	0.0j
	0,2	0.0j
1	0	0.0j
	0,01	0.0j
	0,1	0.22ij
	0,2	0.3hj
2	0	0.45fj
	0,01	0.65ei
	0,1	0.7eh
	0,2	1.05ce
3	0	0.9df
	0,01	0.85dg
	0,1	0.98de
	0,2	1.08ce
4	0	1.26bd
	0,01	1.63ab
	0,1	1.5bc
	0,2	2.0a
5	0	0.2ij
	0,01	0.5fi
	0,1	0.4gj
	0,2	0.3hj
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,471

Çizelge 4.4 de Tombul fındık çeşidinin farklı konsantrasyonlardaki BAP ve IBA kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına oluşan ortalama kardeş sayısı verilmiştir. Söz konusu Çizelge incelendiğinde Tombul fındık çeşidinde fındık eksplant başına en yüksek kardeş sayısı 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamda elde edilmiştir. BAP'ı içermeyen ortamlarda kardeşlenme yoktur.

Çizelge 4.4. Tombul fındık çeşidinde farklı konstantrasyonlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı

BAP (mg/L)	IBA(mg/L)	OBBKS (Kardeş Sayısı) Adet
0	0	0.0j
	0,01	0.0j
	0,1	0.0j
	0,2	0.0j
1	0	0.0j
	0,01	0.2ij
	0,1	0.35hj
	0,2	0.55gi
2	0	0.75fh
	0,01	0.82fh
	0,1	0.95fg
	0,2	1.0eg
3	0	1.6d
	0,01	1.5de
	0,1	2.2c
	0,2	1.6d
4	0	3.1b
	0,01	3b
	0,1	3.5ab
	0,2	4.0a
5	0	1.2df
	0,01	1.2d
	0,1	1.1df
	0,2	0.8fh
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,531

Thomson ve Deering'in (2011) yılında yapmış oldukları çalışmada Daviana fındık çeşidi için farklı konsantrasyonlarda BAP, kinetin, zeatin ve IPA sitokinleri içeren farklı ortamlarda sürgün gelişimi incelenmiştir. Çalışma sonunda eksplant başına oluşan en fazla kardeş sayısının (3.5) ve en uzun sürgünün (28.6 mm) 5 mg/L BAP içeren ortamda elde edildiği bildirilmiştir.

Mardani ve arkadaşlarının (2020) yapmış oldukları çalışmada 3 farklı ticari çeşit olan Gercheh, Gerdooyi ve Pashmineh'in mikro çoğaltımı için Kinetin (0.25 mg/L) ile BAP'ın 4 farklı dozunu (0,50, 1.00, 2.00 ve 4.00 mg/L içeren ortamlardaki sürgün gelişimi incelemiş ve uygun ortamı belirlemişlerdir. Gercheh (1.92) ve Gerdooyi (2.45) fındık çeşidinde en iyi sürgün gelişimin 4 mg/L BAP ve 0.25 mg/L kinetin içeren ortamda elde edildiği bildirilmiştir.

Bu 3 fındık çeşidi için farklı dozlardaki BAP ve IBA'yı içeren ortamlar arasında eksplant başına oluşan kardeş sayısına bakıldığında en fazla sürgün sayısının 4 mg/L BAP içeren ortamlarda elde edildiği görülmektedir. Elde edilen sonuçlar gösteriyor ki literatürdeki çalışmalarda kullanılan 4 mg/L BAP içeren besi yeri Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinde aynı sonucu vermiştir. Yine 4 mg/l BAP ve 0.1 mg/l IBA'yı içeren ortamda eksplant başına elde edilen kardeş sayısına bakıldığında 4 mg/l BAP ve 0.2 mg/l içeren ortamda elde edilen kardeş sayısı arasında çok büyük farkın olmadığı gözlenmiştir. Yüksek dozdaki (5 mg/L) BAP içeren ortamlardaki fındık sürgünlerinin 2. Alt kültürden sonra bitkilerde camlaşma ve bitki gelişimin kötü olduğu bu yüzden geriye dönük ölümler olduğu görülmüştür.

Literatürdeki uygulamadan farklı olarak sürgün gelişim performansını artırmak için 4 mg/L BAP ile 0,1 mg/L IBA kullanılarak Foşa fındık çeşidinde, 4 mg/L BAP ile 0,2 mg/L IBA içeren besi yerleri kullanılarak Çakıldak ve Tombulda başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

Şekil 4.4 de verilen resimlerde sırasıyla Foşa, Çakıldak ve Tombul çeşidine ait yeni oluşan sürgünler görülmektedir. 4 mg/L BAP ve 0.1 mg/L IBA içeren ortama konulan Foşa çeşidine ait sürgünden eksplant başına 2 yeni sürgün oluştuğu görülmektedir. Çakıldak çeşidine ait sürgün ise 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamda eksplant başına 2 sürgün oluşturduğu görülmektedir. Şekil 4.4'ün son resminde Tombul fındık çeşidine ait sürgün, 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda eksplan başına 4 sürgün oluşturduğu görülmektedir.



Şekil 4.4. Srasıyla 4 mg /L BAP ve 0.1 mg/L IBA içeren ortamdaki Foşa, 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA dozlarını içeren ortamdaki Çakıldak ve Tombul bitkilerinin gelişimleri

4.2.2. Farklı Dozlarda Metatopolin ve IBA Kombinasyonları Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kardeş Sayısına Etkisi

Denemede DKW besin ortamında 0.05 mg/L GA₃ içeren ve vitamin olarak tiamin, nikotik asit, pyridoxine HCl ve myo-inositol sitokinin ve oksin kaynağı olarak farklı dozlardaki MT (0, 1, 2, 3, 4 ve 5 mg/L) ve IBA (0, 0.02, 0.1 ve 0.2 mg/L) içeren ortamlarda eksplant başına ortalama kardeş sayısı karşılaştırılmıştır. Denemeler 5 tekerrürlü olup her tekerrürde 20'şer bitki kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre her fındık çeşidi için ortalama bitki başına kardeş sayısı (OBBKS) belirlenerek en iyi kardeşleme ortamı belirlenmiştir. 21 günden sonra bu DKW deneme ortamlarında elde edilen sonuçlara göre 3 fındık çeşidi için 0 mg/L MT ve 0 mg/L IBA içeren ortamlarda eksplant başına oluşan sürgün sayısının 0 olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.5 incelediğinde Foşa fındık çeşidinin sitokinin kaynağı olarak MT ve oksin kaynağı olarak IBA'nın farklı dozların eksplant başına oluşan kardeş sayısı birbirinden farklı olduğu görülmektedir. İstatistiksel olarak (p <0.05) bu farkın çok önemli olduğu görülmektedir. Söz konusu çizelge incelendiğinde eksplant başına oluşan sürgün sayısının en az MT ve IBA'yı içermeyen ortamda

olduğu görülmüştür. Eksplant başına oluşan sürgün sayısının en fazla 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonunu içeren besin ortamında elde edildiği görülmüştür.

Çizelge 4.5. Foşa'nın farklı konantrasyonlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı

MT (mg/L)	IBA(mg/L)	OBBKS (Kardeş Sayısı)Adet
0	0	0.0n
	0,01	0.0n
	0,1	0.0n
	0,2	0.0n
1	0	0.85il
	0,01	1.4gi
	0,1	1.6fh
	0,2	2.1ef
2	0	2.75cd
	0,01	3.2bc
	0,1	3.5ab
	0,2	4.0a
3	0	1.36gj
	0,01	1.55fh
	0,1	1.58fh
	0,2	1.04hk
4	0	1.8eg
	0,01	2.05ef
	0,1	2.3de
	0,2	1.05hk
5	0	0.3ln
	0,01	0.8jl
	0,1	0.6km
	0,2	0.2mn
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,56

Çakıldak fındık çeşidinin MT ve IBA'nın farklı dozlarındaki eksplant başına oluşan kardeş sayısı Çizlge 4.6'da verilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde Çakıldak fındık çeşidinde farklı konstantrasyonlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı en fazla sürgünün ise 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamda elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.6. Çakıldak fındık çeşidinde farklı konstantrasyonlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı

MT (mg/L)	IBA(mg/L)	OBBKS (Kardeş Sayısı) Adet
0	0	0.0l
	0,01	0.0l
	0,1	0.0l
	0,2	0.0l
1	0	0.6hk
	0,01	0.75gj
	0,1	0.85fj
	0,2	1.15eg
2	0	1.15eg
	0,01	1.3cf
	0,1	1.52be
	0,2	1.5be
3	0	1.65bd
	0,01	1.7bc
	0,1	1.95ab
	0,2	2.2a
4	0	0.95fi
	0,01	1.0fh
	0,1	1.2dg
	0,2	1.25cf
5	0	0.6hk
	0,01	0.5ik
	0,1	0.2kl
	0,2	0.4jl
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,455

Çizelge 4.7’de Tombul fındık çeşidinin MT ve IBA’nın farklı dozlardaki eksplant başına oluşan sürgün sayıları verilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde Tombul fındık çeşidinin de eksplant başına MT ve IBA’yı içermeyen ortamlarda yeni kardeşler oluşmadığı görülmektedir. Eksplant başına en fazla kardeş sayısı 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamda olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.7. Tombul fındık çeşidinde farklı konsantrasyonlardaki MT ve IBA’nın kombinasyonlarından elde edilen eksplant başına ortalama kardeş sayısı

MT (mg/L)	IBA(mg/L)	OBBKS (Kardeş Sayısı) Adet
0	0	0.0k
	0,01	0.0k
	0,1	0.0k
	0,2	0.0k
1	0	2.35dg
	0,01	2.55cf
	0,1	2.85be
	0,2	3.05bd
2	0	3.3ac
	0,01	3.5ab
	0,1	3.6ab
	0,2	4.0a
3	0	2.3dg
	0,01	2.6cf
	0,1	2.45df
	0,2	2.2eg
4	0	1.65gi
	0,01	1.85fh
	0,1	2.15eg
	0,2	1.6gi
5	0	1.2hj
	0,01	0.8j
	0,1	1.0ij
	0,2	0.8j
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.7738

Gentile ve arkadaşlarının (2016) yapmış oldukları çalışmada 4.1. uM ve 8.2 uM dozlarındaki MT ve Bap'ın *Corylus colurna*'L.'nin sürgün gelişimi üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda eksplant başına oluşan sürgün sayısının (3.8) en fazla 8.2 uM MT içeren ortamda elde ettiklerini ve bu ortamdaki sürgün kalitesinin diğer ortamlardan daha iyi olduğu bildirmişlerdir.

Sgueglia ve arkadaşlarının (2018) yapmış olduğu çalışmada farklı dozlardaki 6.6 uM BAP ve 8.2 uM MT nin 4 farklı fındık çeşidindeki kardeşlenme oranına bakılmış ve çalışmalar sonucunda Carello fındık çeşidinde kardeşlenme oranı (3.2) 8.2 uM MT içeren ortamda daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Bu çalışmada ise Şekil 4.5 de görüldüğü gibi içerisinde 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA bulunan ortamlarda Foşa fındık çeşidinde eksplant başına 4 kardeşin oluştuğu, Tombul fındık çeşidinde ise eksplant başına 4 sürgün oluştuğu görülmektedir. Çakıldak çeşidinde ise, 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamda eksplant başına 2 sürgün elde edilmiştir. Literatürdeki uygulamadan farklı olarak sürgün gelişim performansını artırmak için 2 mg/L MT ile 0,2 mg/L IBA kullanılarak Foşa ve Tombul fındık çeşitlerinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. 4 ve 5 mg/L gibi yüksek dozlardaki MT'nin kardeşlenme üzerinde olumsuz etkisi olduğu görülmüştür. Ayrıca bu yüksek dozlardaki MT'lerin camlaşmaya neden olduğu ve geriye dönük ölümler olduğu görülmüştür.



Şekil 5.5. Sırasıyla 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamdaki Foşa ve Tombul fındık çeşitlerine ait sürgünler ve 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamdaki Çakıldak fındık çeşidine ait sürgünler

4.3. Farklı Konsantrasyonlardaki Sitokin ve Oksin Kombinasyonlarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Sürgün Uzunluğuna Etkisi

Farklı Dozlarda BAP ve IBA Kombinasyonları Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Sürgün Uzunluğuna Etkisi

Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinde BAP ve IBA'nın farklı dozları kullanılarak yapılan ortam denemelerinde sürgün uzunluğu belirlenmiştir. 24 farklı ortamda elde edilen sürgün uzunlukları arasında istatistiksel olarak önemli farklar olduğu görülmüştür.

Foşa fındık çeşidinde farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın bulunduğu ortamlarda elde edilen sürgün uzunlukları Çizelge 4.8 de verilmiştir. Bahsi geçen çizelge incelendiğinde sürgün uzunluğu 0 mg/L BAP ve 0 mg/L IBA'yı içeren ortamlardaki bitkilerde uzamanın olmadığı görülmektedir. Foşa fındık çeşidi için en uzun sürgünü (8,8 cm) 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda elde edildiği görülmektedir. Söz konusu çizelge incelendiğinde yüksek dozdaki, 5 mg/L BAP uygulamasının sürgün uzunluğuna olumsuz etkisi olfduğu görülmektedir.

Çizelge 4.8. Foşa'nın farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu

BAP (mg/L)	IBA(mg/L)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0	0	0.0m
	0,01	0.0m
	0,1	0.0m
	0,2	0.0m
1	0	1.08ol
	0,01	1.24ol
	0,1	1.4ol
	0,2	1.28ol
2	0	1.6hl
	0,01	1.5il
	0,1	1.84hk
	0,2	2.04gi
3	0	2.0gj
	0,01	2.3gh
	0,1	4.34ef
	0,2	4.7e
4	0	6.4d
	0,01	7.2c
	0,1	7.96b
	0,2	8.8a
5	0	2.7g
	0,01	4.8e
	0,1	3.8f
	0,2	4.6e
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,734

Çizelge 4.9 da Çakıldak fıındık çeşidi için farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın bulunduğu ortamlarda elde edilen sürgün uzunlukları verilmiştir. Çizelge incelendiğın 0 mg/L BAP ve 0 mg/L IBA'nın buluğu ortamlarda sürgün uzunluğu olmadığı görölmektedir. En uzun sürgün uzunluğunu (5,54 cm) ise 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamlarda elde edildiği görölmektedir.

Çizelge 4.9. Çakıldak'ın farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu

BAP (mg/L)	IBA(mg/L)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0	0	0.0m
	0,01	0.0m
	0,1	0.0m
	0,2	0.0m
1	0	0.35lm
	0,01	0.8kl
	0,1	1.2jk
	0,2	1.2jk
2	0	1.6ij
	0,01	1.5ij
	0,1	2.0hi
	0,2	1.6ij
3	0	3.3ef
	0,01	3.6de
	0,1	3.8ce
	0,2	4cf
4	0	4.25bc
	0,01	4.6b
	0,1	5.24a
	0,2	5.54a
5	0	2.5gh
	0,01	2.5gh
	0,1	3.0fg
	0,2	3.0fg
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,551

Tombul fındık çeşidi için farklı dozlardaki BAP ve IBA'yı içeren ortamlarda elde edilen sürgün uzunluğu Çizelge 4.10'da verilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde 0 mg/L BAP ve 0 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamlarda sürgün uzamasının diğer ortamlara kıyasla en az olduğu görülmektedir. En uzun sürgün uzunluğunun (4.8 cm) ise 3 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamlarda elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.10. Tombul'un farklı dozlardaki BAP ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu

BAP (mg/L)	IBA(mg/L)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0	0	0.0o
	0,01	0.0o
	0,1	0.0o
	0,2	0.0o
1	0	0.15no
	0,01	0.45m
	0,1	0.4mn
	0,2	0.9l
2	0	1.5k
	0,01	1.85j
	0,1	1.94j
	0,2	2.0ij
3	0	3.8c
	0,01	4.0c
	0,1	4.35b
	0,2	4.8a
4	0	2.96df
	0,01	3.0df
	0,1	3.1de
	0,2	3.2d
5	0	2.25hi
	0,01	2.0ef
	0,1	2.74fg
	0,2	2.5gh
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,297

Şekil 4.6'da görüldüğü gibi Foşa fındık çeşidinin 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA içeren ortamdaki sürgün uzunluğunun 8.5 cm olduğu görülmektedir. Çakıldak fındık çeşidine ait sürgünün de 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın olduğu ortamdaki boyunun 5,7 cm olduğu görülmektedir. Söz konusu şekil incelendiğinde Tombul fındık çeşidinin ise 3 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda sürgün uzunluğunun 4.8 cm olduğu görülmektedir.



Şekil 4.6. Sırasıyla 4 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'yı içeren ortamlardaki Foşa ve Çakıldak, 3 mg/L BAP ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamdan elde edilen Tombul fındık çeşitlerine ait sürgünler

4.3.1. Farklı Dozlarda Meta topolin ve IBA Kombinasyonları Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Sürgün Uzunluğuna Etkisi

Eksplant başına elde edilen kardeş sayısının yanında Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşidi için sürgün uzunluklarına da bakılmıştır. MT ve IBA'nın farklı dozlardaki kombinasyonlarını içeren 24 farklı ortam denemesi kurulmuştur. 21 gün sonucunda elde edilen sürgünlerin uzunluğu ölçülmüştür.

Çizelge 4.11 de Foşa fındık çeşidinin MT ve IBA'nın farklı kombinasyonlarını içeren ortam denemelerinden elde edilen sürgün uzunluğu verilmiştir. Foşa fındık çeşidi için 0 mg/L MT ve 0 mg/L IBA'nın kombinasyonunun bulunduğu ortamda elde edilen sürgünlerdeki uzamanın olmadığı görülmektedir. Söz konusu çizelge incelendiğinde en uzun sürgün uzunluğunu (7.3 cm) 2 mg/L MT ve 0.1 mg/L IBA'yı içeren ortamda elde edildiği görülmektedir. Yüksek dozlardaki 4 mg/L ve 5 mg/L MT'nin bulunduğu ortamlarda ise sürgün uzunluğunun çok az olduğu ve camlaşmadan kaynaklı bitkide geriye dönük ölümler olduğu görülmüştür. Ayrıca yüksek doz MT'nin Foşa fındıklar üzerinde olumsuz etkisi olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. Foşa'nın farklı dozlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamında elde edilen sürgün uzunluğu

MT (mg/L)	IBA(mg/L)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0	0	0.0m
	0,01	0.0m
	0,1	0.0m
	0,2	0.0m
1	0	1.7kl
	0,01	2.7gj
	0,1	3.05fh
	0,2	3.3eg
2	0	4.7c
	0,01	5.6b
	0,1	7.3a
	0,2	7.0a
3	0	3.6ef
	0,01	4ce
	0,1	3.9de
	0,2	4.6cd
4	0	2.25ik
	0,01	2.6gj
	0,1	2.75gj
	0,2	1.44l
5	0	2.15jl
	0,01	2.82gj
	0,1	2.48hj
	0,2	2.9fi
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,743

Çizelge 4.12 de Çakıldak fındık çeşidi için farklı konstantrasyonlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonların olduğu 24 deneme ortamından elde edilen sürgün uzunluğu belirlenmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde içerisinde sitokinin kaynağı olarak MT ve oksin kaynağı olarak IBA'nın bulunmadığı ortamlarda sürgünün yok denecek kadar az uzadığı görülmektedir. Yine özellikle MT'nin olmadığı IBA'nın ise bulunduğu ortamlardan elde edilen sürgünler incelendiğinde onların sürgün uzunluğunun diğer ortamlarda elde edilen sürgün uzunluklarına kıyasla çok kısa olduğu görülmektedir. Çizelge incelendiğinde Çakıldak fındık çeşidi için en uzun sürgün uzunluğunun (9.7 cm) ise 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonunu içeren ortamda elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.12. Çakıldak'ın farklı dozlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamından elde edilen sürgün uzunluğu

MT (mg/L)	IBA(mg/L)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0	0	0.0l
	0,01	0.0l
	0,1	0.0l
	0,2	0.0l
1	0	1.0k
	0,01	2.6ij
	0,1	2.96ij
	0,2	3.2hj
2	0	4.0fg
	0,01	3.8gh
	0,1	4.64ef
	0,2	6.0d
3	0	6.32d
	0,01	7.6c
	0,1	8.8b
	0,2	9.7a
4	0	4.25fg
	0,01	4.6ef
	0,1	5.2r
	0,2	2.5j
5	0	2.5j
	0,01	2.6j
	0,1	3.0ij
	0,2	3.25hi
Prob>f		0.0001
LSD%5		0,704

Çizelge 4.13 de Tombul fındık çeşidine ait farklı dozlardaki MT ve IBA kombinasyonlarının bulunduğu ortamlarda elde edilen sürgün uzunlukları verilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde MT'nin ve IBA'nın bulunmadığı ortamlarda sürgün uzamasının diğer ortamlara kıyasla en az olduğu görülmüştür. En uzun sürgün uzunluğunun ise 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonunu

bulunduran ortam elde ediliği görülmüştür. Yüksek dozdaki (4 ve 5 mg/L) MT'nin bulunduğu ortamlarda camlaşmalar olduğu ve bitki büyümesinin olmadığı görülmüştür.

Çizelge 4.13. Tombul fındık çeşidinde farklı dozlardaki MT ve IBA'nın kombinasyonlarını içeren kardeşlenme ortamlarından elde edilen sürgün uzunluğu

MT (mg/L)	IBA(mg/L)	Sürgün Uzunluğu (cm)
0	0	0.0k
	0,01	0.0k
	0,1	0.0k
	0,2	0.0k
1	0	0.45jk
	0,01	0.7j
	0,1	0.4jk
	0,2	1.0j
2	0	3.5ef
	0,01	4.35cd
	0,1	5.55b
	0,2	6.8a
3	0	3.95a
	0,01	4.2cd
	0,1	4.68c
	0,2	4.83c
4	0	3.2fg
	0,01	2.95fh
	0,1	3.26eg
	0,2	3.14fh
5	0	2.25i
	0,01	2.6gi
	0,1	2.74gi
	0,2	2.5hi
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.697

Şekil 4.7 incelendiğinde Foşa fındık çeşidine ait sürgünün 2 mg/L MT ve 0.1 mg/L IBA'nın kombinasyonlarını içeren ortamda sürgün uzunluğunun 7 cm ulaştığı görülmektedir. Çakıldak fındık çeşidine ait sürgün boyunun ise 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonuna ait ortamda 9.5 cm olduğu görülmektedir. Tombul fındık çeşidinin de 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA kombinasyonunu içeren ortamda bitki uzunluğunun 6.5 cm olduğu görülmektedir.



Şekil 4.7. Sırasıyla 2 mg/L MT ve 0.1 mg/L IBA ortamından elde edilen Foşa, 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA dozlarını içeren Çakıldak ve 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA ortamından elde edilen Tombul fındık çeşitlerine ait sürgünler

4.4. Farklı Oksin Kaynaklarının Köklenme Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi

4.4.1. Farklı Dozlardaki IBA ve NAA Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kök Sayısına Etkisi

Köklenme denemesinde thiamine, nikotinik asit, pyridoxine HCl ve myo-inositol vitaminlerini içeren, MS temel besin ortamına 200 mg/L Sequestrene Fe 138, IBA (0, 1, 2 ve 3 mg/L) ve NAA (0.01, 0.1, 1 ve 2 mg/L) nin farklı doz ve kombinasyonlardan oluşan 16 farklı ortam kullanılarak elde edilen ortalama bitki

başına kök sayısı ve kök uzunluğu değerleri incelenmiştir. Kök deneme ortamlarında 21 gün bekletilen sürgünlerin oluşturduğu kök sayıları incelenmiştir.

Çizelge 4.14 de Foşa fındık çeşidine ait sürgünlerin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren 16 farklı ortam denemesinden elde edilen kök sayıları verilmiştir. Söz konusu tablo incelendiğinde IBA ve NAA'nın kullanılmadığı ortamlarda köklenme olmadığı görülmüştür. En fazla kök sayısının ise 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA'nın bulunduğu kök ortamından elde edildiği çizelgede görülmektedir.

Çizelge 4.14. Foşa fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren köklenme ortamından elde edilen kök sayısı

IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Kök Sayısı
0	0	0.0f
	0.01	0.0f
	1	0.0f
	2	0.0f
1	0	0.0f
	0.01	0.40df
	1	1.2bc
	2	0.20ef
2	0	1.2bc
	0.01	1.4b
	1	2.2a
	2	0.2ef
3	0	0.6de
	0.01	0.8cd
	1	0.80ed
	2	0.40df
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.597

Çizelge 4.15 de Çakıldak fındık çeşidine ait kök ortamlarından elde edilen kök sayıları verilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde Çakıldak fındık çeşidinin ise 16 farklı kök deneme ortamlarından elde edilen kök sayılarına bakıldığında istatistiksel olarak önemli farklar olduğu görülmektedir. Bahsi geçen çizelge incelendiğinde oksin kaynağı olarak IBA'nın bulunmadığı kök ortamlarında köklenme olmadığı görülmektedir. Kök sayısı ise en fazla 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren ortamda elde edilmiştir.

Çizelge 4.15. Çakıldak fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren köklenme ortamından elde edilen kök sayısı

IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Kök Sayısı
0	0	0.0d
	0.01	0.0d
	1	0.0d
	2	0.0d
1	0	0.40cd
	0.01	0.6cd
	1	0.80bc
	2	0.40cd
2	0	1.4b
	0.01	1.0bc
	1	2.2a
	2	0.4cd
3	0	0.6cd
	0.01	0.8bc
	1	0.6cd
	2	0.4cd
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.628

Tombul fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren 16 farklı kök ortam denemelerinden elde edilen kök sayısı Çizelge 4.16 de verilmiştir. Söz konusu incelendiğinde içerisinde IBA ve NAA oksinlerini içermeyen ortamlarda kök oluşumu görülmemiştir. En fazla kök oluşumunun ise 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren ortamda elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.16. Tombul fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren köklenme ortamından elde edilen kök sayısı

IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Kök Sayısı
0	0	0.0d
	0.01	0.0d
	1	0.0d
	2	0.0d
1	0	0.6bd
	0.01	0.6bd
	1	0.8ac
	2	0.4bd
2	0	1.0ab
	0.01	0.8ac
	1	1.4a
	2	0.8ac
3	0	0.6bd
	0.01	1.4a
	1	0.6bd
	2	0.2cd
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.623

4.4.2. Farklı Dozlardaki IBA ve NAA Uygulamalarının Eksplant Başına Düşen Ortalama Kök Uzunluğuna Etkisi

Çizelge 4.17 de Foşa fındık çeşidine ait farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren kök ortam denemelerinde kök uzunluklarından elde edilen sonuçlara bakıldığında istatistiksel olarak önemli farklar olduğu görülmektedir. Söz konusu çizelge incelendiğinde IBA ve NAA içermeyen kök ortamlarında kök oluşmadığı görülmektedir. En uzun kök uzunluğuna ise 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA kombinasyonunu içeren kök ortamında elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.17. Foşa fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kök uzunluğu

IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Kök Uzunluğu (mm)
0	0	0.0e
	0.01	0.0e
	1	0.0e
	2	0.0e
1	0	0.0e
	0.01	1.6de
	1	5.0bd
	2	6.0e
2	0	5.6bd
	0.01	8.6b
	1	14.0a
	2	2.0ce
3	0	5.0bd
	0.01	6.0bc
	1	5.6bd
	2	2.6ce
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.4228

Çakıldak fındık çeşidine ait bitkilerin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kök uzunlukları Çizelge 4.18 de verilmiştir. Çizelge 4.18 incelendiğinde Çakıldak fındık çeşidine ait bitkilerde IBA ve NAA'nın bulunmadığı ortam denemelerinde köklenme olmadığı görülmektedir. En uzun kök uzunluğunun ise 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren ortamda elde edildiği söz konusu çizelgede görülmektedir.

Çizelge 4.18. Çakıldak fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kök uzunluğu

IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Kök Uzunluğu (mm)
0	0	0.0d
	0.01	0.0d
	1	0.0d
	2	0.0d
1	0	2.0cd
	0.01	4.0ad
	1	5.0ac
	2	1.6cd
2	0	6.6ab
	0.01	5.6ac
	1	7.6a
	2	4.0ad
3	0	4.0ad
	0.01	6.0ac
	1	3.6ad
	2	3.0bd
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.443

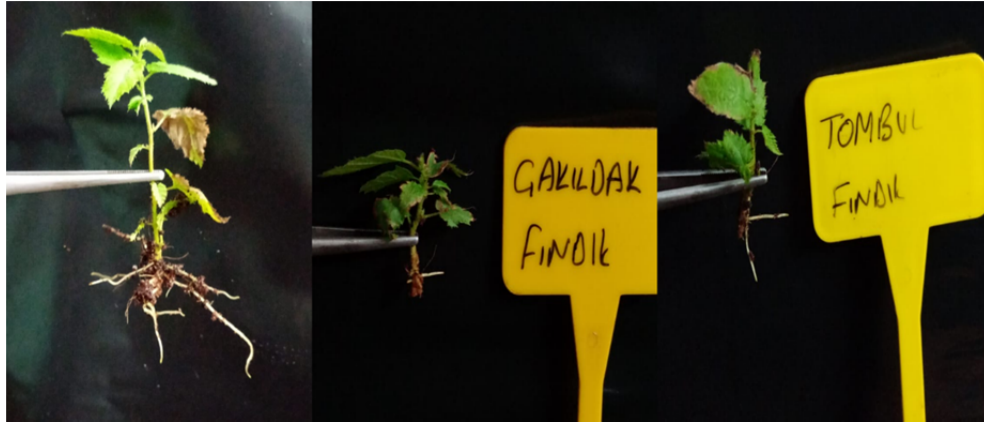
Tombul fındık çeşidine ait farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlardan elde edilen kök uzunlukları Çizelge 4.19’da verilmiştir. Söz konusu çizelge incelendiğinde IBA ve NAA oksinlerini içermeyen ortamlarda kök oluşumu görülmemiştir. En uzun kök uzunluğunun ise 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren kök ortamında ve 3 mg/L IBA ve 0.01 mg/L NAA içeren ortamlarda elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 4.19. Tombul fındık çeşidinin farklı dozlardaki IBA ve NAA kombinasyonlarını içeren ortamlarda elde edilen kök uzunluğu

IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	Kök Uzunluğu (mm)
0	0	0.0e
	0.01	0.0e
	1	0.0e
	2	0.0e
1	0	3.6be
	0.01	4.0ae
	1	5.0ad
	2	1.6de
2	0	7.6ab
	0.01	5.6ad
	1	8.0a
	2	6.0ac
3	0	4.0ae
	0.01	8.0a
	1	3.6be
	2	2.0ce
Prob>f		0.0001
LSD%5		0.4253



Şekil 4.8. Foşa, Çakıldak ve Tombul fındıklarının 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren kök ortamından elde edilen kökleri



Şekil 4.9. Adaptasyon seralarında büyütülen Foşa, Çakıldak ve Tombul fındıklarına ait fotoğraflar



Şekil 4.10. In vitro koşullarda çoğaltılan Foşa fındığın tam otomasyonlu seralarda büyütülmesi

Damiano ve arkadaşlarının (2005) Montebello ve Tonda Gendile Romana fındık çeşitlerinin *in vitro* koşullarda kitlesel üretimi için bir çalışma yürütmüşlerdir. Bu bitkilerin köklenmesi için farklı dozlarda (2.4, 4.9 ve 9.8 μM) IAA, IBA ve NAA gibi farklı oksin kaynakları kullanılmış ve en iyi köklenme ortamı belirlenmiştir. İki çeşit için de köklenmenin en fazla olduğu ortamın 9.8 μM IBA'nın bulunduğu ortam olduğu bildirilmiştir.

Bacchetta ve arkadaşlarının (2008) yılında yapmış oldukları bir çalışmada 6 farklı İtalyan fındık çeşitlerinden Tonda Romana, Tonda Giffoni, Avellena Speciale, Mortarella, Napoletenedda ve Ghirara da *in vitro* koşullarda köklenmeyi sağlamak için 2 farklı köklenme denemesi yapmışlardır. İlk kök denemesinde sürgünlerin bazal kısımlarını 1 mg/L IBA'ya batırıp sürgünlerin uçlarını 20 saniye bekletmişlerdir. Daha sonra sürgünleri hormon bulunmayan HM besisi ortamına ekmişler ve 20 gün bu ortam içerisinde bekletmişlerdir. Diğer kök denemesinde ise 2 mg/L IBA'nın bulunduğu HM ortamına konmuş ve pH, 5.7'ye ayarlamışlardır. Çalışma sonunda sürgün uçlarının IBA'ya batırıldığı kök denemelerinde hiçbir fındık çeşidinde köklenme olmadığı bildirilmiştir. 2 mg/L IBA'nın bulunduğu kök ortamında ise Tonda Romana sürgünlerin %30'unun köklendiği, Tonda Giffoni

sürgünlerinin %20, Mortarella ve Ghirana çeşitlerine ait sürgünlerin ise bu kök ortamında %10 köklendiği Napoletaneda ve Avellana Speciale sürgünlerinde ise kök oluşmadığı bildirilmiştir.

Ellena ve arkadaşlarının (2014) yapmış oldukları çalışmada Tonda Romana çeşidini *in vitro* koşullarda köklenmesi için 4 farklı köklenme denemesi kurmuşlardır. Mikro sürgünlerin *in vitro* koşullarda köklenmesi için farklı dozlardaki (0, 0,25, 0.5 ve 1mg/L) IBA içeren 4 farklı kök denemesi yapılmış ve bu ortamda 25 gün bitkiler köklemesi için bekletilmiştir. En yüksek köklenmenin (%60) 1 mg/L IBA içeren kök ortamında olduğu görülmüştür.

Jyoti (2013) yapmış olduğu tez çalışmasında Geneva ve HF-16 çeşitlerinin köklenmesi için yarı-katı besiyeri, sıvı besiyeri ve TIS ile kök denemeleri kurulmuştur. Her deneme için %2 sükröz,460 uM FeEDDHA içeren ve içermeyen DKW temel besin ortamına farklı dozlardaki IBA (0, 5, 10 ve 15 uM) içeren kök denemeleri kurulmuştur. Yarı katı ortam denemelerinde polimerizasyon için 2.2 g/L gelrite kullanılmıştır. Denemeler sonucunda FeEDDHA'yı içeren ve içermeyen ortamlardaki köklenmeler incelendiğinde iki ortam arasında farklılık olmadığı görülmüştür. Denemeler sonucunda IBA'nın 10 uM üzeri dozlarında köklenme üzerinde olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir. HF-16 çeşidi için 10 uM IBA'nın 3 farklı kök ortamında da en iyi sonucu verildiği görülmüştür. Geneva çeşidi için ise 2.5 uM IBA'nın bulunduğu ve FeEDDHA içermeyen yarı katı besiyerde en iyi köklenme elde edildiği belirtilmiştir.

Sgueglia ve arkadaşlarının (2018) yapmış oldukları çalışmada Carello ve Panottara için 20 g/L sükröz ve 5.6 g/l agar bulunan 1/2 MS temel besin ortamına 9.8 uM ve 17.6 uM IBA içeren iki farklı deneme ortamında 7 gün bekletmiştir. 7 gün sonra bitkileri hormonsuz ve 1:1 oranında vermikulit-agar bulunan MS besin ortamında 30 gün bekletmişlerdir. Eksplantlerin kök sayıları ve köklenme yüzelikleri incelendiğinde iki çeşit için de 17,6 uM IBA içeren kök ortamlarda köklenmenin en fazla olduğu görülmüştür.

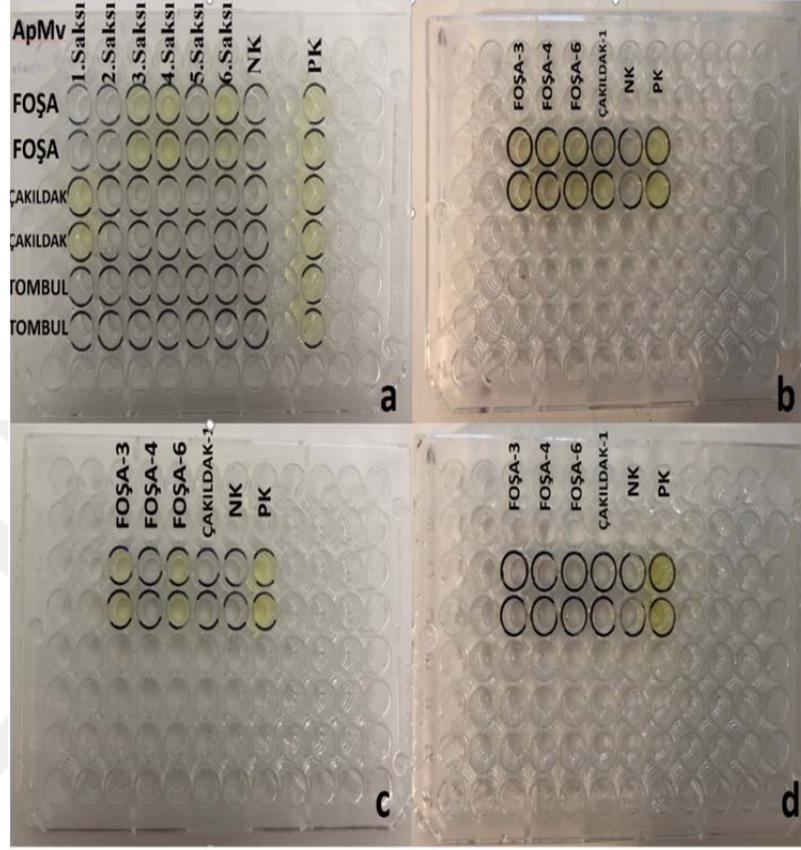
Bu tez çalışmasının kök denemelerinde elde edilen bulguların yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen bulgularla benzerlik gösterdiği görülmektedir. 2 mg /L IBA ve 1 mg/L NAA'nın fındıkta köklenmeyi uyardığı görülmüştür. Fakat yüksek dozlardaki NAA'nın IBA ile kullanımda bitkilerin köklenme üzerinde olumsuz etkisi olduğu bundan kaynaklı ölümler ve tepe yanıklıkları da olduğu görülmüştür.

4.5. Fındıkta ApMV karşı arılık durumlarının Serolojik ve Moleküler Yöntemlerle Elde Edilen Sonuçlar

Beta Fidanın fındık serasında bulunan ve doku kültürü ile çoğaltılması planlanan Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinden yaprak örnekleri alınarak Elma mozaik virüs ile bulaşıklık durumu serolojik ve moleküler testlemeler ile belirlenmiştir.

4.5.1. DAS-ELISA Test Sonuçları

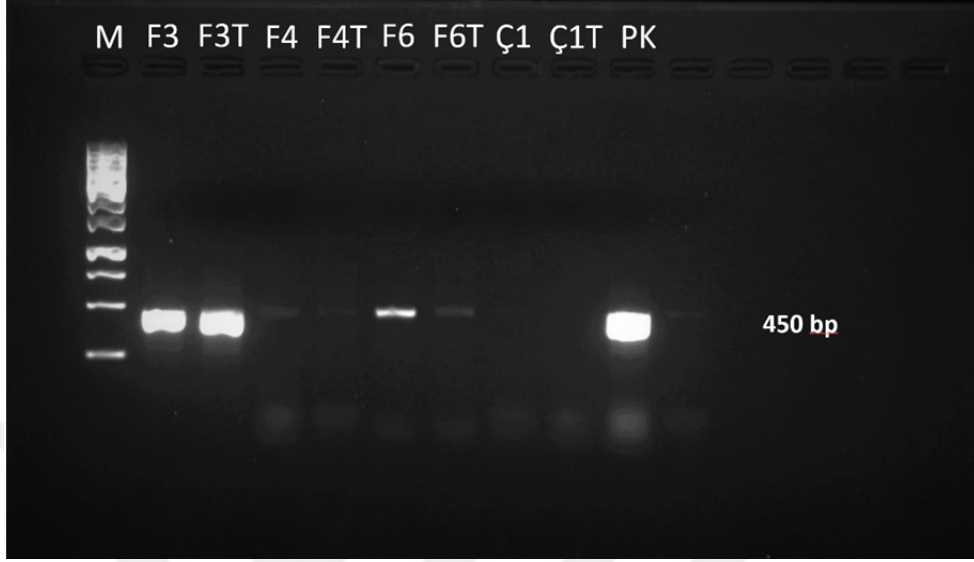
Şekil 4.11-a da verilen fındık serasında 6 saksı Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinden alınan yaprakların ELISA yöntemi ile testlenmesi sonucunda Foşa fındık çeşidinin 3,4 ve 6. saksılarının, Elma mozaik virüsü ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Çakıldak fındık çeşidinin bulunduğu 6 saksıdan 1.saksının bu virüs ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Yine söz konusu foto incelendiğinde Tombul fındık çeşidinde ise tüm fındıkların bu virüsten arı olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.11-a). Şekil 4.11-b de ise Elma mozaik virüsü ile bulaşık olduğu belirlenen bitkilere *in vitro* koşullarda termoterapi uygulanmış ve bu termoterapinin 15. gününde bitkiler tekrar DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Söz konusu şekil incelendiğinde Foşa ve Çakıldak fındıklarının hala virüs ile bulaşık olduğu görülmektedir. Termoterapinin 45.gününde, bitkiler DAS-ELISA yöntemi ile testlenmiştir. Test sonucunda Foşa-4 ve Çakıldak-1'in virüsten arındırıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.11-c). Termoterapinin 90. gününde ise tekrar pozitif olduğu belirlenen bitkiler DAS-ELISA ile testlenmiş ve bu bitkilerin hepsinin virüsten arındırıldığı belirlenmiştir (Şekil 4.11-d).



Şekil 4.11. Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin DAS-ELISA sonucunda elde edilen renk değişimleri

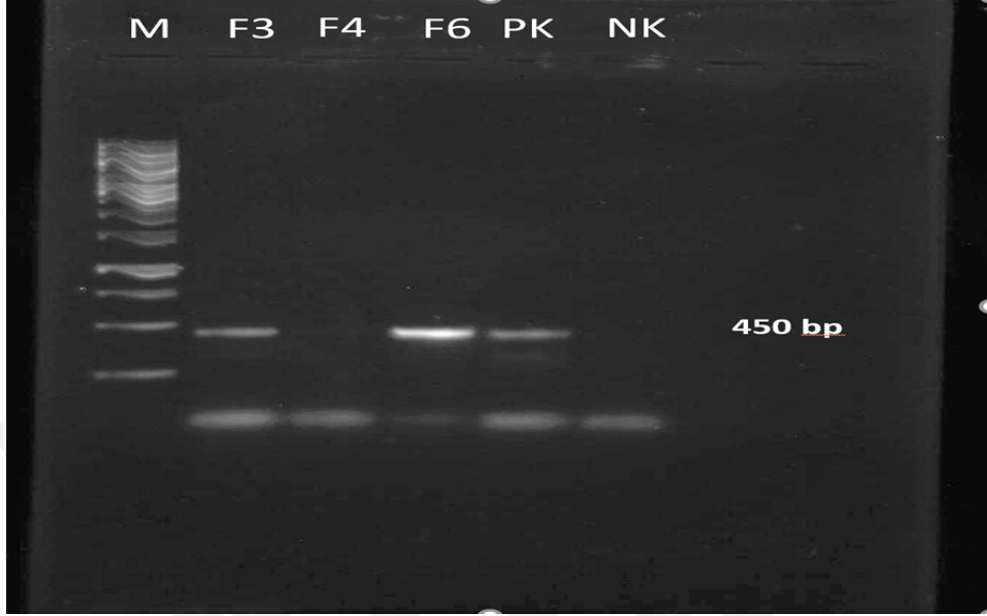
4.5.2. RT-PCR Sonuçları

Termoterapi uygulamalardan sonra Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine ait sürgünlerin Elma mozaik virüsü ile bulaşık olup ve olmadıklarını belirlemek için RT-PCR kurulmuştur. PCR sonucunda termoterapi uygulamasının 45. gününde Foşanın 4. Saksısından alınan bitkilerin ve Çakıldak'ın 1 saksısından alınan bitkilerin virüsten arındırıldığı Şekil 4.12 de görülmektedir. Söz konusu şekil incelendiğinde Foşanın 3 ve 6. Saksısından alınan bitkilerden yapılan PCR sonucunda 450 bp bant oluşturduğu yani bu bitkilerin hala virüs ile enfekte olduğu görülmektedir.



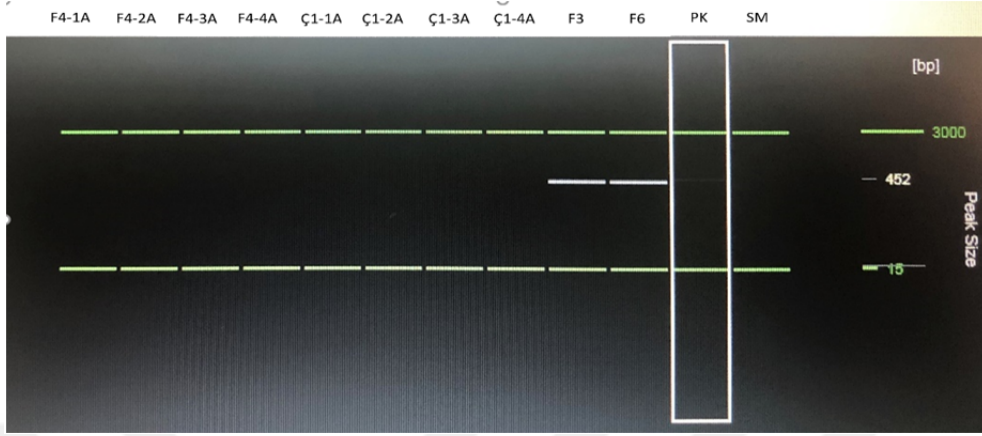
Şekil 4.12. Termoterapi uygulamasının 45.günündeki örneklere ait PCR ürünlerinin jel görüntüsü

Termoterapi uygulamasının 60.gününde alınan yaprak örneklerinden yapılan PCR ürünlerinin %2 lik agar jelde yürütüp UV altında elde edilen görüntü Şekil 4.13 de verilmiştir. Söz konusu şekil incelendiğinde hala Foşa-3 ve Foşa-6'nın virüs ile bulaşık olduğu görülmektedir.



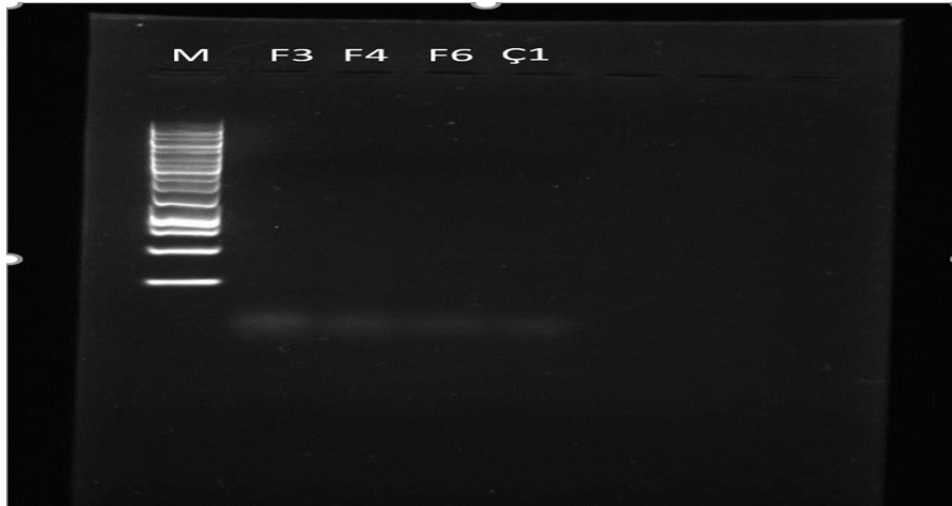
Şekil 4.13. Termoterapi uygulamasının 60. gününde örneklere ait PCR ürünlerinin jel görüntüsü

Şekil 4.14 de termoterapi uygulamasının 75.gününde bitkilerden alınan yaprak örnekleri ile bir önceki uygulamada Elma mozaik virüsünden arındırılmış ve çoğaltım aşamasında olan bitkilerden alınan örnekler ile PCR kurulmuş ve PCR sonucunda elde edilen ürünler QAexcel jel elektroforezi ile yürütülmüştür. Yürütme sonucunda elma mozaik virüsünden arındırılıp çoğaltıma alına örneklerin virüsten ari olduğu bir kez daha kanıtlanmıştır. Foşa-3 ve Foşa-6 bitkilerinin virüs ile bulaşık olduğu görülmektedir.



Şekil 4.14. Termoterapinin 75.gününde yapılan PCR ürünlerinin kapiler jel elektroforezi ile yürütülmesi

Termoterapi uygulamasının 90.gününde daha önceden virüsten arındırılan ve hala virüs ile bulaşık olup termoterapi uygulmasına devam edilen tüm fındıklardan örnek alınıp RT-PCR kurulmuştur. Şekil 4.15 de verilen PCR sonucunda Foşa-3, Foşa-4, Foşa-6 ve Çakıldak-1 bitkilerinin virüsten arındırıldığı kesin olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.15. Termoterapinin 90 gününde yapılan PCR ürünlerinin kapiler jel elektroforezi ile yürütülmesi

Çizelge 4.20. DAS-ELISA ve RT-PCR sonucunda Foşa, Çakıldak ve Tombul fındıklarının Elma mozaik virüsü ile bulaşıklık durumları

Çeşit	Örnek	ApMv (0.Ay)	ApMv (15.gün)	ApMv (45.gün)	ApMv (90.gün)
Foşa	1. Saksı	-	-	-	-
	2. Saksı	-	-	-	-
	3. Saksı	+	+	+	-
	4. Saksı	+	+	-	-
	5. Saksı	-	-	-	-
	6. Saksı	+	+	+	-
Çakıldak	1. Saksı	+	+	-	-
	2. Saksı	-	-	-	-
	3. Saksı	-	-	-	-
	4. Saksı	-	-	-	-
	5. Saksı	-	-	-	-
	6. Saksı	-	-	-	-
Tombul	1. Saksı	-	-	-	-
	2. Saksı	-	-	-	-
	3. Saksı	-	-	-	-
	4. Saksı	-	-	-	-
	5. Saksı	-	-	-	-
	6. Saksı	-	-	-	-

Ayrıca termoterapi uygulanan bitkilerde tepe yanıklığı ve bitkilerde yanma olduğu görülmüştür. Bu bitkiler 10 gün aralıklarla yeni ortama aktarılmış ve tepe yanıklıkları kesilip atılmıştır.

Papstein ve arkadaşlarının (2008) yapmış oldukları çalışmada İadred ve Sapion elma çeşitlerinden, elma klorotik yaprak virüsü (ACLSV), elma gövde yivleme virüsünü (ASGV) ve elma gövde çukurlaşma virüsünde (ASPV) arındırmak için *in vitro* koşullarda termoterapi uygulaması yapmışlardır. Başlangıç aşamasında virüsün varlığını belirlemek için ELISA ve RT-PCR testlemeleri

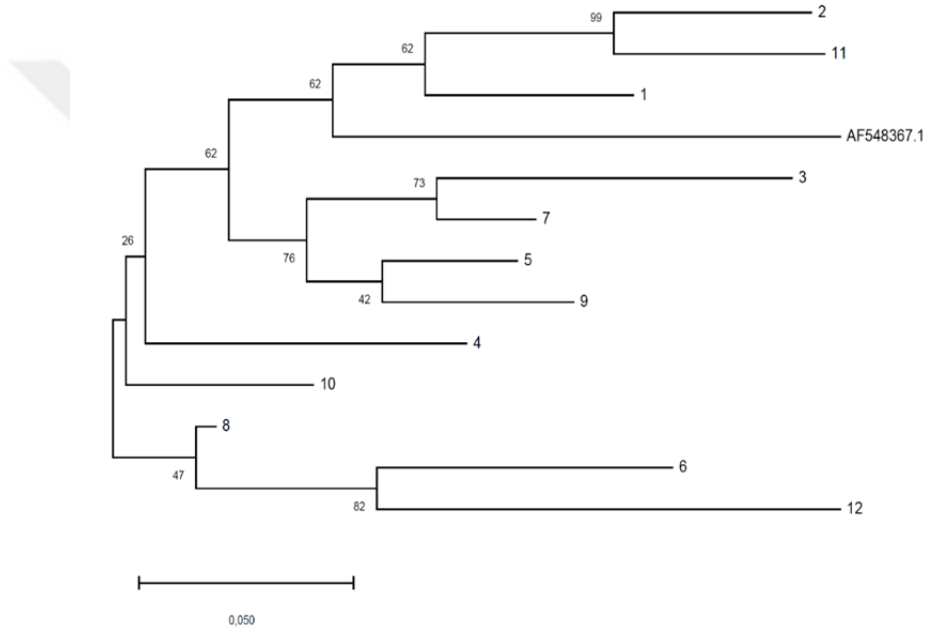
yapılıp bitkilerin bu virüslerle bulaşık olduğu belirlenmiştir. Virüs ile bulaşık bitkiler 1.5 mg/L BAP'ın bulunduğu MS temel besin ortamına alınmıştır. Bu sürgünlere 39°C sıcaklık uygulamasının 6 ve 10. gününde apikal meristemin de bulunduğu kısım alınıp yeni ortama aktarılmıştır ve normal koşullarda büyütülmüştür. *In vitro* koşullarda çoğaltılan bitkilerden yaprak örnekleri alınarak RT-PCR kurulmuştur. Idared çeşidinin % 62.5 nun virüsten arındırıldığı, Sampion çeşidinin ise %44.4'nın bu virüslerden arındırıldığı belirlenmiştir.

Papstein ve arkadaşlarının (2009) yapmış oldukları çalışmada elma gövde çukurlaşma virüsü, (ASPV) ile bulaşık olan Alexander Lucas ve Elektra ayva çeşitlerine termoterapi uygulayarak *in vitro* koşullarda arındırma işlemi yapmışlardır. Bu çalışmada termoterapi uygulamadan önce bitkiler, ASPV açısından DAS-ELISA ve RT-PCR ile testlenmiş ve iki ayva çeşidinin de virüs ile bulaşık olduğu belirlenmiştir. Bu çeşitler 1.5 mg/L içeren MS temel besin ortamına alınmış ve 39°C lik termoterapi uygulaması yapılmıştır. Termo treapinin 5 ve 10. gününde 1-2 mm lik apikal kısım keilmiş ve 1.5 mg/L BAP bulunduğu MS temel besin ortamında ve normal koşullarda çoğaltıma alınmıştır. Çoğaltımın 6. Ayında sürgünlerden yaprak örnekleri alınıp RT-PCR yapılmıştır. Çalışma sonucunda Elekta çeşidinin %67 oranında arındırıldığı, Alexander Lucas çeşidinin ise %17 oranında arındırıldığı belirtilmiştir.

4.6. Filogenetik Analiz

Elma mozaik virüsü ile bulaşık olup pozitif kontrol olarak kullanılan örnekler ELISA ve PCR yöntemi ile bulaşıklığı kontrol edilmiştir. Ayrıca Elma mozaik virüsü ile bulaşık olduğu saptanan örneklerin kısmi sekanslaması yapılmıştır. Bu sekanslar NCBI Gen bankasında kayıtlı diğer sekanslarla karşılaştırılıp filogenetik analizi yapılarak filogenetik ağaç çizilmiştir. Elma mozaik virüsü ile bulaşık olan 12 farklı fındık çeşidinin kayıtlı sekanslarla benzerlik yüzdeleri verilmiştir. 1 nolu izolat Acı fındık çeşidinden elde edilen izolatır. 2 nolu izolat Foşa fındık çeşidinden 3 nolu izolat Çakıldak fındık

çeşidinden, 4 nolu izolat Kara fındık çeşidinden, 5 nolu izolat Allahverdi fındık çeşidinden, 6 nolu izolat Okay 28 fındık çeşidinden, 7 nolu izolat C.colurna-2 yabani fındık çeşidinden, 8 nolu izolat *C. colurna-1* yabani fındık çeşidinden, 9 nolu izolat *C. colurna-4* yabani fındık çeşidinden, 10 nolu izolat *C.colurna-3* yabani fındık çeşidinden, 11 nolu izolat Foşa fındık çeşidinden, 12 nolu izolat ise Tombul fındık çeşidinden elde edilmiştir.



Şekil 4.16. Fındık örneklerinden elde edilen ApMv izolatlarının gen bankasındaki kayıtlı izolat ile karşılaştırılması sonucu çizilen filogenetik ağaç

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması 2018-2020 yıllarında Beta Fidanın doku kültürü laboratuvarında ve tam otomasyonlu seralarında yapılmıştır. Moleküler analizlerde yine aynı firmanın moleküler analiz laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasında fındıkta önemli kayıplara neden olan ApMv virüsünün varlığı DAS-ELISA serolojik ve RT-PCR moleküler testleri ile belirlenmiştir. Testlemeler sonucunda ApMv ile bulaşık olmayan bitkiler direk doku kültürü yöntemi ile çoğaltılırken, virüs ile bulaşık bireylerde ise *in vitro* koşullarda termoterapi uygulanarak bu bireylerde virüsten arındırma çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışmasının başlangıcında Beta Fidan'ın fındık seralarında bulunan Foşa, Çakıldak ve Tombula'a ait 6 saksıdan alınan yaprak örnekleri DAS-ELISA yöntemi ile Elma mozaik virüsü ile bulaşıklık durumları belirlenmiştir.

Araştırma sonucunda Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerine ait en iyi sterilizasyon uygulamasının sürgünlerin çoğunun yaşadığı (%87-96) 10 dakika süre ile %20 NaOCl dozu olduğu tespit edilmiştir.

Foşa ve Tombul için eksplant başına oluşan sürgün sayısı en fazla 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamdna Çakıldak eksplant başına oluşan sürgün sayısı en fazla 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamlardan elde edilmiştir. En uzun sürgün uzunluğu ise Foşa için 4 mg/L BAP ve 0.1 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda elde edilirken, Çakıldak için en uzun sürgün uzunluğu 3 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA'nın bulunduğu ortamda ve Tombul da ise 2 mg/L MT ve 0.2 mg/L IBA ortamında elde edilmiştir. Bu tez çalışması sonucunda fındıkta BAP sitokininin kardeşlenmeye, MT sitokininin sürgün uzunluğu ve kardeşlenme üzerinde etkisi olduğu belirlenmiştir. Ayrıca MT'nin yüksek dozlarının olumsuz etkisi olduğu bitkilerde geriye dönük ölümler gözlenmiştir.

Farklı köklenme ortamlarında Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitleri için en fazla kök sayısı 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren ortamlardan elde

edilmiştir. Kök uzunluğunda ise en iyi değerler Foşa, Çakıldak ve Tombul için 2 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA içeren ortamda elde edilmiştir.

Fındık çeşitlerinde köklenme ortamlarından elde edilen verilere göre IBA'nın kullanılmadığı sadece NAA olduğu köklenme ortamlarında kök oluşumu olmadığı görülmüştür. Ayrıca köklendirme aşamasında yüksek dozdaki NAA'nin köklenme üzerinde olumsuz etkisi olduğu ve köklendirmeyi azalttığı görülmüştür. Sonraki araştırmalar için bu deneme ortamlarının yanında farklı sürelerde karanlık ve aydınlıkta bekletip köklenme durumlarının belirlenmesi önerilir.

Elma mozaik virüsü ile bulaşık olduğu belirlenen fındıklara *in vitro* koşullarda termoterapi uygulaması yapılmıştır. Tüp içerisinde buluna sürgünler 16 ışıktta 8 saat ise karanlıkta bekletilmiştir. Sadece karanlıkta bekletilen bitkilerin yanıp öldüğü görülmüştür. RT-PCR sonucunda termoterapi uygulamasının 45. gününde bitkilerin ApMv den arınmaya başlandığı saptanmıştır. Termotrapinin 90. gününden sonra bitkilerde ölümler olduğu bu yüzden termoterapinin 45. günden sonra bitki gelişimi üzerinde olumsuz etkisi olduğu ifade edilebilir. Ayrıca virüsten arındırılan bitkilerin doku kültürü yöntemi ile çoğaltım aşamasındaki bitkilerin gelişiminin oldukça yavaş olduğu görülmüştür. Bundan sonraki araştırmalarda bitki gelişimini hızlandırmak için *in vitro* koşullarda virüs veya viroid arındırmak için mikro aşı önerilmektedir.

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçları Foşa, Çakıldak ve Tombul fındık çeşitlerinin çoğaltımı için bitki doku kültürü yönteminin uygulanabilirliğini göstermiştir. Ayrıca Elma mozaik virüsü ile bulaşık olan fındıkların *in vitro* koşullarda termoterapi ile arındırılıp doku kültürü ortamında çoğaltılabildiği de görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Achim, G., Godeanu, I., Baiciu, A. 2000. Research on clonal propagation of hazelnut in valcea-romania. V International Congress on Hazelnut 556. Acta Horticulturae 556: 281-286.
- Acı, F., & Beyhan, N. (2018). Fındığın Tepe Daldırması Yöntemi ile Çoğaltılması. Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi, 4(1), 1-12.
- Akbaş B. and İlhan D. 2005. Widespread distribution of apple mosaic virus on apple in Turkey. Plant Disease 89 (9): 1010.
- Akbaş B. And Değirmenci, K. 2010. Simultaneous detection of Apple mosaic virus in cultivated hazelnuts by one-tube RT-PCR. African Journal of Biotechnology 9(12): 1753-1757
- Al Kai, H. 1984. Multiplication in vitro du noisetier (Corylus avellana L.). Ph.D. dissertation, University de Bordeaux: 1984.
- Anonim. 2002. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı İzmir İl Müdürlüğü. Bitki Koruma El Kitabı. 352 İzmir, 536.
- Arlı Sökmen, M., M.A. Şevik ve M.A. Yıl-maz, 2004. Samsun'da Fındık (Corylus avellana L.) Alanlarının Elma mozayik virüsü (ApMV) ile Bulaşıklık Durumunun Belir-lenmesi. Türkiye I. Bitki Koruma Kong. Bil-dirileri, 8-10 Eylül, Samsun, Türkiye. 173 s.
- Arıkan, F., 1963. Fındık Ziraatının Gelişme İmkânları. Tarım Bakanlığı Mesleki Kitaplar Serisi, Güzel Sanatlar Matbaası, Ankara, 64 s.
- Ayfer, M., Uzun, A., Baş, F. 1986. Türk fındık çeşitleri. Karadeniz Bölgesi Fındık ve Mamülleri İhracatçıları Birliği Yayınları, Ankara s.95.
- Bacchetta, L., Aramini, M., Bernardini, C., Rugini, E. 2008. In vitro propagation of traditional Italian hazelnut cultivars as a tool for the valorization and conservation of local genetic resources. Hortscience 43(2): 562-566.
- Bassil, N., Mok, D., Mok, M., Rebhuhn, B. 1991. Micropropagation of the hazelnut, Corylus avellana. Acta Horticulturae 300:137-140.

- Barut E., 2012. Meyvecilik Tekniği (Editörler: R. Gerçekcioğlu, Ő. Bilgener ve A. Soylu) Genel Meyvecilik (Üçüncü Baskı), Nobel Yayıncılık, 111-155, Ankara
- Beyhan, N., Demir, T., Turan, A. 2007. İlkbahar Dönemi İklim Koşullarının Fındığın Verim ve Gelişmesi Üzerine Etkileri. Türkiye V. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü. Cilt:1 Meyvecilik. 04-07 Eylül 2007, Erzurum.
- Bol, J.F., van Vloten-Doting, L., Jaspars, E.M.J. 1971. A functional equivalence of top component RNA and coat protein in the initiation of infection by Alfalfa mosaic virus. *Virology*. 4: 73-85
- Bostan, S.Z., 1998. Bazı Önemli Fındık Çeşitlerinde Tohum Taslağı Gelişimi Üzerine Bir Araştırma. *Türk Tarım Ve Ormancılık Dergisi*, 22: 295-298.
- Bostan, S.Z., Karadeniz, T., Yarılgaç, T., İslam, A. 2008. Modern Fındık Tekniklerinin Uygulanmasına Yönelik Eğitim Projesi Ders Notları. (Editörler: Levent Kırca, Tuba Bak).
- Bozkurt, E. 2010. Çakıldak Fındık Çeşidinde Rakım, Yıl ve Bahçelere Göre Verimin Değişimi Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı.
- Bozoğlu, M., Başer, U., Topuz, B. K., Eroğlu, N. A. (2019). An Overview of Hazelnut Markets and Policy in Turkey. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(5), 733-743.
- Brunt, AA., K. Crabtree, M.J. Dallwitz, A.J. Gibbs and L. Watson, 1996. *Viruses of plants*. University Press Cambridge, England, pp: 100-105.
- Caboni, E., Frattarelli, A., Giorgioni, M., Meneghini, M. and Damiano, C. 2009. Improving micropropagation of hazelnut Italian cultivars through temporary immersion system. VII international congress on hazelnut 845, 255-260.

- Cecilia, C., Valentini, N., Caviglione, M., Botta, R. 2011. Propagation of *Corylus avellana* L. by Means of Semi-hardwood Cutting: Rooting and Bud Retention in Four Italian Cultivars. *European Journal of Horticultural Science*.
- Cieslinska, M., Vlasevich, N. 2016. Characterization of Apple mosaic virus isolates detected in hazelnut in Poland. *Journal of Plant Diseases and Protection* 123(4): 187-192.
- Clark, M.F. and Adams, A.N. 1977. Characteristics of microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475-483.
- Cristofori, V., Roupheal, Y., Rugini, E. 2010. Collection time, cutting age, IBA and putrescine effects on root formation in *Corylus avellana* L. cuttings. *Scientia Horticulturae* 124(2): 189-194.
- Cosmulescu, Botu, M., Trandafir, I. (2013). The mineral source for human nutrition of nuts in different hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 250-254.
- Çağlayan, K., Ulubaş, Ç., Gazel M. and Jelkmann W. 2003. First report on molecular identification of apple viruses in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology* 32 (2): 57-61.
- Damiano, C., La Starza, S., Monticelli, S., Gentile, A., Caboni, E., Frattarelli, A. 2005. Propagation of *Prunus* and *Malus* by temporary immersion. Pages 243-251 in: *Liquid culture systems for in vitro plant propagation*. Springer, Netherlands.
- Debergh, P. C. and Zimmerman, R. H. 1990. *Micropropagation: Technology and application*. Kluwer Academic Publishers.
- Demir, T., 2004. Türk Fındık Çeşitlerinin RAPD Markörleri ve Pomoljik Özellikleri ile Tanımlanarak Çeşitler Arındaki Akrabalık İlişkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 207 s.

- Díaz-Sala, C., Rey, M., Rodríguez, R. 1990. In vitro establishment of a cycloclonal chain from nodal segments and apical buds of adult hazel (*Corylus avellana* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 23(3): 151-157.
- Dursunoğlu, S. ve Ertunç, F. 2008. Distribution of apple mosaic ilarvirus in Turkey. *Acta Horticulturae* 781 :131-135,
- Ercisli, S. and Read, P. 2001. Propagation of hazelnut by softwood and semi-hardwood cuttings under Nebraska conditions. V International Congress on Hazelnut 556. *Acta Horticulturae* 556: 275-280.
- Erdoğan, V. and Smith, D. C. 2005. Application on rooting of hazelnut layers. *Hortscience* 40(5): 1457-1460.
- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018, <http://www.fao.org/faostat>.
- Foissac X, L. Svanella-Dumas, M.J. Dulucq, P. Gentit, and T. Candresse. 2001. Polyvalent detection of fruit tree tricho, capillo and foveaviruses by nested RT-PCR using degenerated and inosine containing primers (PDO RT-PCR). *Acta Hort*, 550: 37–43.
- Gao, X., Liu, J., Ling, Q. 2008. Tissue culture and rapid propagation of hybrid hazelnut (*Corylus heterophylla* x *C. avellana*). *Acta Horticulturae* 771(2): 207-211.
- Hand, C., Maki, S., Reed, M.R. 2014. Modeling optimal mineral nutrition for hazelnut amicropropagation. *Plant cell tiusseu and organ culture*. 119: 411–425
- Hartmann, H. T. and Kester, D. E. 1968. *Plant propagation: Principles and practices*. *Plant Propagation: Principles and Practices*. In: Hartmann, H.T., ead (2). *Plant propagation*: New Jersey: Prentice-Hall Publisher.
- Hassan, M., Myrta, A. and Polak, J. 2006. Simultaneous detection and identification of four pome fruit viruses by one-tube pentaplex RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 133(2), 124–129.

- Kantarıcı, M. and Ayfer, M. 1992. Propagation of some important turkish hazelnut varieties by cuttings. III International Congress on Hazelnut 351. Acta Hort. 351: 353-360.
- Kaplan, N. 2020. Çakıldak Fındık Çeşidinin in vitro Sürgün Ucu Kültürü ile çoğaltılması. OÜ Fen Bilimleri Ent. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ordu.
- Karadeniz, T., Bostan, S.Z., Tuncer, C., Tarakçıoğlu, C. 2009. Fındık Yetiştiriciliği. Zir. Odası Başkanlığı Bilimsel Yayınlar Serisi Yayın No: 1.
- Köksal, A. İ. 2002. Türk Fındık Çeşitleri. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara. ISBN 975-92886-0-5.
- Kayalak S. 2009. ‘‘Türkiye Fındık Piyasasındaki Ekonomik Değişkenlerin Yapısal Değişimi ve Zaman Serisi Analizi’’,Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım Ekonomisi Anabilim Dalı Yayınlanmış Doktora Tezi.
- Kocaçalışkan, İ., (2002), Bitki doku kültürleri (Organ, Doku ve Hücre), DPÜ, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kütahya, (ISBN:978-975-8201-47-6)
- Korac, M., Ninic-Todorovic, J., Cerovic, S., Golosin, B. 1996. Results of hazel grafting on turkish filbert (*Corylus colurna* L.). IV International Symposium on Hazelnut 445. Acta Horticulturae 445: 419-422.
- Kosenko, I.S., Boyko, A.L., Opalko, A., Nebykov, M.V., Tarasenko. 2009, Micropropagation of *Corylus colurna* L. Acta horticulturae 845: 261-266
- İslam, A., Özgüven, A.I. 1997. Türkiye’ de Fındık Yetiştiriciliği. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 12(4):165-174.
- İslam, A., 2001. Türkiye Fındık Yetiştiriciliğinde Fidan Kullanımı. I. Ulusal Fidancılık Sempozyumu, <http://www.agr.ege.edu.tr/~fitekno>
- İslam, A., 2018. Türkiye’de Fındık Fidancılığı. TürkTob Dergisi, 27:28-32.
- İslam, A., Öger, İ., Karagöl, S., Turan, A. Farklı IBA uygulamalarının *Corylus colurna* L.’nin odun çelikleriyle köklenmesi üzerine etkisi. Akademik Ziraat Dergisi, 8, 45-48.

- Gentile, A., Frattarelli, A., Nota, P., Condello, P., Cobani, E. 2016. The aromatic cytokinin meta-topolin promotes in vitro propagation, shoot quality and micrografting in *Corylus colurna* L. *Springer* 128: 693-703.
- Gümüş, M., Paylan, I., Al-Rwahnih, M. and Mryta, A.A. 2008. Preliminary survey for viruses and viroids of western Anatolia cherry industry in Turkey. *Acta Horticulturae* 943-945
- Hatipoğlu, R., 1995. *Biyoteknolojiye Giriş. ukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 129, Ders Kitabı, Adana, 114s.*
- Howell, W. E., Parish, C. L., and Mink, G. I. 1991. *Compendium of Apple and Pear Diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, S. 77.*
- Lagerstedt, H. 1970. Filbert propagation techniques. *Ann.Rpt.Nut Growers Assn* 66: 61-67.
- Lagerstedt, H. 1981. A new device for hot-callusing graft unions [fruit and nut trees]. *Hortscience* 16(4): 529-530.
- Marangoz, D. 1999. *Fındığın Dllenme Biyolojisi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahe Bitkileri Bölümü, Yüksek Lisans Tezi.*
- Mardani, N., Khadivi, A., Vatanpour-Azghandi, A. 2020. Micropropagation of Three Commercial Cultivars of Hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Gesunde Pflanzen*, 72(1), 41-46.
- Nas, M. N. and Read, P. E. 2001. Micropropagation of hybrid hazelnut: Medium composition, physical state and iron source affect shoot morphogenesis, multiplication and explant vitality. *Acta Hort.* 556(36): 252-257.
- Nas, M. N. 2003. Inclusion of Polyamines in the Medium Improve Shoot Elongation in Hazelnut (*Corylus avellana* L.) Micropropagation. *Turk J Agric For*, 28: 189-194
- Nas, M. N. and Read, P. E. 2004. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Scientia Horticulturae* 101(1): 189-200.

- Nemeth, M. 1986. Virus, Mycoplasma and Rickettsia Diseases of Fruit Trees. Budapest Hungary s:43-50,153-223.
- Sgueglia, A., Gentile, A., Frattarelli, A., Urbinati, G., Germanà, M. A., & Caboni, E. (2019). Micropropagation of Sicilian cultivars with an aim to preserve genetic diversity in hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(5), 720-724
- Papstein, F., Sedlak, J., Polak, J., Svobodova, L., Hassan, M. and Bryxiova, M. 2008. Results of *in vitro* thermotherapy of apple cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 94(3):347-352.
- Papstein, F., Sedlak, J., Talacko, L., Svobodova, L., Zeman, P., Polak, J. and Hassan, M. 2009. Preliminary Results of *In Vitro* Thermotherapy of Pear Cultivars. *Acta Hort.* 839(839):261-267.
- Pierik, R.L.M. (1997) *In vitro* culture of higher plants. 4th ed. Kluwer, Dordrecht. 348 p.
- Pincelli-Souza, R.P., Tillmann, M., Esler, M., Alves, C.C.D., Cohen, J.D. 2018. Hybrid hazelnut: micropropagation, rooting and acclimatization. *Acta Horti*.
- Polat, S. (2014). Türk Fındığı (*Corylus colurna*)'nın Türkiye'deki yeni bir yayılış alanı.
- Sandoval Prando, M., Chiavazza, P.M., Cecilia, C., Faggio, A. 2014. Effect of coconut water and growth regulator supplements on *in vitro* propagation of *Corylus avellana* L. *Scientia Horticulturae* 171:91–94
- Santelices, R. and Palfner, G. 2010. Controlled rhizogenesis and mycorrhization of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cuttings with black truffle (*tuber melanosporum* vitt.). *Chil J Agric Res* 70(2): 204-212.
- Silvestri, C., Rugini, E., & Cristofori, V. 2020. The effect of CuSO₄ for establishing *in vitro* culture, and the role nitrogen and iron sources in *in vitro* multiplication of *Corylus avellana* L. cv. Tonda Gentile Romana. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 154(1), 17-23.

- Smith, C. H., Rooisen, J., van Vloten-Doting, L. and Jaspars, E.M.J. 1981. Evidence that Alfalfa mosaic virus infection starts with three RNA-protein complexes. *Virology*, 112:169
- Şevik, M.A. 2009. Fındıkta (*Coryllus avellana* L.) yaygın bir virüs: Elma mozayik virüsü (Apple mosaic virus;ApMV). *Bahçe* 38 (2): 15-19.
- Şevik, M.A. 2015. Occurrence and distribution of Apple mosaic virus on hazelnut cultivars in Giresun, Turkey. *Biosci. J., Uberlândia*, 31(5): 1307-1311,
- Orem, A., Yucesan, F. B., Orem, C., Akcan, B., Kural, B. V., Alasalvar, C., & Shahidi, F. 2013. Hazelnut-enriched diet improves cardiovascular risk biomarkers beyond a lipid-lowering effect in hypercholesterolemic subjects. *Journal of clinical lipidology*, 7(2), 123-131.
- Özkurt, S.A. 1950. Fındık Ekimi, Bakımı, Fındıklara Zarar Veren Böcekler Mücadelesi, Hastalıkları, Tedavisi ve Fındığın Ekonomideki Durumu. Tarım Bakanlığı Neşriyat Müdürlüğü, Sayı: 676, 80s.
- TÜİK, Türkiye İstatistik Kurumu, 2018, <http://www.tuik.gov.tr>.
- Turan A., ve İslam, A. (2016). Çakıldak fındık çeşidinde kurutma ortamları ve muhafaza süresine bağlı olarak meydana gelen değişimler. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 6(2), 272-285.
- Thomson, G. and Deering, T. 2011. Effect of cytokinin type and concentration on in vitro shoot proliferation of hazelnut (*Coryllus avellana* L.). *N. Z. J. Crop Hortic. Sci.* 39(3): 209-213.
- Thorpe, T. A. and Harry, I. S. 1990. Special problems and prospects in the propagation of woody species. in: *Plant aging*. Springer Pages 67-74 .
- TMO, Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü, 2018, <http://www.tmo.gov.tr>
- Ughini, V., Roversi, A. 2005. Adventitious root formation course in hazelnut hardwood cuttings as a consequence of forcing treatments. *Acta Hortic.* 686: 227-234.

- Ulubaş Ç., Ertunç F. 2003. The use of RT-PCR for Specific detection of Apple mosaic virüs (ApMV) in apple. *Journal of Turkish Phytopathology* 32 (2):91-97
- Wu, S. 2013. Nursery techniques influence the growth of hazelnuts. Master's thesis. University of Guelph, ON .
- Yardımcı, N. and Cural, H. 2009. Occurence and incidence of Prunus Necrotic Ringspot Virus, Arabis Mosaic Virus and Apple Mosaic Virus in oil rose in lakes region of Turkey. *New Zealand Journal of Crop And Horticultural Science* 37 (2): 95- 98
- Yılmaz, M. 2009. Bazı fındık çeşit ve genotiplerinin pomolojik, morfolojik ve moleküler karakterizasyonu. ÇÜ Fen Bil Ent. Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Doktora Tezi. Adana.
- Yu, X. and Reed, B. M. 1995. A micropropagation system for hazelnuts (*Corylus* species). *Hortscience* 30(1): 120-123.
- Zeki, C., 1991. Elma Bahçelerinde Entegre Mücadele Teknik Talimatı. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü, Ankara, 81s.
- Zhao L., Z Cui Z and Chen L. 2018. Combining Thermotherapy with Cryotherapy for Efficient Eradication of Apple stem grooving virus from Infected In-vitro-cultured Apple Shoots. *Plant Disease*, 102:1574-1580.



ÖZGEÇMİŞ

1994 tarihinde Van'da doğdu. 2012 yılında Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik bölümünde lisans eğitimine başlayıp, 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim dalında Prof. Dr. Ebru KAFKAS danışmanlığında Yüksek Lisans eğitimine başladı.

