

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Fatimah HASAN ALİ DAGMAN**

**BAZI MEYVE ANAÇLARININ KLASİK DOKU KÜLTÜRÜ VE  
YENİ NESİL GEÇİCİ DALDIRMA BİYOREAKTÖR SİSTEMİ  
İLE MİKROÇOĞALTIMI**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**ADANA-2019**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI MEYVE ANAÇLARININ KLASİK DOKU KÜLTÜRÜ VE YENİ  
NESİL GEÇİCİ DALDIRMA BİYOREAKTÖR SİSTEMİ İLE  
MİKROÇOĞALTIMI**

**Fatimah HASAN ALİ DAGMAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Bu Tez 08/02/2019 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından  
Oybirliği/Oyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....  
Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR  
DANIŞMAN

.....  
Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ  
ÜYE

.....  
Doç. Dr. Pembe EVCI ÇÜRÜK  
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

**Kod No:**

**Prof. Dr. Mustafa GÖK  
Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç. Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.**

**Proje No: FYL-2018-10622**

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI MEYVE ANAÇLARININ KLASİK DOKU KÜLTÜRÜ VE YENİ  
NESİL GEÇİCİ DALDIRMA BİYOREAKTÖR SİSTEMİ İLE  
MİKROÇOĞALTIMI**

**Fatimah HASAN ALİ DAGMAN**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR

Yıl: 2019, Sayfa: 47

Jüri : Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ

: Doç. Dr. Pembe EVCİ ÇÜRÜK

Tez çalışmasında, farklı Prunus anaçlarının (Myrobolan ve Garnem) *in vitro* koşullarda mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine yeni nesil doku kültürü tekniklerinden biri olan Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminin, klasik doku kültürü tekniklerine göre etkisinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Her iki sistemde mikroçoğaltım denemelerinde 1 mg/l BA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Mikroçoğaltım denemelerinde genotiplere ait kardeş sayısı (kardeş/bitki), bitki boyu (cm), yaprak sayısı (adet), yaş ağırlık (mg) ve kuru ağırlık (mg) parametreleri incelenmiştir. Her iki sistemde köklenme denemelerinde 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Köklenme denemelerinde bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (adet), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) parametreleri incelenmiştir. Ayrıca, mikroçoğaltım ve köklenme denemelerinde bitkilerin genel durumları değerlendirilmiştir. Myrobolan ve Garnem anacında katı kültür ve Plantform sistemi köklenme denemelerinde bitkilerin köklenme oranı %100 olarak belirlenmiştir. Tez çalışmasında kullanılan her iki genotip için Plantform sisteminde gelişen bitkilerin genel görünümünün katı kültüre göre daha sağlıklı ve gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Plantform Geçici Daldırma Biyoreaktör Sistemi, Myrobolan, Garnem, MS, Bitki Doku Kültürü

## ABSTRACT

### MSc THESIS

# MICROPROPAGATION OF SOME FRUIT ROOTSTOCK WITH CLASSICAL AND NEXT GENERATION TEMPORARY IMMERSION BIOREACTOR SYSTEM

Fatimah HASAN ALİ DAGMAN

ÇUKUROVA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR

Year: 2019, Pages: 47

Jury : Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ

: Assoc. Prof. Dr. Pembe EVCİ ÇÜRÜK

In this study, aimed to determined the effect of Plantform temporary immersion bioreactor system, which is one of the next generation tissue culture techniques on micropropagation and rooting of different Prunus rootstocks (Myrobolan and Garnem) in *in vitro* conditions, comparatively with classical tissue culture techniques. In both systems, MS medium containing 1 mg/l BA was used in micropropagation experiments. In micropropagation assays, micropropagation rate (shoot/plant), plant height (cm), number of leaves (pieces), fresh weight (mg) and dry weight (mg) of genotypes were investigated. In both systems, MS medium containing 1 mg/l IBA was used in rooting experiments. Plant height (cm), root length (cm), root number (number), fresh weight (g) and dry weight (g) parameters were investigated. In addition, the general conditions of the plants were evaluated in micropropagation and rooting experiments. The rooting rate of the plants in Myrobolan and Garnem rootstocks was determined as 100%. For the two genotypes used in the thesis study, it was found that the overall appearance of the plants in the Plantform system was better than the solid culture and their development was better.

**Key words:** Plantform Temporary Immersion Bioreactor Systems, Myrobolan, Garnem, MS, Plant Tissue Culture

## GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Ülkemizde *Prunus* cinsine ait meyve gruplarından şeftali ve nektarin için Garnem, GF-677 ve Cadaman anaçları, kayısı ve erik için Myrobalan erik anacı yaygın olarak kullanılmaktadır. Meyve türlerinin yetiştiriciliğinde kullanılan anaçlar çeşidin gelişimini, verimini, kalitesini, hastalık ve zararlılara dayanımını, erkenciliğini ya da geçiciliğini etkilemektedir. Sert çekirdekli meyvelerin yetiştirilmesinde, mahlep çöğürleri, yabani kiraz, şeftali yozları, erik, badem, kiraz, garnem ve nemaguard uzun yıllar anaç olarak kullanılmıştır.

Klasik doku kültürü teknikleri olarak adlandırdığımız agar vb ile katılaştırılmış besi ortamları, kitlesel üretimde başarıyı sağlayan ve ticari laboratuvarlarda sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. Katı kültürler gerek yüksek işgücü gerek girdi maliyeti ile *in vitro* çalışmaları güçleştirebilmektedir. Katı kültürlere alternatif olarak geçici daldırma yöntemi geleneksel yarı-katı ve sıvı besi ortamlarının avantajlı yönlerini kombine eden bir sistemdir. Geçici daldırma yöntemi ile ilgili pek çok prototip geliştirilmiş olup, bunlar arasında son yıllarda geliştirilen geçici daldırma yöntemi esasına dayanan "Plantform" sisteminde kültür kaplarında bağımsız havalandırmaya odaklanılmıştır.

Tez kapsamında, farklı *Prunus* anaçlarının (Myrobolan ve Garnem) *in vitro* koşullarda mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine yeni nesil doku kültürü tekniklerinden biri olan Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminin, klasik doku kültürü tekniklerine göre etkisi test edilmiştir. Plantform biyoreaktör sisteminde bütün denemeler için, daldırma süresi 4 saatte 10 dk, havalandırma süresi ise 4 saatte 15 dk olacak şekilde ayarlanmıştır.

Katı kültür ve Plantform sistemi mikroçoğaltım denemelerinde 1 mg/l BA (Benziladenin) içeren MS (Murashige ve Skoog) besin ortamı kullanılmıştır. Mikroçoğaltım denemelerinde genotiplere ait kardeş sayısı (kardeş/bitki), bitki boyu (cm), yaprak sayısı (adet), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) parametreleri incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin genel durumları değerlendirilmiştir.

Myrobolan anacında mikroçoğaltım denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin kardeş sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Çalışmada incelenen diğer parametrelerin ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Garnem anacının mikroçoğaltım denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin kardeş sayısı, bitki boyu, yaş ağırlık ve kuru ağırlık üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P < 0.001$ ), yaprak sayısı önemsiz bulunmuştur.

Katı kültür ve Plantform sistemi köklendirme denemelerinde 1 mg/l IBA (İndol bütirik asit) içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Köklenme denemelerinde genotiplere ait bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (adet), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) parametreleri incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin genel durumları değerlendirilmiştir.

Myrobolan anacının köklenme denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin bitki boyu (cm), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P < 0.001$ ), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (adet), üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur. Garnem anacında köklenme denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin bitki boyu, kök uzunluğu, kök sayısı, yaş ağırlık ve kuru ağırlık üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Myrobolan ve Garnem anaçlarının köklenme oranı hem katı kültür hem de Plantform sisteminde %100 olarak belirlenmiştir. Mikroçoğaltım ve köklendirme denemeleri genel olarak değerlendirildiğinde, hem Myrobolan hem de Garnem anacında, Plantform sisteminde gelişen bitkilerin katı kültürde gelişen bitkilere oranla daha kuvvetli ve sağlıklı olduğu tespit edilmiştir.

Çalışma sonunda Plantform'un, mikroçoğaltım ve köklenme uygulamalarında iyi bir potansiyele sahip olabileceği belirlenmiştir. Sonuç olarak, Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminin, klasik *in vitro* mikroçoğaltım ve köklenme sistemine göre daha düşük maliyet, daha az işçilik gerektirdiği, kısa zamanda kaliteli ve kitlesel çoğaltımın yapılabileceği belirlenmiştir.

## TEŞEKKÜR

Tanımdan onur duyduğum, öğrencisi olma fırsatı verdiği için minnettar olduğum, yapıcı ve yönlendirici fikirleri ile yol gösteren, her konuda desteğini, yardımlarını ve deneyimlerini esirgemeyen, Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a sonsuz sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin değerlendirilmesine emek harcayan hocalarım Sayın Prof. Dr. N. Yeşim YALÇIN MENDİ ve Sayın Doç. Dr. Pembe EVCİ ÇÜRÜK'e çok teşekkür ederim.

Yüksek Lisans çalışmalarım esnasında bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne, verilerimin değerlendirilmesi ve laboratuvar analizlerimde bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Dicle DÖNMEZ, Dr. Özhan ŞİMŞEK ve Biyolog Emine AÇAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın laboratuvar aşamasında bana yardımcı olan Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanları Zir. Yük. Müh. Belgin BİÇEN, Tütün Tek. Müh. Hakan MANSUR, Fatma KARA ve Eda ARSLANKILIÇ'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca bana maddi ve manevi destek ve motivasyon sağlayan sevgili eşime sonsuz teşekkür ederim. Son olarak varlıkları ile bana güç veren, her daim beni destekleyen, beni benden çok düşünen fedakâr ailemin her bir üyesine sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZ .....	I
ABSTRACT .....	II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET .....	III
TEŞEKKÜR .....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	X
KISALTMALAR .....	XII
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	7
2.1. Prunus Türlerinde Klasik Yöntemlerle Yürütülen Doku Kültürü Çalışmaları ..	7
2.2. Geçici Daldırma Biyoreaktör Sistemleri ile Yürütülen Çalışmalar .....	9
3. MATERYAL VE METOD .....	17
3.1 Materyal .....	17
3.1.1 Bitkisel Materyal .....	17
3.2 Metod .....	19
3.2.1 Bitkisel Materyalin Sterilizasyonu .....	19
3.2.2 Besin Ortamı .....	19
3.2.3 Mikroçoğaltım Denemelerinin Kurulması .....	20
3.2.4 Köklendirme Denemelerinin Kurulması .....	21
3.2.5 Deneme Planı, İstatistik Analizler ve İncelenen Kriterler .....	22
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	25
4.1. Mikroçoğaltım Denemelerine Ait Bulgular .....	25
4.1.1. Myrobolan Anacına Ait Bulgular .....	25
4.1.2. Garnem Anacına Ait Bulgular .....	28
4.2. Köklenme Denemelerine Ait Bulgular .....	30
4.2.1. Myrobolan Anacına Ait Bulgular .....	30

4.2.2. Garnem Anacına Ait Bulgular .....	33
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	39
KAYNAKLAR .....	41
ÖZGEÇMİŞ .....	46



## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

Çizelge 3.1. MS Besin ortamı içeriği.....	20
Çizelge 4.1. Myrobolan anacının katı kültür ve Plantform mikroçoğaltım denemesine ait veriler.....	25
Çizelge 4.2. Garnem anacının katı kültür ve Plantform mikroçoğaltım denemesine ait veriler.....	28
Çizelge 4.3. Myrobolan anacının katı kültür ve Plantform köklenme denemesine ait veriler.....	31
Çizelge 4.4. Garnem anacının katı kültür ve Plantform köklenme denemesine ait veriler.....	33



## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

Şekil 3.1.	Myrobolan anacı .....	17
Şekil 3.2.	Garnem anacı .....	18
Şekil 3.3.	Bitkisel materyalin sterilizasyonu.....	19
Şekil 3.4.	Plantform biyoreaktör sistemi mikroçoğaltım denemesinde kültür kapları.....	21
Şekil 4.1.	Myrobolan anacının katı kültür kaplarındaki genel görüntüsü. ....	26
Şekil 4.2.	Myrobolan anacının Plantform kültür kaplarındaki genel görüntüsü. ....	27
Şekil 4.3.	Myrobolan anacının; A: katı kültür B: Plantform sistemindeki görüntüsü. ....	27
Şekil 4.4.	Garnem anacının katı kültür kaplarındaki genel görüntüsü. ....	29
Şekil 4.5.	Plantform sisteminde çoğaltılan Garnem anacının genel görüntüsü. ....	29
Şekil 4.6.	Garnem anacının; A: katı kültür B: Plantform sistemindeki görüntüsü. ....	30
Şekil 4.7.	Katı kültürde köklendirilen Myrobolan anacına ait görüntü.....	32
Şekil 4.8.	Plantform sisteminde köklendirilen Myrobolan anacına ait görüntü.....	32
Şekil 4.9.	Myrobolan anacına ait köklü bitkiler; A: katı kültür B: Plantform sistemi. ....	33
Şekil 4.10.	Katı kültüre köklenen Garnem anacına ait görüntü. ....	34
Şekil 4.11.	Plantform sisteminde köklenen Garnem anacına ait görüntü. ....	35



## SİMGELER VE KISALTMALAR

$\mu$ l	: Mikrolitre
BAP	: 6-Benzylamino purine
BIG	: Yerçekimi Daldırmalı Biyoreaktör (The Gravity Immersion Bioreactor)
BIT-TIB	: Geçici Daldırma Biyoreaktörler (Temporary Immersion Bioreactors)
dk	: Dakika
g	: Gram
GA <sub>3</sub>	: Gibberellik asit
l	: Litre
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MS	: (Murashige ve Skoog, 1962)
NAA	: Naphtaleneacetic acid
RITA	: Otomatik Geçici Daldırma için Alıcı (The Recipient for Automated Temporary Immersion)
TDZ	: Thidiazuron
TIS	: Geçici Daldırma Yöntemi (Temporary Immersion System =TIS=GDY)



## 1. GİRİŞ

Ilıman iklim bölgelerinde yetişen *Rosaceae* familyası 4 alt familyaya ayrılmıştır. Bu alt familyalardan biri olan *Prunoideae*, kayısı (*Prunus armeniaca* L.), kiraz (*P. avium* L.), vişne (*P. cerasus* L.), badem [(*P. amygdalus* Batsch = *P. dulcis* (Miller) D.A. Webb)], şeftali (*P. persica* L.), erik (*P. domestica* L.) gibi bazı önemli meyve türlerini ve kara kiraz (*P. serotina* Ehrh.) gibi orman ağaçlarını içermektedir (Kaçar, 2004).

*Prunus* türlerinin çiçekleri genellikle beş taç yaprak ve beş çanak yapraklı olup, pembe veya beyaz renklidir. Tekli veya iki, altı ya da daha fazla salkımdan oluşan şemsiye çiçek yapısına sahiptir. Meyveler bütün türlerde oldukça büyük bir çekirdekten meydana gelen drupa meyvedir. Yapraklar basit, genellikle mızraksı, lopsuz olup yaprak kenarı tamamen dişlidir (Köse, 2015).

Ülkemizde *Prunus* cinsine ait meyve gruplarından şeftali ve nektarin için Garnem, GF-677 ve Cadaman anaçları, kayısı ve erik için Myrobalan anacı yaygın olarak kullanılmaktadır (Özbek, 2011).

Meyve türlerinin yetiştiriciliğinde anaç kullanımı oldukça önemlidir. Anaçlar üzerine aşılardan çeşidin gelişimini, hastalık ve zararlılara dayanımını, verimini, kalitesini, erkenciliğini ya da geçciliğini etkilemektedir. Sert çekirdekli meyvelerin yetiştirilmesinde, yabancı kiraz, şeftali yozları, mahlep çöğürleri, badem, erik, kiraz, nemaguard ve garnem uzun yıllar anaç olarak kullanılmıştır. Ancak son yıllarda klon anaçlar üzerine olan çalışma artmıştır (Arıcı, 2008).

Çöğür anaçları heterozigot yapı nedeniyle açılım göstermesi ve tohum çimlendirilmesinde sorunlarla karşılaşılmasından dolayı aşılı fidan üretiminde klon anaçları tercih edilmektedir. Bunun yanında klon anaç kullanımında, üniform populasyon oluşturulabilmekte, genotipin devamlılığı sağlanmakta, gençlik kısırlığı

dönemi daha kısa sürdüğü için daha erken meyveye yatmaktadır. Son zamanlarda, klon anaçlarının çoğaltılmasında çelik, daldırma gibi geleneksel vejetatif yöntemlerin yanında, kısa sürede çok sayıda materyal elde edilmesini sağlayan doku kültürü teknikleri de yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Güçlü ve ark, 2010).

Doku kültürü, bitkiden izole edilen doku (eksplant) parçasından yapay besin ortamında tam bir bitki elde edilmesi tekniğidir. Hücre ve dokular bölünerek kök, sürgün, yaprak, embriyo veya tam bitki geliştirirler. Bazen kültürdeki hücre ve dokulardan kallus olarak adlandırılan farklılaşmamış hücre topluluğu gelişebilir. Bitki doku kültürü tekniği ekonomik önemi olan çoğu bitkinin klonal olarak çoğaltılmasında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca bitki doku kültürü, bitkilerin kitlesel üretimine ilave olarak laboratuvarında sentezlenemeyen sekonder metabolitlerin ve tıbbi bileşenlerin üretiminde de kullanılmaktadır (Onay ve ark, 2012).

Bir bitkiden alınan ve yeni bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip embriyo, kök, gövde, sürgün, kallus, tek hücre ya da polen gibi bitki parçalarından *in vitro* koşullarda yapay besin ortamında yeni bitkilerin elde edilmesine mikroçoğaltım denir. Bitkilerin *in vitro* üretimi, kullanılan eksplantın özelliğine göre (embriyo, anter, protoplast, meristem veya hücre veya kültürü vb.) adlandırılır.

Mikroçoğaltımın başarısı, eksplantların alındığı anaç bitkinin genotipi, sağlık durumu, ve yetiştirme koşulları (beslenme, ışık, sıcaklık, vb.) ile doğrudan ilişkilidir.

Mikroçoğaltımın avantajları, hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyal elde edilmesi, kitlesel üretimde üretilen bitkilerde fenotipik ve genotipik benzerlik (homojenite), diğer yöntemlerden daha kısa kültür süresi, zor üretilen türlerin daha kolay üretimi, seçilen belirli/üstün genotiplerin hızlı üretimi, üretimde daha az anaç kullanılması, somaklonal varyasyondan dolayı yeni çeşitlerin/genotiplerin elde edilmesidir (Aka Kaçar, 2015).

Odunsu ve çalı formundaki bitkilerin *in vitro* koşullarda çoğaltılması ile ilgili yapılan çalışmalarda klasik katı ve yarı-katı besin ortamları kullanılmaktadır. Fakat sıvı ortamın kullanımı ile ilgili literatür oldukça sınırlıdır. Katı kültürlerde, çeşitli polisakkarit bileşimlerini içeren agar, agaroz, aljinat, phytigel (gelrite) gibi jel yapıcı maddeler kullanılmaktadır. Bu katılaştırıcılar bitkilerin besin ortamına tutunmasını sağlamaktadır. Bununla beraber bitkilerde vitrifikasyon (camlaşma) dediğimiz agar ile ilişkili bazı fizyolojik sorunlara da sebep olabilmektedir.

*In vitro* çoğaltım teknikleri hızlı çoğaltım protokollerin kurulması ve genetik manipülasyon çalışmaları için önemli bir yaklaşımdır. Kitlesele çoğaltım için kullanılan klasik doku kültürü tekniklerinde agar ile katılaştırılmış katı veya yarı-katı ortamlar kullanılmaktadır.

Geleneksel mikroçoğaltım yöntemleri pahalıdır ve yoğun işgücü istemektedir. Ayrıca, bitkilerde çoğalma katsayısı ve bitki kalitesinde olumsuz etkiler yapabilmektedir. Besin ortamından besin alımında en önemli dezavantaj, sürgünlerin basal kısımlarından besin elementlerinin absorpsiyonudur. Ancak, yeni bir metodoloji geliştirilmesi ile biyoreaktörlerde sıvı kültür sistemlerini kullanarak daha uygun maliyetli mikroçoğaltımın gerçekleştirilmesi mümkün olmuştur (Welande ve ark, 2017). Fakat biyoreaktör gibi sıvı sistemlerde eksplantın sürekli sıvı ortamda kalması dokularda camlaşma ve oksijensiz kalarak zarar görme gibi pek çok sorunu da beraberinde getirmektedir (Lambardi ve ark, 2015).

Geçici daldırma yöntemi geleneksel yarı-katı ve sıvı besin ortamlarının avantajlı yönlerini kombine eden bir sistemdir.

Bu sistemin avantajları (Lambardi ve ark, 2015):

1. Klasik doku kültürü sistemlerine göre kültür ortamı ve bitkinin besin ortamına teması daha üniformdur,
2. Oksijensiz kalarak boğulma ve vitrifikasyon gibi sorunlar daha azdır,
3. Kültürler tarafından salgılanan ve kahverengileşmeye neden olan toksik bileşikler sıvı ortamda daha azdır,

4. Kültür kapları içerisindeki atmosferin periyodik olarak değişimini sağlaması, CO<sub>2</sub> ve etilen gibi zararlı gaz birikmesini önler,
5. Daha büyük kültür kabı kullanıldığı için altkültür süresi daha uzundur,
6. Katı besin ortamında kültüre alma işlemi daha özen ve dikkat ister, fakat sıvı besin ortamında bu işlem daha kolay ve çabuk olur böylece işgücünden de tasarruf edilmiş olur,
7. Hava sirkülasyonu sonucunda oluşan baloncuklar sayesinde hücre bölünmesi teşvik edilir, böylece hem çoğalma katsayısı hem de sürgün kalitesinde artış olur.

Yeni nesil doku kültürü teknikleri başlığı altında geçici daldırma biyoreaktör sistemleri ilk olarak Harris ve Mason (1983) tarafından geliştirilmiş olup ilk başarılı bitki rejenerasyonu sonuçları *Solanum tuberosum* ve *Coffea arabicana*'nın somatik embriyolarından elde edilmiştir (Etienne ve Berthouly, 2002; Yenice, 2010).

Geçici daldırma sistemi (TIS) olarak tanımlanan biyoreaktörlerden ilk olanı RITA'dır (Alvard ve ark.,1993; Welander ve ark., 2017). Bu biyoreaktör tek bir birimden oluşmaktadır. Bir diğeri ikiz kap sistemine dayanan Escalona ve arkadaşları tarafından (1999, 2003) tanımlanmıştır (Welander ve ark., 2017). Bu sistemde bir kap'ta eksplantlar ve diğer kap'ta besin ortamı bulunmaktadır. Elmalar (Zhu ve ark., 2005; Welander ve ark., 2017) ve pek çok bahçe bitkileri ürünleri için RITA ve ikiz kap sistemi kullanılmıştır (Welander ve ark., 2007). Ancak mevcut ekipmanla ilgili bazı problemler yaşanmıştır. RITA'nın mevcut çalışmalar için çok küçük olduğu ve birkaç kez otoklavlandığı zaman renk değiştirdiği görülmüştür. İkiz sistemde ise kullanılan cam kaplar çok ağır bulunmuştur. Bu sebeplerden dolayı Platform adı verilen yeni bir biyoreaktör geliştirilmiştir (Welander ve ark., 2014). Bu biyoreaktör, düşük ağırlığa sahip ve bir bütünden oluşmaktadır. Besin ortamını doldurması ve değiştirmesi kolaydır. Aynı zamanda pompa zamanlayıcılarına ve elektrik sistemine kolayca bağlanabilir valflere sahiptir.

Geçici daldırma sistemleri arasında son yıllarda geliştirilen “Plantform” sisteminde kültür kaplarında bağımsız havalandırmaya odaklanılmıştır (Lambardi ve ark., 2015). Sistem geçici daldırma yöntemi ile kültür kaplarının içerisinde havalandırma sayesinde kabın içerisindeki havanın yenilenmesini sağlar. Böylece bitki kalitesinde artışın yanı sıra, daha ekonomik, hızlı ve kolay bir çoğaltma yöntemi sunar.

Diğer biyoreaktörlere göre avantajları bulunan Plantform biyoreaktör sistemi kullanım kolaylığı, otoklavlanabilirliği, şeffaf olması, taşıma kolaylığı, gaz değişimi olması, hava pompası ve zaman ayarlarının bulunması bu sistemi diğerlerine göre farklı kılmaktadır ve *in vitro* kültürlerde kaliteyi arttırmaya yönelik bir sistemdir. Sistemin esası kültür kabı içerisindeki havanın sirküle olması ve geçici daldırma yöntemine dayanmaktadır. Kültür kaplarının daldırma süresi ve sıklığı ayarlanabilmekte ve gaz değişimi zaman ayarı ile yapılabilmektedir.

Bu tez çalışmasında, farklı *Prunus* anaçlarının (*Myrobolan* ve *Garnem*) *in vitro* koşullarda mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine yeni nesil doku kültürü tekniklerinden biri olan Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminin, klasik doku kültürü tekniklerine göre etkisi test edilmiştir.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. *Prunus* Türlerinde Klasik Yöntemlerle Yürütülen Doku Kültürü Çalışmaları

Arıcı (2008), MaxMa 14, MaxMa 60, Myrobolan 29-C, GN ve GF 677 anaçlarının sürgün uçları ve yan sürgünleri kullanılarak doku kültürü çoğaltma olanaklarını araştırmıştır. Eksplantlar 1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, 1 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA, 2 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, 2 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA, 1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA+0.5 mg/l GA<sub>3</sub>, 1 mg /L BAP+ 0.2 NAA+0.5 mg/l GA<sub>3</sub>, 2 mg/l BAP+0.02 NAA+0.5 mg/l GA<sub>3</sub>, 2 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA+0.5 mg/l GA<sub>3</sub> bitki büyüme düzenleyicilerini içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Ortamlar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. Ancak, en fazla sürgün oluşumu Myrobolan için MS+1 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA, MaxMa 60 için MS+2 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, MaxMa 14 için MS+2 mg/l BAP+0.2 mg/l NAA+0.5 mg/l GA<sub>3</sub> , GF 677 için MS+1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA, GN için MS+1 mg/l BAP+0.02 mg/l NAA+ 0.5 mg/l GA<sub>3</sub> içeren ortamlarda gözlenmiştir.

Erbaş (2011), Myrabolan 29C ile Garnem (GN15) anaçlarının *in vitro* koşullarda klonal üretimini gerçekleştirmiştir. 2-3 yaşındaki anaçların sürgün gözü, yaprak ve petiolleri Gamborg B5 vitaminlerini içeren Murashige ve Skoog (1962)-MS (modifiye MS) ortamında kültüre alınmıştır. Sürgün teşviki çalışmalarında, Myrobalan 29C sürgün gözlerinde, en yüksek sürgün sayısı (3.00) ve en uzun sürgün gelişimi (18,67 mm) 4 mg<sup>-1</sup> KIN içeren modifiye MS ortamında meydana gelmiştir. Garnem'de ise sürgün gelişimi saptanmamış olup, kallus meydana gelmiştir. Anaçların yaprak ve yaprak sapı (petiol) eksplantlarında ise kallus oluşumu dışında sürgün gelişimi saptanmamıştır. Kardeşlenme denemelerinde, Myrabolan 29C'nin kültüre alınan her sürgün gözünde ortalama üç kardeş (sürgün) oluşumu saptanmış olup, en yüksek sürgün sayısı (4.778), 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP+2.0 mg l<sup>-1</sup> KIN+0.5 mg l<sup>-1</sup> NAA içeren modifiye MS ortamında, en yüksek sürgün uzunluğu (11.167 mm), 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP+1.0 mg l<sup>-1</sup> KIN+0.5 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren

modifiye MS ortamında meydana gelmiştir. Kültüre alınan Garnem sürgün gözlerinde ise kallus ile birlikte birkaç yaprak oluşumu gözlemlenmiştir. Köklenme çalışmalarında kullanılan hormon kombinasyon ve konsantrasyonlarında, bitkilerde kök oluşumu saptanmamıştır. Garnem'de kallus oluşumu meydana gelmiştir.

Edizer ve Demirel (2012), Garnem, SL-64, Marianna GF 8-1 ve St. Julien, klon anaçlarına IBA'nın kontrol (0), 2000, 3000, 4000 ppm dozları uygulanmış ve sisleme ünitesindeki perlit ortamına dikilerek klon anaçların yeşil çelikle köklenme özellikleri incelenmiştir<sup>9</sup>. Çeliklerden elde edilen kallus oranı, köklenme oranı, ortalama kök sayısı, ortalama kök uzunluğu, kök kalitesi, fidan üretiminde kullanılabilir çelik oranı ve canlı çelik oranı gibi özellikler ayrı ayrı değerlendirmeye alınmıştır. Araştırma bulgularına göre; St. Julien, Marianna GF 8-1 ve SL-64 klon anaçlarında 3000 ppm IBA uygulamasında %90; Garnem klon anacında 4000 ppm IBA uygulamasında %86,67 oranında köklenme tespit edilmiştir.

İpek (2015), yapmış olduğu çalışmada, *in vitro* koşullarda Garnem ve Myrobalan 29C anaçlarının farklı dozlardaki PEG (Polyethylene Glycol) içeren büyüme ortamlarında kuraklığa karşı morfolojik ve biyokimyasal tepkileri incelemiştir. Çalışmada 3 farklı kuraklık seviyesi (-0.5MPa, -1.0MPa ve -1.5MPa) uygulanmıştır. Bitkilerde ölçümlerin yapılması ve yaprak örneklerinin alınması çalışmanın 0, 3, 5, 7, 9, 11, 13 ve 15. günlerinde gerçekleştirilmiştir. Garnem anacında en yüksek artış kontrol grubuna ait bitkilerde (%25,31) en az artış da -1,5MPa kuraklık stresi grubunda (%3,88) meydana gelmiştir. Yaprakların membran geçirgenliği bakımından, Garnem anacında en yüksek membran geçirgenliği %97,43 ile -1,5MPa uygulamasından elde edilmiştir. Garnem anacında yapılan protein analizlerinde tüm uygulamalarda ilerleyen kuraklık döneminde protein miktarında azalışlar görülmüştür.

Özbek ve ark. (2014) yapmış oldukları çalışmada, *in vitro* koşullarda üretilen anaçlardan Cadaman, Garnem ve Myrobalan 29 klonunun kök-ur nematodları *Meloidogyne incognita* ve *M. javanica*'ya dayanıklılık düzeylerini

araştırmışlardır. Bu amaçla, Garnem, Cadaman genotiplerine ait sürgün uçları, 2.0 mg/l BAP + 0.05 mg/l GA<sub>3</sub> hormonu içeren MST ortamında, Myrobalan 29 klonu ise 1.0 mg/l BAP içeren MS ortamında kültüre alınmışlardır. Farklı IBA konsantrasyonlarını içeren MS ve MST ortamları sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla kullanılmıştır. *In vitro* koşullarda üretimi yapılan Garnem, Cadaman ve Myrobalan 29 klonunun *M. incognita* ırk 2 ve *M. javanica*'nın 1000 adet 2. dönem larvası ile inokule edilmiştir. İnokulasyondan 3 ay sonra anaçların köklerinde kökür nematodlarının oluşturduğu gal oranı ve topraktaki nematod popülasyonu belirlenmiştir.

Karahan Kıyar (2017), badem anacı olarak kullanılan Garnem (GN-15) melez (*P. dulcis* x *P. persica*) anacının *in vitro* rejenerasyonu için protokol oluşturmuştur. Boğum eksplantları değişik konsantrasyonlarda (0.5-2.0 mg/l) BA içeren MS besin ortamında kültüre alınmışlardır. Daha sonra 2.0 mg/l BA içeren MS besin ortamında kültüre alınan boğum eksplantlarında büyük oranda kardeşlenme sağlandığı görülmüştür. Sürgün boyunun uzamasında en etkili kültür ortamının 0.5 mg/l BA, 30 g/l sukroz ve 5.5 g/l agar içeren MS besin ortamı olduğu saptanmıştır. Boyları uzayan sürgünler köklendirilmek amacıyla 0.5-2.0 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamında olan yeni bir kültüre aktarılmıştır. 2 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamında %42.8 oranında köklenme elde edilmiş ve köklü bitkilerin %47.2 si dış koşullara alıştıırılabilmiştir.

## 2.2. Geçici Daldırma Biyoreaktör Sistemleri ile Yürütülen Çalışmalar

Cabasson ve ark (1997), *Citrus deliciosa* Ten. genotipinde somatik embriyoların gelişimi üzerine RITA geçici daldırma sisteminin etkisini araştırmışlardır. Zayıf embriyo gelişiminin üstesinden gelmek amacıyla katı kültür, süspansiyon ve geçici daldırma sistemi olmak üzere üç farklı kültür koşullarını kullanmışlardır. Katı kültürde somatik embriyoların %60'ı kotiledon aşamasına kadar gelişmiş, ancak bitkilerde camlaşma görülmüştür. Süspansiyon kültüründe somatik embriyoların gelişimi globuler safhada durmuştur. Geçici daldırma sistemi

somatik embriyo gelişimini teşvik etmiş ve somatik embriyoların %66'sı kotiledon safhasına ulaşmış ve morfolojik olarak nuseller embriyolarla aynı olmuştur.

Yenice (2010), su mercimeğinde geçici daldırma sistem biyoreaktör ile *in vitro* çoğaltım ve bitki büyüme düzenleyicilerinin bitkinin protein miktarına etkisinin belirlenmesini çalışmıştır. Materyal farklı oranlarda BAP, Kinetin, TDZ içeren, sukroz içeren ve içermeyen sıvı MS besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Mikroçoğaltım için yapılan denemeler 8 saat karanlıkta ve 16 saat beyaz floresan ışığı fotoperiyot altında ve  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Eksplant başına bitki çoğaltımı 0.2 mg/l BAP içeren, sukroz içermeyen sıvı MS besin ortamında 50.44 adet, 0.05 mg/l Kinetin içeren sıvı MS besin ortamında 57.82 adet ve 0.6 mg/l, TDZ içeren sıvı MS ortamında 50.74 adet hesaplanmıştır. Kjendahl Yöntemi ile yapılan azot tayininde bitkinin protein oranı %25.5 olarak tespit edilmiş olup, hormon uygulaması sonucunda 0.5 mg/l BAP ile bitkideki protein miktarı oranı %29.18'e çıktığı gözlemlenmiştir. Su mercimeği bitkisinde bitki büyüme düzenleyicilerinin geçici daldırma biyoreaktör sistemleriyle çoğaltımının bitki protein miktarına olumlu yönde etkileri görülmüştür.

Welander ve ark (2014), *Digitalis lutea* × *purpurea*, *Echinacea purpurea* ve *Rubus idaeus* türlerinde, geçici daldırma sistem ve agarlı ortam ile karşılaştırmalı olarak mikroçoğaltım çalışmışlardır. Agarlı ortamda elde ettikleri sonuçlara göre çoğalma oranı ve bitkicik kalitesi, biyoreaktördeki bitkilerle ya aynı ya da agarlı ortamdaki bitkilerden daha iyi olarak kaydedilmiştir. *Digitalis* ve *Rubus* için her iki teknikte de kardeş sayısı benzer görülürken, *Ekinezya*'da kardeş sayısı ve kalitesinin biyoreaktörde daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. *Digitalis* ve *Ekinezya* türlerinde yaş ağırlık biyoreaktörde, *Rubus* için ise agarlı ortamda kazanılmıştır. Kuru ağırlık üç genotip içinde iki sistemde de benzerlik göstermiştir. Bu çalışma ile Plantform biyoreaktör sistemlerinin bitki mikroçoğaltımında kullanımının uygun olduğu gösterilmiştir.

Benelli ve ark (2015), *Myrtus communis* ve *Olea europaea*'nın *in vitro* çoğaltımı için Geçici Daldırma Sistemi teknolojilerinden Plantform sistemini

kullanmışlardır. Her iki tür içinde Plantform biyoreaktör sisteminin doku kültürü ile kitlesel üretimde basit ve etkili bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Üretim maliyetlerinin azalması için bu sistemde bitki büyüme düzenleyicilerini azaltmanın mümkün olduğu belirtilmiştir. Mersin ve Zeytin'nin alt kültür boyunca yarı katı kültür ve Plantformla karşılaştırmalı olarak biyokütleleri incelenmiştir. Her iki tür içinde Plantform'da bitkilerin hayatta kalma oranı ve kalitesinin daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır. Zeytin'de gelişme oranının iyi olması için Zeatin hormonu kullanılmıştır. Zeatin hormonunun *in vitro*'da yüksek bir girdi olduğu için Zeatin kullanımı 10  $\mu\text{M}$ 'dan 5  $\mu\text{M}$ 'a düşürülmüş ve yarı katı kültür ortamı ile kıyaslandığında büyüme oranının arttığı gözlemlenmiştir.

Gatti ve ark (2015), *Quercus robur* bitkisinin mikroçoğaltımında klasik doku kültürü ve Plantform biyoreaktör sistemini karşılaştırmalı olarak çalışmışlardır. Çalışmada materyal olarak nodal segmentler kullanılmıştır. Mikroçoğaltım ortamlarında (Plantform biyoreaktör sistemi için agar hariç) WP medium, 20.0 g/L sukroz, 6 g/l<sup>1</sup> agar ve 0.2 mg l<sup>1</sup> BA kullanılmıştır. Plantform için 8 saatte bir 12 dakika ve 16 saatte bir 8 dakika olmak üzere iki farklı daldırma süresi denenmiştir. Havalandırma süresi ise 4 saatte bir 15 dakika olarak belirlenmiştir. Her iki Plantform denemesi içinde eksplantların yaş ağırlığı klasik doku kültürü çalışmalarında kullanılan kaplardan daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada Plantform biyoreaktör sisteminin *Quercus robur* bitkisinde hızlı ve etkili bir metod olduğu bildirilmiştir.

Ticari öneme sahip Güney Afrika baklagili *Cyclopia genistoides* fenolik sekonder metabolit eldesi için farklı biyoreaktör tiplerinde [membranerafts (MR) ve GDS] sıvı ortamda kültüre alınmıştır. Tıbbi içerikli sekonder metabolitlerin en yüksek konsantrasyonu geçici daldırma sisteminden elde edildiği bildirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, *C. genistoides*'in GDS kültürlerinin nispeten pahalı olduğu; bununla birlikte bugüne kadar ticari kaynaklardan kolay temin edilemeyen sekonder bileşenlerin, alternatif bir kaynağı olarak kullanılabilceğini göstermiştir (Kokotkiewicz ve ark, 2015).

Lambardi ve ark (2015), yapmış oldukları çalışmada süs bitkilerinden herdem yeşil olan *Carex oshimensis* ve *Chrysanthemum morifolium* ile meyve türlerinden *Ficus carica* ve *Ribes rubrum* bitkilerinde geçici daldırma sistemi Plantform ile sürgün kardeşlenmesi gelişimini çalışmışlardır. Plantform sistemi ile daha yüksek kalitede bitkiler elde ettiklerini bildirmişlerdir. Çalışmalarında bazı bitkilerin direkt köklenme gösterdikleri ve böylece doğrudan dış koşullara adaptasyonunun sağlandığını bildirmişlerdir.

*Stevia rebaudiana* tatlandırıcı bir madde içeren ve şekere alternatif olarak düşünülen bir bitkidir. Sacco ve ark (2015), bu bitki türü için etkin mikroçoğaltım protokolü geliştirmek amacıyla çalışmalar gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada RITA ve Plantform biyoreaktör sistemleri agarla katılaştırılmış ortam ile karşılaştırılmıştır. *In vitro* kültürler için 2 farklı biyoreaktör sisteminde hormonsuz MS besin ortamı, BA (0.3 mg/l) içeren MS besin ortamı ve IAA (0.5 mg/l) içeren MS ortamları kullanılmıştır. Sıvı ortamlarda (RITA ve Plantform) çoğalma katsayısı agarla katılaştırılmış ortama göre daha yüksek bulunmuş (14 eksplant/bitki), BAP eksplant başına sürgün sayısını arttırmıştır. Plantform biyoreaktör sisteminde 3 saatte bir daldırma kallus ve camlaşma problemi meydana getirdiği, bununla birlikte 8 saatte bir daldırmanın daha kaliteli sürgün oluşumu sağladığı belirtilmektedir.

Daungban ve ark (2017), muz bitkisini *in vitro* koşullarda karşılaştırmalı olarak geleneksel yarı-katı besin ortamı ve geçici daldırma biyoreaktör sistemi kullanarak çoğaltmışlardır. Geçici daldırma biyoreaktör sisteminde her 4 saatte bir 2 dk daldırma uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan sıvı ve katı besin ortamlarına farklı konsantrasyonlarda TDZ (0, 0.125 ve 0.250 mg/l) ilave edilmiştir. Çalışma sonunda en fazla sürgün oluşum oranı 11.03 ile 0.125 mg/l TDZ içeren geçici daldırma biyoreaktör sisteminden elde edilmiştir.

Gutiérrez ve ark (2016), yapmış oldukları çalışmada, *Guadua angustifolia* bitkisini geçici daldırma biyoreaktör sistemi olan RITA sisteminde çoğaltmışlardır. Kültür kaplarına 6 ve 8 saatte bir 2 dk olmak üzere iki farklı daldırma sıklığı

uygulanmıştır. Çalışma sonunda en fazla çoğalma 6 saatte bir 2 dk daldırma uygulanan kültür kaplarından elde edilmiştir.

Masnoddin ve ark (2016), yarı-katı MS ortamında elde ettikleri *Paphiopedilum rothschildianum* kalluslarından RITA geçici daldırma biyoreaktör sisteminde sürgün rejenerasyonu ile bitki elde etmişlerdir. Çalışmada kültür kaplarına her 125 dk'da bir 5 dk daldırma uygulanmıştır. Çalışmada, 15 ve 58 mM sakkaroz içeriğinin sürgün oluşumuna etkisi de araştırılmıştır.

Gao ve ark (2016), yapmış oldukları çalışmada, geçici daldırma biyoreaktör sistemi kullanarak *Sagittaria sagittifolia* bitkisinin mikroçoğaltımı için yeni bir protokol geliştirmişlerdir. Çalışmada farklı bitki büyüme düzenleyici, altkültür, daldırma sıklığı ve inokülasyon yoğunluğunun etkisi araştırılmıştır. TIS sisteminde oldukça iyi morfolojiye sahip bitkiler elde edilmiştir. *S. sagittifolia* bitkisinin çoğalması ve büyümesi için 3.0 mg/l BAP + 0.01 mg/l NAA içeren kültür kapları başarılı olmuştur. En yüksek çoğalma oranı 5. altkültürde elde edilmiştir. Bitkilerin çoğalmasında, TIS kültür kaplarında her litre için 10 bitki konulması ve 3 saatte bir 10 dk daldırma döngüsü oldukça başarılı bulunmuştur.

Ramírez-Mosqueda ve Iglesias-Andreu (2016), *Vanilla planifolia* bitkisinin *in vitro* koşullarda çoğaltılmasında ve köklendirilmesinde farklı geçici daldırma sistemlerinin etkinliğini araştırmışlardır. Araştırmada, BIT, BIG ve RITA sistemleri kullanılmıştır. Çalışma sonunda, eksplant başına en fazla sürgün oluşumu 18.06 ile TIB sisteminde elde edilmiştir. Bunu 12.77 ile RITA ve 6.83 ile BIG sistemi takip etmiştir. Köklenme denemelerinde, en fazla uzun kök sayısı BIT sisteminde elde edilmiştir.

Biçen (2017) yapmış olduğu çalışmada, mersin bitkisinde (*Myrtus communis* L.) Plantform sistemi ile katı kültürünü karşılaştırmıştır. Bu amaçla iki farklı Mersin genotipi kullanılmıştır. Mikroçoğaltım çalışmalarında, Plantform ve katı kültür sistemleri için 1.0 mg/l BAP içeren besin ortamları, köklendirmede ise 1.0 mg/l IBA içeren besin ortamları hazırlanmıştır. Geçici daldırma biyoreaktör sisteminde 4 ve 8 saat olmak üzere iki farklı daldırma süresi sıklığı katı besin

ortamları ile karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda Plantform sisteminde gelişen bitkilerin katı kültürlerle göre daha başarılı olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminin, klasik *in vitro* mikroçoğaltım ve köklenme sistemine göre daha az maliyetli, daha az işçilik gerektirdiği ve daha kısa zamanda daha fazla miktarda çoğaltımın yapılabileceği belirlenmiştir.

Frómota ve ark (2017), Gerbera bitkisini TIB geçici daldırma biyoreaktör sisteminde çoğaltmışlardır. Çalışmada daldırma sıklığı (6, 8 ve 12 saat) ve kültür süresi (14, 21, 28 ve 35 gün) faktörleri test edilmiştir. Çalışma sonunda, 8 saatte bir daldırma uygulanan grupta sürgünler kontrole göre daha iyi bir morfoloji göstermiştir. Her 6 saatte bir daldırma uygulanan grupta daha yüksek yaş ve kuru ağırlık elde edilmiştir. Sekiz ve 12 saat daldırma uygulanan gruplarda sürgünler arasında fark gözlenmemiştir.

Szopa ve ark (2017), *Schisandra chinensis*'te yapmış oldukları çalışmada, sürgün uçları RITA ve Plantform olmak üzere iki farklı biyoreaktörde kültüre alınmıştır. Besin ortamı olarak; 3 mg/l BA ve 1 mg/l NAA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Sürgünlerde büyüme ve lignan içeriği (bitkisel-östrojen) LC-DAD ve LC-DAD-ESI-MS ile değerlendirilmiştir. Test edilen biyoreaktörlerden Plantform lignin içeriği (546.98 mg/100g kuru ağırlık) ve büyüme bakımından daha iyi sonuçlar vermiştir.

Zhang ve ark (2017), *Pinelli alternate* bitkisini geçici daldırma biyoreaktör sisteminde çoğaltmışlardır. Çalışmada 9 farklı daldırma döngüsünün bitki çoğalması ve büyümesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonunda, bitki çoğalması ve büyümesi üzerinde en başarılı daldırma döngüsü 12 saatte bir 5 dk olarak belirlenmiştir. En fazla yaş ağırlık kültür kaplarına 60 eksplant konulduğu zaman elde edilmiştir. Kültür kaplarına 80 ve 100 eksplant konulduğu zaman bitkiler zayıf gelişme göstermiştir.

Cengiz (2018) yapmış olduğu çalışmada, 'Tuzcu 3131' ve 'C35 Sitranji' turunçgil anaçlarının, Plantform biyoreaktör sistemi ve katı besi ortamlarında karşılaştırmalı olarak mikroçoğaltım ve köklendirme çalışmaları yürütmüştür.

Öncelikle turunçgil anaçlarının katı kültür mikroçoğaltım denemeleri için, MS ve WPM besi ortamları ile BAP (0, 1.0, 2.0 mg/l), Kinetin (0, 0.5, 1.0 mg/l) ve 2IP (0, 1.0, 2.0 mg/l) denenmiştir. Katı kültür köklenme denemeleri için MS, 1/2MS, WPM besi ortamları ile NAA (0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l) ve IBA (0, 0.5, 1.0, 2.0 mg/l) denenmiştir. Her iki genotip için de en iyi mikroçoğaltım sonuçları 2.0 mg/l BAP içeren MS besin ortamından ve en iyi köklenme sonuçları 0.5 mg/l NAA içeren 1/2MS besin ortamından elde edilmiştir. Mikroçoğaltım ve köklenme için belirlenen en iyi besin ortamı içeriği ile Plantform sisteminde çalışılmıştır. Çalışma sonucunda, Tuzcu 3131 genotipi için mikroçoğaltım denemesi bitki boyu sonuçları Plantform sisteminde daha başarılı bulunmuştur.

Umarusman (2018) Akdeniz Bölgesinde doğal olarak yayılım gösteren üç farklı keçiboynuzu genotipi ile Plantform biyoreaktör sistemi ve katı besin ortamlarında karşılaştırmalı olarak mikroçoğaltım ve köklendirme çalışmaları gerçekleştirmiştir. Çalışmada ilk olarak genotiplerin katı kültür mikroçoğaltım denemeleri için, MS, 1/2 MS ve WPM besin ortamları ile BA (0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L) ve GA<sub>3</sub> (0.1, 0.5 mg/L) bitki büyüme düzenleyicileri uygulanmıştır. Katı kültür köklenme denemeleri için MS, 1/2 MS ve WPM besin ortamları ile NAA (0, 1.0, 2.0 mg/L) ve IBA (0, 1.0, 2.0 mg/L) büyüme düzenleyicileri denenmiştir. En yüksek mikroçoğaltım değerleri MS ve 1/2 MS besin ortamlarından ve 0.5 ve 2 mg/L BA+0.5 mg/L GA<sub>3</sub> bitki büyüme düzenleyici konsantrasyonlarından elde edilmiştir. Mikroçoğaltım için belirlenen en iyi besin ortamı içeriği ile Plantform sisteminde çalışılmıştır. Çalışma neticesinde, her üç keçiboynuzu genotipi çoğaltma ortamında Plantform sistemi bitki boyu, çoğalma katsayısı ve bitki kalitesi bakımından katı kültür sistemine göre daha iyi sonuç vermiştir.



### 3. MATERYAL METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Bitkisel Materyal

Tez çalışmasında bitkisel materyal olarak Myrobolan ve Garnem olmak üzere iki farklı *Prunus* anacı kullanılmıştır. Bitkisel materyallere ait özellikler aşağıda sunulmuştur.

**Myrobolan (*P. cerasifera*):** Erik, kayısı ve bazı durumlarda şeftali için anaç olarak kullanılabilir. Çok farklı tipte topraklara adapte olabilir ve kurağa toleranslıdır. Güçlü bir anaçtır, kök ur nematoduna karşı dayanıklıdır. Bu nedenle yaygın olarak kullanılmaktadır. Erik anacı ıslahı programlarında ebeveyn olarak da kullanılmaktadır. Klasik çoğaltma yöntemleri ile çoğaltılmasında bazı sorunlar nedeniyle bu değerli anaç *in vitro* koşullarda çoğaltılmaktadır. Myrobolan anacına ait görüntü Şekil 3.1’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Myrobolan anacı (Anonymous, 2018a)

**Garnem (*P. persica* x *P. dulcis*):** Badem, şeftali ve nektarin çeşitleri için seçilmiştir ve aşılama mükemmel uyum göstermektedir. Bitkiler, ilk büyüme mevsiminde çok az tüylenme ile veya hiç tüylenme olmadan dik büyüme gösterir. Yapraklar büyük ve kırmızıdır. Tomurcuk alım yüzdesi bilinen tüm şeftali, nektarin ve badem çeşitleri için yüksektir. Kuraklık koşullarına ve fakir topraklara toleranslı, su basması nedeniyle oluşan asfiksiye düşük toleranslıdır. *Meloidogine arenaria*, *M. hispanica*, *M. incognita* ve *M. javanica* dahil, prunusu etkileyen ana kök düğümü nematod türlerine toleranslıdır. Garnem anacına ait görüntü Şekil 3.2’de verilmiştir.

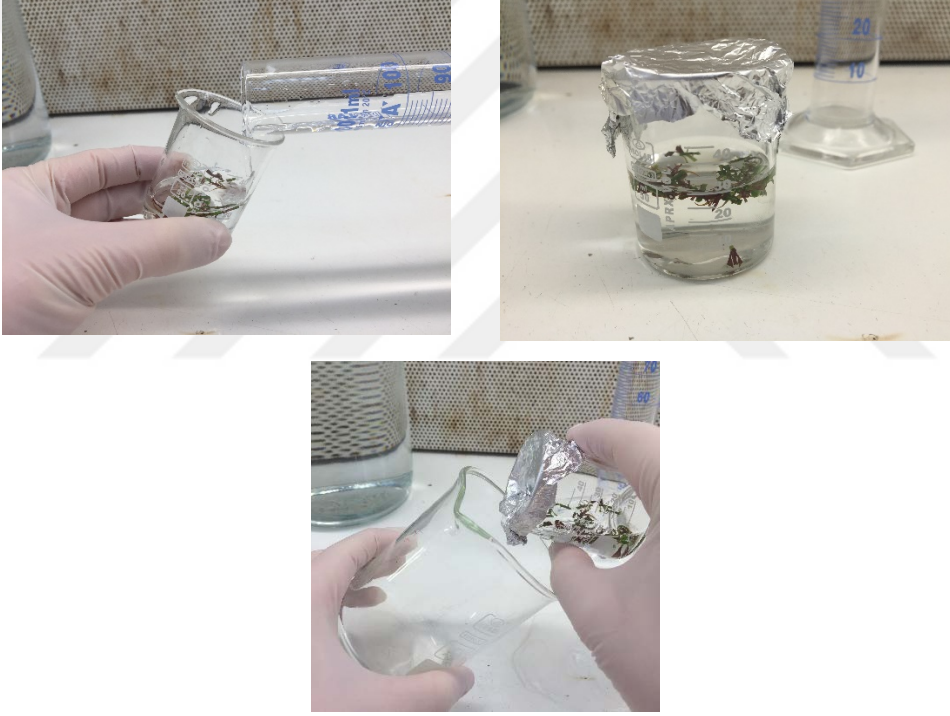


Şekil 3.2. Garnem anacı (Anonymous, 2018b)

### 3.2. Metod

#### 3.2.1. Bitkisel Materyalin Sterilizasyonu

Tez çalışması kapsamında meyve anaçlarına ait sürgün uçları, beher kaplar içerisinde çeşme suyu altında 15 dk yıkanmıştır. Sürgün uçları steril kabin içerisinde önce %70'lik alkolde 15 dk bekletilip ardından, 1-2 damla tween 20 içeren %10'luk sodyumhipoklorit çözeltisinde 15 dk bekletilmiştir. Daha sonra 3 kez steril saf su ile yıkanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Bitkisel materyalin sterilizasyonu

#### 3.2.2. Besin Ortamı

Sterilizasyon sonrası sürgün uçları 1mg/l BA, 30 g/l sükröz, 7.5 g/l agar içeren MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamında çimlendirilmiştir. Besin ortamının pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır. MS besin ortamı içeriği Çizelge 3.1'de

sunulmuştur. Sürgün uçlarının kültüre alınması sonucu elde edilen bitkiler mikroçoğaltım denemelerinde kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. MS Besin ortamı içeriği

<b>Bileşik</b>	<b>Konsantrasyon(mg/l)</b>
<b>Makro Elementler</b>	<b>(MS, 1962)</b>
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	370
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
KNO <sub>3</sub>	1900
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	440
<b>Mikro Elementler</b>	<b>(MS, 1962)</b>
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6,2
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	15,6
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	8,6
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,25
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0,025
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	0,025
KI	0,83
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	27,8
Na <sub>2</sub> EDTA	37,3
<b>Organik Bileşikler</b>	<b>(MS, 1962)</b>
Sakkaroz	30-50 g
Myo-inositol	100
Nikotinic asit	0.5
Piridoksin HCl	0.5
Thiamine HCl	0.1
Glisin	2

### 3.2.3. Mikroçoğaltım Denemelerinin Kurulması

Çalışmada kullanılan anaçlara ait sürgün uçları MS besin ortamında katı kültür ve Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminde kültüre alınmıştır. Her iki sistemde kurulan mikroçoğaltım denemelerinde, besin ortamlarının içerisine 1 mg/l BA, 30 g/l sükröz ilave edilmiştir. Katı kültür denemelerinde besin

ortamlarına 7.5 g/l agar ilave edilmiştir. Mikroçoğaltım denemelerinde her iki sistemde kullanılan tüm besin ortamlarının pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır.

Plantform sistemi için hazırlanan besin ortamlarına agar ilave edilmemiştir. Plantform biyoreaktör sistemi mikroçoğaltım denemesinde her kültür kabına 500 ml besin ortamı eklenmiş ve 100 bitki kültüre alınmıştır. Plantform biyoreaktör sisteminde daldırma süresi 4 saatte 10 dk, havalandırma süresi ise 4 saatte 15 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Plantform biyoreaktör sistemi mikroçoğaltım denemesinde kültür kaplarına ait görüntü Şekil 3.4'te sunulmuştur.

Her iki sistemde bitkicikler, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 25°C iklim koşullarında kültüre alınmıştır. Bitkicikler, katı kültürde dört haftada bir, Plantform biyoreaktör sisteminde 6 haftada bir olmak üzere toplamda 3 kez altkültüre alınmıştır.



Şekil 3.4. Plantform biyoreaktör sistemi mikroçoğaltım denemesinde kültür kapları

#### 3.2.4. Köklendirme Denemelerinin Kurulması

Mikroçoğaltım denemeleri sonucunda elde edilen bitkiler ile katı kültür ve Plantform biyoreaktör sistemleri kullanılarak köklendirme denemesi kurulmuştur. Her iki sistemde köklenme denemelerinde, 1 mg/l IBA ve 30 g/l sükröz içeren MS

besin ortamı kullanılmıştır. Katı kültür ve Plantform sistemi köklenme denemelerinde kullanılan tüm besin ortamlarının pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır.

Katı kültür köklendirme denemelerinde besin ortamlarına 7.5 g/l agar ilave edilmiştir. Katı kültür köklendirme denemelerinde köklendirme ortamlarına 20 bitki aktarılmıştır.

Plantform sistemi için hazırlanan besin ortamlarına agar ilave edilmemiştir. Plantform biyoreaktör sistemi köklenme denemesinde her kültür kabına 500 ml besin ortamı eklenmiş ve 100 bitki konulmuştur. Plantform biyoreaktör sisteminde daldırma süresi 4 saatte 10 dk, havalandırma süresi 4 saatte 15 dk olacak şekilde ayarlanmıştır.

Katı kültür ve Plantform sistemi köklenme denemelerinde bitkiler 8 hafta süresince kültüre alınmıştır. Her iki sistemde bitkicikler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık, 25°C sıcaklık koşullarında kültüre alınmıştır.

### 3.2.5. Deneme Planı, İstatistik Analizleri ve İncelenen Kriterler

Myrobolan ve Garnem anaçlarının mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi amacıyla kurulan denemelerin tamamı 3 tekerrürlü olacak şekilde, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Myrobolan ve Garnem anaçlarının *in vitro* koşullarda hızlı ve klonal çoğaltımının amaçlandığı bu tezde klasik doku kültürü sistemi ile Plantform biyoreaktör sisteminin bitki kalitesi, çoğalma katsayısı ve köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Mikroçoğaltım denemelerinde 3 altkültür yapılmış olup altkültürlerin ortalamaları alınmıştır. Katı kültür denemelerinde bitkiler 4 haftada bir altkültüre alınmıştır. Plantform biyoreaktör sisteminde ise bitkiler 6 haftada bir altkültüre alınmıştır. Her altkültür sonunda 20'şer bitki incelenmiştir.

Mikroçoğaltım denemelerinde, her iki sistemde, her altkültür sonunda, kardeş sayısı (kardeş/bitki), bitki boyu (cm), yaprak sayısı (adet), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) verileri incelenmiştir.

Köklenme denemelerinde, her iki sistemde, köklendirme ortamında kültüre alma işleminden 8 hafta sonra köklenme oranı (%), bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (kök/bitki), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) değerleri hesaplanmıştır.

Bitkilerin yaş ağırlıkları hassas terazide tartılarak g ( $\pm 0.1$ ) belirlenmiştir. Kuru ağırlığı belirlemek için bitkiler 70 °C'de 48 saat etüvde kurutulmuş, ardından hassas terazide tartılmıştır.

Çalışmada elde edilen ortalamalar arasındaki farklılıklar t testi ile karşılaştırılmıştır. İstatistik analizler JMP 8.01 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Tez çalışmasında, Myrobolan ve Garnem anaçlarının mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminin etkisi katı kültür ile kıyaslanarak belirlenmiştir. Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminde kültür kaplarına 4 saatte bir 10 dk daldırma işlemi ve 4 saatte bir 15 dk havalandırma işlemi uygulanmıştır.

##### 4.1. Mikroçoğaltım Denemelerine ait Bulgular

Tez çalışmasında katı kültür ve Plantform biyoreaktör sisteminde mikroçoğaltım denemeleri yürütülmüştür. Her iki sistemde mikroçoğaltım denemelerinde 1 mg/l BA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Mikroçoğaltım denemelerinde genotiplere ait kardeş sayısı (kardeş/bitki), bitki boyu (cm), yaprak sayısı (adet), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) parametreleri incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin genel durumları değerlendirilmiştir.

##### 4.1.1. Myrobolan Anacına Ait Bulgular

Myrobolan anacında mikroçoğaltım denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin kardeş sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Myrobolan anacının katı kültür ve Plantform mikroçoğaltım denemesine ait veriler

Yöntem	Kardeş sayısı (adet/bitki)	Bitki boyu (cm)	Yaprak sayısı (adet)	Yaş ağırlık (g)	Kuru ağırlık (g)
Katı kültür	5.25*	2.25	45.71	0.36	0.04
Plantform	6.96*	3.29	46.55	0.48	0.06

\* $P < 0.001$

Myrobolan anacı için etkili mikroçoğaltım yönteminin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, Plantform sistemi denemelerinde bitkilerden

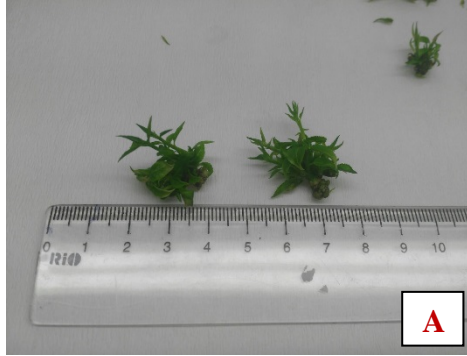
elde edilen kardeş sayısı ortalamaları (6.96), katı kültürden elde edilen kardeş sayısı ortalamalarına (5.25) göre daha fazla olmuştur. Ortalamalar arasındaki bu fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Çalışmada, bitki boyu, yaprak sayısı, yaş ağırlık ve kuru ağırlık verileri üzerine katı kültür ve Platform biyoreaktör sisteminin etkisi istatistiksel olarak önemsiz olmasına rağmen, Platform sisteminde gelişen bitkilerin genel görünümünün katı kültüre göre daha sağlıklı ve gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3).



Şekil 4.1. Myrobolan anacının katı kültür kaplarındaki genel görüntüsü



Şekil 4.2. Myrobolan anacının Plantform kültür kaplarındaki genel görüntüsü



Şekil 4.3. Myrobolan anacının; A: katı kültür B: Plantform sistemindeki görüntüsü

**4.1.2. Garnem Anacına Ait Bulgular**

Garnem anacının mikroçoğaltım denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin kardeş sayısı, bitki boyu, yaş ağırlık ve kuru ağırlık üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P < 0.001$ ), yaprak sayısı önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Garnem anacının katı kültür ve Plantform mikroçoğaltım denemesine ait veriler

Yöntem	Kardeş sayısı (adet/bitki)	Bitki boyu (cm)	Yaprak sayısı (adet)	Yaş ağırlık (g)	Kuru ağırlık (g)
Katı kültür	4.21*	2.38*	42.43	0.35*	0.05*
Plantform	5.26*	3.41*	41.00	0.66*	0.08*

\* $P < 0.001$

Mikroçoğaltım denemelerinde Plantform sisteminde gelişen bitkilerden elde edilen kardeş sayısı (5.26), bitki boyu (3.41), yaş ağırlık (0.66) ve kuru ağırlık (0.08) ortalamaları katı kültürden elde edilen kardeş sayısı (4.21), bitki boyu (2.38), yaş ağırlık (0.35) ve kuru ağırlık (0.05) ortalamalarına göre daha fazla olmuştur. Ayrıca Garnem anacında mikroçoğaltım denemelerinde, bitkilerin genel görüntüsü değerlendirildiğinde, Plantform sisteminde gelişen bitkilerin genel görünümünün katı kültürde gelişen bitkilere göre daha sağlıklı ve gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.4, 4.5, 4.6).



Şekil 4.4. Garnem anacının katı kültür kaplarındaki genel görüntüsü



Şekil 4.5. Platform sisteminde çoğaltılan Garnem anacının genel görüntüsü



Şekil 4.6. Garnem anacının; A: katı kültür B: Plantform sistemindeki görüntüsü

#### 4.2. Köklenme Denemelerine ait Bulgular

Tez çalışmasında katı kültür ve Plantform biyoreaktör sisteminde köklenme denemeleri yürütülmüştür. Her iki sistemde köklenme denemelerinde 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Köklenme denemelerinde genotiplere ait bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (adet), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) parametreleri incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin genel durumları değerlendirilmiştir.

##### 4.2.1. Myrobolan Anacına Ait Bulgular

Myrobolan anacının köklenme denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin bitki boyu (cm), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P < 0.001$ ), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (adet), üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.3). Myrobolan anacında katı kültür ve Plantform sistemi köklenme denemelerinde bitkilerin köklenme oranı %100 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Myrobolan anacının katı kültür ve Plantform köklenme denemesine ait veriler

Yöntem	Bitki boyu (cm)	Kök uzunluğu (cm)	Kök sayısı (adet)	Yaş ağırlık (g)	Kuru ağırlık (g)
Katı kültür	1.43*	3.45	3.15	0.19*	0.01*
Plantform	3.75*	3.85	3.25	0.48*	0.06*

\*P &lt; 0.001

Myrobolan anacının köklenme denemelerinde Plantform sisteminde gelişen bitkilerin bitki boyu (3.75), yaş ağırlık (0.48) ve kuru ağırlık (0.06) ortalamaları, katı kültürde gelişen bitkilerin bitki boyu (1.43), yaş ağırlık (0.19) ve kuru ağırlık (0.01) ortalamalarına göre daha fazla olmuştur. Ayrıca, bitkilerin genel görüntüsü değerlendirildiğinde, Plantform sisteminde gelişen köklü bitkilerin genel görünümünün katı kültürde gelişen köklü bitkilere göre daha sağlıklı ve gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.7, 4.8, 4.9).



Şekil 4.7. Katı kültürde köklendirilen Myrobolan anacına ait görüntü



Şekil 4.8. Platform sisteminde köklendirilen Myrobolan anacına ait görüntü



Şekil 4.9. Myrobolan anacına ait köklü bitkiler; A: katı kültür B: Plantform sistemi

#### 4.2.2. Garnem Anacına Ait Bulgular

Garnem anacında köklenme denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (adet), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ) (Çizelge 4.4). Garnem anacında katı kültür ve Plantform sistemi köklenme denemelerinde bitkilerin köklenme oranı %100 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.4. Garnem anacının katı kültür ve Plantform köklenme denemesine ait veriler

Yöntem	Bitki boyu (cm)	Kök uzunluğu (cm)	Kök sayısı (adet)	Yaş ağırlık (g)	Kuru ağırlık (g)
Katı kültür	3.22*	3.50*	3.8*	0.41*	0.05*
Plantform	4.52*	8.60*	7.6*	0.79*	0.19*

\* $P < 0.001$

Garnem anacı için etkili köklenme yönteminin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmada, Plantform denemelerinden elde edilen bitkilerin bitki boyu (4.52), kök uzunluğu (8.6), kök sayısı (7.6), yaş ağırlık (0.79) ve kuru ağırlık (0.19) ortalamaları katı kültür denemelerinde elde edilen bitkilerin bitki boyu (3.22), kök uzunluğu (3.5), kök sayısı (3.8), yaş ağırlık (0.41) ve kuru ağırlık (0.05) ortalamalarına göre daha fazla olmuştur. Ortalamalar arasındaki bu fark istatistiksel

olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Ayrıca, Platform sisteminde gelişen köklü bitkilerin genel görünümünün katı kültürde gelişen köklü bitkilere göre daha sağlıklı ve gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.10, 4.11).



Şekil 4.10. Katı kültüre köklenen Garnem anacına ait görüntü



Şekil 4.11. Platform sisteminde köklenen Garnem anacına ait görüntü

Bitki doku kültürü çalışmalarında kullanılan bitki büyüme düzenleyicinin etkinliği, bitki büyüme düzenleyici tipi ve konsantrasyonuna göre her genotip için farklı olabilmektedir. Garoosi ve ark (2010) yapmış oldukları çalışmada, GF 677 (şeftali ve badem) anacının *in vitro* koşullarda çoğaltılması ve köklendirilmesi üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda, en yüksek sürgün oluşumu 0.5 mg/l BA ve 0.1 mg/l IBA içeren MS ortamında elde edilmiştir. En yüksek köklenme oranı ise (%40'a kadar) 2 mg/l IBA içeren MS besin ortamında elde edilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan genotipler için (Myrobolan ve Garnem) çoğaltma ortamında kullanılan 1 mg/l BA ve köklendirme ortamında kullanılan 1 mg/l IBA konsantrasyonu çoğaltma ve köklenme için oldukça başarılı sonuçlar vermiştir. Tez çalışmasında kullanılan genotiplerde katı kültür ve Platform sisteminde köklenme oranı %100 olarak tespit edilmiştir.

*In vitro* bitki doku ve organ kültürleri genellikle teknolojik zorluklarla karşı karşıyadır. Kontrollü bir ortamda bitki hücrelerinin kültüre alınması istendiğinde,

farklılaşan organ kültürlerinin karakteristik büyüme morfolojisi ve fizyolojisi bakımından gelişme sürecinde problem oluşturmaktadır. Bu sıkıntıları gidermek için GDS on yıl önce geliştirilmiştir. Bu sistemler, bitkilerin *in vitro* kültürü için en doğal ortamı sağlamaktadır. Geçtiğimiz on yıl içerisinde TIS, bitki mikro-yayılımı, bitki kaynaklı sekonder metabolitlerin üretimi, yabancı proteinlerin sentezlenmesi ve bitki iyileştirmede potansiyel çözümler için bir perspektif teknoloji olarak kabul edilmiştir. Günümüzde, benzer veya farklı teknolojik prensipler üzerinde çalışan birkaç GDS, somatik embriyolar, mikroçoğaltım ve kök kültürleri de dahil olmak üzere çeşitli çalışmalarda materyallerin *in vitro* sistemler kullanılarak başarılı bir şekilde gelişebilmesi için uygulanmıştır (Georgiev ve ark, 2014). Geliştirilen GDS'ler arasında TIB, RITA, GIB, SETIS biyoreaktör ve Platform sistemleri bulunmaktadır. Bu sistemler arasında Platform biyoreaktör sistemi son yıllarda oldukça yoğun kullanım alanına sahip olmuştur ve farklı araştırmacılar tarafından su mercimeği (Yenice, 2010), yüksük otu, kirpi otu ve ahududu (Welander ve ark, 2014), mersin ve zeytin (Benelli ve ark, 2015), saplı meşe (Gatti ve ark, 2015), süs çimi, kasımpatı, incir ve kırmızı frenk üzümü (Lambardi ve ark, 2015), *Stevia rebaudiana* (Sacco ve ark, 2015), Güney Afrika baklagili (Kokotkiewicz ve ark, 2015), vanilya bitkisi (Ramírez-Mosqueda ve Iglesias-Andreu, 2016), orkide (Masnoddin ve ark, 2016), muz (Daungban ve ark, 2016), bambu (Gutiérrez ve ark, 2016), *Sagittaria sagittifolia* (Gao ve ark, 2016), mersin bitkisi (Biçen ve ark, 2017), gerbera (Frómeta ve ark, 2017), şizandra (Szopa ve ark, 2017), turuncgil anaçları (Cengiz, 2018), keçiboynuzu (Umarusman, 2018) bitkilerinin Platform biyoreaktör sisteminde gelişimleri incelenmiştir.

Tez çalışmasında Platform biyoreaktör sisteminin Myrobolan ve Garnem anaçlarının mikroçoğaltımı ve köklenmesi üzerine etkinliği agar ile katılaştırılmış klasik doku kültürü yöntemi ile karşılaştırılarak araştırılmıştır. Tez çalışmasında elde edilen bulgulara göre Platform biyoreaktör sisteminde Myrobolan ve Garnem bitkileri daha iyi gelişmiştir.

Prunus anaçlarının *in vitro* koşullarda çoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine basit geçici daldırma biyoreaktör sistemlerinin etkisi araştırılmıştır. Ancak, şimdiye kadar Prunus anaçlarının Plantform geçici daldırma biyoreaktör sistemleri ile mikroçoğaltımı ve köklendirilmesine yönelik çalışma yapılmamıştır. Damiano ve ark (2005), şeftali (cv. Yumyeong), kiraz (cv. Bigarreau Burlat), erik (cv. Adara) anaçlarının gelişmeleri üzerine geçici daldırma biyoreaktör sisteminin (günde 30 ve 60 dk daldırma) etkisini katı ve sıvı kültürler ile karşılaştırarak araştırmışlardır. Çalışmada sıvı kültürler bitki gelişimini olumsuz etkilemiştir. Çoğalma oranı katı kültür ve geçici daldırma sistemlerinde farklılık göstermemiştir, ancak camlaşma katı kültürde yoğun bir şekilde gözlenirken, geçici daldırma sisteminde camlaşma gözlenmemiştir. Plantform geçici daldırma biyoreaktör sisteminin Myrobolan ve Garnem anaçlarının mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine etkisinin araştırıldığı bu tez çalışmasında, Plantform sisteminden elde edilen bitkilerde camlaşma gözlenmemiştir.

Geçici daldırma biyoreaktör sistemlerinde kültür kaplarına uygulanan daldırma/havalandırma süreleri ve kültüre alınan eksplant sayısı bitki gelişimini etkilemektedir. Bitki türüne bağlı olarak optimum daldırma - havalandırma süreleri ve başlangıç eksplant sayısı farklı olabilmektedir. Gatti ve ark (2015) saplı meşe bitkisinin *in vitro* koşullarda Plantform sisteminde mikroçoğaltımında 8 saatte bir 12 dakika ve 16 saatte bir 8 dakika olmak üzere iki farklı daldırma süresini denemişlerdir. Havalandırma süresi ise 4 saatte bir 15 dakika olarak belirlenmiştir. Çalışmada 8 saatte bir 12 dakikalık daldırma süresinin bitki gelişimi üzerine daha etkili olduğu belirlenmiştir. Sacco ve ark (2015) Plantform biyoreaktör sisteminde kültüre alınan Stevia bitkisi için 3 saatte bir daldırmanın kallus ve camlaşma problemi meydana getirdiğini, bununla birlikte 8 saatte bir daldırmanın daha kaliteli sürgün oluşumu sağladığını belirtmişlerdir. Zhang ve ark (2017) tıbbi bir bitki olan *Pinellia ternate* bitkisinde 9 farklı daldırma döngüsünün bitki çoğalması ve büyümesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonunda, bitki çoğalması ve büyümesi üzerinde en başarılı daldırma döngüsü 12 saatte bir 5 dk olarak

belirlenmiştir. En fazla yaş ağırlık kültür kaplarında 60 eksplant konulduğu zaman elde edilmiştir. Kültür kaplarına 80 ve 100 eksplant kültüre alındığı zaman bitkiler zayıf gelişme göstermiştir. Tez çalışmasında kullanılan Myrobolan ve Garnem anaçları için Plantform biyoreaktör sisteminde daldırma süresi 4 saatte 10 dk, havalandırma süresi ise 4 saatte 15 dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Plantform biyoreaktör sisteminde mikroçoğaltım ve köklendirme denemelerinde 100 bitki kültüre alınmıştır. (Dipnot: Yıldız A.K., 2018/Çukurova Üniversitesi, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi), tarafından mersin ve turunçgil bitkilerinde yürütülen çalışmalarda Plantform biyoreaktör sisteminde kültür kaplarına 100, 120 ve 150 bitki konulduğu zaman bitki gelişiminin 60 ve 80 bitki konulan kültür kaplarına göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar doğrultusunda geçici daldırma biyoreaktör sistemlerinde daldırma - havalandırma süresi ve kültüre alınan eksplant sayısının her bitki türü için optimize edilmesi gerektiğini göstermektedir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında, Myrobolan ve Garnem anaçlarının, katı kültür ve Plantform biyoreaktör sistemlerinde mikroçoğaltım ve köklendirme performansları incelenmiştir. Katı kültür ve Plantform sistemi mikroçoğaltım denemelerinde 1 mg/l BA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Mikroçoğaltım denemelerinde genotiplere ait kardeş sayısı (kardeş/bitki), bitki boyu (cm), yaprak sayısı (adet), yaş ağırlık (mg) ve kuru ağırlık (mg) parametreleri incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin genel durumları değerlendirilmiştir.

Myrobolan anacında mikroçoğaltım denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin kardeş sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Çalışmada incelenen diğer parametrelerin ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Garnem anacının mikroçoğaltım denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin kardeş sayısı, bitki boyu, yaş ağırlık ve kuru ağırlık üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P < 0.001$ ), yaprak sayısı önemsiz bulunmuştur. Myrobolan ve Garnem anaçlarında, istatistiksel olarak önemli olan parametrelerde, Plantform sisteminden elde edilen bitkilerin ortalamaları daha yüksek olmuştur. Tez çalışmasında kullanılan her iki genotip için Plantform sisteminde gelişen bitkilerin genel görünümünün katı kültüre göre daha sağlıklı ve gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

Katı kültür ve Plantform sistemi köklendirme denemelerinde 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamı kullanılmıştır. Köklenme denemelerinde genotiplere ait bitki boyu (cm), kök uzunluğu (cm), kök sayısı (adet), yaş ağırlık (mg) ve kuru ağırlık (mg) parametreleri incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin genel durumları değerlendirilmiştir.

Myrobolan anacının köklenme denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin bitki boyu (cm), yaş ağırlık (g) ve kuru ağırlık (g) üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P < 0.001$ ), kök uzunluğu (cm), kök sayısı

(adet), üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur. Garnem anacında köklenme denemelerinde, katı kültür ve Plantform sisteminin bitki boyu, kök uzunluğu, kök sayısı, yaş ağırlık ve kuru ağırlık üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ). Myrobolan ve Garnem anaçlarında, istatistiksel olarak önemli olan parametrelerde, Plantform sisteminden elde edilen bitkilerin ortalamaları daha yüksek olmuştur. Myrobolan ve Garnem anaçlarının köklenme oranı hem katı kültür hem de Plantform sisteminde %100 olarak belirlenmiştir. Ayrıca, hem Myrobolan hem de Garnem anacında, Plantform sisteminde gelişen köklü bitkilerin genel görünümünün katı kültürde gelişen köklü bitkilere göre daha sağlıklı ve gelişimlerinin daha iyi olduğu tespit edilmiştir.

Plantform sisteminin kullanılabilirliği, işgücü ve zamandan tasarruf sağlaması yönüyle katı kültürlerle kıyasla iyi bir potansiyele sahip olmuştur.

Plantform sisteminin başarısını daha iyi ortaya koymak adına yapılacak olan çalışmalarda bizim çalışmamıza ek daha farklı parametrelerde incelenmesi önerilmektedir. Plantform geçici daldırma biyoreaktör sistemi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında, sistemin farklı daldırma ve havalandırma süreleri ile ilgili denemeler mevcuttur. Yapılan çalışmada kullanılan bitkisel materyal için farklı daldırma ve havalandırma süreleri deneyerek bu süreleri optimize edebilecek ek çalışmalar yapılabilir. Ayrıca sistem içerisine konulan bitki sayısı için, tez çalışması öncesi yapılan bazı ön çalışmalarda Plantform kaplarına fazla bitki konulduğunda bitkilerin gelişimine olumlu etki yarattığı gözlemlenmiştir. Bu nedenle yapılacak olan çalışmalarda Plantform kaplarına daha fazla bitkisel materyal konularak bu durumun etkisi test edilebilir.

Bu çalışma sonrasında Plantform sistemi ile diğer geçici daldırma biyoreaktör sistemleri kıyaslanabilir, böylece Plantform biyoreaktör sisteminin performansı değerlendirilebilir.

## KAYNAKLAR

- Aka Kaçar, Y., 2015. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Ders Notu (Yayınlanmamış).
- Aka Kaçar, Y. 2004. Moleküler markörlerin Prunus türlerinde kullanımı. Alatarım, 15.
- Alvard, D., Cote, F., and Teisson, C. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation effects of temporary immersion of explants. Plant Cell Tissue Organ Cult., 32(1), 55–60.
- Anonymous 2018a: [wiki.opensourceecology.org/wiki/Myrobalan\\_plum\\_rootstock](http://wiki.opensourceecology.org/wiki/Myrobalan_plum_rootstock)
- Anonymous 2018b: [invitrofidan.com/product/g-x-n/](http://invitrofidan.com/product/g-x-n/)
- Arıcı, Ş.E. 2008. Bazı sert çekirdekli meyve anaçlarının doku kültürü ile çoğaltılması. SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi, 9(1), 19-23.
- Benelli, C., Fernanda, C. M. and De Carlo, A. 2015. Platform, a temporary immersion system, for *in vitro* propagation of *Myrtus communis* and *Olea europaea*. 6th International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants Abstract Book.
- Biçen, B., 2017. Mersin bitkisinin (*Myrtus Communis* L.) klasik ve yeni nesil doku kültürü teknikleri ile çoğaltılması ve köklendirilmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış).
- Cabasson, C., Alvard, D., Dambier, D., Ollitrault, P. and Teisson, C. 1997. Improvement of Citrus somatic embryo development by temporary immersion. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 50(1), 33-37.
- Cengiz, M. 2018. Bazı turuncgil genotiplerinin klasik ve yeni nesil doku kültürü teknikleri ile mikroçoğaltımı ve genetik kararlılığının belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. s. 55.

- Damiano, C., La Starza, S.R., Monticelli, S., Gentile, A., Caboni, E. and Frattarelli, A. 2005. Propagation of Prunus and Malus by temporary immersion. In Liquid culture systems for in vitro plant propagation (pp. 243-251). Springer, Dordrecht.
- Daungban, S., Pumisitapon, P., Topoonyanont, N., and Poonnoy, P., 2017. Effects of explants division by cutting, concentrations of TDZ and number of sub-culture cycles on propagation of 'Kluai Hom Thong' banana in a temporary immersion bioreactor system. Thai Journal of Science and Technology, 6(1), 89-99.
- Edizer, Y., and Demirel, M.A. 2012. A study on the some characteristics of rooting of green cuttings of the some clonal rootstock in mist propagation. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 29(2), 1-8.
- Erbaş, B., 2011. Myrobalan ve Garnem anaçlarının *in vitro* doku kültürü teknikleri ile çoğaltımı üzerinde araştırmalar. Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 56s, Gaziantep.
- Escalona, M., Lorenzo, J.C., González, B., Daquinta, M., González, J.L., and Desjardins, Y. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. Plant Cell Rep., 18, 743–748.
- Escalona, M., Samson, G., Borroto, C., and Desjardins, Y. 2003. Physiology of effects of temporary immersion bioreactors on micropropagated pineapple plantlets. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 39(6), 651–656.
- Etienne, H., and Berthouly, M., 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 69(3), 215-231.
- Frómeta, O.M., Morgado, M.M.E., Da Silva, J.A.T., Morgado, D.T.P. and Gradaille, M.A.D. 2017. *In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker f. in a temporary immersion bioreactor. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 1-9

- Garoosi, G., Nezami Alanagh, E. and Haddad, R. 2010. The effect of PGRs on *in vitro* shoot multiplication of GF677 hybrid (*Prunus persica* x *P. amygdalus*) rootstock on GNH medium. Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding, 1(1), 34-43.
- Gao, M., Lin, Z., Luo, C., Chi, Z., Mo, Z., He, F., Jiang, W., Chen, L., He, X. and Wei, S. 2016. High efficiency of propagation for *Sagittaria sagittifolia* using a temporary immersion bioreactor system. Journal of Agricultural Science and Technology A, 6, 161-170.
- Gatti, E., Ozudogru, A., Lambardi, M. and Sgarbi, E. 2015. Comparison between a conventional culture system and Plantform bioreactor in *Quercus robur* micropropagation. 6th International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants Abstract Book.
- Georgiev, V., Schumann, A., Pavlov, A. and Bley, T. 2014. Temporary immersion systems in plant biotechnology. Engineering in life sciences, 14(6), 607-621.
- Güçlü, F., Koyuncu, F. ve Bekir, Ş.A.N. 2010. Bazı klon kiraz anaçlarının doku kültürü yöntemiyle çoğaltılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 14(2).
- Gutiérrez, L.G., López-Franco, R. and Morales-Pinzón, T. 2016. Micropropagation of *Guadua angustifolia* Kunth (Poaceae) using a temporary immersion system RITA®. African Journal of Biotechnology, 15(28), 1503-1510.
- Harris, R.E. and Mason, E.B. 1983. Two machines for *in vitro* propagation of plants in liquid media. Canadian Journal of Plant Science, 63(1), 311-316.
- İpek, M. 2015. *In vitro* şartlarda Garnem ve Myrobolan 29C anaçlarının kurak stresine karşı tepkilerinin belirlenmesi. Doctoral dissertation, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Kokotkiewicz, A., Bucinski, A. and Luczkiewicz, M. 2015. Xanthone, benzophenone and bioflavonoid accumulation in *Cyclopia genistoides* (L.) Vent. (honeybush) shoot cultures grown on membrane rafts and in a temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120(1), 373-378.
- Kose, S. 2015. In vitro propagation of 'Garnem' (*P. persica* x *P. dulcis*) rootstock. *Journal of Plant Molecular Biology and Biotechnology*, 5(1), 25-30.
- Lambardi, M., Roncasaglia, R., Bujasha, D., Baileiro, F., Correia Da Silva, D.P., and Ozudogru, E.A., 2015. Improvement of shoot proliferation by liquid culture in temporary immersion. 6th International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants Abstract Book.
- Masnoddin, M., Repin, R. and Aziz, Z.A. 2016. Micropropagation of an endangered borneo orchid, *Paphiopedilum rothschildianum* callus using temporary immersion bioreactor system. (*Thai Agricultural Research Journal*), 34(2), 161-171.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15, 473-497.
- Onay, A., Yıldırım, H., Piriç, V., Tilkat, E., Çiftçi, Y.Ö., Akdemir, H. ve Kılınc, F.M. 2012. Bitkilerin biyoteknolojik yöntemlerle ticari çoğaltımı; mevcut ve gelecekteki durum. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 1(2), 11-28.
- Özbek, B. 2011. Bazı sert çekirdekli meyve anaçlarının *in vitro* çoğaltımı ve kök-ur nematodlarına karşı dayanıklılıklarının araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. Adana. S. 63.
- Özbek, B., Kayım, M., ve Elekçioğlu, İ.H. 2014. *In vitro* koşullarda yetiştirilen bazı sert çekirdekli meyve anaçlarının kök-ur nematodları (*Meloidogyne incognita* ve *Meloidogyne javanica*, [Tylenchida: Meloidogynidae])'na karşı dayanıklılık düzeylerinin saptanması üzerine araştırmalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28(2), 27-35.

- Ramírez-Mosqueda, M.A. and Iglesias-Andreu, L.G. 2016. Evaluation of different temporary immersion systems (BIT®, BIG, and RITA®) in the micropropagation of *Vanilla planifolia* Jacks. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 52(2), 154-160.
- Sacco, E., Mascarello, C., Pamato, M., Musso, V. and Ruffoni, B. 2015. Evaluation of temporary immersion system for *in vitro* propagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Acta Horticulturae*, 1083, 327-333.
- Szopa, A., Kokotkiewicz, A., Luczkiewicz, M. and Ekiert, H. 2017. *Schisandra lignans* production regulated by different bioreactor type. *Journal of Biotechnology*, 247, 11-17.
- Umarusman, M.A. 2018. Adana ve çevresinde doğal olarak yetişen keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) genotiplerinin klasik ve yeni doku kültürü teknikleriyle mikroçoğaltımı. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi. s. 72.
- W. 2016. Optimization of *Sagittaria sagittifolia* rapid propagation in temporary immersion bioreactors system. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 29(11), 2704-2708.
- Welander, M., Persson, J., Asp, H., and Zhu, L.H. 2014. Evaluation of a new vessel system based on temporary immersion system for micropropagation. *Scientia Horticulturae*, 179, 227-232.
- Welander, M., Sayegh, A., Hagwall, F., Kuznetsova, T., and Holefors, A. 2017. Technical improvement of a new bioreactor for large scale micropropagation of several *Vaccinium* cultivars. ISHS 2017. XI International *Vaccinium* Symposium Ed.: J.W. Olmstead *Acta Horticulturae*, 1180(53), 387-392.
- Welander, M., Zhu, L.H., and Li, X.Y. 2007. Factors Influencing Conventional and Semi-Automated Micropropagation. *Propag. Ornamental Plants*, 7, 103-111.
- Yenice, Z., 2010. Geçici daldırma sistem biyoreaktörlerle su mercimeği (*Lemna minor* L.) bitkisinin *in vitro* çoğaltımı. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış).

- Zhang, B., Hu, Y., Jia, M., Jin, L., Xu, D. and Chen, J. 2017. Micropropagation of *Pinellia ternata* (Thunb.) Berit. plantlets using temporary immersion bioreactors. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 11(1), 59-65.
- Zhu, L. H., Li, X.Y., and Welander, M., 2005. Optimization of growing conditions for the apple rootstock M26 grown in RITA containers using temporary immersion principle. *Plant Cell Tissue Organ Cult.*, 81(3), 313-318.



## ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Irak Kerkük'te doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kerkük'te, tamamladı. 2011 yılında Kerkük Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde başladığı lisans eğitimini 2015 yılında tamamladı. Yüksek lisans eğitimini Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yapmaktadır.

