

T.C.  
DICLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FERRAGNES VE FERRADUEL BADEM ÇEŞİTLERİNİN  
BADEMŞEFTALİ MELEZ ANAÇLARI GF-677 VE GARNEM  
(GN-15) ÜZERİNE İN VİTRO MİKROAŞILANMASI**

**Aysel ŞİMŞEK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**DIYARBAKIR**

**Şubat- 2013**

T.C. DİCLE UNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ  
DİYARBAKIR

Aysel ŞİMŞEK tarafından yapılan “Ferragnes ve Ferraduel Badem Çeşitlerinin BademxŞeftali Melez Anaçları GF-677 ve Garnem (GN-15) Üzerine İn Vitro Mikroaşılınması” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Ahmet ONAY  
Üye : Doç. Dr. Engin TILKAT  
Üye (Danışman) : Yrd. Doç. Dr. Hakan YILDIRIM

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 21/02/2013

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../.../.....

Prof. Dr. Hamdi TEMEL  
Enstitü Müdürü

## TEŐEKKÖR

Yüksek lisans öğrenimim ve çalışmam boyunca tezimin planlanması, yürütülmesi ve sonuçlarının değerlendirilmesinin her aşamasında yönlendirici katkılarıyla her zaman destek olan danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Hakan YILDIRIM'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan değerli arkadaşlarım Mahir BİNİCİ'ye ve Nazan ÇALAR'a çok teşekkür ederim. Yüksek lisans çalışmamın her aşamasında maddi ve manevi desteğini hiçbir zaman eksik etmeyen aileme teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Onay sayfası	
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	I
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	II
<b>ÖZET</b> .....	V
<b>ABSTRACT</b> .....	VI
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	VII
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	VIII
<b>KISALTMA VE SİMGELER</b> .....	IX
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	8
<b>3. MATERYAL VE METOT</b> .....	25
3.1. Materyal.....	25
3.1.1. GF-677 Anacının Genel Özellikleri.....	25
3.1.2. Garnem (GN-15) Anacının Genel Özellikleri.....	26
3.1.3. Ferragnes Badem Çeşidi.....	26
3.1.4. Ferraduel Badem Çeşidi.....	26
3.2. Metot.....	27
3.2.1. Sterilizasyon Teknikleri.....	27
3.2.2. Besi Ortamlarının ve Stok Çözeltilerinin Hazırlanması.....	28
3.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyiciler için Stok Çözeltilerin Hazırlanması.....	31
3.2.4. Büyüme Odasının Düzeni.....	32
3.2.5. Kültür Başlatma Çalışmaları.....	32
3.2.6. Mikroaşılama da kullanılacak anaçların mikroçoğaltımı.....	34
3.2.7. Mikroaşılama da kullanılacak badem çeşitlerinin mikroçoğaltımı.....	34

3.2.8.	GF-677 ve Garnem Anaçlarının Köklendirilmesi.....	34
3.2.9.	Mikroaşılama çalışmaları.....	36
3.2.9.1.	GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	38
3.2.9.2.	GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	39
3.2.9.3.	Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	39
3.2.9.4.	Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	39
3.2.9.5.	Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	39
3.2.9.6.	Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	40
3.2.9.7.	Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	40
3.2.9.8.	Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	40
3.2.10.	Verilerin Değerlendirilmesi.....	41
<b>4.</b>	<b>BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>42</b>
4.1.	GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	42
4.2.	GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	44
4.3.	Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	46

4.4.	Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	48
4.5.	Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	51
4.6.	Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	53
4.7.	Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	56
4.8.	Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi.....	58
<b>5.</b>	<b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>61</b>
<b>6.</b>	<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>64</b>
	<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>71</b>

## ÖZET

### FERRAGNES VE FERRADUEL BADEM ÇEŞİTLERİNİN BADEM XŞEFTALİ MELEZ ANAÇLARI GF-677 VE GARNEM (GN-15) ÜZERİNE İN VİTRO MİKROAŞILANMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aysel ŞİMŞEK

DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

2013

Bu çalışma 2011-2012 yılları arasında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada mikroçoğaltılan GF-677 ve Garnem klonal anaçları üzerine, yine in vitro üretilen Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerine ait 0.5-1 cm uzunluğundaki sürgün uçları mikroaşılanmıştır. Mikroaşıllı bitkiler hormonsuz, (0.5 mg<sup>-1</sup> BAP+0.1 mg<sup>-1</sup> IBA) ve (0.5 mg<sup>-1</sup> IBA+0.1 mg<sup>-1</sup> BAP) olmak üzere 3 farklı oksin-sitokin kombinasyonuna sahip MS besi ortamına aktarılmıştır. Çalışmada kullanılan anaçlar köksüz ve köklü olmak üzere iki farklı tipte kullanılmıştır. Aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), köklenme oranı (%), düşen aşı oranı (%) ve kallus oluşumu (%) gibi bazı parametreler incelenmiştir.

GF-677 anacındaki aşı tutma oranları bakımından; Ferragnes çeşidinde %100, Ferraduel çeşidinde ise %80'lik bir oran elde edilmiştir. Köklü GF-677 anaçlarındaki aşı tutma oranları ise her iki çeşit için %100 olarak gerçekleşmiştir. Garnem anacındaki aşı tutma oranlarına göre; Ferragnes çeşidi %100, Ferraduel çeşidi ise %93'lük bir değer elde edilmiştir. Köklü Garnem anaçlarındaki aşı tutma oranları ise yine her iki çeşit için %100 olarak tespit edilmiştir. Sürgün uzunluğu bakımından; GF-677 anaçlarının sadece köklü olarak aşılana bitkilerinde sürgün gelişimi gözlenmiştir. Her iki badem çeşitinde de BAP ağırlıklı besi ortamında sürgün gelişimi görülmüş olup, Ferragnes 10.40 mm, Ferraduel 8.66 mm olarak ölçülmüştür. Garnem anaçlarının hem köksüz hem de köklü anaçlarında sürgün gelişiminin olduğu görülmüştür. Köksüz anaçlarda IBA ağırlıklı besi ortamında Ferragnes çeşidi 22.91 mm, Ferraduel 26.16 mm uzunluğa kavuşurken; köklü Garnem anaçlarında BAP ağırlıklı besi ortamında Ferragnes 28.06 mm, Ferraduel 24.80 mm gelişme göstermiştir.

Düşen aşı oranları bakımından; köksüz GF-677 ve Garnem anaçlarında bazı serilerde hiç görülmezken, en yüksek düşme oranı Ferraduel çeşidinin aşılacağı GF-677 anacında %20 olarak belirlenmiştir. Köklü anaçların aşı çalışmaları sırasında ise herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşılmaştır. Köklenme oranları bakımından; köksüz anaçlar aşılana bes ortamına aktarıldıktan sonra yaklaşık %30-40 oranında bir köklenme elde edilmiştir. GF-677 ve Garnem anaçları üzerine standart badem çeşitlerinin mikroaşılanması kapsamında yapılan ve bu nitelikteki ilk çalışma özelliği taşıyan bu araştırma ile; besi ortamındaki oksin-sitokin kombinasyonları ve anaçların köksüz ya da köklü kullanımıyla ilgili olarak temel bulgular elde edilmiştir. Bu çalışmanın, meyve türleri başta olmak üzere farklı bitki türlerinde ve farklı amaçlara yönelik olarak önümüzdeki dönemlerde yapılacak mikroaşılama çalışmalarına model olması bakımından yararlı olacağı kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Badem, GF-677, Garnem, Klonal anaç, Mikroaşılama, Mikroçoğaltım

## ABSTRACT

### IN VITRO MICROGRAFTING OF FERRAGNES AND FERRADUEL ALMOND VARIETIES ON CLONAL ROOTSTOCKS OF ALMOND×PEACH HYBRID, GF-677 AND GARNEM (GN-15)

#### MASTER THESIS

Aysel ŞİMŞEK

UNIVERSITY OF DICLE  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

2013

This study was carried out in Biotechnology laboratory of Faculty of Agriculture, Department of Horticulture at Dicle University during 2011-2012. In this study, shoot tips (0.5-1 cm) of Ferragnes and Ferraduel were micrografted on the clonal rootstocks of GF-677 and Garnem. Micrografted plants were transferred to MS medium containing three different combination of auxin-cytokinin (0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP + 0.1 mg l<sup>-1</sup> IBA and 0.5 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.1 mg l<sup>-1</sup> BAP) with a control group (PGR free). Two types of rootstocks were used as rooted and rootless. Successful micrograft rate (%), shoot length (mm), rooted micrograft (%), displayed micrograft rate (%) and callus induction rate (%) were examined.

In GF-677 rootstocks, micrografting rate was 100% for Ferragnes and 80% for Ferraduel. Micrografting rate was 100% in both Ferragnes and Ferraduel on the rooted GF-677. In Garnem rootstocks, micrografting rate was 100% for Ferragnes, 93% for Ferraduel but in the rooted Garnem, micrografting rate was 100% for both of cultivars. Shoot development was observed only in the micrografted plants of the rooted GF-677. Shoot development was observed in both of the varieties in BAP containing medium, and values were reported as 8.66 mm and 10.40 mm for Ferraduel and for Ferragnes, respectively. Shoot growth was observed in both rootless and rooted Garnem rootstocks. Shoot growth of rootless rootstocks in IBA containing medium was ranged from 22.91 mm in Ferragnes to 26.16 mm in Ferraduel, while shoot growth of rooted rootstocks in BAP containing medium was ranged from 24.80 mm in Ferraduel to 28.06 mm in Ferragnes.

The highest rate (20%) of displaced micrografts was reported on the rootstocks of Garnem when Ferraduel was micrografted on Garnem in terms of displaced micrografts. No displaced micrografts was reported when the rooted rootstocks were used. In terms of rooting percentages, a 30% to 40% of rootless explants were rooted when the rootstocks were transferred to a growth medium. This is the first report on micrografting of standard almond cultivars on the commercial rootstocks, GF-677 and Garnem. As a result of this study, some basic information was reported on the effect of auxin-cytokinin combination, the effect of rootstock types; with or without root on the development of micrografting protocol. We hope that this study will be a model for the future micrografting studies on the different plant species, especially on fruit species for the different purposes.

**Keywords:** Almond, GF-677, Garnem, Clonal Rootstock, Micrografting, Micropropagation



## ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 1.1.</b>	Dünya’da badem üretimi yapılan ülkeler ve üretim miktarları	3
<b>Çizelge 3.1.</b>	Temel MS Besi Ortamının İçeriği	30
<b>Çizelge 4.1.</b>	GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, köklenme oranı, düşen aşı oranı ve kallus oluşumu	42
<b>Çizelge 4.2.</b>	GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, köklenme oranı, düşen aşı oranı ve kallus oluşumu	45
<b>Çizelge 4.3.</b>	Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, düşen aşı oranı ve köklenme oranı	47
<b>Çizelge 4.4.</b>	Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, düşen aşı oranı ve köklenme oranı	49
<b>Çizelge 4.5.</b>	Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, köklenme oranı, düşen aşı oranı ve kallus oluşumu	51
<b>Çizelge 4.6.</b>	Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, köklenme oranı, düşen aşı oranı ve kallus oluşumu	54
<b>Çizelge 4.7.</b>	Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, düşen aşı oranı ve köklenme oranı	56
<b>Çizelge 4.8.</b>	Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, düşen aşı oranı ve köklenme oranı	59

## ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1.	Ferragnes badem çeşidine ait 15-20 cm uzunluğunda yaprakları temizlenmiş ve tek boğum haline getirilmek üzere hazırlanmış 1 yaşındaki sürgünler	25
Şekil 3.2.	Sterilizasyon öncesi hazırlanmış bir adet tomurcuk içeren tek boğum badem eksplantları ve sterilizasyonu yapılacak Ferragnes ve Ferraduel çeşitlerine ait tek boğum eksplantlar	27
Şekil 3.3.	Tek boğum eksplantlardan kültür başlatma	33
Şekil 3.4.	Kültür başlatma amacıyla ekilen tek boğum eksplantlardan 28 günlük kültür periyodundan sonra gelişen sürgünler	33
Şekil 3.5.	Ferragnes badem çeşitinde proliferasyon ve proliferasyon ortamından çıkanlar ve mikroaşılama kullanılacak olan Ferragnes sürgünleri	34
Şekil 3.6.	Köklenme ortamına aktarılmış GF-677 anacına ait 2 cm uzunluğundaki sürgünler	35
Şekil 3.7.	Mikroaşılama kullanılmak üzere köklendirilmiş Garnem anaçları	35
Şekil 3.8.	Mikroaşılama kullanılacak köksüz GF-677 anaçları	36
Şekil 3.9.	Köklü ve köksüz GF-677 anacı üzerine Ferragnes badem çeşitinin, köksüz Garnem anacı üzerine Ferraduel badem çeşitinin aşılama besisi ortamına ekilmesi ve aşılarından 28 gün sonra kaynaşma ve sürgün gelişimi	37
Şekil 3.10.	Köksüz Garnem anacı üzerine aşılı Ferraduel badem çeşitinden oluşan bitkilerin aklimitasyon aşamasına gelmiş hali	37

## KISALTMA VE SİMGELER

2,4 D	:2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit
g <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	:Gram/litre
mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup>	:Miligram/litre
mg	:Miligram
mm	:Milimetre
cm	:Santimetre
AP	:Almehdi ve Parfitt (1986)
AND	:Anderson Medium
BA	:Benzyladenin
BBD	:Bitki Büyüme Düzenleyici
BAP	:6- Benzilaminopürin
CH	:Kazein hidrolizat
DKW	:Driver ve Kuniyuki (1984)
FAO	:Food and Agriculture Organization
GA <sub>3</sub>	:Gibberellik Asit
IAA	:İndol-3 Asetik Asit
IBA	:İndol-3 Butirik Asit
LS	:Linsmaier ve Skoog (1965)
MS	:Murashige ve Skoog (1962)
NAA	: $\alpha$ -Naftalen Asetik Asit
NaOCl	:Kalsiyum hipoklorit
SH	:Schenk and Hildebrandt (1972)
TDZ	:Thidiazuron
WPM	:Woody Plant Medium (Lloyd ve McCown, 1981)

## 1. GİRİŞ

Ülkemiz meyve yetiştiriciliği bakımından sahip olduğu değişik iklim ve toprak şartları nedeniyle önemli bir konuma sahiptir. Kültüre alınmış meyve tür ve çeşitlerinin önemli bir kısmı ülkemizde ticari olarak yetiştirilebilmektedir. Türkiye elma, armut, ayva, erik, kiraz, vişne, kıvılcık, fındık, antepfıstığı, badem, ceviz, kestane, zeytin, incir, nar ve üzümün anavatanıdır (Asma 2000). Türkiye’de öteki meyvelerde olduğu kadar, sert kabuklu meyve yetiştiriciliğinde de çok büyük bir potansiyel mevcuttur. Ancak bu potansiyelden geçmişte gereği kadar yararlanılmamış ve halen de yararlanılmamaktadır. Özellikle son 20 yılda Amerika ve Avrupa’da sert kabuklu meyve türlerine ait çeşitlerde pek çok yenilik olmuş, ancak Türkiye’ye bu yeniliklerin pek azı getirilebilmiştir. Bu çerçevede Türkiye’nin sert kabuklu meyveler konusunda; değişik ekolojilere uygun anaç ve çeşit, modern ve ismine doğru fidan üretimi, modern fidan yetiştirme teknikleri, muhafaza ve taşıma, entegre savaş konularını hızla ele alması ve bunlara işlerlik kazandırması gerekir. Bugün için ılıman, sert çekirdekli, sert kabuklu, üzüksü ve subtropik meyve dış satımları her geçen gün biraz daha artarak ciddi boyutlara ulaşmaktadır (Kaşka 2001). Üretim ve ihracatı artan meyvelerden biride bademdir.

Badem yetiştiriciliği bakımından uygun iklim şartlarına sahip olan ülkemizin dünya pazarındaki yerini yükseltme imkânı bulunmaktadır. Buna karşın bahçe tesisinden pazarlamaya kadar çözümlenmeyi bekleyen birçok sorun bulunmaktadır. Badem *Rosaceae* familyasının *Prunus* cinsine bağlı *Prunus amygdalus* L. alt cinsi içerisinde yer almaktadır. Bu alt cinse dahil 40’a yakın badem türü tespit edilmiştir (Soylu 2003). Bademin anavatanı Batı ve Orta Asya’dır (Küden ve Küden 2000). Bu meyve türü daha çok meyvesi için önem kazanmış olup Hindistan, İran ve Pakistan’da doğal bir yayılım göstermiş ve zamanla bu ülkelerden Akdeniz bölgesine yayılmıştır (Rugini and Monastra 2003). Geçmişte sadece Ege bölgesi, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu bölgesi ile sınırlı kalan yetiştiricilik alanlarına son yıllarda, diğer bölgelerde de plantasyonların eklenmesiyle yetiştiricilik alanları genişlemektedir. GAP bölgesi sahip olduğu iklim koşullarından dolayı badem için önemli bölgelerimizdendir. Botanik yönden sert çekirdekli (drupa) meyve yapısına sahip olmasına rağmen, olgunluk döneminde mezokarpın kuruyarak derimsi bir hal almasıyla, sert kabuklu meyve olarak değerlendirilmektedir. Çok sayıda değişik ürüne işlenebilen badem oldukça değerli bir meyvedir. İç badem kurutulmuş olarak bütün bir yıl boyunca tüketilebilmektedir.

Ülkemizde kavrulmadan veya tuzlu-tuzsuz kavru olarak çerezlik olarak zevkle tüketilmektedir. Yine çikolata, şekerleme ve pasta sanayinin önemli hammaddesidir. Bunun yanında acı bademlerden elde edilen badem yağı, kimya ve boya sanayisinde hammadde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca bazı ülkelerde yeşil kabukları hayvan yemi olarak değerlendirilirken, sert kabukları yakacak ve sunta yapımında kullanılmaktadır (Özçağırın ve ark. 2005). Ülkemizdeki badem ağaçlarının büyük bir kısmı tohumdan yetiştirilmiştir (Dokuzoğuz ve Gülcan 1973). Bu nedenle aynı bahçedeki bademler dahi farklı özellikler gösterebilmektedir. Bu çöğür popülasyonu ülkemiz için genetik bir hazine olup, bu popülasyonda yapılacak seleksiyonlarla üstün özelliklere sahip bademlerin ortaya çıkarılmasına büyük bir katkı sağlayacaktır.

Ülkemiz bademin gen merkezlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Ancak badem soğuklama gereksinimi çok düşük bir meyve türü olduğundan ilkbahar geç donlarının hüküm sürdüğü yerlerde, ekonomik olarak yetiştirilememektedir. Bu nedenle Dünyanın bir çok yerinde ve ülkemizde geç çiçek açan genotipler (çeşit, klon, tip ve ekotip) üzerindeki çalışmalar yoğunluk kazanmaktadır. Erken çiçeklenme bademlerin en belirgin özellikleri arasında sayılmakla birlikte; bu karakterlerin çeşitlere ve ekolojilere göre farklılık gösterdiği, yine geç çiçeklenen çeşitlerin selekte edilmesi de çok önemlidir (Gülcan 1976). Kendine verimli badem çeşitlerinin varlığına rağmen, genel olarak bir uyumsuzluk söz konusudur. Bu durum meyve tutumu için yabancı tozlanmayı zorunlu kılar. Badem plantasyonlarının kurulmasında aynı zamanda çiçek açan ve birbirini tozlayan uygun çeşitlerle kombinasyonların oluşturulması zorunludur.

Türkiye’de yetiştirilen badem ağacı sayısının fazla olmasına rağmen, verimin düşük olması, standart üretim esaslarına uyulmamasından kaynaklanmaktadır. Eski badem plantasyonlarının daha çok yabani ağaçlardan (tohumdan) meydana gelmiş olması, tipler arasında varyasyon görülmesine ve standart bir ürün alınamamasına neden olmaktadır. Standart bir üretimin sağlanması, ancak bölgelere uygun çeşitlerin belirlenmesi ve standart anaç kullanımı ile mümkün olabilecektir. Yeni tesis edilecek bahçelerin standart çeşitlerle kurulması ve bu çeşitlerin aşı ile üretilmesi durumunda standart bir ürün ve verimin artırılması sağlanabilir. Böylece birim alandan alınacak net gelir artacak, iç ve dış pazarlarda istenen homojen ürün kalitesi yakalanmış olacaktır (Soylu 1997).

Dünya badem (*Prunus amygdalus* L.) üretim miktarı 2011 yılında 1.109.414 ton olmuştur. En fazla üretim 731.236 ton ile ABD’de yapılmaktadır. Türkiye’de 2007 yılında 50.753 ton olan üretim miktarı 2011 yılında 69.838 tona yükselmiştir (FAO 2011). Bazı yıllar üretimde dalgalanmalar görülmektedir. Bunun esas nedeni, badem için en önemli iklim faktörü olan ilkbahar geç donlarıdır. Badem ithalatçısı ülkelerin başında Almanya, Japonya, Fransa ve Rusya gelmektedir. Bu ülkeler gereksinimlerini önemli ölçüde Amerika’dan karşılamaktadırlar. İhracatçı ülkelerin başında da ABD gelmektedir (Özüdoğru 2003).

**Çizelge 1.1.** Dünya’da badem üretimi yapılan ülkeler ve üretim miktarları (ton)

Ülkeler	2007	2008	2009	2010	2011
<b>Amerika</b>	1.212.900	1.410.000	1.162.200	1.413.800	731.236
<b>İspanya</b>	187.656	180.103	282.100	221.000	211.727
<b>Suriye</b>	76.093	82.616	97.002	73.100	130.296
<b>İtalya</b>	112.644	118.723	113.700	85.500	104.790
<b>İran</b>	120.000	126.679	140.000	158.050	167.609
<b>Fas</b>	81.437	86.902	114.700	102.170	131.287
<b>Tunus</b>	58.000	51.500	60.000	63.000	61.000
<b>Türkiye</b>	50.753	52.774	54.844	55.398	69.838
<b>Yunanistan</b>	45.652	34.500	40.000	32.900	29.800
<b>Cezayir</b>	34.110	39.521	47.393	44.300	50.351
<b>DÜNYA</b>	2.207.000	2.420.000	2.362.000	919.913	1.109.414

Meyve türlerinin yetiştiriciliğinde anaç kullanımı zorunludur. Anaçlar üzerine aşılardan çeşidin gelişimi, hastalık ve zararlılara dayanımını, verimini, meyve kalitesini, erkenciliğini, ya da geççiliğini, kurağa, dona, kirece, tuzluluğa, taban suyuna dayanımını ve bitki besin maddelerinin topraktan alımını etkilemektedir. Sert çekirdekli meyvelerin yetiştirilmesinde, yabani kiraz (kuş kirazı) mahlep çöğürleri, şeftali yozları, badem, kiraz, erik çöğürleri, nemaguard uzun yıllar anaç olarak kullanılmış ancak son yıllarda klon anaçlar üzerine aşılı fidanların kullanımı ve klon anaçlarına olan talep

hızla artmaktadır (Hartman ve ark. 1997; Anonim 2008 ). Çöğür anaçlar, tohumdan kaynaklanan büyüme ve diğer kalıtım farklılıkları, kuvvetli büyümeleri ve geç verime yatmaları nedeniyle gün geçtikçe terk edilmektedir. Bunun yanı sıra bazı çöğürler ağır topraklarda gelişmemekte ve özellikle Kök Çürüklüğü Hastalığına (*Phytophthora*) karşı oldukça duyarlılık göstermektedir (Hartman ve Kester 1983).

Meyveciliğin temel unsurlarından olan anaç seçimi tüm dünyada gelişmeleri dikkatle takip edilen önemli konulardan birini teşkil etmektedir. Özellikle sık dikime yönelik toprak ve iklim koşullarına uygun anaç geliştirme çalışmaları yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Ekonomik açıdan erken ürün verme ve birim alandan maksimum verim almak için klonal anaç kullanmak gerekmektedir. Klonal anaç kullanımında, genotipin devamlılığı sağlanmakta üniform populasyon oluşturulabilmekte, gençlik kısırlık dönemini kısa sürmesinden dolayı daha erken dönemde meyveye yatmaktadır. Bu nedenlerden dolayı çeşitli yöre ve toprak koşullarına uygun klonal anaçlar kullanılmalıdır. Almanya'da Gissen Araştırma Enstitüsünde geliştirilen Gisela serisi; 5, 6, 7 ve 12 anaçları, Fransa'da geliştirilen MaxMa serisi (MaxMa 14, MaxMa 60), Weiroth ve Tabel Edabriz, İtalya'da geliştirilen CAB 6P ve E-11 anaçlarının kullanımı hızla yaygınlaşmakla birlikte Mahalep SL-64, Colt, Mazzart F-12/1, Myrobolan 29-C, Hansen 2168, GF 677, GF 43, GF 657, Damask 1969 ve GN gibi sert çekirdekli meyve anaçları üzerine aşılı fidanlara olan talep sürmektedir (Hudson ve ark. 1997; Özyiğit 2003).

Buna rağmen, yüksek laboratuvar masrafları, düşük *in vitro* büyüme oranı, fizyolojik olarak üniform olmayan bitki gelişimi ve alıştırma aşamasında düşük yaşama oranlarından kaynaklanan yüksek üretim maliyetlerinden dolayı mikroçoğaltımın ticari kullanımı günümüzde sınırlı bir düzeyde kalmaktadır. Yüksek üretim maliyetlerini düşürmek amacıyla mikroçoğaltımda çevre kontrolü ile ilgili son 10 yıldır yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bitkinin geliştiği kültür kabı mikro çevre olarak değerlendirilmekte ve bu çevrenin kontrolü ile ilgili çalışmalar ön plana çıkmaktadır (Kozai ve ark. 1997; Nquyen ve Kozai 1998; Hatipoğlu 1999; Mansuroğlu ve Gürel 2001).

Meyve yetiştiriciliğinde; aşılama, çeliklerin köklendirilmesi, kök sürgünleri ve daldırma gibi çeşitli vegetatif çoğaltım yöntemleri kullanılabilmeyle birlikte, bu

yöntemler her zaman seri ve ekonomik bir çoğaltım için yeterli olmamaktadır. Dünya’da 1900’lü yıllardan itibaren başlamasına rağmen, Türkiye’de 1970’ten itibaren gelişmenin görüldüğü bitki biyoteknolojisi çalışmaları kapsamında meyve tür ve anaçlarının üretiminde alternatif bir yöntem olarak doku kültürü üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Bu amaçla farklı meyve tür, çeşit ve anaçları için, farklı doku kültürü yöntemleri kullanılarak oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ülkemiz meyveciliğinin geliştirilmesinde büyük öneme sahip olan, ismine doğru, sağlıklı ve istenilen özelliklere sahip fidan yetiştirilmesinin sağlanması amacıyla doku kültürü çalışmaları büyük bir ivme kazanmış ve hatta özel doku kültürü laboratuvarlarının sayısında son 10 yılda ciddi artışlar görülmüştür.

Doku kültürü yöntemleri ile bitkilerin yenilenmesi ve ticari olarak çoğaltılması nispeten yeni bir gelişmedir. Bu yöntemler günümüzde çok çeşitli bitki türlerinde tohum, çelik, daldırma ve aşılama gibi geleneksel çoğaltım yöntemlerine karşı önemli bir seçenek haline gelmektedir. Bitki türlerinde doku kültürü yöntemleri anaçların ve istenilen hatların yoğun üretimi, virüs eliminasyonu, ıslah sonucu elde edilen üstün özellikli çeşitlerin hızlı çoğaltımı, genetik kaynakların korunması ve bitki ıslahı için haploid bitkilerin üretilmesi amaçlarına yönelik olarak kullanılmaktadır (Hutchinson ve Zimmerman 1987; Torres 1989). Meyve türleri ve özellikle de sert kabuklu türlerin mikroçoğaltımı, otsu bitkilerin mikroçoğaltımına göre oldukça zordur. Son yıllara kadar, sert kabuklu meyve türlerinde mikroçoğaltımın başarısı tohumdan ya da çöğürlerden alınan eksplantlarla sınırlı kalmış olmakla birlikte, elde edilen bazı başarılı sonuçlar daha planlı ve programlı çalışmaların yapılmasının önünü açabilme ihtimalini artırmaktadır.

Bu nedenle seçilmiş sert kabuklu meyve türü klonlarının mikroçoğaltımında;

1. Tür için uygun fizyolojik dönem ve eksplant seçimi,
2. Kültürlerdeki toksik bileşiklerin zararlı etkilerinin üstesinden gelinmesi,
3. Kabul edilebilir sürgün çoğaltım oranının sağlanması,
4. Köklü sürgünlerin elde edilmesi,

gibi konular önem arz etmektedir (Hansman ve Novoa 1986).



Bademin mikroçoğaltımıyla ilgili ilk çalışmalar 1970'li yıllarda *P.amygdalus* ve hibritler üzerinde yapılmıştır. Eksplant olarak, hypokotil ve kotiledon parçaları, yaprak ve gövde parçaları, embriyolar, tohum, anter, koltuk tomurcukları ve sürgün ucu kullanılmaktadır (Hansman ve Novoa 1986). Dünyada 600'e yakın kuruluş bitki doku kültürü yöntemlerini ve bunlardan özellikle mikroçoğaltımı kullanarak 50.000 bitki çeşidinde, yılda yaklaşık 500 milyondan fazla bitki üretimi yapmaktadır. (Yu 1998). Mikroçoğaltım, bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip bitki kısımlarından suni besin ortamlarında ve steril koşullar altında genetik yapı olarak birbirine benzeyen çok sayıda bitki üretmek amacıyla kullanılan bir doku kültürü tekniğidir. Mikroçoğaltımla kısa bir sürede, dar bir alanda, yetiştirme mevsimine bağlı kalmaksızın, hastaliksız çok fazla sayıda bitki üretimi yapılabilir. Günümüzde kasımpatı, karanfil, fuchsia, gladiol gibi bazı süs bitkilerinin ticari üretimi; bazı otsu (soğan, yer fıstığı, kuşkonmaz, pancar, brassica, fiğ ve nohut türleri, soya, çim türleri, mısır gibi) ve odunsu (*Malus*, *Prunus*, *Pyrus*, *Ribes*, *Atriplex*, *Betula*, *Coffee* gibi) türlerin ve okaliptus ve kavak gibi orman ağaçlarının üretimi mikroçoğaltımla yapılabilmektedir (Kozai ve ark. 1997a; Nquyen ve Kozai 1998; Hatipoğlu 1999; Mansuroğlu ve Gürel 2001).

*In vitro* aşılama akselik kültür şartlarında mümkün oldukça minimize edilmiş kalemlerin aşılmasından oluşan ve son zamanlarda oldukça yaygın olarak kullanılan bir vejetatif çoğaltım tekniğidir. Bu yöntem aşılamanın ve sürgün ucu metodunun sınırlamalarının üstesinden gelmekle birlikte, avantajlarını bir araya getirmektedir. Farklı bitki türlerinde uygulanan çeşitli *in vitro* aşı prosedürleri geliştirilirken, birbirinden farklı aşılama tekniklerinin kullanıldığı ve elde edilen başarılı sonuçların *in vitro* anaç ve kalemlerin özelliğiyle ilgili olduğu gerçeğini ortaya çıkarmaktadır. *In vitro* mikroaşı çalışmaları başlangıçta meyve ağacı tür ve çeşitlerinden endojen patojenleri uzaklaştırmak için geliştirilmişken; sonraları bu yöntem hızlı bir şekilde genişleyerek çeşitli odunsu bitkiler için farklı fizyolojik gelişme dönemlerinde farklı amaçlara yönelik olarak kullanılmıştır. Neticede *in vitro* aşılama; daha yaygın olarak kullanılan diğer vejetatif çoğaltım metodlarının sınırlamalarının üstesinden gelmek için daha fazla dikkat gerektiren ve aynı zamanda genetik olarak farklı doku ve hücrelerin arasındaki derin ilişkiyi araştırmak için önemli ve orijinal bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır (Monteuuis 2012).

Badem fidanı ihtiyacını geleneksel metotlarla karşılamak uzun bir süreç gerektirdiğinden ve mikroçoğaltım yoluyla üretilen sürgünlerin köklenme oranları çok düşük olduğundan dolayı mikroaşılama ile kısa sürede ve seri bir şekilde üretim yapılabilmektedir. Yapılacak ıslah çalışmalarının desteklenmesi ve elde edilen hibrit bireylerin *in vitro* mikroaşılama yoluyla daha hızlı ve güvenli bir şekilde çoğaltılabilmesi ve araziye aktarılabilir forma daha hızlı dönüştürülebilmesi için mikroaşılama yöntemi zorunlu hale gelmektedir.

Bu çalışma, hem bademin mikroçoğaltımına alternatif olan *in vitro* mikroaşılama yönteminin uygulanması, hem de birçok doku kültürü laboratuvarı tarafından yoğun olarak üretilen ve homojen meyve üretiminin ön koşulu olan klonal anaçlardan GF-677 ve Garnem (GN-15)'in mikroaşılanmasıyla ilgili yapılan ilk çalışma kapsamındadır. Bu amaçla Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin, GF-677 ve Garnem anaçları üzerine mikroaşılanmasıyla birlikte aşı tutma oranı, sürgün gelişimi, köklenme, düşen aşı ve kallus oluşum oranları tespit edilmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmayla ortaya çıkan bulgular gelecek dönemlerde farklı meyve ve bitki türlerinde yapılacak *in vitro* mikroaşılama çalışmaları için temel teşkil etmesi muhtemel görülmektedir.

### 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

*In vitro* koşullarda yapılan mikroçoğaltım; bitkisel materyallerin ıslahı ve üretimi için geçen sürenin kısaltılması, vejetasyona bağlı kalmadan üretim yapılabilmesi ve klasik yöntemlerle yapılan çoğaltıma alternatif ve destekleyici bir yaklaşım sergilemektedir. Başlangıçta turuncgillerde virüsten ari fidan üretimi amacıyla geliştirilen ve daha sonraları farklı meyve ve odunsu bitki türlerine, farklı amaçlara yönelik olarak uygulanan ve günümüzde çok farklı alanlarda ve bitki türlerinde gerçekleştirilmiş *in vitro* mikroaşılama çalışmaları bulunmaktadır. Yapılan çalışma kapsamında, özellikle sert kabuklu meyve türlerine ait *in vitro* mikroaşılama çalışmaları ve yine kullandığımız klonal anaçların mikroçoğaltımıyla ilgili geçmiş yıllarda farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalar bir araya getirilmiştir.

Juárez ve ark. (1992), bademde *in vitro* sürgün ucu aşılama yöntemini kullanılarak virüsten ari bitkiler elde edilmeye çalışılmıştır. Sera koşullarına aktarılan 4-5 haftalık aşılınmış bitkilerde %40-50 oranında aşı başarısı ve %75-85 hayatta kalma oranı sağlanmışlardır. Araştırmada mikroaşılama elde edilen başarının tür ve çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir. Sonuçta tüm bitkilerde elma mozaik virüsünde (ApMV) %100, Prunus halkalı leke virüsünde (PNRSV) %80 ve cücelik virüsünde (PDV) %46 eliminasyon sağlanmıştır.

Ghorbel ve ark. (1998), Achak badem çeşidinin mikroaşılama ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada; aseptik anaçlar üzerine mikroaşılamanın metodu geliştirmek için mikroaşılamanın başarısını, aşı kalemin kaynağı ve mikroaşılamanın fizyolojik durumu tespit edilmeye çalışılmıştır. Arazideki bitkiler üzerinden alınan aktif sürgün uçları, küçük tomurcuklar ve meristematik dokular kültür başlatma için ayrı ayrı kaynak olarak kullanılmıştır. Kültür başlatıldıktan sonra *in vitro* üretilen altı haftalık sürgün uçları ve apikal tomurcuklar (3-5 mm) mikroçelik olarak kullanılmıştır. Üstüne veya T şeklinde aşılanan bu sürgünler ve tomurcuklardan %82.1 ve %79.2'lik aşı başarı oranları elde edildiği bildirilmiştir. Araziden alınan materyallerden çok sık kontaminasyon meydana gelmekle birlikte, daha küçük meristematik parçalar kullanıldığı durumlarda sıklıkla nekrozis meydana geldiği gözlenmiştir. Kullanılan bu teknik ile Achak badem çeşidinin mikroçoğaltım ve mikroaşılama için iyi bir potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Yıldırım ve ark. (2010), Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin mikroaşılanması için aşılansmış bitkilerin gelişimi üzerine çeşitli *in vitro* mikroaşı teknikleri, anaç-aşı kalemi üretimi, aşı kalemleri uzunluğu ve anaçların elde edilmesi, aşı kalemi uzunluğu ve besi ortamına ilave edilen oksin-sitokinin kombinasyonlarının etkisi incelenmiştir. Yabani badem tohumlarının *in vitro* çimlendirilmesiyle elde edilen 4 haftalık bitkiler anaç olarak kullanılmıştır. Adı geçen çeşitlerin mikroçoğaltımı için ağaçlardan alınan bir yaşlı sürgünler üzerindeki nodal tomurcukların laboratuvar şartlarında zorlanarak elde edilen 3-5 mm uzunluğundaki sürgünler  $0.7 \text{ mg l}^{-1}$  BA ve  $0.01 \text{ mg l}^{-1}$  NAA içeren MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Uygulanan mikroaşı tekniklerinden elde edilen sonuçlara göre en başarılı yöntemin yarma aşı olduğu bildirilmektedir. Kullanılan 4-15 mm uzunluğundaki mikroçeliklerden elde edilen mikroaşı başarı oranları çok iyi gerçekleşirken; hormonsuz besi ortamında bulunan mikroaşı bitkilerdeki büyüme ve sürgün gelişimin yetersiz olduğu görülmüştür. Başarılı bir şekilde üretilen mikroaşı bitkilerin aklimitasyonlarının başarılı bir şekilde yapıldığının bildirildiği çalışmada bu açıdan herhangi bir problemle karşılaşılmamıştır. Yapılan çalışma sonucunda geliştirilen teknik sayesinde Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin mikroaşılanması ve *in vitro* fidan üretiminde yüksek bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir.

Işıksalan ve ark. (2011), Nonpareil badem çeşidinin mikroaşılanması ve kalemlerin mikroçoğaltımı üzerine BBD'lerin etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; yabani badem tohumlarından *in vitro* elde edilen bitkiler anaç, Nonpareil badem çeşidine ait apikal sürgün uçlarının kullanılmasıyla *in vitro* üretilen 1.5-2 cm uzunluğundaki mikroçelikler materyal olarak kullanılmıştır. BAP'ın farklı konsantrasyonlarıyla destekli MS besi ortamında yapılan sürgün proliferasyon çalışmasından çıkan sonuca göre en iyi konsantrasyonun  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP olduğu bildirilmiş; bu oran arttıkça sürgün rejenerasyonunun önemli derecede azaldığı görülmüştür. Elde edilen en iyi BAP oranına  $0.2-0.4 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ile kombine edilmiş ortamlardan en iyisinin  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  IBA'dan elde edildiği bildirilmiştir. Mikroaşılanmış bitkiciklerin gelişimi üzerine BAP ve IBA ( $1 \text{ mg l}^{-1}$ )'nin etkisiyle ilgili olarak yapılan başka bir deneyde ise; badem anaçları üzerine aşı bitkilerdeki en iyi aşı tutma oranı ve sürgün gelişiminin  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP destekli ortamdan elde edildiği

bildirilmiştir. *In vitro* mikroaşılınmış bitkilerin aklimitasyon işlemi plastik saksılar içerisine başarılı bir şekilde yapılmıştır.

Monteuuis (2012), *In vitro* aşılama akselik kültür şartlarında mümkün oldukça minimize edilmiş kalemlerin aşılmasından oluşan ve son zamanlarda oldukça yaygın olarak kullanılan bir vejetatif çoğaltım tekniğidir. Bu yöntem aşılamanın ve sürgün ucu metodunun sınırlamalarının üstesinden gelmekle birlikte, avantajlarını bir araya getirmektedir. Farklı bitki türlerinde uygulanan çeşitli *in vitro* aşı prosedürleri geliştirilirken, birbirinden farklı aşılama tekniklerinin kullanıldığı ve elde edilen başarılı sonuçların *in vitro* anaç ve kalemlerin özelliğiyle ilgili olduğu gerçeğini ortaya çıkarmaktadır. *In vitro* mikroaşı çalışmaları başlangıçta meyve ağacı tür ve çeşitlerinden endojen patojenleri uzaklaştırmak için geliştirilmişken; sonraları bu yöntem hızlı bir şekilde genişleyerek çeşitli odunsu bitkiler için farklı fizyolojik gelişme dönemlerinde farklı amaçlara yönelik olarak kullanılmıştır. Neticede *in vitro* aşılama; daha yaygın olarak kullanılan diğer vejetatif çoğaltım metodlarının sınırlamalarının üstesinden gelmek için daha fazla dikkat gerektiren ve aynı zamanda genetik olarak farklı doku ve hücrelerin arasındaki derin ilişkiyi araştırmak için önemli ve orijinal bir teknik olarak karşımıza çıkmaktadır.

Yıldırım ve ark. (2013), Nonpareil, Texas ve Ferrastar badem çeşitlerinin *in vitro* mikroaşılınmasıyla ilgili olarak yaptıkları çalışmada; tohumların *in vitro* çimlendirilmesiyle elde edilen 14 günlük anaçlar ve 4-6 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılmıştır. Aşı tutma oranlarının %83-100 arasında değiştiğinin belirtildiği çalışmada, ayrıca kullanılan sürgün uçlarının üzerinde bulunan boğum sayılarının farklı parametreler üzerine etkisi incelenmiştir. Hormonsuz ortam, proliferasyon ortamı ve köklenme ortamı olmak üzere üç farklı oksin-sitokinin kombinasyonunun mikroaşılı bitkilerin gelişmesi üzerine etkilerinin de incelendiği çalışmada, aşılama sonrası en iyi sürgün gelişiminin proliferasyon ortamında ve Teksas-Ferrastar-Nonpareil çeşitlerinde sırasıyla 19.84 mm, 16.5 mm ve 26.93 mm olduğu belirtilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgün uçlarının üretimi sırasında aylık periyotlar halinde her altkültür sırasında moleküler analizler yapılarak mevcut çeşitlerde herhangi bir varyasyon görülüp görülmediği incelenmiştir. Geçen süreçte Teksas-Ferrastar-Nonpareil çeşitlerinde sırasıyla %3.7 – %6.25 – %10.2 oranında varyasyon meydana geldiği ancak

bunun ihmal edilebilir olduğu ve üzerinde çalışılan badem çeşitlerinin stabil özelliğe sahip oldukları tespit edildiği bildirilmiştir.

Deogratias ve ark. (1991), tarafından “Canino” kayısı çeşidinin *in vitro* sürgün ucu aşılama yöntemini etkileyen faktörler ve sürgün ucu kaynağı olarak kullanılacak ana bitkinin optimum fizyolojik devresini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Mikroaşılama kullanılacak sürgün ucu kaynağı için 3 farklı yöntem izlenmiş olup bunlar; a) kayısı ağaçlarından Kasım-Şubat aylarında alınan dormant tomurcuklar. b) arazi şartlarında vejetatif gelişmenin başlamasıyla birlikte alınan sürgünler. c) *in vitro* şartlarda elde edilen sürgünler. Ayrıca aşılama sırasında ve sonrasında anaç tipi, aşılama şekli, sürgün ucu büyüklüğü vb. çeşitli parametrelerin sürgün ucu aşılama etkisi üzerinde durulmuştur. Yapılan çalışma sonucunda aşılama en iyi sonuç *in vitro* elde edilen sürgünler ile sağlandığı bildirilmiştir.

Thimmappiah (2002), Kaju fıstığının *in vitro* aşılama ile ilgili olarak yapılan çalışmada; *in vitro* üretilmiş bitkiler anaç olarak kullanılmış ve ağaçlardan alınan sürgün ucu ve nodal tomurcuk kültürlerinden üretilen sürgünler mikroçelik olarak kullanılmıştır. *In vitro* ekilen tohumlardan çıkan bitkiler 20-25 günlük iken anaç olarak kullanılmıştır. Hormonun kullanılmadığı modifiye MS besi ortamına ekilen olgun bitkilerden alınan eksplantlardan üretilen 3-15 mm uzunluğundaki sürgün uçları aşılama için kullanılmıştır. Mikroaşılama bitkiler hormonsuz sıvı ½ MS besi ortamında kültüre alınmış ve 10-12 haftalık süre sonunda dış ortama aktarılabilir duruma gelmişlerdir. Yapılan çalışmayla birlikte aşılama başarısını etkileyen en önemli iki hususun; aşılama metodu ve aşı kalemin uzunluğu olduğu bildirilmiştir. Sürgün ucu aşılama ve yan aşılama metodlarından sırasıyla %79.5 ve %100'lük aşı başarıları elde edilmiştir. Aşı kalemi uzunluğunun mikroaşı başarısı üzerine önemli etkisinin bulunduğu çalışmada; kalem uzunluğu 5 mm'den büyük olduğu durumlarda iyi sonuç vermesine rağmen, kalem uzunluğunun 3-5 mm'den kısa olduğu durumlarda ise çok düşük cereyan ettiği bildirilmiştir.

Lorenzo (2005), Kestanenin genç klonlar üzerine *in vitro* mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada juvenil orjinli köklendirilmiş sürgünler anaç olarak kullanılmış, seçilmiş iki olgun klonun (75 yaşındaki ağaçlar) sürgün uçları yarma aşı metodu ile mikroaşılama yapılmıştır. Aşı tutma oranı %64-78 gerçekleşmiştir. Bir, iki, üç defa aşılama

materyallerin çoğaltım oranları; aşılammış 8-12 defa alt kültüre alınmış klonların çoğaltım oranına göre daha yüksek çıktığı bildirilmiştir. Farklı defalar aşılammış sürgünlerin çoğaltım oranları arasında önemli derecede bir fark ortaya çıkmamakla birlikte, mikroaşılamanın *in vitro* köklenmeyi etkilemediği görülmüştür. Çalışmada 30 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> sukroz, 7 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> difco-bacto agar ve 0.1 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP ile desteklenen WPM besi ortamı kullanılmıştır.

Amiri (2007), Aşı başarısı önemli derecede yapılan aşı metoduna bağlı olduğu noktasından hareketle yürütülen çalışmada; en yüksek aşı tutma oranı %65 ile 6 mm'den uzun apikal sürgün uçları ile yapılan sürgün ucu aşı yönteminden elde edildiği bildirilmiştir. Ancak sürgün ucu apex'lerinin kullanılarak yapılan aşılardaki tutma oranı %16 olarak gerçekleşmiştir. Zaten söz konusu mikroaşı yöntemi *in vitro*da sürgün gelişimi, gençleştirme ve virüsten ari fidan üretiminde uygun bir teknik olarak kullanılmaktadır. Kiraz tohumlarının *in vitro* ekiminden itibaren 4 hafta sonra gelişen bitkiler anaç olarak kullanılırken; mikroçelik olarak *in vitro* altkültürler yoluyla üretilen 5-15 mm uzunluğunda sürgün uçları kullanılmıştır. Uygulanan yöntemde her ne kadar ilk zamanlarda bitki gelişimi yavaş olsa da aşı tutma oranının tatmin edici olduğu görülmüştür. Aşıların gelişimi sırasında mineral besin maddesi kaynaklı bozukluk semptomlarına rastlandığı bildirilmiştir. Bu tekniğin kullanılması yoluyla kirazın virüsten ari ve sağlıklı yoğun çoğaltımı açısından ciddi bir potansiyele sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

Rugini and Verma (1982), Ferragnes badem çeşidinin mikroçoğaltımı için yapılan çalışmada; sürgünlerin klonal çoğaltımını sağlayan *in vitro* kültür protokolü geliştirildiği bildirilmiştir. Kültür başlatma amacıyla Ferragnes'in patlamış tomurcuklarından alınan 0.4-0.7 mm uzunluğundaki sürgünler kullanılmıştır. Mikroçoğaltım yoluyla elde edilen sürgünlerin %55'e yakını köklenmiştir. Altkültürler sırasında sürgünler % 0.9 agar, 0.7 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP ve 0.01 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA içeren MS besi ortamı kullanıldığı bildirilmiştir.

Uematsu ve ark. (1987), sürgün ucu kültürleri yoluyla badem çoğaltımı yapılan çalışmada; aktif olarak büyümüş badem sürgünlerinden alınan 0.5 mm uzunluğundaki sürgün uçları 6-BA ya da N-(2-chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea 4-PU ile desteklenmiş ½ MS besi ortamına ekilmişlerdir. Sürgünler 2-4 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> 4 PU içeren kağıt filtre (paper-

wick) sıvı besi ortamında %70-80 civarında hayatta kalmışlardır. Gelişen sürgünler  $2 \text{ g l}^{-1}$  gerlite ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  6-BA içeren katı besi yerine transfer edilmiştir. Bu sürgünler 40 günlük peryotlarla aynı besi yerinde alt kültüre alınmıştır. Kültüre başladıktan 9 ay sonra çoğalma oranı 6.6 kat olarak gerçekleşmiştir. Elde edilen en iyi sürgün uzunluğu 3.8 cm olduğunun bildirildiği çalışmada,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  NAA içeren köklenme besi ortamına aktarıldıktan 1 ay sonra kök oluşumunun gözlemlendiği bildirilmiştir.

Damiano ve Monticelli (1998), bir *in vitro* çoğaltma çalışmasında, Fascinello, Ferragnes, Tuono badem çeşitleri; M49, M50, M51, M52, M53 ve M55 badem seleksiyonları; Gala ve McIntosh elma çeşitleri; *Prunus pyraister* klonlarının üç tipi (P8, P38 ve P50); Ontario erik çeşidi; Citation (erik x şeftali) ve GF-677 (badem x şeftali) melez anaçları kullanılmıştır. Deneme her çeşit veya seleksiyon başına 3 tekerrür, her tekerrürde 8-10 sürgün olacak şekilde planlanmıştır. Ontario erik çeşidi SH ortamında, diğer türler ise MS ortamında daha iyi çoğalmıştır. GF-677,  $0.35 \text{ mg l}^{-1}$  BAP,  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> ve  $1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ilave edilen MS temel besi ortamında diğer tüm genotiplerden daha yüksek oranda (%85) köklenmiştir. GF-677 anacının *in vitro*'da köklenmesi, besin ortamına eklenen mineral madde konsantrasyonlarından ve tüp kapaklarının parafilm veya lastik olmasından etkilenmiştir. WPM ortamında mineral madde konsantrasyonunun  $\frac{1}{2}$  dozdan iki katına çıkarılması; köklenme oranı, köklenen bitki sayısı, ortalama kök uzunluğu ve taze kök ağırlığını önemli derecede arttırmıştır. MS ortamı kullanıldığında kök sayısı ve ortalama kök uzunluğu tam ve  $\frac{1}{2}$  mineral madde konsantrasyonlarında daha iyi olmuştur. Her iki ortamda mineral madde konsantrasyonu arttıkça kök taze ağırlığı artmıştır. MS ortamı düşük mineral madde konsantrasyonunda WPM ortamına göre daha iyi sonuç vermiştir. Lastik kapak kullanımı, köklenme oranı, kök sayısı ve kök taze ağırlığı bakımından parafilm kapağa göre daha iyi sonuç vermiş, ancak kök uzunluğunu azalttığı bildirilmiştir.

Saeed (1998), Ne Plus Ultra ve Nonpareil badem çeşitlerinden alınan sürgün ucu ve nod (1-1.5 cm uzunluğundaki) eksplantlar steril edildikten sonra MS bazal ve  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP hormonlarını içeren MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür sonunda en iyi sonuç IBA + BA ilaveli MS ortamından sağlanmıştır. Yeni oluşan sürgünler,  $1-2 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren MS ortamına aktarılmış ve  $2 \text{ mg l}^{-1}$  BAP içeren ortamda en yüksek gelişme sağlanmıştır. Sürgünler  $1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA-NAA hormon karışımı içeren Bourgan ve Nitsch ortamlarında köklendirilmiştir. Sürgünlerden sayı ve uzunluk



bakımından en iyi köklenme karanlıkta IBA-NAA ilaveli ortamda sağlandığı bildirilmiştir.

Gürel ve Gülşen (1998), Texas ve Nonpareil badem (*Amygdalus communis* L.) çeşitlerinin sürgün ucu kültürü ile *in vitro* çoğaltımı amacıyla yapılan çalışma kapsamında; farklı IBA ve BAP konsantrasyonları ve üç farklı kültür aşamasında (ilk dikim, şaşırtma ve çoğaltma) farklı çalışmalar yapıldığı bildirilmiştir. Hem şaşırtma hem de çoğaltma aşamasında  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA kombinasyonunun sürgün verimi ve gelişmesi bakımından en iyi sonuçları verdiği görülmüştür. Genel olarak, sürgün oluşumu için her iki aşamada da BAP'nin gerekli olduğu tesbit edilmiş, ancak  $2-3 \text{ mg l}^{-1}$  BAP gibi yüksek düzeylerde kullanıldığı zaman vitrifikasyon ve sürgünlerin canlılığının azalmasına yol açan kallus oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir.

Ainsley ve ark. (2000), badem yaprak eksplantlarından adventif sürgün rejenerasyonu ile yapılan bir çalışmada, Nonpareil ve Ne Plus Ultra badem çeşitlerinin mikroçoğaltılmış sürgünlerinden elde edilen yapraklar kullanılarak adventif sürgün poliferasyon protokolü geliştirilmeye çalışılmıştır. Bu kapsamda AP temel besi ortamı ve 2,4-D, NAA, IBA, BA ve TDZ gibi çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır. Oksin uygulamasında Ne Plus Ultra eksplantları için NAA ve IBA adventif sürgün oluşumunu teşvik etmesine rağmen, Nonpareil için sadece IBA'nın etkili olduğu bildirilmiştir. Sitokinin uygulamasında ise BA ve TDZ varlığında Ne Plus Ultra çeşitinde sürgün gelişiminin olduğu görülmüştür. Buna karşın CH (casein hydrolysate) içermeyen besi ortamında sadece TDZ'nin etkili olduğu bildirilmiştir. Ortama %0.1 w/v CH ilavesi her iki çeşitin de kallus morfolojisini geliştirdiği ve rejenerasyonu arttırdığı görülmüştür. En yüksek rejenerasyon oranı  $9.8 \mu\text{M}$  CH, ve  $4.7 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  TDZ ile desteklenmiş AP temel besi ortamında Ne Plus Ultra (% 44.4) ve Nonpareil (%5.5) oranında elde edildiği bildirilmiştir.

Ainsley ve ark. (2001), Ne Plus Ultra ve Nonpareil'in sürgün uçları,  $4^{\circ}\text{C}$ 'de aydınlık koşullarda 4 hafta büyümeye alınmıştır. Kök oluşumunda optimum oksin konsantrasyonunun belirlenmesi için IBA ve NAA'nın farklı konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Buna ek olarak kök bölgesinde gölgelemenin etkisi ve bazal tuz kompozisyonu incelenmiştir. Her iki çeşit için en iyi sonuç,  $1 \text{ mM}$  IBA ile %0.6'lık su-agar solüsyonu içinde 12 saat bekletilen sürgünlerin bu işlemten sonra 2 hafta oksin

içermeyen ortama transfer edilmesinden alınmıştır. Aktarılan dokular, başlangıçta 3 gün karanlık koşullar altında tutulmuş ve daha sonra ışığa çıkarılmışlardır. Karanlık periyodun uzatılması köklenmeyi arttırmamıştır. ½ MS ortamı Ne Plus Ultra sürgünlerinin köklenmesi için uygun olurken, AP ortamı Nonpareil sürgünlerinin köklenmesinde en iyi sonucu vermiştir. Bu koşullar altında aktarılan dokuların %60'ında kök gelişimin meydana geldiği bildirilmiştir.

Channuantapipat ve ark. (2003), Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri ile Titan x NemaGuard hibrit anacının mikroçoğaltımının sürgün ucu kültürleriyle yapıldığı çalışma kapsamında; 0.7 cm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılmıştır. Bu amaçla kullanılan besi ortamları çeşitler itibarıyla farklılık göstermekle birlikte; Nonpareil 15-1 çeşidi için; 0.01 mgI<sup>-1</sup> IBA, 0.7 mgI<sup>-1</sup> BAP, 20 gI<sup>-1</sup> sukroz ve %0.7'lik agar içeren AP besi yeri kullanılırken, Ne Plus Ultra çeşidi için; 0.01 mgI<sup>-1</sup> IBA, 1.1 mgI<sup>-1</sup> BAP, 30 gI<sup>-1</sup> sukroz ve %0.7'lik agar içeren MS besi ortamının uygun olduğu bildirilmiştir. Ayrıca hibrit Titan x NemaGuard anacı için; 2.2 mgI<sup>-1</sup> BAP, 30 gI<sup>-1</sup> sukroz ve %0.7 agar içeren MS besi ortamının en iyi sürgün poliferasyonunu sağladığı görülmüştür. Yaklaşık 2 cm uzunluğundaki anaç sürgünlerinin köklendirilebilmesi için 0.5 mgI<sup>-1</sup> IBA, 30 gI<sup>-1</sup> sukroz %0.7'lik agar ile desteklenen ½ MS besi ortamında bir hafta karanlık iki hafta aydınlıkta bekletme işlemi uygulanmıştır. Köklenme oranı %88 olarak belirlenmiştir. Daha sonra 1.5 cm uzunluğunda aşılama kalemleri anaçlar üzerine aşılanmış ve köklenme ortamında kültüre alınmıştır. Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra için yaşama oranı sırasıyla %50 ve %65 olarak belirlenirken; köklenen anaçlar ve aşılanmış bitkilerin yaşama oranı %92 olarak tespit edilmiş ve başarılı bir şekilde aklimatasyonu sağlanarak dış ortama aktarıldığı bildirilmiştir.

Yapar ve ark. (2006), Garrigues ve Yaltinski badem çeşitlerinin çoğaltımı için *in vitro* doku kültürü teknikleri uygulanarak yapılan bir çalışmada, sitokin ve oksinlerin çeşitli konsantrasyon ve kombinasyonu ile desteklenmiş MS besi ortamında her iki çeşide ait embriyo, nodal tomurcuk ve sürgün uçları kültüre alınmıştır. Her iki çeşidin embriyo kültürlerinde en iyi kök oluşumu büyüme düzenleyicileri içermeyen besi ortamında elde edilmiştir. Garrigues çeşitinde en yüksek kök gelişimi 4 mgI<sup>-1</sup> IAA ile elde edilmiştir. Kültüre alınan sürgün uçlarından kallus gelişmiştir. Ancak 4 mgI<sup>-1</sup> ile desteklenmiş MS besi ortamında hızlı gelişen kırılabilir kallusların meydana geldiği görülmüştür. En iyi nodal eksplant gelişimi 2 mgI<sup>-1</sup> BAP ve 0.5 mgI<sup>-1</sup> IAA içeren MS

besi ortamında meydana gelmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, her iki türe ait nodal eksplantların direk embriyogenesis için kullanabileceğini göstermiştir.

Demirok (2006), AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotiplerine ait sürgün uçlarının canlılık, sürgün oluşturma ve köklenme oranları incelenmiştir. Araştırmada MS makro ve mikro besin elementleri, vitaminleri ve Fe-NaEDTA kompozisyonu kullanılmıştır. Sürgün geliştirme ve çoğaltma aşamasında; 0, 0.5, 1, 1.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP ve 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> konsantrasyonları, köklendirme aşamasında ise 0, 0.5, 1, 1.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA ve 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> konsantrasyonları ile büyümeyi düzenleyici içermeyen MS ortamı kontrol olarak kullanılmıştır. Çalışmada, canlılık oranı AK-2 genotipinde %91.25, AK-1 genotipinde %88.75 ve GF-677 genotipinde %85; kardeşlenme sayısı ise AK-1 genotipinde 2.43 sürgün/eksplant, GF-677 genotipinde 0.88 sürgün/eksplant ve AK-2 genotipinde 0.5 sürgün/eksplant; köklenme oranı AK-1 genotipinde %24.06, GF-677 genotipinde %22.25, AK-2 genotipinde %6.19; mikrosürgün başına düşen kök sayısı AK-1 genotipinde 2.78 kök/mikrosürgün, GF-677 genotipinde 1.95 kök/mikrosürgün ve AK-2 genotipinde 0.94 kök/mikrosürgün olarak bulunmuştur.

Çelik (2008), AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotipleri ile Ferragnes badem, Francoise şeftali ve Ninfa kaysı çeşitlerine ait sürgün uçları kullanılarak sürgün uçlarının canlılık, sürgün oluşturma ve aşı tutma oranları incelenmiştir. Araştırmada MS makro ve mikro besin elementleri, vitaminleri ve Fe-NaEDTA kompozisyonu kullanılmıştır. Sürgün geliştirme ve çoğaltma aşamasında 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP ve 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> konsantrasyonları kullanılmıştır. Çalışmada aşı tutma oranları Ak-1 genotipinde %25.1, Ak-2 genotipinde %34.4 ve GF-677 genotipinde %25 olarak bulunduğu bildirilmiştir.

Akbaş ve ark. (2009), Yaltsinki badem çeşidinin *in vitro* sürgün çoğaltımı üzerine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisinin araştırıldığı çalışmada, ağaçlardan alınan sürgün uçlarından *in vitro* sürgün rejenerasyonu için bir protokol oluşturulmuştur. Eksplantlar sürgün çoğaltımı için BA ve Kinetinin farklı konsantrasyonlarıyla desteklenmiş MS besisi ortamında kültüre alınmıştır. Eksplant başına 16 adet sürgün ile en iyi sürgün çoğaltımının elde edildiği ortam; 30 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> sukroz, 7 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> agar ve 1 g<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren MS besisi ortamı olarak belirlenmiştir. Belirlenen bu ortama ilave olarak üç farklı oksinin (IAA, IBA, NAA) iki farklı konsantrasyonuyla

(0.25-0.5  $g l^{-1}$ ) kombine edilmiş 1  $g l^{-1}$  BA ve Kinetin içeren besi ortamında kültüre alınmıştır. Ancak NAA ile kombine edilmiş besi ortamının sürgün oluşumunu teşvik etmemekle birlikte inhibitör etkisinin olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda dört farklı sukroz konsantrasyonunun (20, 30, 40 ve 50  $g l^{-1}$ ) etkisinin de araştırıldığı çalışmada; en iyi sürgün çoğaltımı eksplant başına 15.40 adet sürgün ile 30  $g l^{-1}$  sukroz içeren MS besi ortamından elde edildiği bildirilmiştir.

Işıkalan ve ark. (2008), Nonpareil badem çeşidi için etkili bir *in vitro* çoğaltım metodu geliştirilen çalışmada, olgun tohumlardan elde edilen embriyolardan kültür başlatılması üzerine BA ve Kinetinin farklı konsantrasyonları etkisi araştırılmıştır. 30  $g l^{-1}$  sukroz, 0.5-1  $mg l^{-1}$  BA ve 7  $g l^{-1}$  agar içeren MS besi ortamında 28 günlük kültürden sonra eksplant başına  $11.0 \pm 1.32$  ve  $14.7 \pm 2.12$  adet sürgün oluşumu gözlenmiştir. Ayrıca sürgün poliferasyonu için BA'nın düşük konsantrasyonları (0.1-0.5-1 ve 2  $mg l^{-1}$ ) ve farklı oksin sitokin kombinasyonları araştırılmıştır. Sürgün üretimi için en iyi sonuçlar 1  $mg l^{-1}$  BA ile desteklenen MS kültür besi ortamında elde edilmiştir. Köklenme 8  $mg l^{-1}$  IAA ile desteklenmiş  $\frac{1}{2}$  MS besi yerinde gerçekleştirildiği bildirilmiştir.

Işıkalan ve ark. (2010), Yaltinski badem çeşidinin farklı eksplantlarından adventif sürgün ve kallus oluşumu üzerine bitki büyüme düzenleyicilerin etkisi araştırıldığı çalışma kapsamında; yaprak ve gövde eksplantları için 1  $mg l^{-1}$  BAP ile kombine edilmiş dört farklı oksin (IAA, NAA, IBA ve 2,4-D) ile desteklenmiş MS besi ortamı kullanılmıştır. Kültüre alınan eksplantlar karanlık ve aydınlık koşullarda kallus üretimine zorlanmıştır. Aydınlık koşullar altında en iyi sonuç NAA-BAP (1:1-2:1) konsantrasyonlarından sırasıyla %90 ve %88 olarak gerçekleşmiştir. Yalnız oksin konsantrasyonlarında yaprak eksplantları üzerinde embriyojenik olmayan kallus oluştuğu gözlenmiştir. Yapraklardan elde edilen kalluslar adventif sürgün gelişimi için farklı BAP konsantrasyonları (1, 2, 4, 6 ve 8  $mg l^{-1}$ ) içeren MS besi ortamında kültüre alınmış olup, kalluslardan bir miktar proliferasyon görülmesine rağmen, embriyojenik olmadığı bildirilmiştir. Çalışmada gövde eksplantları için en yüksek kallus oluşumunun karanlık koşullarda (7 gün) 1:1 oranında 2,4-D + BAP içeren besi ortamında %80 oranında olduğu görülmüştür. Ayrıca aynı besi ortamı ve koşullarda bir miktar embriyojenik kallusların oluşumu da gözlenmiştir. Kalluslar 4  $mg l^{-1}$  BAP içeren besi ortamına aktarıldıklarında adventif sürgün oluşumu görülmüş, ancak diğer BAP

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

---

konsantrasyonları embriyojenik herhangi bir cevap göstermemiştir. Yaltinski sürgün eksplantlarının kök gelişiminin karanlık koşullarda (4:1) oranında IAA+BAP ile desteklenmiş besi ortamı en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir.

Zilkah ve ark. (1993), çalışmalarında, PNRSV için kullanılan indikatör bitkilerin *in vitro* çoğaltımı için bir protokol geliştirmişlerdir. *Prunus tomentosa* ve *Prunus serrulata* (Shirofugen) indikatörleri bu yöntemle çoğaltılmıştır. Sürgün gelişim aşamasında, Shirofugen için  $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D +  $0.01 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> +  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren Boxus ortamı; *Prunus tomentosa* için  $0.01 \text{ mg l}^{-1}$  IBA,  $0.02 \text{ mg l}^{-1}$  BA içeren AP (Almehdi and Parfitt) besi ortamı kullanılmıştır. Kardeşlenme aşamasında, Shirofugen için AP +  $0.01 \text{ mg l}^{-1}$  IBA,  $0.05 \text{ mg l}^{-1}$  BA ve  $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> ve *Prunus tomentosa* için AP +  $0.02 \text{ mg l}^{-1}$  BA,  $0.01 \text{ mg l}^{-1}$  IBA, köklenme aşamasında ise *Prunus tomentosa* için  $\frac{1}{2}$  MS +  $0.05 \text{ mg l}^{-1}$  NAA ve Shirofugen için  $1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ortamları kullanılmıştır. PNRSV infekteli şeftaliler steril koşullarda indikatörlerle resiplokal olarak aşılmıştır. İndikatörlerde virüs taşınması ELISA yöntemiyle test edilmiştir. Işığın (350-740 nm) kalitesi, karanlık uygulaması ve kimyasal kompozisyonunun GF-677 klonal anacının köklenmesine etkisi üzerinde çalışılmıştır. Sürgün eksplantları sarı, yeşil, mavi, kırmızı ve beyaz (tanık) flouresan tüplerinde 4 hafta aydınlatmaya maruz bırakılmıştır. Bazı eksplantlar köklenme aşaması boyunca karanlıkta tutulmuştur ve diğerleri sadece ilk 2 veya 4 gün için yalnızca kırmızı, mavi, yeşil, sarı ışıkta veya karanlıkta tutulmuş, daha sonra beyaz (tanık) ışığa transfer edilmiştir. Beyaz ışığın adventif kök için en etkili radyasyon kaynağı olduğu belirlenmiştir. Sürekli karanlıkta tutulan bitkilerin kök gelişimi durmuş, kırmızı ışıkta tutulan bitkilerde ise köklenme azalmıştır. İlk 2 veya 4 gün karanlık, sarı ya da mavi ışığa maruz bırakılan bitkilerde kök gelişiminin beyaz ışığa maruz kalan bitkilerin sonuçlarına yakın sonuçlar verdiği bildirilmiştir.

Lauri ve ark. (2001), Sert kabuklu meyve türlerinde sürgün ucu kültürü ile yapılan çoğaltma çalışmasında, poliferasyonu teşvik etmek amacıyla bir protokol geliştirilmiş ve sürgün rejenerasyonu elde edilmiştir. *In vitro* sürgünlerden alınan sürgün uçları rejenerasyon için  $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  BA,  $0.2 \text{ mg l}^{-1}$  NAA ve  $250 \text{ mg l}^{-1}$  sefatoksin içeren bir LP besi ortamına transfer edilmiş daha sonra  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> ilave edilmiş ve 4 haftada bir yeni bir ortama aktarılmıştır. M-55 badem tipi üzerinde yapılan histolojik çalışmalar, sürgünlerin yara dokusundan meydana geldiğini açıkça göstermiştir. Yara dokusu, aylarca sürgün oluşturma yeteneğini koruduğu tespit edilmiştir.

Cos ve ark. (2004), MS, WPM, DKW kültür ortamları ile şeftali x badem melezi olan Mayor için özel olarak hazırlanan ME besi ortamı kullanılarak adı geçen ortamlardaki çoğalma miktarı ve oranıyla birlikte, elde edilen bitkilerin, yaprak sayısı ve boyu, vitrifikasyon gösteren eksplantların oranı incelenmiştir. Büyüme düzenleyici madde olarak  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ve  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA kullanılmıştır. Ortamlara  $30 \text{ g l}^{-1}$  sukroz ve  $7 \text{ g l}^{-1}$  Difco Bacto Agar ilave edilmiştir. En iyi kültür ortamının ME olarak bulunduğu çalışmada, eksplantların çoğalma oranı 5.21 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuç, diğer 3 ortamdan alınan çoğalma oranlarıyla karşılaştırıldığında önemli bir fark teşkil etmiştir. Eksplant uzunluğu ve yaprak sayısının da yüksek gerçekleştiği bu ortamda ayrıca vitrifikasyon semptomları daha az görülmüştür. Büyüme düzenleyici maddelerle yapılan çalışmada en iyi çoğalma oranı  $1 \text{ mg l}^{-1}$  ve  $1.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA içeren ortamlardan alınmıştır.  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ve  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA kullanıldığında vitrifikasyon semptomları azalmış ve bu konsantrasyon optimum olarak belirlenmiştir.  $2 \text{ mg l}^{-1}$  GA<sub>3</sub> eklendiğinde çoğalma miktarı azalmış ancak eksplantların boyunda artış olduğu tespit edilmiştir.

Marino ve Ventura (1997), GF-677 hibrit şeftali anacının (*P. persica* × *P. amygdalus*) *in vitro* köklenmesi üzerine etilenin etkisinin araştırıldığı çalışmada; her bir tip şişe kapatıcı (serbest gaz değişimi için pamuk tapa - hava geçirmez lastik kapak - Etilen emdirilmiş lastik kapak) için değişen uygulamalar ve/ya da köklenme besi ortamları (25-100  $\mu\text{M}$  asetilsalisik asit bulunan veya bulunmayan), kültür atmosferi ve GF-677 anacının mikro çeliklerinin köklenmesi üzerine gaz kompozisyonunun etkileri incelenmiştir. Tüp içerisinde hızlı etilen birikmesini sağlayan lastik kapak köklenme süresini oldukça kısaltmakla birlikte, bazı durumlarda pamuk tapa kullanılan kaplardan daha yüksek köklenme oranının elde edildiği bildirilmiştir. Tamamen etilen absorbe edilen Ethysorb'un bulunduğu durumlarda, bulunmayan ortamlara göre 9 gün daha erken köklenme oranlarının meydana geldiği görülmüştür. Buna karşın iki uygulamadan 14 gün sonra köklenmede önemli bir farkın bulunmadığı görülmüştür. Sürgünlerdeki köklenme üzerine Karbondioksit konsantrasyonunun bütün uygulamalarında benzer sonucu gösterip, köklenme için etkili olmadığı bildirilmiştir. Köklenme üzerine asetilsalisik asitin etkisiyle ilgili olarak, kök sayısı ve uzunluğunu önemli derecede etkilememiştir. Elde edilen genel sonuçlara göre; hava geçirmez kapakların kullanımı hızlı etilen birikimine öncülük etmiş olup, GF-677 mikroçeliklerinin köklenme

zamanını düşürdüğü; ancak köklenme periyodunun sonuna doğru serbest gaz değişimi yaprak sarılaşmasını önlemek için kullanılabilmesi görülmüştür. Çalışmalar sonunda elde edilen bitkilerin hayatta kalması *in vivo* şartlara transfer edildikten sonraki büyüme bakımından uygulamalar arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı bildirilmiştir.

Kamali ve ark. (2001), GF-677 anacının (*P. amygdalus x P. persica*) mikroçoğaltım yöntemiyle çoğaltımını kolaylaştırmak için yapılan çalışmada; kültür başlatma amacıyla anaç bitkilerden Nisan ayında alınan sürgün ucu eksplantları civa klorid ile steril edilmiştir. Kültür besi ortamı için Knop'un modifiye edilmiş hali kullanılmıştır. Proliferasyon için bu besi ortamı 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA ile desteklenmiş; elde edilen kaliteli sürgünlerin köklenmesi için 0.3 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA ve 1.6 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> Tiamin içeren LS besi ortamı kullanılarak 7 gün karanlık periyot altında bekletmeyle en iyi sonuç elde edilmiştir. Çoğaltılan bitkiler aklimitasyon amacıyla büyüme ortamına aktarılmış ve daha sonra saksılara transfer edilerek başarılı sonuç elde edildiği bildirilmiştir.

Kamali ve ark. (2001), GF-677 anacının doku kültürü yöntemiyle mikro çoğaltılmasının araştırıldığı çalışmada dokular Nisan ayında sürgün uçlarından alınmıştır. 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA içeren ortam çoğaltma için en iyi sonucu vermiştir. En yüksek köklenme 0.3 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA ile 1.6 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> thiamine içeren ortamda ve 7 günlük karanlık uygulamasından elde edilmiştir.

Molassiotis ve ark. (2003), GF-677 anacının *in vitro* koşullarda üretilen sürgünlerin köklenmesine Fe-EDDHA (Fe-ethylenediamine-di-(o-hydroxyphenyl)-acetic acid)'in etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; 30 gl<sup>-1</sup> sukroz, 7 gl<sup>-1</sup> agar, 0.6 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BA, 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> ve 0.05 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA ile desteklenmiş MS besi ortamı kullanılmıştır. FeCl<sub>3</sub>, Fe-EDTA ve Fe-EDDHA gibi üç demir formu 3 konsantrasyon olarak (0.002 – 0.005 – 0.01 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> Fe) denenmiştir. Fe-EDDHA'dan elde edilen sonuçlar diğer gruplarla karşılaştırıldığı zaman en iyi sonucu verdiğinin bildirildiği çalışmada; 0.01 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> Fe-EDDHA serisinde; köklenme oranı %100, ortalama kök sayısı 7.3, kök uzunluğu ise 3.8 cm olarak gerçekleşmiştir.

Caboni ve Lauri (2002), *In vivo*'da gelişen GF-677, M-51 klon anaç genotipleri ve Babygold şeftali çeşidinin sürgünleri, *in vitro*'da kültüre alınmıştır. MS ortamına; 1-1/2 ve 1/4 Fe-EDTA, ilave edilmiştir. Ayrıca 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> KHCO<sub>3</sub> ilavesiyle eşit molarlarda FeSO<sub>4</sub> ile yer değiştirmiş olan MS ortamı kullanılmıştır. Çoğalma hızları hesaplanmış

ve klorofil içeriği belirlenmiştir. Fe eksikliği semptomları genotipe bağlı olarak, bikarbonat ilaveli  $\text{FeSO}_4$  bulunan ortamda daha açık görülmüştür. En belirgin semptomlar Babygold şeftali çeşidinde, orta dereceli semptomlar GF-677 ve M-51 klon anaç genotiplerinde ve daha az belirgin semptomlar da badem genotiplerinde görülmüştür. *In vitro* ve dış ortam arasında bir korelasyon olduğu ileri sürülmüştür. Bu ilk sonuçlar, badem ve diğer sert çekirdekli meyve türlerinde kloroza toleransın hızlı kontrolü için doku kültürlerinin kullanımının mümkün olduğu bildirmiştir.

Ahmad ve ark. (2003), GF-677 şeftali anacının *in vitro* sürgün proliferasyonu üzerine MS ve Anderson besi ortamlarının ve farklı BA konsantrasyonlarının (0.3, 0.6, 0.9  $\text{mg l}^{-1}$ ) etkisinin incelenmesine yönelik olarak yapılan çalışma kapsamında; AND besi ortamından elde edilen klorotik, küçük ve vitrifiye sürgünlere göre, MS besi ortamında sürgün proliferasyonu, uzunluğu ve büyümesinin daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. 0.6  $\text{mg l}^{-1}$  BAP konsantrasyonunun kullanılması durumunda 2 cm'den uzun çok sayıda sürgün oluştuğu görülmüştür. Yüksek konsantrasyonda BAP (0.9  $\text{mg l}^{-1}$ ) kullanımıyla kallus oluşumunun ve sürgün ucu nekrozunda azalma meydana gelmiştir.  $\frac{1}{2}$  MS besi ortamının 3  $\text{mg l}^{-1}$  IBA ile desteklenmesiyle en iyi köklenme elde edilmiş olup, yüksek konsantrasyonda IBA (4  $\text{mg l}^{-1}$ ) kullanımı durumunda kallus oluşumunun azaldığı ve normal kök gelişiminin inhibe olduğu bildirilmiştir.

Molassiotis ve ark. (2004), tarafından yapılan bir çalışmada GF-677 klon anacının Fe-EDTA uygulanmış mikro çeliklerinde *in vitro* köklenme sırasında meydana gelen peroksidaz ve katalaz aktivitesindeki değişimler araştırılmıştır. İlk kökler, köklenme ortamına alma işleminden yaklaşık 12 gün sonra görülmüştür. Köklenmemiş mikro çeliklerin aksine köklenmiş olan mikro çelikler 9. günde en yüksek peroksidaz aktivitesi göstermiştir. 6. ve 12. günlerde peroksidaz yoğun bir şekilde iyonik olarak hücre duvarına geçiş yapmış, 6. ve 15. günlerde ise katalaz enzimi maksimum aktivite göstermiştir. Çözünür peroksidaz izoenzimlerinin zamanla değişimleri sadece köklenmiş mikro çeliklerde görünür bir bant meydana getirmiştir.

Antonopoulou ve ark. (2005), *In vitro* köklenen GF-677 melez anacında  $\text{B}_2$  (Riboflavin) vitamininin etkisi üzerinde çalışılmıştır. Riboflavinin 0, 0.5, 1, 1.5 ve 2  $\text{mg l}^{-1}$  konsantrasyonları denenmiştir. 4 hafta sonra kontrol uygulamasına göre köklenmenin çok düşük olduğu ve riboflavinin eksplantlarda yan kök oluşumunu teşvik



etmediği görülmüştür. B<sub>2</sub> vitamininin en yüksek (1.5 ve 2 mg l<sup>-1</sup>) iki konsantrasyonunu içeren köklenme ortamında, sürgünlerin büyük bir kısmında, tepe nekrozu ve kloroz semptomları görüldüğü bildirilmiştir.

Fotopoulos ve Sotiropoulos (2005), Yunanistan Pomoloji Enstitüsünde selekte edilen PR 204/84 (şeftali x badem) anacı, GF-677 klon anacına alternatif bir anaçtır. MS ortamının mineral madde konsantrasyonunun indirgenmesi ve IBA konsantrasyonlarının 0.5 ve 1 mg l<sup>-1</sup> olması durumunda PR 204/84 eksplantlarının ana kök sayısında ve bu eksplantların köklenme oranlarında önemli bir artış olmuştur. ½ MS ve MS ortamlarında, IBA konsantrasyonlarının tümünde kök uzaması teşvik edilmiştir. Yine bu iki besi ortamında, IBA miktarının 0'dan 2 mg l<sup>-1</sup>'a doğru artışıyla sürgün başına düşen ana kök sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Kültür ortamının mineral madde konsantrasyonu ve IBA kök uzunluğunda önemli bir etkide bulunmamıştır. Sürgünler oksinin bulunmadığı kontrol ortamında köklenmemiştir. 0.5, 1 ve 2 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren ½ MS ortamı ile 1-2 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren MS ortamında sürgün köklenmesinin %100 olduğu gözlenmiştir.

Ahmad ve ark. (2007), GF-677 şeftali anacının *in vitro* köklenmesi ve sürgün poliferasyonu üzerine sorbitol ve sukroz karbon kaynaklarının etkilerinin araştırıldığı çalışmada 15, 30, 45 ve 60 g l<sup>-1</sup> konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Çoğalmış eksplant başına en yüksek sürgün sayısı kullanılabilir sürgünlerin maksimum taze ağırlığı olan 30 g l<sup>-1</sup> sorbitolden elde edilmiştir. GF-677'nin *in vitro* sürgün çoğaltımı için sukroz kullanımının etkili olmadığı görülmüştür. Benzer bir şekilde 30 g l<sup>-1</sup> sorbitolde en iyi köklenme oranı, köklenmiş eksplant başına kök sayısı ve 1.5 cm'den büyük uzunlukta kökler elde edilmiştir. GF-677 şeftali anacının *in vitro* çoğaltımı ve köklenmesinin gelişimi için sorbitolün sukroza göre daha iyi karbon kaynağı olduğu bildirilmiştir.

Bajaj (1986), Klon anaçlarının çoğaltılmasında vegetatif yöntemlerden en fazla kullanılanı çelik ile çoğaltmadır. Bazı anaçlarda daldırma yöntemini de uygulamak mümkündür. Bu yolla geniş çaplı üretim ve kısa sürede çok sayıda anaç materyali elde etmek mümkündür. Geniş çaplı üretim ve kısa sürede çok sayıda anaç materyali elde etmek amacı ile *in vitro* tekniklerden de son yıllarda yaygın olarak yararlanılmaktadır. Hızlı ve geniş çaplı üretim için *in vitro* teknikler birçok meyve türünün çoğaltılmasında kullanılmaktadır.

Silveira (2000), Myrabolan, Marianna, Mr.S 2/5, GF-677 ve G x N22 anaçları için *in vitro* çoğaltma protokollerinin geliştirilmesi amacıyla yapılan çalışmada; tam MS ve  $\frac{3}{4}$  MS ortamı ve BAP'ın 4 farklı konsantrasyonu (0.1, 0.3, 0.5 ve 0.7 mg $l^{-1}$ ) incelenmiştir. Genotipler, bu iki ortamda ve farklı BAP konsantrasyonlarında farklı tepkiler vermişlerdir. Mr.S 2/5 ve G x N22 anaçları  $\frac{3}{4}$  MS ortamında BAP ile daha iyi sonuçlar sağlamıştır. Marianna anacı, 0.7 mg $l^{-1}$  BAP içeren MS ortamında en iyi sonucu verirken, Myrabolan anacı 0.5 mg $l^{-1}$  BAP içeren  $\frac{3}{4}$  MS ortamında en iyi sonucu vermiştir. Kullanılan her iki ortamda (MS ve  $\frac{3}{4}$  MS) BAP dozu arttıkça sürgün uzunluğunda azalma gözlenmiştir. G x N22 anacı aynı tepkiyi MS ortamında vermiştir. Köklenmeyle ilgili olarak çalışmanın devamında anaçların her biri için IBA'nın 4 farklı dozu (0, 0.002, 0.02, 0.2) IAA'nın 4 farklı dozu (0.001, 0.01, 0.1) ve NAA'nın 4 farklı dozu (0, 0.001, 0.01 ve 0.1 mg $l^{-1}$ ) incelenmiş olup; kullanılan anaçların oksin ve konsantrasyonlarına göre farklı tepkiler verdiği görülmüştür. IBA ve IAA oksinleri tüm uygulamalarda NAA'dan daha iyi sonuçlar vermiştir. G x N22 anacı en iyi sonucu IBA'nın 0.002 IAA'nın 0.001 mg $l^{-1}$  konsantrasyonunda verirken, Marianna anacı 0.002-0.1 mg $l^{-1}$  konsantrasyonlarında en iyi sonucu vermiştir. Myrabolan anacı, oksin tipleri ve konsantrasyonlarına göre önemli tepkiler vermemiştir. Sonuçta, NAA'in Prunus anaçlarının *in vitro* çoğaltımı için uygun olmadığı bildirilmiştir.

Rodrigues ve ark. (2003), Prunus anaç adaylarının *in vitro* koşullarda çoğaltılması için ortam çalışmalarında 1 cm uzunluğunda alınan sürgün uçları 16 saat fotoperiyot ve  $25 \pm 2$  °C sıcaklıkta tutulmuştur. Deneme MS,  $\frac{3}{4}$  MS, SH ve Villegas ortamlarıyla kurulmuş, çoğaltma ortamı olarak SH ve  $\frac{3}{4}$  MS kullanılmıştır. Ayrıca  $\frac{3}{4}$  MS ortamında farklı agar miktarları da (4.5, 5.5 ve 6.5 gl $^{-1}$ ) denenmiştir. Denemede, bitkilerin gelişme, infeksiyon ve oksidasyon yüzdeleri saptanmıştır. Çoğaltma ortamında en yüksek büyüme, gelişme ve kardeşlenme oranı 5.5 gl $^{-1}$  agar içeren  $\frac{3}{4}$  MS ortamında bulunduğu bildirilmiştir.

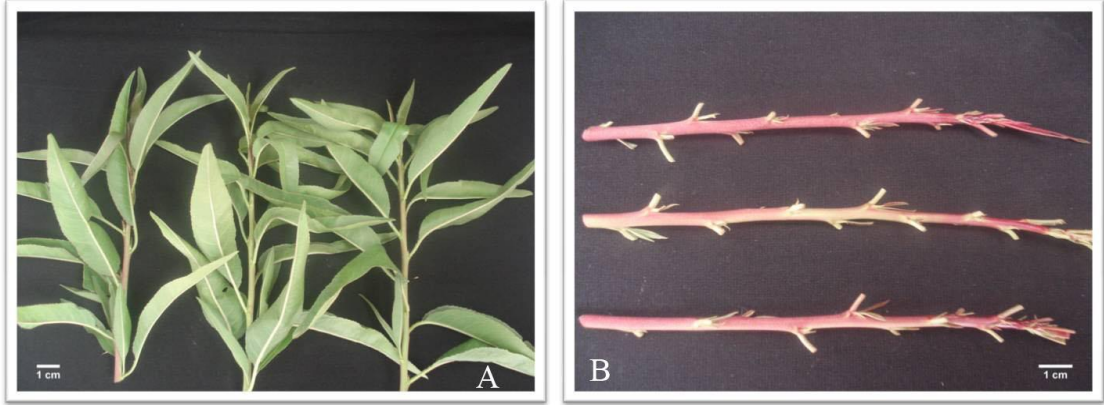
Günel (2006), Gisela 5 ve MaxMa 14 kiraz anaçlarının doku kültürü ile çoğaltılması amacıyla yapılan çalışmada; eksplant olarak tepe ve yan sürgün uçları, temel besi ortamı olarak ise MS kullanılmıştır. Çoğaltma ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda, GA<sub>3</sub> (0.25 mg $l^{-1}$ ) sabit olmak üzere, BAP'ın 0.1, 0.5 ve 1 mg $l^{-1}$  dozları ile 2,4-D'nin 0.01, 0.1 ve 0.5 mg $l^{-1}$  dozları tek başlarına veya BAP ve 2,4-D'nin birlikte kombinasyonları şeklinde kullanılmıştır. Büyüme düzenleyicilerin farklı dozlarının

sürgünlerin gelişme oranı, proliferasyonu sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada yan sürgün çoğaltımında gerek BAP'ın tek başına düşük dozları (0.1 ve 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) ve gerekse düşük dozdaki 2,4-D (0.01 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>) ile birlikteki kombinasyonları diğer doz ve kombinasyonlarına göre daha başarılı olduğu saptanmıştır. Ayrıca çoğalma safhasında alt kültür sayısı arttıkça yan sürgün sayısının da arttığı ve üçüncü alt kültür safhasında her sürgün ucundan ortalama 3.33 adet yan sürgün elde edilebileceği bildirilmiştir.

Arıcı (2008), Myrobolan 29-C, MaxMa 14, MaxMa 60, GF 677 ve GN anaçlarının sürgün uçları ve yan sürgünleri kullanılarak doku kültürü çoğaltma olanakları araştırılmıştır. Eksplantlar 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.02 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, 2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.02 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, 2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.02 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA + 0,5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA + 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, 2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.02 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA + 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, 2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA + 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> hormonlarını içeren MS ortamı üzerinde kültüre alınmıştır. Ortamlar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmese de en fazla sürgün oluşumu Myrobolan için MS + 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, MaxMa 60 için MS + 2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.02 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, MaxMa 14 için MS + 2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.2 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA + 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>, GF-677 için MS + 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.02 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA, GN için MS + 1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.02 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> NAA + 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> içeren ortamlarda gözlenmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırma, Dicle Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında 2011-2012 yılları arasında yürütülmüştür. Araştırmada eksplant kaynağı olarak Ferragnes ve Ferradual badem çeşitlerine ait fidanlar ile bademxşeftali melezi anaçlar olan GF-677 ve Garnem (GN-15)'den alınan bir yaşlı sürgünlerde bulunan tek boğum tomurcuklar kültür başlatmak için kullanılmıştır. Badem çeşitlerine ait sürgünler D.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü fidan üretim parselinde bulunan bir yaşlı fidanlardan; anaçlara ait materyaller ise Diyarbakır'da bulunan özel bir fidanlıktaki damızlık ağaçlardan alınmıştır (Şekil 3.1.).



**Şekil 3.1.** a) Ferragnes badem çeşidinde ait 15-20 cm uzunluğunda 1 yaşındaki sürgünler b) Yaprakları temizlenmiş ve tek boğum haline getirilmiş 1 yaşında sürgünler

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. GF-677 Anacının Genel Özellikleri

Kireçli topraklara uygun, kloroz, Phytophthora ve kök kanserine dayanıklı, yüksek kalitede meyve veren kuvvetli bir anaçtır. Gençlik kısırlığı süresi kısa olan ve homojen meyve veren ağaçları hemen ikinci yılda meyve vermeye başlayan şeftaliler için kısa sürede büyük taçlı ağaçlar oluşturması bakımından dünyanın birçok yerinde olduğu gibi Ege, Akdeniz, Marmara ve GAP bölgesi için de önerilebilen bir anaçtır (Küden 2000).

- Badem x şeftali melezi anaçtır.
- Fransa orjinlidir.

- Vegetatif yolla çoğaltılır (doku kültürü ve aşı ile).
- Erik, badem, nektarin ve şeftaliler için aşılamaaya uygundur.
- Patojensiz bitkilerdir.
- Arazi koşullarında bir örnek büyüme sağlarlar.
- Kuvvetli gelişim gösteren güçlü ağaçlardır.
- Toprakta gelişimi iyi olup, kuraklığa toleransı yüksektir. Ağır, orta ve hafif topraklar için uygundur. Yüksek verim sağlar (Rahan Meristem 1998).

#### 3.1.2. Garnem (GN-15) Anacının Genel Özellikleri

Kuvvetli gelişen toprağa bağlanması iyi olan bir anaçtır. Aktif kirece yüksek dayanıklılık gösterir. Güçlü yapısı yeniden ağaçlandırmaya izin verir. Yumrulu nematodlara ve kök ur nematoduna karşı dayanıklıdır. Toprağa bağlanması iyi olup, iyi bir bitki gelişimi gösterir. Ağır bünyeli topraklara uyum sağlar. Üzerindeki çeşidin meyve kalitesi üzerine olumlu etki yapar.

#### 3.1.3. Ferragnes Badem Çeşidi

“Cristomorto x Ai” badem çeşitlerinin melezidir. Çok geç çiçek açar ve orta zamanda meyvelerini olgunlaştırır. Güçlü, verimli ağaçlara sahiptir. Kabuk sert, iç randımanı %30-43 arasında değişmektedir. İç badem geniş ve uzun yapıda, genişlik/uzunluk oranı %42’dir (Kester ve ark. 1990). 1990’lı yıllarda yapılan adaptasyon çalışmalarıyla Güneydoğu Anadolu Bölgesi için uygun olduğu tespit edilmiştir.

#### 3.1.4. Ferraduel Badem Çeşidi

Fransız menşeli bir badem çeşitidir. “Cristomorto x Ai” çaprazlamasından oluşturulmuş olup ağaç gelişimi çok iyidir. Çiçeklerini geç açan bir çeşit olması önemli pozitif özelliklerindedir. Ferraduel badem ağacı çok erken meyveye yatar. İkiz meyve oranı %5 civarındadır. Fransız menşeli Ferragnes badem ağacı ile aynı zamanda toplanır. Sert kabuklu olmasından dolayı dış bademi grubundan olup iç randıman %28 dir. İç bademler çok iridir. Tozlayıcısı Ferragnes ve Texas’tır. Bahçelerde ana çeşit olarak pek kullanılmaz. Ferragnes bademinin tozlayıcısı olarak kullanılır.

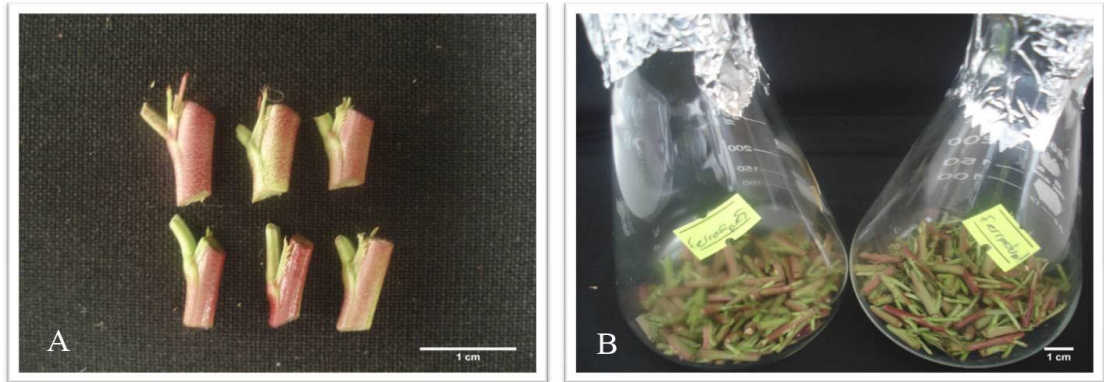
### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Sterilizasyon Teknikleri

Çalışmada kullanılan nodal tomurcukların *in vitro* koşullardan kaynaklı herhangi bir kaynaktan olabilecek enfeksiyonunu engellemek ve kontaminasyondan korumak için, başlangıç materyallerinin yanı sıra; besi ortamı, kullanılan alet ve kültür kaplarının tamamen steril şartlar altında hazırlanıp kullanılması son derece önemlidir.

*Başlangıç Materyallerinin Yüzey Sterilizasyonu:* Çalışmada kullanılan tek boğum eksplantlar (Şekil 3.2.a.) önce musluk suyu ile yıkanmış ve daha sonra %10 NaOCl (Sodyum Hipoklorit) içerisinde 10 dk. çalkalanmıştır. Daha sonra sterilatın etkisini gidermek için 5 defa ve her defasında 5 dk. steril saf su ile yıkandı (Yıldırım ve ark. 2010) (Şekil 3.2.b.).

*Filtrasyon ile Sterilizasyon:* IAA, IBA, GA<sub>3</sub> gibi sıcakta bozulan BBD'lerin sterilizasyonu için mikrofiltrasyon kullanılmaktadır. Belirtilen maddelerden çalışmamız süresince yalnızca IBA'dan faydalanılmıştır. Bu amaçla Steril Acrodisc (0.2 µm) mikrofiltre kullanılmıştır.



**Şekil 3.2.** a) Sterilizasyon öncesi hazırlanmış ve bir adet tomurcuk içeren tek boğum badem eksplantları  
b) Sterilizasyonu yapılacak Ferragnes ve Ferraduel çeşitlerine ait tek boğum eksplantlar

*Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu:* Steril kabinde yapılan çalışmalar sırasında kullanılacak olan pens ve bistürilerin steril kabin içerisinde muhafazası ve üzerlerinde bitki parçalarının kesilmesi amacıyla iki ayrı ebatta hazırlanan filtre kağıtları ve havlu peçeteler iki kat ambalaj kağıdına sarılarak etüvde 180 °C'de 2 saat süreyle sterilizasyona tabi tutularak sterilize edilmiştir.

*Cam Malzemelerin Sterilizasyonu:* Cam malzemeler (erlenmayer, cam şişe, mezür, balon joje, pipet vb.) sadece sıcak su kullanılarak fırça yardımıyla temizlendi. Daha sonra üç defa saf sudan geçirilerek 180 °C’de etüvde 2 saat bekletilmek suretiyle steril edildi. Kullanılacak olan Magenta GA-7 kültür kapları ise, 121 °C’de, 1 atm. basınç altında, 25 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir.

*Pens ve Bistürilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu:* Pens ve bistüriler %96’lık etil alkol ile temizlendikten sonra 10’lu gruplar halinde alüminyum folyolara sarılarak, 300 °C’lik bir kuru hava sterilizatöründe 30 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

*Transfer Odasının Hazırlanması ve Sterilizasyonu:* Transfer odasında; genel olarak bir ultraviyole lambası, materyal ekim işlemlerinin gerçekleştirileceği steril bir kabin bulunmaktadır. Transfer odasına girilmeden 1 gün önce; steril kabin içi ve dış yüzeyi %96’lık alkol ile temizlenerek, odanın kapı, raf, taban vs. gibi yerleri, seyreltilmiş sodyum hipoklorit (NaOCl) ile temizlendikten sonra zaman ayarlı ultraviyole lambası açılarak gece 2-3 saat çalışması sağlanarak odanın genel sterilizasyonu tamamlanmıştır.

#### **3.2.2. Besi Ortamlarının ve Stok Çözeltilerinin Hazırlanması**

Çalışmalarımızda besi ortamı olarak (Murashige ve Skoog 1962) tarafından önerilen temel MS besi ortamı modifiye edilerek kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda besi ortamı 6.3 g<sup>-1</sup> agar ile desteklenmiştir. Çalışmada, kullanılan besi ortamlarına ait stok çözeltilerin hazırlanması ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin konsantrasyonlarıyla ilgili bilgiler aşağıda verilmiştir.

#### **MS (makro elementler) Ana Solüsyonu**

NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	16.5 g
KNO <sub>3</sub>	19.0 g
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	4.4 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	3.7 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.7 g
Steril saf su	1000 ml’ye tamamlanır.

**MS Mikro-1 Elementler Ana Solüsyonu**

H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	620 mg
MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O	2230 mg
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	860 mg
KI	83 mg
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O	25 mg
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

**MS Mikro-2 Elementler Ana Solüsyonu**

CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	5 mg
CoCl <sub>2</sub> . 6H <sub>2</sub> O	5 mg
Steril saf su	200 ml'ye tamamlanır.

**Kompleks Kelatör Ana Solüsyonu**

FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	2.78 g
Na <sub>2</sub> EDTA	3.73 g
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

**Vitamin Karışımı Ana Solüsyonu**

Nikotinik Asit	50 mg
Glisin	200 mg
Piridoksin HCl	50 mg
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

**B<sub>1</sub> Vitamini Ana Solüsyonu**

Tiamin HCl	10 mg
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

**Myo-inositol**

myo-inositol	100 mg
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.



### 3. MATERYAL VE METOT

---

#### **BAP (6-Benzylaminopürin) Ana Solüsyonu**

BAP	100 mg
1N NaOH	2-3 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

#### **NAA (Naftalenasetik asit) Ana Solüsyonu**

NAA	100 mg
% 95 lik Etil Alkol	3-5 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

#### **IBA (Indol-3 butirikasit) Ana Solüsyonu**

IBA	100 mg
% 95 lik Etil Alkol	3-5 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

#### **Çizelge 3.1. Temel MS Besi Ortamının içeriği**

---

MS ana solüsyonu (Makro elementler)	100 ml
MS mikroelementler-1	10 ml
MS mikroelementler-2	1 ml
Kompleks kelatör	10 ml
Vitamin karışımı	1 ml
<i>myo</i> -inositol	10 ml
B <sub>1</sub> vitamini ana solüsyonu	1 ml
Agar	6.3 g
Sukroz	30 g
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır.

---

Besi ortamı bileşenlerinin ve büyüme düzenleyicilerinin seçimi; türlerin kültüre başarılı bir şekilde alınması ve rejenerasyon sistemlerinin optimize edilmesi bakımından son derece önemli faktörlerdir.

Kullanılan tüm maddeler  $\text{mg l}^{-1}$  olarak ifade edildi. Bir litrelik standart MS besi ortamı hazırlamak için 1 litrelik otoklavlanabilir şişe içerisine 500 ml steril saf su bırakıldı. Daha sonra belirtilen miktarda sukroz eklendi. Bu işlemi sırasıyla çizelge 3.2.'de verilen ortam bileşenlerinin, belirtilen konsantrasyonlarda otoklavlanabilir şişe içine aktarılması izledi. Her maddenin ilave edilmesinden sonra çökmeyi önlemek amacıyla, hazırlanan solüsyon birkaç dakika çalkalandı. Ortam için gerekli olan bu bileşenlerin eklenmesinden sonra, tüm bu karışım steril saf su ile 1 litreye tamamlandı. Daha sonra amaca göre; 250 ml ya da 500 ml'lik otoklavlanabilir şişelere aktarıldı. Yapılacak deneyin amacına uygun olarak, bitki büyüme düzenleyiciler eklendikten sonra, pH 5.7-5.8'e ayarlandı (1 M NaOH ve HCl ile). Ortamın katılaştırılması için agar eklendi. Hazırlanan besi ortamının sterilizasyonu; 1 atmosfer basınçta  $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 15-25 dakika süre ile ya da besi ortamının miktarına göre bu süre azaltılarak ya da arttırılarak otoklavda bekletilmek suretiyle gerçekleştirildi. Sterilizasyonu yapılan besi ortamı, transfer odasında steril kabin içerisinde Magenta GA-7 kültür kabına 50 ml olarak paylaştırıldı. Besi ortamı soğuyarak katılaştıktan sonra deney kapsamında hazırlanan eksplantların ekim işlemi yapıldı. Magenta kapaklarının etrafı parafilm ile sarılarak büyüme odasına alındı.

### **3.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyiciler için Stok Çözeltilerin Hazırlanması**

Bitki Büyüme Düzenleyicilerine (BBD) BAP-IBA-NAA ait stok çözeltilerin hazırlanması için, ihtiyaç duyulan miktarlar tartıldı. Stok çözeltiler genellikle  $\text{mg/ml}$  konsantrasyonlarında hazırlandı. Tartımdan sonra 50 ya da 100 ml steril balon jöjelere aktarıldı. Her madde 5-10 ml kadar 1 M KOH (TDZ, NAA), ya da 1 M HCl (BAP, K, TDZ) içinde küçük magnetik karıştırıcılarla birlikte çözdürüldü. Bazı maddeler ise (IBA, 2-4 D) alkolde eritildi. Eritilen BBD steril saf suyla 50 ml ya da 100 ml'ye tamamlandı. Her maddeyi ekledikten sonra küçük magnetik karıştırıcı yardımıyla çözelti homojen bir şekilde karıştırıldı.

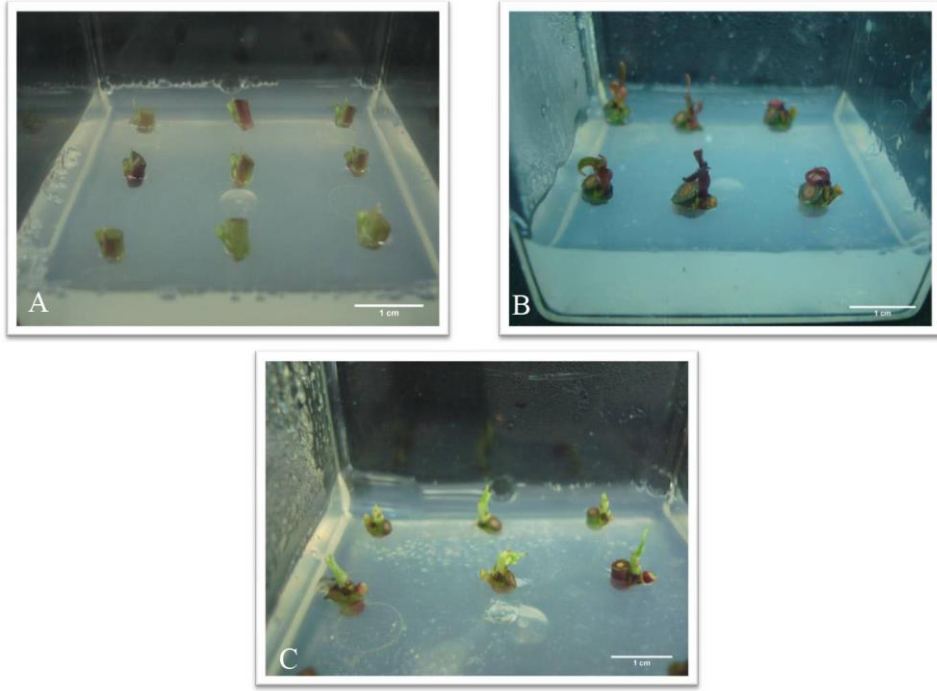
Bazı bitki büyüme düzenleyicileri (IAA ve IBA) sıcakta bozulacağı için filtre ile sterilize edildikten sonra besi ortamına ilave edildi. Büyüme maddelerine ait stok çözeltiler buzdolabında 4 °C'de saklandı ve rutin bir şekilde, kullanım yoğunluğuna bağlı olarak uygun peryotlarla taze olarak hazırlandı.

#### **3.2.4. Büyüme Odasının Düzeni**

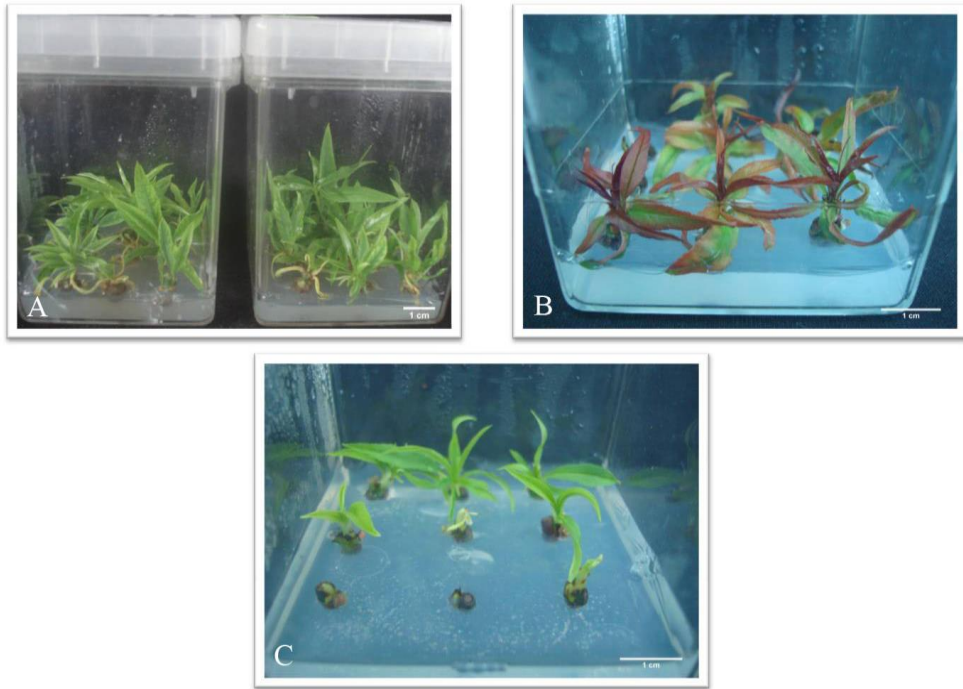
Büyüme odası  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  yoğunluktaki ışık şiddetine sahip olup, ortam sıcaklığını  $25\pm 2$  °C'de sabit tutan bir sıcaklık kontrol sistemi (klima ve termostat) bulunmaktadır. Materyale uygulanacak fotoperiyot; bir zaman ayarlayıcı ile 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olacak biçimde ayarlanmıştır. Işık üretimi için beyaz flouresan ampuller kullanılmıştır. Bu şekilde hazırlanan ortamda, kültürlerin gelişmesi için gerekli optimum koşullar sağlanmıştır.

#### **3.2.5. Kültür Başlatma Çalışmaları**

Proliferasyon çalışmalarında kullanılacak olan sürgünlerin elde edilebilmesi amacıyla yapılan kültür başlatma çalışmalarında; hem badem ağaçlarından hem de anaçlardan alınan bir yaşlı sürgünlerdeki tek boğum eksplantlar kullanılmıştır (Şekil 3.3.). GF-677 ve Garnem anaçlarından kültür başlatma için hazırlanan MS besi ortamı  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile desteklenmiş; Ferragnes ve Ferraduel bademleri için ise  $1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile desteklenmiştir. Magenta GA-7 kültür kaplarına veya cam şişelere 40-50 ml besi ortamı konulmuş ve yeteri miktarda tek boğum eksplantlar ekilmiştir. Ekim yapılan kültür kapları Bölüm 3.2.2.'de belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakıldı. 28 günlük kültür periyodu sonunda tomurcuklardan meydana gelen yaklaşık 1 cm uzunluğundaki sürgünler mikroçoğaltım yapmak üzere kullanıldı (Şekil 3.4.).



Şekil 3.3. Tek boğum eksplantlardan kültür başlatma a) Ferragnes badem çeşidi b) Garnem anacı c) GF- 677 anacı



Şekil 3.4. Kültür başlatma amacıyla ekilen tek boğum eksplantlardan 28 günlük kültür periyodundan sonra gelişen sürgünler a) Ferraduel badem çeşidi b) Garnem anacı c) GF-677 anacı

#### 3.2.6. Mikroaşılama için kullanılacak anaçların mikroçoğaltımı

Kültür başlatma çalışmalarından sonra GF-677 ve Garnem anaçlarına ait tek boğum kültürlerden elde edilen yaklaşık 1 cm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile destekli MS besi ortamında yapılan proliferasyon ile birlikte anaçların mikroçoğaltımı sağlanmıştır.

#### 3.2.7. Mikroaşılama için kullanılacak badem çeşitlerinin mikroçoğaltımı

Kültür başlatma çalışmalarında sonra Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerine ait tek boğum kültürlerden elde edilen yaklaşık 1 cm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak  $0.7 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.01 \text{ mg l}^{-1}$  NAA (Rugini and Verma 1982) ile destekli MS besi ortamında yapılan proliferasyon ile birlikte badem çeşitlerinin mikroçoğaltımı sağlanmıştır (Şekil 3.5.).



Şekil 3.5. a) Ferragnes badem çeşitinde proliferasyon b) Proliferasyon ortamından çıkanlar ve mikroaşılamada kullanılacak olan Ferragnes sürgünleri

#### 3.2.8. GF-677 ve Garnem Anaçlarının Köklendirilmesi

Belirtilen anaçlarda yapılan mikroçoğaltım çalışmalarıyla birlikte elde edilen yaklaşık 2 cm uzunluğundaki sürgünler  $1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ile destekli MS besi ortamına köklendirme amacıyla aktarılmıştır (Şekil 3.6.). 28 günlük kültür periyodundan sonra köklenen anaçlar mikroaşılama çalışmasının bazı deneylerinde kullanılmıştır. (Şekil 3.7.)



Şekil 3.6. Kklenenme ortamına aktarılmış GF-677 anacına ait 2 cm uzunluğundaki sürgünler



Şekil 3.7. Mikroaşılamada kullanılmak üzere köklendirilmiş Garnem anaĉları



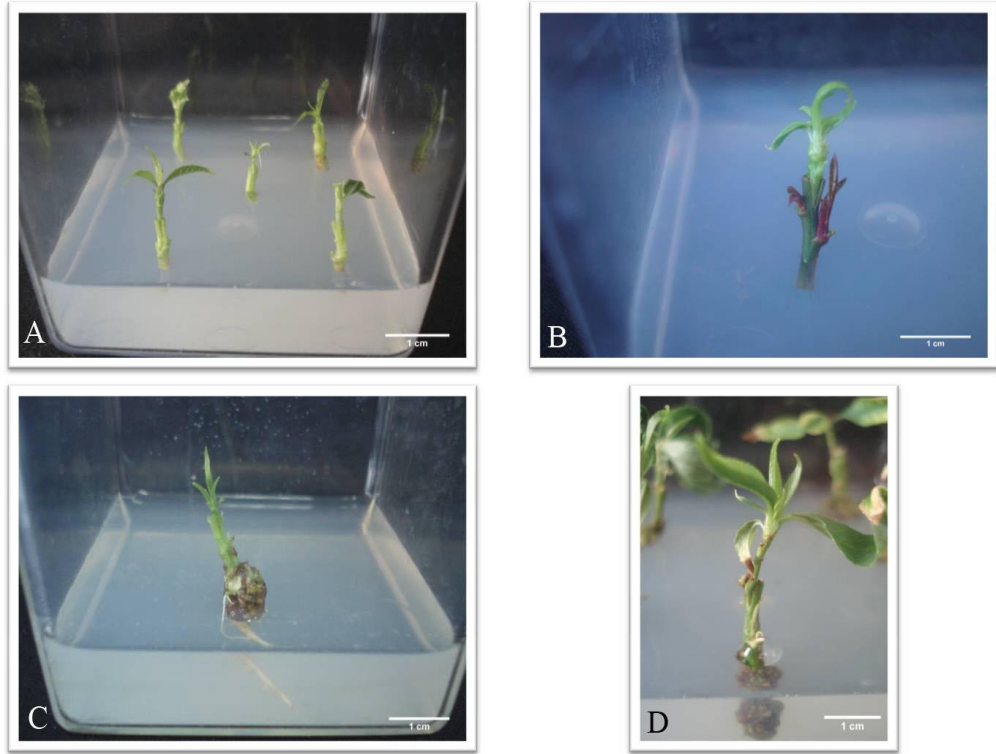
#### 3.2.9. Mikroaşılama çalışmaları

Yapılan çalışma, GF-677 Garnem anaçlarına ait *in vitro* çoğaltılmış köksüz anaçlarla, köklü anaçlar, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerine ait sürgün uçlarıyla mikroaşılanması üzerine planlanmıştır. Mikroaşılama aşamasına kadar gerçekleştirilen; materyalin sterilizasyonu, kültür başlatma ve mikroçoğaltım çalışmaları literatür destekli olarak rutin bir şekilde yürütülmüş ve bu aşamalarda tez çalışmasına yönelik olarak herhangi bir deney yapılmamıştır.

Tez çalışmasının deneylerinde GF-677 ve Garnem anaçlarına ait 2-3 cm uzunluğundaki sürgünlerin yaklaşık 2-2.5 cm olacak şekilde tepeleri kesilerek anaç olarak kullanılmıştır (Şekil 3.8). Ayrıca köklü sürgünlerin aşılmasına yönelik olarak yine mikroçoğaltımdan elde edilen 2 cm uzunluğundaki anaç sürgünleri köklendirme ortamında köklendirildikten sonra aşılacaktır (Şekil 3.9.).



Şekil 3.8. Mikroaşılamada kullanılacak köksüz GF-677 anaçları



**Şekil 3.9.** a) Köksüz GF-677 anacı üzerine Ferragnes badem çeşitinin aşılanarak besi ortamına ekilmesi  
 b) Köksüz Garnem anacı üzerine Ferraduel badem çeşitinin aşılanarak besi ortamına ekilmesi  
 c) Köklü F-677 anacı üzerine Ferragnes badem çeşitinin aşılanarak besi ortamına ekilmesi  
 d) Aşılardan 28 gün sonra kaynaşma ve sürgün gelişimi



**Şekil 3.10.** Köksüz Garnem anacı üzerine aşılı Ferraduel badem çeşitinden oluşan bitkilerin aklimitasyon aşamasına gelmiş hali.



Aşılama çalışmalarında her seride 15 aşılama yapılmış ve bu aşılı bitkilerin farklı oksin-sitokinin içeren MS besi ortamına aktarıldıktan 4 hafta sonra aşağıda belirtilen gözlemler yapılmıştır.

*Aşı tutma oranı:* Aşılı bitkilerin besi ortamına aktarılmasından 28 gün sonra kaynaşmış ve gelişmenin meydana geldiği aşılı bitkilerin, toplam bitkilere oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

*Sürgün uzunluğu:* Aşılı bitkilerin besi ortamına aktarılmasından 28 gün sonra aşı sürgünlerinde meydana gelen gelişmenin mm olarak dijital kumpas yardımıyla ölçülmesiyle hesaplanmıştır.

*Köklenme oranı:* Aşılı bitkilerin besi ortamında kalan anaç kısımlarında yeni köklenme görülen bitkilerin toplam bitkilere oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

*Düşen aşı oranı:* Aşılı bitkilerin besi ortamına aktarılmasından bir hafta sonra, aşı kalemlerinin anaçtan ayrılarak besi ortamına düşmesi sonucu bu özellikteki bitkilerin toplam bitkilere oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

*Kallus oluşumu:* Aşılı bitkilerin besi ortamına aktarılmasından 28 gün sonra anaçların besi ortamında kalan kısımlarında kallus oluşturan bitkilerin toplam bitkilere oranı (%) olarak hesaplanmıştır.

#### **3.2.9.1. GF-677 Anacı Üzerine Aşılana Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferragnes badem çeşidiyle aşılana GF-677 anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan, 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA ve 0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> IBA + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup> BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), köklenme oranı (%), düşen aşı oranı (%) ve kallus oluşumu (%) olarak tespit edilmiştir.

### **3.2.9.2. GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferraduel badem çeşidiyle aşıl原因 GF-677 anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile destekli MS besisi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), köklenme oranı (%), düşen aşı oranı (%) ve kallus oluşumu (%) olarak tespit edilmiştir.

### **3.2.9.3. Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferraduel badem çeşidiyle aşıl原因 köklü GF-677 anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile destekli MS besisi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), düşen aşı oranı (%) ve köklenme oranı (%) olarak tespit edilmiştir.

### **3.2.9.4. Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferragnes badem çeşidiyle aşıl原因 köklü GF-677 anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile destekli MS besisi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), düşen aşı oranı (%) ve köklenme oranı (%) olarak tespit edilmiştir.

### **3.2.9.5. Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferraduel badem çeşidiyle aşıl原因 Garnem anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$

BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), köklenme oranı (%), düşen aşı oranı (%) ve kallus oluşumu (%) olarak tespit edilmiştir.

#### **3.2.9.6. Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因an Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferragnes badem çeşidiyle aşıl原因an Garnem anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), köklenme oranı (%), düşen aşı oranı (%) ve kallus oluşumu (%) olarak tespit edilmiştir.

#### **2.7.9.7. Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因an Ferraduel Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferraduel badem çeşidiyle aşıl原因an köklü Garnem anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), düşen aşı oranı (%) ve köklenme oranı (%) olarak tespit edilmiştir.

#### **3.2.9.8. Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因an Ferragnes Badem Çeşitinin Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu çalışmada Ferragnes badem çeşidiyle aşıl原因an köklü Garnem anacının bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan,  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  IBA ve  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IBA +  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile destekli MS besi ortamına dikildikten sonra aşı tutma oranı (%), sürgün uzunluğu (mm), düşen aşı oranı (%) ve köklenme oranı (%) olarak tespit edilmiştir.

### **3.2.10. Verilerin Değerlendirilmesi**

Bütün çalışmalar tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak toplam en az 15 eksplant üzerinde yapılmıştır. Elde edilen verilerin analizi amacıyla SPSS 13.0 paket programı kullanılmıştır. Test edilen işlemler arasındaki farklılığın belirlenebilmesi için veriler ANOVA'ya tabi tutulmuştur. İstatistiksel farklılığın önemli görüldüğü işlemler belirlendiği zaman, ortalamalar arasındaki farklılıklar ( $P \leq 0.05$ ) seviyesinde DUNCAN testine tabi tutulmuştur.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

GF-677 ve Garnem anaçlarının Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitleriyle mikroaşılama ile ilgili olarak yapılan deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

#### 4.1. GF-677 Anacı Üzerine Aşılama Ferragnes Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen GF-677 anacına ait 2 cm uzunluğundaki anaçlar ve Ferragnes badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** GF-677 Anacı Üzerine Aşılama Ferragnes Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, köklenme oranı, düşen aşı oranı ve kallus oluşumu

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Köklenme Oranı (%)	Düşen Aşı Oranı (%)	Kallus Oluşumu (%)
BBD İlavesiz	100.00 ± 0.00 a	13.33 ± 9.08 ab	6.67 ± 6.67 a	0.00 ± 0.00 c
0.5 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> BAP + 0.1 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> IBA	73.33 ± 11.81 b	6.67 ± 6.67 b	0.00 ± 0.00 a	40.00 ± 13.09 b
0.5 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> IBA + 0.1 mg <sup>l</sup> <sup>-1</sup> BAP	93.33 ± 6.66 ab	40.00 ± 13.09 a	6.67 ± 6.67 a	86.67 ± 9.08 a
(Sd:2) - F değeri	3.138	3.128	0.500	22.225

Deney kapsamında çalışılan parametrelerden elde edilen sonuçlar arasında, aşı tutma oranı, köklenme oranı ve kallus oluşum oranları bakımından fark istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P \leq 0.05$ ), düşen aşı oranları bakımından ortaya çıkan fark önemsiz bulunmuştur. Aşı tutma oranı bakımından en iyi sonucu %100 oranla bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamı vermiş olup, IBA ağırlıklı ortam ve BAP ağırlıklı besi ortamlarından elde edilen sonuçlar aynı grup içerisinde yer almış ve sırasıyla %93 ve %73'lük aşı tutma oranı elde edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010,

Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılanması sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşılanmasıyla ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılamayla birlikte aşı tutma oranlarının %83 - %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşıda kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Işıkalın ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılanmasıyla ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Aşılı anaçlarda meydana gelen köklenme durumları bakımından IBA ağırlıklı ortamdan %40'lık bir oran görülürken, diğer ortamlar çok sınırlı köklenme meydana geldiği görülmüştür. Aşılı bitkilerin besi ortamına dikiminden sonra aşı kalemlerinin düşmesini ifade eden düşen aşı oranları bakımından sadece bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ve IBA ağırlıklı ortamlarda çok düşük oranlar elde edilirken, BAP ağırlıklı ortamda düşen aşı olmamış ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin tohum anaçlarına aşılmasıyla birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle

birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşılmadığı ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada yalnızca bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ve IBA ağırlıklı ortamlarda %6.67 gibi çok düşük aşı düşme oranları görülürken, diğer araştırmacılar tarafından elde edilen sonuçlardan daha düşük olarak gerçekleşmiştir. Kallus oluşum oranı yönünden IBA ağırlıklı ortamda %86, BAP ağırlıklı ortamda %40 oranındaki anaçta kallus görülmekle birlikte, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamında herhangi bir kallus oluşumu gözlenmemiştir.

#### **4.2. GF-677 Anacı Üzerine Aşılana Ferraduel Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen GF-677 anacına ait 2 cm uzunluğundaki anaçlar ve Ferraduel badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Deney kapsamında yapılan uygulamalardan elde edilen sonuçlara uygulanan istatistiksel analize göre; aşı tutma oranı, köklenme oranı ve düşen aşı oranları bakımından uygulamalar arasındaki fark önemsiz bulunurken, kallus oranı bakımından ortaya çıkan farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ). Aşı tutma oranı yönünden bütün uygulamalar aynı grup içerisinde yer almakla birlikte, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ve IBA ağırlıklı besi ortamında %80, BAP ağırlıklı ortamdaki %73 tutma oranı elde edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılama sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir.

**Çizelge 4.2.** GF-677 Anacı Üzerine Aşılana Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, köklenme oranı, düşen aşı oranı ve kallus oluşumu

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Köklenme Oranı (%)	Düşen Aşı Oranı (%)	Kallus Oluşumu (%)
<b>BBD İlavesiz</b>	80.00 ± 10.69 a	0.00 ± 0.00 b	6.67 ± 6.67 a	0.00 ± 0.00 c
<b>0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>BAP + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>IBA</b>	73.33 ± 11.81 a	0.00 ± 0.00 b	20.00 ± 10.69 a	46.67 ± 13.33 b
<b>0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>IBA + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>BAP</b>	80.00 ± 10.69 a	33.33 ± 12.59 a	6.67 ± 6.67 a	86.67 ± 9.08 a
<b>(Sd:2) - F değeri</b>	0.121	7.00	0.875	21.683

Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşılama ile ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Işıkalan ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranlarının %83-%100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Köklenme oranlarına göre en iyi sonucu IBA ağırlıklı besi ortamı %33 olarak vermiş, ancak diğer uygulamalarda köklenme elde edilememiştir. Düşen aşı



oranları bakımından en yüksek oranı BAP ağırlıklı ortam %20 olarak verirken, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ve IBA ağırlıklı ortam %6.67 gibi düşük sonuç vermiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin tohum anaçlarına aşılama ile birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşmadığı ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada yalnızca bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ve IBA ağırlıklı ortamlarda %6.67-20 arasında düşen aşı oranı görülürken, diğer araştırmacılar tarafından elde edilen sonuçlardan daha düşük olarak gerçekleşmiştir. Kallus oranı yönünden %86 gibi bir oranla en yüksek sonucu IBA ağırlıklı ortam verirken, bunu BAP ağırlıklı ortam %46 oranıyla takip etmiştir. Ancak bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ortamda herhangi bir kallus oluşumunun olmadığı görülmüştür.

#### **4.3. Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşılama Ferraduel Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen GF-677 anacına ait 2 cm uzunluğundaki sürgünlerin köklenme ortamında köklendirilmesi suretiyle elde edilen köklü anaçlar ve Ferraduel badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.3.'te verilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analiz sonuçlarına göre yalnızca sürgün uzunluğu değerleri bakımından uygulamalar arasındaki fark önemli bulunurken ( $P \leq 0.05$ ), aşı tutma ve köklenme oranları bakımından önemli bulunmamıştır. Anaçların gelişmişlik ve daha odunsu bir yapıda bulunması nedeniyle hiçbir uygulamada düşen aşılıya rastlanmamıştır. Yine belirtilen bu durum nedeniyle aşı tutma oranları bütün uygulamalarda %100 olarak gerçekleşmiştir.

**Çizelge 4.3.** Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşılana Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu ve köklenme oranı

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Köklenme Oranı (%)
<b>BBD İlavesiz</b>	100.00 ± 0.00 a	4.86 ± 0.23 b	80.00 ± 10.69 a
<b>0.5 mg<sup>l</sup>-1BAP + 0.1 mg<sup>l</sup>-1IBA</b>	100.00 ± 0.00 a	8.66 ± 0.52 a	93.33 ± 6.66 a
<b>0.5 mg<sup>l</sup>-1IBA + 0.1 mg<sup>l</sup>-1BAP</b>	100.00 ± 0.00 a	3.73 ± 0.26 c	93.33 ± 6.66 a
<b>(Sd:2) - F değeri</b>	-	50.078	0.875

Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşılama ile ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılama sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Işıkalın ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranlarının %83 - %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Sürgün uzunluğu değerleri

bakımından en iyi sonuç BAP ağırlıklı ortamdan 8.66 mm olarak ölçülmüştür. Bunu bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ve IBA ağırlıklı ortam 4.86 mm ve 3.73 mm olarak takip etmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, mikroaşılınmış bitkilerde meydana gelen sürgün gelişim değerlerinin 5-17 mm arasında olduğunu belirlemişlerdir. Yıldırım ve ark. 2013, mikroaşılınmış bitkilerden elde ettikleri sürgün uzunluğu değerleri çeşitlere göre değişiklik göstermekle birlikte; Teksas çeşidinde 5-19 mm, Ferrastar çeşidinde 5-17 mm, Nonpareil çeşidinde 8-26 mm arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu değişimin farklı aşı sürgünü uzunlukları ve besi ortamında yapılan oksin-sitokin kombinasyonu uygulamalarında kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen değerler 3-8 mm arasında değişirken, araştırmacıların kullandığı genellikle tohum anacı olduğu, ancak çalışmamızda badem x şeftali melezi klonal anacı olduğunu belirtmek gerekir. Kullanılan anacın gücü nispetinde elde edilen sürgün gelişiminin şekillendiği bilinmektedir. Düşen aşı oranları bakımından çalışmamızın bu kısmında mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşmamıştır. Bu durumun köklü anaçların gelişme kuvvetinin, kalınlığının ve odunsu yapısının daha iyi olmasından kaynaklandığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin tohum anaçlarına aşılınmasıyla birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşmadığı ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir. Köklenme oranları bakımından bütün uygulamalar aynı grup içerisinde yer almakla birlikte, BAP ve IBA ağırlıklı ortamda %93, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ortamda %80 köklenme oranı tespit edilmiştir.

#### **4.4. Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşılana Ferragnes Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen GF-677 anacına ait 2 cm uzunluğundaki sürgünlerin köklenme ortamında köklendirilmesi suretiyle elde edilen köklü anaçlar ve Ferragnes badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı

materyaller, farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Köklü GF-677 Anacı Üzerine Aşılanan Ferragnes Badem çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu ve köklenme oranı

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Köklenme Oranı (%)
<b>BBD İlavesiz</b>	80.00 ± 10.69 b	4.41 ± 0.31 c	53.33 ± 13.33 b
<b>0.5 mg<sup>l</sup>-1BAP + 0.1 mg<sup>l</sup>-1IBA</b>	100.00 ± 0.00 a	10.40 ± 0.48 a	93.33 ± 6.66 a
<b>0.5 mg<sup>l</sup>-1IBA + 0.1 mg<sup>l</sup>-1BAP</b>	100.00 ± 0.00 a	5.60 ± 0.25 b	86.67 ± 9.08 a
<b>(Sd:2) - F değeri</b>	3.500	72.465	4.521

Uygulanan farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarının mikroaşılı bitkilerdeki aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu ve köklenme oranı üzerine olan etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ). Aşı tutma oranı bakımından en iyi sonucu %100 ile BAP ve IBA ağırlıklı besi ortamları paylaşırken, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamında ise %80 olarak gerçekleşmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşılama ile ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Işıkalın ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranlarının %83 - %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Çelik 2006,

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

---

Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılama sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Aşı sürgünlerinin gelişimi yani sürgün uzunluğu değerleri bakımından BAP ağırlıklı ortamda 10.4 mm'lik bir gelişme elde edilirken, en zayıf gelişmenin 4.41 mm ile bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ortamda meydana geldiği görülmüştür. Yıldırım ve ark. 2010, mikroaşılama bitkilerde meydana gelen sürgün gelişim değerlerinin 5-17 mm arasında olduğunu belirlemişlerdir. Yıldırım ve ark. 2013, mikroaşılama bitkilerden elde ettikleri sürgün uzunluğu değerleri çeşitlere göre değişiklik göstermekle birlikte; Teksas çeşidinde 5-19 mm, Ferrastar çeşidinde 5-17 mm, Nonpareil çeşidinde 8-26 mm arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu değişimin farklı aşı sürgünü uzunlukları ve besi ortamında yapılan oksin-sitokinin kombinasyonu uygulamalarından kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmamızın bu kısmında elde edilen değerler 4-10 mm arasında değişirken, sürgün gelişimi üzerine besi ortamında bulunan BAP'ın önemli etkiye sahip olduğu görülmüştür. Araştırmacıların kullandığı genellikle tohum anacı olduğu, ancak çalışmamızda badem x şeftali melezi klonal anacı olduğunu belirtmek gerekir. Kullanılan anacın gücü nispetinde elde edilen sürgün gelişiminin şekillendiği bilinmektedir. Köklenme oranlarına göre en iyi sonucu BAP ağırlıklı ortam %93 olarak verirken, IBA ağırlıklı ortam %86 ile aynı grup içerisinde yer almışlardır. Köklü GF-677 anaçlarının aşılama, köksüz anaçlara göre hem aşı kaleminin daha rahat yerleştirilmesi hem de anacın daha odunsu yapıya sahip olması nedeniyle bu deneyde düşen aşıya rastlanmamıştır. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin tohum anaçlarına aşılama ile birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından

yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşılmadığı ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir.

#### 4.5. Garnem Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen Garnem anacına ait 2 cm uzunluğundaki anaçlar ve Ferraduel badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.5.'te verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, köklenme oranı ve kallus oluşumu

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Köklenme Oranı (%)	Kallus Oluşumu (%)
<b>BBD İlavesiz</b>	80.00 ± 10.69 b	7.08 ± 0.51c	20.00 ± 10.69 a	20.00 ± 10.69 c
<b>0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>BAP + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>IBA</b>	93.33 ± 6.66 a	21.21 ± 0.93 b	0.00 ± 0.00 a	60.00 ± 13.09 b
<b>0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>IBA + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>BAP</b>	80.00 ± 10.69 b	26.16 ± 0.92a	15.56 ± 11.81a	100.00 ± 0,00 a
<b>(Sd:2) - F değeri</b>	0.651	135.196	2.275	16.800

Deney kapsamında yapılan uygulamalar arasında elde edilen sonuçlara göre; aşı tutma ve köklenme oranları bakımından ortaya çıkan fark önemli bulunmamasına rağmen; sürgün uzunluğu ve kallus oranı bakımından görülen farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ). Aşı tutma oranı bakımından en iyi sonucu %93 ile BAP ağırlıklı besi ortamı verirken, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan ve IBA ağırlıklı besi ortamlarından %80 olmak üzere aynı oranlar elde edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşıl原因ması sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşıl原因masıyla ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Yıldırım ve

ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılamayla birlikte aşı tutma oranlarının %83 - %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşıda kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Işıkalan ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılanmasıyla ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılanmasıyla ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Ölçülen sürgün uzunluğu değerlerine göre IBA ağırlıklı besi ortamında 26.16 mm'lik bir gelişme ile en iyi sonuç elde edilirken; BAP ağırlıklı ortam en yakın takipçi olarak 21.21 mm uzunluğundan bir gelişme göstermiştir. Yıldırım ve ark. 2010, mikroaşılanmış bitkilerde meydana gelen sürgün gelişim değerlerinin 5-17 mm arasında olduğunu belirlemişlerdir. Yıldırım ve ark. 2013, mikroaşılanmış bitkilerden elde ettikleri sürgün uzunluğu değerleri çeşitlere göre değişiklik göstermekle birlikte; Teksas çeşidinde 5-19 mm, Ferrastar çeşidinde 5-17 mm, Nonpareil çeşidinde 8-26 mm arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu değişimin farklı aşı sürgünü uzunlukları ve besi ortamında yapılan oksin-sitokinin kombinasyonu uygulamalarında kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmanın bu kısmından elde edilen değerler 21-26 mm arasında değişirken, sürgün gelişimin Garnem anacında daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından genellikle tohum anacı kullanıldığı, ancak çalışmamızda badem x şeftali melezi klonal anacı olduğunu

belirtmek gerekir. Kullanılan anacın gücü nispetinde elde edilen sürgün gelişiminin şekillendiği bilinen bir gerçektir. Köklenme oranlarına göre çok düşük sonuçlar alınmış olmakla birlikte, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamındaki köklenme oranı %20 olarak gerçekleşmiştir. Garnem anaçlarının genel aşılama özellikleri bakımından daha sağlam ve odunsu olması ve bu nedenle aşı kaleminin daha rahat yerleştirilmesine imkan vermesinden dolayı bütün uygulamalarda düşen aşı parametresi %0 olarak tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin tohum anaçlarına aşılama ile birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşmadığı ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir. Kallus oranlarına göre en yüksek sonucu IBA ağırlıklı besi ortamı %100 olarak vermiş olup, en düşük sonuç ise bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamından %20 olarak elde edilmiştir.

#### **4.6. Garnem Anacı Üzerine Aşılama Yapılan Ferragnes Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen Garnem anacına ait 2 cm uzunluğundaki anaçlar ve Ferragnes badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.6.'da verilmiştir. Deney kapsamında yapılan uygulamalardan elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre; aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, köklenme ve kallus oranları bakımından uygulamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken, düşen aşı oranları bakımından çıkan sonuçların önemsiz olduğu görülmüştür ( $P \leq 0.05$ ).



#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

**Çizelge 4.6.** Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşılanan Ferragnes Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu, köklenme oranı, düşen aşı oranı ve kallus oluşumu

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Köklenme Oranı (%)	Düşen Aşı Oranı (%)	Kallus Oluşumu (%)
<b>BBD İlavesiz</b>	66.67 ± 12.59 b	6.70 ± 0.51 c	13.33 ± 9.08 ab	0.00 ± 0.00 a	20.00 ± 10.69 c
<b>0.5 mgL<sup>-1</sup>BAP + 0.1 mgL<sup>-1</sup>IBA</b>	100.00 ± 0.00 a	17.00 ± 0.60 b	0.00 ± 0.00 b	0.00 ± 0.00 a	66.6 ± 12.59 b
<b>0.5 mgL<sup>-1</sup>IBA + 0.1 mgL<sup>-1</sup>BAP</b>	80.00 ± 10.69a	22.91 ± 0.71 a	33.33 ± 12.59 a	6.67 ± 6.67 a	100.00 ± 0.00 a
<b>(Sd:2) - F değeri</b>	3.093	146.176	3.500	1.000	17.744

Aşı tutma oranları bakımından en iyi sonuç BAP ağırlıklı ortamda %100 olarak gerçekleşirken, IBA ağırlıklı ortamda görülen %80 oranla aynı grup içerisinde yer almıştır. Bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamında ise en düşük %66'lık aşı tutma oranı elde edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılama sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşılama ile ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Işıksalan ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranlarının %83 - %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de

inceleyen araştışıcılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Farklı araştışıcılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştışıcının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Sürgün uzunluğu değerlerine göre en iyi sonucu 22.91 mm ile IBA ağırlıklı besi ortamı verirken, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamından en düşük değer elde edilmiş ve 6.70 mm olarak gerçekteşmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, mikroaşılanmış bitkilerde meydana gelen sürgün gelişim değerlerinin 5-17 mm arasında olduğunu belirlemişlerdir. Yıldırım ve ark. 2013, mikroaşılanmış bitkilerden elde ettikleri sürgün uzunluğu değerleri çeşitlere göre değişiklik göstermekle birlikte; Teksas çeşitinde 5-19 mm, Ferrastar çeşitinde 5-17 mm, Nonpareil çeşitinde 8-26 mm arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu değişimin farklı aşı sürgünü uzunlukları ve besi ortamında yapılan oksin-sitokinin kombinasyonu uygulamalarında kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen değerler 6-22 mm arasında değişirken, Garnem anacındaki sürgün gelişiminin daha iyi olduğu belirlenmiştir. Araştışıcıların kullandığı genellikle tohum anacı olduğu, ancak çalışmamızda badem x şeftali melezi klonal anacı olduğunu belirtmek gerekir. Kullanılan anacın gücü nispetinde elde edilen sürgün gelişiminin şekillendiği bilinmektedir. Köklenme oranları bakımından en yüksek sonucu %33 ile IBA ağırlıklı ortam verirken BAP ağırlıklı ortamda hiç köklenme meydana gelmediği tespit edilmiştir. Düşen aşı oranları bakımından yalnızca IBA ağırlıklı ortamda %6.67'lik bir oran görölürken, diğer uygulamalarda aşı düşme durumuyla karşılaşılmamıştır. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin tohum anaçlarına aşılanmasıyla birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşılmadığı ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir. Kallus oranı bakımından elde

edilen sonuçlar %20 ile %100 arasında gerçekleşirken en iyi sonucu IBA ağırlıklı ortamın verdiği görülmüştür.

#### 4.7. Köklü Garnem Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen Garnem anacına ait 2 uzunluğundaki sürgünlerin köklenme ortamında köklendirilmesi suretiyle elde edilen köklü anaçlar ve Ferraduel badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşıl原因 sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokinin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Deney kapsamında elde edilen sonuçlara uygulanan istatistiksel analiz sonuçlarına göre, aşı tutma ve köklenme oranı değerleri bakımından ortaya çıkana farklılık önemli bulunmamakla birlikte; sürgün uzunluğu sonuçları arasında farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ).

**Çizelge 4.7.** Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşıl原因 Ferraduel Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu ve köklenme oranı

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Köklenme Oranı (%)
<b>BBD İlavesiz</b>	93.33 ± 6.66 a	6.57 ± 0.34c	86.67 ± 9.08 a
<b>0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>BAP + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>IBA</b>	93.33 ± 6.66 a	24.80 ± 0.86 a	100.00 ± 0,00 a
<b>0.5 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>IBA + 0.1 mg<sup>l</sup><sup>-1</sup>BAP</b>	100.00 ± 0,00 a	12.57 ± 0.53 b	100.00 ± 0,00 a
<b>(Sd:2) - F değeri</b>	0.500	217.694	2.154

Aşı tutma oranları açısından bütün uygulamalar aynı grup içerisinde yer almış olup, en iyi sonucu %100 tutma oranıyla IBA ağırlıklı ortam vermiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşıl原因 yöntemiyle yapılan mikroaşıl原因 çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşıl原因masıyla ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşıl原因masıyla ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında

olduğunu bildirmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılama sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Işıkalan ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine Nonpareil çeşidinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranlarının %83 - %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Sürgün uzunluğu değerleri bakımından BAP ağırlıklı ortamdan 24.80 mm ile en iyi sonuç elde edilmiştir. En zayıf sürgün gelişiminin ise bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamından 6.57 mm olarak gerçekleşmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, mikroaşılama bitkilerde meydana gelen sürgün gelişim değerlerinin 5-17 mm arasında olduğunu belirlemişlerdir. Yıldırım ve ark. 2013, mikroaşılama bitkilerden elde ettikleri sürgün uzunluğu değerleri çeşitlere göre değişiklik göstermekle birlikte; Teksas çeşidinde 5-19 mm, Ferrastar çeşidinde 5-17 mm, Nonpareil çeşidinde 8-26 mm arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu değişimin farklı aşı sürgünü uzunlukları ve besi ortamında yapılan oksin-sitokinin kombinasyonu uygulamalarında kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen değerler 6-25 mm arasında değişirken, araştırmacıların kullandığı genellikle tohum anacı olduğu, ancak çalışmamızda badem x şeftali melezi klonal anacı olduğunu belirtmek gerekir. Kullanılan anacın gücü nispetinde elde edilen sürgün gelişiminin şekillendiği bilinmektedir. Bu deney kapsamındaki herhangi bir uygulamada aşı düşme durumuyla karşılaşmamıştır. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin

tohum anaçlarına aşılansıyla birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşmadığı ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada da böyle bir sorun olmaması, çalışmamızın diğer araştırmacılarla uyum içerisinde olduğunu göstermektedir. Köklenme oranlarına göre bütün uygulamalar aynı grup içerisinde bulunmakla birlikte BAP ve IBA ağırlıklı ortamda %100'lük bir oran elde edilmiştir.

#### **4.8. Köklü Garnem Anacı Üzerine Aşılana Ferragnes Badem Çeşidine ait Bazı Aşı Parametreleri Üzerine Besi Ortamına İlave Edilen Oksin-Sitokinin Kombinasyonlarının Etkisi**

Bu deneyde, mikroçoğaltım yoluyla laboratuvar şartlarında üretilen Garnem anacına ait 2 cm uzunluğundaki sürgünlerin köklenme ortamında köklendirilmesi suretiyle elde edilen köklü anaçlar ve Ferragnes badem çeşidine ait 0.6-0.9 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılarak yapılan mikroaşılama sonucu elde edilen aşılı materyaller, farklı oksin-sitokin kombinasyonlarına sahip MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 4.8'de verilmiştir. Uygulanan farklı oksin-sitokin kombinasyonlarının mikroaşılı bitkilerdeki aşı tutma ve köklenme oranı üzerine olan etkileri istatistiksel olarak önemsiz, sürgün uzunluğu değerleri bakımından ise önemli bulunmuştur ( $P \leq 0.05$ ). Aşı tutma oranları bakımından tüm uygulamalardan %100 oranında en yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Ghorbel ve ark. 1998, Achak badem çeşidinin mikroaşılansıyla ilgili çalışmada maksimum aşı tutma oranının %80 olduğunu bildirmiştir. Juarez ve ark. 1992, tarafından bademde sürgün ucu aşılama yöntemiyle yapılan mikroaşılama çalışmasında aşı tutma oranının %40-50 olduğu bildirilmiştir. Işıkalan ve ark. 2011, *in vitro* çimlendirilmiş tohum anaçları üzerine nonpareil çeşidinin mikroaşılansıyla ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %91-100 arasında değiştiği bildirilmiştir.

**Çizelge 4.8.** Köklü Garnem (GN-15) Anacı Üzerine Aşılanan Ferragnes Badem Çeşitinin aşı tutma oranı, sürgün uzunluğu ve köklenme oranı

Oksin/Sitokinin Kombinasyonu	Aşı Tutma Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Köklenme Oranı (%)
<b>BBD İlavessiz</b>	100.00 ± 0.00 a	9.80 ± 0.38 c	93.33 ± 6.66 a
<b>0.5 mg<sup>l</sup>-<sup>1</sup>BAP + 0.1 mg<sup>l</sup>-<sup>1</sup>IBA</b>	100.00 ± 0.00 a	28.06 ± 0.65 a	100.00 ± 0,00 a
<b>0.5 mg<sup>l</sup>-<sup>1</sup>IBA + 0.1 mg<sup>l</sup>-<sup>1</sup>BAP</b>	100.00 ± 0.00 a	16.46 ± 0.55 b	100.00 ± 0,00 a
<b>(Sd:2) - F değeri</b>	-	287.763	1.000

Channuantapipat ve ark. 2000, Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra badem çeşitleri titan x nemaguard hibrit anaçları üzerine mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada aşı tutma oranının %50-65 arasında olduğunu bildirmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, Teksas, Ferrastar ve Nonpareil badem çeşitlerinin mikroaşılama ile ilgili yaptıkları çalışmada tohumdan elde edilen çöğür anaçlar farklı tiplerde kullanılarak hipokotil ve epikotil seviyelerinden yapılan mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranlarının %83 - %100 arasında değiştiği bildirilmiştir. Ayrıca mikroaşılama kullanılan sürgünlerin boğum sayısının aşı tutma oranı üzerine etkisini de inceleyen araştırmacılar en iyi aşı tutma oranını yalnız sürgün ucu ve sürgün ucu + bir boğum materyalinden elde edildiği bildirilmiştir. Çelik 2006, Ferragnes badem çeşidinin GF-677, Ak-1 ve Ak-2 klonal anaçlarının mikroaşılama ile ilgili yapılan çalışmada aşı tutma oranlarının sırasıyla %25, %25.1 ve %34.4 olduğu bildirilmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin *in vitro* çimlendirilen tohum anaçları üzerine mikroaşılama sonucu elde edilen aşı tutma oranının en düşük %90 olarak elde etmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından farklı badem çeşitleri ve anaçlarının kullanılarak yapılan mikroaşılama çalışmalarında elde edilen aşı tutma oranları %25 ile %100 arasında değişiklik göstermektedir. Çalışmamızda elde edilen aşı tutma oranları birçok araştırmacının elde ettiği sonuçlara nispeten daha iyi ve yüksek çıkmıştır. Sürgün uzunluğu bakımından BAP ağırlıklı besi ortamından ortalama 28.06 mm'lik bir gelişme elde edilmekle birlikte, bunu 16.46 mm ile IBA ağırlıklı ve 9.80 mm ile bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamları takip etmiştir. Yıldırım ve ark. 2010, mikroaşılama bitkilerde meydana gelen sürgün gelişim değerlerinin 5-17 mm arasında olduğunu belirlemişlerdir. Yıldırım ve ark. 2013, mikroaşılama bitkilerden elde ettikleri sürgün uzunluğu değerleri çeşitlere göre değişiklik göstermekle birlikte; Teksas

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

---

çeşidinde 5-19 mm, Ferrastar çeşidinde 5-17 mm, Nonpareil çeşidinde 8-26 mm arasında değiştiği bildirilmektedir. Bu değişimin farklı aşı sürgünü uzunlukları ve besi ortamında yapılan oksin-sitokinin kombinasyonu uygulamalarında kaynaklandığı bildirilmiştir. Çalışmamızda elde edilen değerler 9-28 mm arasında değişirken, köklü Garnem anacı üzerine aşılana Ferragnes badem çeşidindeki sürgün gelişiminin yüksek olduğu görülmüştür. Araştırmacıların kullandığı genellikle tohum anacı olduğu, ancak çalışmamızda badem x şeftali melezi klonal anacı olduğunu belirtmek gerekir. Kullanılan anacın gücü nispetinde elde edilen sürgün gelişiminin şekillendiği bilinmektedir. Bu deney kapsamındaki herhangi bir uygulamada aşı düşme durumuyla karşılaşılmasıdır. Yıldırım ve ark. 2010, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerinin tohum anaçlarına aşılamaıyla birlikte besi ortamına dikilmesinden sonra, üzerinde çalışılan aşı tekniklerine göre değişmekle birlikte %10-40 arasında düşen aşı oranının elde edildiğini bildirmiştir. Uygun tekniğin geliştirilmesiyle birlikte bu durumun bir sorun olmaktan çıktığı tespit edilmiştir. Yıldırım ve ark. 2013, tarafından yapılan çalışmada mikroaşılı bitkilerde herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşılması ve bu açıdan herhangi bir gözlem alınmadığı bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada da böyle bir sorun olmaması, çalışmamızın diğer araştırmacılarla uyum içerisinde olduğunu göstermektedir. Köklenme oranları bakımından IBA ve BAP ağırlıklı ortamlardan %100'lük sonuçlar elde edilmiş olup, bitki büyüme düzenleyicisi bulunmayan besi ortamından dahi %93 köklenme oranı elde edilmiştir.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Meyve türlerinin yetiştiriciliğinde anaç kullanımı zorunludur. Anaçlar, üzerine aşılana çeşidin gelişimi, hastalık ve zararlılara dayanımını, verimini, meyve kalitesini, erkencilik ya da geççiliğini, kurağa, dona, kirece, tuzluluğa, taban suyuna dayanımını ve bitki besin maddelerinin topraktan alımını etkilemektedir. Sert çekirdekli meyvelerin yetiştirilmesinde, yabani kiraz (kuş kirazı), mahlep çöğürleri, şeftali yozları, badem, kiraz, erik, kayısı çöğürleri, nemaguard uzun yıllar anaç olarak kullanılmakla birlikte, son yıllarda klon anaçlar üzerine aşılı fidanların kullanımı ve klon anaçlarına olan talep hızla artmaktadır. Meyveciliğin temel unsurlarından olan anaç seçimi tüm dünyada gelişmeleri dikkatle takip edilen önemli konulardan birini teşkil etmektedir. Özellikle sık dikime yönelik toprak ve iklim koşullarına uygun anaç geliştirme çalışmaları yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Ekonomik açıdan erken ürün verme ve birim alandan maksimum ürün alabilmek amacıyla klonal anaç kullanımı büyük önem arz etmektedir. Klonal anaç kullanımında, genotipin devamlılığı sağlanmakta, üniform populasyon oluşturulabilmekte ve fidanların gençlik kısırlık dönemi kısa sürmesinden dolayı daha erken dönemde meyveye yatmaktadır. Bu nedenlerden dolayı çeşitli yöre ve toprak koşullarına uygun klonal anaç kullanımı bir zorunluluk haline gelmiştir.

Meyve klonal anaçlarının büyük çoğunluğu geleneksel çoğaltım yöntemleriyle üretilmekle birlikte, vejetatif çoğaltım yöntemleri arasında sayılan doku kültürü yöntemiyle de çoğaltılması gereken bazı anaçlar bulunmaktadır. Bu anaçların üretimi, yüksek laboratuvar masrafları, düşük *in vitro* büyüme oranı, fizyolojik olarak üniform olmayan bitki gelişimi ve alıştırma aşamasında düşük yaşama oranlarından kaynaklanan yüksek üretim maliyetlerinden dolayı mikroçoğaltımın ticari kullanımı sınırlı miktarlarda kalmıştır. Ancak ülkemiz koşullarında son 10-15 yıl içerisinde ticari özel doku kültürü laboratuvarı sayısında ciddi artışlar ve üretim rakamlarında büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. Bu ilerlemelerin desteklenmesi adına Tarım Gıda ve Hayvancılık Bakanlığının 2012 yılı içerisinde yurtdışından klonal anaç ithalatını yasaklamasından sonra bu sektörün önümüzdeki yıllarda daha ciddi gelişmeler göstereceği muhakkaktır.

Yapılan bu çalışmada, Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitleri kullanılarak, badem x şeftali melezi olan GF-677 ve Garnem anacının *in vitro* koşullarda



mikroaşılama yoluyla bu hususta kullanılabilecek bazı yöntem ve protokollerin oluşturulması hedeflenmiştir. Bu amaçla belirtilen badem çeşitlerinin her iki anaç üzerine mikroaşılama ile birlikte aşı tutma oranı, sürgün gelişimi, köklenme, düşen aşı ve kallus oluşum oranları tespit edilmiştir. GF-677 anaçındaki aşı tutma oranları bakımından; Ferragnes çeşidinde %100, Ferraduel çeşidinde ise %80'lik bir oran elde edilmiştir. Köklü GF-677 anaçlarındaki aşı tutma oranları ise her iki çeşit için %100 olarak gerçekleşmiştir. Garnem anaçındaki aşı tutma oranlarına göre; Ferragnes çeşidi %100, Ferraduel çeşidi ise %93'lük bir oran elde edilmiştir. Köklü Garnem anaçlarındaki aşı tutma oranları ise yine her iki çeşit için %100 olarak tespit gelmiştir.

Sürgün uzunluğu bakımından; GF-677 anaçlarının sadece köklü olarak aşılama bitkilerinde sürgün gelişimi gözlenmiştir. Her iki badem çeşidinde de BAP ağırlıklı besi ortamında sürgün gelişimi görülürken Ferragnes 10.40 mm, Ferraduel 8.66 mm olarak ölçülmüştür. Garnem anaçlarının hem köksüz hem de köklü anaçlarında sürgün gelişiminin olduğu görülmüştür. Köksüz anaçlarda IBA ağırlıklı besi ortamında Ferragnes çeşidi 22.91 mm, Ferraduel 26.16 mm uzunluğa ulaşırken; köklü Garnem anaçlarında BAP ağırlıklı besi ortamında Ferragnes 28.06 mm, Ferraduel 24.80 mm gelişme göstermiştir. Aşılı bitkilerdeki düşen aşı oranları bakımından; köksüz GF-677 ve Garnem anaçlarında bazı serilerde hiç görülmezken, en yüksek oran Ferraduel çeşidinin aşılama köksüz GF-677 anaçında %20 olarak gerçekleşmiştir. Köklü anaçların aşı çalışmaları sırasında ise herhangi bir aşı düşme durumuyla karşılaşmamıştır. Köklenme oranları bakımından GF-677 ve Garnem'in köksüz anaçlar aşılama ve besi ortamına aktarıldıktan sonra yaklaşık %30-40 oranında bir köklenme elde edilmiştir.

Hem normal hem de köklü GF-677 ve Garnem anaçlarının Ferragnes ve Ferraduel badem çeşitlerine aşılama ile ilgili olarak yapılan bu çalışma ile köklü anaçlardaki aşı tutma ve sürgün gelişiminin daha iyi olduğu ve aşı işlemlerinin daha rahat yapıldığı tespit edilmiştir. Ayrıca farklı oksin-sitokin içeriğine sahip besi ortamlarında normal anaçlar için IBA ağırlıklı MS besi ortamının, köklü anaçlar için BAP ağırlıklı MS besi ortamının daha iyi sonuç verdiği görülmüştür.

Bu çalışma, hem bademin mikroçoğaltımına alternatif olan *in vitro* mikroaşılama yönteminin uygulanması, hem de birçok doku kültürü laboratuvarı tarafından yoğun

olarak üretilen ve homojen meyve üretiminin ön koşulu olan klonal anaçlardan GF-677 ve Garnem (GN-15)'in mikroaşılanmasıyla ilgili olarak bu kapsamda yapılan ilk çalışmadır. Araştırmada bazı aşı parametreleri, besi ortamındaki oksin-sitokinin kombinasyonları ve anaçların köksüz ya da köklü kullanımıyla ilgili olarak ilk temel bulgular elde edilmiştir. Bu çalışmanın, meyve türleri başta olmak üzere farklı bitki türlerinde ve farklı amaçlara yönelik olarak önümüzdeki dönemlerde yapılacak mikroaşılama çalışmalarına zemin oluşturması bakımından yararlı olacağı kanısındayız.

### 6. KAYNAKLAR

Ahmad, T., Rahman, H., Ahmed, CH. M. S., and Laghari, M.H., 2003. Effect of Culture Media and Growth Regulators on Micropropagation of Peach Rootstock GF-677. *Pakistan Journal of Botany*, 35(3): 331-338.

Ahmad, T., Abası, N.A., Hafız I.A., Alı, A., 2007. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677. *Pak. J. Bot.*, 39(4): 1269-1275, 2007. University of Arid Agriculture, Rawalpindi, Pakistan

Ainsley, P.J., Collins, G.C., Sedgley, M., 2000. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *In Vitro Cell Dev. Biol. Plant.* 36, 470–474.

Ainsley, P. J., Collins, G.G. and Sedgley, M., 2001. *In vitro* Rooting of Almond (*Prunus dulcis* Mill.). *In vitro Cellular and Development Biology-Plant*, 6: 778-785 (8).

Akbaş, F., Işıkalın, Ç., Namlı, S., Ak, B.E. 2009. Effect of plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication of *Amygdalus communis* L. cv. Yalısinki. *African Journal of Biotechnology*. 8 (22), 6168-6174.

Amiri, M.E., 2007. Special Micrografting Technique for Cherry (*Prunus avium* L.). Department of Horticulture University of Zanjan Iran. Proc. P: XXVII IHC-S10 Plant Biotechnology Ed.-in-Chief: P.E. Read Acta Hort. 764. ISHS.

Anonim, 2010.(AAFC) Agriculture and Agri-Food Canada. Tarımsal veriler, [www.agr.gc.ca](http://www.agr.gc.ca).

Anonim, 2012. <http://www.biotektarim.com/tr/product/10/Garnem-GxN>

Anonim, 2012. <http://www.biotektarim.com/tr/product/10/ferraduel>

Antonopoulou, C., Dımassı, K., Therios, I., Chatzıssavvıdıs, C., Tsırakoglou, V., 2005. Inhibitory Effects of Riboflavin (Vitamin B2) on the *In vitro* Rooting and Nutrient Concentration of Explants of Peach Rootstock GF 677 (*P. amygdalus x P. persica*).

Arıcı, E.S., 2008. Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü ile Çoğaltılması.

Asma, B.M., 2000. Kayısı Yetiştiriciliği. Evin Ofset. Malatya, 243 s

Bajaj, Y.P.S., 1986. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol 1. Trees. Springer, Berlin Heidelberg, New York.

Channuntapıpat, C., Sedgley, M. and Collins, G., 2003. Micropropagation of Almond Cultivars Nonpareil and Ne Plus Ultra and the Hybrid Rootstock Titan x Nemaguard. Scienta Horticulturae, 98 (4) : 473-484.

Caboni, E., Lauri, P., 2002. Micropropagation as a Tool to Evaluate Response to Fe limiting Conditions in Almond Genotypes. ISHS Acta Horticulturae 591: III. International Symposium on Pistachios and Almonds. <http://www.ishs.org>

Cos, J., Frutos, D., Synchez, M.A., Rodríguez, J. and Carrillo, A., 2004. Determination of the Optimal Culture Medium and Growth Regular Concentration for the In vitro Poliferation Stage of the Peach- Almond Hybrid Mayor. ISHS Acta Horticulturae 658: I International Symposium on Rootstocks for Deciduous Fruit Tree Species. <http://www.ishs.org>

Çelik, T., 2008. Klonal Anaç Genotiplerinin *In Vitro* Koşullarda Bazı Prunus Türleriyle Aşı Tutma Oranlarının Saptanması.

Damiano, C., Monticelli, S., 1998. *In vitro* Fruit Trees Rooting by Agrobacterium rhizogenes Wild Type Infection. Electronic Journal of Biotechnology, 1 (3). [www.ejbiotechnology.info /content/voll/issue](http://www.ejbiotechnology.info/content/voll/issue).

Deogratis, J.M., Castellani, V., Juarez, J., Arregui, J.M., Ortega, C., Ortega, V., Liacer, G., Navarro, L., Dosba, F., 1991. Study of Growth Parameters on Apricot Shoot Tip Grafting *In Vitro* (STG). Acta Horticulturae 293: 363-371.

Demirkök, Ş., 2006. GF-677, AK-1 ve AK-2 badem x şeftali melez anaçlarının sürgün ucu yöntemiyle *in vitro* klonal mikroçoğaltımı. Ç.Ü. Fen bilimleri Enstitüsü Y.L Tezi Adana.41 s.

Dokuzoğuz, M. ve Gülcan, R 1973. Ege Bölgesi Bademlerinin Seleksiyon Yoluyla Islahı ve Seçilmiş Tiplerin Adaptasyonu Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK, No:22.

Fernández-Lorenzo, J.L., Fernández-López M.J. 2005. Reinvigoration of Mature *Castanea sativa* by Serial Micrografting onto a Juvenile Clone. Actas III Hort. 693, ISHS Chestnut Congress.

Fotopoulos, S., Sotiropoulos, T. E., 2005. *In vitro* Rooting of PR 204/84 Rootstock (*P. persica* x *P. amygdalus*) as Influenced by Mineral 38 Concentration of the Culture Medium and Exposure to Darkness for a Period. Agronomy Research 3(1), 3-8.

Gülcan, R., 1976, Seçilmiş Badem Tipleri Üzerine Fizyolojik ve Morfolojik Araştırmalar Ege Üniv. Matbaası, Bornova-İzmir

Ghorbel, A., Chatibi, A., Thaminy, S., Kchouk, M.L., 1998. Micrografting of almond (*Prunus dulcis* Mill.) cv. Achak. Acta Hort. (ISHS) 470, 429–433.

Gürel, S., Gülşen, Y., 1998. The Effects of IBA and BAP on *In vitro* Shoot Production of Almond (*Amygdalus communis* L.). Tr. J. of Botany, 22: 375-379.

Günel, F. (2006). Gisela 5 (*P.cerasus* x *P. canescens*) ve Maxma 14 (*P. mahaleb*) Anaçlarından *In Vitro*da Sürgün Elde Edilmesi Üzerine Değişik BAP ve 2,4- D Düzeylerinin Etkilerinin Belirlenmesi.

Hansman D., Novoa C.O., 1986. Micropropagation of temperate nut trees. Horticultural Abstracts 56(6), 403-416.

Hartman, H.T., and Kester, D.E., 1983. Plant propagation principles and practices. 4<sup>th</sup> edition. Prentice-Hall Englewood Cliffs, N.J.

Hartman, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. and Geneve, R.L. 1997. The biology of grafting plant propagation: Principles and Practices-Hall., p:392-436.

Hatipoğlu, R. 1999. Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniv. Zir. Fak. Genel Yayın No: 190, Ders Kitabı Yayın No: A-58, s: 176, Adana.

Hudson, H., Katser, D:E:, Davies, F.T.Jr., Greve, R.L., 1997. Plant propagation principles and practices, 6th Edition.

Hutchinson, J.F. and R.H.Zimmerman, 1987, Tissue culture of temperate fruit and nut trees. Hort. Rev. Vol.9: 272-349.

Işıksalan, Ç., Adıyaman Akbaş, F., Namlı, S., Tilkat, E., Başaran, D., (2008). *In vitro* micropropagation of almond (*Amygdalus communis* L. cv. Nonpareil). Afr. J. Biotechnol. 7(12): 1875-1880.

Işıksalan, Ç., Akbaş, F., Namlı, S., Başaran, D., 2010. Adventitious shoot development from leaf and stem explants of *Amygdalus communis* L. cv. Yaltinski. POJ 3(3):92-96 Uncorrected prof ISSN:1836-3644. Department of Biology, Science Faculty, Dicle University, Diyarbakır, Turkey.

Işıksalan, Ç., Namlı, S., Akbaş, F., Ak, B.E., 2011. Micrografting of almond (*Amygdalus communis*) cultivar 'Nonpareil'. AJCS 5(1):61-65.

Juarez, J., Camarasa, E., Ortega, V., Arregui, J.M., Cambra, N., Llacer, G., Navarro, L., 1992. Recovery of Virus-Free Almonds Plants by Shoot Tip Grafting In Vitro. Acta Horticulture 309:393-400.

Kamali, K., Majidi,E., and Zarghami, R., 2001. Micropropagation of GF-677 (*P.amygdalus x P. persica*). 11 GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds CIHEAM-IAMZ. 56 (175-177).

Kaşka, N., 2001. Türkiye'nin Sert Çekirdekli Meyvelerde Üretim Hedefleri Üzerine Öneriler. I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu 25-28 Eylül 2001(Çağrılı Bildiri) S:1-16 Yalova.

Kester, D.E., Thomas, M., Gradziel, and Grasselly., 1990. Almonds (*Prunus*). Acta Horticulturae 190:699-758.

Kozai, T., C. Kubota, B. R. Jeong, 1997a. Environmental Control for The Large-Scale Production of Plants through *In Vitro* Techniques. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 51:49-56.

Küden, A.B. ve Küden, A. 2000. Badem Yetiştiriciliği.

Küden, A.B., 2000. Şeftali Yetiştiriciliği. TÜBİTAK-TARP Yayınları, 20 s.

Lauri P., E. Caboni, C. Damiano. 2001. *In vitro* Adventitious Shoot Regeneration From Vegetative Apices Of Almond And Other Prunus Species. IV International Symposium on *in vitro* Culture and Horticultural Breeding. ISHS Acta Horticulturae 560. Abst.

Mansuroğlu, S., Gürel, E., 2001. Bitki Biyoteknolojisi Doku Kültürü ve Uygulamaları.

Marino, G., Ventura M., 1997. The influence of ethylene on *in vitro* rooting of GF 677 (*Prunus PersicaxPrunus Amygdalus*) Hybrid Peach rootstock. Dipartimento di Colture Arboree, University of Bologna, Via Filippo Re 6, 40126 Bologna, Italy.

Molassiotis, A. N., Dimassi, K., Diamantidis, G. and Therios, I., 2003. Fe EDDHA Promotes Rooting of Rootstock GF-677 (*P. amygdalus x P. persica*) Explants *In vitro* Biologia Plantarum 47 (1): 141-144.

Molassiotis, A. N., Dimassi, K., Diamantidis, G. and Therios, I., 2004. Changes in Peroxidases and Catalase Activity During *In vitro* Rooting. Biologia Plantarum, 48(1):1-5 (5).

Monteuuis, O., 2012. *In Vitro* Grafting Of Woody Species. Propagation of Ornamental Plants Vol. 12, No: 1, 11-24.

Nguyen, Q.T. and T. Kozai, 1998. Environmental Effects on The Growth of Plantlets in Micropropagation. Envir. Cont. in Biol. 36(2) 59-75.

Özçağıran R., Ünal, A., Özeker, E., ve İsfendiyaroğlu, M., 2005. Ilıman İklim Meyve Türleri-Sert Kabuklu Meyveler, Cilt 3, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No.556, Bornova, İzmir.

Özüdoğru, T., 2003. Badem, T.E.A.E. Bakış, Sayı:6, Nüsha: 4, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Ankara.

Rahan Meristem Ltd. Plant Propagation & Biotechnology, 1998. Deciduous Fruit: Almonds; Specializing in Production of Almonds Rootstocks and Grafted Plants. Almond Rootstocks: GF-677 Main Characteristic. <http://www.rahan.co.il/pages/almond.php>

Rodrigues, A.C., Silveira, C.A.P., Fortes, G.R. de L., Fachinello, J.C. and Silva, J.B., 2003. Establishment and Multiplication *In vitro* of Prunus sp. in Different Culture Media. Rev. Bras. Frutic. 25 (1) Jaboticabal abr. www.scielo.br

Rugini, E., Verma, D.C., 1982. Micropropagation of Ferragnes Almond (*Prunus amygdalus* Batsch.). IPC Paper Series, Appleton, Wisconsin, IPC Technical Paper Series No. 122, p. 17.

Rugini, E., Monastra, F., 2003. Temperate Fruits. In S.K. Mitra, D.S. Rathora and T.K. Bose (Eds). Display Printers (P) ltd., India, ISBN 81-900171-1-X, Volume II, p: 344-414.

Silveira, C.A.P., 2000. M. Sc., Federal University of Pelotas, March 2000. *In vitro* Multiplication of Prunus Rootstock. Adviser: Jose Carlos Fachinello.

Silveira, C.A.P., Fachinello, J.C. and Fortes, G.R. de L., 2001. *In vitro* Multiplication of Prunus Rootstocks in Different BAP Concentrations in Two Culture Media. Rev. Bras. Frutic., 23(3): 488-492.

Soylu, A., 1997. Ilıman İklim Meyveleri II. Uludağ Üniversitesi Zir. Fak. Ders Notları No:72, Bursa, s:204-220.

Soylu, A., 2003. Ilıman İklim Meyveleri II. Uludağ Üniversitesi Zir. Fak. Ders Notları No:72, Bursa, s:204-220.

Thimmappaiah Puthra GT, Anil SR 2002. *In vitro* grafting of cashew (*Anacardium occidentale* L.). Sci Hort.92, 177–182.

Uematsu, C. and Akihama, T., 1987. Effect of 4 PU on the dormant shoot tip culture of peach, nectarine, sweetcherry and plum. Japan. J. Breed. 37: 283-290.

Yapar, N.H. 2004. Bademin (*Amygdalus vulgaris* L.) klonal olarak çoğaltılması. Yüksek lisans tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri enstitüsü, Gaziantep, 20.

Yapar, H., Can, C., Özasan, M., Aytekin, T., Atli, H., 2006. Application of *in vitro* tissue culture techniques for propagation of *Amygdalus communis* L.cultivars, Garrigues and Yaltsinki. Biotechnology 5 (1):49-52.



Yıldırım H., Onay A., Süzerer V., Tilkat E., Özden-Tokatlı Y., Akdemir H. 2010. Micrografting of almond (*Prunus dulcis* Mill.) cultivars ‘Ferragnes’ and ‘Ferraduel’. *Scientia Horticulturae*, 125: 361-367.

Yıldırım. H., Akdemir, H., Süzerer, V., Özden, Y., Onay, A., 2013. *In vitro* Micrografting of the Almond Cultivars “Teksas”, “Ferrastor” and “Nonpareil”. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 27(1):3493-3501.

Yu, Q. 1998. *Automatisation in Micropropagation Systems*. Helsinki Univ. Finland.

Zilkah, S., Fangersh, E., Rotbaum, A. and Stein, A., 1993. *In vitro* Micropropagation of Indicator Plants for Indexing Prunus Necrotic Ring Spot Virus. *ISHS Acta Horticulturae 336: II International Symposium on In vitro Culture and Horticultural Breeding*.

## **ÖZGEÇMİŞ**

1984 yılında Adıyaman'da doğdum. İlk orta ve lise öğrenimimi Adıyaman'da tamamladım. 2004 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümüne girdim ve 2008 yılında mezun oldum. Aynı yıl Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladım. Halen aynı bölümde Yüksek Lisans eğitimimi sürdürmekteyim.