

Hülya Kesmük



**Texas ve Nonpareil Badem
(*Prunus amygdalus* Batsch.) Çeşitlerinin
Vegetatif Çoğaltımında *in vitro* Köklenme
Hülya KESMÜK
Yüksek Lisans Tezi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı
1993
ANKARA**

28/55

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEXAS VE NONPAREİL BADEM (*Prunus amygdalus* Batsch.)
ÇEŞİTLERİNİN VEGETATİF ÇOĞALTIMINDA
in vitro KÖKLENME

Hülya KESMÜK

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

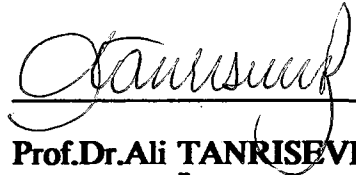
Bu tez 10.06.1993 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Tarafından 95.. (Doksanbeş)
Not Takdir Edilerek
Oybirliği / ~~Çoğunluk~~ ile Kabul Edilmiştir.



Doç.Dr. Yücel GÜLŞEN
DANIŞMAN



Prof.Dr. Ruhinaz GÜLCAN
ÜYE



Prof.Dr. Ali TANRISEVER
ÜYE

ÖZET

TEXAS VE NONPAREİL BADEM (*Prunus amygdalus* Batsch)
ÇEŞİTLERİNİN VEGETATİF ÇOĞALTIMINDA
İN VİTRO KÖKLENME

Hülya KESMÜK

ANKARA ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Yücel GÜLŞEN

1993, Sayfa: 105

Jüri: Doç.Dr. Yücel GÜLŞEN
Prof.Dr.Ruhinaz GÜLCAN
Prof.Dr.Ali TANRISEVER

Bu araştırmada Nonpareil ve Texas badem (*Prunus amygdalus* Batsch) çeşitlerinin *in vitro* klonal çoğaltımında (micropropagation) köklenme üzerine etki eden faktörler araştırılmıştır. Bu amaçla IBA, NAA ve IAA'nın farklı konsantrasyonlarının köklenme üzerine etkileri esas alınarak MS besin ortamının fiziksel yapı ve kuvvetinin, ön karartmanın (10 gün karartmadan sonra 16 saat aydınlık-8 saat karanlık), aktif kömürün, mikroçelik uygulamalarının, oksinli ortamdan oksinsiz ortama transferin ve *Agrobacterium rhizogenes* inokülasyonunun köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları üzerine etkileri incelenmiştir.

Her iki çeşitte de aktif kömür uygulaması ve *A. rhizogenes* inokülasyonunda; Nonpareil çeşidinde kağıt köprülerle desteklenmiş sıvı besin ortamlarında ve Texas çeşidinde mikroçelik uygulamalarında hiç köklenme elde edilememiştir.

10 gün ön karartma uygulaması Nonpareil çeşidinde köklenme oranını azaltırken Texas çeşidinde önemli düzeyde artırmıştır.

Ortam kuvvetinin azaltılması, tam kuvvetindeki MS ortamına göre her iki çeşitte de köklenme üzerinde önemli bir farklılık yaratmamıştır.

Nonpareil çeşidinde en yüksek köklenme oranı (%90), tam ve yarı kuvvetinde makroelementleri içeren ortamlarda 0.5 mg/l IBA'dan ve 1000 ppm

IBA solüsyonuna 2 dakika daldırma uygulamasından elde edilmiştir.

Texas çeşidinde ise en yüksek köklenme oranı (%80), yarı kuvvette makroelementleri içeren besin ortamında 10 gün karartma uygulaması ile 1.5 mg/l IBA'dan elde edilmiştir.

Kök sayısı, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları yapılan uygulamalardan farklı düzeylerde etkilenmiştir.



ANAHTAR KELİMELER: *In vitro*, mikroçoğaltım, köklenme, *Prunus amygdalus* Batsch, badem.

ABSTRACT

Masters Thesis

IN VITRO ROOTING IN VEGETATIVE POPAGATION OF TEXAS AND
NONPAREIL ALMOND CULTIVARS (*Prunus amygdalus* Batsch)

Hülya KESMÜK

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Horticulture

Supervisor: Assoc. Prof.Dr. Yücel GÜLŞEN

1993, Page: 105

Jury: Assoc. Prof.Dr. Yücel GÜLŞEN
Prof.Dr.Ruhinaz GÜLCAN
Prof.Dr.Ali TANRISEVER

This study examines the factors which affect *in vitro* rooting of the Nonpareil and Texas (*Prunus amygdalus* Batsch) almond cultivars. For this purpose different concentrations of IBA, NAA, and IAA were examined together with each of physical structure and strength of the medium, exposure to preliminary darkness, adding activated charcoal, microcutting application, transfer from an auxin-containing medium to an auxin-free medium, and *Agrobacterium rhizogenes* inoculation for their effects on rooting percentage, number of roots, root length, callus size, and amount of dry matter.

Neither adding activated charcoal to the medium nor inoculation by *Agrobacterium rhizogenes* produced any rooting in both varieties. Rooting was also not observed when the Nonpareil was grown in liquid medium supported by paper bridges, and in the Texas variety when microcuttings were dipped in an auxin solution.


Ten days dark period, while decreasing rooting percentage of Nonpareil, significantly increased rooting percentage of Texas.

Halving the strength of the MS medium did not produce any significant rooting compared to the full strength MS medium in both varieties.

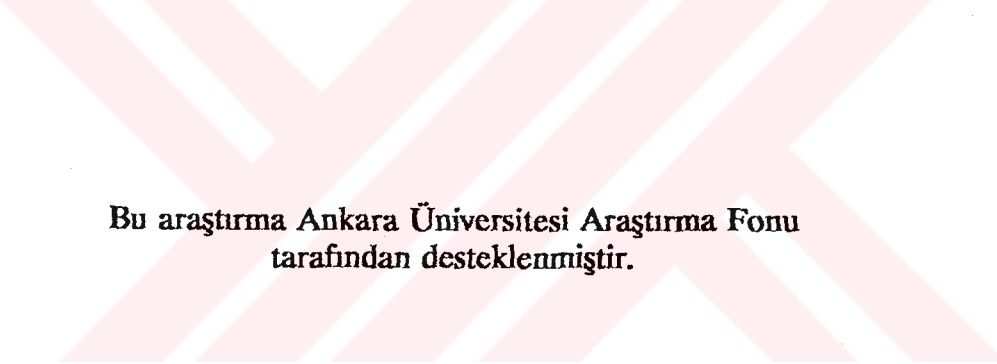
The highest rooting percentage (90%) in Nonpareil variety was obtained either by planting the shoots in the media containing full or half strength macroelements with 0.5 mg/l IBA or by planting them in an auxin free medium after dipping in a 1000 ppm IBA solution for two minutes.

The highest rooting percentage (80%) in Texas variety was obtained when a 1.5 mg/l IBA containing medium with half-strength macroelements was used in combination with a ten day dark period.

The number of roots, the size of the callus, and the amount of dry matter were affected to different degrees depending upon the treatment used.



KEY WORDS: *In vitro*, micropropagation, rooting, *Prunus amygdalus*, Batsch, almond



**Bu araştırma Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu
tarafından desteklenmiştir.**

TEŞEKKÜR

Son yıllarda hızla gelişmekte olan doku kültürleri tekniğinin uygulama alanlarından birisi olan sürgün ucu kültürü ile bitkilerin vegetatif çoğaltımı konusunda bana araştırma olanağı veren, çalışmalarımın her aşamasında büyük ilgi ve katkılarını esirgemeyen Danışman Hocam, Sayın Doç.Dr.Yücel GÜLŞEN'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım sırasında destek ve katkılarını gördüğüm başta Bölüm Başkanımız, Sayın Prof.Dr.Atila GÜNAY olmak üzere, Araştırma Görevlilerinden Şebnem ELLİALTIOĞLU, Köksal DEMİR, Mücahit T.ÖZKAYA, Nurdan TUNA'ya ,ayrıca tez projemde maddi destek sağlayan Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu Müdürlüğü'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa	No
1. GİRİŞ		1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI		3
3. MATERYAL VE METOD		22
3.1. Materyal		22
3.2. Metod		22
3.2.1. Besin ortamlarının hazırlanması		22
3.2.1.1. Sürgün ucu kültürleri için besin ortamlarının hazırlanması		23
3.2.1.2. Köklendirme denemeleri için besin ortamlarının hazırlanması		24
3.2.2. Kültür koşulları		24
3.2.3. Sürgün ucu kültürlerinin kurulması		24
3.2.3.1. Sürgün uçlarının dezenfeksiyonu		24
3.2.3.2. Mikrosürgünlerin çoğaltılması		25
3.2.4. Köklendirme denemelerinin kurulması		26
3.2.4.1. Agarla katılaştırılmış ve kağıt köprülerle desteklenmiş sıvı TMS besin ortamlarında oksin uygulamaları		26
3.2.4.2. Agarla katılaştırılmış ve perlitle desteklenmiş sıvı TMS, YMS, TM ve YM besin ortamlarında oksin uygulamaları		27
3.2.4.3. Agarla katılaştırılmış TMS, TM ve YM besin ortamlarında aktif kömür, ön karatma ve oksin uygulamaları		28
3.2.4.4. Mikroçelik uygulamaları		29
3.2.4.5. Oksinli ortamdan oksinsiz besin ortamına transfer uygulaması		30
3.2.4.6. <i>Agrobacterium rhizogenes</i> inokülasyonu		30
3.2.5. Yapılan gözlemler ve değerlendirme parametreleri		31
3.2.5.1. Köklenme başlangıcı		31
3.2.5.2. Köklenme oranı		31
3.2.5.3. Kök sayısı		32
3.2.5.4. Kök uzunluk düzeyi		32
3.2.5.5. Köklerde kuru madde miktarı		32
3.2.5.6. Kallus oluşum düzeyi		33
3.2.5.7. Verilerin değerlendirilmesi		34

4. SONUÇLAR	35
4.1. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış ve Kağıt Köprülerle Desteklenmiş Sıvı TMS Besin Ortamlarında, IBA, NAA ve IAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri	36
4.2. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış ve Perlite Desteklenmiş Sıvı TMS ve YMS Besin Ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri	42
4.3. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış ve Perlite Desteklenmiş Sıvı TM ve YM Besin Ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri	52
4.4. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış TMS Besin Ortamında, Aktif Kömür, Ön Karatma ve Oksin Uygulamaları	63
4.5. Nonpareil Çeşidinde Mikroçelik Uygulamalarının Köklenme Üzerine Etkileri	75
4.6. Nonpareil Çeşidinde Oksinli Ortamdan Oksinsiz Ortama Transferin Köklenme Üzerine Etkileri	84
4.7. Texas Çeşidinde Mikroçelik Uygulamalarının Köklenme Üzerine Etkileri	85
4.8. Texas Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış TM ve YM Besin Ortamlarında IBA ve NAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri	85
4.9. Texas Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış TM ve YM Besin Ortamlarında, Aktif Kömür, Ön Karatma ve IBA Uygulamalarının Köklenme Üzerine Etkileri	86
4.10. Nonpareil ve Texas Çeşitlerinde <i>Agrobacterium rhizogenes</i> İnokülasyonunun Köklenme Üzerine Etkileri	97
5. TARTIŞMA	98
KAYNAKÇA	102

SİMGELER

mM : Mikro molar

N : Normalite

KISALTMALAR

A : 16 saat aydınlık-8 saat karanlık periyod

AP : Almahdi ve Parfit

BAP(BA) : N⁶-Benzil amino pürin

BN : Bourgin ve Nitsch

GA₃ : Gibberallik asit

HCl : Hidroklorik asit

IAA : Indole asetik asit

IBA : Indole-3-butrik asit

K : 10 gün ön karartmadan sonra 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık periyod

K (h) : Cheng

LS : Linsmaier-Skoog

MS : Murashige Skoog

NAA : 1-Naftelen asetik asit

NaOH : Sodyum hidroksit

O.K : Ortam Kuvveti

TM : 1/1 MS makroelementleri

TMS : 1/1 MS makroelementleri, mikroelementleri ve vitaminleri

YM : 1/2 MS makroelementleri

YMS : 1/2 MS makroelementleri, mikroelementleri ve vitaminleri

WPM : Woody Plant Medium

1. GİRİŞ

Karadeniz kıyı bölgesi ile çok yüksek yaylalar dışında, ülkemizin hemen her yerinde badem yetiştirilmektedir. Uzun yıllardan beri tohumla çoğaltıldığından gelişme, verim ve kalite gibi özellikler yönünden çok farklı tipler oluşturmuştur. Bu nedenle standart çeşitlerle kurulmuş bahçelerin sayısı yok denecek kadar azdır.

Ülkemizde geniş üretim alanları olmasına karşın, 1991 yılı istatistiklerine göre, 41.117.500 adet badem ağacı bulunmakta ve 48.000 ton badem üretimi yapılmaktadır (Anonymous 1991a). Dış ülkelerin yine aynı yıldaki üretimleri dikkate alındığında, ABD dünya badem üretimindeki %27.3'lük payı ile ilk sırayı almakta ve onu %20.4 ile İspanya, %10.3 ile İtalya izlemektedir. Türkiye ise %3.5'lik üretim payı ile badem üretici ülkeler arasında yedinci sırada yer almaktadır (Anonymous 1991b).

Bademin, özellikle Avrupa ülkelerinde gıda endüstrisinde geniş kullanım alanı bulunması bademe olan talebin sürekli kalmasını sağlamaktadır. Fiyatların her yıl artmasına karşın dünya pazarlarında yüksek talep potansiyeline sahip olan bademin, ülkemizdeki üretiminin standart çeşitler kullanılarak artırılması ihracat gelirlerimiz yönünden büyük yararlar sağlayacaktır.

Seleksiyon ve adaptasyon çalışmaları ile diğer üretici ülkelerle rekabet edebileceğimiz çeşitlerin seçilmesi ve bu çeşitlerin vegetatif olarak çoğaltılması, çeşit standardizasyonu sağlayacaktır. Bugün ABD'de üretim tamamıyla belirli standart çeşitlerle yapılmaktadır. Nitekim Kaliforniya'da üretimin dörtte üçünü Nonpareil ve Texas çeşitleri oluşturmaktadır. Bu iki çeşit ülkemizde Orta Anadolu koşullarında yapılan adaptasyon denemesinde de iyi sonuç vermiştir. Alınan sonuçların kısa sürede üreticiye ulaştırılmasında, bademin vegetatif çoğaltımında zorluklarla karşılaşmaktadır. Köklenmesi zor olan bu meyve türü vegetatif olarak daha çok aşı ile çoğaltılmaktadır. Aşı ile çoğaltımda ise kullanılan anaçların üretimi tohumla yapıldığından bir örneklik sağlanamamaktadır. Bu durum çeşitlerin aşıya gerek kalmadan kendi kökleri

üzerinde yetiştirilmesini yada anaç özelliği olan çeşit ve tiplerin daha hızlı vegetatif çoğaltım yöntemleri ile çoğaltılmasını zorunlu hale getirmektedir.

Son yıllarda *Prunus* cinsine giren köklenmesi zor türlerin vegetatif çoğaltımında doku kültürleri tekniğinin üretim potansiyelinden yararlanılmaktadır. Ancak bademin *in vitro* üretimi üzerinde yapılan çalışmalar oldukça azdır ve bu çalışmalarda da köklendirme aşamasında zorluklarla karşılaşmaktadır (Mehra ve Mehra 1974, Tabachnik ve Kester 1977, Rugini ve Verma 1983, Rugini vd. 1988).

Önceki yıllarda bölümümüzde yapılan bir yüksek lisans tezinde, ülkemizde adaptasyon denemeleri yapıp üretilmesi önerilen Nonpareil ve Texas badem çeşitlerinin *in vitro* çoğaltımında, kısa sürede çok sayıda sürgün oluşumu için en uygun şeker, agar ve pH düzeyleri ile BAP X IBA kombinasyonları araştırılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Karvar ve Gülşen 1990). Köklendirme aşamasında kalan ilk çalışmanın devamı niteliğinde olan bu çalışmada, Nonpareil ve Texas badem çeşitlerinin *in vitro* klonal çoğaltımında (mikropropagation) köklenme üzerine etki eden faktörler araştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

İn vitro çoğaltmada, köklenme aşamasındaki başarı kültüre alınan bitkinin genetik yapısı, otsu ya da odunsu oluşu, köklendirme ortamının kimyasal ve fiziksel yapısı, büyümeyi düzenleyiciler ve dozları ve kültür koşulları gibi faktörlere bağlıdır. Bu faktörler *in vitro* köklendirmede, özellikle köklenme yeteneği az olan odunsu bitkilerde daha çok önem taşımaktadır.

Bademde doku kültürü çalışmalarının ve özellikle köklendirme ile ilgili literatür verilerinin az olmasından dolayı başka türlerin (odunsu) *in vitro* köklenmesi üzerinde yapılan araştırmalarla ilgili literatür verileri de incelenmiştir. Bitkilerin köklendirilmelerinde genel olarak oksinlerden yararlanılmaktadır. Doku kültürü çalışmalarında, IBA, NAA ve IAA köklenmenin uyarılmasında en çok kullanılan oksinlerdir. Bitkiye, köklendirme ortamına ve kültür koşullarına bağlı olarak bir oksin diğerinden daha iyi sonuç verebilmektedir. Bununla birlikte köklendirme ortamında oksine gerek duymayan otsu bitkilerin yanında sitokinine ya da GA₃'e gerek duyan türler de bulunmaktadır.

Sitokinin, gibberellin ve oksinlerin köklenme üzerine etkileri

Mehra vd. (1978) yaptıkları çalışmalarda çam sürgünlerinin köklendirilmesinde 0.1 mg/l BAP ve 0.1 mg/l NAA'nın her ikisine birden gerek duyulduğunu belirtmişlerdir (George ve Sherrington 1984).

Nemaguard şeftali anacının *in vitro* köklendirme aşamasında, agarla katılaştırılmış modifiye MS besin ortamına ilave edilen vitaminlerin, farklı dozlarda BA ve NAA'nın köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. BA içeren besin ortamlarında köklenme oranı azalmış ve en yüksek köklenme oranı 0.1 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Bu çalışmada riboflavinin köklenmeyi engellediği de saptanmıştır (Miller vd. 1982).

Pozegaca erik çeşidinde yapılan *in vitro* köklendirme çalışmalarında

en yüksek köklenme oranları (%50-100) 2.0 mg/l IBA ve 0.1 mg/l GA₃ içeren agarla katılaştırılmış MS besin ortamından elde edilmiştir (Ruzic 1984). Aynı çeşit üzerinde yapılan bir başka çalışmada, köklendirme aşamasında yine agarla katılaştırılmış MS besin ortamı kullanılmış ve en yüksek köklenme oranı (%90.0) 1.0 mg/l NAA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Bunu 0.5 mg/l NAA (%80) ve 2.0 mg/l IBA (%75) konsantrasyonları izlemiştir. Bu çalışmada köklü bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonu aşamasında %92.5'i hayatta kalmıştır (Ruzic ve Cerovic 1986).

Antonavka 313 elma anacında, agarla katılaştırılmış modifiye MS besin ortamı kullanılarak yapılan *in vitro* köklendirme çalışmalarında, besin ortamına 0.25 mM IBA ilave edildiği zaman 2.haftanın sonunda bu ortamdaki sürgünlerin hepsinde köklenme görülmüştür (Travers vd.1986).

M26 ve M9 elma anaçlarında yapılan çalışmalarda *in vitro* köklendirme aşamasında agarla katılaştırılmış LS (Linsmaier Skoog) besin ortamı kullanılmış ve 4.0 mM IBA ilave edilen besin ortamındaki M26 sürgünlerinin hepsi köklenmiştir. M9 anacında ise en yüksek köklenme oranı (%80) 12.0 mM IBA içeren besin ortamından elde edilmiştir (Alvarez vd.1989).

Jonagold ve Golden Delicious elma çeşitlerinde yapılan çalışmalarda *in vitro* köklendirme aşamasında, agarla katılaştırılmış modifiye MS besin ortamı kullanılarak, IBA'nın farklı konsantrasyonlarının (1.0, 1.5 ve 2.0 mg/l) köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. En yüksek köklenme oranı,2.0 mg/l IBA içeren besin ortamından elde edilmiştir (Petrovic 1991).

Hedelfinger ve Sam kiraz çeşitlerinin, *in vitro* köklendirme çalışmalarında, agarla katılaştırılmış, modifiye MS besin ortamı kullanılarak IBA, NAA ve IAA'nın köklenme üzerine etkileri incelenmiş ve köklenme üzerine en etkili oksinin IBA olduğu görülmüştür. Normal olarak zor köklendiği belirtilen kiraz çeşitlerinde, bu çalışmada ortalama %90 oranında köklenme elde edilmiştir. Sam çeşidi bütün IBA konsantrasyonlarında (0.5, 0.75, 1.0 mg/l) yüksek oranda köklenirken, Hedelfingen çeşidinde 1.0 mg/l IBA en yüksek köklenme oranını (%95) vermiştir (Paul ve Feucht 1985).

Schattenmorelle vişne çeşidinde, agarla katılaştırılmış MS besin

ortamına IBA, NAA ve IAA ilave edilerek yapılan *in vitro* köklendirme denemelerinde, bu oksinlerin ve farklı konsantrasyonlarının köklenme oranı ve kök kalitesi üzerine etkileri incelenmiştir. 1.0 mg/l IBA ve NAA içeren besin ortamlarında köklenme oranı en yüksek olmuştur. NAA köklenmeyi hızlandırırken kallus oluşumunu artırmıştır. Buna karşın IBA içeren ortamda daha az kallus oluşumu görülmüş fakat köklenme hızı daha yavaş olmuştur. Morfolojik olarak en iyi kök oluşumu ise IAA içeren besin ortamında görülmüştür (Poniedzialek vd.1987a).

Paradox ceviz (*Juglans hindisii* x *J.regia*) anacının mikro çoğaltım çalışmalarında köklenme aşamasında IBA ve NAA'nın (0.1-50 mM) köklenme üzerine etkileri, agarla katılaştırılmış WPM (Wody Plant Medium) besin ortamı kullanılarak incelenmiştir. Sonuç olarak, 30 mM IBA'dan daha az olan konsantrasyonlarda köklenme görülmemiş ve 30 mM IBA'dan fazla olan konsantrasyonlarda ise aşırı kallus oluşumu teşvik edilmiştir. En iyi köklenme (%70 oranında) 30 mM IBA içeren besin ortamından elde edilmiş ve köklü bitkiciklerin dış koşullara adaptasyon çalışmaları başarılı olmuştur. 3 mM NAA içeren besin ortamında ise %80 oranında köklenme elde edilmesine karşın köklü bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonu sağlanamamış ve yapılan mikroskopik incelemeler sonucunda, oluşan kökler ile sürgün arasında iletim borularında eksiklik olduğu görülmüştür (Driver vd.1984).

Ortam kuvvetinin köklenme üzerine etkileri

Köklendirme ortamının kimyasal yapısının köklenme üzerinde oldukça önemli bir etkiye sahip olduğunu gösteren pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda mikrosürgünler, ya sürgün çoğaltımında kullanılan kuvvetli besin ortamlarından (MS gibi) daha az kuvvette, (Knop, White gibi) ya da sürgün çoğaltımında kullanılan besin ortamının kuvvetinin azaltıldığı (1/2, 1/4 vb.) köklendirme ortamlarına transfer edilmişlerdir (George ve Sherrington 1984).

McComb ve Benett (1982), mikrosürgünlerin köklendirilmesinde 1/4 MS makroelementlerini içeren besin ortamının, tam (1/1) kuvvette besin

ortamına göre daha iyi sonuç verdiğini, fakat kalsiyum klorür (CaCl_2) miktarının yarı ($1/2$) düzeyinde tutulması gerektiğini belirtmektedirler (George ve Sherrington 1984). Tripathi (1971) köklenme için nispeten yüksek kalsiyum (Ca) ve azota gerek olduğunu ve Stoiner (1971) ise kalsiyumun bitki dokusundan besin ortamına oksin akışını önlediğini belirtmişlerdir (Nemeth 1986). Buna karşın besin ortamında kalsiyum miktarının artırılmasının, kiraz, erik ve ayvada köklenmede etkili olmadığı da belirtilmektedir (Nemeth 1986).

Skirvin vd.'ne (1980) göre Stanley erik çeşidinde mikrosürgünlerin köklenmesi, $1/2-1/8$ MS ve $1/2-1/8$ White besin ortamlarında, tam kuvvetteki besin ortamlarına göre daha kolay ve daha hızlı olmuş ve köklenme aşamasında, ortam kuvvetinin azaltılması, bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonunda da kolaylık sağlamıştır (Druart ve Gruselle 1986).

8 Ayır şeftali çeşidinde yapılan *in vitro* köklendirme çalışmalarında, agarla katılaştırılmış $1/2$ MS besin ortamında köklenmenin daha iyi olduğu gözlenmiştir. Aynı besin ortamında oksin olarak NAA, IBA ve IAA'ya göre köklenmede daha iyi sonuç vermiştir (Hammerschlag ve Bauchan 1986).

Embriyo kültürü ile elde edilen şeftali ve erik mikrosürgünlerinin köklendirilmesinde agarla katılaştırılmış yarı kuvvette ($1/2$) makro ve mikroelementlerini içeren MS besin ortamı daha etkili olmuş ve en yüksek köklenme oranları bu besin ortamında 2.5-5.0 mM IBA'dan elde edilmiştir (Mante 1990).

Sömling kirazı ve Viktor vişnesinde yapılan çalışmalarında, MS temel besin ortamındaki N ve K içeriklerinin $1/4$ oranında azaltılması, sadece makroelementleri $1/2$ oranında azaltılmış besin ortamına göre köklenme üzerinde daha etkili olmuştur. Bu içerikteki agarla katılaştırılmış besin ortamına 2.0 mg/l IBA ilave edildiği zaman Sömling çeşidinde %87, Viktor çeşidinde ise %43 oranlarında köklenme elde edilmiştir (Kühne 1988).

Myrobalan (*Prunus cerasifera*), Marianna (*P.cerasifera* x *P.munsonianna*) ve Brumpton (*P.domestica*) anaçlarında yapılan *in vitro* köklendirme çalışmalarında, agarla katılaştırılmış $1/2$ MS besin ortamı kullanılmıştır. En yüksek köklenme oranları, Brumpton ve Myrobalan'da 0.5 mg/l

NAA içeren, Marianna'da ise 0.5 mg/l IBA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. Her üç anacın köklü bitkicikleri dış koşullara alıştırıldıktan sonra bahçeye dikilmişler ve o yıl kayısı ve şeftali ile aşılantmışlardır (Nedelcheva 1986).

d'Agen erik çeşidi ve 707 erik klonunda *in vitro* köklendirme aşamasında agarla katılaştırılmış ve sadece makro ve mikroelementleri 1/2 oranında azaltılmış MS besin ortamı kullanıldığında ve ortama 0.8 mg/l IBA ilave edildiğinde sürgünlerin hepsinde köklenme görülmüştür (Bassi 1984).

Bir başka erik çeşidi olan Santa Rosa'da yapılan benzer çalışmada agarla katılaştırılmış 1/2 MS makro ve mikroelementlerini içeren besin ortamı kullanılmış ve en yüksek köklenme oranları (%80-100), 0.2-0.5 mg/l IBA veya 0.2 mg/l NAA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. Köklenmiş bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonu da başarılı olmuştur (Marino 1984).

Gala, Royal Gala, Jonagold elma çeşitlerinde yapılan *in vitro* köklendirme çalışmalarında, agarla katılaştırılmış 1/2 MS besin ortamı kullanılarak sadece NH_4NO_3 'ün farklı kuvvetlerinin (1/1, 1/2, 1/4, 0) köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Besin ortamına oksin olarak 2.0 mg/l IBA ilave edilmiştir. 1/4 kuvvetinde NH_4NO_3 içeren MS besin ortamında, Gala ve Royal Gala çeşitlerinde köklenme oranı (%88 ve 80) ve kök sayısı (5.4 ve 4.2) artarken, Jonagold çeşidinde azalmıştır. Jonagold çeşidinde ise en yüksek köklenme oranı (%92) ve kök sayısı (3.3), NH_4NO_3 içermeyen besin ortamından elde edilmiştir. Buna karşın besin ortamında NH_4NO_3 'ün bulunmaması her üç çeşitte de sürgün kalitesini düşürmüştür. Aynı çalışmada, besin ortamına NH_4NO_3 'ün ilave edilmediği ortamlarda, KNO_3 'ün farklı kuvvetlerinin (1/1, 1/2, 0) köklenme üzerine etkileri de incelenmiştir. Her üç çeşit için de en yüksek köklenme oranı (Gala ve Royal Gala'da %100, Jonagold'da ise %96) ve kök sayıları (Gala'da 8.5, Royal Gala'da 6.7, Jonagold'da ise 5.7), NH_4NO_3 'ün bulunmadığı ve tam (1/1) kuvvette KNO_3 içeren besin ortamından elde edilmiştir (Sriskandarajah vd.1990).

Üç elma klonu ((Pi-A-16,8a), (Pi-A-17,4b), (Pi-Au-9-1b)) üzerinde yapılan mikroçoğaltım çalışmalarında köklenme aşamasında, agarla katılaştırılmış 1/2 ve 1/4 MS makroelementlerini içeren besin ortamı kullanılmıştır. Köklenme

üzerine 1/2 MS makroelementlerini içeren besin ortamı her üç klon için de daha etkili olmuş ve en yüksek köklenme oranları (%78-83) bu besin oksin ortamına 3.0 mg/l IBA ilave edildiği zaman elde edilmiştir (Kühne 1988).

Sıvı besin ortamının köklenme üzerine etkileri

Sıvı besin ortamı köklenme ve kök gelişmesi bakımından olumlu bir etki gösterirken bazı Prunus türlerinde olduğu gibi vitrifikasyona da neden olmaktadır.

Yiev ve Liav'a (1977) göre agarla katılaştırılmış besin ortamında yetersiz havalanma nedeni ile oluşan köklerde saçak kök oluşumu engellenebilmektedir. Bu nedenle filtre kağıtları ile desteklenmiş sıvı besin ortamında, kök oluşumunun ve oluşan köklerin büyümesi ile birlikte saçak kök oluşumunun da arttığı belirtilmektedir (George ve Sherrington 1984).

Şeftali için anaç olarak kullanılan Lovel ve Nemaguard'da yapılan köklendirme çalışmalarında, KNO_3 ve $(NH_4)_2SO_4$ miktarları yarı kuvvetinde (1/2) azaltılan AP(Almehdi ve Parfitt) sıvı besin ortamı kullanılmıştır. En yüksek köklenme oranı (%70) 9.0 mg/l IBA içeren ortamdaki elde edilmiş ancak oluşan köklerin gelişmesi zayıf olmuş ve köklü bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonunda başarı sağlanamamıştır. Buna karşın yine aynı besin ortamında kontrolde %20 oranında köklenme elde edilmiş ve köklü bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonunda %100 başarı sağlanmıştır (Almehdi ve Parfitt 1986).

Pikan (*Carya illinoensis*) üzerinde yapılan çalışmalarda da köklenme aşamasında sıvı besin ortamı kullanılmıştır. Mikrosürgünler 1.0, 3.0 ve 10.0 mg/l IBA içeren 1.0 ml sıvı WPM besin ortamına yerleştirildikten sonra kültürlerin yarısı 6. ve diğer yarısı da 10. günden sonra filtre kağıtları ile desteklenmiş oksin içermeyen WPM ortamına transfer edilmişlerdir. Denemenin sonunda en yüksek köklenme oranı (%93), 1.0 ve 3.0 mg/l IBA içeren ortamlardan 6. ve 10. günde oksinsiz ortama transfer edilen kültürlerden elde edilmiştir (Hansen 1984).

Aktif kömürün köklenme üzerine etkisi

Köklenme aşamasında, besin ortamına belirli dozlarda aktif kömür ilave edildiği zaman farklı türlerde sürgünlerin daha hızlı kök oluşturdıkları ve kök oluşumundan sonra da kök büyümesinin sağlandığı belirtilmektedir. Bu etki, aktif kömürün besin ortamını karartması ve oksin veya inhibitör maddeleri absorbe etmesinden kaynaklanmaktadır (George ve Sherrington 1984).

Yüksek dozlarda ilave edilen aktif kömür bazen köklenme bakımından engelleyici de olabilmektedir. Nemeth (basılmamış tez) ayva ve erik mikrosürgünlerini 500 mg/l aktif kömür ilaveli modifiye Quoirin-Lepoivre besin ortamında kültüre aldığıında, aktif kömürün, köklenme oranını ve kök sayısını azalttığını; Rosati vd.(1990) ve Snir (1983) aktif kömürün kiraz ve erik mikrosürgünlerinin sararmasına neden olduğunu; Weatherland vd.'de (1979) aktif kömürün besin ortamındaki toksik maddeleri absorbe ettiğini belirtmektedirler (Nemeth 1986).

May Fair nectarin çeşidi ve yaribodur şeftali seleksiyonu olan IF 7010200 E'de yapılan köklendirme çalışmalarında agarla katılaştırılmış 1/2 MS makroelementlerini içeren besin ortamına ilave edilen 3.0 g/l aktif kömürün köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuçta aktif kömür, değişik uygulamaların (farklı oksin konsantrasyonlarında, 1 hafta ön karartma uygulamasında ve farklı sıcaklık uygulamalarında) yapıldığı denemelerde köklenmeyi her iki çeşitte de engellemiştir (Antonelli ve Chiariotti 1988).

Kapuli armut çeşidinde yapılan çalışmada, 1.0-5.0 mg/l IBA içeren agarla katılaştırılmış farklı içerikteki besin ortamına 50 mg/l aktif kömür ilave edilmiş ve aktif kömürün köklenme oranını önemli düzeyde düşürdüğü, fakat nitelikli sürgün oranını artırdığı saptanmıştır. Aktif kömürsüz ortamda en fazla köklenme oranı (%74.7), 3.0 mg/l IBA'dan elde edilirken aktif kömürlü ortamda ise en fazla köklenme oranı 2.0 mg/l IBA'dan elde edilmiştir (Dradi ve Biondi 1991).

Kestane (*Castanea sativa* Mill.) mikrosürgünlerinin köklendirilmesinde agarla katılaştırılmış 1/2 MS besin ortamına % 0.5 aktif kömür ilave edilmiştir.

Aktif kömürlü besin ortamında %10-50 oranları arasında köklenme elde edilmiş ve oluşan kökler iyi gelişmiş, kök sayısı 1 ile 2 arasında olmuştur. Aktif kömür içermeyen besin ortamında ise köklenme olmamıştır (Mullins 1987).

Ön karartma uygulamalarının köklenme üzerine etkileri

Yapılan birçok çalışmalarda köklenmesi zor olan Prunus, Malus ve Cydonia gibi cinslerin *in vitro* köklendirme aşamasında kültürleri karanlıkta tutmanın faydalı olduğu görülmüştür (Druart ve Gruselle 1986).

Standardi vd.(1978), Prunus cinsine giren farklı türlerin köklendirilmesinde, kültürleri ilk 5 gün karanlıkta tuttukdan sonra normal aydınlık koşula çıkartılması ile köklenme oranının arttığını ve bunun ışığın niteliğine bağlı olduğunu belirtmektedirler. Druart vd.(1982) ise elmada, farklı ışık rejimlerini sürgün uzama ve köklenme aşamalarında deneyerek, karanlık rejiminin köklenme hızı ve kök sayısını artırdığını gözlemlemişlerdir (Nemeth 1986). Pierik (1972) ışığın kök oluşumunu engelleyen bileşikler artırdığını (George ve Sherrington 1984), Boxus ve Quoirin (1974) ise ışığın köklenmede inhibitör olduğunu belirtmektedirler (Nemeth 1986).

Erik ve Şeftali anacı olan St. Julien A (*Prunus insitita*) mikrosürgünleri köklenme öncesi sürgün boylarının uzatılması için 12.5 mg/l GA₃ içeren agarla katılaştırılmış, modifiye 1/2 MS besin ortamına dikilmişlerdir. Daha sonra bu mikrosürgünler GA₃ içermeyen aynı içerikteki besin ortamına transfer edilerek karartma uygulamasının köklenme üzerine etkileri oksinlerle birlikte incelenmiştir. Karartma yapılmayan normal kültür koşullarında(16 saat aydınlık-8 saat karanlık) tutulan kültürlerde ışığın köklenmeyi engellediği görülmüş ve en iyi köklenme karartma yapılan kültürlerde ve 4.0 mg/l IBA içeren besin ortamından elde edilmiştir. Mikrosürgünlere köklenme öncesi uygulanan GA₃ ise sürgün ucu kurumalarına ve mikrosürgünlerin sararmasına neden olmuştur(Reeves vd.1985).

Nektarin çeşidi olan May Fair ve yarı bodur şeftali seleksiyonu olan IF 7010200E'nin *in vitro* köklenme aşamasında agarla katılaştırılmış 1/2 MS-

makroelementlerini içeren besin ortamı kullanılarak farklı sıcaklıklarda (22°C ve 5°C) kültürleri 1 hafta karanlıkta tutmanın, oksinlerle birlikte köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. 1 Hafta karanlık koşulda tutulan kültürler sonra normal aydınlatmalı koşullara (16 saat aydınlık-8 saat karanlık) çıkartılmışlardır. İlk olarak IBA'nın farklı dozlarını (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 mg/l) içeren besin ortamındaki kültürler 22°C'de 1 hafta karanlık koşulda tutulmuşlardır. Denemenin sonunda May Fair çeşidinde en yüksek köklenme oranı (%65), 0.5 ve 1.0 mg/l IBA içeren besin ortamlarından elde edilirken, IF 7010200E'de hiçbir ortamda köklenme elde edilememiştir. Sonra sadece May Fair mikrosürgünleri IAA (0.5, 1.0, 2.5, 5.0 ve 7.0 mg/l), IBA(0.1, 0.5, 1.0 mg/l) ve NAA (0.01, 0.05, 0.1 ve 0.5 mg/l) içeren besin ortamlarına dikilip, 5°C'de (normal kültür koşulları gece 15°C, gündüz 25°C), 1 hafta karanlık koşulda inkübe edilmişlerdir. Bu koşullarda May Fair çeşidinde bütün ortamlarda köklenme görülmüş fakat bu kez en yüksek köklenme oranları (%85 ve üstü) 0.5 mg/l NAA veya 2.5 mg/l IAA içeren besin ortamlarından elde edilmiştir. Kültürlerin soğuklatılması ile köklenmenin daha kolay ve daha iyi olduğu görülmüş ve sıcaklık, oksin ve konsantrasyonlarına bağlı olarak köklenmede etkili olmuştur (Antonelli ve Chiariotti 1988).

Şeftalide (*P.persica* L.) mikroçoğaltım çalışmalarında, normal aydınlık koşulun, (16 saat aydınlık-8 saat karanlık ve ışık şiddeti 60 uE m⁻².s⁻¹), köklendirme ortamının karartılmasının (kültür kabının dışı ortam yüzeyine kadar siyaha boyanmış ve kültür kabının içindeki ortamın yüzeyi steril polycarbonate tozları ile kaplanmış) köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Denemelerde 1/2 BN (Bourgin ve Nitsch) makroelementlerini ve 1.5 mg/l IBA içeren agarla katılaştırılmış besin ortamı kullanılmıştır. Bu çalışmanın sonunda şeftalide köklenme için karanlık uygulamasının gerekli olmadığı görülmüş ve en yüksek köklenme oranı normal aydınlık koşulda inkübe edilen kültürlerden elde edilmiştir (Rugini vd.1988).

İki erik çeşidi olan Maissner Honigpflaume ve Czar, erik ıslah klonu ((Pi-P-21,3(R)), Sömling vişne çeşidi ve Viktor kiraz çeşidi üzerinde yapılan *in vitro* köklendirme denemelerinde ışık faktörünün köklenme üzerine etkisini

incelemek amacı ile kültürlerin yarısı normal (16 saat aydınlık-8saat karanlık ve 1700-2500 lüx ışık şiddetinde) aydınlatmalı koşulda kültüre alınmışlardır. Diğer yarısı ise önce 8 gün karanlıkta tutulmuş sonra normal aydınlatma koşuluna çıkartılmışlardır. Denemelerde agarla katılaştırılmış üç farklı ortam denenmiştir (1/2 MS-makroelementleri + 2.0 mg/l IBA + 0.1mg/l GA₃; 1/2 MS-makroelementleri + 0.5 mg/l NAA + 0.5 mg/l GA₃; MS (1/4 N + 1/4 K) + 2.0 mg/l IBA). Denemelerin sonunda her iki erik çeşidinde 8 gün karanlık koşulda bırakma etkili olmuş ve en yüksek köklenme oranları birinci ortamdan elde edilmiştir. Maissner Honigpflaume normal aydınlatmada %16, karanlık koşulda %63; Czar çeşidi ise normal aydınlatmada %32, karanlık koşulda %63 oranlarında köklenme vermiştir. Kiraz ve vişnede de karanlık koşul köklenme üzerinde etkili olmuş ve en iyi köklenme karanlık koşul ile birlikte üçüncü ortamda görülmüştür. Vişnede normal aydınlıkta %40, karanlık koşulda %43; Kirazda ise normal aydınlıkta %87, karanlıkta %100 oranlarında köklenme elde edilmiştir. Bu deneme serisi içinde erik ıslah klonu istisna oluşturmuş, ışık şiddeti ve besin ortamı bakımından özel ihtiyaç göstermemiş ve her üç besin ortamında da normal aydınlık ve karanlık koşullarda %90'ın üstünde köklenme görülmüştür (Kühne vd.1988).

Myrobolan erik çeşidinde yapılan mikroçoğaltım çalışmalarında köklendirme aşamasında 2.5, 5.0, 10.0 mg/l IAA veya bunlarla birlikte 0.1 mg/l GA₃ içeren agarla katılaştırılmış MS besin ortamları kullanılmıştır. Mikrosürgünler bu besin ortamlarına dikildikten sonra iki gruba ayrılmışlardır. 1. Grup normal aydınlatmalı koşulda tutulmuş (16 saat aydınlık-8 saat karanlık), 2. grup 2 hafta karanlık koşuldan sonra normal aydınlatmalı koşula çıkartılmışlardır. Denemenin sonunda 2.5 mg/l IAA ve 0.1 mg/l GA₃ veya 5.0 mg/l IAA içeren besin ortamlarındaki kültürlerde karanlık koşulda %100 oranında köklenme görülmüştür. Normal aydınlatmalı koşulda bulunan kültürlerde ise bütün ortamlarda köklenme oranları çok düşük olmuştur (Hammerschlag 1982).

Quetsch'e (*P. domestica*) erik çeşidinde köklenme aşamasında 2.0 mg/l IBA içeren agarla katılaştırılmış MS besin ortamı kullanılarak karanlık

koşulun köklenme üzerine etkilerini incelemiştir. Kùltürler 7, 9 ve 12 gün karanlıkta inkübe edildikten sonra 16 saat aydınlık-8saat karanlık periyoduna geçirilmişlerdir. 7 ve 9 gün karanlık koşulda tutulan kùltürlerin hepsinde kök oluşumu görülmüştür. Karanlık koşul kök sayısında da artışa neden olmuştur (Druart ve Gruselle 1986).

Bir başka erik çeşidi olan Pixy'de (*P.insitita*) yapılan çalışmalarda, ilk 7 gün karanlık koşulda inkübe edildikten sonra 16 saat aydınlık-8 saat karanlık periyoduna çıkartılan kùltürlerin hepsinde köklenme görülmüştür. Karanlık uygulaması kök sayısını artırırken kök uzunluklarını azaltmıştır (Druart ve Gruselle 1986).

S1 Ayva klonunda (*Cydonia oblonga* Mill.) yapılan çalışmada ise agarla katılaştırılmış WPM besin ortamı kullanılmış ve kùltürler ilk 5 gün karanlık koşulda tutuldukları zaman köklenme görülmüştür (Orlikowska 1989).

Mikroçelik uygulamaları

Mikroçeliklerin, belirli sürelerde oksin solüsyonu içine daldırılıp sonra oksinsiz besin ortamına dikilmesi köklenme üzerinde etkili olabilmektedir. Örneğin; Abbot ve Whitely (1976), elma mikroçeliklerini 0.1 mg/l -10.0 mg/l IBA, NAA veya IAA içeren besin ortamlarında kùltüre aldıklarında köklenme elde edememişlerdir. Buna karşın elma mikroçeliklerini, 15 dakika 1.0 mg/l IBA solüsyonuna daldırdıktan sonra agarla katılaştırılmış veya filtre kağıtları ile desteklenmiş sıvı besin ortamlarında kùltüre aldıklarında ise köklenme elde etmişlerdir (George ve Sherrington 1984).

Abate Fetel, Guyot, Precoce Morettini armut çeşitlerinde yapılan çalışmalar da köklenme aşamasında, mikroçelikler 0.05, 0.5, 2.5 ve 5.0 mM IBA solüsyonlarına birer dakika daldırıldıktan sonra agarla katılaştırılmış, oksin içermeyen modifiye MS besin ortamına dikilmişlerdir. En yüksek köklenme oranları Abate Fetel ve Guyot çeşitlerinde 5.0 mM IBA'da (%83 ve 75), Precoce Morettini çeşidinde ise 0.5 mM IBA'da (%70) görülmüştür (Rodriguez ve Diaz-Sala 1991).

Çeşitli armut anaçlarında (*Pyrus amygdaliformis*, *P.callaryana* ve *P.betulaefolia*), armut çeşitlerinde (*P.communis* L. cvs. Seckel ve Anjou) ve Quince A'da (*Cydonia oblonga* L.) yapılan bir seri köklendirme çalışmalarında mikroçelik uygulamaları da yapılmıştır. Mikroçelikler, 10 mM IBA solüsyonuna 15 dakika daldırıldıktan sonra agarla katılaştırılmış ve NH_4NO_3 ve KNO_3 miktarları yarı kuvvetinde (1/2) azaltılmış oksinsiz MS besin ortamına dikilmişlerdir. Mikroçelik uygulamasından bir ay sonra armutlarda %70 ile 97, Quince A'da ise %17 oranında köklenme elde edilmiştir (Dolcet-Sanjuan ve Machteld 1990).

Qugnoe ve Chernomorskoe Letneey elma çeşitlerinde, mikrosürgünler, 100 mg/l IAA veya IBA solüsyonlarına 6 saat daldırıldıktan sonra agarla katılaştırılmış oksinsiz 1/2 MS makro ve mikroelementlerini içeren besin ortamına dikilmişlerdir. Kültürler ilk 7 gün karanlıkta inkübe edildikten sonra 16 saat aydınlık -8 saat karanlık periyoduna çıkartılmışlardır. Denemenin sonunda kültürlerin %60'ında köklenme elde edilmiştir (Kataeva ve Butenko 1987).

Fındıkta (*Corylus avellana* L.) embriyo kültürü ile veya yaşlı ağaçlardan alınan yan tomurcuklardan elde edilen mikroçeliklerin köklendirilmesi çalışmalarında agarla katılaştırılmış 1/2 K(h) besin ortamı kullanılmıştır. Köklendirilecek mikroçelikler 1.5 g/l IBA solüsyonuna 10 dakika daldırıldıktan sonra oksin içermeyen besin ortamına dikilmişlerdir. 20 Gün sonra embriyo kültürü ile elde edilen mikroçeliklerde %75, yaşlı ağaçlardan alınan yan tomurcuklardan elde edilen mikroçeliklerde ise %50 oranında köklenme görülmüştür. Köklü bitkiciklerin dış koşullara adaptasyon çalışmasında ise bitkiciklerin %85'i normal gelişmesine devam etmiştir (Perez vd.1987).

Cevizde yapılan çalışmada ise köklenme aşamasında mikroçelikler 15'er dakika NAA (0.5-10.0 mM) ve IBA (0.1-10.0 mM) solüsyonlarına daldırıldıktan sonra vermikulitle desteklenmiş WPM sıvı besin ortamına dikilmişlerdir. En yüksek köklenme oranı (%30) 10.0 mM IBA solüsyonuna daldırılan mikrosürgünlerden elde edilmiştir. NAA'da ise sadece 0.5 mM solüsyonunda köklenme görülmüş ve köklenme oranı %30'dan daha az olmuştur (Heile -Sodhold vd.1986).

Kestane hibritleri olan (*Castanea sativa* x *Castanea crenefa*) T13 ve

413'de yapılan *in vitro* köklendirme çalışmalarında mikroçelik uygulamaları yapılmıştır. Çalışmada iki ayrı besin ortamı kullanılmıştır. Birinci ortam NO_3 miktarı 1/4 kuvvetinde azaltılmış 1/2 kuvvetinde MS ortamı, ikinci ortam ise 1/2 kuvvetinde L (Lepoivre 1977) ortamıdır. T13 ve 413 mikroçelikleri 1.0 g/l IBA solüsyonuna 2 dakika daldırıldıktan sonra agarla katılaştırılmış ve oksin içermeyen bu ortamlara dikilmişlerdir. Birinci ortamda T13 %40 ve 413 % 73, ikinci ortamda ise T13 %27 ve 413 %47 oranlarında köklenme göstermiştir. Ayrıca 413 mikroçelikleri daha düşük (0.5 mg/l) IBA solüsyonuna 15 dakika daldırıldıktan sonra birinci ortama dikilmişler ve köklenme oranı bu kez %65 olmuştur (Vieitez ve Vieitez 1983).

Mullins (1987), kestanelerde (*Castanea sativa* Mill.) yaptığı *in vitro* köklendirme çalışmalarında mikroçelik uygulamaları yapmıştır. Mikroçelikleri 1.0 mg/l IBA solüsyonuna 2 dakika daldırdıktan sonra agarla katılaştırılmış %0.5 aktif kömür içeren oksinsiz 1/2 MS besin ortamına dikmiştir. Bu durumda kültürlerde %90 oranında köklenme elde edilmiş ve ortalama kök sayısı 5 olmuştur. Ancak köklenmiş bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonunda başarı sağlanamamıştır.

Yaralamanın köklenme üzerine etkileri

Gerek geleneksel çelikle köklendirme ve gerekse *in vitro* köklendirme çalışmalarında çelik veya mikroçeliklerin bazal kısmında yapılan yaralama köklenme oranını, hızını ve kök sayısını artırabilmektedir.

Black Tartarian, Bing, Royal Ann vişne çeşitlerinde, mikrosürgünlerin bazal kısmına yapılan yaralamanın köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Denemede agarla katılaştırılmış, 1.0 mg/l IBA veya 0.5 mg/l NAA içeren makro ve mikroelementleri 1/2 oranında azaltılmış MS besin ortamı kullanılmıştır. Yaralama yapılan ve yaralama yapılmayan mikrosürgünler bu besin ortamına dikilmişlerdir. Sonuç olarak yaralama yapılan mikrosürgünlerde köklenme oranı ve kök sayısı yaralama yapılmayanlara göre daha fazla olmuştur. Yaralama yapıldığında Black Tartarian çeşidinde 0.5 mg/l NAA'da %90, 1.0 mg/l IBA'da

%87, yaralama yapılmadığı durumlarda ise sırasıyla %80 ve %62 oranlarında köklenme elde edilmiştir. Yaralama uygulaması yapılan Bing ve Royal Ann çeşitlerinde ise köklenme oranları 0.5 mg/l NAA veya 1.0 mg/l IBA'da %100'e ulaşmıştır (Snir 1982).

Kanino kayısı çeşidinde yapılan köklendirme çalışmalarında da mikrosürgünlerin bazal kısmına yaralama yapılmış ve yaralama ile köklenme oranı artmıştır. Mikrosürgünlerin bazal kısmında 5 mm yaralama yapılarak agarla katılaştırılmış, 0.5 mg/l NAA içeren 1/2 MS besin ortamına dikilmişlerdir. Bir hafta sonra köklenme başlamış ve iki hafta sonra da %70-90 oranlarında köklenme elde edilmiştir (Snir 1984).

Oksinli ortamdan oksinsiz besin ortamına transferin köklenme üzerine etkileri

Bazı mikroçoğaltım çalışmalarında, köklendime ortamında bulunan oksinlerin köklenmeyi uyarması etkisi yanında, kök ve sürgün gelişmesini engelleyici etkileride gözlenmektedir. Bu nedenle kök oluşumundan sonra mikrosürgünlerin oksin içermeyen besin ortamına transferleri önerilmektedir (George ve Sherrington 1984).

Feucht ve Dausend'de (1982), Prunuslarda kök oluşumu için önce yüksek dozda oksin sonrada düşük dozda oksin içeren besin ortamına transferi önermektedirler (Kühne vd.1988).

Schattenmorelle vişne mikrosürgünlerinin köklendirilmesinde agarla katılaştırılmış MS besin ortamı kullanılarak besin ortamına 2.0 veya 5.0 mg/l IAA ilave edilmiştir. Mikrosürgünler bu besin ortamlarına dikildikten üç gün sonra oksin içermeyen besin ortamına transfer edildiklerinde köklenme oranı ve kök uzunlukları artmıştır (Poniedzialek 1987b).

Sumadinka (*P.cerasus* L.) vişne çeşidinde yapılan mikroçoğaltım çalışmasında, mikrosürgünler ilk 10 gün için 1.0 mg/l IBA içeren agarla katılaştırılmış MS besin ortamına dikilmişler sonra da oksinsiz besin ortamına transfer edilmişlerdir. Denemenin sonunda bu uygulama ile %88 oranında

köklenme elde edilmiş ve köklenmiş bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması aşamasında da bitkilerin %90'ı hayatta kalabilmiştir (Cerovic ve Ruzic 1987).

Springcrest ve Suncrest şeftali çeşitlerinde mikrosürgünler agarla katılaştırılmış 0.15 mg/l NAA içeren 1/2 MS besin ortamına dikildikten 3 gün sonra oksinsiz besin ortamına transfer edilmişlerdir. Transferden 3 hafta sonra kültürlerin hepsinde köklenme görülmüş ve köklü bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonu da başarılı olmuştur (Ognjanov ve Vujanic-Varga 1991).

Abete Fetel, Guyot, Prece Morettini mikrosürgünleri köklenme aşamasında, IBA veya NAA içeren (5, 10 ve 30 mM) agarla katılaştırılmış modifiye MS besin ortamına dikilmişlerdir. Kültürler 10 gün karanlıkta inkübe edildikten sonra 16 saat aydınlık-8 saat karanlık gün uzunluğu periyoduna çıkartılmaları ile birlikte aynı zamanda agarla katılaştırılmış oksinsiz 1/2 MS besin ortamına transfer edilmişlerdir. Denemenin sonunda en yüksek köklenme oranları Abete Fetel için 5 mM IBA'dan (%65), Guyot için 10 mM IBA veya NAA'dan (%50), Precace Morettini için ise 5 mM IBA'dan elde edilmiştir. Karanlık uygulaması kök oluşumunda etkili olmuştur. Köklenmede oksin ve konsantrasyonları arasında büyük bir farklılık görülmemiş ancak IBA kök oluşumunu kallus oluşturmada teşvik etmiştir (Rodriguez ve Diaz-Sala 1991).

Çeşitli armut anaçlarında (*Pyrus amygdaliformis*, *P.calleryana*, *P.betulaefolia*), armut çeşitlerinde (*P.communis* L.cvs. Seckel ve Anjou) ve Quince A'da (*Cydonia oblonga* L.) yapılan çalışmalarda köklenme aşamasında agarla katılaştırılmış ve NH_4NO_3 ve KNO_3 miktarları yarı kuvvetinde (1/2) azaltılmış MS besin ortamı kullanılmıştır. Armutlarda en yüksek köklenme oranı (%80-97) 10 mM veya 32 mM IBA içeren, Quince A'da ise en yüksek köklenme oranı (%97) 5 mM NAA içeren besin ortamına dikilen mikrosürgünlerin bir hafta sonra oksinsiz besin ortamına transfer edilmesi ile elde edilmiştir (Dolcet-Sanjuan vd.1990).

Bakteri inokülasyonu

Dikotiledon bitkilerin pek çoğunda saçak kök hastalığına neden olduğu bilinen virulent *Agrobacterium rhizogenes* bakterisi bir çok türün (zeytin, elma, badem, antep fıstığı vb.) *in vitro* köklenme aşamasında köklenmenin uyarılması için kullanılmaktadır. Bu amaçla virulent olan *A. rhizogenes*, mikrosürgünlerin kesim yüzeyine, yaralama yapılarak ve yaralama yapılmadan, ya bakteri koloni inokülasyonu ya da mikrosürgünlerin bakteri hücre süspansiyonuna daldırılması şeklinde uygulanmaktadır. Moore vd. (1979), White ve Nester'e (1980) göre *A. rhizogenes* inoküle edilen bitki için virulent ise plazmid (Ri)'nin köklenmeyi uyaran bir parçası inoküle edilen bitkiye geçer (Patena vd.1988). T-DNA olarak da isimlendirilen bu parça, White vd.'e (1985) göre bitki genomuna eklenir ve bitki ile bütünleşir (Patena vd.1988). Petit vd.'ne (1983) görede *A. rhizogenes*'in bitki dokularına geçişi opine olarak isimlendirilen yeni bileşiklerin üretimi ile karakterize edilir (Patena vd.1988). Bu bileşikler bitkinin genomuna eklenen plazmid DNA'nın ürettiği enzimler tarafından sentezlenir. Bu bileşiklerin (opines) meydana gelmesi transformasyon oluşumunun kuvvetli delili olarak kabul edilir. Ne bakteri ne de bitki dokuları transferden önce opine üretemezler (Patena vd.1988).

Yaklaşık 4 yıl *in vitro* koşullarda muhafaza edilmiş Golden Delicious elmasının çok zor köklenen alt kültürlerinde köklenmenin uyarılması için *A. rhizogenes*'in 4 hattı (R 1000, 178xA4T, A4 ve 232) denenmiştir. Kök oluşumu ise sadece iki bakteri hattında (A4 ve 232) elde edilmiştir. Kök oluşumunda koloni inokülasyonunun, süspansiyon kültürlerinden daha etkili olduğu görülmüştür (Patena vd.1988).

Zeytin (Maraiolo ve Dolce Agogia) mikrosürgünlerinin *in vitro* köklendirilmesinde *A. rhizogenes*'in NCPPB 1855 hattı kullanılmıştır. Mikrosürgünlerin kesim yüzeyine yaralama yapılarak bakteri koloni inokülasyonu yapılmış ve bu mikrosürgünler agarla katılaştırılmış oksinsiz 1/2 MS besin ortamına dikilmişlerdir. Denemenin sonunda kültürlerin yaklaşık %45'inde köklenme elde edilmiştir (Ruguni 1992).

Bademde yapılan köklendirme çalışmaları

Bademde doku kültürü çalışmalarına 1970'li yıllarda başlanılmıştır. Bademde bugüne kadar yapılan doku kültürü çalışmalarından elimizde bulunan literatür verileri incelenerek köklendirme ile ilgili bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

Bademin kallus kültürleri ile çoğaltılması konusunda, kök, hipokotil, gövde kısımları ve sürgün uçları ve yaprak parçaları farklı ortamlarda kültüre alındığında kallus oluşumu ve bu kalluslardan organogenesis sağlanmıştır. Oluşan kalluslar, 5 ppm NAA ve 1.0 g/l casein hidrolizat içeren MS besin ortamına alındıkları zaman yaprak parçalarından, gövde kısımlarından, sürgün uçlarından, embriyodan, hipokotilden ve kotiledonlardan elde edilen kalluslarda farklı oranlarda (%10-78) kök farklılaşması görülürken, kök kısımlarından elde edilen kalluslarda kök farklılaşması görülmemiştir. En fazla kök farklılaşması (%78 oranında) kotiledonlardan elde edilen kalluslarda görülmüştür. Oluşan kökler kalın, beyazımsı veya yeşilimsi renkte ve saçak köklerden yoksun olmuştur (Mehra ve Mehra 1974).

Şeftali badem hibriti olan 0607'de yapılan mikroçoğaltım çalışmalarında, köklenme aşamasında az miktarda köklenme elde edilmiştir. Agarla katılaştırılmış ve IBA'nın bulunduğu MS besin ortamında 10 tüpten 2'sinde kök oluşumu görülürken, NAA'nın (1.0 mg/l) bulunduğu besin ortamında ise 5 tüpten 2'sinde köklenme elde edilmiştir. Diğer taraftan mikrosürgünler, oksinsiz vermikulitle desteklenmiş sıvı besin ortamına dikildiğinde 10 tüpten 1'inde köklenme görülmüş ve oluşan kökün gelişmesi kuvvetli olmuştur (Tbachnik ve Kester 1977).

Fascionello, Tuono ve M55 badem çeşitlerinde yapılan köklendirme çalışmalarında, agarla katılaştırılmış ve makroelementleri yarı kuvvette (1/2) azaltılmış BN (Bourgin ve Nitsch) ortamına 1.0 mg/l NAA ilave edilerek, normal aydınlık (16 saat aydınlık-8 saat karanlık), 10 gün ön karanlıktan sonra normal aydınlık koşullara çıkartmanın ve köklenme ortamının karartılmasının (kültür kabının dışı ortam yüzeyine kadar siyaha boyanmış ve kültür kabının içindeki besin ortamının yüzeyi steril polycarbonate tozları ile kaplanmış) köklenme

üzerine etkileri incelenmiştir. En yüksek köklenme oranları besin ortamının karartılması ile elde edilmiş ve Fascionello çeşidinde %85, M55 çeşidinde %72 ve Tuono çeşidinde ise %54 oranlarında köklenme görülmüştür. Besin ortamının karartılması ile kök sayısı yüksek (2.3-3.4) ve sürgün gelişimi de iyi olmuştur. 10 Gün karanlık uygulamasında ise Fascionello çeşidinde %83, M55 çeşidinde %40 ve Tuono çeşidinde ise %24 oranlarında köklenme elde edilmiş ve kök sayıları da (1.1-2.6) ortam karartması yapılan uygulamaya göre düşük olmuştur. Aynı zamanda 10 gün ön karanlık uygulaması yapılan kültürlerde yaprak sararmaları ve yaprak dökülmeleri görülmüştür. Normal aydınlık koşulda inkübe edilen kültürlerde ise Tuono ve M55 çeşitlerinde hiç köklenme elde edilemezken Fascionello çeşidinde %68 oranında köklenme görülmüştür (Rugini vd.1988).

Farragnes badem çeşidinde yapılan mikroçoğaltım çalışmalarında köklenme aşamasında, mikrosürgünler 1.0 mg/l NAA, IBA veya IAA içeren agarla katılaştırılmış ve makroelementleri yarı kuvvetinde (1/2) azaltılmış BN besin ortamına dikildikten 14 gün sonra oksinsiz ve vermikulitle desteklenmiş sıvı besin ortamına transfer edilmişlerdir. Kültürler sıvı besin ortamına transfer edilmeden önce 14 gün karanlıkta inkübe edilmişler ve sıvı besin ortamına transferle birlikte 16 saat aydınlık-8 saat karanlık periyot koşuluna çıkartılmıştır. Denemenin sonunda NAA'nın bulunduğu ortamdaki %54, IBA'nın bulunduğu ortamdaki ise %36 oranında köklenme elde edilirken IAA'dan ise hiç köklenme görülmemiştir. Sıvı besin ortamı kök gelişmesinde etkili olmuştur. Aynı çalışmada ayrıca, mikrosürgünler ilk 4 gün için 1.0 mg/l NAA içeren agarla katılaştırılmış aynı içerikteki besin ortamına dikilmişler sonra 0.7 mg/l IAA içeren agarla katılaştırılmış besin ortamını transfer edilmişlerdir. Bu uygulamada da kültürler 14 gün karanlıkta inkübe edilmişlerdir. Denemenin sonunda %57 oranında köklenme elde edilmiş ve kök gelişmesi zayıf olmuştur (Rugini ve Verma 1983). Aynı çeşit üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise 1.0 mg/l NAA içeren agarla katılaştırılmış BN besin ortamında sürekli karanlık koşulda %70 oranında köklenme elde edilmiştir (Rugini 1984).

Tuono badem çeşidinde köklenmenin uyarılması için yapılan bir çalışmada da mikrosürgünlerin bazal kısmına *Agrobacterium rhizogenes*

inokülasyonu yapılmış ve bu mikrosürgünler agarla katılaştırılmış oksinsiz besin ortamına dikilmişlerdir. Denemenin sonunda %50 oranında köklenme görülmüştür (Rugini 1984).

Bir başka çalışmada da Fascionello badem çeşidinde köklenmenin teşvik edilmesi için mikrosürgünlerin bazal kısmına *A.rhizogenes* NCPPB 1955 hattı inoküle edilmiştir. Bakteri inoküle edilen mikrosürgünler putrasin içeren agarla katılaştırılmış 1/2 MS besin ortamına dikilmişlerdir. Besin ortamına ilave edilen putrasin inoküle edilen bakterilerin gelişmesini artırmıştır. Denemenin sonunda %20 oranında köklenme elde edilmiş ve köklü bitkiler saksılara şaşırtıldığında, dış koşullara adaptasyonu ise %90 oranında başarılı olmuştur. Saksılara şaşırtılmış bitkilerde 6 ay sonra yapılan incelemelerde, oksinli ortamda köklendirilip saksılara şaşırtılan bitkilerdeki kök gelişimine göre, bakteri inokülasyonu yapılarak köklendirilmiş ve saksılara şaşırtılmış bitkilerdeki kök gelişiminin daha iyi olduğu saptanmıştır (Rugini 1992).

3. MATERYAL VE METOD

Araştırma 1991-92 yılları arasında Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Araştırmada bitkisel materyal olarak Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama Bahçe sinde yetiştirilmekte olan *Prunus amygdalus* Batsch. türüne ait Nonpareil ve Texas badem çeşitleri kullanılmıştır. Bu çeşitlerden ilkbaharda alınan sürgün uçları kültüre alınmış ve sürgün çoğaltma aşamasında (proliferasyon) yapılan alt kültürlerden elde edilen 1.0-1.5 cm uzunluğundaki mikrosürgünlerle köklendirme denemeleri kurulmuştur.

3.2. Metod

3.2.1. Besin ortamlarının hazırlanması

Araştırmada, MS (Murashige ve Skoog 1962) besin ortamı esas alınmıştır. Ancak mikrosürgünlerin elde edilmesi için yapılan sürgün ucu kültürlerinde ve mikrosürgünlerin köklendirilmesi için kurulan denemelede MS besin ortamının fiziksel yapısı ve ortam kuvveti amaç doğrultusunda ilgili yerlerde belirtildiği gibi değiştirilmiştir.

MS besin ortamlarının hazırlanmasında %100 saf kimyasal maddelerle hazırlanan stok çözeltilerden yararlanılmıştır. Sürgün ucu kültürlerinde ve köklendirme denemelerinde hazırlanan besin ortamlarının pH'sı agar (Merc) ve sakkaroz (Merc) katılmadan önce 1 N sodyum hidroksit (NaOH) ve 1 N hidroklorik asit (HCl) ile 5.5' e ayarlanmış, ortam kaynamaya başlamadan önce agar ve sakkaroz eklenmiştir. Bu şekilde hazırlanan besin ortamları, tüplere 10'ar

ml, erlanmayerlere ise 100'er ml konularak ağızları alüminyum folye veya cam kapaklarla kapatılmış ve 121 °C'de 10 (tüpler için) veya 15 (erlanmayerler için) dakika süreyle otoklavda sterilize edilmiştir.

3.2.1.1. Sürgün ucu kültürleri için besin ortamlarının hazırlanması

Sürgün ucu kültürlerinde, agarla katıştırılmış tam kuvvetinde MS makro ve mikroelementleri ile vitaminlerini içeren besin ortamları kullanılmıştır. Bu ortamlarda ilk dikim (establiment), şaşırtma (transfer) ve çoğaltma (proliferasyon veya multiplication) aşamalarında Karvar ve Gülşen (1990) tarafından daha önce saptanan en uygun sakkaroz, agar, oksin (IBA) ve stokinin (BAP) konsantrasyonları ile pH düzeyleri esas alınmıştır (Çizelge 3.1). Her üç aşamada da besin ortamlarına 0.1 mg/l GA₃ ilava edilmiştir.

Kültür kabı olarak ilk dikim aşamasında 16.0 x 1.5 cm boyutlarında cam deney tüpleri, şaşırtma aşamalarında ise 250 ml'lik erlanmayerler kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Sürgün ucu kültürlerinde ilk dikim, şaşırtma ve çoğaltma aşamalarında kullanılan sakkaroz, agar, IBA, BAP konsantrasyonları ve pH düzeyleri (Karvar ve Gülşen 1990)

Kültür Aşamaları	Sakkaroz (%)	Agar (%)	IBA (mg/l)	BAP (mg/l)	pH
İlk dikim	6.0	0.5	0.1	1.0	5.5
Şaşırtma	6.0	0.7	0.1	1.0	5.5
Çoğaltma	3.0	0.7	0.1	1.0	5.5

3.2.1.2. Köklendirme denemeleri için besin ortamlarının hazırlanması

Köklendirmede etkili olabilecek faktörler dikkate alınarak kurulan denemelerde farklı fiziksel yapıda ve kuvvette MS besin ortamları kullanılmıştır. Besin ortamlarında yapılan değişiklikler aşağıda verilen köklendirme denemelerinde ayrı ayrı belirtilmiştir. Köklendirme denemelerinin hepsinde besin ortamlarına sitokinin (BAP) ilave edilmemiş ve besin ortamlarının hazırlanmasında, çoğaltma aşamasında (proliferasyon veya multiplication) kullanılan sakkaroz, agar (sıvı besin ortamları hariç) miktarları ile pH düzeyleri esas alınmıştır. Ayrıca ilgili yerlerde belirtilmedikçe köklendirme ortamlarına 0.1 mg/l GA₃ ilave edilmiştir.

3.2.2. Kültür koşulları

Sürgün çoğaltma ve köklendirme aşamalarında kültürler, sıcaklığı 25 ± 1 °C, aydınlatma süresi 16 saat ve ışık şiddeti 2200 lüks olan tek bir kültür geliştirme odasında yetiştirilmişlerdir. Dikim işlemlerinden sonra kültür kaplarının ağız kısımları alimünyum folye veya cam kapaklar ile kapatıldıktan sonra şeffaf folye ile sarıldığı için kültür geliştirme odasında nem kontrolü yapılmamıştır.

3.2.3. Sürgün ucu kültürlerinin kurulması

3.2.3.1. Sürgün uçlarının dezenfeksiyonu

Nonpareil ve Texas çeşitlerinden ilkbaharda, sürgünlerin aktif gelişme döneminde 10-15 cm uzunluğundaki sürgünlerin 4-6 cm'lik uç kısımları kesilip alınmış ve laboratuvarında mikroorganizma yoğunluğunu azaltmak için önce çeşme suyu ile yıkanmışlardır. Sonra saf su ile yıkanan sürgün uçları 1.0-1.5 cm uzunluğunda kesilerek, laminar hava akışlı steril kabinde, içerisinde 1-2 damla Tween 20 bulunan 100 ml'lik (25 sürgün ucu için) %20'lik sodyum hipoklorit

(%10'luk ticari solüsyon) içinde 10 dakika süre ile dezenfekte edilmişlerdir. Sonra 4 kez 5'er dakika steril saf su ile çalkalanarak dezenfektandan arındırılmıştır (Karvar ve Gülşen 1990).

Dezenfekte edilmiş sürgün uçları, laminar hava akışlı kabin içine yerleştirilen binoküler dissection mikroskop altında steril filtre kağıtları üzerinde açılarak, 4-5 yaprak taslağı içeren yaklaşık 2-4 mm büyüklüğündeki sürgün uçları kesilerek alınmıştır. Bu şekilde hazırlanan explentler, içerisinde 10 ml steril besin ortamı bulunan 16.0 x 1.5 cm boyutlarındaki cam deney tüplerine dikilmişlerdir.

Dikim işlemlerinden sonra alüminyum folye ile kapatılan kültür kaplarının (tüp ve erlanmayer) ağız kısımları şeffaf folye ile sarılmış ve kültürler ışık ve sıcaklığı kontrol edilen kültür geliştirme odasında gelişmeye bırakılmışlardır.

3.2.3.2. Mikrosürgünlerin çoğaltılması

İlk dikim aşamasında dikimi yapılan explentler 3 hafta sonra enfeksiyon ve explent gelişmesi yönünden kontrol edilerek enfeksiyonlu, ölmüş ve aşırı kallus oluşturmuş explentleri içeren kültürler ayrılmıştır. Sağlıklı ve iyi gelişen kültürlerdeki explentler, kesim yüzeyinde oluşan kallusların temizlenmesi için, kesim yüzeyinde yaklaşık 1 mm kalınlığında kesimler yapılarak, içerisinde 100 ml steril şaşırtma ortamı bulunan 250 ml'lik erlanmayerlere 5'er adet dikilmişlerdir.

Şaşırtma ortamına transfer edilen sürgün veya sürgün demetleri 3 hafta sonra gelişme yönünden kontrol edilerek sararan explentler ayrılmış ve sağlıklı gelişen ve proliferasyon gösteren sürgünler, kesim yüzeyinde oluşan kalluslar ve alt kısımda bulunan sararmış yaşlı yapraklar temizlendikten sonra 2 veya 3'lü sürgün demetleri halinde parçalanarak içerisinde 100 ml steril çoğaltma ortamı bulunan 250 ml'lik erlanmayerlere 5'er adet dikilmişlerdir.

Köklendirme denemelerinde kullanılacak materyalin sağlanması için, çoğaltma ortamında 1'er aylık aralıklarla alt kültürler yapılmıştır. İlk yıl Nonpareil, ikinci yıl Texas çeşidinde 5. alt kültürlerden elde edilen

mikrosürgünlerle köklendirme denemeleri kurulmuştur.

3.2.4. Köklendirme denemelerinin kurulması

Köklendirme denemelerinde IBA, NAA ve IAA'nın farklı konsantrasyonlarının köklenme üzerine etkileri esas alınmıştır. Ayrıca MS besin ortamının fiziksel yapısı ve kuvvetinin, ön karartmanın (10 gün karartmadan sonra 16 saat aydınlık-8 saat karanlık), aktif kömürün, mikroçelik uygulamalarının, yaralamanın, oksinli ortamdan oksinsiz ortama transferin ve *Agrobacterium rhizogenes* inokülasyonunun köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla aşağıdaki denemeler kurulmuştur.

3.2.4.1. Agarla katılaştırılmış ve kağıt köprülerle desteklenmiş sıvı TMS besin ortamlarında oksin uygulamaları

Çalışmalarımıza ilk olarak bu deneme ile başlanılmış ve Nonpareil çeşidinin mikrosürgünleri ile kurulmuştur. Sıvı ve agarla katılaştırılmış MS besin ortamlarında 0.0, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/l IBA, NAA veya IAA'nın köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Besin ortamına ilave edilecek oksin konsantrasyonlarının belirlenmesinde literatür verileri (Tabachnik ve Kester 1977, Rugini ve Verma 1983, Rugini 1984, Rugini vd.1988) dikkate alınmıştır.

Sıvı besin ortamlarında kağıt köprülerin hazırlanmasında 9 cm çapında filtre kağıtları kullanılmıştır. Filtre kağıtlarına, 2.5 cm çapında olan cam deney tüplerinin içine girecek şekilde koni şekli verilmiştir. Tüplerin içerisine 10'ar ml sıvı besin ortamı konulduktan sonra hazırlanmış filtre kağıtları besin ortamı ile temas etmeyecek şekilde tüplerin içerisine yerleştirilerek, tüplerin ağız kısımları cam kapaklarla kapatılmış ve otoklavda sterilize edilmiştir. Dikimden önce kağıt köprüler, alt ucu tüpün tabanına temas edinceye kadar pensetle itilmiş ve bu durumda filtre kağıtları ile besin ortamı arasında bir miktar hava boşluğu kalmıştır. Mikrosürgünler filtre kağıdının üstünde oluşan çukurluğa dik duracak şekilde yerleştirilerek dikilmişlerdir (Şekil 3.1).

Bu deneme 5. alt kültürlerden elde edilen mikrosürgünlerle 2 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her bir deneysel ünite de 10 tüp bulundurulmuştur. Kültür kabı olarak 16.0 x 2.5 cm boyutlarında cam deney tüpleri kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Kağıt köprü ve perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamları.

3.2.4.2. Agarla katılaştırılmış ve perlitle desteklenmiş sıvı

TMS, YMS, TM ve YM besin ortamlarında oksin uygulamaları

İlk yıl Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış ve perlitle desteklenmiş sıvı TMS (1/1 MS makroelementleri, mikroelementleri ve vitaminleri), YMS (1/2 MS makroelementleri, mikroelementleri ve vitaminleri), TM (1/1 MS makroelementleri) ve YM (1/2 MS makroelementleri) besin ortamlarında 0.0, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/l IBA, NAA ve IAA'nın köklenme üzerine etkileri incelenmiştir.

Perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamında orta incelikte (0.2-0.8 mm) perlit (Munsuz vd.1982) kullanılmıştır. Tüplerin içerisine konulacak perlit

miktarını belirlemek için 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 ve 4.0 g perlit tartılarak 16.0 x 2.5 cm boyutlarındaki cam tüplere doldurulup üzerine 10 ml su ilave edilmiştir. Tüplerin ağız kısımları cam kapaklarla kapatıldıktan sonra şeffaf folye ile sarılarak 1 gün bekletilmiştir. 1. Günün sonunda perlitli ortamlara mikrosürgünler dikilmişler ve 1.5 ve 2.0 g perlit konulan tüplerde, ortamda fazla suyun olmasından dolayı perlitin, mikrosürgünler için yeterli destek sağlayamadığı, 3.0 ve 4.0 g perlit konulan tüplerde ise dikim işleminin zor ve tüpün alt kısmında su miktarının olmadığı görülmüştür. 2.5 g perlit konulan tüpe ise hem dikimin kolay olduğu hem de tüpün alt kısmında 2-3 mm yüksekliğinde su bulunduğu görülerek, 10 ml besin ortamı için en uygun perlit miktarının 2.5 g olduğuna karar verilmiştir (Şekil 3.1).

Bu denemeler 6. alt kültürlerden elde edilen mikrosürgünlerle 2 tekerrürlü olarak kurulmuş ve her bir deneysel üniteye 5 tüp bulundurulmuştur. Kültür kabı olarak 16.0 x 2.5 cm boyutlarında cam deney tüpleri kullanılmıştır.

İkinci yıl Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamları kullanılmış ve besin ortamına 0.0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 mg/l IBA ve NAA ilave edilmiştir.

3.2.4.3. Agarla katılaştırılmış TMS, TM ve YM besin ortamlarında aktif kömür, ön karartma ve oksin uygulamaları

İlk yıl Nonpareil, ikinci yıl Texas çeşidi ile kurulan bu denemelerde 50 mg/l aktif kömür (Merc) içeren ve aktif kömür içermeyen besin ortamları kullanılarak, 10 günlük ön karartma uygulamasının köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Kültürler, sıcaklığı 25 ± 1 °C, aydınlatma süresi 16 saat ve ışık şiddeti 2200 lüks olan kültür geliştirme odasına yerleştirilerek 2 gruba ayrılmıştır. 1. Grup, sürekli olarak 16 saat aydınlık-8 saat karanlık koşulda inkübe edilmiştir. 2. Grup kültürler ilk 10 gün siyah polietilen torbalar içine alınarak karanlıkta tutulmuş, sonra tekrar aydınlık-karanlık koşula geçirilmiştir.

Bu denemede, Nonpareil çeşidinde, 0.0, 0.1, 0.5, 1.0 mg/l IBA, NAA veya IAA içeren agarla katılaştırılmış TMS besin ortamı kullanılmıştır. Texas

çeşidinde ise agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamı kullanılarak, besin ortamlarına 0.0, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/l konsantrasyonlarında sadece IBA ilave edilmiştir.

Bu deneme Nonpareil çeşidinde 5., Texas çeşidinde ise 6. alt kültür mikrosürgünleri ile 2 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Ancak Nonpareil çeşidinde her bir deneysel üniteye 10, Texas çeşidinde ise 5 tüp bulundurulmuştur. Her iki çeşitte kültür kabı olarak 16.0 x 1.5 cm boyutlarında cam deney tüpleri kullanılmıştır.

3.2.4.4. Mikroçelik uygulamaları

Bu deneme ilk yıl Nonpareil çeşidinde, ikinci yıl Texas çeşidinde yürütülmüştür.

Mikroçelik uygulamalarında kullanılan IBA solüsyonları steril ölçü balonları, 5 ve 10 ml'lik steril pipet ve ölçü silindiri, steril saf su ve absolü etil alkol (%99.5) kullanılarak laminar hava akışlı steril kabin içerisinde hazırlanmıştır. Hazırlanan IBA solüsyonlarında hacmin yarısını etil alkol diğer yarısını ise steril saf su oluşturmuştur.

Nonpareil çeşidinde mikroçelikler 0, 1000, 2000 ve 3000 ppm IBA solüsyonlarına 1'er ve 2'ser dakika, ayrıca 3000 ppm IBA solüsyonuna, yaralama yapılarak ve yaralama yapılmadan 5 saniye daldırılıp agarla katılaştırılmış oksin ve GA₃ içermeyen TMS besin ortamına dikilmişlerdir. Yaralama yapılan mikroçelikler, kesim yüzeyinden gövdeye doğru bistüri ucuyla 2-3 mm kesim yapılarak hazırlanmışlardır.

İkinci yıl Texas çeşidinde mikroçelikler 0,1000 ve 2000 ppm IBA solüsyonlarına 1'er ve 2'ser dakika daldırılarak oksin ve GA₃ içermeyen agarla katılaştırılmış ve perlitle desteklenmiş (2.5 g/tüp) sıvı TMS besin ortamlarına dikilmişlerdir. Ayrıca bu çeşitte sadece agarla katılaştırılmış oksinsiz MS besin ortamı kullanılarak mikroçeliklere 5 saniye süre ile uygulanan 0, 250, 500, 4000 ve 8000 ppm IBA'nın köklenme üzerine etkileri denenmiştir. Besin ortamına GA₃ ilave edilmemiştir.

Mikroçelik denemeleri her iki çeşitte de 5. alt kültürlerden elde edilen mikroçeliklerle iki tekerrürlü olarak kurulmuş ve Nonpareil çeşidinde her bir deneysel üniteye 10, Texas çeşidinde ise 7 tüp bulundurulmuştur. Kültür kabı olarak Nonpareil çeşidinde 16.0 x 1.5 cm, Texas çeşidinde ise 16.0 x 2.5 cm boyutlarında cam tüpler kullanılmıştır.

3.2.4.5. Oksinli ortamdan oksinsiz besin ortamına transfer uygulaması

Nonpareil çeşidinde yapılan bu denemede oksinli ortamdan oksinsiz besin ortamına transfer uygulamasının kök gelişmesi üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla mikrosürgünler, 1.0 mg/l IBA içeren agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültürler üç gruba ayrılmış ve birinci grup kültürler 4. günde, ikinci grup kültürler 8. günde oksinsiz agarla katılaştırılmış besin ortamına transfer edilmişlerdir. Üçüncü grup kültürler ise kontrol olarak sürekli oksinli ortamda bırakılmışlardır.

Bu deneme, Nonpareil çeşidinde 7. alt kültürlerden elde edilen mikrosürgünlerle kurulmuş ve her bir uygulama 2 tekerrürlü olarak yürütülmüş ve her bir deneysel üniteye 10 tüp bulundurulmuştur. Kültür kabı olarak 16.0 x 1.5 cm boyutlarında cam deney tüpleri kullanılmıştır.

3.2.4.6. *Agrobacterium rhizogenes* inokülasyonu

Bakteri inokülasyonunun yapıldığı denemelerde, bakteri olarak literatürlerde (Rugini 1984, Rugini 1992, Patena vd.1988) köklenmeyi teşvik ettiği belirtilen *Agrobacterium rhizogenes*'in yabani hattı (A4) kullanılmıştır.

Bakteri uygulamaları Nonpareil ve Texas çeşitlerinde mikrosürgünlerin bazal kısmında 2-3 mm yaralama yapılarak ve yaralama yapılmadan bakteri koloni ve bakteri süspansiyonu olmak üzere iki şekilde uygulanmıştır. Bakteri koloni inokülasyonu, agar yüzeyinde gelişen bakterilerin bistüri ucuyla alınıp yaralama yapılmayan mikrosürgünlerin kesim yüzeyine, yaralama yapılan sürgünlerin ise hem kesim yüzeyine ve hem de yaralama yapılan

yerlere sürülmesi şeklinde yapılmıştır. Bakteri süspansiyonu uygulamasında ise mikrosürgünler (yaralama yapılan ve yapılmayan) hücre süspansiyon kültürüne (10^8 hücre solüsyonu) 5 saniye daldırılmışlardır. Her iki uygulamalardan sonra mikrosürgünler agarla katılaştırılmış oksin ve GA_3 içermeyen tam kuvvetli TMS besin ortamına dikilmişlerdir.

Bu deneme her iki çeşitte de ikinci yıl 5. alt kültürlerden elde edilen mikrosürgünlerle 2 tekerrürlü olarak kurulmuş ve herbir deneysel üniteye 5 tüp bulundurulmuştur. Kültür kabı olarak 16.0 x 2.5 cm boyutlarında cam tüpler kullanılmıştır.

3.2.5. Yapılan gözlemler ve değerlendirme parametreleri

Köklendirme denemelerinin kurulmasından hemen sonra her gün kültürler kontrol edilerek köklenme başlangıcı kaydedilmiştir. Köklenme başlangıcı görülen kültürlerde 2'şer günlük aralıklarla denemenin sonuna kadar gözlemler yapılmıştır. Denemelere köklenme hızlarına göre 30-35 gün süre tanınmış ve köklenme ile ilgili değerlendirmeler, aşağıdaki parametreler esas alınarak yapılmıştır.

3.2.5.1. Köklenme başlangıcı

Dikimi izleyen günlerde her bir uygulamaya ait kültürlerde her gün gözlemler yapılarak ilk kök oluşumları izlenmiş ve köklenen kültür sayıları belirlenmiştir. Köklenme başlangıcı görüldükten sonra 2'şer gün ara ile kontroller yapılarak, köklenme hızı köklenen kültür oranları (%) ile saptanmıştır.

Kağıt köprüler ve perlitle desteklenen sıvı besin ortamlarında kesim yüzeyleri görülmediği için köklenme başlangıçları izlenememiştir.

3.2.5.2. Köklenme oranı

Köklendirme denemelerinin sonunda, köklenen sürgünler sayılmış ve

köklendirmeye alınan sürgün sayılarına göre yüzde (%) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.5.3. Kök sayısı

Köklendirme denemelerinin sonunda, köklenen sürgünlerde kökler sayılmış ve köklenen bitki sayısına bölünerek ortalama kök sayıları saptanmıştır (kök sayısı / köklenen sürgün).

3.2.5.4. Kök uzunluk düzeyi

Köklü sürgünlerde kökler, kök uzunlukları dikkate alınarak incelenmiş ve 5 ayrı grup halinde rakamsal olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Kök uzunluk düzeyinin belirlenmesinde kullanılan kök uzunlukları

Kök gelişme düzeyi	Kök uzunlukları (cm)
1.Çok kısa	≤ 0.5
2.Kısa	0.6 - 1.0
3.Orta	1.1 - 2.0
4.Uzun	2.1 - 3.0
5.Çok uzun	> 3.0

3.2.5.5. Köklerde kuru madde miktarı

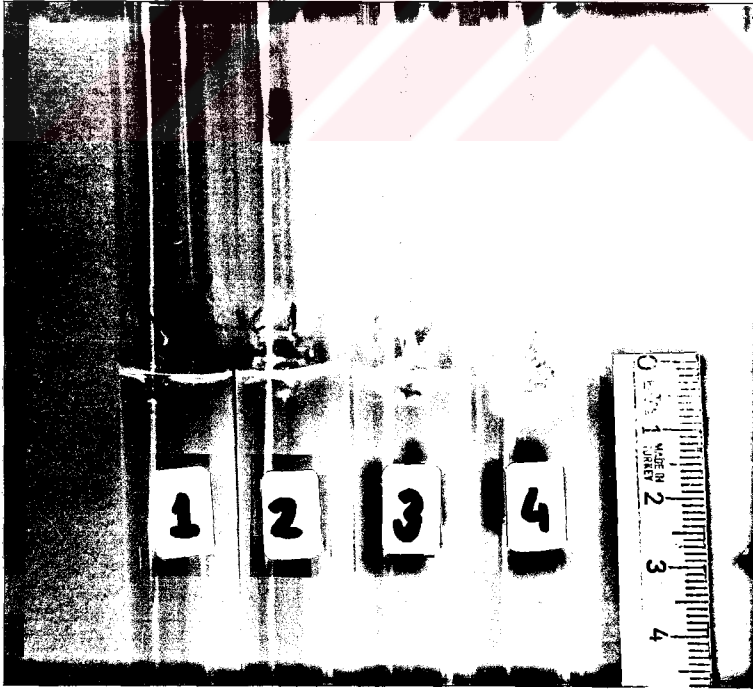
Herbir köklü sürgünden kesilen köklerin, önce darası alınan alüminyum folye üzerinde hassas terazide tartılarak yaş ağırlıkları belirlenmiş ve sonra bunların Kacar'a (1972) göre sıcaklığı 70°C'ye ayarlanmış bir etüvde ağırlık sabit kalana kadar tutulması (12 saat) ve tartılması ile kuru ağırlıkları saptanmıştır. Elde edilem değerlerle de köklerin ortalama (toplam kuru madde / köklenen sürgün) yüzde (%) kuru madde miktarları hesaplanmıştır.

3.2.5.6. Kallus oluşum düzeyi

Sürgünlerin kesim yüzeyinde oluşan kalluslar kallus çapı dikkate alınarak incelenmiş ve kallus oluşumu 5 ayrı grup halinde rakamsal olarak değerlendirilmiştir. (izelge 3.3 ve Şekil 3.2).

Çizelge 3.3. Kallus oluşum düzeyinin belirlenmesinde kallus çapları

Kallus oluşum düzeyi	Kallus apı (mm)
0.Yok	0
1.Az	1 -2
2.Orta	2.1 - 4
3.Çok	4.1 - 6
4.Çok fazla	> 6



Şekil 3.2. Kallus oluşum düzeyleri.

3.2.5.7. Verilerin değerlendirilmesi

Denemeler "Tesadüf parselleri" deneme desenine göre 2 tekerrürlü olarak kurulmuş ve herbir deneysel ünite de herbir deneme için ilgili yerle de belirtilen sayıda tüp bulundurulmuştur. Deneme sonuçları, köklenme başlangıcı, köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları bakımından incelenmiştir. Uygulamalar arasında köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları bakımından farklılık bulunup bulunmadığı varyans analizi yapılarak %5 hata sınırları içinde F testi ile belirlenmiştir. Ortaya çıkan önemli farklılıklar Duncan testi ile %5 hata sınırı esas alınarak saptanmış ve farklı gruplar çizelgelerde harfler yardımı ile belirtilmiştir.

Nonpareil çeşidinde mikroçelik uygulamalarının yapıldığı köklendirme denemelerinin dışında, diğer denemelerde kontrollerde köklenme elde edilememiştir. Bu nedenle kontroller varyans analizine katılmamış ve uygulamalar kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

Köklenme oranlarında aç, kök sayılarında ise karakök transformasyonu yapılmış ve varyans analizlerinde transformasyon değerleri kullanılmıştır.

4. SONUÇLAR

Başlangıçta bütün köklendirme denemelerinin Nonpareil ve Texas çeşidinde paralel olarak yürütülmesi düşünülmüşse de, Texas çeşidinde 3. alt kültürlerden itibaren bakteriyel enfeksiyon çıkması nedeni ile bu gerçekleştirilememiş ve köklendirme denemeleri ilk yıl sadece Nonpareil çeşidinde kurulabilmiştir.

Nonpareil çeşidinde yapılan ilk yıl köklendirme denemelerinden elde edilen sonuçlar doğrultusunda ikinci yıl hem Texas ve hem de Nonpareil çeşitlerinde yeni köklendirme denemelerinin kurulması amaçlanmıştır. Bu amaçla 1992 yılı ilkbahar gelişme döneminde her iki çeşitte de sürgün ucu kültürleri kurulmuş fakat bu kez Nonpareil çeşidinde çoğaltma aşamasında aşırı vitrifikasyon ortaya çıkmıştır. Vitrifikasyonu önleyici yöntemler (agar düzeyinin artırılması, inkübasyon sıcaklığının düşürülmesi vb.) denenmişse de denemeler için yeterli sayıda sürgün elde edilememiştir. Bu nedenle 2. yıl bakteri inokülasyonu dışında köklendirme denemeleri sadece Texas çeşidinde yapılabilmektedir.

Denemelere başlamadan önce, tez gerekçesinde belirtildiği gibi köklendirme ortamlarının ve köklendirme uygulamalarının sürgün gelişmesi üzerine etkilerinin; sürgün rengi, yaprak sayısı, sürgün boyu, yaprak gelişme düzeyi, sürgünlerin yaş ve kuru ağırlıkları bakımından ayrı ayrı incelenmesi düşünülmüştür. Ancak yapılan denemelerde köklendirme ortamına alınan mikrosürgünlerde yukarıda belirtilen parametrelerin incelenmesine olanak sağlayacak düzeyde bir gelişme olmamıştır. Ayrıca mikrosürgünlerin pek çoğunda yapraklarda sararmalarla birlikte yaprak dökülmeleri ve yaprak koltuklarında beyaz kallus oluşumları gözlenmiştir. Bu nedenle sadece köklenme ile ilgili parametreler incelenebilmiş, sürgün rengi ve gelişmesi ise gözlemsel olarak değerlendirilmiştir.

4.1. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış ve Kağıt Köprülerle Desteklenmiş Sıvı TMS Besin Ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri

Kağıt köprülerle desteklenmiş sıvı besin ortamında hiçbir oksin konsantrasyonunda köklenme elde edilememiş ve birinci hafta içinde kültürlerin hepsinde sararma başlamış ve sonraki günlerde yaprak koltuklarında kallus oluşumu ile birlikte yaprak dökülmeleri, mikrosürgünlerin kağıt köprüyle temas eden bazal kısımlarında da beyaz veya kahverengi kallus oluşumları görülmüştür.

Agarla katılaştırılmış besin ortamında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme üzerine etkileri farklı olmuştur.

Köklenme başlangıcı en geç NAA uygulamalarında görülmüştür (Çizelge 4.1). En erken köklenme ise 13. günde 0.1, 0.5 mg/l IBA ve 1.0 mg/l IAA (%5'er) konsantrasyonlarında başlamıştır (Çizelge 4.1)

Çizelge 4.1. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme başlangıcı ve hızı üzerine etkileri (%)

Dikimden sonraki gün sayısı	IBA (mg/l)			NAA (mg/l)			IAA (mg/l)		
	0.1	0.5	1.0	0.1	0.5	1.0	0.1	0.5	1.0
13	5	5	0	0	0	0	0	0	5
15	10	10	15	0	10	0	0	5	5
17	10	10	15	5	10	5	0	10	10
19	20	10	25	5	20	10	0	10	10
21	20	10	30	5	20	10	0	10	15

İstatistiksel değerlendirme sonucunda köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk ve kallus düzeyleri bakımından oksin konsantrasyonları arasındaki farklılık ve ayrıca oksin x konsantrasyon interaksiyonu %5 düzeyde önemli bulunmuştur. Oksinlerden en erken köklenme başlangıcı gösteren IBA, NAA ve IAA'ya göre köklenme oranını önemli düzeyde artırmıştır. NAA ve IAA'nın etkileri farklı bulunmamıştır.

Köklenme başlangıcında en etkili oksin olan IBA, Köklenme oranı bakımından da en etkili olmuştur. En yüksek köklenme %30 oranında 1.0 mg/l IBA'dan elde edilirken, bunu %20 köklenme oranı ile 0.1 mg/l IBA ve 0.5 mg/l NAA izlemiş ve bunlar arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1). 0.1 mg/l IAA'da ise hiç köklenme elde edilememiştir.

Kök sayısı üzerine oksinler farklı bir etki yapmamıştır. En etkili konsantrasyon 1.0 mg/l olmuş ancak 0.5mg/l ile aralarındaki farklılık önemli bulunmamıştır. En fazla kök sayısı (4.0) en erken köklenme başlangıcı ve en yüksek köklenme oranı (% 30) elde edilen 1.0 mg/l IBA'dan ve en geç köklenme başlangıcı görülen ve köklenme oranı (%10) düşük olan 1.0 mg/l NAA'dan elde edilmiştir. En az kök sayısı (1.0) ise 0.1 mg/l NAA'da görülmüştür (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1).

Kök uzunluk düzeyi bakımından oksinler arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. En etkili konsantrasyon 0.5 mg/l ve sonra 1.0 mg/l olmuş ve aralarındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Her ne kadar en etkili konsantrasyon 0.5 mg/l olmuş ise de en fazla kök uzunluk düzeyi (2.3) 0.1 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. IBA, NAA ve IAA'nın 0.5 mg/l konsantrasyonlarında ise kök uzunluk düzeyleri 2.0 olmuştur (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2).

Kallus düzeyi bakımından oksinler arasındaki farklılık önemli görülmemişse de, IBA ve NAA'da kallus düzeyi IAA'ya göre yüksek olmuştur. Her üç oksinde de konsantrasyonun artması ile kallus düzeyleri de artmıştır. En fazla kallus düzeyi (3.6) 1.0 mg/l IBA ve en az kallus düzeyi (1.0) ise 0.1 mg/l IBA ve IAA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2).

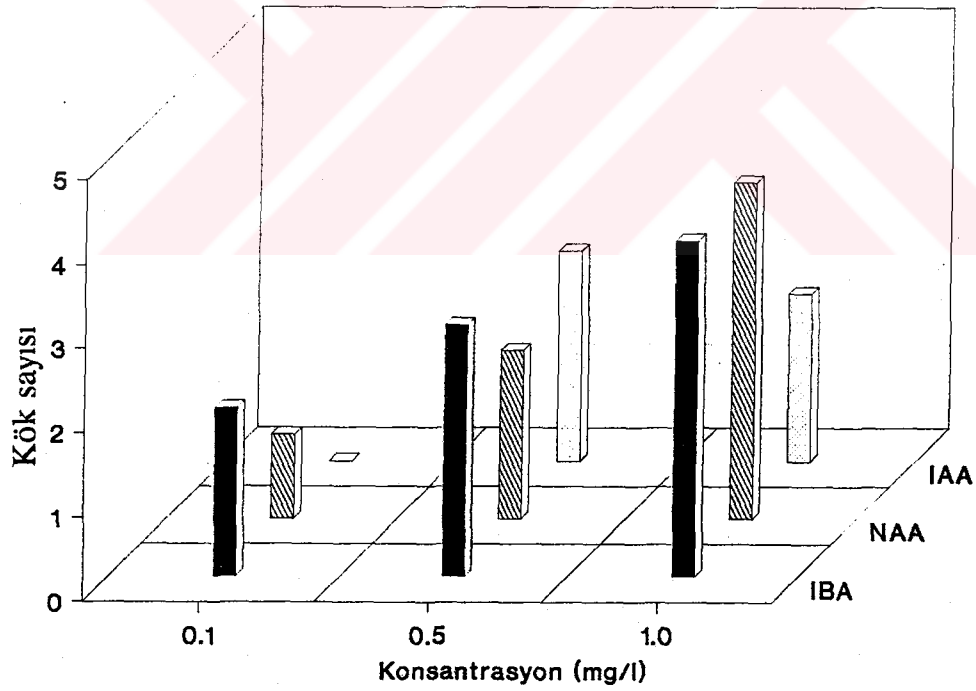
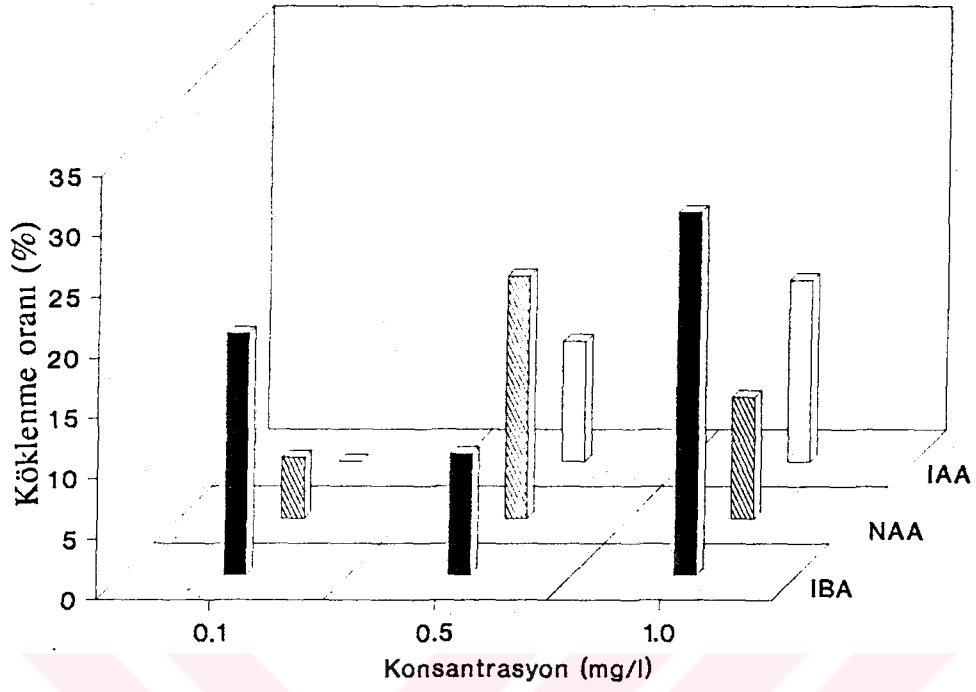
Çizelge 4.2. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında IBA,NAA ve IAA'nın köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri

Köklenme oranı (oksin x konsantrasyon)

Konst (mg/l)	Oksin			
	IBA	NAA	IAA	Konst. ort.
0.1	20 a	5 bc	0 c	8.33 c
0.5	10 ab	20 a	10 ab	13.33 ab
1.0	30 a	10 ab	15 ab	18.33 a
Oksin ort.	20 a	11.67 b	8.33 b	

Kök sayısı

Konst (mg/l)	Oksin			
	IBA	NAA	IAA	Konst. Ort.
0.1	2.0 abc	1.0 bc	0 c	1.0 b
0.5	3.0 ab	2.0 abc	2.5 ab	2.5 a
1.0	4.0 a	4.0 a	2.0 abc	3.33 ab
Oksin ort.	3.0 a	2.33 a	1.5 b	



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.1. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri.

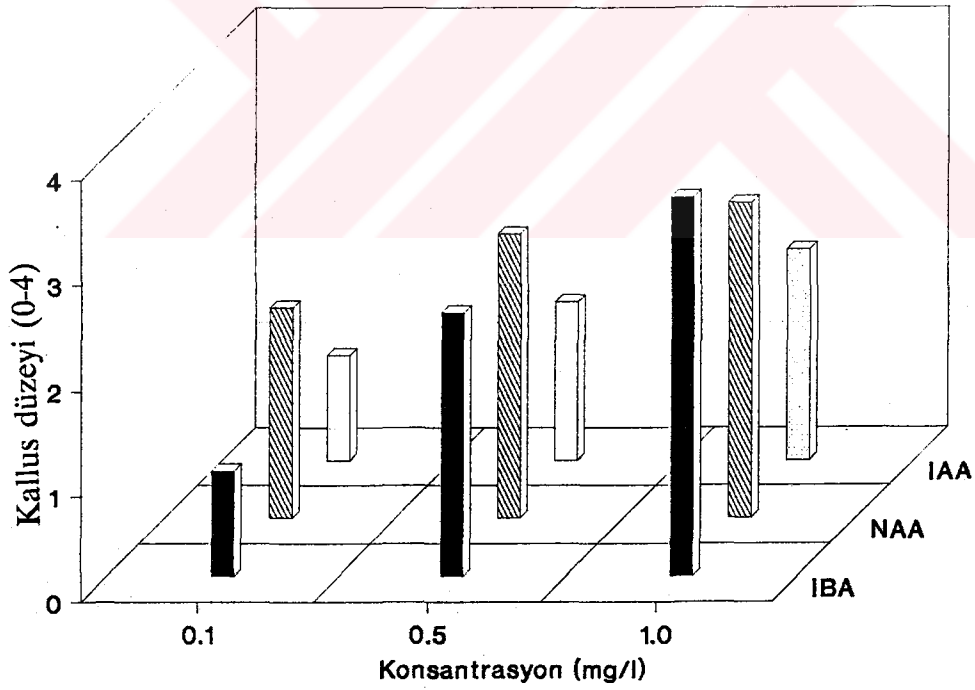
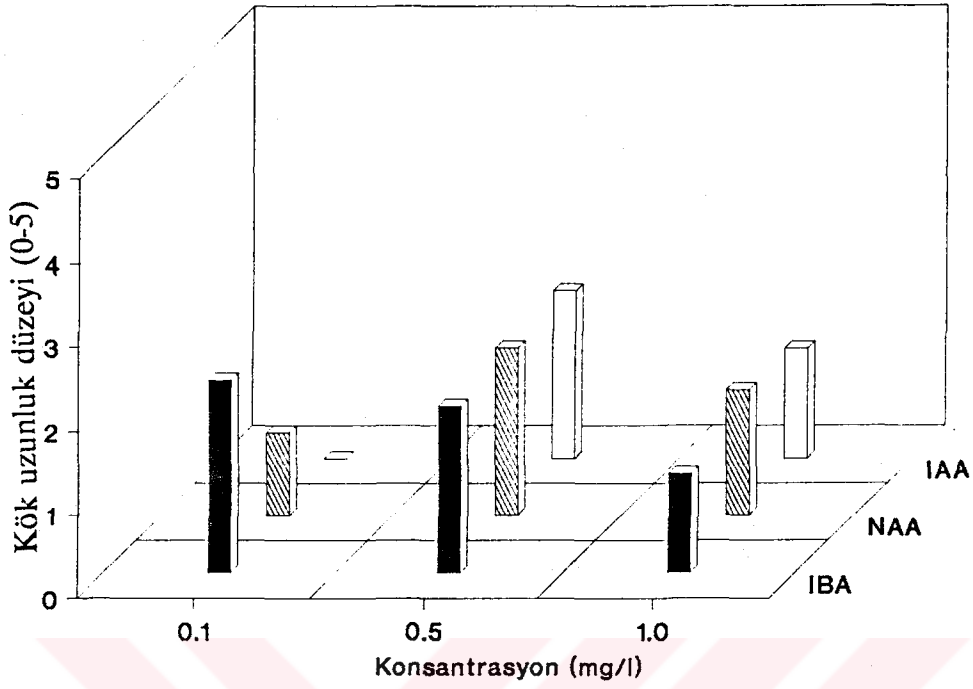
Çizelge 4.3. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında IBA, NAA ve IAA'nın kök uzunluk ve kallus düzeyi üzerine etkileri

Kök uzunluk düzeyi

Konst (mg/l)	Oksin			
	IBA	NAA	IAA	Konst. ort.
0.1	2.3. a	1.0 ab	0 b	1.1 b
0.5	2.0 a	2.0 a	2.0 a	2.0 a
1.0	1.2 ab	1.5 ab	1.3 ab	1.33 ab
Oksin ort.	1.83 a	1.5 a	1.1 a	

Kallus düzeyi

Konst (mg/l)	Oksin			
	IBA	NAA	IAA	Konst. ort.
0.1	1.0 c	2.0 abc	1.0 c	1.33 b
0.5	2.5 abc	2.7 abc	1.5 bc	2.23 ab
1.0	3.6 a	3.0 ab	2.0 abc	2.87 a
Oksin ort.	2.37 a	2.57 a	1.5 a	



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.2. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında IBA, NAA ve IAA'nın kök uzunluk ve kallus düzeyi üzerine etkileri.

4.2. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış ve Perlitle Desteklenmiş Sıvı TMS ve YMS Besin Ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri

İlk köklendirme denemesinde kullanılan kağıt köprülerle desteklenmiş sıvı besin ortamında köklenme elde edilememiş ve kültürlerde birinci hafta içinde sararma ve daha sonraki günlerde yaprak koltuklarında kallus oluşumları ile birlikte yaprak dökümleri görülmüştür. Bu nedenle bu denemede sıvı besin ortamında destek materyali olarak perlit kullanılmıştır.

Köklenme üzerine agarla katılaştırılmış besin ortamları, perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamlarına göre daha etkili olmuştur. Perlitle desteklenmiş gerek TMS gerekse YMS ortamlarında, agarla katılaştırılmış besin ortamlarına göre köklenme oranları (%0-20), kök sayıları (0.5-3.0), kök uzunluk düzeyleri (0.5-1.5), kuru madde miktarları (0-5.2) çok düşük ve kallus düzeyleri ise (0.5-4.0) yüksek olmuştur (Şekil 4.3, 4.4 ve 4.5).

Perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamlarında mikrosürgünlerin kesim yüzeyleri görülemediği için köklenme başlangıçları belirlenememiştir.

Köklenme oranları bakımından her iki ortam kuvvetinde de en etkili oksin NAA olmuş ve en yüksek köklenme %20 oranında TMS ortamında 0.5 ve 1.0 mg/l NAA ve 1.0 mg/l IAA'da görülmüştür (Şekil 4.3). Her iki ortam kuvvetinde de IBA'dan köklenme elde edilememiştir.

En fazla kök sayısı (3.0) TMS ortamında yine 1.0 mg/l IAA'dan, en fazla kök uzunluk düzeyi (1.5) TMS ortamında 1.0 mg/l IAA ve YMS ortamında 0.1 mg/l NAA'dan elde edilmiştir (Şekil 4.3, 4.4).

Kallus düzeyi bakımından TMS ortamı kallus düzeyini artırarak olumsuz etki yapmıştır. Her iki ortam kuvvetinde de en fazla kallus düzeyi (2.5-4.0) NAA'da görülmüş ve oksin konsantrasyonlarının artması ile kallus düzeyleri de artmıştır (Şekil 4.4).

Kuru madde miktarı, köklenen bitkilerde kök sayısı ve kök uzunluk düzeylerinin düşük olmasından dolayı çok az (0-5.2) olmuştur.

Agarla katılaştırılmış TMS ve YMS besin ortamlarında oksinlerin

köklenme üzerine etkileri farklı olmuştur.

Her iki kuvvetteki ortamda da köklenme başlangıçları üzerine NAA en etkili oksin olmuştur. En erken köklenme başlangıçları her iki ortam kuvvetinde de 9. günde başlamış ancak köklenme başlangıçları üzerine TMS ortamı daha etkili olmuştur. 9. Günde köklenme başlangıçları TMS ortamında IBA ve IAA'nın 0.5 (%50 ve 10) ve 1.0 mg/l (%10 ve 10), YMS ortamında ise NAA'nın 0.1 ve 0.5 mg/l (%30 ve 20) konsantrasyonlarında görülmüştür (Çizelge 4.4)

İstatistiksel değerlendirme sonucunda köklenme oranı ve kök sayısı bakımından oksinler, konsantrasyonlar ve ortam kuvvetleri; kök uzunluk düzeyi bakımından ortam kuvvetleri; kallus düzeyi bakımından oksinler ve konsantrasyonlar; kuru madde bakımındanda oksinler ve ortam kuvvetleri arasındaki farklılıklar %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bunların yanında faktörlerin interaksiyonları incelendiğinde, köklenme oranı, kök sayısı, kallus düzeyi ve kuru madde bakımından oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti ve konsantrasyon x ortam kuvveti, köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi ve kuru madde bakımından oksin x ortam kuvveti, köklenme oranı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde bakımından oksin x konsantrasyon interaksiyonları da %5 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Köklenme oranı, kök sayısı, kuru madde ve kök uzunluk düzeyi bakımından TMS ortamı daha etkili olmuştur. Kallus düzeyi bakımından ise ortam kuvvetleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır.

Köklenme oranı üzerinde en etkili oksin NAA ve en etkili konsantrasyon 0.5 mg/l olmuştur. En yüksek köklenme oranı (%90) ise TMS ortamında 0.5 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. Bunu %80 oranında köklenme ile TMS ortamında 1.0 mg/l IBA ve 0.1 mg/l NAA, YMS ortamında 0.5 mg/l NAA konsantrasyonları izlemiş ve aralarındaki farklılık önemli bulunmamıştır. YMS ortamında 0.1, 0.5, 1.0 mg/l IBA ve IAA'da ve TMS ortamında 0.1 mg/l IAA'da köklenme elde edilememiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.3).

Çizelge 4.4. Nonpareil çeşidinde agarda katılaştırılmış TMS ve YMS besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme başlangıcı ve hızı üzerine etkileri (%)

Dikimden itibaren gün sayısı	IBA (mg/l)						NAA (mg/l)						IAA (mg/l)					
	0.1		0.5		1.0		0.1		0.5		1.0		0.1		0.5		1.0	
	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS
9	0	0	50	0	10	0	20	30	0	20	10	0	0	0	20	0	10	0
11	10	0	70	0	50	0	40	50	20	60	20	10	0	0	30	0	10	0
13	10	0	90	0	70	0	50	50	20	80	30	10	0	0	30	0	10	0
15	10	0	90	0	70	0	50	50	20	80	30	10	0	0	30	0	10	0
17	10	0	90	0	70	0	60	50	50	80	30	10	0	0	40	0	20	0
19	10	0	90	0	70	0	60	50	50	80	30	10	0	0	40	0	20	0
21	10	0	90	0	70	0	60	50	50	80	30	10	0	0	40	0	20	0
23	10	0	90	0	70	0	70	50	50	80	40	20	0	0	40	0	20	0
25	10	0	90	0	80	0	70	50	50	80	50	20	0	0	40	0	20	0
27	10	0	90	0	80	0	70	50	50	80	50	20	0	0	40	0	20	0
29	10	0	90	0	80	0	80	50	50	80	50	20	0	0	40	0	20	0

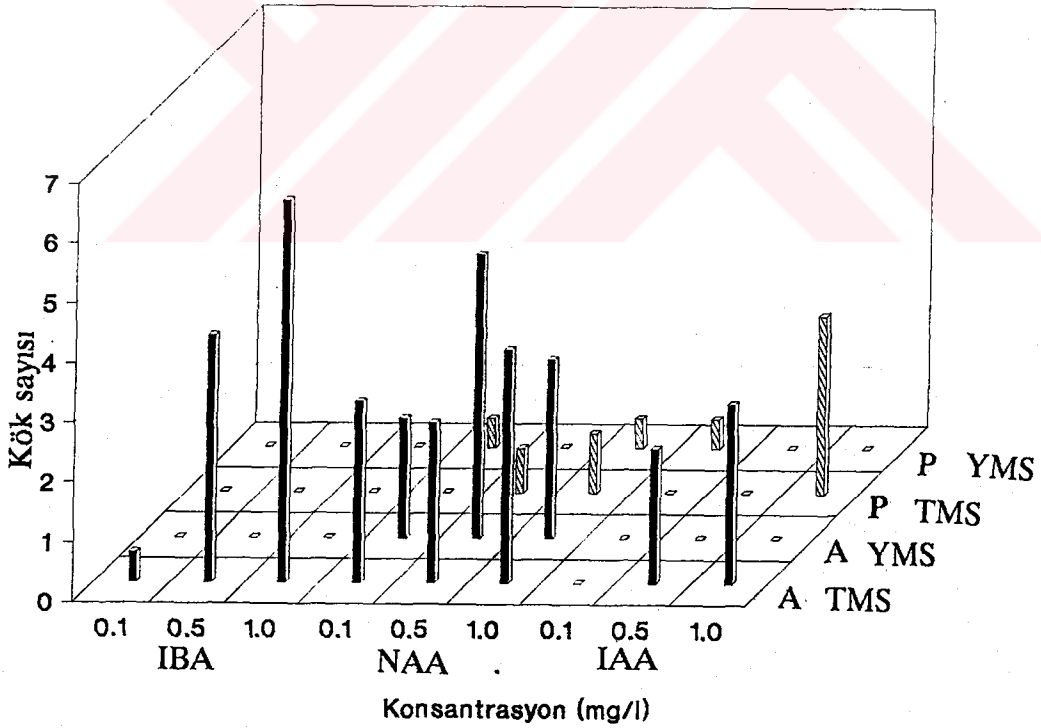
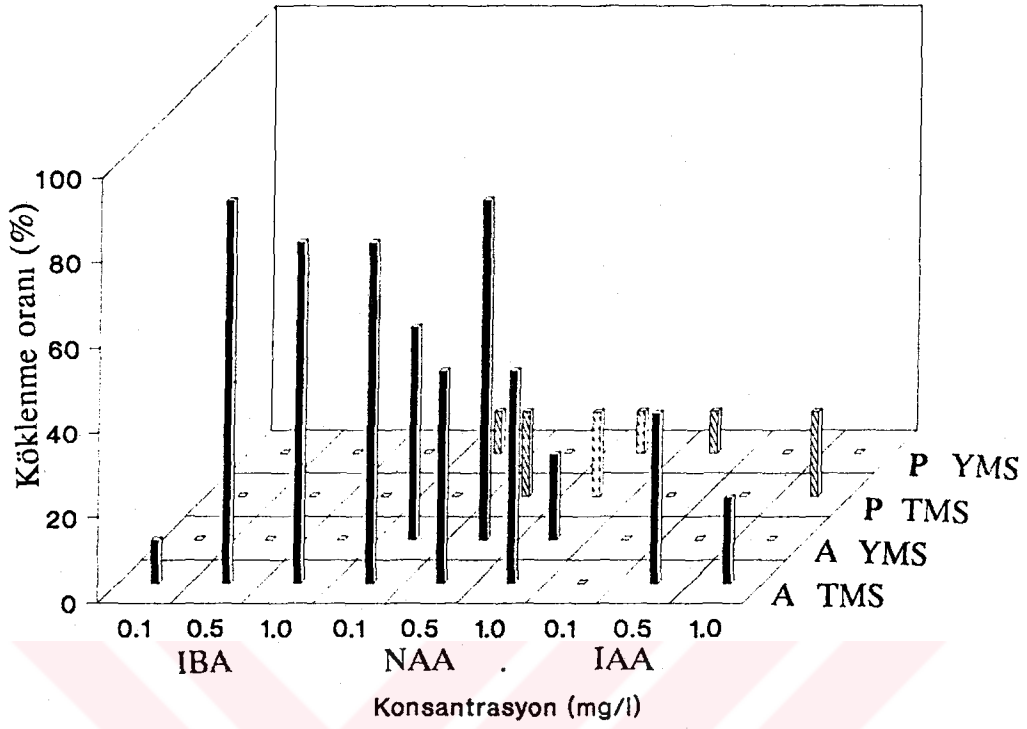
Çizelge 4.5. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS ve YMS besin otamlarında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri

Köklenme oranı (oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti)

Konst. (mg/l)	Oksin						
	IBA		NAA		IAA		Konst.Ort.
	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	
0.1	10 de	0 e	80 ab	50 abc	0 e	0 e	23.33 c
0.5	90 a	0 e	50 abc	80 ab	40 bc	0 e	43.33 a
1.0	80 ab	0 e	50 abc	20 cd	20 cd	0 e	28.33 b
Oksin ortalama	30 b		55 a		10 c		
O.K. Ortalama	TMS 46.67 a			YMS 16.67 b			

Kök sayısı (oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti)

Konst. (mg/l)	Oksin						
	IBA		NAA		IAA		Konst.Ort.
	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	
0.1	0.5 i	0 j	3.03 e	2.0 h	0 j	0 j	0.92 c
0.5	4.3 c	0 j	2.67 f	4.74 b	2.25 g	0 j	2.33 b
1.0	6.4 a	0 j	3.92 d	3.0 e	3.0 e	0 j	2.72 a
Oksin ortalama	1.87 b		3.23 a		0.88 c		
O.K. Ortalama	TMS 2.90 a			YMS 1.08 b			



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.3. Nonpareil çeşidinde agarla (A) katılaştırılmış ve perlitle (P) desteklenmiş TMS ve YMS besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri.

Kök sayısı bakımından da köklenme oranında olduğu gibi en etkili oksin NAA olmuştur. En etkili konsantrasyon ise 1.0 mg/l olmuş ve en fazla kök sayısı (6.4) TMS ortamında 1.0 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. En yüksek köklenme oranı (%90) elde edilen, TMS ortamındaki 0.5 mg/l IBA'da ise kök sayısı 4.3 olmuştur. En az kök sayısı da (0.5) TMS ortamında 0.1 mg/l IBA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.3).

Kök uzunluk düzeyi bakımından oksinler ve konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar önemli bulunmasa da en fazla kök uzunluk düzeyi (3.75) en yüksek köklenme oranı (%90) elde edilen, TMS ortamında IBA'da görülmüştür. En az kök uzunluk düzeyleri (1.0) ise TMS ortamında 1.0 mg/l NAA ve YMS ortamında 0.5 ve 1.0 mg/l NAA konsantrasyonlarından elde edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.4)

Kallus düzeyini NAA, IBA ve IAA'ya göre artırarak kallus düzeyi bakımından olumsuz etki yapmıştır. Konsantrasyonlar arasındaki farklılık önemli bulunmuş ve en fazla kallus düzeyi 1.0 mg/l ve en az kallus düzeyi ise 0.1 mg/l konsantrasyonlarında görülmüştür. En fazla kallus düzeyi (2.4) YMS ortamında 0.1 mg/l NAA'dan elde edilmiş ve bunu TMS ortamında 1.0 mg/l IBA ve NAA (2.1) ve 0.5 mg/l NAA (1.8) konsantrasyonları izlemiş ve aralarındaki farklılık önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.4)

En yüksek köklenme oranı (%90) ve en fazla kök uzunluk düzeyi (3.8) elde edilen TMS ortamında 0.5 mg/l IBA'da ise kallus düzeyi (0.2) en düşük olmuştur.

Çizelge 4.6. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS ve YMS besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kök uzunluk düzeyi üzerine etkileri

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	
0.1	2.5 ab	0 c	2.8 ab	2.75 ab	0 c	0 c	1.34 a
0.5	3.8 a	0 c	1.7 bc	1.10 bc	3.75 a	0 c	1.73 a
1.0	3.0 ab	0 c	1.0 bc	1.0 bc	3.0 ab	0 c	1.33 a
Oksin ortalama	1.55 a		1.73 a		1.13 a		
O.K. Ortalama	TMS 2.39 a			YMS 0.54 b			

Oksin x konsantrasyon

Konst. (mg/l)	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
0.1	1.25 abc	2.78 a	0 c
0.5	1.9 ab	1.40 bc	1.88 ab
1.0	1.5 abc	1.0 bc	1.5 abc

Oksin x ortam kuvveti

Ortam Kuvveti	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
TMS	3.1 a	1.83 b	2.25 ab
YMS	0 c	1.62 b	0 c

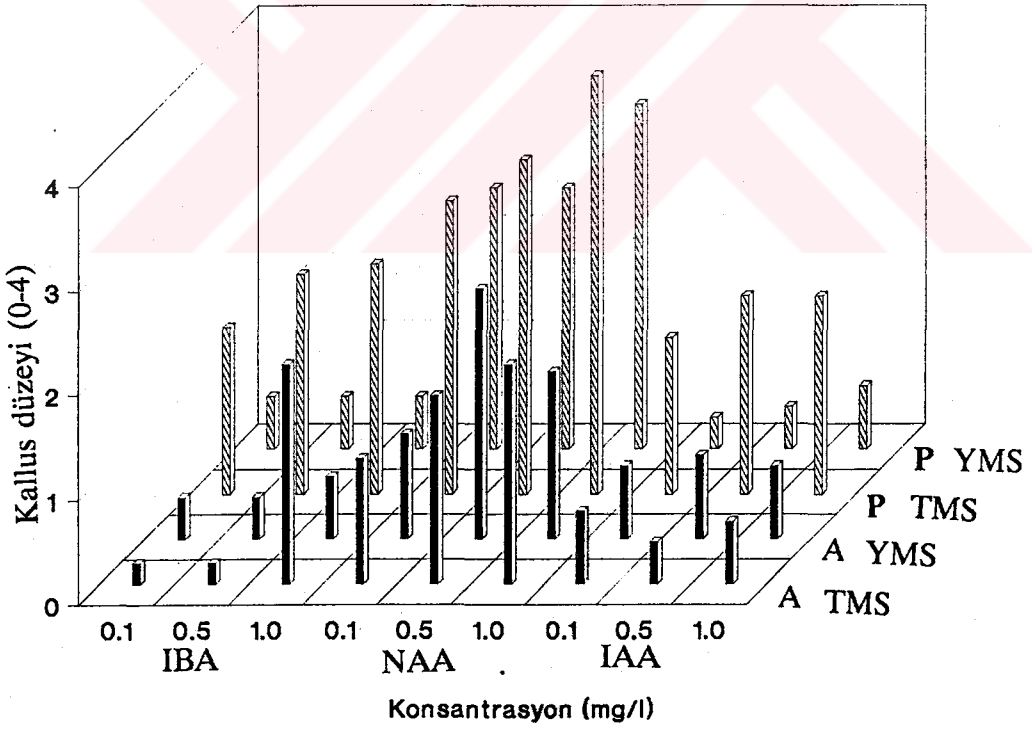
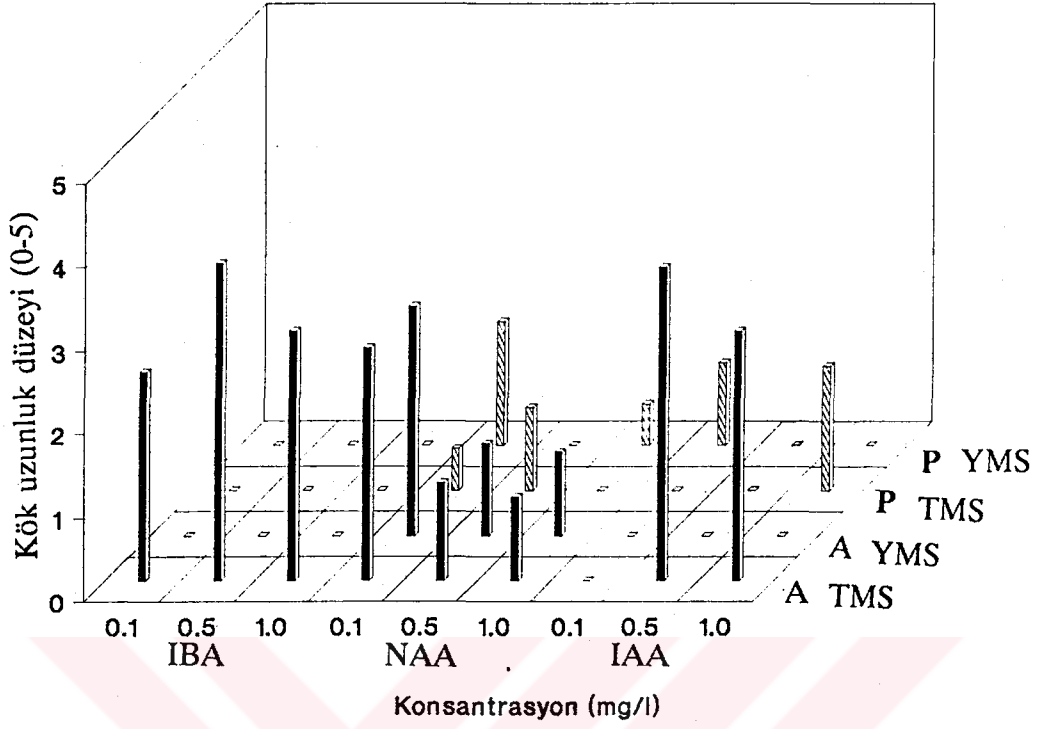
Çizelge 4.7. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS ve YMS besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kallus düzeyi ve kuru madde (%) üzerine etkileri

Kallus düzeyi (oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti)

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NDA		IAA		
	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	
0.1	0.2 g	0.4 fg	1.2 cde	1.0 def	0.7 efg	0.7 efg	0.7 c
0.5	0.2 g	0.4 fg	1.8 abc	2.4 a	0.4 fg	0.8 efg	1.0 b
1.0	2.1 ab	0.6 efg	2.1 ab	1.6 bcd	0.6 efg	0.7 efg	1.28 a
Oksin ortalama	0.65 b		1.69 a		0.65 b		
O.K. Ortalama	TMS 1.04 a			YMS 0.96 a			

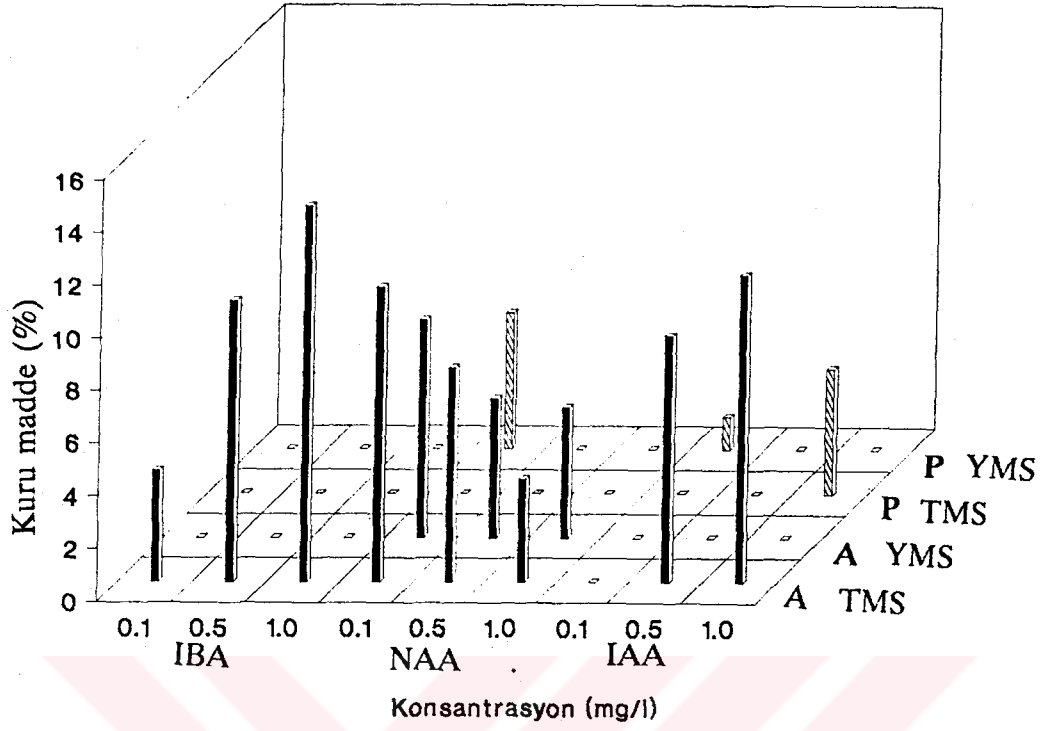
Kuru madde (oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti)

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	TMS	YMS	TMS	YMS	TMS	YMS	
0.1	4.2 de	0 e	11.2 ab	8.3 bcd	0 e	0 e	3.95 a
0.5	10.7 abc	0 e	8.15 bcd	5.3 cde	9.4 abcd	0 e	5.59 a
1.0	14.3 a	0 e	3.9 de	4.95 de	11.7 ab	0 e	5.81 a
Oksin ortalama	4.87 ab		6.96 a		3.52 b		
O.K. Ortalama	TMS 8.17 a			YMS 2.06 b			



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.4. Nonpareil çeşidinde agarla (A) katılaştırılmış ve perlitle (P) desteklenmiş TMS ve YMS besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kök uzunluk ve kallus düzeyi üzerine etkileri.



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.5. Nonpareil çeşidinde agarla (A) katılaştırılmış ve perlite (P) desteklenmiş TMS ve YMS besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kuru madde (%) üzerine etkileri.

Kuru madde bakımından konsantrasyonlar arasında farklılık önemli bulunmaz iken, kuru madde üzerinde NAA ve IBA, IAA'ya göre daha etkili olmuştur. En fazla kuru madde TMS ortamında 1.0 mg/l IBA'dan en az kuru madde ise yine TMS ortamından 1.0 mg/l NAA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.5).

4.3. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış ve Perlitle Desteklenmiş Sıvı TM ve YM Besin Ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri

Agarla katılaştırılmış ve perlitle desteklenmiş sıvı MS besin ortamında sadece makro elementlerin yarı kuvvette azaltılmasının oksinlerle birlikte köklenme üzerine etkilerinin incelendiği bu denemede, agarla katılaştırılmış besin ortamlarında, bütün oksin konsantrasyonlarında köklenme görülürken, perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamlarından, TM ortamında sadece 0.5 ve 1.0 mg/l IBA ve 0.1 mg/l NAA'da, YM ortamında ise 0.1, 0.5, 1.0 mg/l IBA ve 1.0 mg/l IAA'da köklenme görülmüş ve perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamlarında kök sayısı, kök uzunluk düzeyi ve kuru madde, agarla katılaştırılmış ortamlara göre çok düşük olurken kallus düzeyi ise daha fazla olmuştur.

Perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamlarında mikrosürgünlerin bazal kısımları görülmediği için köklenme başlangıçları belirlenememiştir. Köklenme oranı üzerine YM besin ortamının daha etkili olduğu görülmüş ve en yüksek köklenme oranı (%60) YM ortamında 1.0 mg/l IBA'dan elde edilmiş, bunu aynı ortam kuvvetinde %30 köklenme oranları ile 0.5 ve 0.1 mg/l IBA ve NAA, %20 köklenme oranları ile 1.0 mg/l IAA ve TM ortamında 1.0 mg/l IBA, %10 köklenme oranları ile TM ortamında 0.5 mg/l IBA ve 0.1 mg/l NAA konsantrasyonları izlemiştir (Şekil 4.6).

En fazla kök sayısı (3.5), %60 oranında köklenme görülen YM besin ortamında 1.0 mg/l IBA'dan elde edilmiş ancak kök uzunluk düzeyi (1.0) çok zayıf olmuştur. Diğer köklenme görülen oksin konsantrasyonlarında ise kök sayıları 0.1-2.5, kök uzunluk düzeyleri ise 0.5-1.75 arasında olmuştur (Şekil 4.6,

4.7).

En fazla kuru madde (6.4), %30 oranında köklenme oranı elde edilen YM ortamından elde edilmiş ve köklenme görülen diğer oksin konsantrasyonlarında kuru madde 0-5.9 arasında olmuştur (Şekil 4.8).

Genelde kallus düzeyi, TM ortamında, YM ortamına göre daha yüksek olmuş ve her iki ortam kuvvetinde de en yüksek kallus düzeyleri NAA'dan elde edilmiştir. En az kallus düzeyi (0.9) ise YM ortamında 0.1 mg/l IAA'dan elde edilmiş ve diğer oksin konsantrasyonlarında 1.2-2.4 düzeylerinde kallus görülmüştür.

Agarla katılaştırılmış TM ve YM ortamlarında oksinlerin köklenme üzerine etkileri farklı olmuştur.

Köklenme başlangıcı üzerine NAA ve IBA, IAA'dan daha etkili olmuş ve her iki ortam kuvvetinde de en erken köklenme başlangıçları 9. günde görülmüştür. 9. günde köklenme başlangıçları TM ortamında 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/l IBA (%10,30 ve 30) ve NAA'da (%30'ar), YM ortamında ise 0.5 ve 1.0 mg/l IBA (%10 ve 20) ve 0.1 ve 0.5 mg/l NAA'da (%10'ar) görülmüştür. En geç köklenme başlangıcı ise 17. günde, YM ortamında 1.0 mg/l NAA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.8).

İstatistiksel değerlendirme sonucunda köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde bakımından oksinler ve konsantrasyonlar, kök sayısı ve kallus düzeyi bakımından da ortam kuvvetleri arasındaki farklılıklar %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bunların yanında faktörlerin interaksiyonu incelendiğinde, köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde bakımından oksin x konsantrasyon, köklenme oranı ve kallus düzeyi bakımından oksin x ortam kuvveti, konsantrasyon x ortam kuvveti, kök uzunluk ve kallus düzeyleri bakımından oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti interaksiyonları da %5 düzeyde önemli bulunmuştur.

Ortam kuvveti köklenme oranı, kök uzunluk düzeyi ve kuru madde üzerinde önemli farklılık yaratmaz iken TM ortamı kök sayısını artırarak ve

Çizelge 4.8. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme başlangıcı ve hızı üzerine etkileri (%)

Dikimden itibaren gün sayısı	IBA (mg/l)						NAA (mg/l)						IAA (mg/l)					
	0.1		0.5		1.0		0.1		0.5		1.0		0.1		0.5		1.0	
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	TM	YM	TM	YM	TM	YM	TM	YM	TM	YM	TM	YM
9	0	0	30	10	30	20	30	10	30	10	30	0	30	0	0	0	0	0
11	20	20	40	40	30	40	30	20	30	10	30	0	30	0	10	10	20	10
13	30	30	40	50	50	50	40	30	40	40	40	0	40	0	20	20	40	10
15	30	30	40	60	60	60	60	30	40	40	40	0	50	0	20	20	40	30
17	30	30	40	80	80	60	60	30	50	40	40	10	70	10	30	30	40	30
19	30	30	40	80	80	80	60	40	50	50	20	70	20	40	30	30	40	30
21	30	30	40	90	80	80	60	40	50	60	30	70	30	40	30	30	60	30

kallus düzeyini de düşürerek önemli farklılık yapmıştır.

Köklenme oranı üzerinde oksin olarak IBA ve NAA, konsantrasyon olarak da 1.0 ve 0.5 mg/l önemli etki göstermiştir. En fazla köklenme oranı (%90) YM ortamında 0.5 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. Bunu %80 köklenme oranları ile TM ve YM ortamlarında 1.0 mg/l IBA konsantrasyonu izlemiştir. En düşük köklenme oranı (%20) ise YM ortamında 0.1 mg/l IAA'da görülmüştür (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.6).

Kök sayısı üzerinde de köklenme oranında olduğu gibi IBA ve NAA etkili olmuştur. En etkili konsantrasyon ise 0.5 mg/l olmuştur. En fazla kök sayısı (7.75) TM ortamında 0.5 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. En yüksek köklenme oranı (%90) görülen YM ortamında 0.5 mg/l IBA'da ise kök sayısı 4.25 olmuştur. Kök sayısı en az YM ortamında 1.0 mg/l NAA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.6).

Kök uzunluk düzeyi bakımından en etkili oksinler IAA ve IBA, en etkili konsantrasyon ise 0.1 mg/l olmuştur. En fazla kök uzunluk düzeyi (3.5), YM ortamında 0.1 mg/l IBA'da görülmüş ve bunu 3.0 düzeyle TM ortamında 0.1 mg/l IBA ve IAA, 2.83 düzeyle de TM ve YM ortamlarında 0.1 mg/l NAA konsantrasyonları izlemiştir. En az kök uzunluk düzeyleri (1.0) ise TM ortamında 1.0 mg/l IBA, YM ortamında 0.5 ve 1.0 mg/l NAA ve 0.1 mg/l IAA konsantrasyonlarında görülmüştür (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.7).

Çizelge 4.9. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme oranı (%) üzerine etkileri

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
0.1	30 ef	30 ef	60 bcd	40 def	40 def	20 f	36.67 b
0.5	40 def	90 a	50 cde	60 bcd	30 ef	40 def	51.67 a
1.0	80 ab	80 ab	70 bc	30 ef	60 bcd	30 ef	58.33 a
Oksin ortalama	58.33 a		51.67 a		36.67 b		
O.K. Ortalama	TM 51.11 a			YM 46.67 a			

Oksin x konsantrasyon

Konst. (mg/l)	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
0.1	30 e	50 cd	30 e
0.5	65 ab	55 bc	35 de
1.0	80 a	50 cd	45 cd

Çizelge 4.9'un devamı

Oksin x ortam kuvveti

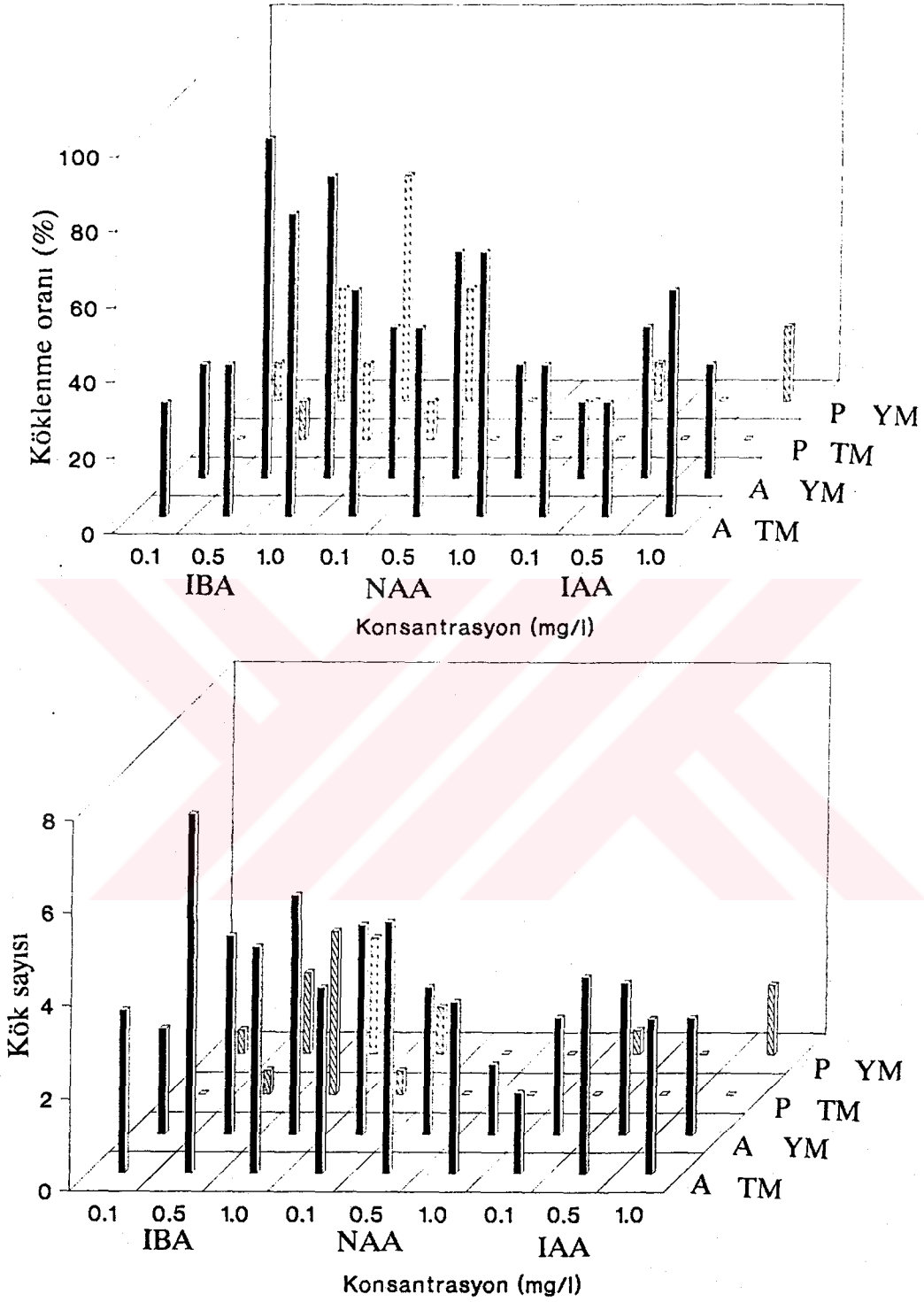
ortam kuvveti	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
TM	50 bc	60 ab	43.33 cd
YM	66.67 a	43.33 cd	30 d

Konsantrasyon x ortam kuvveti

ortam kuvveti	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
TM	43.33 b	40 bc	70 a
YM	30 c	63.33 a	46.67 b

YM ortamında daha fazla düzeyde kallus görülmüştür. NAA kallus düzeyini artırarak olumsuz etki yapmış ve en az kallus düzeyleri IAA'da görülmüştür. Konsantrasyonlardan 1.0 mg/l de kallus düzeyleri yüksek, 0.1 ve 0.5 mg/l'de ise düşük olmuştur. En fazla kallus düzeyi (1.9) YM ortamında 1.0 mg/l IBA'dan en az kallus düzeyi ise (0.1) TM ortamında 0.1 mg/l IBA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.7)

Kuru madde miktarları üzerine IBA ve IAA daha etkili olmuştur. En fazla kuru madde TM ortamında 0.1 mg/l NAA'dan elde edilmiştir. YM ortamında 1.0 mg/l NAA'da ise kuru madde elde edilememiştir (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.8).



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.6. Nonpareil çeşidinde agarla (A) katılaştırılmış ve perlitle (P) desteklenmiş TM ve YM besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri.

Çizelge 4.10. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kök sayısı üzerine etkileri

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
0.1	3.5 bcde	2.25 de	4.0 bcd	4.5 abc	1.75 de	2.5 cde	3.08 b
0.5	7.75 a	4.25 abcd	5.42 ab	3.16 bcde	4.25 abcd	3.25 bcde	4.68 a
1.0	4.88 abc	5.13 ab	3.7 bcde	1.5 e	3.33 bcde	2.5 cde	3.51 b
Oksin ortalama	4.63 a		3.71 a		2.93 b		
O.K. Ortalama	TM 4.29 a			YM 3.23 b			

Oksin x konsantrasyon

Konst. (mg/l)	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
0.1	2.88 cde	4.25 abc	1.0 e
0.5	6 a	4.29 abc	3.75 bcd
1.0	5.0 ab	2.6 de	2.92 cde

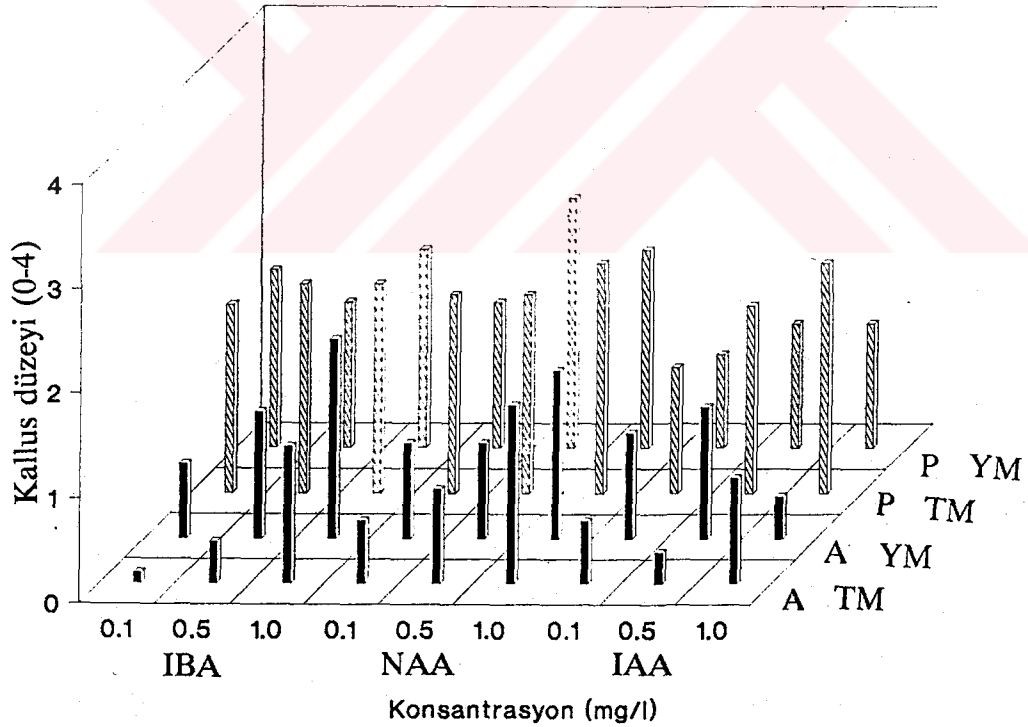
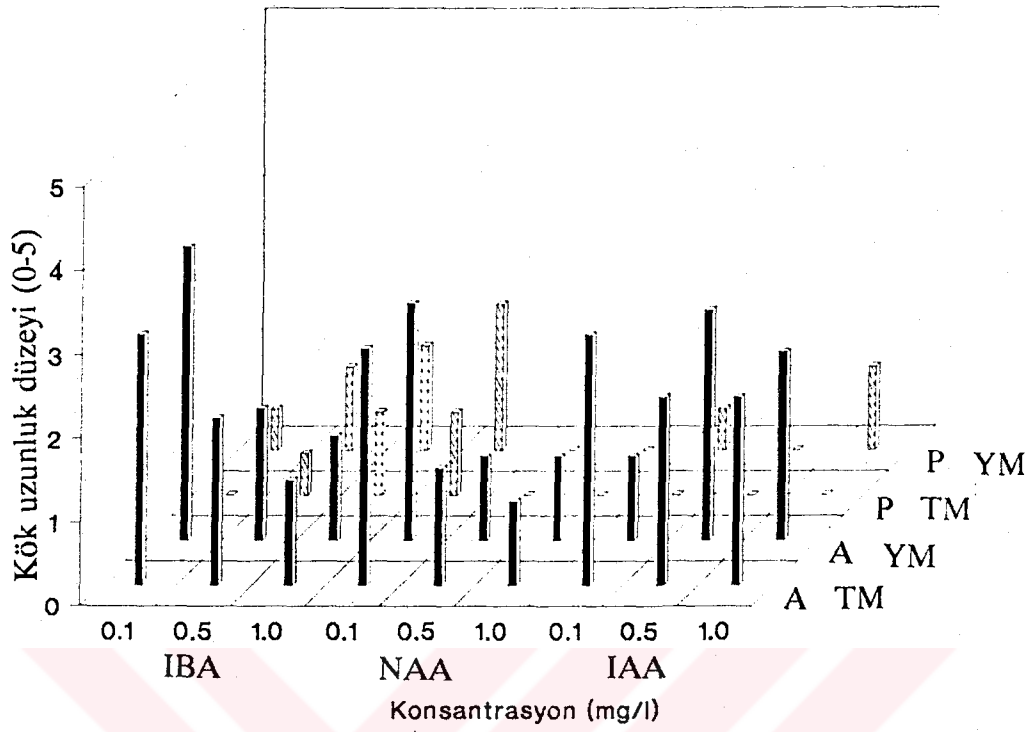
Çizelge 4.11. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kök uzunluk ve kallus düzeyi üzerine etkileri

Kök uzunluk düzeyi (Oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti)

Konst. (mg/l)	Oksin						
	IBA		NAA		IAA		Konst.Ort.
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
0.1	3.0 ab	3.5 a	2.83 abc	2.83 abc	3.0 ab	1.0 e	2.69 a
0.5	2.0 abcd	1.58 cde	1.4 de	1.0 e	2.25 abcd	2.75 abc	1.83 b
1.0	1.25de	1.25 de	1.0 e	1.0 e	2.25 abcd	2.25 abcd	1.55 b
Oksin ort.	2.1 ab		1.68 b		2.3 a		
O.K. Ort.	TM 2.11 a			YM 1.91 a			

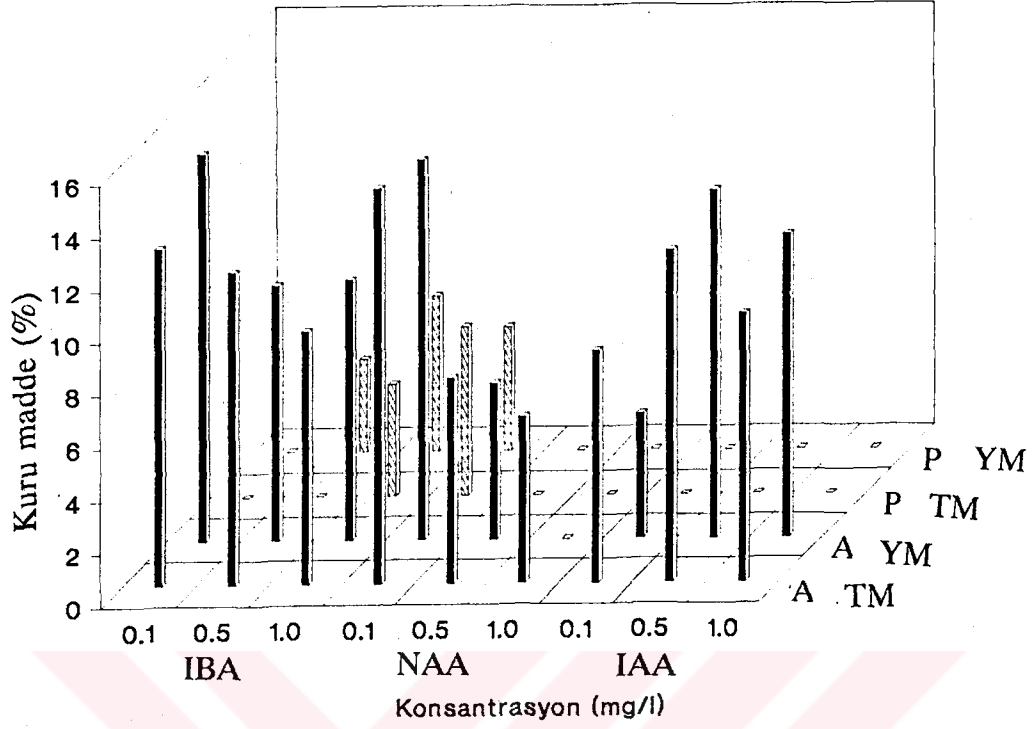
Kallus düzeyi (oksin x konsantrasyon x ortam kuvveti)

Konst. (mg/l)	Oksin						
	IBA		NAA		IAA		Konst.Ort.
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
0.1	0.1 h	0.7 defg	0.6 efgh	0.9 cdef	0.6 efgh	1.0 cde	0.65 b
0.5	0.4 fgh	1.2 bcd	0.9 cdef	0.9 cdef	0.3 gh	1.25 bcd	0.83 b
1.0	1.3 bc	1.9 a	1.7 ab	1.6 ab	1.0 cde	0.4 fgh	1.32 a
Oksin ortalama	0.94 ab		1.1 a		0.76 b		
O.K. Ortalama	TM 0.77 b			YM 1.1 a			



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.7. Nonpareil çeşidinde agarla (A) katılaştırılmış ve perlitle (P) desteklenmiş TM ve YM besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kök uzunluk ve kallus düzeyi üzerine etkileri.



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.8. Nonpareil çeşidinde agarla (A) katılaştırılmış ve perlitle (P) desteklenmiş TM ve YM besin ortamlarında IBA, NAA ve IAA'nın kuru madde (%) üzerine etkileri.

Çizelge 4.12. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında, IBA, IAA'nın kuru madde (%) üzerine etkileri

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
0.1	12.8 ab	14.7 a	15.0 a	14.4 a	8.8 bcd	4.7 de	11.73 a
0.5	11.9 abc	9.7 abcd	7.8 bcd	5.9 cd	12.6 ab	13.2 ab	10.17 a
1.0	9.6 abcd	9.9 abcd	6.3 cd	0.0 e	10.2 abcd	11.5 abc	7.92 b
Oksin ortalama	11.44 a		8.24 b		10.07 ab		
O.K. Ortalama	TM 10.56 a			YM 9.33 a			

Oksin x konsantrasyon

Konsant. (mg/l)	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
0.1	13.75 ab	14.7 a	6.45 cd
0.5	10.8 ab	6.85 cd	12.9 ab
1.0	5.75 bc	3.15 d	10.85 ab

4.4. Nonpareil Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış TMS Besin Ortamında, Aktif Kömür, Ön Karartma ve Oksin Uygulamaları

IBA, NAA ve IAA (0.0, 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/l) ile birlikte 50 mg/l aktif kömür içeren ve aktif kömür içermeyen besin ortamlarında, 10 günlük ön

karartma uygulamasının köklenme üzerine etkilerinin incelendiği bu denemede besin ortamına ilave edilen aktif kömür bütün durumlarda köklenmeyi engellerken aktif kömür içermeyen besin ortamlarında, ön karartma uygulaması ve normal aydınlık koşullarda köklenme görülmüştür.

Köklenme başlangıcı üzerine normal aydınlık (sürekli 16 saat aydınlık-8 saat karanlık periyot) ve karanlık (10 gün ön karartmadan sonra normal aydınlık) koşullarda IBA ve NAA daha etkili olmuştur. IAA'da ise köklenme başlangıçları her iki koşulda da gecikmiştir.

Karanlık koşulda köklenme, normal aydınlık koşula göre bir gün önce başlamıştır. En erken köklenme başlangıçları, karanlık koşulda 8. günde 0.5 mg/l IBA (%25) ve NAA'da (%10), normal aydınlık koşullarda ise 9. günde 0.5 ve 1.0 mg/l IBA (%5 ve 25) ve 0.1, 0.5 ve 1.0 mg/l NAA'da (%5, 15 ve 5) görülmüştür (Çizelge 4.13). En geç köklenme başlangıçları ise 16. günde normal aydınlık koşulda 0.1 mg/l IBA ve IAA'da (%5'er) ve karanlık koşulda 1.0 mg/l NAA'da (%5) görülmüş ve bunların toplam köklenme oranları da düşük olmuştur. Karanlık koşul, IBA içeren ortamlarda köklenmeyi hızlandırmıştır.

Çizelge 4.13. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında IBA,NAA ve IAA'nın 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodun (A) köklenme başlangıcı ve hızı üzerine etkileri(%)

Dikimden itibaren gün sayıları	IBA (mg/l)						NAA (mg/l)						IAA (mg/l)					
	0.1		0.5		1.0		0.1		0.5		1.0		0.1		0.5		1.0	
	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K
8	0	0	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	5	25	0	0	5	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	30	55	60	15	15	45	10	60	10	10	0	0	0	0	0	0	25
12	0	45	55	65	45	45	45	20	60	15	10	0	0	0	5	10	25	35
14	0	50	70	70	55	55	65	25	70	20	25	0	0	0	20	10	35	40
16	5	50	80	70	55	80	75	25	70	20	25	15	5	50	40	15	35	40
18	5	50	80	70	55	85	80	25	70	20	25	15	10	50	45	15	35	40
20	5	50	80	70	55	90	80	30	75	20	30	15	10	50	50	15	35	40
22	10	50	85	70	55	90	80	30	80	20	30	15	10	55	50	20	35	40
24	10	50	85	70	55	90	80	30	85	20	30	15	10	55	50	20	35	40
26	10	50	85	70	55	90	80	30	85	25	30	15	10	55	50	20	35	40

İstatistiksel değerlendirme sonucunda köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları bakımından oksinler ve konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar; köklenme oranı ve kök uzunluk düzeyleri bakımından da normal aydınlık ve karanlık koşul arasındaki farklılıklar %5 düzeyinde önemli bulunmuştur. Bunların yanında faktörlerin interaksyonları incelendiğinde köklenme oranı, kök sayısı, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları bakımından oksin x konsantrasyon, köklenme oranı bakımından oksin x aydınlatma koşulu, köklenme oranı ve kallus düzeyi bakımından konsantrasyon x aydınlatma koşulu, köklenme oranı, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları bakımından oksin x konsantrasyon x aydınlatma koşulu interaksyonları da %5 düzeyde önemli bulunmuştur.

Normal aydınlık koşul, IBA ve 0.5 mg/l konsantrasyon köklenme oranı üzerinde daha etkili olmuş ve en yüksek köklenme oranı (%90) normal aydınlık koşulda 1.0 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. Bunu yine aynı koşulda 0.5 mg/l IBA ve NAA (%85'er) ve 0.1 mg/l NAA (%80) konsantrasyonları izlemiş ve aralarındaki farklılık önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.9). En düşük köklenme oranları (%10'ar) 0.1 mg/l IBA ve IAA'dan elde edilmiştir.

Kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları bakımından normal aydınlık koşul ve karanlık koşul arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır.

Çizelge 4.14. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında, 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodun (A) oksinlerle birlikte köklenme oranı (%) üzerine etkileri

oksin x konsantrasyon x aydınlatma koşulu

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	A	K	A	K	A	K	
0.1	10 ı	50 cde	80 ab	30 efgh	10 ı	55 cd	39.16 b
0.5	85 ab	70 bc	85 ab	25 fghi	50 cde	20 ghi	55.83 a
1.0	90 a	55 cd	30 efgh	15 hi	35 defg	40 def	44.16 c
Oksin ortalama	60 a		44.16 b		35.0 c		
Koşul Ort.	A 52.78 a			K 40 b			

Kök sayısı üzerine en etkili oksin köklenme oranında olduğu gibi IBA ve etkili konsantrasyonları ise 1.0 ve 0.5 mg/l olmuştur. En fazla kök sayısı (6.32) normal aydınlık koşulda %90 oranında köklenme görülen 1.0 mg/l IBA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.9)

Kök uzunluk düzeyi bakımından, köklenme oranı ve kök sayısında olduğu gibi yine en etkili oksin IBA olmuştur. En etkili konsantrasyon ise 0.1 mg/l olmuş ve genelde oksin konsantrasyonlarının artması ile kök uzunluk düzeyleri her iki koşulda azalmıştır. En fazla kök uzunluk düzeyi (2.83) karanlık koşulda 0.1 mg/l IBA'dan elde edilirken en az kök uzunluk düzeyleri 1.0 mg/l NAA ve normal aydınlık koşulda 1.0 mg/l IAA'da görülmüştür. (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.10)

Kallus düzeyi bakımından her üç oksin arasındaki farklılık önemli bulunmuş ve kallus IBA'da en fazla IAA'da ise en az düzeyde görülmüştür. En

fazla kallus düzeyi (2.85) karanlık koşulda 1.0 mg/l IBA'dan 1.0 mg/l IAA'da görülmüştür (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.10).

Çizelge 4.15. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında 10 gün ön karartma (K), ve aydınlık-karanlık periyodun (A) oksinlerle birlikte kök sayısı üzerine etkileri

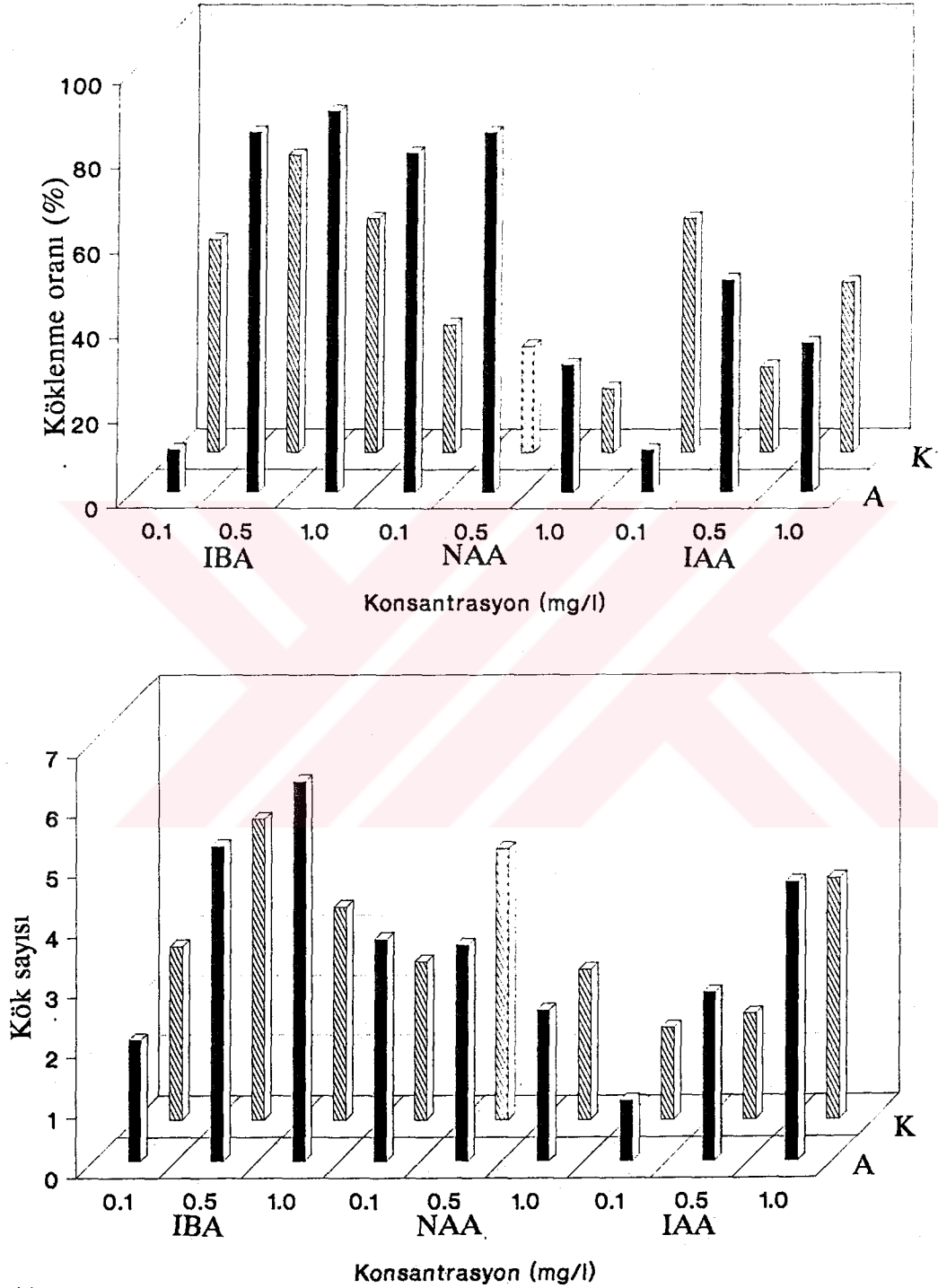
Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	A	K	A	K	A	K	
0.1	2.10 efgh	2.88 bcdefg	3.69 bcdef	2.63 cdefgh	1.0 h	4.7 de	2.83 b
0.5	5.23 ab	5.0 abc	3.6 bcdefg	4.5 abcd	2.8 bcdefg	1.75 fgh	3.81 a
1.0	6.32 a	3.54 bcdefg	2.5 defgh	2.5 defgh	4.63 abcd	4.0 abcde	3.92 a
Oksin ortalama	4.18 a		3.24 b		3.15 b		
Koşul ort.	A 3.54 a			K 3.50 a			

Oksin x konsantrasyon

Konst. (mg/l)	Oksin		
	IBA	NAA	IAA
0.1	2.49 cd	3.15 bc	2.85 d
0.5	5.12 a	4.05 ab	2.27 cd
1.0	4.93 a	2.5 c	4.31 ab

Çizelge 4.16. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodun (A) oksinlerle birlikte kök uzunluk düzeyine etkileri

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	A	K	A	K	A	K	
0.1	2.0 abcd	2.83 a	2.1 abc	1.5 cd	1.5 cd	2.62 ab	2.09 a
0.5	1.84 abcd	2.15 abc	1.0 d	1.0 d	1.74 bcd	1.5 cd	1.54 b
1.0	1.5 cd	1.29 cd	1.0 d	1.0 d	1.0 d	1.5 cd	1.22 b
Oksin ortalama	1.94 a		1.27 b		1.64 b		
Koşul ort.	A 1.52 a			K 1.71 a			



Duncan testine göre, $P < 0.05$

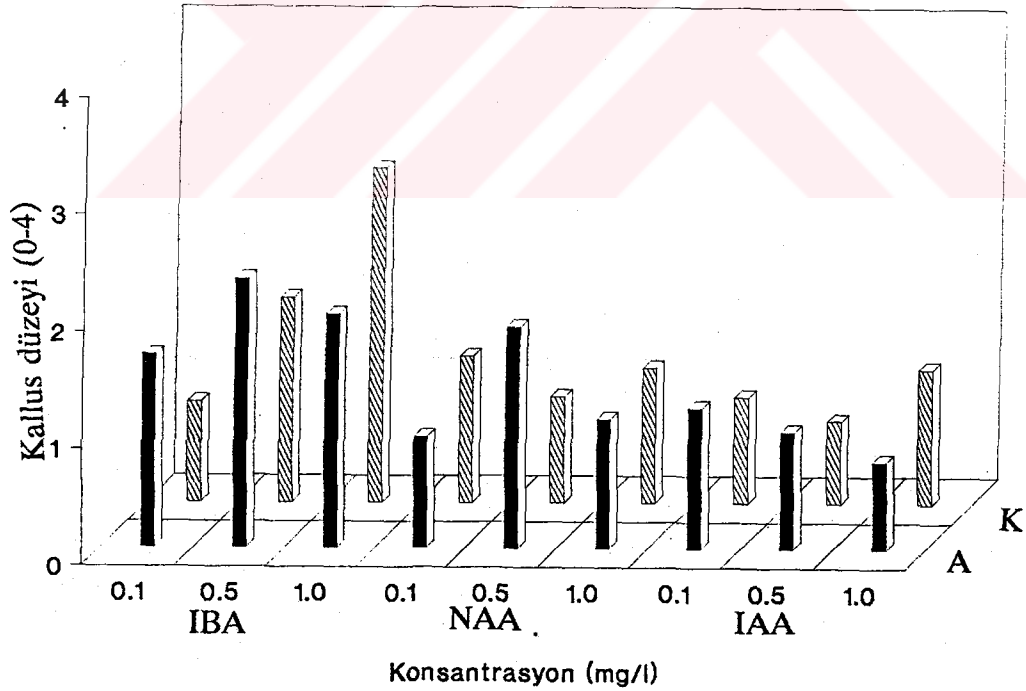
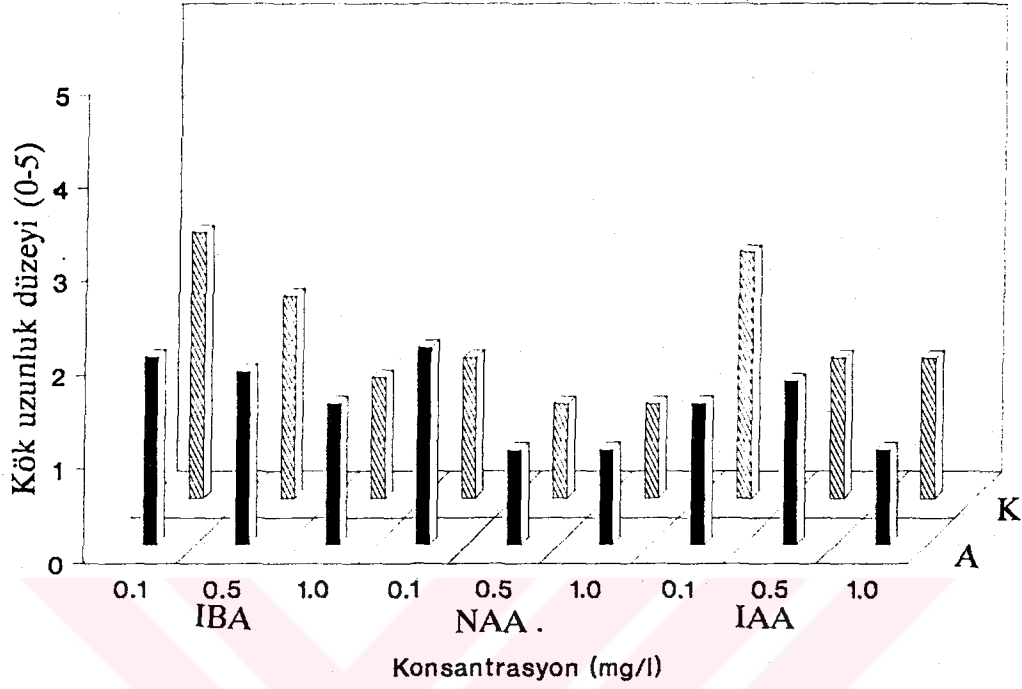
Şekil 4.9. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık (A) koşullarda oksin uygulamalarının köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri.

Kuru madde bakımından en etkili oksin IBA ve en etkili konsantrasyon 0.1 mg/l olmuştur. En fazla kuru madde miktarı (13.53), Kök uzunluk düzeyi en yüksek (2.83) ve Kallus düzeyi düşük olan (0.85) karanlık koşulda 0.1 mg/l IBA'dan elde edilmiştir (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.11). Normal aydınlık koşulda 0.1 mg/l IAA'dan ise kuru madde elde edilememiştir.

Çizelge 4.17. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodun (A) oksinlerle birlikte kallus düzeyine etkileri

oksin x konsantrasyon x koşul

Konst. (mg/l)	Oksin						Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA		
	A	K	A	K	A	K	
0.1	1.65 cde	0.85 f	0.95 f	1.25 def	1.2 def	0.9 f	1.14 b
0.5	2.3 ab	1.75 bcd	1.9 bc	0.9 f	1.0 f	0.7 f	1.43 a
1.0	2.0 bc	2.85 a	1.1 ef	1.15 def	0.75 f	1.15 def	1.5 a
Oksin ortalama	1.9 a		1.21 b		0.95 c		
Koşul ort.	A 1.43 a			K 1.28 a			

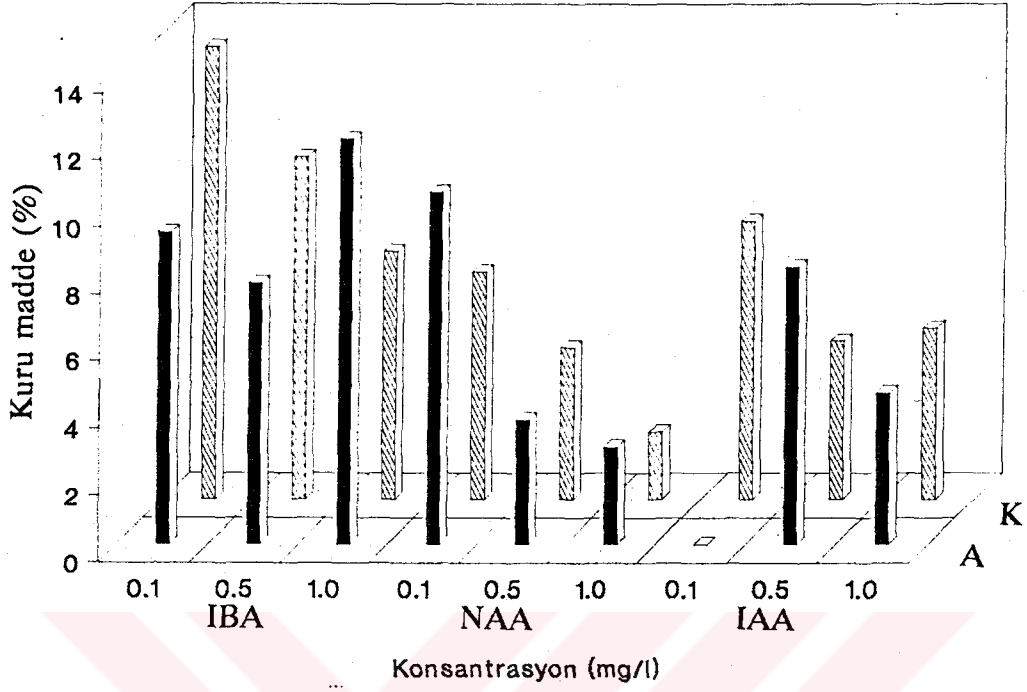


Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.10. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık (A) koşullarda oksin uygulamalarının kök uzunluk ve kullus düzeyi üzerine etkileri.

Çizelge 4.18 Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodun (A) oksinlerle birlikte kuru madde (%) üzerine etkileri

Konst. (mg/l)	Oksin							Konst.Ort.
	IBA		NAA		IAA			
	A	K	A	K	A	K		
0.1	9.3 abcd	13.53 a	10.5 abc	6.8 bcdef	0 g	8.3 abcde	8.08 a	
0.5	7.83 bcde	10.2 abc	3.7 efg	4.5 defg	8.38 abcde	4.7 defg	6.55 ab	
1.0	12.08 ab	7.45 bcdef	2.9 efg	2.2 fg	4.5 fg	5.1 cdefg	5.71 b	
Oksin ortalama	10.07 a		5.1 b		5.17 b			
Koşul ortl	A 6.58 a			K 6.98 a				



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.11. Nonpareil çeşidinde agarla katılaştırılmış TMS besin ortamında ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık (A) koşullarda oksin uygulamalarının kuru madde (%) üzerine etkileri.

4.5. Nonpareil Çeşidinde Mikroçelik uygulamalarının Köklenme Üzerine Etkileri

Köklenme başlangıcı üzerine, 1000 ppm IBA'ya 1 dakika daldırma uygulaması en etkili olmuş ve en erken köklenme başlangıcı (%15 >) 5. günde bu uygulamada görülmüştür. En geç köklenme başlangıcı ise 13. günde 3000 ppm IBA'ya 5 saniye (%25) ve kontrolde 1 dakika daldırma (%10) uygulamasında görülmüştür (Çizelge 4.19).

3000 ppm IBA'ya yaralama yapılarak ve yaralama yapılmadan 5 saniye daldırma uygulamalarından elde edilen sonuçlar varyans analizi ile değerlendirilmemiştir. 3000 ppm IBA'ya yaralama yapılarak 5 saniye daldırma uygulamasında %50 ve yaralama yapılmadan 5 saniye daldırma uygulamasında ise %53 oranlarında köklenme elde edilmiştir (Şekil 4.12).

Yaralama uygulaması kök sayısının (5.2) yanından kallus düzeyinide (3.6) artırmıştır (Şekil 13).

İstatistiksel değerlendirme sonucunda köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi ve kallus düzeyleri bakımından IBA konsantrasyonları arasındaki farklılık %5 düzeyde önemli bulunmuştur.

Köklenme oranı bakımından en etkili konsantrasyon 1000 ppm olmuştur. Uygulama süreleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. En yüksek köklenme oranı (%90) 1000 ppm IBA'ya 2 dakika daldırma uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.12).

Çizelge 4.19. Nonpareil çeşidinde mikroçelik uygulamalarının köklenme başlangıcı ve hızı üzerine etkileri (%)

Dikimden sonraki gün sayısı	1000 ppm			2000 ppm			3000 ppm			0 ppm		
	süre											
	1 dak.	2 dak.	1 dak.	2 dak.	1 dak.	2 dak.	1 dak.	2 dak.	5 sn.	Yarılanma 5 sn.	1 dak.	2 dak.
5	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	60	25	20	5	15	0	0	0	10	0	0	10
9	60	25	20	5	20	5	20	0	10	0	0	10
11	60	25	20	5	20	5	20	0	10	0	0	10
11	75	70	40	20	45	20	45	25	25	10	10	20
15	75	85	50	30	55	20	55	25	30	10	10	20
17	75	85	50	35	55	20	55	25	30	10	10	20
19	75	85	55	35	55	25	55	25	30	10	10	20
21	75	90	60	40	60	30	60	37	30	10	10	20
23	85	90	65	40	60	45	60	53	50	10	10	20

Kök Sayısı bakımından kontrol dışında diğer IBA konsantrasyonları arasında farklılık önemli bulunmamıştır. En az (1.0) kök sayısı kontrolde 1 dakika uygulamasından en fazla kök sayısı ise 1000 ppm IBA'ya 1 dakika (6.0) uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.12).

Kontrolde köklenme oranları ve kök sayıları, düşük olmasına karşın kök uzunluk düzeyi yüksek olmuştur. En fazla kök uzunluk düzeyi (4.5) kontrolde 2 dakika uygulamasından elde edilirken bunu 1000 ppm'e 1 ve 2 dakika (3.0 ve 2.62), kontrolde 1 dakika (2.0) uygulamaları izlemiş ve aralarındaki farklılık önemli bulunmamıştır. 2000 ve 3000 ppm IBA konsantrasyonlarında ise kök uzunluk düzeyleri (1.0-1.44) düşük olmuştur (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.13)

Kallus düzeyi bakımından 2000 ve 3000 ppm IBA kallus düzeyini artırarak (3.0-3.2) olumsuz etki yapmıştır. Kontrolde ise kallus görülmemiştir (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.13).

Çizelge 4.20. Nonpareil çeşidinde mikroçelik uygulamalarının köklenme oranı (%), kök sayısı ve kök uzunluk düzeyi üzerine etkileri

Köklenme oranı

Uygulama süresi	IBA ppm				Uyg.ort.
	0	1000	2000	3000	
1 dak.	10 d	85 ab	65 abc	45 bc	51.25 a
2 dak.	20 cd	90 a	45 bc	60 abc	53.75 a
Konst. ort	15 c	87.5 a	55 b	52.5 b	

Kök sayısı

Uygulama süresi	IBA ppm				Uyg. ort.
	0	1000	2000	3000	
1 dak.	1.0 c	6.0 a	4.6 ab	3.2 abc	4.18 a
2 dak.	2.5 bc	3.86 ab	4.6 ab	5.1 ab	4.01 a
Konst. ort.	1.75 b	4.93 a	4.6 a	4.15 a	

Kök uzunluk düzeyi

Uygulama süresi	IBA ppm				Uyg. ort.
	0	1000	2000	3000	
1 dak.	2.0 ab	3.0 ab	1.2 b	1.1 b	1.83 a
2 dak.	4.5 a	2.62 ab	1.0 b	1.44 b	2.39 a
Konst. ort.	3.25 a	2.81 ab	1.1 b	1.27 b	

Kuru madde bakımından IBA konsantrasyonları ve uygulama süreleri arasındaki farklılık önemli bulunmasa da kuru madde miktarları 1000 ppm IBA ve kontrolde daha fazla olmuştur. En fazla kuru madde (15.3) en fazla kök uzunluk düzeyi görülen (4.5) kontrolde 2 dakika uygulamasından elde edilmiştir. Bunu 1000 ppm'e 1 (13.6) ve 2 dakika (12.2) daldırma uygulamaları izlemiştir. En az kuru madde (2.9) 3000 ppm'e 1 dakika daldırma uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.14).

3000 ppm IBA'da sürgünlerde "deformasyonlar" ve sürgün gövdesinde aşırı kallus oluşumu görülmüştür (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Nonpareil çeşidinde 3000 ppm IBA uygulamalarında kallus oluşumu.

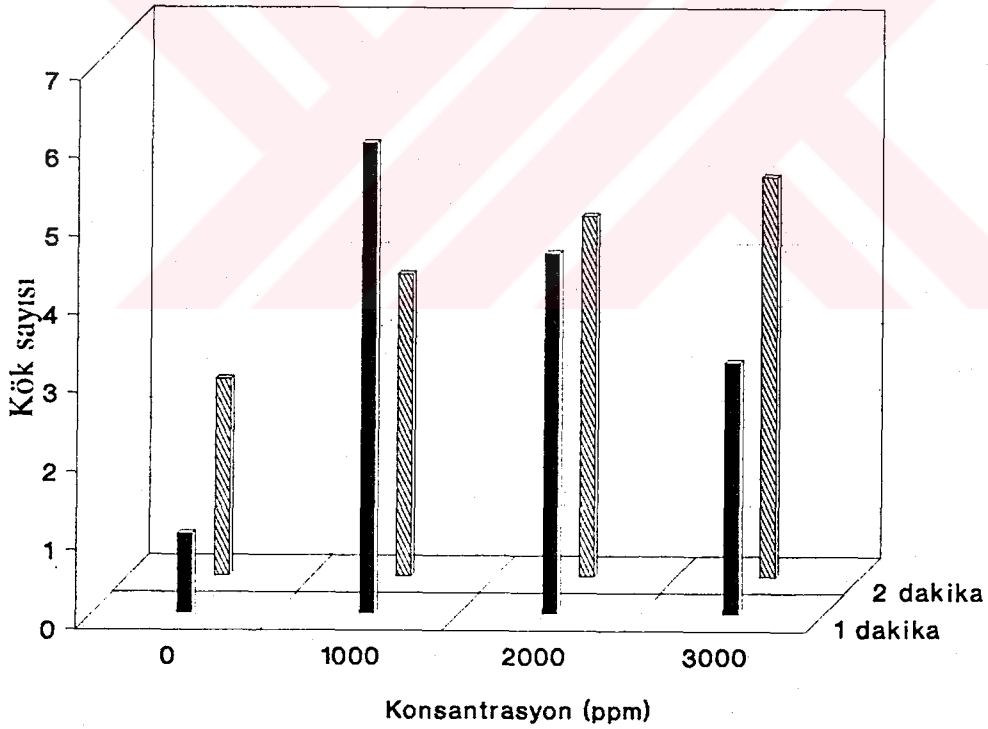
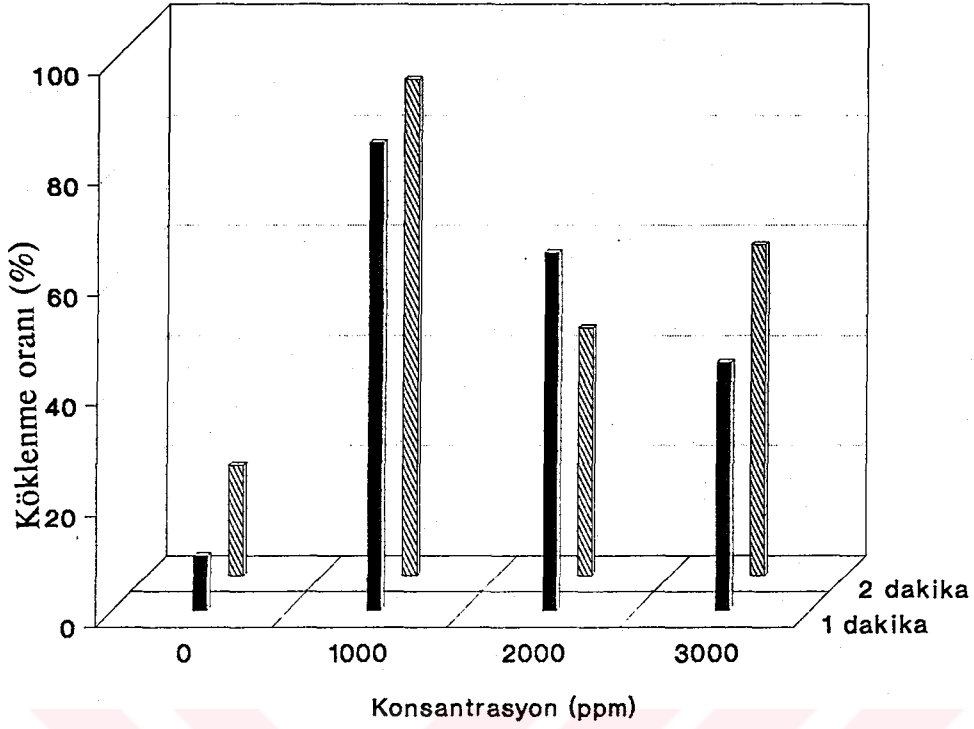
Çizelge 4.21. Nonpareil çeşidinde mikroçelik uygulamalarının kallus düzeyi ve kuru madde (%) üzerine etkileri

Kallus düzeyi

Uygulama süresi	IBA ppm				Uyg. ort.
	0	1000	2000	3000	
1 dak.	0 d	0.8 cd	3.0 ab	3.1 ab	1.73 a
2 dak.	0 d	1.9 bc	3.0 ab	3.2 a	2.03 a
Konst. ort.	0 c	1.35 b	3.00 a	3.15 a	

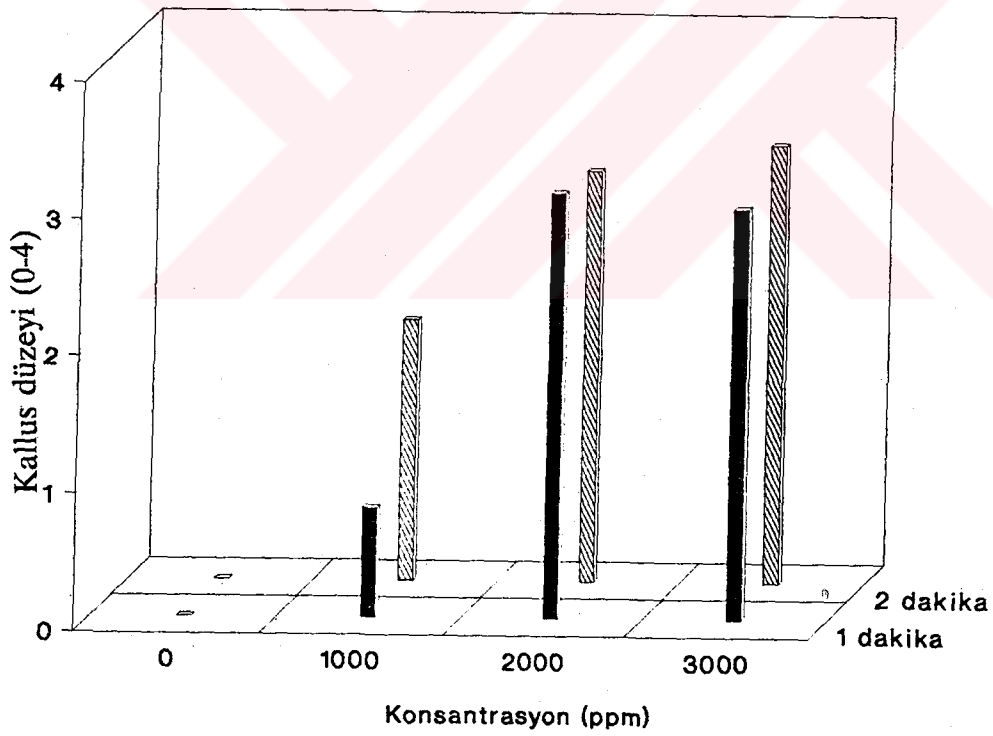
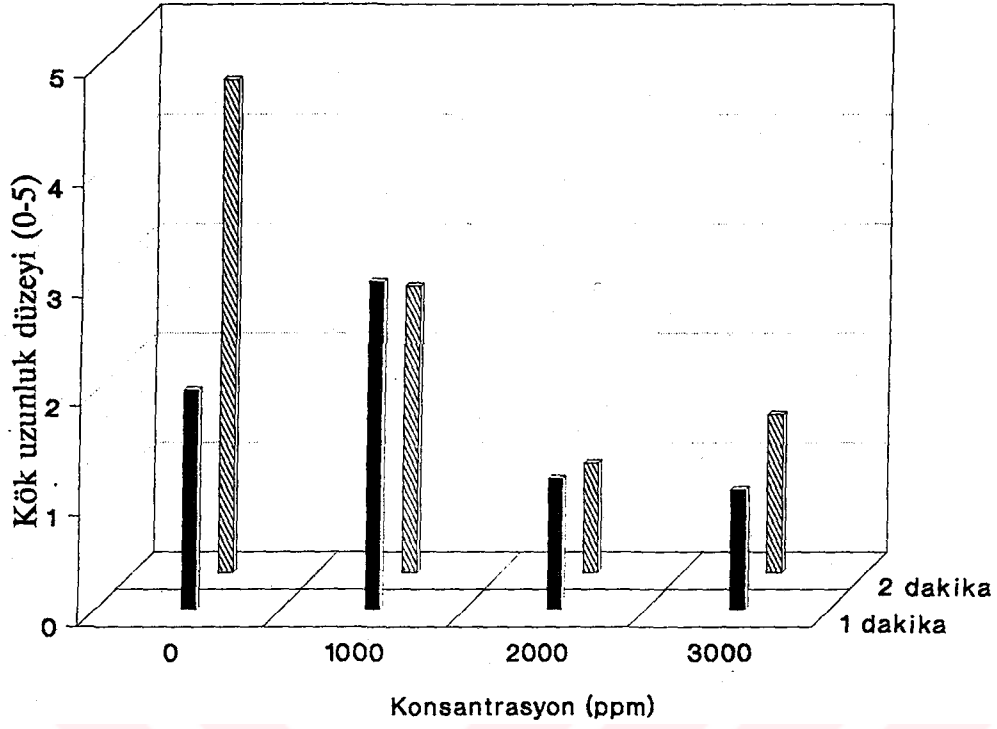
Kuru madde (%)

Uygulama süresi	IBA ppm				Uyg. ort.
	0	1000	2000	3000	
1 dak.	7.35 ab	12.2 ab	8.8 ab	2.9 b	7.81 a
2 dak.	15.3 a	13.6 ab	4.7 ab	4.9 ab	9.63 a
Konst. ort.	11.33 a	12.9 a	6.75 a	3.9 a	



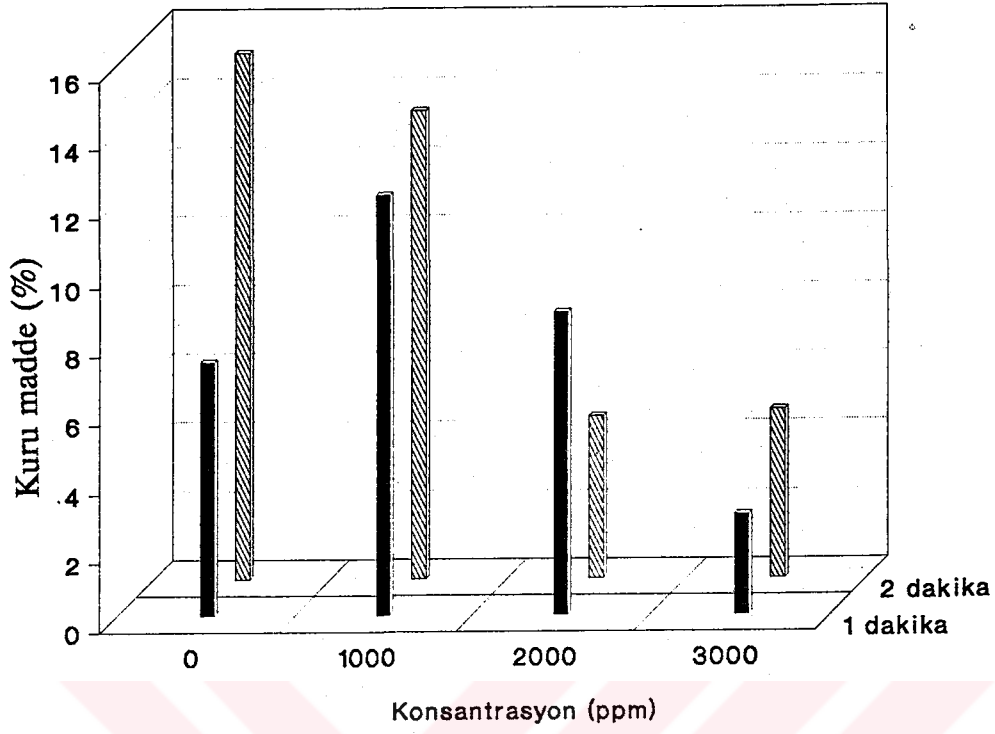
Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.12. Nonpareil çeşidinde mikroçelik uygulamalarının köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri.



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.13. Nonpareil çeşidinde mikroçelik uygulamalarının kök uzunluk ve kallus düzeyi üzerine etkileri.



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.14. Nonpareil çeşidinde mikroçelik uygulamalarının kuru madde (%) üzerine etkileri.

4.6. Nonpareil Çeşidinde Oksinli Ortamdan Oksinsiz Ortama Transferin Köklenme Üzerine Etkileri

Nonpareil Çeşidinde yapılan denemelerde oluşan köklerin uzunluk düzeylerinin yetersiz olduğu görülmüştür. Bu durumun, mikrosürgünlerin sürekli oksinli ortamda tutulmasından kaynaklandığı düşünülerek ve literatür verileride (Rugini ve Verma 1983, George ve Sherrington 1984, Ognjanov ve Uuganic-Varga 1989, Poniedzialek vd. 1987b, Cerovic ve Ruzic 1987, Kühne vd. 1988) dikkate alınarak, bu denemede Nonpareil çeşidinde oksinli ortamdan oksinsiz ortama transfer uygulamasının kök gelişmesine etkileri incelenmiştir.

İstatistiksel değerlendirme sonunda, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları bakımından oksinsiz ortama transfer uygulaması ile sürekli oksinli ortamda tutulan kültürleri arasındaki farklılık %5 düzeyde önemli bulunmuştur.

Köklenme sürekli oksinli ortamda bulunan kültürde 9. günde (%20), 8. günde oksinsiz ortama transfer edilen kültürlerde ise 10. günde (%20) başlamış ve köklenme oranları her iki uygulamada da %20'de kalmıştır. 4. günde oksinsiz ortama transfer edilen kültürlerde ise köklenme görülememiştir.

Kök sayısı bakımından sürekli oksinli ortam ile 8. günde oksinsiz ortama transfer uygulaması arasında farklılık görülmemiş ve kök sayıları sırasıyla 2.7 ve 2.2 olmuştur.

Kök uzunluk düzeyi 8. günde oksinsiz ortama transfer uygulamasında 3.5, sürekli oksinli ortamda ise 1.2 olmuş ve aradaki fark önemli bulunmuştur.

Kallus düzeyi sürekli oksinli ortamda, 8. günde oksinsiz ortama transfer uygulamasına göre daha yüksek ve sırasıyla kallus düzeyleri 1.7 ve 0.6 olmuştur.

Kuru madde miktarı, 8. günde oksinsiz ortama transfer uygulamasında 12.5 ve sürekli oksinli ortamda 9.7 olmuş ve aradaki farklılık önemli bulunmuştur.

Sonuç olarak oksinli ortamdan 8. günde oksinsiz ortama transfer

uygulaması ile kök uzunluk düzeyi, kuru madde miktarı, sürekli oksinli ortama göre artarken kallus düzeyi azalmıştır.

4.7. Texas Çeşidinde Mikroçelik Uygulamalarının Köklenme Üzerine Etkileri

İkinci yıl Texas çeşidinde köklendirme denemelerine mikroçelik uygulamaları ile başlanılmıştır. Bu nedenle yapılan ilk mikroçelik uygulamalarında, agarla katılaştırılmış sıvı besin ortamının yanında, sıvı besin ortamının, Texas çeşidinde köklenme üzerine etkilerini görmek amacıyla perlitle (2.5 g/tüp) desteklenmiş sıvı besin ortamı da kullanılmıştır.

İlk yıl Nonpareil çeşidinde köklenme üzerinde 3000 ppm IBA'nın, 1000 ve 2000 ppm'e göre daha etkisiz olduğu ve 3000 ppm'de mikroçeliklerin gövdelerinde aşırı kallus oluşumu görüldüğünden Texas çeşidinde sadece 0, 1000 ve 2000 ppm IBA'ya 1 ve 2 dakika daldırma uygulaması yapılmıştır. Ancak gerek agarla katılaştırılmış gerekse perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamlarında hiçbir uygulamada köklenme elde edilememiştir. Perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamlarında birinci hafta içinde kültürlerin hepsinde sararma başlamış ve bu nedenle Texas çeşidinde sıvı besin ortamı bundan sonraki köklendirme denemelerinde kullanılmamıştır.

İkinci mikroçelik uygulamalarında ise birinci mikroçelik uygulamalarında kullanılan IBA konsantrasyonlarının (1000 ve 2000 ppm) alt (250 ve 500 ppm) ve üst (4000 ve 8000 ppm) konsantrasyonları 5 saniye daldırma yapılarak denenmiş ancak hiçbir konsantrasyondan köklenme elde edilememiştir.

4.8. Texas Çeşidinde Agarla Katılaştırılmış TM ve YM Besin Ortamlarında IBA ve NAA'nın Köklenme Üzerine Etkileri

En erken köklenme başlangıcı 11. günde TM (%7.2) ve YM (%14.3) ortamlarında 1.0 mg/l IBA'da görülmüştür. Bunları 13. günde TM ortamında 0.5 ve 1.5 mg/l IBA (%7.2) ve YM ortamında 1.5 mg/l IBA (%7.2) konsantrasyonları izlemiştir.

Bu denemede sadece yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda köklenme görülmüş ve elde edilen sonuçlar varyans analizi ile değerlendirilmemiştir.

En yüksek köklenme oranı (%35.7) YM ortamında 1.5 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. Bunun %14.3 köklenme oranları ile her iki ortam kuvvetinde de 1.0 mg/l IBA ve %7.2 köklenme oranları ile TM ortamında 0.5 ve 1.5 mg/l IBA konsantrasyonları izlemiştir.

Kök sayısı, TM ortamında 1.0 ve 1.5 mg/l IBA da 5.5 ve 5.0 ve diğerleinde 3.5-1.0 arasında olmuştur Kök uzunluk düzeyleri (0.5-1.5), kuru madde miktarları (0-9.6) ve kallus düzeyleri (0-0.6) düşük olmuştur.

4.9. Texas çeşidinde Agarla Katılaştırılmış TM ve YM Besin ortamlarında, Aktif kömür, Ön Karartma ve IBA Uygulamalarının Köklenme Üzerine Etkileri

Bir önceki köklendirme denemesinde her iki ortam kuvvetinde de NAA'da köklenme elde edilmediğinden dolayı bu denemede kullanılmamıştır.

IBA'nın 1.0, 1.5, 2.0 mg/l konsantrasyonları ile birlikte 50 mg/l aktif kömür içeren ve içermeyen TM (1/1,MS-Makroelementleri) ve YM (1/2 MS makroelementleri) besin ortamlarında normal aydınlık koşul (sürekli 16 saat aydınlık-8 saat karanlık periyot) ve karanlık koşulun (10 gün ön karartmadan sonra normal aydınlık koşul) köklenme üzerine etkilerinin incelendiği bu denemede besin ortamına ilave edilen aktif kömür bütün durumlarda köklenmeyi engellerken aktif kömür içermeyen besin ortamlarında karanlık ve normal aydınlık koşullarda köklenme görülmüştür.

Köklenme başlangıcı üzerinde karanlık koşul, normal aydınlık koşula göre daha etkili olmuş ve karanlık koşulda en erken köklenme başlangıçları 12. günde TM ortamında 1.5 ve 2.0 mg/l IBA'da (%20 ve 10), YM ortamında ise 1.0 ve 1.5 mg/l IBA (%10 ve 20) konsantrasyonlarında görülmüştür. Normal aydınlık koşulda ise köklenme karanlık koşula göre bir gün gecikme ile başlanış ve en erken köklenme başlangıçları 13. günde TM ortamında 2.0 mg/l IBA (%20) ve YM ortamında ise 1.0 ve 1.5 mg/l IBA (%10'ar) konsantrasyonlarında

görülmüştür (Çizelge 4.22).

En geç köklenme başlangıçları normal aydınlık koşulda TM ortamında 1.0 ve 1.5 mg/l IBA (%20'şer) ve YM ortamında 2.0 mg/l IBA'da (%20) görülmüş ve toplam köklenme oranları %20'de kalmıştır.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda kallus düzeyi ve kuru madde bakımından IBA konsantrasyonları, köklenme oranı ve kök sayısı bakımından da normal aydınlık ve karanlık koşullar arasındaki farklılık %5 düzeyde önemli bulunmuştur. Bunların yanında faktörlerin interaksyonları incelendiğinde kök uzunluk düzeyi bakımından konsantrasyon x ortam kuvveti ve konsantrasyon x aydınlatma koşulu, kuru madde bakımından yine konsantrasyon x aydınlatma koşulu arasındaki interaksyonlar da %5 düzeyde önemli bulunmuştur.

Köklenme oranı üzerinde karanlık koşul önemli düzeyde etkili olmuş ve en yüksek köklenme oranı (%80) YM ortamında IBA'nın 1.5 mg/l konsantrasyonundan elde edilmiştir. Bunu %60 köklenme oranları ile YM ortamında 1.0 mg/l ve TM ortamında 1.5 mg/l IBA konsantrasyonları takip etmiştir. En düşük köklenme %20 oranlarında normal aydınlık koşulda TM ortamında 1.0 ve 1.5 mg/l, YM ortamında 1.0 ve 2.0 mg/l, karanlık koşulda TM ortamında 1.0 mg/l IBA konsantrasyonlarından elde edilmiştir (Çizelge 23 ve Şekil 4.16).

Çizelge 4.22. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında, 10 gün karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının köklenme başlangıcı ve hızı üzerine etkileri (%)

IBA (mg/l)	TM						YM					
	1.0		1.5		2.0		1.0		1.5		2.0	
	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K	A	K
12	0	0	0	20	0	10	0	10	0	0	20	0
13	0	10	0	20	20	10	10	10	10	20	20	20
15	0	20	0	60	30	40	10	50	10	70	0	20
17	20	20	0	60	30	40	10	60	30	80	20	30

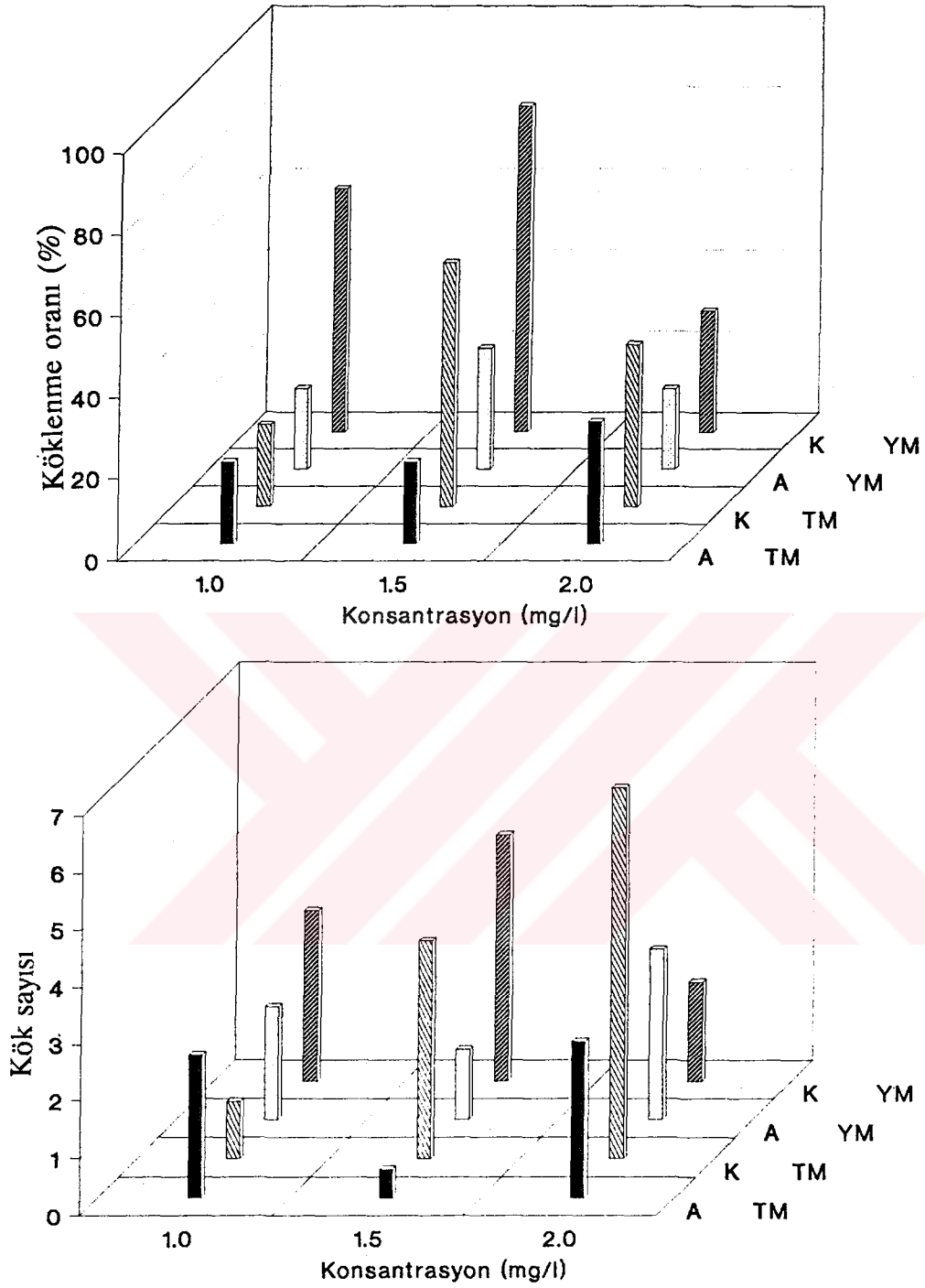
Çizelge 4.23. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri

Köklenme oranı

IBA (mg/l)	1.0		1.5		2.0		Koşul ort.
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
A	20 b	20 b	20 b	30 ab	30 ab	20 b	23.33 b
K	20 b	60 ab	60 ab	80 a	40 ab	30 ab	48.33 a
Konst. ort.	30 a		47.5 a		30 a		
O.K. Ort.	TM 31.66 a			YM 40.0 a			

Kök sayısı

IBA (mg/l)	1.0		1.5		2.0		Koşul ort.
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
A	2.5 bc	2.0 bc	0.5 c	1.25 bc	2.75 abc	3.0 abc	2.0 b
K	1.0 b	3.0 abc	3.83 ab	4.33 ab	6.5 a	1.75 bc	3.4 a
Konst ort.	2.13 a		2.48 a		3.5 a		
O.K. ort.	TM 2.85 a			YM 2.56 a			



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.16. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının köklenme oranı (%) ve kök sayısı üzerine etkileri.

Kök sayısı bakımından ortam kuvvetleri ve IBA konsantrasyonları arasındaki farklılık önemli bulunmaz iken karanlık koşul kök sayısı üzerinde daha etkili olmuştur. En fazla kök sayısı (6.5) TM ortamında IBA'nın 2.0 mg/l konsantrasyonundan elde edilmiş ve bunu yine karanlık koşulda YM ve TM ortamlarında 1.5 mg/l (4.33 ve 3.83), YM ortamında 1.0 mg/l (3.0), normal aydınlık koşulda YM ve TM ortamlarında 2.0 mg/l (3.0 ve 2.75) IBA konsantrasyonları işlemiş ve aralarındaki farklılık önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.23 ve Şekil 4.16). En az kök sayısı (0.5) ise normal aydınlık koşulda TM ortamında 1.5 mg/l IBA'dan elde edilmiştir.

Kök uzunluk düzeyi üzerinde IBA konsantrasyonları, ortam kuvvetleri ve aydınlatma koşulları arasındaki farklılık önemli bulunmaması, ancak aydınlatma koşulu x konsantrasyon ve konsantrasyon x ortam kuvveti interaksyonu önemli bulunmuştur. En fazla kök uzunluk düzeyi (2.37), karanlık koşulda en yüksek köklenme oranı (%80) elde edilen YM ortamında IBA'nın 1.5 mg/l konsantrasyonundan elde edilmiştir. En az kök uzunluk düzeyi (0.5) ise normal aydınlık koşulda TM ortamında 1.5 mg/l IBA'da görülmüştür (Çizelge 4.24 ve Şekil 4.17).

Kallus düzeyi üzerinde ortam kuvvetleri ve normal aydınlık ve karanlık koşullar önemli düzeyde farklılık yapmamıştır. En fazla kallus düzeyleri (1.5 ve 1.7), 2.0 mg/l ve en az kallus düzeyleri (0.2 ve 0.4) 1.0 mg/l IBA'dan elde edilmiş ve IBA konsantrasyonları arasındaki farklılık önemli olmuştur (Çizelge 4.25 ve Şekil 4.17). Genelde her iki ortam kuvvetinde de IBA konsantrasyonlarının artmasıyla kallus düzeyleri de artmıştır.

Kuru madde bakımından, normal aydınlık ve karanlık koşul ve ortam kuvvetleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Kuru madde üzerine en etkili konsantrasyon 2.0 mg/l IBA olmuştur (Çizelge 4.26 ve Şekil 4.18).

Çizelge 4.24. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının kök uzunluk düzeyi üzerine etkileri

IBA (mg/l)	1.0		1.5		2.0		Koşul ort.
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
A	1.0 bc	1.5 abc	0.5 c	2.0 ab	2.0 ab	1.5 abc	1.42 a
K	1.5 abc	1.17 bc	1.67 ab	2.37 a	1.17 bc	1.0 bc	1.48 a
Konst. Ort.	1.29 a		1.64 a		1.42 a		
O.K. ort.	TM 1.31 a			YM 1.59 a			

Konsantrasyon x Aydınlatma koşulu

Koşul	1.0	1.5	2.0
A	1.25 b	1.25 b	1.75 b
K	1.34 ab	2.02 a	1.09 b

Konsantrasyon x ortam kuvveti

ortam kuvveti	1.0	1.5	2.0
TM	1.25 b	1.09 b	1.59 ab
YM	1.34 ab	2.19 a	1.25 b

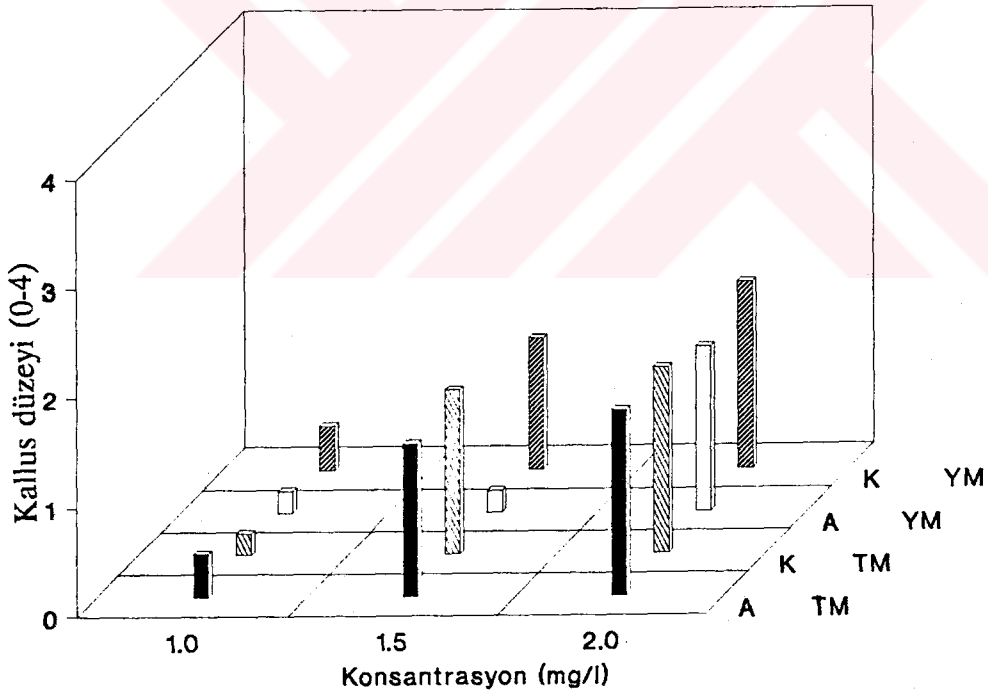
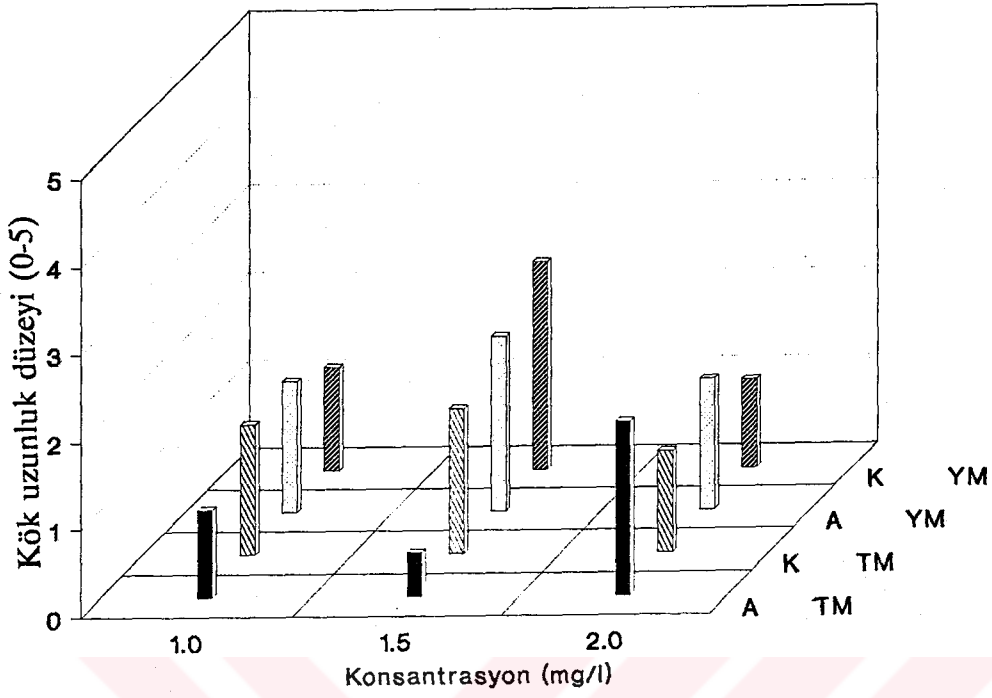
Çizelge 4.25. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında 10 gün ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının kallus düzeyi üzerine etkileri

Kallus düzeyi

IBA (mg/l)	1.0		1.5		2.0		Koşul ort.
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
A	0.4 bc	0.2 c	1.4 ab	0.2 c	1.7 a	1.5 ab	0.90 a
K	0.2 c	0.4 bc	1.5 ab	1.2 abc	1.7 a	1.7 a	1.11 a
Konst. ort.	0.3 c		1.08 b		1.65 a		
O.K. ort.	TM 1.15 a			YM 0.87 a			



Şekil 4.16. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış YM besin ortamında 10 gün ön karartma uygulamasında 2.0, 1.0 ve 1.5 mg/l IBA konsantrasyonlarında kök uzunluk düzeyleri (1, 2 ve 3).



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.17. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının kök uzunluk ve kallus düzeyi üzerine etkileri.

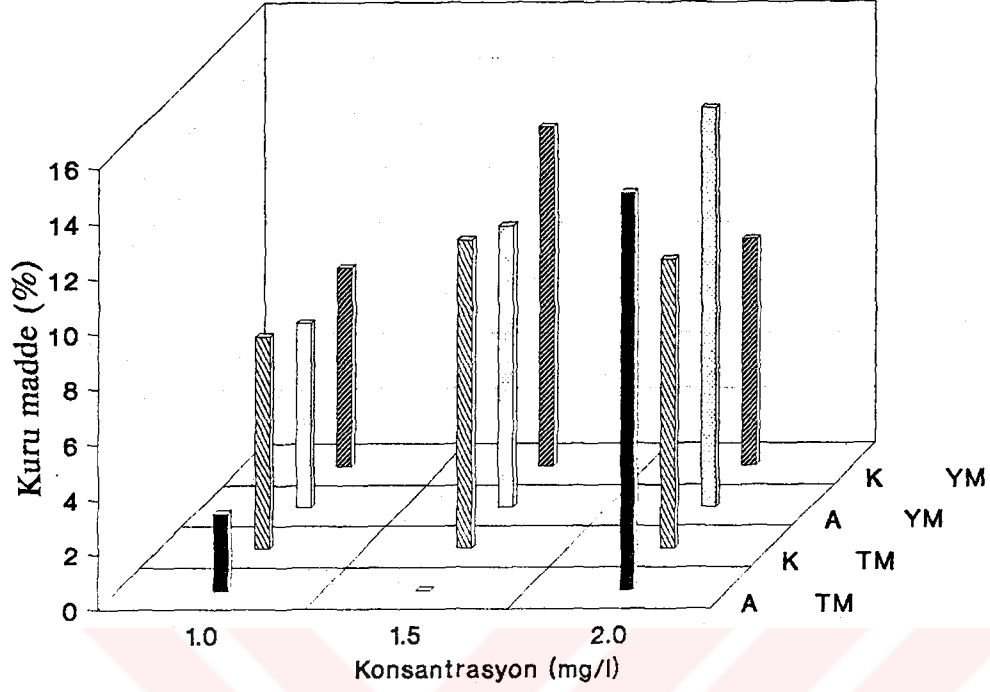
Çizelge 4.26. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında 10 gün ön karartma (K), aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının kuru madde (%) üzerine etkileri

Kuru madde

IBA (mg/l)	1.0		1.5		2.0		Koşul ort.
	TM	YM	TM	YM	TM	YM	
A	2.8 bc	6.7 abc	0 c	10.2 ab	14.4 a	14.5 a	8.10 a
K	7.7 ab	7.2 abc	11.2 a	12.3 a	10.5 ab	8.2 ab	9.52 a
Konst. ort.	6.1 b		8.43 ab		11.90 a		
O.K. ort.	TM 7.77 a			YM 9.85 a			

Konsantrasyon x koşul

Koşul ort.	1.0	1.5	2.0
A	4.75 c	5.1 c	14.45 a
K	7.45 bc	11.75 ab	9.35 abc



Duncan testine göre, $P < 0.05$

Şekil 4.18. Texas çeşidinde agarla katılaştırılmış TM ve YM besin ortamlarında ön karartma (K) ve aydınlık-karanlık periyodu (A) ile IBA konsantrasyonlarının kuru madde (%) üzerine etkileri.

4.10. Nonpareil ve Texas Çeşitlerinde *Agrobacterium, hizogenes* İnokulasyonunun Köklenme Üzerine Etkileri

Her iki çeşitte de mikro sürgünlerin basal kısmına inoküle edilen *A. rhizogenese* köklenmeyi teşvik etmemiştir. İnoküle edilen bakteri basal kısma yakın ortamda gelişme göstermiştir.

Bu denemede oksinli ortamlarda kurulan denemelerdeki kültürlere göre mikrosürgünlerde gelişme görülmüştür.

5. TARTIŞMA

Bu araştırmada, dünya badem üretiminin büyük bir kısmını karşılayan ve ülkemizde yapılan adaptasyon çalışmalarında da iyi sonuçlar veren Nonpareil ve Texas badem çeşitlerinin *in vitro* klonal çoğaltımında köklenme üzerine etki eden faktörler araştırılmıştır. Bu amaçla IBA, NAA ve IAA'nın farklı konsantrasyonlarının köklenme üzerine etkileri esas alınarak, MS besin ortamının fiziksel yapısı ve kuvvetinin, ön karartmanın (10 gün karartmadan sonra 16 saat aydınlık-8 saat karanlık), aktif kömürün, mikroçelik uygulamalarının, oksinli ortamdan oksinsiz ortama transferin ve *Agrobacterium rhizogenes* inokülasyonunun köklenme başlangıcına, köklenme oranına, kök sayısına, kök uzunluk düzeyine, kallus düzeyine ve kuru madde miktarlarına etkileri incelenmiştir.

Nonpareil çeşidinde en iyi köklenme IBA ve NAA uygulamalarından elde edilirken, Texas çeşidinde sadece IBA uygulamaları etkili olmuştur. Bu durumun Rugini ve Verma (1983) ve Rugini'nin (1984) Feragness badem çeşidinde yapmış olduğu köklendirme deneme sonuçları ile uyum içerisindedir.

Nonpareil ve Texas çeşitlerinde 16 saat aydınlık-8 saat karanlık inkübasyon koşullarında ortam kuvvetinin azaltılması köklenmeyi olumsuz yönde etkilemiştir. Ancak Texas çeşidinde 10 gün ön karartma yapılan uygulamalarda YM ortamı, köklenme oranı ve kök sayısını TM ortamına göre daha da arttırmıştır. Hammerschlag ve Bauchan'ın (1986) şeftalide, Mante'nin (1990) şeftali ve erikte Bassi'nin (1984) erikte yaptıkları çalışmalarda ortam kuvvetinin azaltılmasının köklenme üzerine daha etkili olduğunu belirtmektedirler. Ortam kuvvetinin köklenme üzerine etkisinin çeşitlere göre değiştiği ve farklı sonuçların alınmasında kültür koşullarının etkili olduğu görülmüştür.

Nonpareil çeşidinde kağıt köprülerle desteklenmiş sıvı besin ortamında köklenme elde edilememiştir. Buna karşın perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamında azda olsa köklenme görülmüş ancak kök uzunlukları çok yetersiz olmuştur. Texas çeşidinde ise Perlitle desteklenmiş sıvı besin ortamında

köklenme elde edilememiştir. Rugini ve Verma (1983) Feragness çeşidinde yaptıkları çalışmalarda 14 gün agarlı ortamda köklenme uyarıldıktan sonra bitkileri, kök uzunluğunu artırmak için vermikulitle desteklenmiş sıvı besin ortamına transfer etmişler ve sıvı besin ortamının kök gelişmesini artırdığını belirtmişlerdir.

Köklendirme ortamına ilave edilen aktif kömür her iki çeşitte de köklenmeyi engellemiştir. Bu durum Antonelli ve Chiariotti'nin (1988) bildirdikleri sonuçlarla uyum içerisindedir. Costandin vd.(1977) ve Weatherhead vd.(1978) aktif kömürün ortamdaki oksinleri absorbe ettiğinden dolayı köklenmede olumsuz etki yapmış olabileceğini belirtmektedirler (Antonelli ve Chiariotti 1988).

10 Gün karartma uygulaması, Nonpareil çeşidinde olumsuz etki yaparken, Texas çeşidinde köklenme oranı ve kök sayısını artırarak daha etkili olmuştur. Nonpareil çeşidinde görülen bu durum Rugini ve Verma (1983) ve Rugini'nin (1984) elde ettiği sonuçlarla bağdaşmamaktadır. Buna karşın Rugini vd.(1988), üç ayrı badem çeşidinde yaptıkları çalışmada 10 gün karartma uygulamasının çeşitlerin köklenmesi üzerinde farklı etki yaptığını belirtmektedirler.

Nonpareil çeşidinde yapılan mikroçelik uygulamaları köklenmede etkili olmuş ve elde ettiğimiz sonuçlar Rodriguez ve Diaz-Sala'nın (1991), Dolcet-Sanjuan ve Machteld'in (1990) elde ettiği sonuçlarla benzerlik göstermiştir. Ancak Texas çeşidinde mikroçelik uygulamalarında köklenme elde edilememiştir. Bu durumun çeşit farklılığından veya denemelerin aynı yılda yapılmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir.

Denemelerin değerlendirilmesinde yapılan varyans analizlerinin pek çoğunda 2'li veya 3'lü interaksiyonların önemli olması, uygulanan oksinlerin, konsantrasyonlarının, besin ortamının fiziksel ve kimyasal yapısının ve kültür koşullarının bademin *in vitro* köklenmesinde önemli düzeyde etkileşmelere neden olduğunu göstermiştir.

Bu araştırmada MS besin ortamı esas alınarak, köklenme üzerine etkili olabilecek pekçok faktör değişik uygulamalarla araştırılmış ve ileride

yapılacak olan çalışmalara ışık tutacak sonuçlar elde edilmiştir. Bu denemelerde oldukça yüksek köklenme oranı ve kök sayısı elde edilmesine karşın sürgün ve kök gelişmesi yetersiz olmuştur. Bundan sonraki çalışmalarda, kök ve sürgün gelişmesi üzerine etkili olabilecek besin ortamlarının ve inkübasyon koşullarının denenerek, bu çeşitlerin vegetatif çoğaltımında uygulamaya aktarılacak sonuçlar alınabilecektir.

Köklenmede en iyi sonuçlar IBA ve NAA'nın 0.5 ve 1.0 mg/l konsantrasyonlarından elde edilmiştir. Ancak NAA, mikrosürgünlerin bazal kısmında istenilmeyen kallus oluşumuna sebep olmuştur. Elde edilen bu sonuçlar Antonelli ve Chiariotti'nin (1988) bulguları ile uyum içindedir. Rugini ve Verma (1983) Ferragnes badem çeşidinde IBA ve NAA'nın 1.0 mg/l konsantrasyonunu, Rugini (1984) ise aynı çeşitte 1.0 mg/l NAA'yı önermektedirler. Bu durumun çeşit farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bizim yaptığımız çalışmada da aynı besin ortamlarında Texas çeşidinde, Nonpareil çeşidinden farklı sonuçlar elde edilmiş ve Texas çeşidinde köklenme üzerinde en etkili oksin konsantrasyonunun 1.5 mg/l IBA olduğu görülmüştür.

Birçok araştırmacı (Hammerschlag ve Bauchan 1986, Mante 1990, Bassi 1984, Kühne 1988) ortam kuvvetinin azaltılmasının köklenme üzerinde daha etkili olduğunu belirtirken, bizim çalışmamızda Nonpareil çeşidinde tam kuvvette MS ortamı, Texas çeşidinde ise MS besin ortamının makroelement içeriklerinin yarı kuvvette (1/2) azaltılmasının sadece 10 gün karartma uygulamasında etkili olduğu görülmüştür. Farklı bulgular elde edilmesinin çeşit, kültür koşulları ve besin ortamının kimyasal yapısının farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sıvı besin ortamında her iki çeşitte de köklenme elde edilememiştir. Elde edilen bu sonuç bir çok çeşitte elde edilen sonuçlarla bağdaşmamaktadır. Bizdeki durumun çeşit ve sıvı besin ortamında kullanılan destek materyalinin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Denemelerimiz sonucunda köklenme üzerinde, oksin, konsantrasyon, besin ortamı ve ışık istekleri bakımından çeşitler arasında farklılıkların olduğu görülmüştür.

Yüksek köklenme oranları elde edilen uygulamaların, ileride yapılacak

olan çalışmalarda değişik besin ortamlarında ve kültür koşullarında (sıcaklık, n karartmanın artırılması veya azaltılması vb.) denenmesi ile sürgün ve kök kalitesi artırıldığında elde edilen sonuçların uygulamaya aktarılmasıyla badem çeşitlerinin hızlı vegetatif çoğaltımı sağlanabilecektir.



KAYNAKÇA

- ALMEHDI, A.A. and PARFIT, D.E., 1986. *in vitro* Propagation of Peach: I. Propagation of "Lovel" and "Nemaguard" Peach Rootstocks. Fruit Varieties Journal. 40(1):12-17.
- ALVEREZ, R., NISSEN, S. and SUTTER, E.G., 1989. Relationship between Indole-3-Acetic Acid Levels in Apple (*Malus pumila* Mill.) Rootstocks of Indole-3-Butyric Acid. Hort. Abst. 59(12):1108.
- ANTONELLI, M. and CHIARIOTTI, A., 1988. *in vitro* Rooting of Different Peach Genotypes. Acta Hort. 227:414-417.
- ANONYMOUS 1991a. Tarımsal Yapı ve Üretim. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü. Ankara.
- ANONYMOUS 1991b. F.A.O. Yearbook, Production. Vol 45. Rome.
- BASSI, D., 1984. *in vitro* Propagation of the European Plum Prune d'Agen, Clone 707. Hort. Abst. 54(6):850.
- CEROVIC, R. and RUZIC, D., 1987. Micropropagation of Sour Chery (*Prunus cerasus* L.) cv. Sumadinka. Hort. Abst. 57(11):876.
- DOLCET-SANJUAN, R., MOK, D.W.S. and MOK, M.C., 1990. Micropropagation of *Pyrus* and *Cydonia* and their Responses to Fe-limiting Conditions. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 21:191-199.
- DRADI, G. and BIONDI, S., 1991. *in vitro* Commercial Propagation of *Prunus serotina* Subst. Capuli. Hort. Abst. 109
- DRIVER, J.A. and KUNYUK, A.H., 1984. *in vitro* Propagation of Paradox Walnut Rootstock. HortScience. 19(4):507-508.
- DRUART, P.H. and GRUSELLE, R., 1986. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol:1. Ed: Y.P.S. Bajaj. Fruit Trees. Berlin Heidelberg New York Tokyo.
- GEORGE, E.F. and SHERRINGTON, P.A., 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Eastern Press, Reading England. S.358-367.
- HEILE-SUDHOLT, C., HUETTEMAN, C.A., PREECE, J.E., SAMBEEK, J.W.V. and GAFFNEY, G.R., 1986. *in vitro* Embryonic Axis and Seedling Shoot tip Culture of *Juglans nigra* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 6(2):189-197.

- HAMMERSCHLAG, F., 1982. Factors Influencing *in vitro* Multiplication and Rooting of the Plum Rootstock Myrobalan (*Prunus cerasifera* Ehrh.). J.Amer.Soc.Hort.Sci.107(1):44-47
- HAMMERSCHLAG, F. and BAUCHAN, G.R., 1986. Rooting, Acclimatization and Genetic Stability of *in vitro* Propagated Peach Cultuvars. Hort. Abst. 56 (9):907.
- HANSEN, K.C., 1984. *in vitro* Propagation of Pecan Seedlings. Hortscience. 19 (2):237-239.
- KARVAR, S., GÜLŞEN, Y., 1990. Bademin (*Prunus amygdalus* Batsch.) *in vitro* Vegetatif Çoğaltımında Besin Ortamı İçeriğinin Sürgün Verimine Etkileri. A.Ü. Ziraat Fakültesi, Basılmamış Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
- KATAEVA, N.V. and BUTENKO, R.G., 1987. Clonal Micropropagation of Apple Trees. Acta Hort. 212:585-588.
- KUHNE, U., GENNERICH, S., HENNIG, B., HANKE, V., 1988. Possibilities of Improving *in vitro* Rooting in Pome and Stone Fruits. GARTENBAU. 35(6):180-182.
- MARINO, G., 1984. The *in vitro* Propagation of the Japanese Plum Cultivar Santa Rosa: The Effects of Different Mineral and Hormonal Components on Multiplication and Rooting. Hort. Abst. 54(6):64.
- MANTE, S., SCORZA, R. and CORDTS, J.M., 1990. Plant Regeneration from Cotyledons of *Prunus persica*, *Prunus domestica* and *Prunus cerasus*. Hort. Abst. 60(8):680-681.
- MEHRA, A. and MEHRA, P.N., 1974. Organogenesis and Plantlet Formation *in vitro* in Almond. Botanical Gazette. 135(1):61-73.
- MILLER, G.A., COSTON, D.C., DENNY, E.G. and ROMEO, M.E., 1982. *in vitro* Propagation of "Nemaguard" Peach Rootstock. Hortscience. 17 (2):194.
- MULLINS, K.V., 1987. Micropropagation of Chesnut (*Castanea sativa* Mill.). Acta Hort. 212:525-529.
- MUNSUZ, N., ATAMAN, Y. ve ÜNVER, İ. 1982. Tarımda Yetiştirme Ortamları ve Perlit. Yayın no:102. Etibank Matbaası. Ankara.

- NEDELICHEVA, S., GANEVA, D. and ATANASOV, A.I., 1986. *in vitro* Propagation of Three Clonal Prunus Rootstocks. Hort. Abst. 56(3):167.
- NEMETH, G. 1986. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol:1. Ed:Y.P.S.Bajaj.Fruit Trees. Berlin Heidelberg New York Tokyo.
- OGNJANOV,V. and VUJANIC-VARGA,D., 1991. Vegetative Propagation of Peach *in vitro*. Hort. Abst. 61(2):211.
- ORLIKOWSKA, T., 1989. Propagation of Quince S1 (*Cydonia oblonga* Mill.) *in vitro*. Hort. Abst. 59(6):524.
- PAUL, L. and FEUCHT , W., 1985. Rooting Sweet and Sour Cherry Cultivar and Clones *in vitro*. Hort. Abst. 55(9):679.
- PATENA, L., SUTTER, E.G. and DANDEKAR, A. M., 1988. Root Induction by *Agrobacterium rhizogenes* in a Difficult-to-Root Woody Species. Acta Hort. 227:324-329.
- PEREZ, C., RODRIGUEZ, A., REVILLA, A., RODRIGUEZ, R., SANCHEZ-TAMES, R., 1987. Filbert Plantlet Formation Through "*in vitro*" Culture. Acta Hort. 212:505-510.
- PETROVIĆ, D.M.,1991. Possibility of *in Vitro* Propagation of Apple. Hort. Abst. 61(3):204.
- PONIEDZIALEK, W., MALODOBRY, M., LECH, W. and MALODOBRY, A., 1987a. Rooting of Tart Cherry Shoots on Different Media.I. Effect of IAA, IBA, NAA, Phloroglucinol and Sucrose Concentration. Hort. Abs. 57(9):717.
- PONIEDZIALEK, W.,LECH, W. and MALODOBRY, M., 1987b. Effect of Growth Regulators on Rooting Sour Cherry in Tissue Culture. Hort. Abst. 57(2):102.
- REEVES, D.W., COUVILLON, G.A. and HORTON, B.D., 1985. Effect of Gibberellie Acid (GA₃) on Elangation and Rooting of "St. Julien A" Rootstock *in vitro*. Hort.Abst. 55(9):305.
- RODRIGUEZ, R. and DIAZ-SALA, C., 1991. Pear *in vitro* Propagation Using a Double-phase Culture System.Hortscience.26(1):62-64. RUGINI, E. and VERMA, D.C., 1983. Micropropagation of Diffucult-to-Propagate Almond (*Prunus amygdalus* Batsch.) Cultivar. Plant Science Letters. 28:273-281.

- RUGINI, E., 1984. Progress en Studies on *in vitro* Culture of Almonds. Plant Tissue Culture and Its Agricultural Application. 41 st. Conference in the Easter School Series in Agricultural Science. England.
- RUGINI, N., BAZZOFIA, A. and JACOBONI, A., 1988. A Simple *in vitro* Method to Avoid the Inital Dark Period and to Increase Rooting in Fruit Trees. Acta Hort. 227:438-440.
- RUGINI, E., 1992. Involuement of Polyamines in Auxin and Agrobacterium rhizogenes-Induced Rooting of Fruit Trees *in vitro*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 117(3):532-536.
- RUZIC, D., 1984. Micropropagation of the Plum Cultivar Pozegaca *in vitro* . Hort. Abst. 54(9):616.
- RUZIC, D. and CEROVIC, R., 1986. Effect of Plant Growth Regulators on Rooting of the Plum Cultivar Pozegaza *in vitro* Tissue Culture. Hort. Abst. 56(6):234
- SNIR, I., 1992. *in vitro* Propagation of Sweet Cherry Cultivars. Hortscience. 17(2):192-193.
- SNIR, I., 1984. *in vitro* Propagation of "Canino" Apricot. Hortscience. 19(2):229-230.
- SRISKANDARAJAH, S., SKIRVIN, R.M. and ABU-QAOU, H., 1990. The Effect of Some Macronutrients on Adventitious Root Development on Scion Apple Cultivars *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 21:185-189.
- TABACHNIK, L. and KESTER, D.E., 1977. Shoot Culture for Almond and Almond-Peach Hybrid Clones *in vitro*. Hortscience. 12(6):545-547.
- TRAVERS, J.N., STARBUCK, C.J. and NATARELLA, N.J., 1986. Effect of Culture Medium on *in vitro* Rooting of Ankonovka 313 Apple. Hort. Abst. 56(6):423.
- VIEITEZ, M.L. and VIEITEZ, E., 1983. *in vitro* Plantlet Regenerations of Mature Chestnut. J. Hort. Sci. 58(4):457-463.

ÖZGEÇMİŞ

25.09.1968 tarihinde Gaziantep'te doğdum. İlk öğrenimime Bitlis Gazipaşa İlkokul'unda başladım. Babamın mesleği dolayısı ile öğrenimime farklı yerlerde devam ettim ve 1986 yılında Almus Lisesi'nden (Tokat) birincilikle mezun oldum. Aynı yıl Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümüne girdim ve 1990 yılında buradan mezun oldum. 1990 yılında aynı anabilim dalında Doç. Dr. Yücel Gülşen danışmanlığında Yüksek Lisans eğitimine başladım. 10.06.1993 tarihinde Yüksek Lisans tez savunması sınavına girdim ve mezun oldum. Şu anda herhangi bir yerde çalışmamaktayım.

YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ