

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DÜŞÜNME MERKEZİ

**AYVADA (*Cydonia vulgaris* Pers.) ÇENEK
YAPRAKLARDAN SOMATİK EMBRİYO
OLUŞUMU VE SOMATİK EMBRİYOLARIN
BİTKİYE DÖNÜŞÜMÜ**

Ahmet AYGÜN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

1998

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AYVADA (*Cydonia vulgaris* Pers.) ÇENEK YAPRAKLARDAN
SOMATİK EMBRİYO OLUŞUMU VE
SOMATİK EMBRİYOLARIN BİTKİYE DÖNÜŞÜMÜ

Ahmet AYGÜN

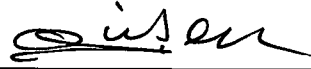
76671

YÜKSEK LİSANS TEZİ

76671

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 28 /09 / 1998 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından ..95.. (..Doksanbeş....)
not takdir edilerek Oybirliği ile kabul edilmiştir.

  
Doç.Dr.Hatice DUMANOĞLU Prof.Dr.Yücel GÜLŞEN Y.Doç.Dr. Ekrem GÜREL
(Danışman) (Üye) (Üye)

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AYVADA (*Cydonia vulgaris* Pers.) ÇENEK YAPRAKLARDAN SOMATİK EMBRİYO OLUŞUMU VE SOMATİK EMBRİYOLARIN BİTKİYE DÖNÜŞÜMÜ

Ahmet AYGÜN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hatice DUMANOĞLU
1998, Sayfa: 54

Jüri : Doç. Dr. Hatice DUMANOĞLU
Prof. Dr. Yücel GÜLŞEN
Yard. Doç. Dr. Ekrem GÜREL

Ayvandan (*Cydonia vulgaris* Pers. cv Limon) serbest tozlanma sonucu oluşmuş tohumlarının olgunlaşmamış çenek yaprakları tam çiçeklenmeden 7, 8, 9, 10 ve 11 hafta sonra meyvelerden ayrılmış ve 250 mg/l L-glutamin, 500 mg/l kasein hidrolizat, 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 mg/l benziladenin (BA), 0.0, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) ya da naftalenasetik asit (NAA) ilave edilmiş ½ düzeyinde makro element ve demir içeren değiştirilmiş Murashige and Skoog ortamında kültüre alınmıştır. Çenek yapraklar 4 hafta süreyle karanlık koşullarda inkübe edilmiş ve daha sonra büyümeyi düzenleyici madde içermeyen 250 mg/l L-glutamin, 500 mg/l kasein hidrolizat ilave edilmiş makro element ve demir düzeyi ½ olan değiştirilmiş Murashige and Skoog ortamında karanlık koşullarda 3 kez alt kültüre alınmıştır. Her alt kültür sonrasında embriyonik çenek yaprak oranı (%) ve somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak) belirlenmiştir. Araştırmada en yüksek embriyonik çenek yaprak oranı (%53.3 - 80.0) ve somatik embriyo sayısı (1.07 ± 0.07 - 2.53 ± 0.79 adet/ çenek yaprak), başlangıç ortamında 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/ NAA, 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA, 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D ya da 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA kombinasyonları kullanılmış ve tam çiçeklenmeden 7. ve 11. hafta sonra kültüre alınmış çenek yapraklardan elde edilmiştir.

Büyümeyi düzenleyici madde içermeyen, makro element ve demir düzeyi ½ olan değiştirilmiş Murashige and Skoog ortamında 4°C'de 4, 8 ya da 12 hafta süreyle soğuklatma sonrasında somatik embriyoların bitkiye dönüşümü sağlanamamıştır.

ANAHTAR KELİMELELER:

Ayva, *Cydonia vulgaris* Pers., Limon ayvası, *in vitro*, somatik embriyo oluşumu, benzil adenin (BA), naftalenasetik asit (NAA), 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D), glutamin, kasein hidrolizat, değiştirilmiş Murashige and Skoog ortamı, bitkiye dönüşüm.

ABSTRACT**Masters Thesis****SOMATIC EMBRYOGENESIS AND PLANT REGENERATION FROM COTYLEDONS
OF QUINCE (*Cydonia vulgaris* Pers.)****Ahmet AYGÜN****Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture****Supervisor: Assoc.Prof.Dr. Hatice DUMANOĞLU
1998, Page: 54****Jury : Assoc. Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU
Prof. Dr. Yücel GÜLŞEN
Asst. Prof. Dr. Ekrem GÜREL**

Immature cotyledons of open-pollinated seeds from quince (*Cydonia vulgaris* Pers. cv 'Limon') were excised from fruits at 7, 8, 9, 10 and 11 weeks after anthesis and cultured on Modified Murashige and Skoog medium containing ½ macroelements and iron supplemented with 250 mg/l L-glutamine, 500 mg/l casein hydrolysate, 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 and 5.0 mg/l 6-benzyladenine (BA) and 0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/l 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) or naphthalene acetic acid (NAA). The cotyledons were incubated for 4 weeks in darkness, prior to subculturing on hormone-free Murashige Skoog medium containing ½ macroelements and iron supplemented with 250 mg/l L-glutamine, 500 mg/l casein hydrolysate in darkness for three times. Percentage of embryonic cotyledon (%) and number of somatic embryos (number per cotyledon) were determined after each subculture. In this research, the highest percentage of embryonic cotyledons (53.3-80.0%) and number of somatic embryo (1.07 ± 0.07 - 2.53 ± 0.79) were obtained with 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA, 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D, 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA, 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D or 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA combinations in induction medium and with cotyledons cultured at 7 and 11 weeks after anthesis.

Conversion of somatic embryos into plantlets was not achieved after cold treatments for 4, 8 and 12 weeks on hormone-free Murashige and Skoog medium containing ½ macroelements and iron.

KEY WORDS:

Quince, *Cydonia vulgaris* Pers., Limon quince cultivar, *in vitro*, somatic embryogenesis, benzyladenine (BA), naphthalene acetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, L-glutamine, casein hydrolysate, Murashige and Skoog medium, plant regeneration, cold treatment.

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Meyve türlerinde moleküler teknikler kullanılarak gerçekleştirilen ıslah çalışmalarında ve *in vitro* çoğaltımda önemli bir yere sahip bulunan somatik embriyolar, ayva yetiştiriciliği ve ıslahı için de önem taşımaktadır. Yerli standart ayva çeşitlerimizden birisi olan Limon ayvasında somatik embriyo oluşumu ve bitkiye dönüşümü konusunda bana çalışma olanağı veren ve her konuda yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Hatice DUMANOĞLU'na (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü) ve çalışmalarımı yürüttüğüm biyoteknoloji laboratuvarını Bölüme kazandıran Sayın Prof. Dr. A. İlhami KÖKSAL'a (Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü) teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	i
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
3. MATERYAL VE METOT.....	10
3.1. Materyal	10
3.2. Metot.....	10
4. SONUÇLAR	15
4.1. Somatik Embriyo Oluşumu	15
4.1.1. Alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları.....	15
4.1.2. Alt kültürlerde somatik embriyo sayısı.....	31
4.2. Somatik Embriyoların Bitkiye Dönüşümü.....	45
5. TARTIŞMA	47
KAYNAKLAR.....	51

SİMGELER DİZİNİ

ABA	Absizik asit
A.Ö.F.	Asgari Önemli Farklılık
BA	Benziladenin
2,4-D	2, 4-Diklorofenoksiasetik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
GA ₃	Gibberellik asit
g/l	gram/litre
g/mol	gram/mol
g	gram
IBA	İndolbütirik asit
2iP	6-dimetilaminopurin
KIN	Kinetin
LS	Linsmaier and Skoog
mm	milimetre
MS	Murasghe and Skoog
MT	Murashige and Tucker
mg/l	miligram/litre
ml	mililitre
mM	Milimol
μM	Mikromol
N	Normal
NAA	Naftalenasetik asit
NN	Nitsch and Nitsch
OMe	Değiştirilmiş zeytin ortamı
TDZ	Thidiazuron

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 4.1a. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 0.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)21
- Şekil 4.1b. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 0.5 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)22
- Şekil 4.1c. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 1.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)23
- Şekil 4.1d. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 2.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)24
- Şekil 4.1e. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 5.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)25
- Şekil 4.2. 5.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D'nin kullanıldığı başlangıç ortamına dikilen olgunlaşmamış çenek yaprakların büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortam üzerinde yapılan 3. alt kültürü sonunda çenek yapraklarda kallus ve kökçük oluşumu26
- Şekil 4.3a. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 0.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)37
- Şekil 4.3b. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 0.5 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)38

- Şekil 4.3c. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 1.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)39
- Şekil 4.3d. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 2.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)40
- Şekil 4.3e. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 5.0 mg/l BA'nın, 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)41
- Şekil 4.4. Tam çiçeklenmeden 11 hafta sonra 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA kombinasyonunun (8) kullanıldığı başlangıç ortamına dikilen olgunlaşmamış çenek yaprakların, büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamda 3. alt kültürü yapılmadan önce üzerindeki somatik embriyolarla görünümü43
- Şekil 4.5. 11. haftada alınan çenek yapraklara ait 12 hafta süreyle soğuklatılmış somatik embriyolarda aydınlık koşullara çıkarıldığında meydana gelen kallus ve kök gelişimi46

ÇİZELGELER DİZİNİ

iii

Çizelge 3.1. Başlangıç ortamı için BA'nın 2,4-D ya da NAA ile oluşturduğu kombinasyonlar	11
Çizelge 3.2. Değiştirilmiş Murashige and Skoog ortamının içeriği (Dodds and Roberts 1993)	12
Çizelge 4.1. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)	16
Çizelge 4.2. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)	32

1. GİRİŞ

Rosales takımının, Rosaceae familyasının, Pomoideae alt familyasında *Cydonia* cinsi içerisinde yer alan ayva, arasında aşı uyumsuzluğu sorununun bulunmadığı armut çeşitleri için tüm Dünya’da yaygın olarak kullanılan yegane bodur klon anaç olma özelliğinin (Dumanoglu 1991) yanısıra özellikle ülkemizde, Orta ve Doğu Avrupa ve Batı Asya ülkelerinde meyveleri taze ya da işlenerek tüketilen ekonomik öneme sahip (Güngör 1989) yumuşak çekirdekli bir meyve türüdür.

Yabancı tozlanmanın yanında kendi çiçek tozlarıyla da dölleneyen ayvada, genetik açılımın diğer bir çok meyve türüne göre daha az olması, tohumlarının çoğaltım amacıyla kullanım şansını artırmaktadır. Ayrıca, bu meyve türü aşının yanında alışlagelmiş diğer vegetatif yöntemlerle de kolayca çoğaltılabilmektedir (Özbek 1978).

Ayvada *in vitro* klonal çoğaltım da ümitvar görülen diğer bir yöntemdir (Dolcet-Sanjuan et al 1991, Gülşen ve Dumanoglu 1992, Dumanoglu ve Gülşen 1993). Ayrıca, çok yıllık odunsu bitki türlerinde, bitkilerin özelliklerinden kaynaklanan nedenlerden dolayı elde edilmesi güç bir işlem olmakla birlikte somatik embriyolar (Tulecke 1987), ayvanın da *in vitro* çoğaltımı için önemli bir potansiyel oluşturmaktadır. Somatik embriyolar, somatik hibridizasyon, somaklonal varyasyon, mutasyon, seleksiyon, çeşit tanısı, genetik materyalin korunması ve DNA (deoksiribonükleik asit) transferi gibi moleküler tekniklerin kullanıldığı genetik çalışmalarda da büyük önem taşımaktadır (Litz and Gray 1992, Robacker 1993, Daigny et al 1996).

Meyve türlerinde farklı gelişme aşamasındaki zigotik ya da somatik dokulardan somatik embriyo oluşumu ve çoğaltımı konularında yapılan çalışmalarda yaygın olarak temel besin ortamının bileşimi ve kültür koşullarının belirlenmesi üzerinde durulmaktadır. Somatik embriyoların bitkiye dönüşümleri konusunda ise başta dinlenme olmak üzere karşılaşılan sorunların çözümü amacıyla da bir çok araştırma yapılmaktadır (Litz and Gray 1992). Dinlenmenin ortadan kaldırılması için üzerinde en fazla çalışılan uygulama somatik embriyoların soğuklatılmasıdır (Tulecke and McGranahan 1985, Kolova and Stoyanov 1994, Paul et al 1994).

Bu çalışmada, ayvanın (*Cydonia vulgaris* Pers) değişik zamanlarda alınan olgunlaşmamış çenek yapraklarından somatik embriyo oluşumu üzerine farklı büyümeyi düzenleyici maddelerin ve bunlardan oluşan somatik embriyoların bitkiye dönüşümü için soğuklatma uygulamalarının etkileri araştırılmıştır.



2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

Haccius, somatik embriyo oluşumunu, somatik dokulardan bipolar embriyoların üretildiği eşeysel olmayan bir büyüme şekli olarak tanımlamıştır. Araştırmacıya göre normal embriyo oluşumuna benzeyen gelişme aşamaları sonrasında ana dokuya iletim demetleri ile bağlı olmadan embriyolar meydana gelmektedir (Tulecke 1987). Williams and Maheswaran (1986) ise somatik embriyo oluşumunu, eşey hücreleri birleşmeden haploit ya da diploit somatik hücrelerin, belirli embriyolojik aşamalardan geçerek farklılaşması olarak ifade etmektedir. Araştırmacı bu olayın bir çok türde nusellus ve sinerjit hücreleri gibi eşeysel orjinli ya da yaprak gibi somatik dokulardan doğal olarak meydana geldiğini de bildirmektedir.

Sharp et al somatik embriyo oluşumunun direkt ve indirekt olmak üzere iki tipinin bulunduğunu belirtmektedir. Direkt somatik embriyo oluşumu, eksplant dokusundan embriyonun doğrudan gelişmesi, indirekt somatik embriyo oluşumu ise kallus, hücre süspansiyonları ya da somatik embriyo hücreleri veya hücre gruplarından embriyoların meydana gelmesi şeklinde ifade edilmektedir (Tulecke 1987).

İlk kez havuç hücre kültürlerinde somatik embriyo oluşumunun başarıldığının bildirildiği 1960'lı yılların başlarından itibaren günümüze kadar bir çok bitki türünde somatik embriyo oluşumu ve bitkiye dönüşümü konusunda önemli gelişmeler sağlanmıştır (Tulecke 1987). Her ne kadar ayva türlerinde (*Cydonia spp*) somatik embriyo oluşumu üzerinde bir kaynağa rastlanmamışsa da özellikle son 15 yılda bir çok meyve türünde bu konuda önemli sonuçlar elde edilmiştir.

James et al (1984), Bramley, Cox, Greensleve ve Spartan elma çeşitleri ile M9, M25, M26 ve M27 elma klon anaçlarının (*Malus pumila* Mill.) tam çiçeklenme tarihinden 30 ve 50 gün sonra olgunlaşmamış tohumlarının nusellus ve endosperm dokuları ile zigotik embriyolarını, içerisinde farklı dozlarda BA (benziladenin), 2,4-D (2,4-diklorofenoksiasetik asit) ve NAA (naftalenasetik asit) bulunan ya da bulunmayan Linsmaier and Skoog (LS) ve Murashige and Tucker (MT) ortamlarında kültüre almışlar ve somatik embriyo ve kallus oluşumları ile zigotik embriyo gelişimini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda somatik

embriyolar, 50 günlük tohumların nusellus ya da endosperm dokusunun mikropilar uçlarından ve çeşitlere göre %0-23 arasında değişen oranlarda meydana gelmiştir. Tohum başına elde edilen embriyo sayısı ise 1-9 arasında olmuştur. Genel olarak büyümeyi düzenleyici maddelerin etkisiz kaldığı çalışmada, temel besin ortamına 500 mg/l malt ekstraktının katılması ise engelleyici özellik taşımıştır.

Tulecke and McGranahan (1985) ise cevizde (*Juglans regia* L.) somatik embriyo oluşumunu sağlamak üzere tam çiçeklenmeden 6-11 hafta sonra meyvelerden çıkardıkları olgunlaşmamış çenek yaprakları, 1.0 mg/l BA, 0.01 mg/l IBA (indolbütirik asit), 2.0 mg/l KIN (kinetin) ve 250 mg/l glutamin ilave ettikleri Driver and Kuniyuki ortamında ve daha sonra büyümeyi düzenleyici madde ve glutamin bulunmayan ortamda 2-4 hafta süreyle kültüre almışlardır. Araştırmacılar somatik embriyo oluşumu için en uygun çenek yaprak alma zamanının, çeşitlere göre değişmekle birlikte tam çiçeklenmeden 7-11 hafta sonra olduğunu, embriyonik çenek yaprak oranının ise %10-33 arasında belirlendiğini ve somatik embriyoların bitkiye dönüşümü için 2-4°C'de 1-4 hafta süreyle bekletmenin iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Mehra and Jaidka (1985), armutda (*Pyrus communis* var. *sativa*) çenek yapraklar, embriyo, kök, hipokotil, gövde, yaprak ve sürgün uçları gibi farklı organlardan elde edilen kallus kültürlerinden somatik embriyo oluşumunu sağlamak üzere 2.0 mg/l NAA ve BA ilave edilmiş Murashige and Skoog (MS), Nitsch ve White ortamlarını denemişlerdir. Araştırmacılar çenek yapraklara ait kallustan 2.0 mg/l NAA + 2.0 mg/l BA içeren Nitsch ortamında %80, 2.0 mg/l NAA + 2.0 mg/l BA içeren MS ortamında %70 ve 2.0 mg/l NAA + 2.0 mg/l BA içeren White ortamında %45 oranında embrioid elde etmişlerdir.

Tropik bir meyve türü olan longanın (*Euphoria longan* Stend.) yaprak kallusundan somatik embriyo oluşumunu inceleyen Litz (1988), embriyonik kallus eldesi için en uygun kombinasyonun kinetin ve 2,4-D'nin 0.25-2.0 mg/l konsantrasyonlarını içeren kombinasyonlar olduğunu bildirmiştir.

Bano et al (1991) çayın (*Thea sinensis* L.) çenek yapraklarından somatik embriyo oluşumu üzerinde yürüttükleri çalışmada, 3-8 mm çapında, açık kahverengi ve sarı kabuklu tohumlardan alınarak, 0.5 mg/l 2,4-D ve 0.05 mg/l kinetin katılmış MS ortamına dikilen

çenek yaprakların %70'inden embriyonik kültür elde etmişlerdir. Araştırmacılar, ortamda 2,4-D konsantrasyonunun artmasıyla çeşitli şekillerde ve büyüklükte sıkı dokuların meydana geldiğini, ancak bu dokuların düşük dozda 2,4-D ve kinetin içeren bir ortamda ayrı ayrı kültüre alınmasıyla proembriyonik hücre yığınlarının ve daha sonra bitkilerin oluştuğunu belirtmektedirler. Çalışmada, embriyonik kültürde globular embriyo yığınları meydana gelmiş ve bunlar büyümeyi düzenleyici madde bulunmayan ya da 0.05 µg/l kinetin içeren bir ortama alındığında kalp formundan torpedo şekilli embriyolara dönüşerek %30 oranında olgunlaşmışlardır. Bunların %40'ı 0.05 mg/l kinetin, %1.5 glikoz ve %0.2 aktif kömür katılmış, ½ kuvvetindeki MS ortamında çimlenmiştir. Morfohistolojik bulgular somatik embriyoların direkt olarak çenek yaprak hücrelerinden meydana geldiğini göstermiştir.

Pijut (1993) ise *Juglans cinerea* L.'nin gelişmekte olan meyvelerinden aldığı olgunlaşmamış çenek yaprakları somatik embriyo oluşumunu sağlamak amacıyla *in vitro* koşullarda kültüre almıştır. Somatik embriyolar, tam çiçeklenmeden 9 hafta sonra toplanan ve sırasıyla 250 mg/l L-glutamin, 0.01 mg/l IBA, 1 mg/l BA ve 2 mg/l kinetin içeren Driver and Kuniyuki ve büyümeyi düzenleyici madde içermeyen Driver and Kuniyuki ortamları üzerinde 3'er hafta süreyle kültüre alınan çenek yapraklardan doğrudan elde edilmiştir.

Neuman et al (1993) cevizde (*Juglans nigra* L.) tam çiçeklenmeden 8-23 hafta sonra tohumların olgunlaşmamış çenek yapraklarından aldıkları 1cm² büyüklüğündeki eksplantları 1 g/l kasein hidrolizat ve 30 g/l şeker katılan Woody Plant ortamında kültüre almışlardır. Eksplantlar 0.05 µM (0.01 mg/l), 0.5 µM (0.1 mg/l) ya da 5.0 µM (1.1 mg/l) TDZ (thidiazuron) ve 0.1µM (0.02 mg/l), 1.0 µM (0.2 mg/l) ya da 10.0 µM (2.2 mg/l) 2,4-D kapsayan başlangıç ortamında 4 hafta süreyle ışık altında bırakılmıştır. Eksplantlar büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ikinci ortama taşınmış ve karanlık koşullarda 11 hafta tutulmuştur. En fazla sayıda somatik embriyo, tam çiçeklenmeden 8, 10 ve 12 hafta sonra alınarak 0.5 ya da 5.0 µM TDZ ve 0.1 ya da 1.0 µM 2,4-D içeren ortamlarda elde edilmiştir.

Robacker (1993) Regale ve Fry muscadine üzüm (*Vitis rotundifolia* Michx.) çeşitlerinin olgunlaşmamış yaprak ayası ve saplarını, 9.0 µM (2.0 mg/l) 2,4-D ve 4.4 µM (1.0 mg/l) BA ilave edilmiş ve agar ile katılaştırılmış Nitsch and Nitsch (NN) ortamında

kültüre alarak somatik embriyo oluşumunu incelemiştir. Büyümeyi düzenleyici madde içermeyen NN ortamına alındıklarında globular embriyoların elde edildiği embriyonik kallusu çoğaltmak için kallus ve ilk eksplant dokuları 10.7 μ M (2.0 mg/l) NAA ve 0.9 μ M (0.2 mg/l) BA içeren NN ortamına transfer edilmiştir. Embriyolar büyümeyi düzenleyici madde içermeyen taze ortamda alt kültüre alındıktan sonra olgunlaştırılmış ve çimlendirilmiştir. Somatik embriyolar yaprak ayasından çok yaprak saplarından meydana gelmiştir. Regale ve Fry çeşitlerinde yaprak ayasından sırasıyla %14 ve %2 oranlarında somatik embriyo elde edilmişken, bu oran yaprak sapında %90 ve %50 olarak kaydedilmiştir. Çimlendirilmiş somatik embriyolar 1 μ M (0.23 mg/l) BA içeren NN ortamına alındığında sürgün gelişimi iyileşmiştir.

Gingas and Stokes (1993) siyah (*Rubus occidentalis*) ve kırmızı (*R. idaeus*) ahudutların erken yeşil, geç yeşil ya da erken sarı ve kırmızı meyve dönemlerinde alınan tohumlarından çıkarılan 0.5-1.0 mm büyüklüğündeki çenek yaprakları 200 mg/l kasein hidrolizat, %3 şeker ve 0, 0.45 μ M (0.1 mg/l) ya da 4.5 μ M (1.0 mg/l) 2,4-D içeren MS ortamında kültüre alarak somatik embriyo oluşumlarını incelenmişlerdir. Bristol ve Jewel kırmızı ahududu çeşitlerinde geç yeşil ya da erken sarı meyvelerin tohumlarından alınan eksplantların yaklaşık %70'i, tüm 2,4-D konsantrasyonlarında bir hayli embriyonik bulunmuştur. Embriyoidlerin çoğu kallusdan değil, doğrudan eksplanttan meydana gelmiştir.

Kolova and Stoyanov (1994) elma (*Malus pumila* Mill.) zigotik embriyolarının ve gövde parçalarının somatik dokularından *in vitro* somatik embriyo oluşumu konusunda yaptıkları çalışmada, 2 mg/l BA, 0.5 mg/l NAA ve 0.1 mg/l GA₃ içeren Skirvin and Chu ortamı üzerinde çenek yaprak kısımlarının %48 ve boğum aralarından alınan gövde kısımlarının %63'den fazlasının somatik embriyo oluşturduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar ayrıca somatik embriyoların normal bitkilere sadece 4°C'de 5-7 hafta tutulduktan sonra dönüştüklerini bildirmişlerdir.

Paul et al (1994), Golden Delicious elma (*Malus x domestica* Borkh.) çeşidinin olgunlaşmamış zigotik embriyolarına ait çenek yapraklardan somatik embriyo oluşumu üzerine eksplantların alınma zamanlarının, karanlık uygulamasının, organik bileşiklerin ve

şeker konsantrasyonlarının etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, eksplantların karanlık koşullarda, yüksek konsantrasyonda oksin (6 mg/l NAA) içeren başlangıç ortamına ve sonrasında düşük dozlarda sitokinin (0.5 mg/l BA) ve oksin (0.05 mg/l NAA) içeren gelişme ortamına dikilmesi ve aydınlık koşullara alınması sonucunda etkili bir dönüşüm ile karşılaşmışlardır. 60 günlük zigotik embriyolardan alınan genç çenek yaprakları çok embriyonik bulunmuştur (%18.3). Başlangıç ortamına adenin, L-glutamin, glisin, 0-500 mg/l dozlarında kasein hidrolizat ve 30-60 g/l şeker ilavesi, 20 günlük karanlık uygulamasıyla birlikte somatik embriyo oluşum sıklığını artırmıştır. Somatik embriyoların bitkiye dönüşümü, içerisinde büyümeyi düzenleyici madde bulunmayan ½ kuvvetindeki MS ortamı üzerinde embriyolara 2 ay soğuk uygulanması sonucunda başarılmıştır. Somatik embriyoların çoğaltımı, 0.1 mg/l BA + 0.1 mg/l KIN + 0.1 mg/l IBA kapsayan çoğaltma ortamı üzerinde, sürekli karanlık koşullarda alt kültürlerin yapılması ile başarılmıştır.

Arrillaga et al (1995), üvezin (*Sorbus domestica* L.) kültüre alınmış anterlerinde somatik embriyo oluşumu üzerine mikrospor gelişim aşaması, soğuk uygulaması ve büyümeyi düzenleyici maddelerin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, somatik embriyo oluşumunun sadece tetrat ve bir çekirdekli safhadaki çiçek tozlarını içeren anterlerin 10 µM (2.0 mg/l) IBA + 5 µM (1.13 mg/l) BA ve 25 µM (5.6 mg/l) BA + 5 µM (1.0 mg/l) IBA içeren ortamlarda kültüre alınmasıyla %4-8 oranlarında gerçekleştiğini saptamışlardır.

Onay et al (1995) ise antepfıstığının (*Pistacia vera* L.) olgunlaşmamış tohumlarından somatik embriyo oluşumunu araştırdıkları çalışmalarında, 200 mg/l kasein hidrolizat, 114 µM (20 mg/l) l-askorbik asit ve BA içeren sıvı MS ortamının embriyonik doku ürettiğini belirlemişlerdir. Sıkı yapılı embriyonik kitleler %20 oranında, 8.9 µM (2.0 mg/l) BA içeren sıvı ortamda kültürün 2. haftasında meyve eksplantlarından doğrudan farklılaşmıştır. Embriyonik kitle bu defa 4.4 µM (1.0 mg/l) BA içeren aynı ortama transfer edildiğinde somatik embriyolar oluşmuştur. Somatik embriyolar çalkalanarak gevşek embriyonik kitleden ayrılmış ve katılaştırılmış MS ortamında büyümeyi düzenleyici maddeler kullanılmadan çimlendirilmiştir.

Rugini and Caricato (1995) ise araştırmalarında zeytin (*Olea europaea* L.) çeşitlerinin olgun dokularından somatik embriyo oluşumunu ve bitkiye dönüşümünü

incelemişlerdir. Primer embriyolar, doku kültürü ile çoğaltılmış Canino ve Moraiolo çeşitlerinin dokularından elde edilmiş sürgünlerden meydana gelen morfojenetik kitlelerden kaynağını almıştır. Embriyo oluşumu 0.5 μ M (0.1 mg/l) 2iP (6-dimetilaminopurin), 0.44 μ M (0.1 mg/l) BA, 0.25 μ M (0.05 mg/l) IBA ve 0.42 mM (200.5 mg/l) cefotaxime ilave edilmiş değiştirilmiş zeytin ortamı (OMe) üzerinde %18'e varan oranlarda elde edilmiştir.

Carimi et al (1995) *Citrus* türlerinde stil kültürü ile somatik embriyo oluşumunu inceledikleri çalışmalarında, *Citrus aurantium* L. (AA12, AA30 ve AA31 çeşitleri), *C. deliciosa* Tenore (Avana ve Tardivo di Ciaculli çeşitleri), *C. paradisi* Macf. (Marsh sedless ve Star Ruby çeşitleri) ve *C. sinenensis* (L.) Osb. (Bonanza, Brasiliano 92, Sanguinello ve Valencia çeşitleri) türlerinde çeşitlerin tam çiçeklenme dönemlerinde çiçek tomurcuklarından aldıkları stigmayı da içeren stillerden oluşan eksplantları 146 mM (50 g/l) şeker, 500 mg/l malt ekstraktı ve 13.3 μ M (3 mg/l) BA içeren ve BA içermeyen MS ortamı üzerinde kültüre almışlardır. Uygulamalar başladıktan 4 hafta sonra stillerin dip kısmından kallus gelişimi gözlenmiş ve embriyo oluşumu 2-3 ay sonra meydana gelmiştir. En fazla somatik embriyo BA içeren ortam üzerinde kültüre alınan Sanguinello çeşidinde 128.1 adet/eksplant olarak belirlenmiştir. Kallusdan ayrılan somatik embriyoların 146 mM şeker, 500 mg/l malt ekstraktı ve 0.27 μ M (0.05 mg/l) NAA içeren MS ortamında tam bitkiye dönüşümleri sağlanmıştır.

Forero (1995) da muz çeşitlerinde (*Musa*) dişi çiçeklerden somatik embriyo oluşumu üzerinde çalışmıştır. Embriyonik etki çiçek salkımının 8-13. sıraları arasında yoğunlaşmıştır. Hücre süspansiyon kültürlerinde, başlangıçtan 21-30 gün sonra embriyogenik kapasite sağlanmıştır. Somatik embriyo oluşumu çeşitlere göre değişmekle birlikte kültürün 4.-6. aylarında görülmüş ve ortalama farklılaşmış somatik embriyo sayısı 1 ml sıvı ortamda 439 adet, yarı katı ortamda 197 adet olarak kaydedilmiştir.

Daigny et al (1996) Gloster 69 elma çeşitinde (*Malus x domestica* Borkh.) sekonder somatik embriyo oluşumunu etkileyen faktörleri araştırdıkları çalışmalarında, primer somatik embriyoları, olgunlaşmamış zigotik embriyoların çenek yapraklarından elde edilen kültürlerden üretmişlerdir. Bu somatik embriyolar farklı büyümeyi düzenleyici maddeleri

kapsayan ortamlar üzerinde sekonder somatik embriyo oluşumu ile çoğaltılmışlardır. %55.5 ile en yüksek çoğalma oranı, 5.3 μ M (1.0 mg/l) NAA, 0.9 μ M (0.2 mg/l) BA ve 0.9 μ M (0.2 mg/l) KIN kombinasyonu ya da tek başına TDZ (10 μ M) (2.2 mg/l) ile elde edilmiştir. En uygun sekonder somatik embriyo oluşumu (>%73) 175 mM (60 g/l) maltoz ve 2.8 g/l fitojel ile NAA/BA/KIN kombinasyonu ya da 10 μ M (2.2 mg/l) TDZ ilave edilmiş ortam üzerinde, büyük somatik embriyo ya da çenek yaprak benzeri yapılara ait kültürlerden elde edilmiştir.

Garin et al (1997) tarafından yabani kirazda (*Prunus avium* L.) hem zigotik ve hem de somatik embriyolardan indirekt somatik embriyo oluşumu sağlanmıştır. Embriyonik bir hat, somatik embriyolardan embriyonik kallusların çoğaltılmasıyla başarılmıştır. Bu hat, embriyonik kültürlerin 6 generasyonu süresince 3 yıldan daha uzun bir zaman korunmuştur. Son iki generasyonda eksplantların 550'den fazlası embriyogenik olmuştur. Farklı gelişme safhalarında embriyolar üretilmiştir. Çenek yapraklı aşamadaki embriyolar arasından %50'si iki çenek yaprağa ve arada bir hipokotile, %43'ü bir ya da ikiden daha fazla çenek yaprağa ve %7'si yapışık çenek yaprağa sahip bulunmuştur. Embriyoların bir çoğu saydam yapıya sahip olmuş ve bunların bitkiye dönüşümü çok düşük oranda gerçekleşmiştir. Sekonder embriyolar, kültüre alınmış somatik embriyolar ile kallustan ortaya çıkan embriyolardan düşük sıklıkta meydana gelmiştir. İndirekt somatik embriyo oluşumu olgunlaşmamış zigotik embriyolardan da sağlanmıştır. Kültür ortamı 0.9 μ M (0.2 mg/l) KIN, 0.9 μ M (0.2 mg/l) BA ve 0.5 μ M (0.09 mg/l) NAA içerdiğinde eksplantların %51'i embriyonik olmuştur.

Onay et al (1997) sıvı besin ortamında olgunlaştırılmış antepfıstığı (*Pistacia vera* L.) somatik embriyolarından bitki eldesinde en iyi somatik embriyo olgunlaşmasının, BA ve ABA'nın düşük konsantrasyonları (0.5 mg/l) ile büyümeyi düzenleyici madde içermeyen sıvı MS besin ortamından elde edildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar somatik embriyolarda en yüksek çimlenme oranına ise %62 ile büyümeyi düzenleyici madde bulunmayan ortamda ulaşmışlardır.

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma 1997-1998 yılları arasında Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak Limon ayvasının (*Cydonia vulgaris* Pers.) serbest tozlanma sonucunda oluşmuş meyvelerine ait tohumlarının olgunlaşmamış çenek yaprakları kullanılmıştır. Bu amaçla, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nün araştırma ve uygulama bahçesinde, East Malling Quince A anacı üzerine 18 farklı ayva çeşidi ve tipinin aşılınması ile 1980 yılında oluşturulmuş ayva kolleksiyon parselinde yer alan Limon ayvası ağaçları esas alınmıştır. Limon ayvası ekonomik öneme sahip, verimli yerli standart ayva çeşitlerimizden birisidir (Özbek 1978).

3.2. Metot

Araştırmanın ilk bölümünde, beş farklı zamanda alınan olgunlaşmamış çenek yapraklardan somatik embriyo oluşumu üzerine başlangıç ortamına katılan 0.0, 0.5, 1.0, 2.0 ve 5.0 mg/l benziladenin'in (N^6 -benzyladenin, $C_{12}H_{11}N_5$, $M=225.25$ g/mol) (BA), 0.0, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, $C_8H_6Cl_2O_3$, $M=221.04$ g/mol) (2,4-D) ya da naftalenasetik asit (α -naphthalene-acetic acid, $C_{12}H_{10}O_2$, $M=186.2$ g/mol) (NAA) ile oluşturduğu kombinasyonların (Çizelge 3.1) etkileri, başlangıç ortamından çıkarılan çenek yapraklarda ve bu çenek yapraklarla büyümeyi düzenleyici maddeleri içermeyen ortamlar üzerinde yapılan her alt kültür sonrasında incelenmiştir. Böylece başlangıç ortamında esas alınan çenek yaprak alma zamanları ve büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının alt kültürü yapılan çenek yapraklardaki etkileri ortaya çıkarılmıştır.

Çizelge 3.1. Başlangıç ortamı için BA'nın 2,4-D ya da NAA ile oluşturduğu kombinasyonlar

No	BA + 2,4-D Kombinasyonları	No	BA + NAA Kombinasyonları
1	0.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D	5	0.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA
2	0.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D	6	0.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA
3	0.0 mg/l BA + 1.0 mg/l 2,4-D	7	0.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA
4	0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D	8	0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA
9	0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D	13	0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA
10	0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D	14	0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA
11	0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l 2,4-D	15	0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA
12	0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D	16	0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA
17	1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D	21	1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA
18	1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D	22	1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA
19	1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l 2,4-D	23	1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA
20	1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D	24	1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA
25	2.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D	29	2.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA
26	2.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D	30	2.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA
27	2.0 mg/l BA + 1.0 mg/l 2,4-D	31	2.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA
28	2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D	32	2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA
33	5.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D	37	5.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA
34	5.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D	38	5.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA
35	5.0 mg/l BA + 1.0 mg/l 2,4-D	39	5.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA
36	5.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D	40	5.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA

Tüm denemelerde temel besin ortamı olarak sodyum EDTA (Na_2EDTA) düzeyi Singh and Krikorian tarafından yeniden belirlenmiş olan MS (MS) ortamı esas alınmıştır (Çizelge 3.2) (Dodds and Roberts 1993).

Büyümeyi düzenleyicilerin oluşturduğu kombinasyonları için gerekli BA, 2,4-D ve NAA, 10 ml'sinde 1 mg büyümeyi düzenleyici madde içeren stok solusyonlardan alınarak otoklavdan önce 250 mg/l L-glutamin (L-glutamine, $C_5H_{10}N_2O_3$, $M=146.15$ g/mol) ve 500 mg/l kasein hidrolizat (casein hydrolysate) katılmış makro elementleri ve demiri $\frac{1}{2}$ düzeyindeki değiştirilmiş Murashige and Skoog ortamına ilave edilmiştir.

Çizelge 3.2. Değiştirilmiş MS ortamının içeriği (Dodds and Roberts 1993)

(A) MAKRO ELEMENTLER	Konsantrasyon (mg/l)
Amonyum nitrat (NH_4NO_3)	1650
Potasyum nitrat (KNO_3)	1900
Kalsiyum klorür dihidrat ($CaCl_2 \cdot 2 H_2O$)	440
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	170
Magnezyum sülfat heptahidrat ($MgSO_4 \cdot 7 H_2O$)	370
(B) DEMİR	
Sodyum-demir EDTA ($C_{10}H_{12}N_2FeNa$)	36.7
(C) MİKRO ELEMENTLER	
Mangan sülfat monohidrat ($MnSO_4 \cdot H_2O$)	16
Çinko sülfat heptahidrat ($ZnSO_4 \cdot 7 H_2O$)	8.6
Borik asit (H_3BO_3)	6.2
Potasyum iyodür (KI)	0.83
Sodyum molibdat dihidrat ($Na_2MoO_4 \cdot 2 H_2O$)	0.25
Bakır sülfat pentahidrat ($CuSO_4 \cdot 5 H_2O$)	0.025
Kobalt klorür heksahidrat ($CoCl_2 \cdot 6 H_2O$)	0.025
(D) ORGANİK MADDELER	
Myo-Inositol ($C_6H_{12}O_6$)	100
Glisin ($C_2H_5NO_2$)	2
Thiamin klorid hidroklorid ($C_{12}H_{18}Cl_2N_4OS \cdot xH_2O$)	0.1
Nikotinik asid ($C_6H_5NO_2$)	0.5
Pridoksol hidroklorid ($C_8H_{12}ClNO_3$)	0.5

Hazırlanan ortamın pH'sı 1 N sodyum hidroksit (NaOH) ve 1N hidroklorik asit (HCl) kullanılarak 5.7'ye ayarlanmıştır. Ortama, sakkaroz ($C_{12}H_{22}O_{11}$, $M=342.30$ g/mol) (Merck) 30 g/l ve agar (Oxoid) 6 g/l dozlarında katılmıştır. 121°C sıcaklıkta, 1 atmosfer basınç altında, 20 dakika süreyle otoklavda sterilizasyonu yapıldıktan sonra ortamlar 7 cm çapındaki steril petrilere 25 ml/petri olacak şekilde steril koşullarda dağıtılmıştır.

Çalışmada, olgunlaşmamış çenek yapraklar tam çiçeklenme tarihinden (10 Mayıs 1997) sonra 7, 8, 9, 10 ve 11 hafta sonra toplanan meyvelerin tohumlarından steril koşullarda alınmıştır. Belirtilen zamanlarda ağaç üzerinden alınarak laboratuvara getirilen meyveler önce bir bıçak yardımı ile kesilerek içerisinden tohumlar çıkarılmış ve bu tohumlar saf su ile yıkanmıştır. Tohumların sterilizasyonu için sodyum hipokloritin %20'lik konsantrasyonu kullanılmıştır. Bu solusyon içerisinde tohumlar 13 dakika süreyle ve daha sonra doku üzerinden sodyum hipokloriti uzaklaştırmak için üç kez 5'er dakika süreyle steril saf su ile çalkalanmıştır. Olgunlaşmamış çenek yapraklar tohumlar içerisinden, laminar kabinde binoküler mikroskop kullanılarak tamamen steril koşullarda çıkarılmış ve petride 5 adet olacak şekilde farklı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarını içeren başlangıç ortamları üzerine hafif batırılarak dikilmiştir. Kültürler 25 °C sıcaklıkta, karanlık koşullarda 4 hafta inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda laminar kabinde, steril koşullarda petri kapları açılarak çenek yapraklardan somatik embriyo oluşumu incelenmiştir. Bundan sonra çenek yapraklar hiç bozulmadan içerisinde büyümeyi düzenleyici madde bulunmayan başlangıç ortamı ile aynı özelliklerdeki MS ortamına transfer edilerek 4'er hafta ara ile 3 kez alt kültüre alınmıştır. Kültürler 25 °C sıcaklıkta, karanlık koşullarda inkübe edilmiştir. Alt kültürler yapılırken olgunlaşmamış çenek yaprakların ilk kültüre alındığı zaman (hafta) ve başlangıç ortamının BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonları her defasında kaydedilmiştir. Buna göre her alt kültür sonrasında, embriyonik çenek yaprak oranı (%) ve embriyo sayısı (adet/ çenek yaprak) belirlenmiştir.

Araştırmanın ikinci bölümü olan somatik embriyoların bitkiye dönüşümleri için 3. alt kültürlerden elde edilen birörnek embriyolar, çenek yaprakların ilk kültüre alındığı 7., 8., 9., 10. ve 11. haftalar esas alınarak, BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonları dikkate alınmaksızın çenek yapraklarından ayrılmıştır. Daha sonra bu somatik embriyolar içerisinde

büyümeyi düzenleyici madde, L-glutamin ve kasein hidrolizat bulunmayan ½ makro element ve demir düzeyine sahip değiştirilmiş MS ortamına, her petride 5 adet embriyo bulunacak şekilde dikilmiştir. Bu kültürler 4°C sıcaklıkta, karanlık koşullarda 4, 8 ya da 12 hafta süreyle bekletildikten sonra 25°C’de bir hafta karanlık, 12 hafta 16 saat aydınlık koşullarda tutulmuş ve bu süre içerisinde somatik embriyolarda çimlenme durumları gözlenmiştir.

Hem olgunlaşmamış çenek yapraklardan somatik embriyo oluşumu ve hem de somatik embriyoların bitkiye dönüşümleri aşamalarında araştırma, “Tesadüf Parsellerinde Tekrarlanan Ölçümlü Deneme Düzeni”ne göre her tekerrürde beş çenek yaprak ya da somatik embriyo bulunacak şekilde üç tekerrürlü olarak kurulmuştur.

Araştırmada başlangıç ortamından çıkarılan çenek yapraklarda somatik embriyo oluşumu görülmediğinden istatistik analiz yapılmamıştır. Alt kültürlerde ise uygulamalara göre embriyonik çenek yaprak oranları (%) ve somatik embriyo sayıları (adet/çenek yaprak) bakımından elde edilen farklı değerlerde “çenek yaprak alma zamanı x büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonları x alt kültürler” arasındaki interaksiyon varyans analizi yöntemi ile SAS ve Minitab paket programları kullanılarak F testine ($p=0.01$) göre kontrol edilmiş, ortaya çıkan önemli farklılıklar Tukey testi ile %1 hata sınırı esas alınarak saptanmış ve farklı gruplar harfler yardımıyla belirlenmiştir. İstatistik analizlerde % bulguların açış değerleri esas alınmıştır. Somatik embriyo sayılarında her değerin standart hatası hesaplanmıştır.

Somatik embriyolardan bitkiye dönüşümün incelendiği araştırmanın ikinci bölümünde başarı sağlanamadığından, “çenek yaprak alma zamanı x soğuklatma süresi” arasındaki interaksiyon istatistiksel olarak incelenmemiştir.

4. SONUÇLAR

4.1. Somatik Embriyo Oluşumu

Tam çiçeklenme tarihinden 7, 8, 9, 10 ve 11 hafta sonra alınarak farklı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarını içeren başlangıç ortamlarına dikilen ayvanın olgunlaşmamış çenek yapraklarında, dört haftalık süre sonunda somatik embriyo oluşumu gözlenmemiştir. Daha sonra büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamların kullanıldığı alt kültürlerde ise aynı çenek yapraklardan somatik embriyo oluşumları gözlenmiş ve hem embriyonik çenek yaprak oranları ve hem de embriyo sayıları bakımından “çenek yaprak alma zamanları x büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonları x alt kültürler” arasındaki interaksiyon önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1 ve 4.2).

4.1.1. Alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları

Embriyonik çenek yaprak oranları üzerine başlangıç ortamında kullanılan BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonlarının alt kültürlerde ortaya çıkan etkileri bakımından kombinasyonlar arasındaki farklılıklar çenek yaprakların alındığı zamanlara göre değişim göstermiştir (Çizelge 4.1). Bununla birlikte alt kültürlerin tamamında ve bütün çenek yaprak alma zamanları için BA'nın 5.0 mg/l dozunun, 2,4-D ve NAA'nın tüm dozları ile oluşturduğu kombinasyonlarda ya hiç somatik embriyo oluşmamış ya da çok düşük oranlarda oluşmuştur (Şekil 4.1e). 5.0 mg/l BA'nın özellikle 2.0 mg/l 2,4-D ile oluşturduğu kombinasyonda çenek yapraklardan büyük kallus dokusu ve az sayıda kökçük meydana gelmiştir (Şekil 4.2).

Çizelge 4.1. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)

Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	0.0	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0	0.0 (0.0) [*] b, D, b	20.0 (21.9) [*] ab, DEF, a	20.0 (21.9) [*] ab, D-G, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] c, C, a	0.0 (0.0) [*] c, C, a
9. hafta	0.0 mg/l	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a	0.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	6.7 (8.9) [*] bc, CD, a	6.7 (8.9) [*] bc, CD, a
10. hafta	2,4 D (1)	20.0 (21.9) [*] a, AB, a	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a	20.0 (21.9) [*] a, AB, a	NAA (5)	20.0 (21.9) [*] a, AB, a	20.0 (21.9) [*] ab, ABC, a	20.0 (21.9) [*] ab, AB, a
11. hafta		13.3 (17.7) [*] a, D-G, a	13.3 (17.7) [*] a, D-H, a	20.0 (21.9) [*] a, C-F, a		20.0 (26.6) [*] a, C-F, a	26.7 (26.6) [*] a, C-G, a	26.7 (26.6) [*] a, C-F, a
7. hafta	0.0	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0	6.7 (8.9) [*] bc, CD, a	20.0 (26.6) [*] ab, C-F, a	20.0 (21.9) [*] ab, C-G, a
8. hafta	mg/l BA+	13.3 (17.7) [*] a, A, a	20.0 (26.6) [*] a, AB, a	20.0 (26.6) [*] a, AB, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] c, A, a	6.7 (8.9) [*] c, BC, a	6.7 (8.9) [*] c, BC, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, b	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a	26.7 (30.8) [*] a, AB, a	0.5 mg/l	0.0 (0.0) [*] c, D, a	6.7 (8.9) [*] c, CD, a	6.7 (8.9) [*] c, CD, a
10. hafta	2,4 D (2)	6.7 (8.9) [*] ab, BC, a	13.3 (17.7) [*] a, A-D, a	13.3 (17.7) [*] a, ABC, a	NAA (6)	13.3 (17.7) [*] b, ABC, a	13.3 (17.7) [*] bc, A-D, a	13.3 (17.7) [*] bc, ABC, a
11. hafta		13.3 (13.1) [*] a, EFG, a	20.0 (16.9) [*] a, E-H, a	26.7 (25.8) [*] a, C-F, a		33.3 (34.6) [*] a, A-E, a	33.3 (34.6) [*] a, A-F, a	33.3 (34.6) [*] a, A-E, a
7. hafta	0.0	20.0 (21.9) [*] a, BC, b	33.3 (35.0) [*] a, CD, ab	40.0 (39.2) [*] a, CDE, a	0.0	0.0 (0.0) [*] b, D, a	6.7 (8.9) [*] b, FG, a	6.7 (8.9) [*] b, G-H, a
8. hafta	mg/l BA+	13.3 (17.7) [*] a, A, a	13.3 (17.7) [*] b, ABC, a	13.3 (17.7) [*] c, ABC, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] c, D, a	0.0 (0.0) [*] d, D, a	1.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a
10. hafta	2,4 D (3)	0.0 (0.0) [*] b, C, b	20.0 (21.9) [*] ab, ABC, a	20.0 (21.9) [*] bc, AB, a	NAA (7)	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
11. hafta		26.7 (30.8) [*] a, B-E, a	26.7 (30.8) [*] ab, B-F, a	33.3 (35.0) [*] ab, A-D, a		26.7 (30.8) [*] a, B-E, a	26.7 (30.8) [*] a, B-F, a	26.7 (30.8) [*] a, B-E, a
7. hafta	0.0	6.7 (8.9) [*] a, CD, b	20.0 (26.6) [*] a, C-F, a	20.0 (26.6) [*] a, C-G, a	0.0	0.0 (0.0) [*] c, D, b	20.0 (21.9) [*] bc, DEF, a	20.0 (21.9) [*] bc, D-G, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, a	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] c, A, b	26.7 (30.8) [*] b, A, a	26.7 (30.8) [*] b, A, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] a, D, a	6.7 (8.9) [*] b, CD, a	6.7 (8.9) [*] b, CD, a	2.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] c, D, a	13.3 (13.1) [*] c, BCD, a	13.3 (13.1) [*] c, BCD, a
10. hafta	2,4 D (4)	0.0 (0.0) [*] a, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (8)	13.3 (17.7) [*] b, ABC, a	13.3 (17.7) [*] c, A-D, a	20.0 (26.6) [*] bc, AB, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		66.7 (55.4) [*] a, A, a	66.7 (55.4) [*] a, A, a	66.7 (55.4) [*] a, A, a

*Parantez içerisindeki sayılar % rakamların açış değeri karşılıklardır.

Mavi renkli harfler (küçük) her bir BA + oksin kombinasyonu ve alt kültür için çenek yaprakların alındığı zamanlar (haftalar) arasındaki farklılığı (A.Ö.F. $p < 0.01$ (14.98)),

Siyah renkli harfler (büyük) her bir çenek yaprak alma zamanı (hafta) ve alt kültür için BA + oksin kombinasyonları arasındaki farklılığı (A.Ö.F. $p < 0.01$ (19.81)),

Kırmızı renkli harfler (küçük) ise her bir çenek yaprak alma zamanı (hafta) ve BA + oksin kombinasyonu için alt kültürler arasındaki farklılığı (A.Ö.F. $p < 0.01$ (14.27)) göstermektedir.

Çizelge 4.1. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)

Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	0.5	0.0 (0.0) [*] b, D, b	26.7 (30.8) [*] a, CDE, a	26.7 (30.8) [*] a, C-F, a	0.5	0.0 (0.0) [*] b, D, b	26.7 (30.8) [*] a, CDE a	33.3 (35.0) [*] a, CDE, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] c, C, a
9. hafta	0.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	6.7 (8.9) [*] b, CD, a	0.0 mg/l	13.3 (13.1) [*] b, BCD, a	13.3 (13.1) [*] b, BCD, a	13.3 (13.1) [*] bc, BCD, a
10. hafta	2,4 D (9)	20.0 (21.9) [*] a, AB, a	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a	33.3 (35.0) [*] a, A, a	NAA (13)	13.3 (13.1) [*] b, ABC, a	13.3 (13.1) [*] b, BCD, a	20.0 (21.9) [*] ab, AB, a
11. hafta		13.3 (17.7) [*] a, D-G, a	20.0 (26.6) [*] a, C-G, a	20.0 (26.6) [*] a, C-F, a		26.7 (30.8) [*] a, B-E, a	33.3 (35.0) [*] a, A-E, a	33.3 (35.0) [*] a, A-D, a
7. hafta	0.5	60.0 (51.2) [*] a, A, b	73.3 (63.9) [*] a, A, ab	80.0 (68.1) [*] a, A, a	0.5	0.0 (0.0) [*] a, D, a	13.3 (13.1) [*] a, EFG, a	13.3 (13.1) [*] ab, FGH, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, a	6.7 (8.9) [*] a, BC, a	6.7 (8.9) [*] ab, BC, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.5 mg/l	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a
10. hafta	2,4 D (10)	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	6.7 (8.9) [*] b, CD, a	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	NAA (14)	6.7 (8.9) [*] a, BC, a	6.7 (8.9) [*] a, CD, a	13.3 (17.7) [*] a, ABC, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		6.7 (8.9) [*] a, FG, a	6.7 (8.9) [*] a, GH, a	6.7 (8.9) [*] ab, FG, a
7. hafta	0.5	0.0 (0.0) [*] a, D, b	26.7 (26.2) [*] a, C-F, a	26.7 (26.2) [*] a, C-G, a	0.5	0.0 (0.0) [*] b, D, b	73.3 (59.2) [*] a, AB, a	80.0 (63.4) [*] a, AB, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, b	20.0 (21.9) [*] cd, BC, a	20.0 (21.9) [*] cd, AB, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	1.0 mg/l	33.3 (35.0) [*] a, A, a	33.3 (35.0) [*] bc, A, a	33.3 (35.0) [*] bc, A, a
10. hafta	2,4 D (11)	0.0 (0.0) [*] a, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (15)	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	13.3 (17.7) [*] d, A-D, a	13.3 (17.7) [*] d, ABC, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		33.3 (35.0) [*] a, A-D, a	40.0 (39.2) [*] b, A-D, a	40.0 (39.2) [*] b, A-D, a
7. hafta	0.5	0.0 (0.0) [*] a, D, b	26.7 (26.2) [*] a, C-F, a	33.3 (35.0) [*] a, C-G, a	0.5	26.7 (26.2) [*] ab, BC, b	33.3 (35.0) [*] ab, CD, ab	46.7 (43.1) [*] a, BCD, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	mg/l BA+	6.7 (8.9) [*] c, A, b	13.3 (17.7) [*] c, ABC, ab	20.0 (26.6) [*] a, AB, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	2.0 mg/l	20.0 (21.9) [*] bc, ABC, a	20.0 (21.9) [*] bc, ABC, a	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a
10. hafta	2,4 D (12)	0.0 (0.0) [*] a, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (16)	20.0 (21.9) [*] bc, AB, b	26.7 (30.8) [*] abc, AB, ab	40.0 (39.2) [*] b, A, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		40.0 (38.9) [*] a, A-D, a	40.0 (38.9) [*] a, A-D, a	40.0 (38.9) [*] b, A-D, a

Çizelge 4.1. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)

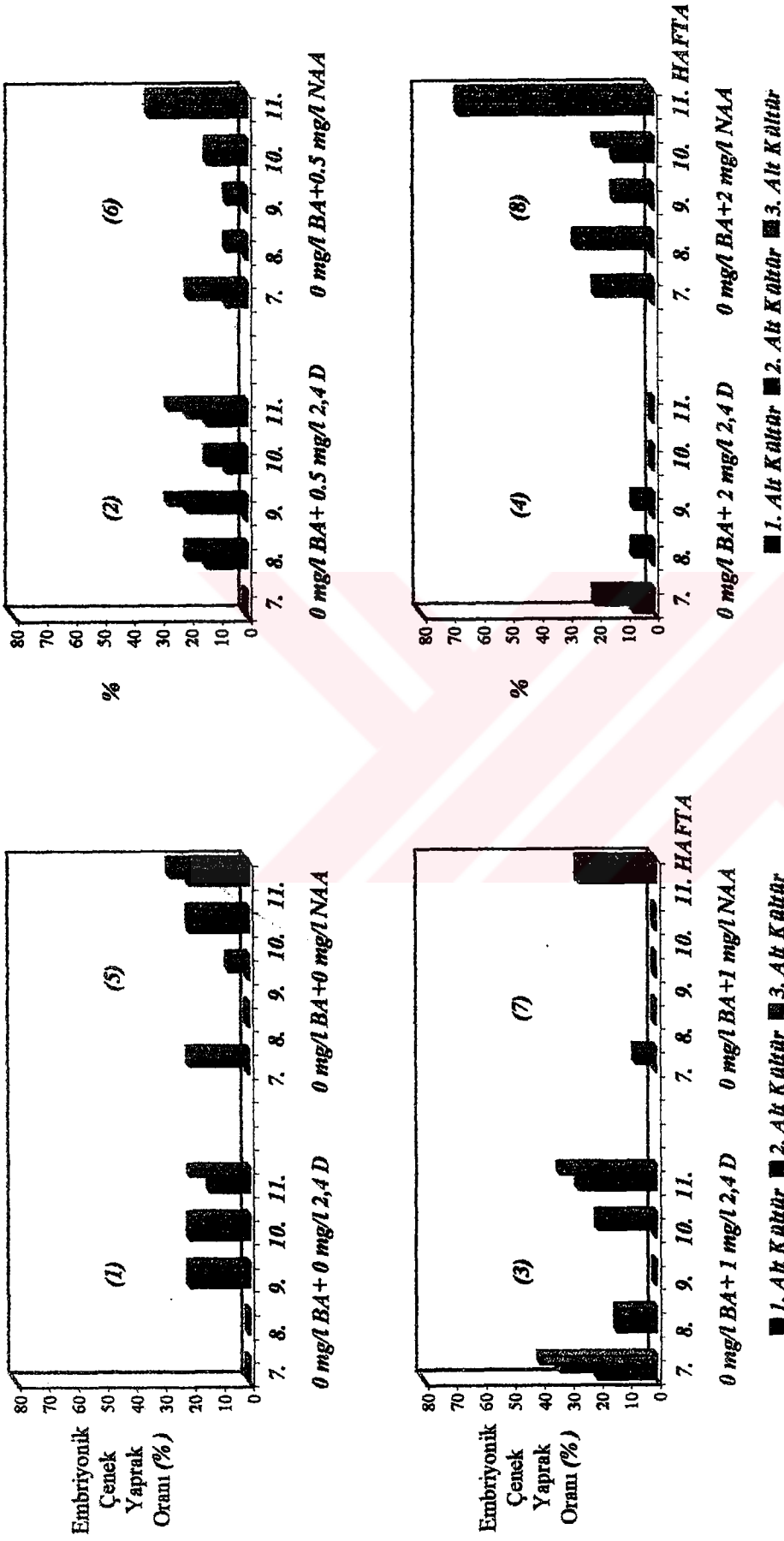
Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	1.0	6.7 (8.9) [*] bc, CD, a	13.3 (17.7) [*] b, D-G, a	13.3 (17.7) [*] b, E-H, a	1.0	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] c, G, a	0.0 (0.0) [*] c, H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] c, A, a	0.0 (0.0) [*] c, C, a	0.0 (0.0) [*] c, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, b	20.0 (21.9) [*] ab, AB, a	20.0 (21.9) [*] ab, AB, a
9. hafta	0.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] c, D, a	0.0 (0.0) [*] c, D, a	0.0 (0.0) [*] c, D, a	0.0 mg/l	13.3 (17.7) [*] a, A-D, a	13.3 (17.7) [*] b, A-D, a	13.3 (17.7) [*] b, A-D, a
10. hafta	2,4 D (17)	13.3 (17.7) [*] b, ABC, a	13.3 (17.7) [*] b, A-D, a	13.3 (17.7) [*] b, ABC, a	NAA (21)	26.7 (26.2) [*] a, AB, a	33.3 (35.0) [*] a, A, a	33.3 (35.0) [*] a, A, a
11. hafta		40.0 (38.9) [*] a, A-D, a	40.0 (38.9) [*] a, A-D, a	40.0 (38.9) [*] a, A-D, a		0.0 (0.0) [*] b, G, b	13.3 (13.1) [*] b, FGH, a	13.3 (13.1) [*] b, EFG, a
7. hafta	1.0	20.0 (21.9) [*] a, BC, b	40.0 (39.2) [*] a, BCD, a	46.7 (43.1) [*] a, BCD, a	1.0	0.0 (0.0) [*] b, D, b	26.7 (26.2) [*] ab, C-F, a	26.7 (26.2) [*] ab, C-G, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	6.7 (8.9) [*] c, BC, a	6.7 (8.9) [*] c, BC, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.5 mg/l	13.3 (17.7) [*] a, A-D, a	13.3 (17.7) [*] bc, A-D, a	13.3 (17.7) [*] bc, A-D, a
10. hafta	2,4 D (18)	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (22)	26.7 (30.8) [*] a, A, a	26.7 (30.8) [*] ab, AB, a	26.7 (30.8) [*] ab, A, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		26.1 (25.8) [*] a, B-E, a	40.0 (38.9) [*] a, A-D, a	40.0 (38.9) [*] a, A-D, a
7. hafta	1.0	13.3 (17.7) [*] a, BCD, a	26.7 (26.2) [*] a, C-F, a	26.7 (26.2) [*] a, C-G, a	1.0	6.7 (8.9) [*] c, CD, b	40.0 (39.2) [*] ab, BCD, a	40.0 (39.2) [*] ab, CDE, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] c, A, a	0.0 (0.0) [*] c, C, a	0.0 (0.0) [*] c, C, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	1.0 mg/l	26.7 (30.8) [*] b, AB, a	33.3 (34.6) [*] b, AB, a	33.3 (34.6) [*] b, AB, a
10. hafta	2,4 D (19)	0.0 (0.0) [*] b, C, a	6.7 (8.9) [*] b, CD, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (23)	0.0 (0.0) [*] c, C, a	0.0 (0.0) [*] c, D, a	6.7 (8.9) [*] c, BC, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		60.0 (51.2) [*] a, AB, a	60.0 (51.2) [*] a, AB, a	60.0 (51.2) [*] a, AB, a
7. hafta	1.0	26.7 (30.8) [*] a, AB, b	53.3 (46.9) [*] a, ABC, a	53.3 (46.9) [*] a, ABC, a	1.0	0.0 (0.0) [*] a, D, b	20.0 (21.9) [*] a, DEF, a	26.7 (30.8) [*] a, C-F, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	mg/l BA+	6.7 (8.9) [*] a, A, a	6.7 (8.9) [*] ab, BC, a	6.7 (8.9) [*] bc, BC, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	2.0 mg/l	6.7 (8.9) [*] a, CD, a	6.7 (8.9) [*] ab, CD, a	6.7 (8.9) [*] bc, CD, a
10. hafta	2,4 D (20)	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, A, a	NAA (24)	6.7 (8.9) [*] a, BC, a	6.7 (8.9) [*] ab, CD, a	13.3 (17.7) [*] ab, ABC, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] c, G, a

Çizelge 4.1. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)

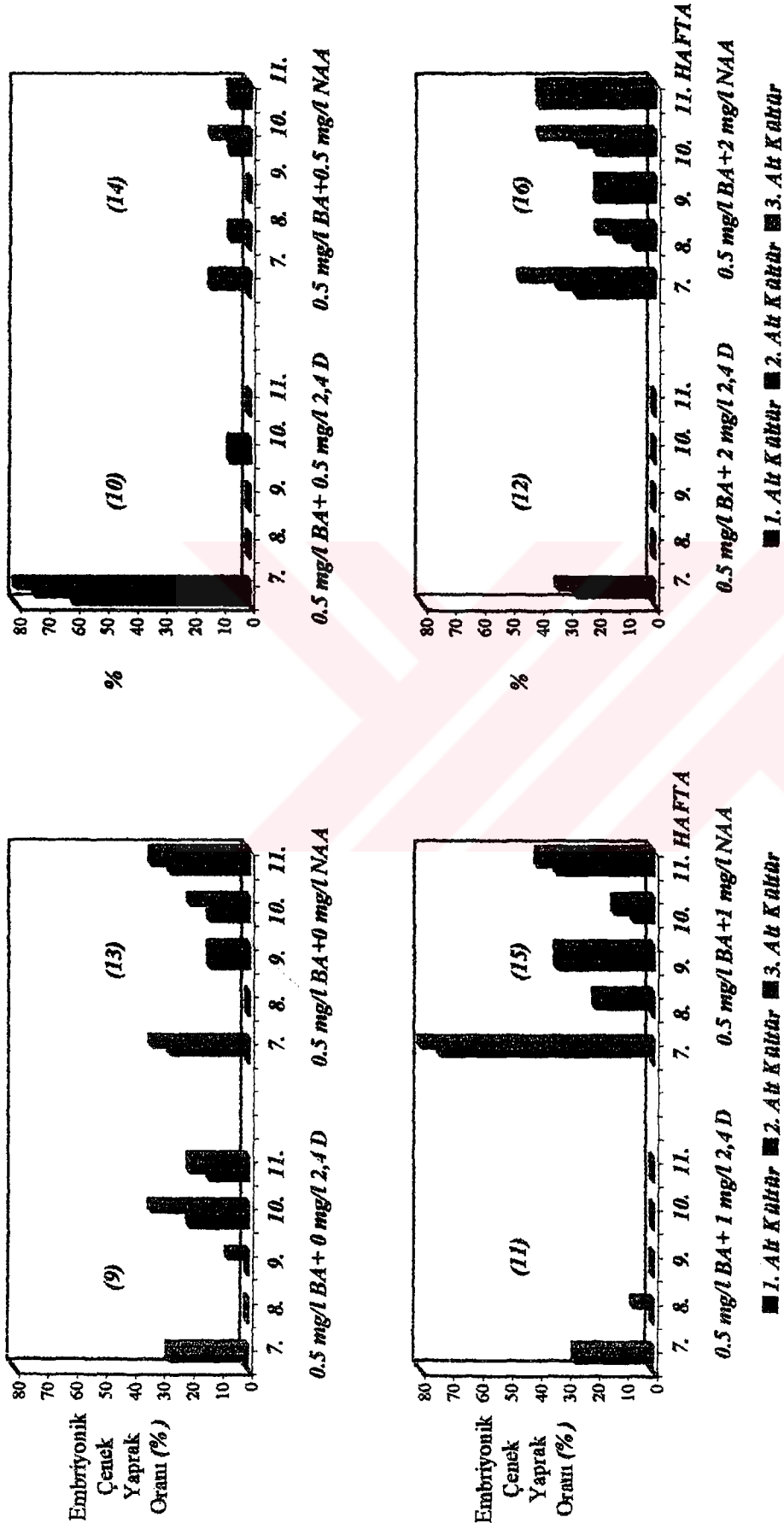
Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	2.0	0.0 (0.0)* b, D, a	6.7 (8.9)* ab, FG, a	6.7 (8.9)* ab, GF, a	2.0	0.0 (0.0)* b, D, a	6.7 (8.9)* b, FG, a	6.7 (8.9)* b, GH, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0)* b, A, a	0.0 (0.0)* b, C, a	0.0 (0.0)* b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0)* b, A, a	0.0 (0.0)* b, C, a	0.0 (0.0)* b, C, a
9. hafta	0.0 mg/l	13.3 (17.7)* a, A-D, a	13.3 (17.7)* a, A-D, a	13.3 (17.7)* a, A-D, a	0.0 mg/l	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a
10. hafta	2,4 D (25)	0.0 (0.0)* b, C, a	6.7 (8.9)* ab, CD, a	6.7 (8.9)* ab, BC, a	NAA (29)	0.0 (0.0)* b, C, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, C, a
11. hafta		0.0 (0.0)* b, G, b	13.3 (17.7)* a, D-H, a	13.3 (17.7)* a, D-F, a		26.7 (26.2)* a, B-E, a	26.7 (26.2)* a, C-G, a	26.7 (26.2)* a, CF, a
7. hafta	2.0	13.3 (17.7)* a, BCD, a	13.3 (17.7)* a, D-G, a	13.3 (17.7)* a, EF, a	2.0	0.0 (0.0)* b, D, b	26.7 (30.8)* a, CDE, a	26.7 (30.8)* a, C-F, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0)* b, A, a	0.0 (0.0)* b, C, a	0.0 (0.0)* b, C, a	mg/l BA+	13.3 (17.7)* a, A, a	13.3 (17.7)* ab, ABC, a	13.3 (17.7)* ab, ABC, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.5 mg/l	13.3 (13.1)* ab, BCD, a	13.3 (13.1)* ab, BCD, a	13.3 (13.1)* ab, BCD, a
10. hafta	2,4 D (26)	0.0 (0.0)* b, C, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, C, a	NAA (30)	0.0 (0.0)* b, C, a	6.7 (8.9)* b, CD, a	6.7 (8.9)* b, BC, a
11. hafta		0.0 (0.0)* b, G, a	0.0 (0.0)* b, H, a	0.0 (0.0)* b, G, a		0.0 (0.0)* b, G, a	0.0 (0.0)* c, H, a	0.0 (0.0)* c, G, a
7. hafta	2.0	6.7 (8.9)* a, CD, a	20.0 (21.9)* a, DEF, a	20.0 (21.9)* a, D-G, a	2.0	0.0 (0.0)* b, D, a	6.7 (8.9)* ab, FG, a	6.7 (8.9)* ab, GH, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0)* a, A, a	0.0 (0.0)* b, C, a	0.0 (0.0)* b, C, a	mg/l BA+	6.7 (8.9)* ab, A, a	6.7 (8.9)* ab, BC, a	6.7 (8.9)* ab, BC, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.0 (0.0)* a, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a	1.0 mg/l	6.7 (8.9)* ab, CD, a	6.7 (8.9)* ab, CD, a	6.7 (8.9)* ab, CD, a
10. hafta	2,4 D (27)	0.0 (0.0)* a, C, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, C, a	NAA (31)	13.3 (17.7)* a, ABC, a	13.3 (17.7)* a, A-D, a	13.3 (17.7)* a, ABC, a
11. hafta		0.0 (0.0)* a, G, a	0.0 (0.0)* b, H, a	0.0 (0.0)* b, G, a		0.0 (0.0)* b, G, a	0.0 (0.0)* b, H, a	0.0 (0.0)* b, G, a
7. hafta	2.0	0.0 (0.0)* a, D, b	33.3 (35.0)* a, CD, a	33.3 (35.0)* a, CDE, a	2.0	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* c, G, a	0.0 (0.0)* c, H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0)* a, A, a	0.0 (0.0)* b, C, a	0.0 (0.0)* b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0)* b, A, a	13.3 (17.7)* b, ABC, a	13.3 (17.7)* b, ABC, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.0 (0.0)* a, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, D, a	2.0 mg/l	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* c, D, a	0.0 (0.0)* c, D, a
10. hafta	2,4 D (28)	0.0 (0.0)* a, C, a	0.0 (0.0)* b, D, a	0.0 (0.0)* b, C, a	NAA (32)	6.7 (8.9)* b, BC, a	6.7 (8.9)* bc, CD, a	6.7 (8.9)* bc, BC, a
11. hafta		0.0 (0.0)* a, G, a	0.0 (0.0)* b, H, a	0.0 (0.0)* b, G, a		46.7 (43.1)* a, ABC, a	46.7 (43.1)* a, ABC, a	46.7 (43.1)* a, ABC, a

Çizelge 4.1. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)

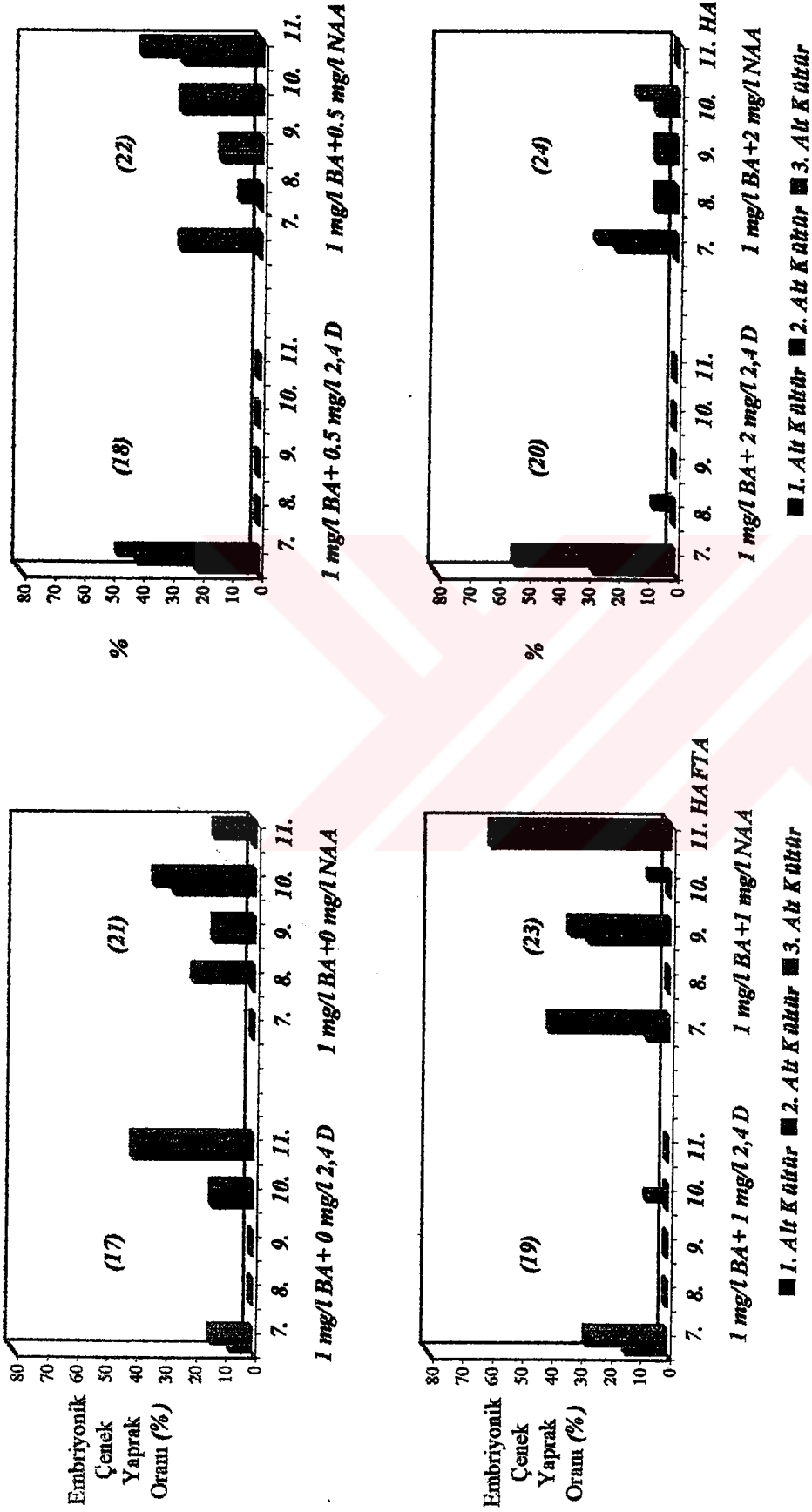
Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	5.0	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] a, H, a	5.0	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, a	6.7 (8.9) [*] a, BC, a	6.7 (8.9) [*] a, BC, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
9. hafta	0.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 mg/l	6.7 (8.9) [*] a, CD, a	6.7 (8.9) [*] b, CD, a	6.7 (15.3) [*] b, A-D, a
10. hafta	2,4 D (33)	0.0 (0.0) [*] a, C, a	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] a, C, a	NAA (37)	0.0 (0.0) [*] a, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] a, G, a	6.7 (8.9) [*] a, GH, a	6.7 (8.9) [*] a, FG, a		0.0 (0.0) [*] a, G, b	20.0 (26.6) [*] a, C-G, a	20.0 (26.6) [*] a, C-F, a
7. hafta	5.0	6.7 (8.9) [*] a, CD, b	20.0 (21.9) [*] a, DEF, ab	26.7 (30.8) [*] a, C-F, a	5.0	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, a	6.7 (8.9) [*] ab, BC, a	6.7 (8.9) [*] b, BC, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.5 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	6.7 (8.9) [*] ab, CD, a	6.7 (15.3) [*] ab, A-D, a
10. hafta	2,4 D (34)	0.0 (0.0) [*] a, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (38)	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		13.3 (17.7) [*] a, D-G, a	13.3 (17.7) [*] a, D-H, a	13.3 (17.7) [*] a, D-G, a
7. hafta	5.0	13.3 (17.7) [*] a, BCD, a	20.0 (26.6) [*] a, C-F, a	26.7 (30.8) [*] a, C-F, a	5.0	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	1.0 mg/l	13.3 (13.1) [*] ab, A-D, a	13.3 (13.1) [*] ab, BCD, a	13.3 (22.7) [*] ab, ABC, a
10. hafta	2,4 D (35)	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (39)	20.0 (21.9) [*] a, AB, a	20.0 (21.9) [*] a, ABC, a	20.0 (20.0) [*] a, ABC, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		0.0 (0.0) [*] b, G, a	6.7 (8.9) [*] ab, GH, a	6.7 (8.9) [*] ab, FG, a
7. hafta	5.0	13.3 (17.7) [*] a, BCD, a	20.0 (26.6) [*] a, C-F, a	26.7 (30.8) [*] a, C-F, a	5.0	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] b, A, a	13.3 (17.7) [*] a, ABC, a	13.3 (17.7) [*] a, ABC, a	mg/l BA+	0.0 (0.0) [*] a, A, b	0.0 (0.0) [*] a, C, b	13.3 (17.7) [*] a, ABC, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	2.0 mg/l	6.7 (8.9) [*] a, CD, a	6.7 (8.9) [*] a, CD, a	6.7 (15.3) [*] ab, A-D, a
10. hafta	2,4 D (36)	0.0 (0.0) [*] b, C, a	0.0 (0.0) [*] b, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a	NAA (40)	0.0 (0.0) [*] a, C, a	0.0 (0.0) [*] a, D, a	0.0 (0.0) [*] b, C, a
11. hafta		0.0 (0.0) [*] b, G, a	0.0 (0.0) [*] b, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a		0.0 (0.0) [*] a, G, a	0.0 (0.0) [*] a, H, a	0.0 (0.0) [*] b, G, a



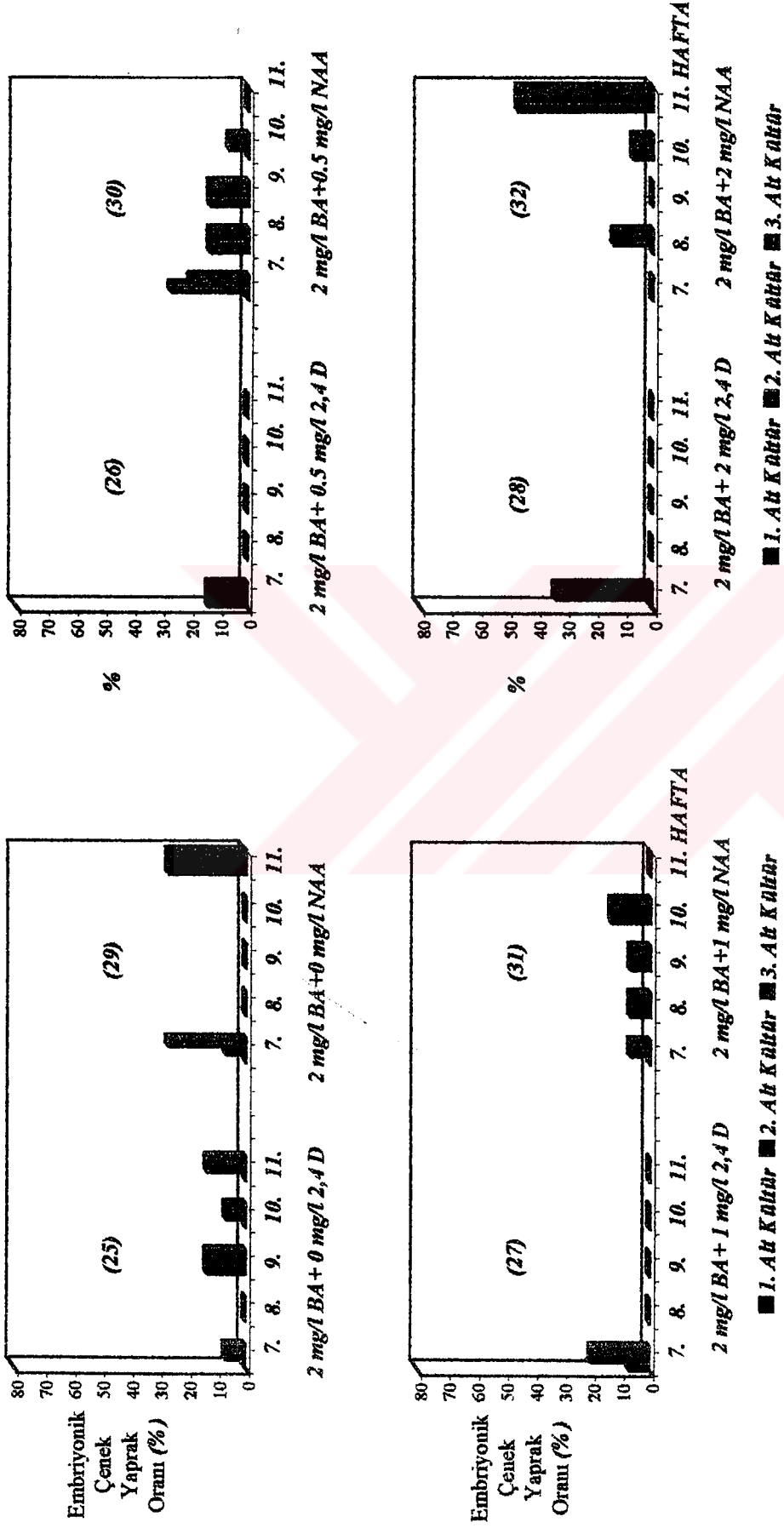
Şekil 4.1a. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 0.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunla mamı  çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)



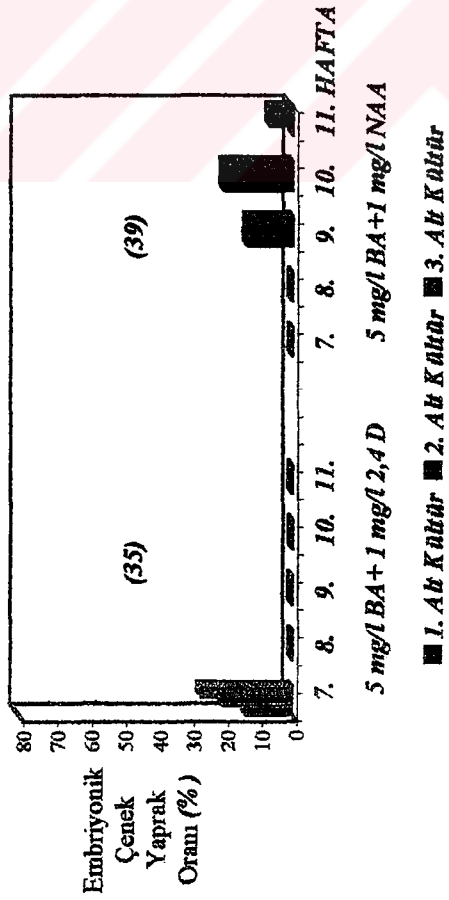
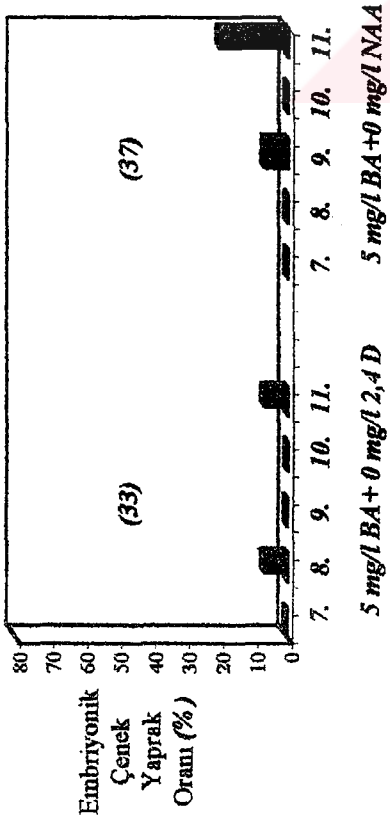
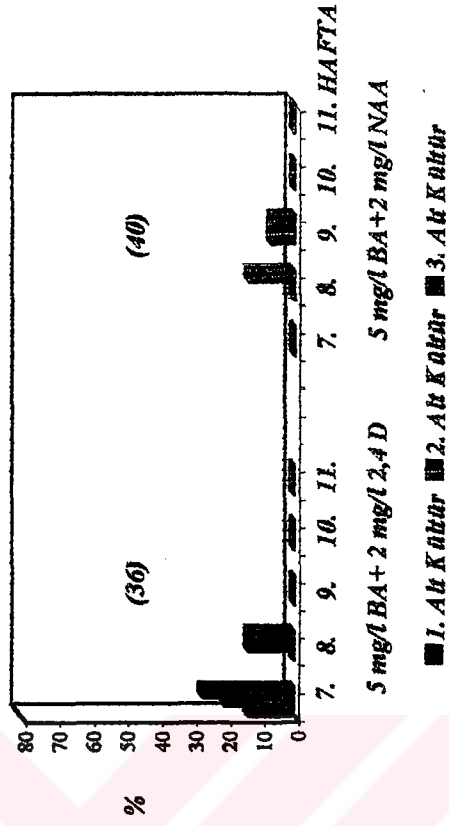
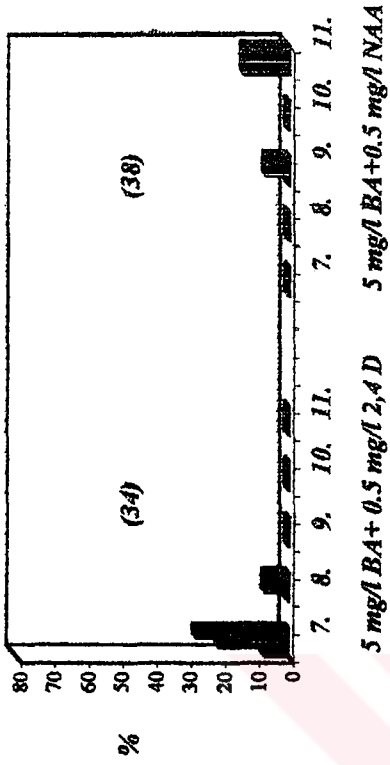
Şekil 4.1b. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 0.5 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre b y lmeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)



Şekil 4.1c. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 1.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)

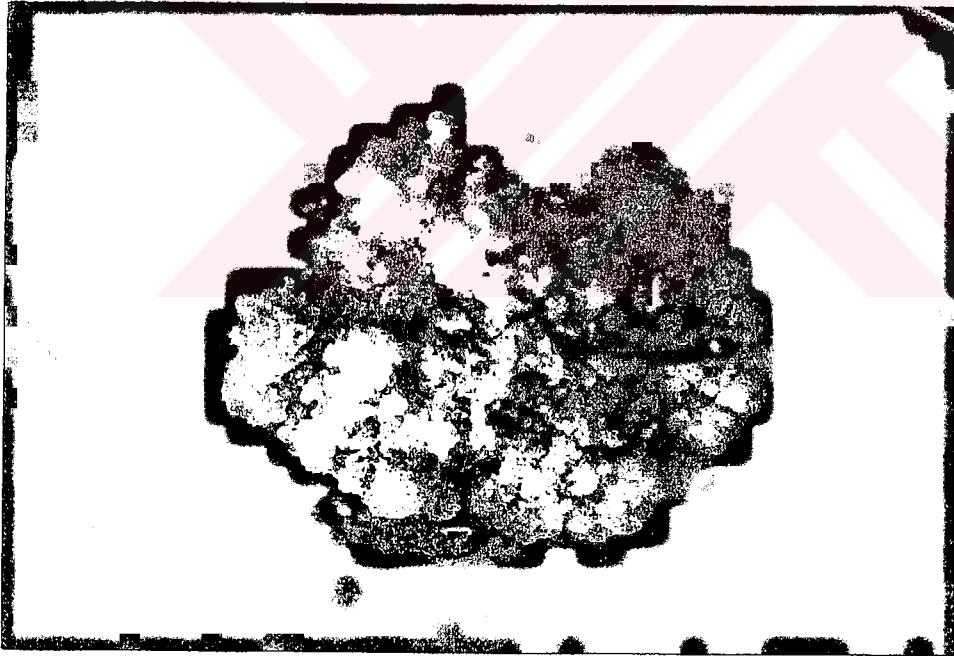


Şekil 4.1d. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 2.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)



Şekil 4.1e. Ayyada başlangıç ortamında kullanılan 5.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları (%)

1. alt kültürde, 7. haftada en yüksek embriyonik çenek yaprak oranları genellikle düşük dozlardaki BA'nın (0.5-1 mg/l), farklı dozlardaki 2,4-D ile oluşturduğu kombinasyonlardan elde edilmiştir. Bu bakımından en iyi sonuç istatistiksel olarak önemli bir farklılıkla 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) (%60.0) (Şekil 4.1b) ve 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (20) (%26.7) (Şekil 4.1c) içeren ortamlarda gözlenmiştir. 8. haftada ise %0.0-13.3 arasında değişen bu oran bakımından kombinasyon arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 9. haftada en yüksek değer %33.3 ile 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) (Şekil 4.1b) kombinasyonundan elde edilmiştir. Bunu %26.7 ile 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) (Şekil 4.1c), %20.0 ile 0.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (1) ve 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16), %13.3 ile 1.0 mg/l BA + 0.0 (21), 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (22) ve 2.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (25) ortamları izlemiştir ve tüm değerler aynı istatistik grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.1).



Şekil 4.2. 5.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D'nin kullanıldığı başlangıç ortamına dikilen olgunlaşmamış çenek yaprakların büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortam üzerinde yapılan 3. alt kültürü sonunda çenek yapraklarda kallus ve kökçük oluşumu

1. alt kültürde 10. haftada embriyonik çenek yaprak oranı %26.7 ile en yüksek 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (22) (Şekil 4.1c) kombinasyonunda saptanmış olmakla birlikte, bu değer %26.7 oranının elde edildiği 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (21) kombinasyonundan, %20.0 oranının elde edildiği 0.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (1), 0.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (5), 0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (9), 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) ve 5.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (39) kombinasyonları ile %13.3 oranının elde edildiği 0.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (6), 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8), 0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (13), 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (17) ve 2.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (31) kombinasyonlarından istatistiksel anlamda önemli bir farklılık göstermemiştir. 11. haftada embriyonik çenek yaprak oranında en yüksek değerler, genellikle 0.0-2.0 mg/l arasındaki BA konsantrasyonlarının, 1.0 ve 2.0 mg/l NAA dozları ile oluşturduğu kombinasyonlardan elde edilmiştir. Bu bakımdan en iyi sonuç, %66.7 ile 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) (Şekil 4.1a) kombinasyonuna aittir. 1. alt kültürün en iyi sonucunu veren bu kombinasyon, 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) (%60.0), 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (32) (%46.7), 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) (%40.0), 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (17) (%40.0), 0.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (6) (%33.3) ve 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) (%33.3) kombinasyonları ile aynı istatistik grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.1).

Embriyonik çenek yaprak oranları bakımından çenek yaprakların ilk kültüre alındığı zamanlar arasında 1. alt kültürde ortaya çıkan farklılık, yine başlangıç ortamında kullanılan büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarına göre değişim göstermiştir. En yüksek değerler, genel olarak 7. ve 11. haftalarda alınan çenek yapraklarla elde edilmiştir. 1. alt kültürde %66.7 oranında embriyonik çenek yaprağın belirlendiği 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA kombinasyonunda (8) bu sonuç 11. haftada alınan çenek yapraklara aittir (Şekil 4.1a). Bu değer, aynı kombinasyonda %13.3 oranında embriyonik çenek yaprağın elde edildiği 10. haftadan istatistiksel olarak önemli düzeyde daha yüksektir. 1. alt kültürde 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) içeren ortamda ulaşılan %60.0'lık oran ise 7. haftada alınan çenek yapraklara aittir ve diğer tüm haftalar ile arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli düzeydedir. Bu alt kültürde %60 oranında embriyonik çenek yaprağın gözlemlendiği diğer önemli bir kombinasyon olan 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA'da (23) ise bu sonuca 11.

haftada alınan çenek yapraklarla ulaşılmıştır Şekil 4.1c). Aynı kombinasyonda 9. hafta, %26.7 ile bunu izlemişse de bu iki değer arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (32) kombinasyonunda da en yüksek değer (%46.7) 11. haftada alınan çenek yapraklardan elde edilmiştir. 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) ve 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4 kombinasyonlarında da 11. haftada embriyonik çenek yaprak oranları %40.0 ile diğer haftaların önemli düzeyde ilerisindedir. Bununla birlikte 1. alt kültürde bazı kombinasyonlarda bu bakımdan çenek yaprakların alınma zamanları arasındaki farklılık önemsizdir. Bu durum genellikle embriyonik çenek yaprak oluşturma oranı düşük olan kombinasyonlarda gözlenmiştir. Diğer BA dozlarında da görülmekle birlikte özellikle BA'nın 5.0 mg/l dozunun 2,4-D ve NAA ile oluşturduğu bir çok kombinasyonlarda bu durum ile karşılaşmıştır (Çizelge 4.1).

2. alt kültürde de her bir çenek yaprak alma zamanı için BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonları ve her bir kombinasyon için çenek yaprak alma zamanları arasındaki farklılık çoğu kez istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. 7. haftada alınan çenek yapraklar %73.3 oranı ile en yüksek 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D kombinasyonunda (10) embriyonik çenek yaprak oluşturmıştır (Şekil 4.1b). Bunu yine %73.3 ile 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) (Şekil 4.1b) ve %53.3 ile 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (20) (Şekil 4.1c) izlemişse de, bu değerler aynı istatistik grup içerisinde yer almıştır. 8. haftada alınan çenek yapraklarda bu oran en iyi %13.3-26.7 arasında değişmiştir. Bu haftada 2. alt kültürde %26.7 ile 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonu en iyi sonucu vermiştir. 9. haftada en fazla embriyonik çenek yaprak oranı %13.3-33.3 arasında değişmiş ve 1. alt kültürde olduğu gibi en yüksek değer (%33.3) 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonundan elde edilmiştir. 10. haftada da benzer sonuçlar (%13.3-33.3) ile karşılaşmış ve en yüksek değer (%33.3) 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (21) kombinasyonundan alınmıştır. Bu alt kültürde 11. haftada alınan çenek yapraklarda büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonları %33.3-66.7 oranlarıhdı embriyonik çenek yaprağa neden olmuş ve bu 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonunda %66.7 oranına ulaşılmıştır.

2. alt kültürde de en fazla embriyonik çenek yaprak oranı 7. ve 11. haftalarda gözlenmiştir. 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) kombinasyonunda %73.3 olan embriyonik çenek yaprak oranı, diğer haftalardan istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla 7. haftada alınan çenek yapraklardan elde edilmiştir (Şekil 4.1b). Benzer şekilde 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonunda da %73.3'lük orana önemli bir farklılıkla 7. haftada ulaşılmıştır. Bu kombinasyonda ikinci sırayı %40.0 oranı ile 11. hafta ve üçüncü sırayı %33.3 ile 9. hafta almıştır. İki değer arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonunda ise 11. hafta %66.7 oranı ile diğer haftalardan daha iyi sonuç vermiştir. 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) kombinasyonunda 11. hafta %60.0'lık oran ile ilk sırada yer alırken, 7. hafta %40.0 oranında embriyonik çenek yaprak oluşturmuştur. 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (20) kombinasyonunda bu oran sadece 7. haftada %53.3 ile elde edilmiştir. 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (32) kombinasyonunda ise 11. hafta %46.7 oranında embriyonik çenek yaprak meydana getirmiştir. Bu bakımdan %40.0 oranına sahip 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16), 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (17) ve 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (22) kombinasyonlarında 11. hafta, 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (18) kombinasyonunda ise 7. hafta diğer haftalara göre önemli düzeyde daha iyi sonuç vermiştir. En yüksek embriyonik çenek yaprak oranı %33.3 olan kombinasyonlarda, bu sonucu 0.0 mg/l BA + 1.0 mg/l 2,4-D (3) ve 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (28) kombinasyonlarında 7. hafta, 0.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (6) ve 0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (13) kombinasyonlarında 11. hafta, 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA kombinasyonunda 10. hafta vermiştir.

3. alt kültürde 7. haftada çenek yaprakların alındığı durumda en yüksek embriyonik çenek yaprak oranı (%80.0) 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) kombinasyonundan elde edilmiştir (Şekil 4.1b). 7. haftada 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonunda da bu oran %80.0'dır (Şekil 4.1b). Aynı haftada 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (20) kombinasyonunda ise bu değer %53.3'dür. Tüm bu değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsizdir. 8., 9. ve 10. haftalarda alınan çenek yapraklarda embriyonik oluşum bu alt kültürde de düşüktür. 8. haftada en iyi sonuç %26.7 ile 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonundan elde edilmiştir. 9. haftada ise bu değer %33.3'dür ve 0.5 mg/l BA + 1.0

mg/l NAA (15) ile 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) kombinasyonlarından elde edilmiştir. 10. haftada aynı istatistik grup içerisinde yer alan en iyi sonuçlar %13.3-40.0 arasında değişmiş ve 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) kombinasyonunda %40.0 düzeyine ulaşmıştır. 11. haftada en yüksek değer %66.7 ile 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonundan elde edilmiştir. Bununla birlikte bu kombinasyon ile embriyonik çenek yaprak oranı %33.3-60.0 arasında değişen diğer kombinasyonlar arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli değildir (Çizelge 4.1).

3. alt kültürde de en fazla embriyonik oluşumlara 7. ve 11. haftalarda alınan çenek yapraklarda rastlanmıştır. %80.0 oranında embriyonik çenek yaprağın elde edildiği 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) kombinasyonunda bu değer 7. haftadan alınmıştır (Şekil 4.1b). Bu kombinasyonda diğer haftalarda embriyonik çenek yaprak oranı, aralarında istatistik olarak önemli bir farklılık bulunmaksızın %0.0-6.7 arasında değişmiştir. 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonunda %80.0'lık orana ulaşılan 7. haftayı (Şekil 4.1b), sırasıyla 11. hafta (%40.0), 9. hafta (%33.3), 8. hafta (%20.0) ve 10 hafta (%13.3) izlemiştir. Önemli bir kombinasyon olan 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA'da (8) en yüksek değere %66.7'lik oranla 11. haftada ulaşılmıştır. Diğer haftalarda bu değer %13.3-26.7 arasında değişmiştir. 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) kombinasyonunda ise embriyonik çenek yaprak oranı %60.0 oranında somatik embriyo oluşumu yine 11. haftada elde edilmiştir. 7. haftada bu oran %40.0 olarak kaydedilmiştir. 9. haftada alınan çenek yapraklarda ise %33.3 oranında embriyonik çenek yaprakla karşılaşmıştır. 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (20) kombinasyonunda ise bu kez en iyi sonuç 7. haftada %53.3 olarak belirlenmiştir. 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (32) kombinasyonunda %46.7 olarak saptanan en yüksek değer 11. haftaya aittir. Aynı orana 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) ve 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (18) kombinasyonlarında 7. haftalarda ulaşılmıştır (Çizelge 4.1).

Alt kültürler arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde farklılığın ortaya çıktığı durumlarda, bu farklılıklar, çenek yaprak alma zamanları ve başlangıç ortamının büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarına göre değişim göstermiştir. Embriyonik çenek yaprak oranı, genellikle 1. alt kültürde somatik embriyo oluşumu görülmeyen ya da düşük oranda olan uygulamalarda 2. ve 3. alt kültürlerde yeni oluşumların ortaya çıkması sonucunda,

özellikle 1. alt kültür ile 2. ve 3. alt kültürler arasında istatistiksel anlamda önemli farklılıklar kaydedilmiştir. Örneğin, çenek yaprakların 7. haftada alındığı ve başlangıç ortamı olarak 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA'in (15) kullanıldığı uygulamada 1.alt kültürde embriyonik çenek yaprak oranı %0.0 olarak kaydedilmişken, bu oran 2. alt kültürde %73.3 ve 3. alt kültürde %80.0 olarak saptanmıştır (Şekil 4.1b). 2. ve 3. alt kültürler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bir başka ifade ile bu uygulamada, 2. alt kültürden sonra çenek yaprakları bir kez daha alt kültüre almak, somatik embriyo oluşturmuş çenek yaprak sayısındaki artışı istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilememiştir. Embriyonik çenek yaprak oranı bakımından iyi sonuç veren 7. hafta, 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) kombinasyonunda benzer durumla karşılaşmıştır. Bu uygulamada 1. alt kültürün %60.0'lık oranı 2. alt kültürde %73.3'e ve 3. alt kültürde %80.0'a yükselmiştir (Şekil 4.1b). Önemli uygulamalardan olan 11. haftada 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) ve 11. haftada 0.0 mg/l BA +2.0 mg/l NAA (8) uygulamalarında ise 1. alt kültürde sırasıyla %60.0 ve %66.7 olarak belirlenen embriyonik çenek yaprak oranları, bu defa 2. ve 3. alt kültürlerde de aynı oranlarda saptanmıştır. Bu durumda birden fazla yapılan alt kültürler somatik embriyo oluşturan çenek yaprak sayısını artırmamıştır (Çizelge 4.1).

4.1.2. Alt kültürlerde somatik embriyo sayısı

Somatik embriyo sayısında da embriyonik çenek yaprak oranlarında olduğu gibi başlangıç ortamında kullanılan BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonlarının alt kültürlerde ortaya çıkan etkileri bakımından 1., 2. ve 3. alt kültürler arasındaki farklılıklar, çenek yaprakların alındığı zamanlara göre değişim göstermiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)

Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	0.0	0.00±0.00 b,C, a	0.00±0.00 b,I, a	0.00±0.00 c, K, a	0.0	0.00±0.00 b,C, b	0.33±0.24 bc, E-I, a	0.33±0.24 bc, F-K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 b,A, a	0.00±0.00 b,B, a	0.00±0.00 c, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b,A, a	0.00±0.00 d, B, a	0.00±0.00 d, D, a
9. hafta	0.0 mg/l	0.20±0.12 ab,AB, a	0.20±0.12 ab,AB, a	0.20±0.12 bc, ABC, a	0.0 mg/l	0.00±0.00 b,B, a	0.07±0.07 cd, AB, a	0.07±0.07 cd, BC, a
10. hafta	2,4 D (1)	0.27±0.13 a, A-D, a	0.27±0.13 a, B-F, a	0.33±0.18 ab,BCD, a	NAA (5)	0.33±0.18 a, ABC, a	0.40±0.20 ab,A-F, a	0.40±0.20 ab,BCD, a
11. hafta		0.47±0.24 a, EF, a	0.47±0.24 a, E-J, a	0.53±0.27 a, D-G, a		0.60±0.23 a, CDE, a	0.67±0.24 a, C-H, a	0.67±0.02 a, C-F, a
7. hafta	0.0	0.00±0.00 b,C, a	0.00±0.00 b,I, a	0.00±0.00 b, K, a	0.0	0.07±0.07 b, BC, b	0.40±0.12 b, C-H, a	0.47±0.07 a, D-H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.13±0.07 ab, A, b	0.33±0.13 a, A, ab	0.40±0.16 a, ABC, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.13±0.13 c, AB, a	0.13±0.13 b, BCD, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.00±0.00 b, B, b	0.27±0.13 a, AB, a	0.47±0.13 a, A, a	0.5 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.07±0.07 c, AB, a	0.07±0.07 b, BC, a
10. hafta	2,4 D (2)	0.07±0.07 ab, CD, a	0.20±0.12 ab, C-F, a	0.20±0.12 ab, CDE, a	NAA (6)	0.13±0.07 b, CD, a	0.13±0.07 c, DEF, a	0.20±0.12 b, CDE, a
11. hafta		0.33±0.33 a, E-H, a	0.40±0.40 a, G-K, a	0.47±0.37 a, D-I, a		0.60±0.40 a, DEF, a	0.87±0.57 a, B-F, a	0.87±0.57 a, BCD, a
7. hafta	0.0	0.13±0.13 b, BC, b	0.47±0.13 a, C-G, a	0.53±0.07 a, D-H, a	0.0	0.00±0.00 b, C, a	0.13±0.13 b, GHI, a	0.13±0.13 b, GHI, a
8. hafta	mg/l BA+	0.13±0.07 b, A, a	0.13±0.07 b, AB, a	0.13±0.07 b, BCD, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	1.0 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a
10. hafta	2,4 D (3)	0.00±0.00 b, D, b	0.47±0.29 a, A-D, a	0.47±0.29 a, ABC, a	NAA (7)	0.00±0.00 b, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, F, a
11. hafta		0.40±0.12 a, EFG, b	0.53±0.07 a, D-I, ab	0.67±0.13 a, CDE, a		0.67±0.47 a, CDE, a	0.80±0.60 a, C-G, a	0.80±0.60 a, C-G, a
7. hafta	0.0	0.07±0.07 a, BC, b	0.33±0.07 a, D-H, a	0.33±0.07 a, F-J, a	0.0	0.00±0.00 b, C, b	0.27±0.13 b, E-I, a	0.27±0.13 cd, G-K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.07±0.07 b, AB, a	0.07±0.07 b, CD, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, b	0.40±0.20 b, A, a	0.60±0.23 b, A, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.07±0.07 b, AB, a	0.07±0.07 b, BC, a	2.0 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.20±0.20 b, AB, a	0.20±0.20 d, ABC, a
10. hafta	2,4 D (4)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (8)	0.20±0.12 b, BCD, b	0.40±0.23 b, A-F, ab	0.47±0.18 bc, ABC, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, I, a	0.00±0.00 b, J, a		2.47±0.85 a, A, a	2.47±0.85 a, A, a	2.53±0.79 a, A, a

Mavi renkli harfler (küçük) her bir BA + oksin kombinasyonu ve alt kültür için çenek yaprakların alındığı zamanlar (haftalar) arasındaki farklılığı (A.Ö.F. $p<0.01$ 0.142),

Siyah renkli harfler (büyük) her bir çenek yaprak alma zamanı (hafta) ve alt kültür için BA + oksin kombinasyonları arasındaki farklılığı (A.Ö.F. $p<0.01$ 0.176),

Kırmızı renkli harfler (küçük) ise her bir çenek yaprak alma zamanı (hafta) ve BA + oksin kombinasyonu için alt kültürler arasındaki farklılığı (A.Ö.F. $p<0.01$ 0.127) göstermektedir.

Çizelge 4.2. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)

Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	0.5	0.00±0.00 b, C, b	0.60±0.20 a, CDE, a	0.67±0.18 a, C-F, a	0.5	0.00±0.00 c, C, b	0.47±0.07 ab, C-F, a	0.60±0.00 ab, D-G, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 c, A, a	0.00±0.00 c, B, a	0.00±0.00 d, D, a
9. hafta	0.0 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.07±0.07 b, BC, a	0.0 mg/l	0.33±0.33 ab, AB, a	0.33±0.33 b, AB, a	0.33±0.33 c, ABC, a
10. hafta	2,4 D (9)	0.33±0.24 a, A-D, b	0.47±0.24 a, A-D, ab	0.60±0.20 a, AB, a	NAA (13)	0.13±0.13 bc, CD, b	0.33±0.33 b, A-F, ab	0.40±0.31 bc, BCD, a
11. hafta		0.20±0.12 ab, FGH, b	0.47±0.07 a, E-J, a	0.47±0.07 a, D-H, a		0.40±0.00 a, EFG, b	0.73±0.07 a, C-F, a	0.73±0.07 a, CD, a
7. hafta	0.5	0.53±0.07 a, A, c	1.40±0.12 a, A, b	1.80±0.12 a, A, a	0.5	0.00±0.00 a, C, a	0.13±0.13 a, GHI, a	0.20±0.20 a, H-K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.13±0.13 a, AB, a	0.13±0.13 a, BCD, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	0.5 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 a, C, a
10. hafta	2,4 D (10)	0.07±0.07 b, CD, a	0.07±0.07 b, EF, a	0.07±0.07 b, ED, a	NAA (14)	0.07±0.07 a, CD, a	0.13±0.13 a, DEF, a	0.20±0.12 a, CDE, a
11. hafta		0.00±0.00 b, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.07±0.07 a, GH, a	0.07±0.07 a, KL, a	0.07±0.07 a, IJ, a
7. hafta	0.5	0.00±0.00 a, C, b	0.73±0.13 a, BCD, a	0.73±0.37 a, C-F, a	0.5	0.00±0.00 c, C, b	1.07±0.18 a, AB, a	1.20±0.12 a, B, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.07±0.07 b, AB, a	0.07±0.07 b, CD, a	mg/l BA+	0.00±0.00 c, A, b	0.20±0.12 b, AB, a	0.27±0.13 b, A-D, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	1.0 mg/l	0.33±0.07 b, A, a	0.33±0.07 b, A, a	0.33±0.07 b, AB, a
10. hafta	2,4 D (11)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (15)	0.07±0.07 c, CD, a	0.20±0.12 b, C-F, a	0.20±0.12 b, CDE, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		1.13±0.37 a, B, a	1.27±0.33 a, B, a	1.27±0.33 a, B, a
7. hafta	0.5	0.00±0.00 a, C, c	0.53±0.35 a, C-F, b	0.93±0.52 a, BCD, a	0.5	0.33±0.18 ab, AB, c	0.80±0.12 a, BC, b	1.13±0.07 a, B, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.07±0.07 c, A, b	0.20±0.12 c, AB, ab	0.40±0.00 cd, ABC, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	2.0 mg/l	0.20±0.12 bc, AB, a	0.27±0.13 c, AB, a	0.27±0.13 d, ABC, a
10. hafta	2,4 D (12)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (16)	0.40±0.20 ab, ABC, b	0.53±0.07 b, ABC, ab	0.80±0.12 ab, A, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.60±0.12 a, CDE, a	0.67±0.13 ab, C-G, a	0.67±0.13 bc, CDE, a

Çizelge 4.2. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)

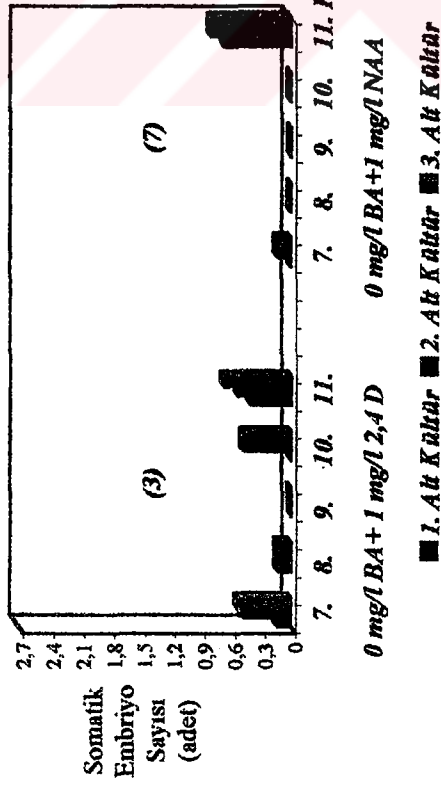
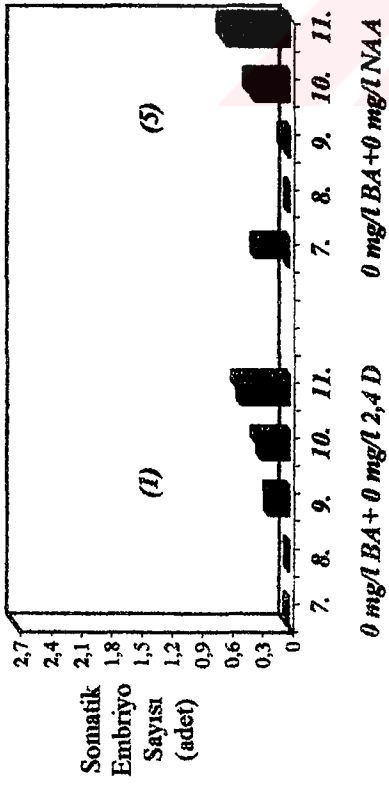
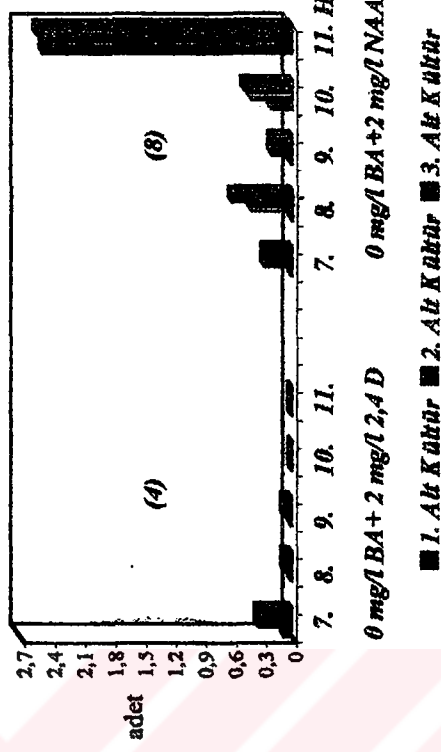
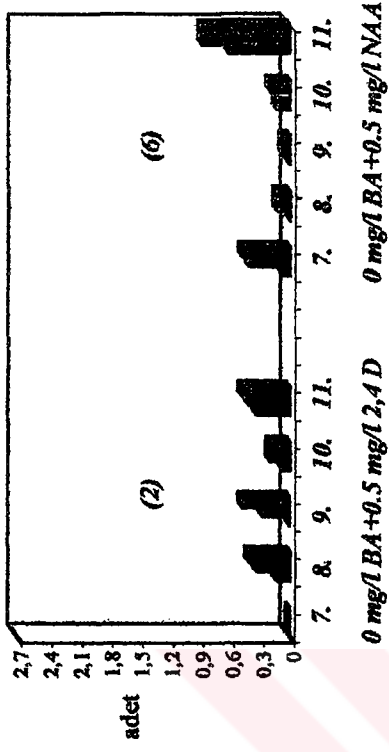
Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	1.0	0.07±0.07 b, BC, b	0.27±0.13 b, E-I, ab	0.33±0.18 b, F-J, a	1.0	0.00±0.00 b, C, a	0.00±0.00 c, I, a	0.00±0.00 c, K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 c, B, a	0.00±0.00 c, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, b	0.27±0.13 b, AB, a	0.40±0.20 ab, ABC, a
9. hafta	0.0 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 c, AB, a	0.00±0.00 c, C, a	0.0 mg/l	0.13±0.07 b, AB, a	0.33±0.18 ab, A, a	0.33±0.18 b, AB, a
10. hafta	2,4 D (17)	0.20±0.12 b, BCD, a	0.20±0.12 bc, C-F, a	0.20±0.12 bc, CDE, a	NAA (21)	0.53±0.24 a, AB, a	0.60±0.20 a, AB, a	0.67±0.24 a, AB, a
11. hafta		1.00±0.42 a, BCD, a	1.00±0.42 a, BCD, a	1.13±0.41 a, BC, a		0.00±0.00 b, H, b	0.27±0.24 b, I-L, a	0.40±0.40 b, E-I, a
7. hafta	1.0	0.20±0.12 a, ABC, b	0.60±0.12 a, CDE, a	0.80±0.12 a, B-E, a	1.0	0.00±0.00 c, C, b	0.27±0.13 b, E-I, a	0.40±0.20 bc, F-J, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 c, A, a	0.07±0.07 b, AB, a	0.13±0.13 d, BCD, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	0.5 mg/l	0.13±0.07 bc, AB, a	0.20±0.12 b, AB, a	0.20±0.12 cd, ABC, a
10. hafta	2,4 D (18)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (22)	0.67±0.47 a, A, a	0.73±0.53 a, A, a	0.73±0.53 ab, AB, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.33±0.18 ab, EFG, b	0.67±0.18 a, C-G, a	0.80±0.23 a, BCD, a
7. hafta	1.0	0.20±0.12 a, ABC, b	0.53±0.29 a, C-F, a	0.67±0.35 a, D-G, a	1.0	0.07±0.07 bc, BC, b	0.80±0.12 a, BC, a	1.07±0.07 a, BC, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 c, A, a	0.00±0.00 c, B, a	0.00±0.00 c, D, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	1.0 mg/l	0.27±0.07 b, AB, a	0.33±0.13 b, A, a	0.33±0.13 b, AB, a
10. hafta	2,4 D (19)	0.00±0.00 a, D, a	0.07±0.07 b, EF, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (23)	0.00±0.00 c, D, a	0.00±0.00 c, F, a	0.13±0.13 bc, CDE, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		1.00±0.23 a, BC, a	1.00±0.23 a, BC, a	1.00±0.23 a, BC, a
7. hafta	1.0	0.53±0.18 a, A, b	0.80±0.12 a, BC, a	1.07±0.07 a, BC, a	1.0	0.00±0.00 a, C, c	0.27±0.13 a, E-I, b	0.53±0.07 a, D-H, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.13±0.13 b, BCD, a	mg/l BA+	0.07±0.07 a, A, a	0.13±0.13 ab, AB, a	0.20±0.20 b, BCD, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	2.0 mg/l	0.07±0.07 a, AB, a	0.07±0.07 ab, AB, a	0.07±0.07 b, BC, a
10. hafta	2,4 D (20)	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (24)	0.07±0.07 a, CD, a	0.07±0.07 ab, EF, a	0.13±0.07 b, CDE, a
11. hafta		0.00±0.00 b, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a

Çizelge 4.2. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)

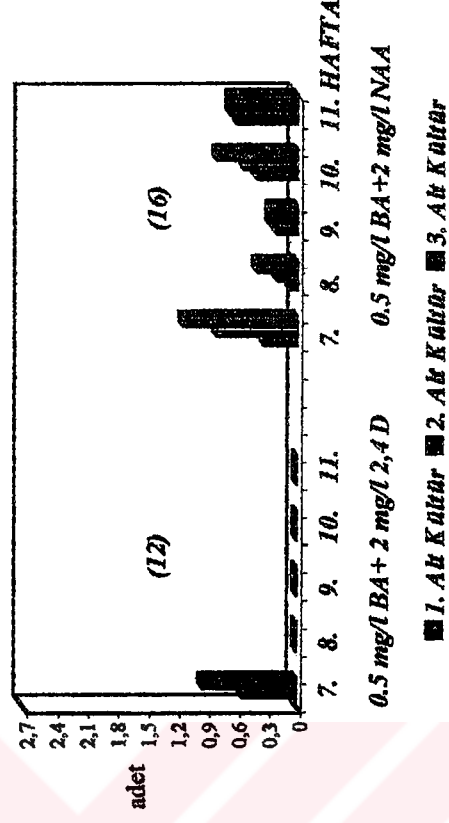
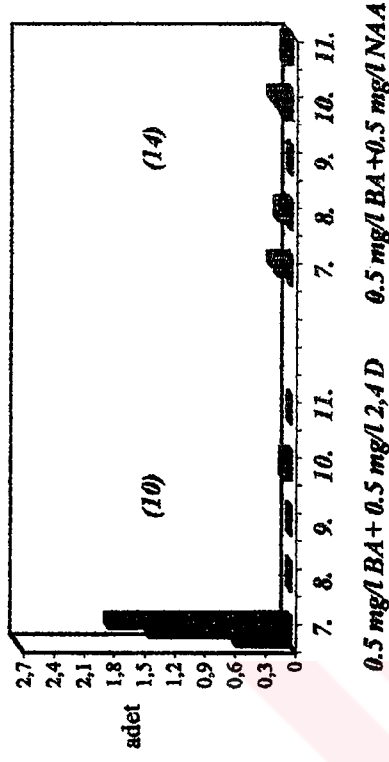
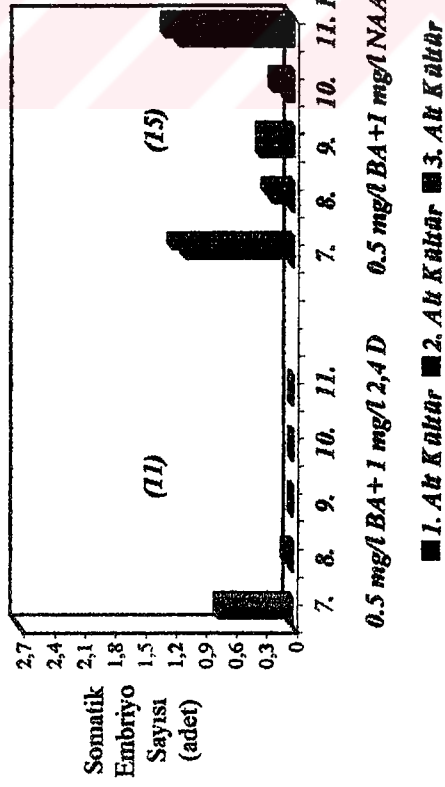
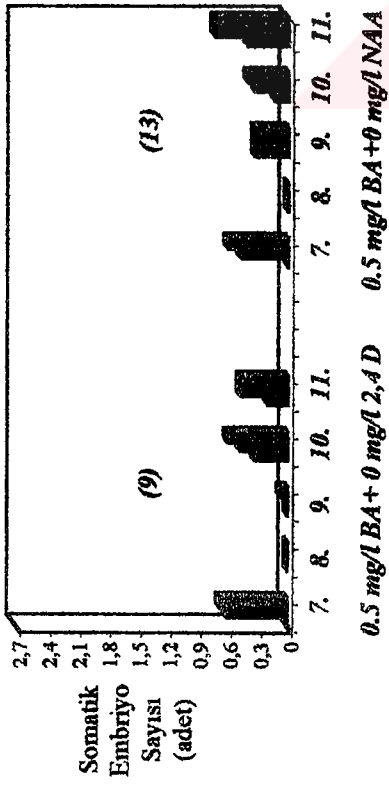
Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	2.0	0.00±0.00 b, C, a	0.07±0.07 ab, HI, a	0.13±0.13 ab, IJK, a	2.0	0.00±0.00 b, C, a	0.00±0.00 b, I, a	0.00±0.00 b, K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a
9. hafta	0.0	0.33±0.24 a, AB, a	0.33±0.24 a, AB, a	0.33±0.24 a, ABC, a	0.0	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a
10. hafta	2,4 D (25)	0.00±0.00 b, D, a	0.07±0.07 ab, EF, a	0.07±0.07 ab, DE, a	NAA (29)	0.00±0.00 b, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a
11. hafta		0.00±0.00 b, H, a	0.13±0.07 ab, JKL, a	0.13±0.07 ab, HIJ, a		0.33±0.18 a, EFG, a	0.40±0.23 a, F-K, a	0.47±0.24 a, D-H, a
7. hafta	2.0	0.13±0.07 a, BC, b	0.20±0.12 a, F-I, ab	0.40±0.20 a, F-J, a	2.0	0.00±0.00 b, C, b	0.27±0.07 a, E-I, a	0.27±0.07 ab, G-K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.13±0.07 ab, A, a	0.13±0.07 ab, AB, a	0.27±0.13 ab, A-D, a
9. hafta	0.5	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, C, a	0.5	0.33±0.33 a, AB, a	0.33±0.33 a, AB, a	0.40±0.40 a, AB, a
10. hafta	2,4 D (26)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 a, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (30)	0.00±0.00 b, D, a	0.07±0.07 ab, EF, a	0.07±0.07 bc, DE, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 a, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.00±0.00 b, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 c, J, a
7. hafta	2.0	0.13±0.13 a, BC, a	0.33±0.18 a, E-H, a	0.33±0.18 a, F-J, a	2.0	0.00±0.00 a, C, a	0.07±0.07 a, HI, a	0.07±0.07 a, JK, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.07±0.07 a, A, a	0.07±0.07 a, AB, a	0.20±0.20 a, BCD, a
9. hafta	1.0	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	1.0	0.13±0.13 a, AB, a	0.13±0.13 a, AB, a	0.13±0.13 a, ABC, a
10. hafta	2,4 D (27)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (31)	0.13±0.07 a, CD, a	0.13±0.07 a, DEF, a	0.13±0.07 a, CDE, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 a, L, a	0.00±0.00 a, J, a
7. hafta	2.0	0.00±0.00 a, C, c	0.47±0.13 a, C-G, b	0.80±0.12 a, B-E, a	2.0	0.00±0.00 b, C, a	0.00±0.00 b, I, a	0.00±0.00 b, K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, b	0.20±0.12 b, AB, a	0.20±0.12 b, BCD, a
9. hafta	2.0	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	2.0	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a
10. hafta	2,4 D (28)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (32)	0.07±0.07 b, CD, a	0.20±0.20 b, C-F, a	0.20±0.20 b, CDE, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.67±0.29 a, B-E, a	0.87±0.29 a, B-E, a	1.00±0.31 a, BC, a

Çizelge 4.2. (Devam) Ayvada başlangıç ortamında kullanılan farklı BA + oksin kombinasyonları ve olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)

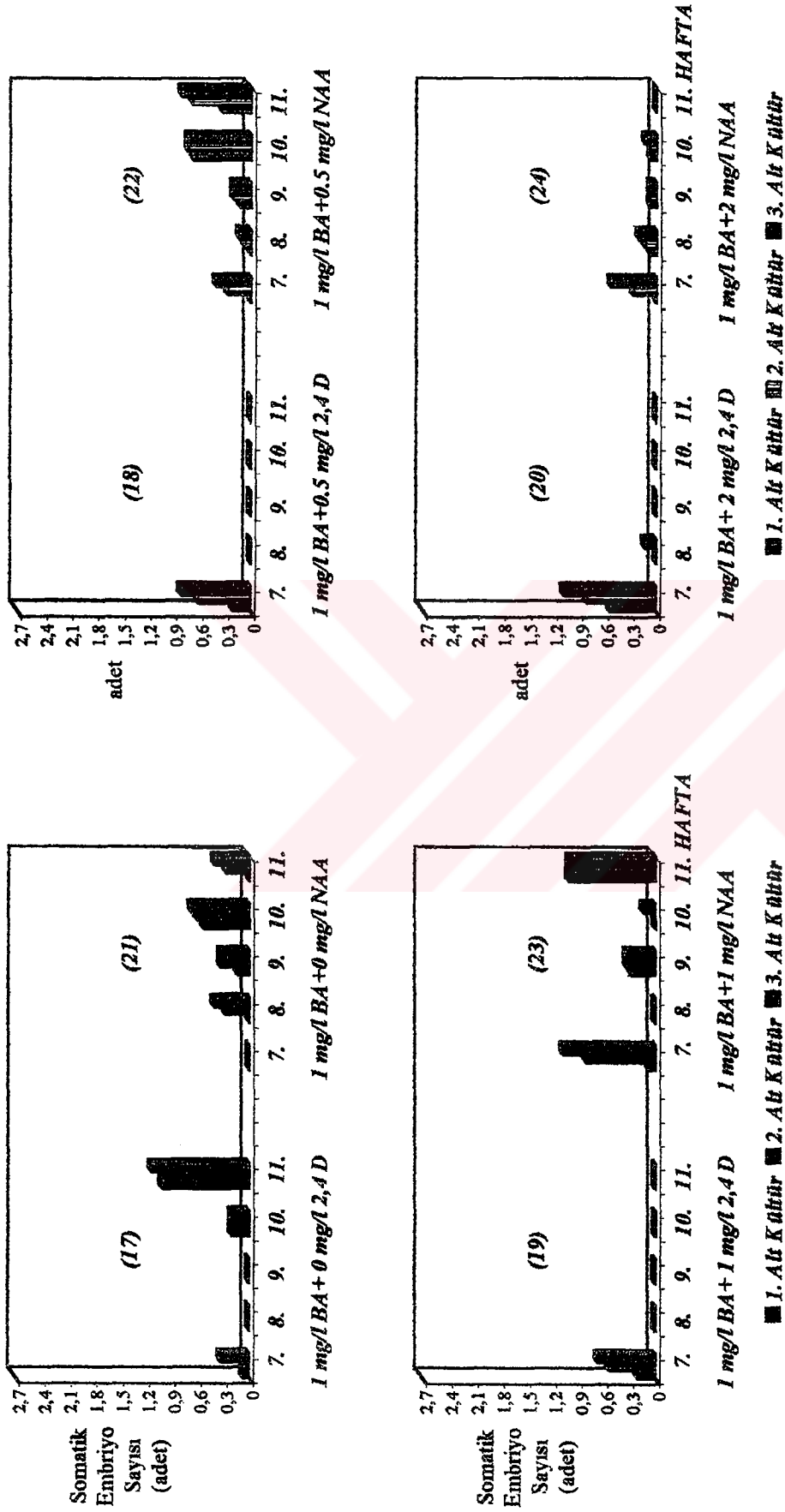
Çenek Yaprak Alma Zamanı	BA + 2,4 D (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür	BA + NAA (No)	1.Alt Kültür	2.Alt Kültür	3.Alt Kültür
7. hafta	5.0	0.00±0.00 a, C, a	0.00±0.00 a, I, a	0.00±0.00 a, K, a	5.0	0.00±0.00 a, C, a	0.00±0.00 b, I, a	0.00±0.00 b, K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.07±0.07 a, AB, a	0.07±0.07 a, CD, a	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a
9. hafta	0.0 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 a, C, a	0.0 mg/l	0.07±0.07 a, AB, a	0.07±0.07 ab, AB, a	0.07±0.07 ab, BC, a
10. hafta	2,4 D (33)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 a, F, a	0.00±0.00 a, E, a	NAA (37)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.07±0.07 a, KL, a	0.07±0.07 a, LJ, a		0.00±0.00 a, H, b	0.27±0.07 a, H-L, a	0.27±0.07 a, F-J, a
7. hafta	5.0	0.07±0.07 a, BC, b	0.27±0.13 a, E-I, ab	0.47±0.13 a, D-I, a	5.0	0.00±0.00 a, C, a	0.00±0.00 a, I, a	0.00±0.00 a, K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.07±0.07 ab, AB, a	0.07±0.07 b, CD, a	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 a, D, a
9. hafta	0.5 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	0.5 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.07±0.07 a, AB, a	0.07±0.07 a, BC, a
10. hafta	2,4 D (34)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (38)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 a, F, a	0.00±0.00 a, E, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.20±0.12 a, FGH, a	0.20±0.12 a, I-L, a	0.20±0.12 a, G-J, a
7. hafta	5.0	0.13±0.07 a, BC, b	0.33±0.07 a, D-H, ab	0.40±0.00 a, E-J, a	5.0	0.00±0.00 b, C, a	0.00±0.00 b, I, a	0.00±0.00 c, K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, D, a	mg/l BA+	0.00±0.00 b, A, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 c, D, a
9. hafta	1.0 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	1.0 mg/l	0.13±0.13 b, AB, a	0.20±0.20 ab, AB, a	0.27±0.27 ab, ABC, a
10. hafta	2,4 D (35)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (39)	0.40±0.23 a, ABC, a	0.40±0.23 a, A-E, a	0.40±0.23 a, BCD, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.00±0.00 b, H, a	0.07±0.07 b, K-L, a	0.07±0.07 bc, IJ, a
7. hafta	5.0	0.13±0.07 a, BC, a	0.27±0.07 a, E-I, a	0.33±0.07 a, F-J, a	5.0	0.00±0.00 a, C, a	0.00±0.00 a, I, a	0.00±0.00 a, K, a
8. hafta	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, b	0.40±0.23 a, A, a	0.47±0.24 a, AB, a	mg/l BA+	0.00±0.00 a, A, a	0.00±0.00 a, B, a	0.13±0.07 a, BCD, a
9. hafta	2.0 mg/l	0.00±0.00 a, B, a	0.00±0.00 b, B, a	0.00±0.00 b, C, a	2.0 mg/l	0.13±0.13 a, AB, a	0.13±0.13 a, AB, a	0.13±0.13 a, ABC, a
10. hafta	2,4 D (36)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 b, F, a	0.00±0.00 b, E, a	NAA (40)	0.00±0.00 a, D, a	0.00±0.00 a, F, a	0.00±0.00 a, E, a
11. hafta		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 b, L, a	0.00±0.00 b, J, a		0.00±0.00 a, H, a	0.00±0.00 a, L, a	0.00±0.00 a, J, a



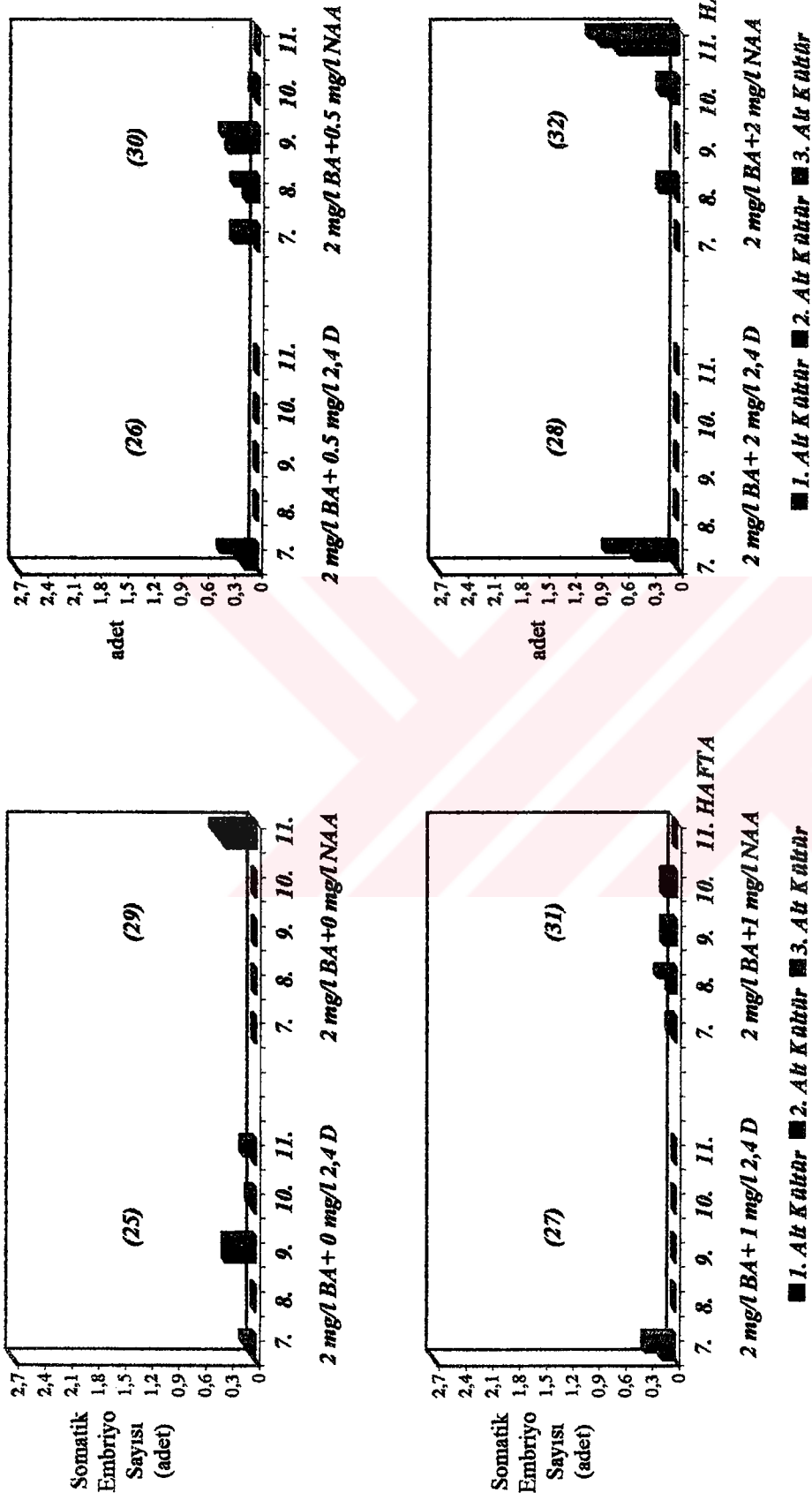
Şekil 4.3a. Ayyada başlangıç ortamında kullanılan 0.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)



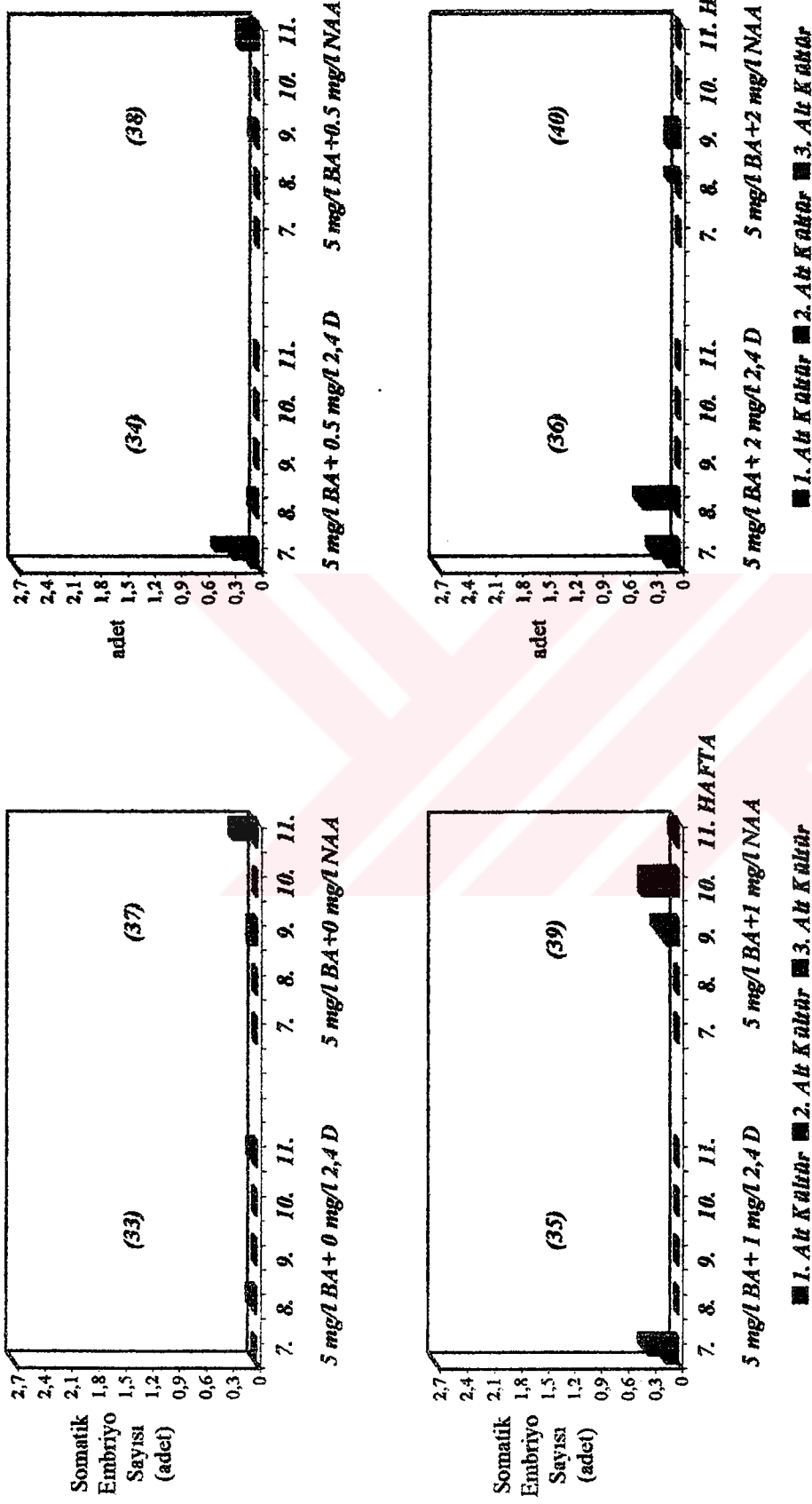
Şekil 4.3b. Ayyada başlangıç ortamında kullanılan 0.5 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)



Şekil 4.3c. Ayrada başlangıç ortamında kullanılan 1.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyüme düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)

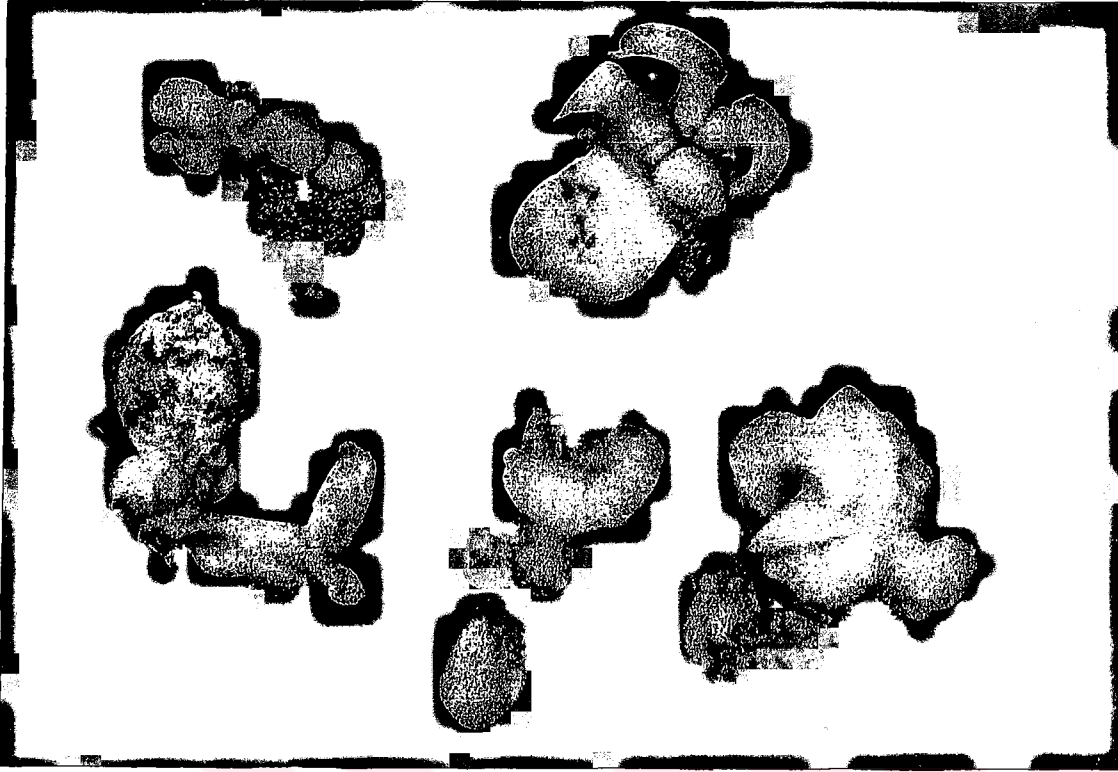


Şekil 4.3d. Ayvada başlangıç ortamında kullanılan 2.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)



Şekil 4.3e. Ayyada başlangıç ortamında kullanılan 5.0 mg/l BA'nın 2,4-D ve NAA'nın farklı dozları ile olgunlaşmamış çenek yaprak alma zamanlarına göre büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamlar üzerinde yapılan alt kültürlerde somatik embriyo sayısı (adet/çenek yaprak)

1. alt kültürde 7. haftada çenek yaprak başına oluşan somatik embriyo sayısı en fazla 0.53 ± 0.07 ile 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) (Şekil 4.3b) ve 0.53 ± 0.18 ile 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (20) (Şekil 4.3c) kombinasyonlarından elde edilmiştir. Bunu 0.33 ± 0.18 ile 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) ve 0.20 ± 0.12 ile 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (18) ve 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l 2,4-D (19) izlemiştir. Tüm bu değerler arasındaki farklılık istatistik olarak önemli bulunmamıştır. 8. haftada 0.0 ± 0.0 ile 0.13 ± 0.07 arasında değişen somatik embriyo sayısı bakımından kombinasyonlar arasındaki farklılık önemsizdir. 9. haftada somatik embriyo sayısı bakımından en iyi değer 0.33 ± 0.07 ile 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonundan elde edilmiştir. Bunu 0.33 ± 0.24 ile 2.0 BA + 0.0 2,4-D (25) ve 2.0 BA + 0.5 NAA (30), 0.33 ± 0.33 ile 0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (13) kombinasyonları izlemiştir. 10. haftada en yüksek somatik embriyo sayısı 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (22) kombinasyonunda 0.67 ± 0.47 olarak kaydedilmiştir. 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (21) kombinasyonu 0.53 ± 0.24 ile ikinci sırada yer almıştır. Aralarında istatistiksel anlamda önemli bir farklılığın bulunmadığı bu iki kombinasyon, ayrıca 5.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (39) (0.40 ± 0.23), 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) (0.40 ± 0.20) ve 0.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (5) (0.33 ± 0.18), 0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (9) (0.33 ± 0.24) ve 0.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (1) (0.27 ± 0.13) kombinasyonları ile aynı istatistik grup içerisinde yer almıştır. Bu alt kültürde en yüksek somatik embriyo sayılarına 11. haftada ulaşılmıştır. Bu bakımdan ilk kültür aşaması 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) (Şekil 4.3a) kombinasyonu olan kültürde diğer uygulamalardan istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla 2.47 ± 0.85 adet somatik embriyo elde edilmiştir (Şekil 4.4). 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonu ise 1.13 ± 0.37 ile bu değeri izlemiştir. 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (17) (1.0 ± 0.42), 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) (1.0 ± 0.23) ve 2.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (32) (0.67 ± 0.29) kombinasyonları da elde edilen değerler bakımından bu kombinasyonlar ile aynı istatistik grup içerisinde yer almıştır (Çizelge 4.2).



Şekil 4.4. Tam çiçeklenmeden 11 hafta sonra 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA kombinasyonunun (8) kullanıldığı başlangıç ortamına dikilen olgunlaşmamış çenek yaprakların, büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortamda 3. alt kültürü yapılmadan önce üzerindeki somatik embriyolarla görünümü

2. alt kültürde 7. haftada en yüksek somatik embriyo sayısı 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) kombinasyonunda 1.40 ± 0.12 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3b). Bunu 1.07 ± 0.18 ile 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonu izlemiştir. Bu iki değer arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli değildir. 8. haftada elde edilen en iyi değerler 0.40 ± 0.20 (0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8)), 0.40 ± 0.23 (5.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (36)) ve 0.33 ± 0.13 (0.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (2))'dür ve aralarındaki farklılık önemsizdir. 9. haftada 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) (0.33 ± 0.07), 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (21) (0.33 ± 0.18) ve 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) (0.33 ± 0.13), 2.0 BA + 0.0 2,4-D (25) (0.33 ± 0.24), 0.5 BA + 0.0 NAA (13) (0.33 ± 0.33) ve 2.0 BA + 0.5 NAA (30) (0.33 ± 0.33) kombinasyonları önemli bir farklılıkla en iyi sonucu vermiştir. 10. haftada 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (22) 0.73 ± 0.53 , 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (21) 0.60 ± 0.20 ve 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) 0.53 ± 0.07 adet somatik embriyo miktarı ile diğerlerinden

önemli düzeyde bir farklılıkla ilk sırada yer almışlardır. 2. alt kültürde somatik embriyo sayısı bakımından en iyi sonuçlar 11. haftaya ait çenek yapraklarda kaydedilmiştir. 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonunda somatik embriyo bir önceki alt kültür ile aynı sayıda ve 2.47 ± 0.85 'dir (Şekil 4.4). Önemli düzeyde istatistiksel farklılıkla 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonundan elde edilen somatik embriyo sayısı 1.27 ± 0.33 'dür (Çizelge 4.2) (Şekil 4.3b).

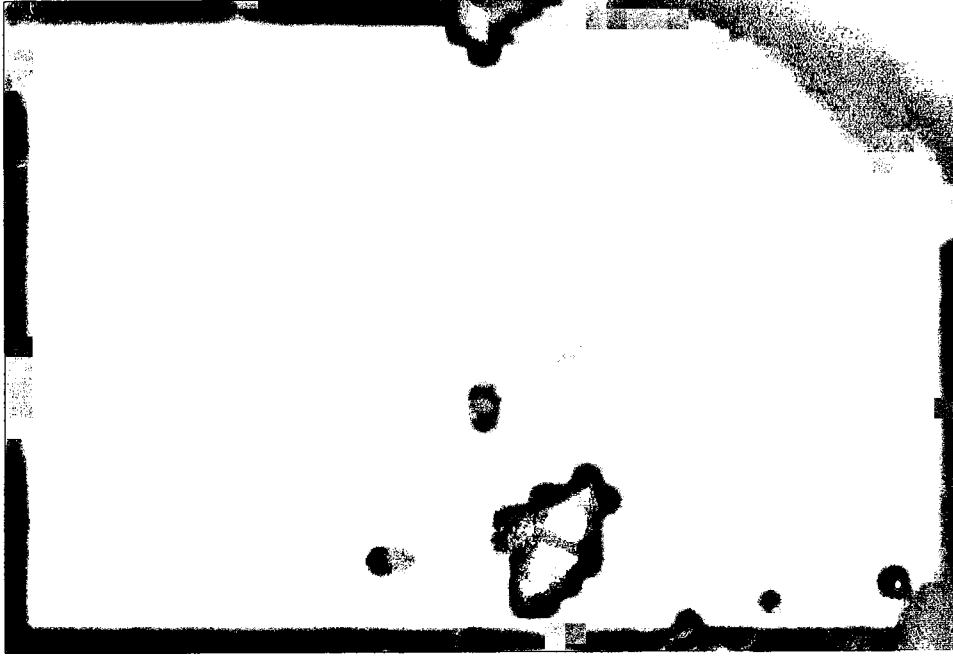
3. alt kültürde 7. haftada 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) kombinasyonu 1.80 ± 0.12 adet somatik embriyo sayısı ile diğer tüm uygulamalardan istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla en yüksek değeri vermiştir (Şekil 4.3b). 8. haftada ise 0.60 ± 0.23 ile 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonu en iyi sonucu vermiştir. 9. haftada 0.0 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (2) kombinasyonu 0.47 ± 0.13 adet ile en fazla somatik embriyo oluşturmuştur. 10. haftada 0.80 ± 0.12 adet olan somatik embriyo sayısı 0.5 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (16) kombinasyonundan elde edilmiştir. Bu değer, 1.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (22)'de 0.73 ± 0.53 , 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l NAA (21)'de 0.67 ± 0.24 , 0.5 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (9)'de 0.60 ± 0.20 'dir. Bu değerler arasındaki farklılık önemsizdir. 11. haftada 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonunda somatik embriyo sayısı 2.53 ± 0.79 olarak kaydedilmiştir. 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) kombinasyonunda ise bu değer 1.27 ± 0.33 'dür. 1.0 mg/l BA + 0.0 mg/l 2,4-D (17) kombinasyonunda ise 1.13 ± 0.41 adet somatik embriyo saptanmıştır. 11. haftada en fazla embriyo sayısının kaydedildiği bu kombinasyonlardan ikinci ve üçüncü sırada bulunanların ilk kombinasyon ile arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemlidir (Çizelge 4.2).

Alt kültürler arasındaki somatik embriyo sayısı bakımından ortaya çıkan farklılıklar çenek yaprakların alındıkları zamanlara ve başlangıç ortamında kullanılan büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonuna göre değişim göstermiştir (Çizelge 4.2). 7. haftada 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) kombinasyonunda 1. alt kültürde 0.53 ± 0.07 olan somatik embriyo sayısı 2. alt kültürde 1.40 ± 0.12 ve 3. alt kültürde 1.80 ± 0.12 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.3b). Bu üç değer arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli düzeydedir. İyi sonuç veren bu uygulamada alt kültür sayısının artmasıyla çenek yaprak başına somatik embriyo sayısında da önemli artışlar gözlenmiştir. Bununla birlikte diğer önemli

uygulamalardan birisi olan 11. haftada 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/l NAA (8) kombinasyonunda (Şekil 4.3a) 1. alt kültürde 2.47 ± 0.85 olan somatik embriyo sayısı 2. alt kültürde bu düzeyini korumuş ve 3. alt kültürde 2.53 ± 0.79 adede yükselmiştir. Ancak bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. 7. haftada 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) uygulamasında ise 1. alt kültürde somatik embriyo gözlenmemiş, ancak embriyo sayısı 2. alt kültürde önemli düzeyde artarak 1.07 ± 0.18 adede ulaşmıştır. 3. alt kültürde bu değer 1.20 ± 0.12 olarak kaydedilmiştir. 2. ve 3. alt kültürler arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. 11. haftada bu kombinasyonda (15) sırasıyla 1.13 ± 0.37 , 1.27 ± 0.33 ve 1.27 ± 0.33 adet embriyo sayılarının kaydedildiği alt kültürler aynı istatistik grup içerisinde yer almıştır. Bir başka ifadeyle, 1. alt kültürden sonra yapılan kültürlerde embriyo sayısında bir artış kaydedilememiştir. Aynı durum, tüm alt kültürlerde 1.0 ± 0.23 adet embriyo sayısı ile 11. haftada 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) kombinasyonunda da gözlenmiştir. 7. haftada bu kombinasyonda (23) 1. alt kültürde 0.07 ± 0.07 adet olan embriyo sayısında ise 2. alt kültürde (0.80 ± 0.12) önemli düzeyde artış meydana gelmiş ve bu artış önemsiz olmakla birlikte 3. alt kültürde (1.07 ± 0.07) de devam etmiştir (Çizelge 4.2).

4.2. Somatik Embriyoların Bitkiye Dönüşümü

Somatik embriyoların bitkiye dönüşümleri amacıyla farklı sürelerde uygulanan soğuklatma, tüm çenek yaprak alma zamanları için etkisiz kalmıştır. Her ne kadar soğuklatma süreleri sonrasında köklenmeyi uyarmak için yapılan karanlık uygulamasını takiben ışığa çıkarıldıklarında somatik embriyolar ilk üç gün içerisinde tamamen yeşil bir renk almışlarsa da yaklaşık 10 gün sonra tekrar beyaz renge dönüşmüşlerdir. Sadece 11. haftada alınan çenek yapraklara ait 12 hafta süreyle soğuklatılmış somatik embriyolarda genellikle kallus ve arkasından tek bir somatik embriyoda kök gelişimi meydana gelmiştir (Şekil 4.5). Bunun dışında ışık altında 12 hafta süreyle gözlenen somatik embriyolarda kök ve sürgün gelişimi gözlenmemiştir.



Şekil 4.5. 11. haftada alınan çenek yapraklara ait 12 hafta süreyle soğuklatılmış somatik embriyolarda aydınlık koşullara çıkarıldığında meydana gelen kallus ve kök gelişimi

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ayvanın (*Cydonia vulgaris* Pers. cv Limon) farklı zamanlarda alınan olgunlaşmamış çenek yapraklarından somatik embriyo oluşumu üzerine BA + 2,4-D ve BA + NAA kombinasyonlarının ve elde edilen somatik embriyoların bitkiye dönüşümü üzerine farklı sürelerde soğuk uygulamalarının etkileri incelenmiştir.

Araştırmada, ilk dört haftasını başlangıç ortamında geçiren çenek yapraklarda bu sürenin sonunda somatik embriyo oluşumuna rastlanmamıştır. Bununla birlikte büyümeyi düzenleyici madde içermeyen ortam üzerinde yapılan alt kültürlerde embriyonik çenek yaprak oranları ve somatik embriyo sayısı bakımlarından başlangıç ortamındaki farklı uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar kaydedilmiştir. Çenek yaprakların alınma zamanları bakımından en iyi sonuçlar tam çiçeklenmeden 7 ve 11 hafta sonra elde edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.1 ve 4.2, Şekil 4.1 ve 4.3). Nitekim büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarına göre değişmekle birlikte embriyonik çenek yaprak oranı 3. alt kültürde 7. haftada %80'e, 11. haftada %66.7'ye ulaşırken, diğer zamanlarda bu oran en fazla %40 olarak belirlenmiştir. Aynı durum somatik embriyo sayılarında da gözlenmiş ve 7. haftada 1.80 ± 0.12 , 11. haftada 2.53 ± 0.79 adet/çenek yaprak embriyo oluşurken, diğer haftalarda elde edilen en iyi değer 0.80 ± 0.12 adet olmuştur. James et al (1984) Bramley, Cox, Greensleve ve Spartan elma çeşitleri ile M9, M25, M26 ve M27 elma klon anaçlarında (*Malus pumila* Mill.) yürüttükleri çalışmalarında somatik embriyoları 50 günlük (yaklaşık 7 hafta) tohumların nusellus ya da endosperminin mikropilar uçlarından ve çeşitlere göre %0-23 arasında değişen oranlarda 1-9 adet/eksplant olarak elde etmişlerdir. Her ne kadar araştırmacılar tohumların nusellus ve endosperm dokularını kullanmışlarsa da tam çiçeklenmeden yaklaşık 7 hafta sonra ulaştıkları bu bulgu, araştırmamızda ayvanın çenek yaprakları için alt kültürlerde iyi sonuç veren 7 haftalık çenek yaprak yaşı ile benzerdir. Neuman et al (1993) ise cevizde (*Juglans nigra* L.) en fazla somatik embriyoyu tam çiçeklenmeden 8, 10 ve 12 hafta sonra aldıkları çenek yapraklarda elde etmişlerdir. Paul et al (1994) Golden Delicious elma (*Malus x domestica* Borkh.) çeşidinin olgunlaşmamış zigotik embriyolarına ait çenek yapraklardan somatik embriyo oluşumu

üzerine eksplantların alındığı zamanın önemli olduğunu ve 60 günlük zigotik embriyolardan alınan genç çenek yaprakların yüksek düzeyde (%18.3) embriyonik olduğunu öne sürmüşlerdir. Tulecke ve McGranahan (1985) ise cevizde (*Juglans regia* L.) somatik embriyo oluşumu için en uygun çenek yaprak alma zamanının, çeşitlere göre değişmekle birlikte tam çiçeklenmeden 7-11 hafta sonra olduğunu, embriyonik çenek yaprak oranının ise %10-33 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Her ne kadar farklı türler üzerinde çalışılsa da son araştırmacıların bulguları, araştırma sonuçlarımız ile kısmen paralellik göstermektedir.

Ayvanın olgunlaşmamış çenek yapraklarından 3. alt kültür sonunda embriyonik çenek yaprak oranı üzerine başlangıç ortamında kullanılan büyümeyi düzenleyici madde konsantrasyonlarından en iyi sonucu verenler 0.0 mg/l BA + 2.0 mg/ NAA (8) (11. hafta) (Bkz. Şekil 4.1a) , 0.5 mg/l BA + 0.5 mg/l 2,4-D (10) (7. hafta) (Bkz. Şekil 4.1b), 0.5 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (15) (7. hafta) (Bkz. Şekil 4.1b), 1.0 mg/l BA + 2.0 mg/l 2,4-D (20) (7. hafta) (Bkz. Şekil 4.1c) ve 1.0 mg/l BA + 1.0 mg/l NAA (23) (11.hafta) (Bkz. Şekil 4.1c) kombinasyonlarıdır. Bu kombinasyonlarda embriyonik çenek yaprak oranları %53.3 ile %80.0, embriyo sayısı 1.07 ± 0.07 ile 2.53 ± 0.79 adet/çenek yaprak arasında değişmiştir ve bu değerler diğer uygulamalardan önemli düzeyde farklılık göstermiştir. Önerilen büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonları incelendiğinde, BA konsantrasyonlarının 0.0 mg/l ile 1.0 mg/l arasında değiştiği (Bkz. Şekil 4.1a, b ve c), bir başka ifade ile 2.0 mg/l ve 5.0 mg/l gibi yüksek BA düzeylerinin (Bkz. Şekil 4.1d ve e) iyi sonuç vermediği, bu bakımdan 2,4-D ve NAA konsantrasyonlarının ise genellikle 1.0 mg/l ve 2.0 mg/l gibi yüksek düzeylerde olduğu görülmektedir. Daha önce belirtildiği üzere bu sonuçlar, çenek yapraklar, farklı BA + 2,4 D ya da BA + NAA kombinasyonlarını içeren başlangıç ortamından, içerisinde büyümeyi düzenleyici madde bulunmayan ortamlara transfer edildiğinde, alt kültürlerde elde edilmiştir. Başlangıç ortamından sonra çenek yapraklarda somatik embriyo oluşumuna rastlanmamıştır. James et al (1984) de Bramley, Cox, Greensleve ve Spartan elma çeşitleri ile M9, M25, M26 ve M27 klon elma anaçlarında (*Malus pumila* Mill.) farklı dozlarda BA, 2,4-D ve NAA'nın somatik embriyo oluşumunu etkilemediğini bildirmektedir. Bununla birlikte Mehra and Jaidka (1985), armutda (*Pyrus communis* var. *sativa*) *in vitro* koşullarda

çenek yapraklara ait kallustan 2.0 mg/l NAA + 2.0 mg/l BA içeren Nitsch ortamında %80, 2.0 mg/l NAA + 2.0 mg/l BA içeren MS ortamında %70, 2.0 mg/l NAA + 2.0 mg/l BA içeren White ortamında %45 oranında embriyoid elde etmişlerdir. 2.0 mg/l dozundaki NAA ile ilgili sonuçlarımız, araştırmacıların bulguları ile büyük uyum içerisindedir. Çalışmamızda NAA gibi 2,4-D'nin de 2.0 mg/l'lik dozunun özellikle 1.0 mg/l BA ile birlikteyken 7. haftada alınan çenek yapraklarda somatik embriyo oluşumunu artırdığı belirtilmişti. Bano et al (1991) ise çayın (*Thea sinensis* L.) çenek yaprak kültürlerinde somatik embriyo oluşumu üzerinde yürüttükleri çalışmada, 0.5 mg/l 2,4-D ve 0.05 mg/l kinetin katılmış MS temel besin ortamına dikilen çenek yaprakların %70'inden embriyonik kültür elde ettiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, ortamda 2,4-D konsantrasyonunun artmasıyla çeşitli şekillerde ve büyüklükte sıkı dokuların meydana geldiğini, ancak bu dokuların düşük dozda 2,4-D ve kinetin içeren bir ortamda ayrı ayrı kültüre alınmasıyla proembriyonik hücre yığınlarının ve daha sonra bitkilerin oluştuğunu belirtmektedirler. Gingas and Stokes (1993) de Bristol ve Jewel kırmızı ahududu çeşitlerinde geç yeşil ya da erken sarı meyvelerin tohumlarından aldığı eksplantların yaklaşık %70'ini, tüm 2,4-D konsantrasyonlarında bir hayli embriyonik bulmuşlardır. Pijut (1993) ise *Juglans cinerea* L.'nin olgunlaşmamış çenek yapraklardan somatik embriyoların 0.01 mg/l IBA, 1 mg/l BA ve 2 mg/l kinetin içeren Driver and Kuniyuki ve büyümeyi düzenleyici madde bulunmayan Driver and Kuniyuki ortamları üzerinde doğrudan elde edildiğini bildirmektedirler. Her ne kadar çalışmamızda farklı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının etkisi alt kültürlerde ortaya çıktıysa da başlangıç ortamı için 1.0 mg/l BA önerdiğimiz dozlar içerisinde yer almaktadır. Çalışmamızda yer alan 2.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA (30) kombinasyonu, sadece 7., 8. ve 9. haftalarda alınan çenek yapraklarda %13.3-26.7 oranlarında somatik embriyo meydana getirdiği halde Kolova and Stoyanov (1994) elma (*Malus pumila* Mill.) zigotik embriyolarının ve gövde parçalarının somatik dokularından *in vitro* somatik embriyo oluşumu konusunda yaptıkları çalışmada, 2 mg/l BA, 0.5 mg/l NAA ve 0.1 mg/l GA₃ içeren Skirvin and Chu ortamı üzerinde çenek yaprak kısımlarının %48 ve boğum aralarından alınan gövde kısımlarının %63'den fazlasının somatik embriyo oluşturduğunu bildirmişlerdir. Paul et al (1994) ise Golden Delicious elma (*Malus x domestica* Borkh.)

çeşidinin olgunlaşmamış zigotik embriyolarına ait çenek yapraklardan somatik embriyo oluşumu üzerine yüksek konsantrasyonda oksin (6 mg/l NAA) içeren başlangıç ortamının ve sonrasında düşük dozlarda sitokinin (0.5 mg/l BA) ve oksin (0.05 mg/l NAA) içeren gelişme ortamının ve somatik embriyoların çoğaltımında, 0.1 mg/l BA + 0.1 mg/l KIN + 0.1 mg/l IBA kapsayan çoğaltma ortamının etkili olduğunu belirtmektedirler. Daigny et al (1996) Gloster 69 elma çeşitinde (*Malus x domestica* Borkh.) sekonder somatik embriyo oluşumunda %55.5 ile en yüksek çoğalma oranını, 5.3 µM (1.0 mg/l) NAA, 0.9 µM (0.2 mg/l) BA ve 0.9 µM (0.2 mg/l) kinetin (KIN) kombinasyonu ya da tek başına TDZ (10 µM) (2.2 mg/l) ile elde etmişlerdir.

Araştırmamızda olgunlaşmamış çenek yapraklardan elde edilen ayva somatik embriyolarının bitkiye dönüşümü amacıyla 4, 8 ya da 12 hafta sürelerde yapılan soğuk uygulamaları etkisiz kalmıştır. Oysa, Tulecke ve McGranahan (1985) ceviz (*Juglans regia* L.) somatik embriyolarının bitkiye dönüşümü için 2-4°C'de 1-4 hafta süreyle bekletmenin iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Kolova and Stoyanov (1994) da elma (*Malus pumila* Mill.) zigotik embriyolarının ve gövde parçalarının somatik dokularından oluşan somatik embriyoların normal bitkilere, sadece 4°C'de 5-7 hafta tutulduktan sonra dönüştüklerini belirtmişlerdir. Paul et al (1994), Golden Delicious elma (*Malus x domestica* Borkh.) çeşidinin somatik embriyolarının bitkiye dönüşümü için içerisinde büyümeyi düzenleyici madde bulunmayan ½ kuvvetindeki MS besin ortamı üzerinde embriyoların 2 ay soğukta tutulmasını önermektedirler. Onay et al (1995) ise antepfıstığının (*Pistacia vera* L.) olgunlaşmamış tohumlarından oluşan somatik embriyoları, katılaştırılmış MS besin ortamında büyüme düzenleyici maddeler kullanılmadan çimlendirmişlerdir.

Kaynak taramasında daha önce yapılmış bir araştırma bulgusuna rastlanmadığı için ayvanın (*Cydonia vulgaris* Pers.) olgunlaşmamış çenek yapraklarından somatik embriyo oluşumlarına ait ilk bulguların elde edildiği bu çalışma, halen bu konu üzerinde devam etmekte olan araştırmalarımızı büyük ölçüde yönlendirmiştir. Bu araştırmalarda, ayvada primer ve sekonder somatik embriyo oluşumlarını artırmak, somatik embriyolar üzerinde histolojik çalışmaları tamamlamak, somatik embriyoları bitkiye dönüştürmek ve bunları dış koşullara alıştırmak planlanmıştır.

KAYNAKLAR

- ARRILLAGA, I., LERMA, V., BERMUDEZ, P. and SEGURA J. 1995. Callus and somatic embryogenesis from cultured anthers of service tree (*Sorbus domestica* L.). HortScience, 30 (5): 1078-1079.
- BANO, Z., RAJARATHNAM, S. and MOHANTY, B. D. 1991. Somatic embryogenesis in cotyledon cultures of tea (*Thea sinensis* L.). Journal of Horticultural Science, 66 (4): 465-470.
- CARIMI, F., PASQUALE, F. D. and CRESCIMANNO, F. G. 1995. Somatic embryogenesis in *Citrus* from styles culture. Plant Science, 105: 81-86.
- DAIGNY, G., PAUL, H., SANGWAN, R. S. and NORREEL, B. S. 1996. Factors influencing secondary somatic embryogenesis in *Malus x domestica* Borkh. (cv 'Gloster 69'). Plant Cell Reports, 16:153-157.
- DODDS, J. H. and ROBERTS, L. W. 1993. Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge University Press, p. 1-231, New York, USA.
- DOLCET- SANJUAN, R., MOK, D. W. S. and MOK, M. C. 1991. Plantlet regeneration from cultured leaves of *Cydonia oblonga* L. (quince). Plant Cell Reports, 10: 240-242.
- DUMANOĞLU, H. 1991. Bazı S. Ö. Ayva Anaçları ve Armut Çeşitlerinde Kalburlu Boruların Anatomik Yapısı ile Uyuşma Arasında İlişkiler. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi (yayımlanmamış), p. 1-116, Ankara.
- DUMANOĞLU, H. ve GÜLŞEN, Y. 1993. *In vitro* rooting of Quince A (*Cydonia oblonga* Mill.). Sixth International Symposium on Pear Growing, July 12-14, 1993, Medford, Oregon, USA. Acta Horticulturae, 367: 360-363.
- FORERO, C. Y. B. 1995. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Musa* cultivars. Infomusa, 4 (1): 16, [Hort. Abstr., 66 (5): 575 (4579)].
- GARIN, E., GRENIER, E. and De MARCH, G. G. 1997. Somatic embryogenesis in wild cherry (*Prunus avium*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 48: 83-91.
- GINGAS, V. M. and STOKES, B. D. 1993. *Rubus* plant regeneration via asexual embryogenesis. HortScience, 28 (1): 58.

- GÜLŞEN, Y. ve DUMANOĞLU, H. 1992. Quince-A'nın *in vitro* çoğaltımında bazı oksinlerin ve BAP'nin sürgün verimi ve kalitesine etkileri. Türkiye 1. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 13-16 Ekim 1992, Bornova, İzmir, Kongre Kitabı, 1: 291-294.
- GÜNGÖR, M. 1989. İç Anadolu Ayvalarında Seleksiyon Çalışmaları. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi (yayımlanmamış), p. 1-119, Ankara.
- JAMES, D. J., PASSEY, A. J. and DEEMING, D. C. 1984. Adventitious embryogenesis and the *in vitro* culture of apple seed parts. J. Plant Physiol., 115: 217-229.
- KOLOVA, L. G. and STOYANOV, N. A. 1994. *In vitro* Induction of Adventitious Shoot and Embryo Formation in Somatic Tissues of Apple (*Malus pumila* Mill.) Zygotic Embryos and Stem Segments. In: H. Schmidt and M. Kellerhals (Editors), Progress in Temperate Fruit Breeding, Kluwer Academic Publishers, p. 377-379, Netherlands.
- LITZ, R. E. 1988. Somatic embryogenesis from cultured leaf explants of the tropical tree *Euphoria longan* Stend. J. Plant Physiol., 132: 190-193.
- LITZ, R. E. and GRAY, D. J. 1992. Organogenesis and Somatic Embryogenesis. In: F. A. Hammerschlag and R. E. Litz (Editors), Biotechnology of Perennial Fruit Crops, University Press, Cambridge, p. 3-34, UK.
- MEHRA, P. N. and JAIDKA, K. 1985. Experimental induction of embriyogenesis in pear. Phytomorphology, 35 (1, 2): 1-10.
- NEUMAN, M. C., PREECE, J. E., SAMBEEK, J. W. V. and GAFFNEY, G. R. 1993. Somatic embryogenesis and callus production from cotyledon explants of Eastern black walnut. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 32: 9-18.
- ONAY, A., JEFFRE. C. E. and YEOMAN, M. M. 1995. Somatic embryogenesis in cultured immature kernels of Pistachio, *Pistacia vera* L. Plant Cell Reports, 15:192-195.
- ONAY, A., FIRAT, M. Z. and NAMLI, O. 1997. An improved method for embling production in Pistachio, *Pistacia vera* L. using. Tr. J. of Biology, 21: 159-174.
- ÖZBEK, S. 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 128 Ders Kitabı:11, Ankara Üniversitesi Basımevi, s:1-486, Ankara.
- PAUL, H., BELAIZI, M. and NORREEL, B. S. S. 1994. Somatic embryogenesis in apple. J. Plant Physiol., 143: 78-86.

- PIJUT, P. M. 1993. Somatic embryogenesis in butternut, *Juglans cinerea*. Can. J. For. Res. 23: 835-838.
- ROBACKER, C. 1993. Somatic embryogenesis and plant regeneration from Muscadine grape leaf explants. HortScience, 28 (1): 53-55.
- RUGINI, E. and CARICATO, G. 1995. Somatic embryogenesis and plant recovery from mature tissues of olive cultivars (*Olea europaea* L.) "Canino" and "Moraiolo". Plant Cell Reports, 14: 257-260.
- TULECKE, W. and MCGRANAHAN, G. 1985. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cotyledons of walnut, *Juglans regia* L. Plant Science, 40: 57-63.
- TULECKE, W. 1987. Somatic Embryogenesis in Woody Perennials. In: J. M. Bonga and D. J. Durzan (Editors), Cell and Tissue Culture in Forestry, Vol.: 2, Martinus Nijhoff Publishers, p. 61-91, Boston.
- WILLIAMS, E. G. and MAHESWARAN, G. 1986. Somatic embryogenesis: Factors influencing coordinated behaviour of cells as an embryogenic group. Annals of Botany 57: 443-462.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Giresun ili Şebinkarahisar ilçesinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Şebinkarahisar'da tamamladı. 1990'da girdiği Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nden 1995 yılında mezun oldu. 1995'de Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitime başladı.

1996 yılından itibaren Karadeniz Teknik Üniversitesi, Ordu Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü'nde Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktadır.

