

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

“HACİHALİLOĞLU” KAYISI (*Prunus armeniaca L.*)
ÇEŞİDİNİN *İN VİTRO* ÇOĞALTIMI

Hakan YILDIRIM

DOKTORA TEZİ
(Biyoloji Anabilim Dalı)

Temmuz - 2006
DİYARBAKIR

T.C

DİCLE UNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DIYARBAKIR

Hakan YILDIRIM tarafından yapılan “**Hacıhaliloğlu Kayısı**
(Prunus armeniaca L.) Çeşidinin In Vitro Çoğaltımı” konulu bu çalışma, jürimiz
 tarafından Biyoloji Anabilim Dalında **DOKTORA** tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan : Prof. Dr. Davut BAŞARAN.....

Üye : Prof. Dr. Ahmet ONAY (Danışman).....

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ali Yılmaz HIZAL.....

Üye : Prof. Dr. Bekir Erol AK.....

Üye : Prof. Dr. Hasan Çetin ÖZEN

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 03/07/2006

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

[Signature] 23.07.2006
 Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimimin başlamasından itibaren her aşamada yardımlarını gördüğüm, danışman hocam sayın Prof. Dr. Ahmet ONAY’a teşekkür ederim. İlk “doku kültürü” dersini aldığım, laboratuvar çalışmalarım sırasında her türlü yapıcı eleştirilerinden faydalandığım büyük deneyim ve hoşgörü sahibi hocamız Prof. Dr. sayın Davut BAŞARAN’a teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman için yanımda bulunarak çalışmalarımı destekleyen ve akademik çalışmalarımın şekillenmesinde büyük katkısı olan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Ali Yılmaz HIZAL’a teşekkürlerimi ve hürmetlerimi sunarım. Tez çalışmalarımın bir kısmını gerçekleştirdiğim Ziraat Fakültesi bünyesindeki “Bitki Biyoteknoloji Laboratuvarı”nın ortaya çıkarılmasında büyük emekler harcayan ve bu çalışmalarım süresince her türlü yardım ve desteğini benden esirgemeyen sayın Yrd. Doç. Dr. Vedat PİRİNÇ’e teşekkür ederim. Doktora çalışmalarım sırasında yanımda olan, faydasını çok gördüğüm bölüm arkadaşım Arş. Gör. Zafer AKTÜRK’e; çalışmalar sonucunda elde edilen verilerin analizi ve değerlendirilmesi aşamasında yardımcı olan Dr. Ahmet BAYRAM’a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasının projelendirilmesinde ve yürütülmesinde yardımcı olan sayın hocam Prof. Dr. Hasan Çetin ÖZEN’e; laboratuvara girdiğim ilk günlerden itibaren yakın ilgi ve alâka gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Çiğdem IŞIKALAN’a ve Biyoloji Bölümünün tüm elemanlarına gösterdikleri misafirperverlikten dolayı teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Çalışma kapsamında kullanılan materyalin temininde yardımcı olan Malatya Meyvecilik Araştırma Enstitüsü’nden Zir. Yük. Müh. Sedat USLU ve Zir. Müh. Abdullah ERDOĞAN’a; ayrıca kurumun tüm çalışanlarına teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora eğitimim süresince benimle birlikte her türlü zahmet ve sıkıntıya katlanarak maddi ve manevi destek veren sevgili eşim Hülya YILDIRIM’a; bu dünyadaki iyi şeyleri bana her gün hatırlatan sevgili kızım Ahsen Merve YILDIRIM’a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma;

♦ **Dicle Üniversitesi Araştırma Projeleri Komisyonu** tarafından **DUAPK-02-FF-57** numaralı proje ve ayrıca;

♦ **TÜBİTAK** Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı (**BİDEB**) tarafından; **Yurtiçi Doktora Burs Programı (2003-2006)** kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1 Kayısı Hakkında Genel Bilgiler	4
2.1.1. Anavatanı ve Tarihçesi	4
2.1.2. Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri	4
2.1.2.1. Habitüsü	4
2.1.2.2. Yaprak Özellikleri	5
2.1.2.3. Tomurcuk Özellikleri	5
2.1.2.4. Çiçek Özellikleri	5
2.1.2.5. Meyve ve Tohum Özellikleri	5
2.1.3. Çoğaltma Yöntemleri	6
2.1.4. Yerli ve Yabancı Kayısı Çeşitleri	6
2.1.5. Ekonomik Önemi	6
2.2. Tez Konusunun Orijinalliği ve Getireceği Yenilikler	8
2.3. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyvelerle İlgili Yapılan <i>İn Vitro</i> Rejenerasyon ve Mikroçoğaltım Çalışmaları	9
3. MATERYAL ve METOT	33
3.1. Materyal	33
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplant Tipleri	33
3.2. Metot	33
3.2.1. Kültür Ortamının ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Hazırlanması	33
3.2.1.1. Besi Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu	33
3.2.1.2. Bitki Büyüme Düzenleyiciler için Stok Çözeltilerin Hazırlanması	37
3.2.2. Sterilizasyon Teknikleri	38
3.2.2.1. Filtrasyon ile Sterilizasyon	38
3.2.2.2. Pamuk ve Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu	38
3.2.2.3. Cam Malzemelerin Sterilizasyonu	38
3.2.2.4. Pens ve Bistürilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu	39
3.2.2.5. Röpikaj Odasının Hazırlanması ve Sterilizasyonu	39
3.2.3. Kültür Şartları (Büyüme Odası)	39

3.2.4.	Aklimatizasyon Şartları (Adaptasyon Odası)	39
3.2.5.	Araştırmada Kullanılan Yöntemler	39
3.2.6.	Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları	40
3.2.6.1.	Kayısı Tohumlarının Sterilizasyonu	41
3.2.6.1.1.	Kayısı Tohumlarının Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi	41
3.2.6.1.2.	Kayısı Tohumlarının Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi	41
3.2.6.2.	Kayısı Ağaçlarından Alınan Nodal Tomurcukların Sterilizasyonu	41
3.2.6.2.1.	Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi	41
3.2.6.2.2.	Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi	42
3.2.6.3.	Kayısı Ağaçlarından Alınan Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu	42
3.2.6.3.1.	Sürgün Ucu Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi	42
3.2.6.3.2.	Sürgün Ucu Sterilizasyonuna %10'luk NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi	43
3.2.7.	Kültür Başlatma Çalışmaları	43
3.2.7.1.	Kayısı Tohumlarından Kültür Başlatma Çalışmaları	44
3.2.7.1.1.	Tohumların <i>În Vitro</i> Çimlenmesine BBD'lerin Etkisi	44
3.2.7.1.2.	Tohumların <i>În Vitro</i> Çimlenmesine Eksplant Tipinin Etkisi	44
3.2.7.2.	Nodal Tomurcuklardan Kültür Başlatma Çalışmaları	44
3.2.7.2.1.	Farklı Besi Ortamlarının Kültür Başlatmaya Etkisi	44
3.2.7.2.2.	MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Kültür Başlatmaya Etkisi	44
3.2.7.2.3.	Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Kültür Başlatmaya Etkisi	45
3.2.7.2.4.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi	45
3.2.7.2.5.	Farklı Şeker Tiplerinin Kültür Başlatmaya Etkisi	45
3.2.7.2.6.	Sukrozun Farklı Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi	45
3.2.7.2.7.	BAP'lı Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi	45
3.2.7.2.8.	Kinetin'li Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi	46
3.2.7.2.9.	Ağaçlardan Tomurcuk Alma Zamanının Kültür Başlatmaya Etkisi	46
3.2.8.	Sürgün Proliferasyon Çalışmaları	46

3.2.8.1.	Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları	47
3.2.8.1.1.	MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	47
3.2.8.1.2.	Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	47
3.2.8.1.3.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	47
3.2.8.1.4.	Altkültür Sayısının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	47
3.2.8.2.	Nodal Tomurcuklardan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları	47
3.2.8.2.1.	MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	47
3.2.8.2.2.	Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	48
3.2.8.2.3.	Farklı Sitokininlerin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	48
3.2.8.2.4.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	48
3.2.8.2.5.	Farklı Kinetin Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	48
3.2.8.2.6.	Farklı TDZ Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	48
3.2.9.	Köklendirme Çalışmaları	48
3.2.9.1.	Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları	49
3.2.9.1.1.	IBA'nın Köklenmeye Etkisi	49
3.2.9.1.2.	NAA'nın Köklenmeye Etkisi	49
3.2.9.1.3.	Karanlıkta Bırakma İşleminin Köklenmeye Etkisi	49
3.2.9.2.	Nodal Tomurcukların Proliferasyonu Sonucu Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları	50
3.2.9.2.1.	IBA'nın Köklenmeye Etkisi	50
3.2.9.2.2.	NAA'nın Köklenmeye Etkisi	50
3.2.10.	Aklimatizasyon (adaptasyon) Çalışmaları	50
3.2.11.	Verilerin Değerlendirilmesi	51
4.	BULGULAR ve TARTIŞMA	52
4.1.	Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları	52
4.1.1.	Kayıp Tohumlarının Sterilizasyonu	52
4.1.1.1.	Tohumların Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi	52

4.1.1.2.	Tohumların Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi	53
4.1.2.	Kayısı Ağaçlarından Alınan Nodal Tomurcukların Sterilizasyonu	53
4.1.2.1.	Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi	53
4.1.2.2.	Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi	54
4.1.3.	Kayısı Ağaçlarından Alınan Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu	55
4.1.3.1.	Sürgün Ucu Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi	55
4.1.3.2.	Sürgün Ucu Sterilizasyonuna %10'luk NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi	56
4.1.4.	Materyalin Sterilizasyonu ile İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma	57
4.2.	Kültür Başlatma Çalışmaları	59
4.2.1.	Kayısı Tohumlarından Kültür Başlatma Çalışmaları	60
4.2.1.1.	Tohumların <i>În Vitro</i> Çimlenmesine BBD'lerin Etkisi	60
4.2.1.2.	Tohumların <i>In Vitro</i> Çimlenmesine Eksplant Tipinin Etkisi	61
4.2.2.	Nodal Tomurcuklardan Kültür Başlatma Çalışmaları	63
4.2.2.1.	Farklı Besi Ortamlarının Kültür Başlatmaya Etkisi	63
4.2.2.2.	MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Kültür Başlatmaya Etkisi	63
4.2.2.3.	Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Kültür Başlatmaya Etkisi	64
4.2.2.4.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi	65
4.2.2.5.	Farklı Şeker Tiplerinin Kültür Başlatmaya Etkisi	65
4.2.2.6.	Sukrozun Farklı Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi	66
4.2.2.7.	BAP'lı Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi	68
4.2.2.8.	Kinetin'li Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi	69
4.2.2.9.	Ağaçlardan Tomurcuk Alma Zamanının Kültür Başlatmaya Etkisi	69
4.2.3.	Kültür Başlatma Çalışmalarıyla İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma	71
4.3.	Sürgün Proliferasyon Çalışmaları	73
4.3.1.	Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları	73

4.3.1.1.	MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	73
4.3.1.2.	Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	74
4.3.1.3.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	75
4.3.1.4.	Alt Kültür Sayısının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	76
4.3.2.	Nodal Tomurcuklardan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları	78
4.3.2.1.	MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	78
4.3.2.2.	Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	79
4.3.2.3.	Farklı Sitokininlerin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	80
4.3.2.4.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	80
4.3.2.5.	Farklı Kinetin Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	81
4.3.2.6.	Farklı TDZ Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi	82
4.3.3.	Sürgün Proliferasyon Çalışmalarıyla İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma	84
4.4.	Köklendirme Çalışmaları	91
4.4.1.	Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları	91
4.4.1.1.	IBA'nın Köklenmeye Etkisi	91
4.4.1.2.	NAA'nın Köklenmeye Etkisi	92
4.4.1.3.	Karanlıkta Bırakma İşleminin Köklenmeye Etkisi	94
4.4.2.	Nodal Tomurcukların Proliferasyonu Sonucu Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları	95
4.4.2.1.	IBA'nın Köklenmeye Etkisi	95
4.4.2.2.	NAA'nın Köklenmeye Etkisi	96
4.4.3.	Köklendirme Çalışmalarıyla İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma	96
4.5.	Aklimatizasyon (adaptasyon) Çalışmaları	105
4.5.1.	Başlangıç Materyali Tohum Olan Köklenmiş Bitkilerin Aklimatizasyonu Üzerine Farklı Düzeylerde Steril Edilen Torf Materyalinin Etkisi	105

4.5.2.	Başlangıç Materyali Nodal Tomurcuk Olan Köklenmiş Bitkilerin Aklimatizasyonu Üzerine Farklı Düzeylerde Steril Edilen Torf Materyalinin Etkisi	105
4.5.3.	Aklimatizasyon ile İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma	107
5.	SONUÇ	111
5.1.	Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları	112
5.2.	Kültür Başlatma Çalışmaları	112
5.3.	Proliferasyon Çalışmaları	112
5.4.	Köklendirme Çalışmaları	113
5.5.	Adaptasyon Çalışmaları	113
6.	KAYNAKLAR	114
7.	ÇİZELGE LİSTESİ	124
8.	RESİM LİSTESİ	126
9.	ÖZGEÇMİŞ	127

AMAÇ

Ülkemiz, sahip olduğu değişik iklim ve toprak şartları nedeniyle, meyvecilik açısından çok sayıda tür ve çeşit yetiştirme şansına sahiptir. Türkiye, bugün gerek meyve tür ve çeşit sayısı, gerekse üretim miktarı bakımından dünyanın önemli “meyve üreticisi” ülkeleri arasında yer almaktadır (**Özçağırın ve ark, 2003**). Dünya yaş ve kuru kayısı üretiminde birinci sırada yer alan Türkiye, gerek kayısı gen kaynakları ve gerekse ekolojik şartlar nedeniyle büyük bir potansiyele sahiptir (**Asma, 2000**). 2005 yılı FAO verilerine göre, 2.822.223 ton olan dünya kayısı üretiminin, 580.000 tonu ülkemizde gerçekleşmiştir (**Anonim, 2006**). Bu üretimin %50’si Malatya’da olmak üzere Mersin, Elazığ, Ankara ve Kahramanmaraş illerinde kayısı üretimi yoğunlaşmıştır. Malatya ve Elazığ illeri dışında yetiştirilen kayısı çeşitleri daha çok taze tüketime yöneliktir. Malatya’da üretilen yaş kayısının yaklaşık %90-95’i kurutularak “ihraç edilmektedir”.

Bugüne kadar kayısı ve diğer sert çekirdekli meyve türlerinin ve anaçlarının *in vitro* rejenerasyon ve mikroçoğaltım sistemlerinin geliştirilebilmesi için çok sayıda çalışma yapılmıştır. Ancak yerli kayısı çeşitlerinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili herhangi bir çalışma yapılmadığı, literatür taraması sonuçlarından ortaya çıkmıştır.

Bu çalışmada; Malatya’da yoğun olarak üretimi yapılan ve Dünya kuru kayısı ticaretinde Türkiye’nin söz sahibi olmasını sağlayan ve “Milli Meyve” olarak tanımlayabileceğimiz “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidinin; tohumlarından ve ürün veren ağaçlarından alınan farklı eksplantlar için, mikroçoğaltım protokollerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Çalışmamız, adı geçen çeşidin *in vitro* tekniklerle çoğaltılmasına yönelik olarak yapılan ilk çalışma mahiyetindedir. Yerli kayısı çeşitleriyle ilgili gelecekte yapılacak olan *in vitro* araştırmalara (kallus, süspansiyon, anter ve protoplast kültürü ve somatik hibridizasyon) temel teşkil etmesi bakımından yararlı olacağı kanısındayız.

ÖZET

Doktora Tezi

“Hacıhaliloğlu” Kayısı (*Prunus armeniaca L.*) Çeşidinin *In Vitro* Çoğaltımı

Hakan YILDIRIM

Dicle Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

2006, Sayfa: 127

Bu çalışmada; “Hacıhaliloğlu” kayısı çeşidinin; tohumlarından ve ürün veren ağaçlarından alınan farklı eksplantlar için, *in vitro* organogenesis protokolleri tanımlanmıştır.

Çalışmada kullanılan eksplantlar için geliştirilen sterilizasyon tekniklerine göre; öncelikle materyallerin tamamı etil alkol içerisinde 40 saniye bekletilerek önsterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra; tohumların sterilizasyonu için %5 NaOCl içerisinde 15 dakika; nodal tomurcukların sterilizasyonu için %5 NaOCl içerisinde 10 dakika; sürgün uçlarının sterilizasyonu için %10 NaOCl içerisinde 15 dakika bekletme işleminin uygun olduğu tespit edilmiştir.

Tohum ve nodal tomurcuklardan elde edilen eksplantlar için kültür başlatma, proliferasyon, köklenme ve aklimatizasyon yöntemleri tanımlanmıştır. Kültür başlatma çalışmaları kapsamında; kayısı tohumlarının çimlenmesi bakımından 1 mg^l⁻¹ BAP’lı ortamda çimlenme oranının %67 olduğu, ve ortalama sürgün uzunluğunun 17.99 mm olarak gerçekleştiği görülmüştür. Ortama oksin ilavesi yönünden 1 mg^l⁻¹ BAP + 0.3 mg^l⁻¹ IBA kullanımı adı geçen özellikler bakımından en iyi sonucu vermiştir. Nodal tomurcuklarla kültüre başlamanı zamanı yönünden mayıs-haziran aylarının uygun olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kayısı, *Prunus armeniaca L.*, *Hacıhaliloğlu*, *In vitro*, Çoğaltım, Organogenesis.

Proliferasyon alışmaları kapsamında; tohum kaynaklı sürgünlerin rejenerasyonu sırasında; 1 mgL⁻¹ BAP kullanılmış ve 3.68 ± 0.65 adet sürgün ve 10.66 ± 0.90 mm ortalama sürgün uzunluğu tespit edilmiştir. Nodal tomurcuk kaynaklı sürgünlerin çoğaltımında ise; 1 mgL⁻¹ BAP kullanılarak 2.64 ± 0.69 adet sürgün elde edilmiş olup, ortalama sürgün uzunluğu 5.80 ± 0.40 mm olarak bulunmuştur. Proliferasyon bakımından her iki materyal tipi için de TDZ ve kinetinin etkili olmadığı grlmştir.

Tohum kaynaklı sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla; 0.5 mgL⁻¹ NAA kullanımı en iyi sonucu vermiş ve yine %60 oranında köklenme elde edilmiştir. Ayrıca karanlıkta bırakma işleminin köklenme açısından etkili olmadığı sonucuna varılmıştır. Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi için 2 mgL⁻¹ IBA en iyi sonucu vermiş ve %60 köklenme oranı sağlanmıştir. *In vitro* koşullarda çoğaltılan kayısı bitkilerinin aklimatizasyonu için sterilize edilmiş torf kullanımının uygun olduğu belirlenmiştir. Kültür başlatma çalışmalarından itibaren 15 hafta sonra araziye aktarılan nodal tomurcuk ve tohum kaynaklı bitkilerde yaklaşık %70-80 oranında yaşayan bitki elde edilmiştir.

Sonuç olarak; “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidinin tohumlarının ve nodal tomurcuklarının *in vitro* klonal çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan ilk çalışma niteliğindeki bu çalışmada; adı geçen çeşit için bir organogenesis metodu geliştirilmiştir.

“*Hacıhaliloğlu*” kayısı eşidi Türkiye’de en fazla yetiştiriciliği yapılan ve Dünya kuru kayısı ticaretindeki lider çeşit olma konumunu yıllar yılı sürdüren bir çeşittir. Hem “*Hacıhaliloğlu*” hem de diğer yerli kayısı eşitlerimizle (*Hasanbey, Kabaası, ataloğlu, loğlu, Soğancı, şekerpare* vb.) ilgili gelecekte yapılacak olan *in vitro* araştırmalara (kallus, süspansiyon, anter ve protoplast kültürü ile somatik hibridizasyon) temel teşkil etmesi bakımından yararlı olacağı kanısındayız.

SUMMARY

PhD. Thesis

***IN VITRO* PROPAGATION OF APRICOT (*Prunus armeniaca* L.) CULTIVAR “HACİHALİLOĞLU”**

Hakan YILDIRIM

Dicle University

Graduated School of Natural and Applied Science

Department of Biology

2006, Page: 127

Methods were developed for organogenesis of apricot, (*Prunus armeniaca* L.) cv. “*Hacıhaliloğlu*”, using tissues from axenic seedlings and mature explants.

An effective surface sterilization method for the production of axenic explants from *P. armeniaca* mature seeds and mature apical shoots and nodal buds were achieved. Mature kernels of “*Hacıhaliloğlu*” from which the outer endocarp had been removed, were pre-sterilized by immersion in absolute ethanol for 40 sec. Followed by a rinse with sterile distilled water. These pre-sterilized kernels then exposed to 5% NaOCl solution for 15 min followed by a five rinses with sterile distilled water. In the case of explants from mature apricot materials, decontamination was best achieved when the nodal buds were surface sterilized by immersion in an aqueous solution of 5% NaOCl (Axion) for 10 min, and apical shoots were surface sterilized by immersion in an aqueous solution of 10% NaOCl for 15 min.

Methods were described for the initiation, proliferation, rooting and acclimatization of seedlings from mature axenic seeds and mature nodal buds. The cytokinin BA was found to be essential for the induction of organogenesis from mature seeds cultured on basal MS medium. The best germination rate was 67%, and the mean shoot length was 17.99 mm on MS medium containing 1 mg l⁻¹ BA. Inclusion of 0.3 mg l⁻¹ IBA on 1 mg l⁻¹ BA gave the best results for the initiation of cultures from nodal buds. The best periods for the explanting of nodal buds were May and June for the initiation of cultures.

Keywords: Apricot, *Prunus armeniaca* L., *Hacıhaliloğlu*, *In vitro*, Propagation, Organogenesis.

MS medium was superior for shoot growth and multiplication BA at 1 mg l⁻¹ was optimal for multiplication of explants derived from seedlings and mature nodal buds. The mean shoot number was found to be 2.64 ± 0.69 , and 3.68 ± 0.65 when the explants derived mature nodal buds and seedlings, respectively were used for proliferation. The mean length of shoots was found to be 5.80 ± 0.40 mm and 10.64 ± 0.90 mm when the explant derived from mature nodal buds and seedlings, respectively for proliferation. Supplementation of media with TDZ and kin did not as effective as BA for the proliferation of cultures.

The best rooting of mature *P. armeniaca* materials was achieved with the explant, subcultured only once on proliferation medium and induced to root (60%) on 2 mg l⁻¹ IBA. In the case of seedling materials, the best rooting (60%) was achieved with 0.5 mg l⁻¹ NAA. Keeping the cultures in total darkness was not beneficial for the improvement of rooting. Peat used for the acclimatization of *in vitro* propagated plantlets has to be complete sterilized. 70-80% of surviving plantlets was obtained from the plantlets derived from seedlings and mature nodal buds 15 weeks after transferring to soil conditions, respectively.

In conclusion, the methods presented here for the *in vitro* clonal propagation of seedlings derived from axenic seed and mature apricot trees represents the first stage of a study of the pathways of organogenesis in cultures of *P. armeniaca* L. cv. “*Hacıhaliloğlu*”.

The *Hacıhaliloğlu* variety, has the most growing rate in Turkey and also the leader variety in commercial of dried apricot in the world. We hope the above studies will contribute in one way or another to benefit this important fruit. Further effort and collaboration are still needed. This study will also be a reference for the initiation of callus and suspension cultures, anther cultures and somatic hybridization using and applying these to *in vitro* researches of other national varieties such as “Hasanbey, Kaşabaşı, Çataloğlu, Çöloğlu, Soğancı, Şekerpare etc.”

KISALTMA VE SİMGELER

MS	: Murashige ve Skoog
WPM	: Woody Plant Medium
SH	: Schenk and Hildebrandt
QL	: Quoirin and Lepoivre
AND	: Anderson Medium
BAP	: 6- Benzilaminopürin
NAA	: α -Naftalen Asetik Asit
IAA	: İndol-3 Asetik Asit
IBA	: İndol-3 Butirik Asit
2,4 D	: 2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit
TDZ	: Thidiazuron
GA ₃	: Gibberellik Asit
g	: Gram
g l ⁻¹	: Gram/litre
mg	: Miligram
mg l ⁻¹	: Miligram/litre
l	: Litre
ml	: Mililitre
µm	: Mikrometre
M	: Molar
mM	: Milimolar
µM	: Mikromolar
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
m	: Metre
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyici
NaOCl	: Sodyum hipoklorit
CaOCl	: Kalsiyum hipoklorit
HgCl ₂	: Civa Klorür
atm	: Atmosfer
AgNO ₃	: Gümüş Nitrat

1. GİRİŞ

Ülkemiz sahip olduğu uygun iklim ve toprak şartları nedeniyle meyvecilik açısından çok sayıda tür ve çeşit yetiştirme şansına sahiptir. Türkiye bugün gerek meyve tür ve çeşit sayısı, gerekse üretim miktarları bakımından dünyanın önemli meyve üreticisi ülkeleri arasında yer almaktadır. Ülkemiz elma, armut, ayva, erik, kiraz, vişne, kızılcık, fındık, fıstık, badem, ceviz, kestane, zeytin, incir, nar ve üzümün anavatanıdır. Bu meyve türlerinin dışında yabancı olarak meyvelerinden ve ağaçlarından faydalandığımız alıç, kuşburnu, böğürtlen, melengiç, buttum, keçiboynuzu gibi meyve türlerimiz bulunmaktadır (Asma, 2000).

Bu meyve türleri arasında renk, tat ve aroma bakımından hoş giden ve aranan meyve türlerinden birisi de kayısıdır. Bugün Sibiry'a'nın çok soğuk, Kuzey Afrika'nın subtropik, Orta Asya'nın çöl, Japonya ve Doğu Çin'in ıse nemli alanlarında yetiştirilen bir çok kayısı çeşidi ve türü bulunmaktadır. Fakat bugün için Dünya'da kayısı yetiştiriciliğinin sorunsuz yapıldığı alan maalesef çok sınırlıdır. Dünya'nın en önemli kayısı üretim merkezlerinden birisi ve en önemlisi Anadolu'dur. Kayısının anavatanı Anadolu olmamasına rağmen yüzlerce yıldan beri ülkemizde yetiştirilmesinden dolayı kayısının ikinci vatanı olmuştur.

Dünya kayısı üretimi 2005 yılı verilerin göre 2.822.223 ton olup (Anonim, 2006), üretim daha çok Akdeniz'e komşu olan ülkelerde yoğunlaşmıştır. Bu ülkelerden Fransa, İtalya, İspanya ve Yunanistan sofralık; Türkiye, İran, Pakistan, Avustralya Cezayir, Fas ve Güney Afrika Cumhuriyeti'nde ise kurutmalık ve sofralık amaca yönelik kayısı üretimi ön plana çıkmaktadır (Asma ve Birhanlı, 2004). Dünya yaş ve kuru kayısı üretiminde birinci sırada yer alan Türkiye, gerek kayısı gen kaynakları ve gerekse ekolojik şartlar nedeniyle büyük bir potansiyele sahiptir.

Türkiye'deki kayısı üretimi yıllara göre değişmekle birlikte, yaklaşık 16 milyon kayısı ağacından ortalama 400-600 bin ton üretim yapılmakta olup, bu üretimde ilk sırayı Malatya ili almaktadır. Bugün, Dünya'da kayısının başkenti olarak tanınan Malatya'da yetiştirilen kayısı çeşitleri yerli ve yabancı herkesin beğenisini kazanmıştır. Üretilen yaş kayısının büyük bölümü kükürtlendikten sonra kurutulmaktadır. Dünya'da gerçekleştirilen kuru kayısı ihracatı 2003 yılında 91.011 ton olup Türkiye %79 pay ile ilk sırada yer almaktadır. 2004 yılında Türkiye'den 80 bin ton kuru kayısı ihraç edilmiş ve karşılığında 190 milyon \$ döviz elde edilmiştir (Asma ve ark, 2005).

Bölgedeki kayısı bahçelerinin yaklaşık %90-95'lik bölümü kurutmalık kayısı çeşitleriyle tesis edilmiştir. Yetiştirilen kayısı çeşitlerinin %73'ü Hacıhaliloğlu, %17'si Kabaası, geriye kalan kısmını ise Soğancı, Hasanbey, Çataloğlu ve Zerdali (%1'den az) ağaçları oluşturmaktadır. Kayısı yetiştiriciliğinde ülkemizin bugün iki temel sorunu vardır. Bunlardan birincisi, ilkbahar geç donlarının neden olduğu ürün kayıplarıdır. Diğer önemli sorun ise, ilkbahar geç donlarının zarar vermediği yıllarda ürünün bol olmasına bağlı olarak özellikle pazarlamada yaşanan sıkıntılardır (**Asma, 2000**).

Türkiye'de öteki meyvelerde olduğu kadar, sert çekirdekli 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 çekirdekli meyve türlerine ait çeşitlerde pek çok yenilik olmuş, ancak Türkiye'ye bu yeniliklerin pek azı getirilebilmiştir. Bu çerçevede, Türkiye'nin sert çekirdekli meyveler konusunda; 1) değişik ekolojilere uygun anaç ve çeşit, 2) modern ve ismine doğru fidan üretimi, 3) modern fidan yetiştirme teknikleri, 4) muhafaza ve taşıma, 5) entegre savaş konularını hızla ele alması ve bunlara işlerlik kazandırması gerekir (**Kaşka, 2001**).

Sorunların bulunduğu yetiştiricilik aşamasında ilk ele alınması gereken husus, ıslah çalışmalarında gelinen noktadır. Modern ıslah yöntemlerinin uygun yetiştirme teknikleriyle birlikte kullanılması hem verim artışı, hem de istenen özellikleri taşıyan çeşitlerin elde edilmesi gibi sonuçları ortaya çıkarmaktadır. Meyvecilikte, klasik ıslah yöntemleriyle hareket ederek sonuca ulaşmak oldukça zor, zaman alıcı, masraflı ve kimi zaman birkaç araştırmacının birbirini takip eder şekilde çalışmasıyla şekillenebilmektedir.

1990'lı yılların verilerine göre, Dünya'da süs bitkileri, meyve ağaçları, sebze ve geofitlerde *in vitro* çoğaltım yöntemleri kullanılarak 600 milyon bitki elde edilmiştir (**Werbrouck ve Deberg, 1994**). Otsu bitkilere göre, meyvelerin de içerisinde bulunduğu odunsu bitkilerde bu işlem pek gelişmemiştir. Özellikle bu bitkilerin köklendirilmesinde karşılaşılan problemler ve dokularında bulunan polifenolik bileşiklerden dolayı *in vitro* çoğaltmada sorun oluşturmaktadır. Ancak, 1976 yılında Jones elma çeşidine ait sürgünlerin köklendirilme ortamına floroglukinolün ilave edilmesiyle büyük başarı elde edilmiştir (**Hu ve Wang, 1983**). Bu sonuçların elde edilmesiyle birlikte odunsu bitkilerin *in vitro* çoğaltılması yönünden gösterilen çabaları teşvik etmiştir. Bugün *Malus*, *Prunus*, *Pyrus*, *Ribes*, *Rubus* vs. gibi bitkiler başarılı bir şekilde *in vitro* çoğaltılabilmektedir (**Hatipoğlu, 2002**).

Meyve fidanı üretiminde kullanılan geleneksel metot aşılama değildir. Ancak virüsle bulaşık materyallerin kullanılması durumunda bu yöntem ciddi tehlikeler içermektedir. Bu nedenle doku kültürü teknikleriyle *in vitro* çoğaltım yöntemi bir çok meyve türünde sağlıklı materyaller kullanmak suretiyle, yoğun olarak faydalanılmaktadır. Bununla birlikte, kayısının *in vitro* çoğaltımıyla ilgili verilerin, diğer sert çekirdekli meyve türleriyle kıyaslandığı zaman oldukça sınırlı olduğu görülür. Bunda ise en önemli etkenin tür ve hatta çeşit yani kısaca genotip olduğu (**Perez-Tornero ve Burgos, 2000**) tarafından bildirilmektedir.

İşte bu noktadan hareketle, Türkiye’de ve özellikle Malatya ili ve civarında yoğun olarak üretimi yapılan, Dünya kuru kayısı ticaretinde ülkemizin söz sahibi olmasını sağlayan “Hacıhaliloğlu” kayısı çeşidi materyal olarak kullanılmıştır. Bu çeşide ait tohum ve ürün veren ağaçlarından alınan nodal tomurcuk ve sürgün ucu eksplantları için, mikroçoğaltım protokollerinin geliştirilmesi çalışmanın asıl amacı olmuştur. Adı geçen çeşidin *in vitro* tekniklerle çoğaltılmasına yönelik olarak yapılan, ilk çalışma mahiyetindedir. Yerli kayısı çeşitleriyle ilgili gelecekte yapılacak olan *in vitro* araştırmalara öncülük ve temel teşkil etmesi açısından yararlı olacağı kanısındayız.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Kayısı Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Anavatanı ve Tarihçesi

Botanik adı *Prunus armeniaca* L. olan kayısının yayılma alanı Türkistan'dan Batı Çin'e kadar uzanmaktadır. Anavatanları arasında yer alan Anadolu'ya gelişi de bu yollar üzerinden olmuştur (Özbek, 1978). Taksonomik adına bakılarak, başlangıçta anavatanının Ermenistan olduğu düşünülen kayısının, daha sonra yapılan araştırmalarda yayılma alanının, Orta Asya'dan Batı Çin'e kadar uzandığı belirlenmiştir. Bitkilerin gen kaynakları üzerindeki çalışmalarıyla tanınan Vavilov, kültür kayısılarının 3 gen merkezi bulunduğunu bildirmektedir. Bunlar; Çin, Orta Asya ve Yakındoğu Gen Merkezi'dir.

Malatya'nın meyvecilik potansiyelinin Ankara Yüksek Ziraat Enstitüsü müdürü Prof. Dr. W. Gleisberg'in dikkatini çekmesi sonucu, başasistanı olan Lütfi Ülkümen'i 1933 yılında Malatya'ya gönderir. Ülkümen'in buradaki meyve çeşitleri ile meyve üretim alanlarını inceleyerek yaptığı doktora çalışması, 1938 yılında kitap halinde yayınlanır. Bu yayında; 1930'lu yıllarda Malatya'da Hacıhaliloğlu, Hasanbey, Çataloğlu, Hacıkız, Kurukabuk (Gavuraşısı), Koyunoğlu, Osmanonbaşı, Sarılök ve Turfanda adlı kayısı çeşitlerinin bulunduğu bahsedilmektedir.

Ülkümen'in çalışması ile Malatya'nın meyvecilik potansiyeli anlaşıncı 1937 yılında Türk-Alman işbirliği ile bugünkü "Meyvecilik Araştırma Enstitüsü'nün yerinde "Kayısı Üretim İstasyonu" kurulur. Bu tarihten itibaren kontrol altına alınmaya başlayan kayısı yetiştiriciliği gelişmeye başlar. Yoğun çalışmalar sonucunda bölgede yeni kapama meyve bahçeleri tesis edilir, hastalık ve zararlılarla mücadele yaygınlaşır, gübre ve kaliteli fidan kullanımı sonucu üretimde önemli artışlar meydana gelir. 1970'li yıllarda toplam kayısı ağacı varlığının yaklaşık %30'unu oluşturan zerdali (yabani kayısı) ağaçları, bugün 53 bin adet ile %1'in altına düşmüştür (Asma, 2000).

2.1.2. Morfolojik ve Biyolojik Özellikleri

2.1.2.1. Habitüsü

Kayısı ağacı genellikle kuvvetli büyür ve daha çok yayvan bir taç teşkil eder. Taç şekli çeşitlere göre değişmekle birlikte; çok dik, dik yayvan, yayvan veya çok yayvan olabilir. Ağaçlar genellikle 5-6 m kadar yükselirse de, 8-10 m kadar yükselen kuvvetli ağaçlara da çok sık rastlanmaktadır. Ağaçların büyüklüğü; çeşide, yaşına, kullanılan anaca, uygulanan kültürel işlemlere ve toprağın tipine göre değişir.

2.1.2.2. Yaprak Özellikleri

Yapraklar kalp şeklinde, ince dokulu, parlak yeşil ve tüsüzdür. Yaprak kenarları ince dişlidir. Yaprak sapı uzun olup, sapın aya ile birleştiği kısımda 1-4 adet siğil vardır. Yaprak koltuklarında 1-3 adet tomurcuk bulunur. Bunlar saf odun veya çiçek tomurcuklarıdır.

2.1.2.3. Tomurcuk Özellikleri

Kayısı tomurcukları genel olarak küçük olup nadiren 6 – 7 mm büyüklüğündedir. Odun tomurcukları daha zayıf ve uzunca olup yaprak ve sürgün meydana gelir. Çiçek tomurcukları daha iri ve oval şekillidir. Tomurcuklar sürgün üzerinde ikili veya üçlü gruplar halinde bulunur. Üçlü tomurcuklarda genellikle ortada sürgün tomurcuğu, yanlarda ise çiçek tomurcukları bulunur (Asma ve Birhanlı, 2004).

2.1.2.4. Çiçek Özellikleri

Her bir çiçek tomurcuğundan bir adet çiçek meydana gelir. Çiçek tomurcukları saf halde olup, sadece çiçek meydana getirir. Her bir çiçekte 5 çanak yaprağı, 5 taç yaprağı, 20-35 adet erkek organ ve 1 adet dişi organ bulunur. Bazı çiçeklerde 2 dişi organ da görülebilir. Çiçeklerin taç yaprakları, pembemsi beyaz renktedir. Kayısı ağaçlarında çiçeklenme, yapraklanmadan önce olur. Çiçek açma bakımından çeşitler arasında 8-10 gün, yıllar arasında ise, 15-20 gün farklılık bulunabilir. Çiçeklenme süresi, çeşide ve ekolojik şartlara göre değişmekle birlikte, ortalama 5-8 gündür.

2.1.2.5. Meyve ve Tohum Özellikleri

Kayısı meyvesi morfolojik yapı bakımından drupa tipi (eriksi) meyvedir. Meyvenin yenen, tatlı, etli ve sulu olan kısmı yani meyve eti mezokarpın gelişmesiyle meydana gelmiştir. Ekzokarp tabakası meyve kabuğunu, endokarp kısmı da tohumu dıştan saran sert kabuğu oluşturur. Meyvenin şekli, rengi, ağırlığı, iriliği ve tadı çeşitlere göre değişir. Genellikle meyve ağırlığı 30-70 g arasında değişir. Meyve kabuğu düzgün, sarı veya sarı zemin rengi üzerine parçalı pembe veya portakal renkli ve ince yapılıdır. Meyve eti sarı ya da turuncu renkte, yumuşak, şeftali ve eriklere göre daha az sulu; yarma, yarım yarma veya çekirdeğe yapışık durumdadır.

Tohum iriliği çeşide göre değişir. Şekil itibariyle yassı, üzeri az pürüzlü, krem renkli; çeşide göre tatlı veya acıdır. Tohum ağırlığı 2-3 g arasında değişir (Özçağırın ve ark, 2003).

2.1.3. Çoğaltma Yöntemleri

Standart kayısı çeşitlerini, “çeşit özelliklerini” kaybetmeden doğrudan tohumla çoğaltmak mümkün değildir. Aynı bahçede, birçok kayısı çeşidinin bir arada bulunması, “yabancı döllemeyi” artırdığından, ortaya çıkan heterozigoti durumu “tohumla çoğaltma”yı engellemektedir. Bu nedenle kayısı, vejetatif olarak ve özellikle aşı ile çoğaltılır. En fazla kullanılan aşı yöntemi, temmuz veya ağustos aylarında uygulanan “T göz aşısı”dır. Aşı genellikle bir yaşındaki çöğürlere, toprak seviyesinden 10-25 cm yukarıdan olacak şekilde uygulanır. Kayısının aşı ile çoğaltılmasında genellikle kayısı ve zerdali çöğürleri, kısmen de şeftali, erik ve badem anaçları kullanılır. Değişik toprak şartlarına göre, bu anaçlardan birisi tercih edilir. Ayrıca, vejetatif olarak çoğaltılan ve köklendirildikten sonra üzerine aşı yapılan “klonal anaçlar” da kullanılabilir. Bunlar, şeftali x badem melezi anaçlar olarak bilinen GF 557, GF 677 gibi anaçlardır.

Kayısı fidanlarında problem oluşturan ve bu nedenle üretim aşamasında tedbir alınması gereken bir durum da virüstür. Virüsten ari fidan üretimi için, sürgün ucu aşılama yöntemi (turuncgiller için geliştirilen yöntem) kayısıda da uygulanabilmektedir. Bu yöntem; doğal veya *in vitro*da elde edilen 2-3 mm uzunluğundaki sürgün uçlarının anaç üzerine aşılama suretiyle yapılan bir çoğaltma yöntemidir.

2.1.4. Yerli ve Yabancı Kayısı Çeşitleri

Yerli kayısı çeşitleri; Hacıhaliloğlu, Hasanbey, Kabaaşı, Soğancı, Çataloğlu, Çöloğlu, Alyanak, Şalak (Aprikoz), Şekerpare, Tokaloğlu, Şam, Turfanda, İri Bitirgen, İmrahor, Karacabey, Sakıt-2, Mahmudun Eriği, Adilcevaz-5, Turfanda-Eskimalatya, Çekirge-52, Hacıkız, İsmailağa, Ethembey, Kurukabuk, Çiğli (Asma, 2000; Anonim, 1996).

Yabancı kayısı çeşitleri; Paviot, Canino, Thyrinte, Stark Early Orange, Hungarian Best, Cafona, Precoce de Colomer, Polonais, San Castrese, Boccuccia, Wilson Delicious, Luizet, Fracasso, Royal, Perfection, Bebecou, Currot, Bergeron, Castelbrite, Goldrich, Helena, Lorna, Bulida, Improved Flaming, Lambertin No 1, Modesto, Orange Red, Palstein, Patterson, Pisana, Portici, Roxana, Sun Glo, Vitillo (Asma, 2000; Paydaş ve Küden, 2000).

2.1.5. Ekonomik Önemi

Ülkemiz, sahip olduğu değişik iklim ve toprak şartları nedeniyle, meyvecilik açısından çok sayıda tür ve çeşit yetiştirme şansına sahiptir. Türkiye, bugün gerek meyve

tür ve çeşit sayısı, gerekse üretim miktarı bakımından dünyanın önemli “meyve üreticisi” ülkeleri arasında yer almaktadır (**Özçağırın ve ark, 2003**). Dünya yaş ve kuru kayısı üretiminde birinci sırada yer alan Türkiye, gerek kayısı gen kaynakları ve gerekse ekolojik şartlar nedeniyle büyük bir potansiyele sahiptir (**Asma, 2000**). 2005 yılı verilerin göre 2.822.223 ton olan dünya kayısı üretiminin, 370.000 tonu ülkemizde gerçekleşmektedir (**Anonim, 2006**) (Çizelge 1). Bu üretimin %50’si Malatya’da olmak üzere Mersin, Elazığ, Ankara ve Kahramanmaraş illerinde yoğunlaşmıştır. Malatya ve Elazığ illeri dışında yetiştirilen kayısı çeşitleri daha çok taze tüketime yöneliktir. Malatya’da üretilen yaş kayısının yaklaşık %90-95’i kurutularak “ihraç edilmektedir”.

Çizelge 1. Dünya kayısı üretimi (bin ton).

Ülkeler	2000	2001	2002	2003	2004	2005	Ort.	%
Türkiye	579	517	580	499	350	370	482 ¹	17.6
İran	262	283	283	285	285	285	280 ²	10.2
İtalya	201	194	209	108	213	244	195 ³	7.2
İspanya	126	159	119	144	122	133	134	5.0
Fransa	139	103	172	124	156	187	147	5.4
Pakistan	126	125	125	211	215	215	170 ⁴	6.2
Fas	106	120	85	85	85	85	94	3.4
ABD	80	75	82	88	92	82	83	3.0
Çin	88	84	83	82	86	90	85	3.1
Yunanistan	82	68	80	67	96	58	75	2.7
Diğer	964	832	890	1.095	1.082	1.073	989	36.1
Dünya	2.753	2.560	2.708	2.788	2.782	2.822	2.735	100

Kaynak: (**Anonim, 2006**).

Ülkemizde üretilen kuru kayısıların yüksek kalitede olması Türkiye’nin kuru kayısı ihracatındaki önemini artırmaktadır. 2004 yılında Türkiye’den 80 bin ton kuru kayısı ihraç edilmiş ve karşılığında 190 milyon \$ döviz elde edilmiştir (**Asma ve ark, 2005**). Görüldüğü üzere, dünyanın en önemli kayısı üreticisi durumunda olan Türkiye, aynı zamanda en büyük kuru kayısı ihracatı yapan ülkesidir. Yaklaşık olarak 70 ülkeye ihracat yapılmaktadır. Bu ülkeler arasında ABD, Almanya, İngiltere, Fransa, Avustralya, Kanada ve İsrail başta gelen ülkelerdir.

Dünyada üretilen kayısının önemli bir bölümü sofralık olarak tüketilmektedir. Ancak, hasat döneminin kısa olması ve taze meyvenin çabuk bozulması nedeniyle, kayısı

daha çok kurutulularak veya işlenerek değerlendirilmektedir. Kayısı çekirdeklerinin “tatlı” olanları çerez olarak tüketilmekte, acı olanlar ise kozmetik ve ilaç sanayinde kullanılmaktadır.

Kayısı insan sağlığı açısından da önemli bir meyve türüdür. Taze kayısı, özellikle mineral maddelerden potasyum, vitaminlerden ise A vitaminin öncül maddesi olan β -karoten bakımından zengindir. Ayrıca, taze meyvenin çağla döneminde yüksek oranda C vitamini bulunmaktadır (Çizelge 2). Kuru kayısının yaşlanmayı geciktirici, kan yapıcı bir besin olduğu, güzel bir cilt ve saça olumlu etki yaptığı bildirilmektedir. Kayısının sodyum bakımından fakir, potasyum yönünden zengin olması nedeniyle; kalp yetmezliği, hepatit siroz tedavisinde tavsiye edilen bir besin olduğu belirtilmektedir.

Çizelge 2. 100 g taze ve kuru kayısının besin değeri (Yücecan, 1993).

	Taze Kayısı	Kuru Kayısı		Taze Kayısı	Kuru Kayısı
Su (%)	85.3	25	Riboflavin (B ₂ vitamini - mg)	0.04	0.16
Enerji (cal)	51	260	Niasin (mg)	0.6	3.3
Protein (g)	1.0	5	Vitamin C (mg)	10	12
Yağ (g)	0.2	0.5	Kalsiyum (mg)	16	67
Karbonhidrat (g)	12.8	66.5	Demir (mg)	0.5	5.5
Posa (g)	0.6	3	Sodyum (mg)	1	26
Kül (g)	0.7	3	Potasyum (mg)	281	979
A vitamini (β -Karoten - I.U)	2 700	10 900	Fosfor (mg)	23	108
Tiamin (B ₁ vitamini - mg)	0.03	0.01			

Kuru kayısının beslenme ve sağlık açısından en önemli bileşiklerinden birisi de diyet lifidir. Kuru kayısının 100 g’da yaklaşık 24 g diyet lifi bulunur. Yetişkin bir insanın günlük diyet lifi gereksinimi ise 25 g’dır. Sindirim sistemimizde salgılanan enzimler tarafından hidrolizlenemeyen polisakkarit ve lignin gibi bileşiklerden oluşmaktadır. Diyet lifi; kabızlık, apandisit, hemoroid, diş hastalıkları, şişmanlık, şeker hastalığı, kronik kalp hastalıkları gibi hastalıkların oluşum riskini azaltmakta ve bağırsakların düzenli çalışmasını sağlamaktadır.

2.2. Tez Konusunun Orijinalliği ve Getireceği Yenilikler

Kayısı ülkemizde yaygın olarak üretilen, tüketimi ve ihracatı da oldukça fazla olan bir meyve türüdür. Bu çalışma, Malatya’da yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan “*Hacıhaliloğlu*” çeşidinin *in vitro* tekniklerle çoğaltılmasına yönelik olarak yapılan ilk

çalışma mahiyetindedir. Yerli kayısı çeşitleriyle ilgili gelecekte yapılacak olan *in vitro* araştırmalara (kallus, süspansiyon, anter ve protoplast kültürleri ve somatik hibridizasyon) temel teşkil etmesi bakımından yararlı olacağı kanısındayız.

Bu suretle kayısının virüssüz fidanlarının kendisinin ayrıca bir çoğaltma şekli olmasıyla birlikte; *in vitro* teknikler yoluyla geliştirilmeye çalışılacak yöntemlerle de, kaliteli, hızlı ve pratik anlamda kayısı fidanı üretimi için yeni bir çoğaltma metodu ortaya konulabilecektir.

2.3. Kayısı ve Diğer Sert Çekirdekli Meyvelerle İlgili Yapılan *In Vitro* Rejenerasyon ve Mikroçoğaltım Çalışmaları

Kayısı, kiraz, vişne, erik, şeftali ve nektarin gibi sert çekirdekli meyve çeşitlerinin ve anaçlarının *in vitro* rejenerasyon ve mikroçoğaltım sistemlerinin geliştirilebilmesi için çok sayıda çalışma yapılmış bulunmaktadır. Genellikle bitkilerin sürgün ucu, lateral tomurcuk, yaprak gibi vejetatif ve tohum gibi generatif kısımlarının başlangıç materyali olarak kullanıldığı çalışmalarla ilgili geliştirilen yöntemler ve metodlar bir çizelgeyle birlikte özet halinde verilmeye çalışılmıştır (Çizelge 3).

Perez-Tornero ve ark. (2000), İspanya'nın Murcia yöresinde 12 yaşındaki "Canino" kayısı çeşidinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili yaptıkları çalışmada; farklı besi ortamlarının ve sitokinin konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi incelenmiştir. Sterilizasyon için dinlenme halindeki tomurcuklar %20 NaOCl (Domestos) solusyonu içerisinde 20 dakika bekletilmiş, bundan sonra 3 defa steril saf su içerisinde sterilantın etkisi giderilmiştir. Besi ortamı olarak WP kullanıldığı zaman daha sağlıklı ve daha yeşil sürgünlerden oluşan uygun bir proliferasyon elde edilmiştir. Kullanılan diğer besi ortamlarından biri olan MS ile elde edilen sürgün sayısı 2.79 adet, ortalama sürgün uzunluğu 12.4 mm ve verimlilik (sürgün sayısı x sürgün uzunluğu) ise 32.01 olarak bulunmuştur. Sürgün proliferasyonu için BA konsantrasyonunun 0.5-0.6 mg^l⁻¹ olarak belirlendiği çalışmada, kök gelişimi ve sürgün başına kök sayısı bakımından IBA ve NAA arasında farklılık görülmemiş olup, aynı oranda teşvik ettikleri görülmüştür. En iyi köklenme oranı %93 ile 2 mg^l⁻¹ NAA konsantrasyonundan sağlanırken, sürgün başına düşen kök sayısı bakımından 6 mg^l⁻¹ IBA konsantrasyonundan 5.3 adet kök elde edilmiştir.

Perez-Tornero ve Burgos (2000), Kaliforniya'nın Fresno yöresinde bulunan Bahçe Bitkileri Araştırma Laboratuvarının ıslah koleksiyonundaki "Helena" ve "Lorna"

kayısı çeşitlerinin *in vitro* koşullarda proliferasyon, köklenme ve aklimatizasyonu süresince gerekli isteklerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada başlangıç materyali olarak sürgün ucu kullanmış; besi ortamı tipinin ve BA konsantrasyonu etkisinin büyük oranda çeşide bağlı olduğunu tespit etmişlerdir. “Lorna” en verimli çeşit, “Bulida” en uzun sürgün veren çeşit, “Currot” en fazla sürgün veren çeşit olarak bulunmuştur (Çizelge 4). QL besi ortamı bütün çeşitler için en verimli besi ortamı olmuştur.

Çizelge 4. Farklı kayısı çeşitlerinin MS besi ortamındaki ortalama sürgün sayısı, Ortalama sürgün uzunluğu ve verimlilik.

Çeşit Adı	Ort.Sürgün Sayısı	Ort. Sürgün Uzunluğu (mm)	Verimlilik (mm)
Bulida	0.00	0.00	0.00
Currot	2.10	11.95	21.52
Helena	2.75	13.69	34.83
Lorna	3.29	12.33	38.58

Sürgün sayısı bakımından “Bulida, Helena, Lorna” çeşitlerinde 1 mg⁻¹ BA konsantrasyonu en iyi sonucu vermiştir. Çalışmada gerçekleştirilen bütün köklenme deneylerinin sonuçlarına göre; Helena çeşidi %60, Lorna çeşidi %60.3, Canino çeşidinde %73.5 köklenme elde edilmiştir. Mikro çoğaltılan sürgünlerin köklenmesinde bir problem olmamasına rağmen, köklenme ortamındaki sürgünlerde karşılaşılan yüksek orandaki sürgün ucu sararması (apikal nekrozis) nedeniyle çeşitli uygulamalar yapılmıştır. Aklimatizasyon aşamasında ise, 1:1 oranında turba ve perlit kullanarak uygun koşullarda yaklaşık olarak “Helena” çeşidinde %71, “Lorna” çeşidinde %82 oranında bitkinin aklimatizasyonu gerçekleştirilmiştir.

Marino ve ark. (1991) tarafından yapılan çalışmada; İtalya’nın en iyi iki çeşidi olan “San Castrese” ve “Portici” kayısı çeşitlerinin *in vitro* çoğaltımı üzerine sukroz ve sorbitol gibi temel karbon kaynaklarının ve hormonların etkisi incelenmiştir. MS besi ortamının kullanıldığı çalışmada “San Castrese ve Portici” çeşitlerinin mikroçoğaltımı için protokol oluşturulmuştur. Proliferasyon için 0.5 – 2 mg⁻¹ BA’nın etkili olduğu ve bu ortamlarda sukroz kullanılmasının gerektiği ortaya çıkmıştır. Ancak, ortamda sorbitol kullanılmasıyla lateral sürgün gelişiminin arttığı tespit edilmiştir. Elde edilen sürgünlerin köklenmesi için yapılan deneyler sonucunda IBA’nın (0.5 – 2.5 mg⁻¹) konsantrasyonlarının uygun olduğu görülmüş; “Portici” çeşidinde %60, “San Castrese”

çeşidinde ise %80 oranında köklenme elde edilmiştir. Köklenme ortamları için sukrozun gerekli olduğu, ancak sorbitol kullanımının köklenmeyi teşvik etmediği ve bitkilerin köklendikten sonra yaşama oranlarını azalttığı görülmüştür.

Perez-Tornero ve ark. (1999 a), İspanya'nın Murcia yöresinde bulunan "Canino", "Currot", "Bulida" ve "Bergeron" kayısı çeşitlerinin meristem ucu kültürü yoluyla *in vitro* koşullarda mikroçoğaltım yapabilecek şekilde sürgün elde etmek üzere farklı hormonlar ve bunların konsantrasyonları üzerine yapılan çalışmada; meristemlerden kültür başlatmak için uygun zaman ve tomurcuk dormansı arasındaki ilişki incelenmiştir. Kullanılan meristem uçlarının sterilizasyonu için etken madde oranı %0.8 olan domestos (ticari NaOCl) içerisinde 20 dakika bekletilmiştir. QL (**Quoirin ve Lepoivre, 1977**) besi ortamı olarak kullanılmış, Kasım ayından Şubat ayına kadar beş farklı sezonda materyal temin edilmiş ve denemede "Canino" ve "Currot" gibi iki çeşit yer almıştır. BA konsantrasyonunun $0.5 - 1 \text{ mg l}^{-1}$ olarak kullanıldığı zaman en uzun sürgünler elde edilmiştir. Ortama GA_3 ilave edildiği zaman yaşayan sürgün oranında azalmanın olduğu tespit edilmiş ve proliferasyon ortamlarında GA_3 kullanımının uygun olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

Perez-Tornero ve ark. (1999 b), İspanya'nın Murcia yöresinde bulunan 12 yaşındaki dört farklı kayısı (Canino, Currot, Bulida, Bergeron) çeşidinin meristem ucu kültürü yoluyla *in vitro* sürgün rejenerasyonunu sağlamak için bitki büyüme düzenleyicilerin optimum oranını belirlemek ve meristemlerden itibaren kültür başlatabilmek için uygun zamanı belirlemek amacıyla bu çalışma yapılmıştır. 2-3 nodlu sürgünler %20 NaOCl (Domestos) içerisinde 20 dakika bekletilerek sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bütün deneylerde besi ortamı olarak QL kullanılmıştır. Çalışma sonucunda; kültür ortamında GA_3 bulunmaksızın ve BA'nın ise $0.5 - 2 \text{ mg l}^{-1}$ seviyelerinde olması yaşayan meristem oranını arttırmıştır. BA konsantrasyonunun $0.5 - 1 \text{ mg l}^{-1}$ olduğu ortama 2-4 hafta sonra $2-4 \text{ mg l}^{-1}$ GA_3 ilave edilmesiyle sürgün uzamasının teşvik edildiği görülmüştür. Bununla birlikte farklı hormon kombinasyonlarının her bir çeşit için ayrı ayrı denenmesi sonucu genotipler arasında büyük farklılıkların ortaya çıktığı bildirilmiştir.

Perez-Tornero ve ark. (1999 c), "Helena" kayısı çeşidinin *in vitro* koşullarda en düşük gelişme şartlarında muhafazası üzerine yapılan çalışmada; yine *in vitro*dan elde edilen sürgün ucu kullanarak; besi ortamında %0.6 agar, %3 sukroz, 0.4 mg l^{-1} BA ve 0.04

mg l^{-1} IBA kullanılmış ve 3 farklı sıcaklık ve karanlık ortamda 24 hafta süresince muhafaza edilmiştir. Daha sonra buradan çıkarılan sürgünlerin miktarı ve uzunluk ölçümlerinin yapıldığı bildirilmiştir. 2-6 haftada bir yapılan alt kültürler yoluyla 3-12 ay süreyle *in vitro* koşullarda materyalin muhafaza edilebileceği ve bu durumun farklı amaçlar için kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Perez-Tornero ve ark. (2000), Kaliforniya'nın Fresno yöresinde bulunan Bahçe Bitkileri Araştırma Laboratuvarının ıslah koleksiyonundaki bazı kayısı (Bulida, Helena, Lorna, Canino) çeşitlerinin yapraklarından itibaren *in vitro* rejenerasyonunun geliştirilmesi için yapılmış olan çalışmada en iyi sonuç TDZ bulunan ortamdan alınmıştır. Bu çalışma ile, *in vitro* şartlarda çoğaltılmış olgun kayısı eksplantlarından sürgün rejenerasyonu ve tomurcuk üretiminin teşvik edilmesi için gerekli koşulların optimize edilmesi amaçlanmıştır. Besi ortamı olarak QL kullanılmış, kültür ortamında gelişmiş 3 haftalık sürgünlerin yaprakları deney materyalini oluşturmuştur. Sürgün üretimi için kullanılan besi ortamı ise; 0.7 mg l^{-1} BAP ve 0.04 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiştir.

Perez-Tornero ve ark. (2001), Kaliforniya'nın Fresno yöresinde bulunan Bahçe Bitkileri Araştırma Laboratuvarının ıslah koleksiyonundaki "Helena" ve "Lorna" kayısı çeşitlerinin *in vitro* çoğaltımı süresince hiperhidrisitin düzeltilmesi ve kontrol altına alınabilmesi için etkili olan faktörler üzerine yapılan çalışmada yaz gelişme peryodundaki yumuşak odun çeliklerinde bulunan nodal tomurcukları kullanarak; "Helena" çeşidi için QL besi ortamı ve 0.7 mg l^{-1} BA, "Lorna" çeşidi için ise modifiye WPM besi ortamı ve 0.6 mg l^{-1} BA kullanılmış olup, her iki çeşit için de 0.04 mg l^{-1} IBA ilave edilmiştir. 3 haftada bir altkültür yapılmış, eksplant başına düşen sürgün sayısı, sürgün uzunlukları ve verimlilik (Sürgün Sayısı x Sürgün Uzunluğu) değerleri ölçülmüştür.

Escalettes ve Dosba (1993), Fransa'daki Meyvecilik Araştırma Enstitüsü'nde bulunan farklı *prunus* klonlarının *in vitro* koşullardaki proliferasyonlarını optimize etmek için yaptıkları çalışmada; kayısı klonu H-152 için besi ortam olarak QL, H-146 kayısı klonu ve P-1869 hibrit erik klonu için ise $\frac{1}{2}$ MS besi ortamı kullanılmıştır. Hormon olarak, TDZ ve bunun NAA ile kombinasyonları denenmiş ve sonuçların büyük oranda klonlara bağlı olarak değiştiği görülmüştür. Rejenerasyon ortamlarına ilave edilen AgNO_3 ise; %10-41 arasında rejenerasyonu teşvik etmiş ve etkisinin bütün klonlarda 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 da 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 ya etkisi üzerinde durulmuştur. Yapılan çalışma sonucunda aşılama da en iyi sonuç *in vitro* elde edilen sürgünler ile sağlandığı bildirilmiştir. *In vitro* gelişen sürgünler için (**Deogratias ve ark, 1989**) tarafından vişne için geliştirilen MB2 besi ortamı kullanılmıştır.

Kramarenko (1999), tarafından *in vitro* çoğaltılan bitkilerin arazi performanslarını belirlemek için yapılan çalışmada; ayrıca kayısının çoğaltımında etkili bir mikroçoğaltım metodu geliştirilmeye çalışılmıştır. Başlangıçta kullanılan kayısı ağaçları 7-16 yaşları arasında yer almış ve kültür başlatma materyali olarak 2-4 çift yaprak taslağı içeren meristemler kullanılmıştır. Elde edilen mikroçelikler ile altkültürler yapılarak, her mikroçelikten 4-8 adet sürgün elde edilmiş ve yaklaşık 3-4 alt kültürden sonra her mikroçelikten ortalama 20 adet sürgün elde edildiği bildirilmiştir. Tam MS’ten oluşan besi ortamında 1 mg l^{-1} BAP kullanılmış olup, köklenme ortamı için IBA’nın farklı konsantrasyonları yer almıştır. Köklenmenin %70 oranında elde edildiği çalışmada, köklendikten sonra aklimatizasyonu yapılan bitkilerdeki yaşama oranı %70-80 arasında olmuştur.

Pennone (1999), İtalya’da Roma Meyvecilik Araştırma Enstitüsü “Bebecou” kayısı çeşidinin *in vitro* olarak çoğaltıldıktan sonra arazi koşullarındaki durumunu incelemek amacıyla yapılan çalışmada; hem normal aşılama suretiyle çoğaltılan fidanların hem de *in vitro* çoğaltılan fidanların durumu karşılaştırılmıştır. Aşılama ile üretilen fidanlara göre daha düşük gelişme görülen mikroçoğaltılmış fidanlardaki ürün etkinliğinin (gr/cm^2) ilerleyen verim yıllarında daha iyi olduğu bildirilmiştir. Her iki yöntem ile çoğaltılan fidanların meyvelerinde morfolojik ve pomolojik olarak bir farklılık görülmemiştir.

Burgos ve Albuquerque (2003), Kaliforniya’daki Fresno Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü İslah Koleksiyonunda bulunan “Helena ve Canino” kayısı çeşitlerinin

yapraklarından rejenerasyonu için yapılan çalışmada; jellerin, besi ortamlarının, etilen inhibitörlerinin ve farklı antibiyotiklerin etkisi üzerine deneyler yapılmıştır. “Helena” çeşidinde Ortam-B’de %44 oranında en iyi yapraktan rejenerasyon sağlanmış ve yaprak başına 2.4 adet sürgün elde edilmiştir. “Canino” çeşidinde ise, (Perez-Tornero ve ark, 2000) tarafından belirlenen M2 besi ortamında %51.4 oranında en iyi rejenerasyon sağlanmış ve yaprak başına 1.4 adet sürgün elde edilmiştir. Ayrıca “Helena” çeşidinde rejenerasyon ortamına ilave edilen kanamisinin düşük konsantrasyonlarının ($6.16 - 12.32 \text{ mg l}^{-1}$) etkili olmadığı, yüksek konsantrasyonlarının ise ($18.4 - 24.5 \text{ mg l}^{-1}$) eksplantların sararması ve ölümüne neden olduğu görülmüştür. Kullanılan jel maddeleri bakımından “Canino” çeşidinde bir farklılık görülmezken, “Helena” çeşidinde çift sürgün oluşumunda saf agarın etkili olduğu görülmüştür. Yine bu çeşitte kullanılan antibiyotiklerin rejenerasyona etkisi bakımından en iyi sonuç %61.4 ile Vancomycin’den elde edilmiştir. Yaprak başına düşen sürgün sayısı bakımından ise Cefataxime’nin en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir.

Marino ve ark. (1993), tarafından “San Castrese ve Portici” kayısı çeşitlerinin *in vitro* proliferasyon ve köklenme kapasiteleri üzerine modifiye MS besi ortamına ilave edilen çeşitli büyüme düzenleyicilerin ve sukroz ve sorbitol gibi temel enerji kaynaklarının etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; sorbitol bulunan ve BA ile destekli besi ortamının iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Ancak 2 mg l^{-1} BA ile birlikte sukrozun kullanıldığı besi ortamlarında hiperhidrisitin ortaya çıktığı görülmüştür. Köklenme ortamlarında sorbitol kullanıldığı zaman ise düşük bir köklenme oranıyla birlikte kısa ve zayıf kökler meydana gelmiştir. Fakat IBA ile desteklenmiş ve sukrozun kullanıldığı köklenme ortamlarında %70 oranında aklimatize edilebilecek bitki elde edildiği bildirilmiştir.

Balla ve Vertesy (2001), tarafından Macaristan’ın da içinde bulunduğu Avrupa ülkelerinde yaygın bir şekilde problem olan Sharka virüsüne karşı *in vivo* olarak alınan çoğaltım tedbirlerine hem destekleyici hem de alternatif olarak, yerli kayısı çeşitleri için steril bir *in vitro* çoğaltım metodu geliştirilmeye çalışılmıştır. Kültür başlatma amacıyla ağaçların aktif gelişme dönemindeki sürgün uçları kullanılmış ve her 3 haftada bir taze besi ortamlarında alt kültüre alınmışlardır. Kültür başlatma çalışmalarından 3-4 ay gibi bir süre sonra seri deneyler yapılabilir hale gelmiştir. Yaklaşık 20 mm uzunluğundaki sürgünlerin köklenmesi için IBA ile destekli $\frac{1}{2}$ MS besi ortamı hazırlanmış ve köklenen bitkilerin aklimatizasyon çalışmaları yapılmıştır. Böylece farklı kayısı çeşitleri için geliştirilen

mikroçoğaltım metodu sayesinde hem *in vitro* termoterapi çalışmaları hem de virüsten arı fidan üretimi için temel bir rejenerasyon sisteminin optimize edildiği bildirilmiştir.

Harada ve Murai (1996), Japon kayısının *in vitro* mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yaptıkları çalışmada; materyal olarak aksiler (lateral, nodal) tomurcuklar kullanılmıştır. Besi ortamı olarak WPM'nin kullanıldığı ve $0.22 - 1.1 \text{ mg l}^{-1}$ BA ile desteklenip, %3 sorbitol ve %0.5-0.7 oranında agar kullanıldığı bildirilmiştir. Çalışmada farklı karbon kaynaklarının (sukroz, glikoz, fruktoz, sorbitol) sürgün proliferasyonuna etkisi incelenmiş olup, en iyi sonucu glikoz şekerinin verdiği, sukrozun kullanıldığı durumlarda yaprak sararmasına (nekrozis) rastlandığı ve sürgünlerin kademeli olarak öldüğü görülmüştür. Elde edilen sürgünlerin köklenmesiyle ilgili çalışmalarda en iyi sonucu 0.2 mg l^{-1} NAA vermiştir. Köklenen bitkilerin aklimatizasyonu çalışmasında hayatta kalma oranının %20-30 olduğu kaydedilmiştir.

Murai ve ark. (1996), 3 farklı Japon kayısı (Ichinotani, Hakubotan ve Yae-bungo) çeşidinin *in vitro* sürgün proliferasyonu ve köklenmesiyle ilgili mikroçoğaltım durumlarının belirlenmesiyle ilgili çalışmada, sürgün proliferasyonu ve uzaması bakımından en etkili sitokininin $1-2 \text{ mg l}^{-1}$ BA olduğu bildirilmiştir. Zeatinin yalnız başına proliferasyonda etkili olmadığı, ancak BA ile birlikte kullanıldığı zaman sürgün uzamasını teşvik ettiği görülmüştür. Bütün çeşitler için de kültürlerin hayatta kalma oranı bakımından benzer sonuçlar elde edilmiş olup, en iyi sonucu sorbitol vermiştir. Ayrıca, proliferasyon bakımından sorbitol, sürgün uzaması bakımından glikoz en etkili şeker tipleri olmuştur. Köklenmeyle ilgili çalışmalarda en iyi sonucu "Ichinotani" çeşiti vermiş ve 0.2 mg l^{-1} IBA konsantrasyonu ile 10 günlük karanlıkta bekletme uygulamasıyla birlikte köklenme oranı ve eksplant başına düşen kök sayısı bakımından etkili olduğu bildirilmiştir.

Murai ve ark. (1997), "Bakuoh junkyou" kayısı çeşidinin ağaçlarından dinlenme döneminde (dormant) alınan meristem uçlarının kullanılmasıyla yapılan *in vitro* çoğaltım çalışmasında 1mm uzunluğundaki sürgün ucu kullanılmıştır. Temel besin ortamları (WP, MS, B5 ve $\frac{1}{2}$ MS) ve sitokininlerle ilgili olarak yapılan deneylerde; sürgün uzaması ve hayatta kalma oranı bakımından BA ve CPPU ile desteklenmiş WP besin ortamının iyi olduğu görülmüştür. Sürgün proliferasyonu için kullanılan BA, zeatin ve 2-İP sitokininlerinden en etkilisinin BA olduğu; ancak sürgün uzaması için zeatin ve 2-İP'in daha etkili olduğu bildirilmiştir. Köklenme çalışmalarında ise IBA kullanılmadan

köklenmenin olmadığı, optimum IBA konsantrasyonunun 0.4 mg^l⁻¹ olduğu bildirilmiştir.

Petri ve ark. (2005 a), Kaliforniya'daki Fresno Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü Islah Koleksiyonu'nda bulunan "Helena" kayısı çeşidinin *Agrobacterium* yoluyla transforme olmuş yaprak dokularının ve normal kayısı yapraklarının rejenerasyonu üzerine etilen inhibitörlerinin ve poliaminlerin (spermidin, putresin, spermin) etkisi ve bunlar arasındaki interaksiyon belirlenmeye çalışılmıştır. 2 mg^l⁻¹ 2,4 D konsantrasyonundan en iyi sonuç alınmış olup, %68.6 oranında rejenerasyon sağlanmış ve eksplant başına 2 adet tomurcuğun elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmada kullanılan poliaminlerin rejenerasyon bakımından etkili olmadığı görülmüştür. Putresin ile birlikte gümüşsülfat (Ag₂SO₄) kullanıldığı zaman zararlı ve öldürücü bir etkinin olduğu ortaya çıkmıştır.

Petri ve ark. (2005 b), Kaliforniya'daki Fresno Bahçe Bitkileri Araştırma Enstitüsü Islah Koleksiyonunda bulunan "Helena" kayısı çeşidinin başlangıç materyali olarak kullanıldığı çalışmada; gen transferi yapılmış yaprak dokularının ve yaprakların rejenerasyonu için antibiyotiklerin etkisi incelenmiştir. Etkili bir rejenerasyon sisteminin optimize edilmesinin önemli olduğu, aksi taktirde elde edilen transforme materyallerden faydalanmanın mümkün olmadığı bildirilmiştir. "Helena" çeşidinin kullanıldığı deneylerde materyaller 3 haftada bir altkültüre alınmıştır. Besi ortamında QL makroelementleri, DKW (**Driver and Kuniyuki, 1984**) mikroelementleri kullanılmıştır. Sürgün çoğaltımı için 2 mg^l⁻¹ TDZ, 0.75 mg^l⁻¹ NAA, 18.7 mg^l⁻¹ gümüşsülfat'tan yararlanılmıştır. Antibiyotik deneyleri için paromycin, streptomycin ve geneticin kullanılmıştır. Bunlardan streptomycin ve paromycin konsantrasyonları arttıkça rejenerasyon oranının düştüğü görülmüş olup, geneticin'in ise kayısı yapraklarında toksik etki yaptığı ve bütün konsantrasyonlarının rejenerasyonu engellediği bildirilmiştir.

Srinivasan ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmanın mikroçoğaltım ile ilgili kısmında; sert çekirdekli grubunda genellikle anaç üretimi ve virüsten ari bitki üretimi için mikroçoğaltımın yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Eksplant olarak sürgün ucu, nodal (lateral) tomurcuklardan faydalandığı ve bir çok anaç çeşidinin (Isthara, GF-677, Penta, Tetra vs.) ticari olarak bu yöntemlerle çoğaltıldığı tespit edilmiştir. Sürgün proliferasyonu amacıyla genellikle sitokinin olarak BA ve besi ortamı olarak tür bazında değişmekle birlikte genellikle MS'in kullanıldığı bildirilmiştir. Bazı kayısı çeşitlerine ait mikroçoğaltımın modifiye WPM'de gerçekleştirildiği, proliferasyon ortamında 0.5 mg^l⁻¹

BA, köklenme ortamında 2 mg l^{-1} NAA kullanılarak %92.8 oranında köklenme gerçekleştirildiği bildirilmiştir.

Paris ve ark. (2004), olgun ve yaşlı dokuların uygun metodlarla rejenerasyonlarının gen transfer teknolojisi bakımından oldukça önemli bir husus olduğu noktasından hareketle yapılan çalışmada; bazı kayısı çeşitlerinin tohum, yaprak, petiyol, internod, kök, çiçek taç yaprağı ve erkek organlarının *in vitro* rejenerasyon durumları incelenmiştir. Çeşitli oksin ve sitokinler kullanılarak direkt veya indirekt organogenezis oldukça etkili olarak elde edilmiştir.

Andreu ve Marin (2005), “Adesoto 101” isimli *Prunus* (sert çekirdekli) anacının *in vitro* çoğaltımı amacıyla kullanılan eksplant kaynağının (mikroçoğaltılan, ağaçlardan alınan çelikler) ve kültür ortamı bileşiminin etkisini belirlemek amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Nodal tomurcukların sterilizasyonu için %0.05 etken madde içeren HgCl_2 (Civa Klorit) içerisinde 15 dakika uygulama yapılmış ve daha sonra 3 defa steril saf su ile çalkalanmıştır. Tek nodlu (nodal veya lateral tomurcuk) eksplantlar kullanılarak 3 farklı besi ortamı (MS, WP, QL) 1.12 mg l^{-1} BA, 0.1 mg l^{-1} IBA, 30 gr/l sukroz ve 7 gr/l agar ile desteklenmiştir. Kültür başlatma çalışmasında mikroçoğaltılan sürgünlerle kültür başlatmanın daha iyi olduğu, ortam bakımından ise WP’de %63.9 oranında en yüksek başarı elde edildiği ve bunlarda yaşama oranının %94.5 olarak gerçekleştiği bildirilmiştir.

Pinker (1995), odunsu bitkiler içerisinde yer alan bazı *Prunus* (sert çekirdekli) türlerinin *in vitro* sürgün üretiminde ışıklandırma periyodunun etkisini belirlemek üzere yapılan çalışmada 3 farklı ışıklandırma süresi (a) 16 saat ışık – 8 saat karanlık, b) 8 saat ışık – 16 saat karanlık, c) 8 saat ışık – 4 saat karanlık – 8 saat ışık – 4 saat karanlık) denenmiştir. Elde ettikleri bulgulara göre, kısa gün koşullarının (b) ve özellikle bir gün içerisinde 2 periyot halinde geçen (c) uygulamasının sürgün proliferasyonu, dallanma ve lateral tomurcuk oluşumunu önemli oranda teşvik ettiği görülmüştür.

Knapp ve ark. (1998), Rosaceae familyası içerisine giren meyve ağaçlarında *in vitro* mikroçoğaltım yoluyla virüs belirleme çalışmasında kullanılmak üzere üretim yapılmıştır. Bu amaçla hazırlanan besi ortamının MS’den oluştuğu, 0.36 mg l^{-1} BAP ve 0.01 mg l^{-1} IBA ile desteklendiği bildirilmiştir. Başlangıç materyali olarak, sağlıklı bitkilerden alınan meristem uçları kullanılmıştır.

Druart (1991), erik türlerinin ıslahında ve çeşit geliştirme çalışmalarında *in vitro* kültürlerin potansiyeli ile ilgili olarak bir derleme yapılmıştır. Sağlıklı (virüsten ari) ve hızlı bitki üretimi amacıyla meristem kültürünün önemli olduğu, mikroçoğaltım çalışmalarının erik ile ilgili olarak yoğun bir şekilde yapıldığı ve bir çok çeşitte gerçekleştirildiğini ve bu işlem için *in vitro* elde edilen mikro çeliklerin kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca bazı *in vitro* seleksiyon çalışmaları için de, özelde erik türünde genelde ise Rosaceae familyasında büyük ilerlemeler kaydedildiği görüşü ortaya çıkmıştır.

Morini ve ark. (1991), arazi koşullarında seleksiyon çalışması sonucu elde edilen bazı erik klonlarının (Mr. S. 1/4, 1/6, 1/8, 1/3, 1/7, 1/14, 2/3) *in vitro* çoğaltım durumlarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, ağaçlardan alınan 1-1.5 cm uzunluğundaki sürgünler kullanılmıştır. Sürgün uçlarının (1-1.5 cm) sterilizasyonu için %15 NaOCl içerisinde 15 dakika bekletilme işlemi uygulanmış ve daha sonra 2 defa steril saf suda çalkalanmıştır. Modifiye MS besi ortamı kullanılarak önce 2 hafta süreyle hormonsuz ortamda ön kültüre alınan ve oradan elde edilen sağlıklı sürgünler deneme kapsamında kullanılmıştır. Besi ortamı 0.4 mg l^{-1} BAP, 0.15 mg l^{-1} GA₃ ve 0.08 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiş ve 2 haftalık periyotlarla 3 altkültür yapılmıştır. Elde edilen sürgünler 3 kategoride (1 cm'den küçük olanlar, 1-2 cm arasında olanlar, 2 cm'den daha uzun olanlar) incelenmiş ve 45 günlük kültür periyodundan sonra eksplant başına düşen sürgün sayısı en iyi 83.3 adet ile Mr. S. 1/4 klonundan elde edilmiştir. Ortaya çıkan sürgünlerin köklenmesi amacıyla besi ortamı 0.5 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiş ve 25 gün sonra gözlem ve ölçümler yapılmıştır. En iyi köklenme oranları %62.2 – 83.3 arasında değişmiş olup, en iyi sonucu Mr.S. 1/6 klonu verirken; ortalama kök sayısı bakımından 4.8 adet kök ile yine aynı klonun en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir.

Fortuna ve ark. (1996), mikroçoğaltım yoluyla elde edilen erik ve elma klonlarının saksıya transferi ve oradan araziye aklimatizasyonu süresince bazı gübreleme (fosfor) uygulamalarının ve mikoriza'nın sürgün ucu gelişimine olan etkisini incelemek üzere yapılan çalışmada; erik (Mr.S.2/5 klonu) ve elma (MM 106) kullanılmıştır. Erik klonunun sürgün çoğaltımı için MS besi ortamı, köklenme ortamına alınan sürgünler için ise 1/2 MS besi ortamı ve 0.4 mg l^{-1} IBA kullanılmıştır. Köklenme ortamına aktarıldıktan 3 hafta sonra Mr.S.2/5'e ait 1-2 cm uzunluğunda 3-5 adet köke sahip bitkiler saksılara transfer edilmiştir. Uygulanan fosfor gübresinin ve mikorizanın bitkilerin hayatta kalma

oranını etkilemediği görülmüş, ancak 2. aydan itibaren düşük oranda gübre uygulanan bitkilerde sürgün gelişiminin düşük olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta, fidanlık koşullarında sürgün gelişiminden iyi sonuç almak için Mikorizal uygulamaların ve gübrelemenin gerekli olduğu bildirilmiştir.

Yancheva (2002), “Stanley” erik çeşidinin sağlıklı bitkilerinden alınan sürgünlerin *in vitro* koşullarda çoğaltılmasıyla ilgili yapılan çalışmada, MS ve B5 gibi iki farklı temel besi ortamının ve TDZ’nin farklı konsantrasyonları ($1.1 - 3.3 - 6.6 \text{ mg l}^{-1}$) deneme kapsamına alınmıştır. TDZ’nin 1.1 mg l^{-1} ’lik konsantrasyonu ile desteklenmiş MS besi ortamında %100 sürgün gelişimi teşvik edilmiş olup, B5 besi ortamında 6.6 mg l^{-1} TDZ kullanılarak ancak %87 oranında sürgün gelişiminin olduğu bildirilmiştir.

Nowak ve Miczynski (1996), “Wegierka Zwycla” erik çeşidinin *in vitro* elde edilen sürgünlerinden alınan yaprakların rejenerasyon kapasitesi üzerine TDZ ile desteklenmiş MS besi ortamına 3 farklı sitokininin farklı konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Rejenerasyon bakımından en uygun kombinasyonun TDZ 1.65 mg l^{-1} ve 0.2 mg l^{-1} 2,4 D olduğu tespit edilmiştir. TDZ içeren besi ortamını, farklı IBA konsantrasyonları ile desteklemenin önemli olmadığı bildirilmiştir.

Ambrozic Turk ve ark. (1992), kayısı için anaç olarak kullanılabilecek “Bistrica” erik ekotipinin *in vitro* koşullarda hızlı çoğaltımı için metot geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada MS besi ortamının kullanıldığı bildirilmiştir. Besi ortamı 0.25 mg l^{-1} BAP ve 0.1 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiş ve bu ortamın en iyi sürgün proliferasyonunu gerçekleştirdiği tespit edilmiştir. Çalışmanın ilerleyen aşamalarında besi ortamına $0.1 - 0.05 \text{ mg l}^{-1}$ GA₃ ilave edilmiş, fakat hem proliferasyonu hem de sürgün uzamasını teşvik etmediği görülmüştür. 2-İP ilave edilen ortamda hemen hemen hiç proliferasyon görülmemiş, ancak bu ortamdan çıkan sürgünlerin aklimatizasyondan sonra daha iyi oldukları bildirilmiştir.

Gentile ve ark. (2002), Roma Meyvecilik Araştırma Enstitüsü koleksiyon bahçesinde bulunan 6 yaşındaki şeftali ağaçları kullanılarak *in vitro* sürgün rejenerasyonunun gerçekleştirilmesi amacıyla yapılan çalışmada; “Babygold-62, Yumyeong, San Giorgio, 842 Standard” çeşitlerinin tomurcukları ve “Chiripa” çeşidinden açık tozlamayla elde edilen P16C15’in olgun tohumlarından oluşan sürgünler başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Denemede 3 eksplant tipi kullanılmış olup bunlar; a)

Tomurcukların kültürüyle elde edilen 3 haftalık sürgünlerden alınan yapraklar. b) Sürgün apeksleri, c) Ağaçlardan alınan sürgünlerdeki yapraklar. Besi ortamı olarak MS ve QL'nin modifiye halinin kullanıldığı bildirilmiştir.

Parfitt ve Almehdi (1986), Kaliforniya Üniversitesi Pomoloji Bölümündeki 58 adet şeftali ve nektarin çeşidinin *in vitro* çoğaltımı ve sürgün gelişiminin belirlenmesi için AP besisi ortamı **Almehdi ve Parfitt (1986)** kullanılarak yapılan çalışmada; arazi koşullarında bulunan 14 yaşındaki ağaçlar materyal kaynağı olmuştur. Sürgün çoğaltım ortamı 6 mg l^{-1} BA ve 0.01 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiş ve 5 haftalık periyotlarla ölçümler yapılmıştır. Taze ağırlık, yaprak sayısı, sürgün uzunluğu ve aksiler sürgün sayısı gibi gelişimi belirleyen ölçümler üzerinde durulmuştur. Bütün çeşitlerde yaşayan eksplant oranı %90 olmuştur. Yapılan çalışma ile AP besisi ortamının klonal çoğaltım ve sürgün ucu kültürleri için şeftali ve nektarin çeşitleri bakımından iyi sonuç verdiği bildirilmiştir.

Almehdi ve Parfitt (1986), Kaliforniya Üniversitesi Pomoloji Bölümündeki şeftali anaçlarından "Lovell ve NemaGuard"ın *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada 14 yaşındaki ağaçlardan vejetasyon dönemi içinde alınan sürgünler eksplant olarak kullanılmıştır. 1.5 cm uzunluğundaki sürgünlerin sterilizasyonu için %15 NaOCl içerisinde 30 dakika bekleme işlemi uygulanmış ve daha sonra 3 defa steril saf suda bekletilerek sterilantın etkisi giderilmiştir. Sürgün çoğaltımında hormonlardan BA ($0-10 \text{ mg l}^{-1}$) ve IBA ($0-5 \text{ mg l}^{-1}$) kombinasyonları, köklenmede ise IBA'nın ($0 - 9 \text{ mg l}^{-1}$) konsantrasyonları denenmiştir. Besi ortamı olarak kendi hazırladıkları AP besisi ortamıyla birlikte toplam 10 besisi ortamı kullanılmış ve bütün özellikler bakımından en iyi sonucu AP besisi ortamı vermiştir. Buna göre bu ortam sonuçları şöyle olmuştur; sürgün uzunluğu (30.9 mm), yaprak sayısı (18.3 adet) ve taze ağırlık (741 mg). Bu sonuca en yakın MS besisi ortamında ise; sürgün uzunluğu (19.6 mm), yaprak sayısı (6.6 adet) ve taze ağırlık (338 mg) olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Köklenme amacıyla $\frac{1}{2}$ AP'nin sıvı besisi ortamı hazırlanmış ve 9 mg l^{-1} IBA ile %70 oranında köklenme elde edilmiştir. Köklü bitkilerin aklimatizasyonu başarı ile yapılmış ve %100 yaşama oranı sağlanmıştır.

Antonopoulou ve ark. (2005), şeftali anacı olan GF 677'nin *in vitro* elde edilen sürgünlerinin köklenmesi üzerine farklı riboflavin konsantrasyonlarının (kontrol, 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg l^{-1}) etkisinin incelendiği çalışmada; sürgün çoğaltımı için MS besisi ortamı kullanılmıştır. Köklenme ortamlarına 1 mg l^{-1} IBA, 30 g l^{-1} sukroz ve 6 g l^{-1} agar ilave

edilmiştir. Ortamdaki riboflavin konsantrasyonunun artmasıyla birlikte köklenme oranının azaldığı görülmüş, en yüksek riboflavin konsantrasyonu olan 2 mg^l⁻¹'de köklenmenin inhibe olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda sürgün ucu ölümü (apikal nekrozis) ve sararmanın (klorozis) meydana geldiği görülmüştür. Yine en iyi sonuç hiç riboflavin kullanılmayan kontrol grubunda elde edilmiş olup, %100 köklenme, 5.6 adet kök ve 5.19 cm ortalama kök uzunluğunun elde edildiği bildirilmiştir.

Fotopoulos ve Sotiropoulos (2004), şeftali ve bademe anaç olarak kullanılan GF 677'ye alternatif olarak geliştirilen PR 204-84 anacının *in vitro* köklenmesi üzerine deney tüpü ağzını örtmek için kullanılan malzeme (parafilm, kauçuk, pamuk, alüminyum folyo) ve karbon kaynaklarının (sukroz, glikoz) etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; besi ortamı olarak 1 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş MS kullanılmış ve en yüksek köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu ile köklerin taze ve kuru ağırlıkları değerlendirilmiştir. Her iki şeker tipinde de en yüksek köklenme oranı, ortalama kök sayısı ve kök uzunluğu sukroz (20 gl⁻¹), glikoz (16 gl⁻¹) konsantrasyonlarından elde edilmiştir (Çizelge 5).

Çizelge 5. Farklı şeker tiplerinin köklenmeye etkisi.

Şeker tipi	Konsantrasyon (gl ⁻¹)	Köklenme (%)	Ortalama kök sayısı	Kök Uzunluğu (mm)
Sukroz	20	100	8.0	14.5
Glikoz	16	100	10.8	19.6

Deney tüplerinin ağzını örtmek için kullanılan materyallerden en olumsuz ve düşük sonuç veren pamuk olmuştur. Diğer materyallerde %100 köklenme elde edilirken, pamukta %58 köklenme elde edilmiştir. Diğer parametreler yönünden de, en düşük sonucun bu materyalden elde edildiği bildirilmiştir.

Molassiotis ve ark. (2003), GF 677 anacının *in vitro* koşullarda üretilen sürgünlerin köklenmesi üzerine Fe-EDDHA (Fe-ethylenediamine-di-(o-hydroxyphenyl)-acetic acid)'in etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; 30 gl⁻¹ sukroz, 7 gl⁻¹ agar, 0.6 mg^l⁻¹ BA, 0.2 mg^l⁻¹ GA₃ ve 0.05 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş MS besi ortamı kullanılmıştır. FeCl₃, Fe-EDTA ve Fe-EDDHA gibi üç demir formu 3 konsantrasyon olarak (0.002 – 0.005 – 0.01 mg^l⁻¹ Fe) denenmiştir. Fe-EDDHA'dan elde edilen sonuçlar diğer gruplarla karşılaştırıldığı zaman en iyi sonucu verdiğinin bildirildiği çalışmada; 0.01 mg^l⁻¹ Fe-EDDHA serisinde; köklenme oranı %100, ortalama kök sayısı 7.3, kök uzunluğu ise 3.8 cm olarak gerçekleşmiştir.

Manganaris ve ark. (2003), “Armking” nektarin çeşidinde PPV ve PNRSV virüsleriyle bulaşık bitkilerden farklı dönemlerde (dormant tomurcuk, ilkbahar sürgünleri, ısıtılmış işlem görmüş sürgünler) alınan meristemlerin *in vitro* kültürü yoluyla sağlıklı (virüsten arı) bitkilerin çoğaltımı amacıyla yapılan çalışmada 0.8-1.3 mm uzunluğundaki meristemler kullanılmıştır. Sürgün çoğaltım ortamında 1.8 mg l^{-1} BAP ve 0.14 mg l^{-1} IAA ile desteklenmiş WPM besi ortamından %38 oranında rejenerasyon sağlanmıştır. Köklenme ortamında ise 0.4 mg l^{-1} IBA ile destekli $\frac{1}{2}$ WPM kullanılmıştır.

Hammerschlag ve ark. (1987), 8 şeftali çeşiti ve 1 adet anacın *in vitro* sürgün çoğaltımı ve köklenmesi üzerine yaptıkları çalışmada; bu işlemi etkileyen faktörler belirlenmeye çalışılmıştır. Sürgün çoğaltım ortamında 2 mg l^{-1} BA ile desteklenmiş MS besi ortamının iyi olduğu, köklenme ortamında ise 5 mg l^{-1} IAA – IBA veya NAA ile desteklenmiş $\frac{1}{2}$ MS besi ortamı kullanılmıştır. En iyi köklenme 5.3 mg l^{-1} NAA bulunan ortamdan elde edilmiştir. Elde edilen köklü bitkilerin aklimatizasyonu sırasında hiç bitki kaybı olmadığı bildirilmiştir.

Sotiropoulos ve Fotopoulos (2005), Yunanistan’da şeftaliye anaç olarak kullanılan PR 204/84 anacının *in vitro* üretimi sırasında sürgün uzamasını teşvik etmek için aktif kömür, GA_3 ve BAP’ın etkisini belirlemek üzere bu anaçla ilgili yapılan ilk çalışma olduğu belirtilmiştir. BAP’ın iki konsantrasyonu ($0.01 - 0.06 \text{ mg l}^{-1}$) ve bu konsantrasyonların GA_3 ’ün ($0 - 0.01 - 0.1 - 1 \text{ mg l}^{-1}$) gibi konsantrasyonlarıyla kombinasyonları incelenmiştir. Ayrıca aktif kömürün de farklı konsantrasyonlarının uygulandığı çalışmanın genelinde istatistiki bakımdan bir farklılık kaydedilmediği, yalnız 0.01 mg l^{-1} BAP + 0.01 mg l^{-1} GA_3 uygulamasından elde edilen sürgünlerin daha iyi bir görünüme sahip oldukları bildirilmiştir.

Ahmad ve ark. (2003), GF-677 şeftali anacının mikroçoğaltımına besi ortamının ve büyüme düzenleyicilerin etkisini araştırmak üzere yapılan çalışmada; MS ve Anderson (AND) olmak üzere iki farklı besi ortamı, sitokininlerden ise BA’nın ($0.3 - 0.6 - 0.9 \text{ mg l}^{-1}$) 3 farklı konsantrasyonu incelenmiştir. Sürgün proliferasyonu, uzaması ve gelişimi üzerine en iyi sonucu MS besi ortamının verdiği, AND besi ortamındaki bitkilerin sarardığı, vitrifiye olduğu ve küçük kaldıkları görülmüştür. En fazla sürgün sayısı 0.6 mg l^{-1} BA serisinde elde edilirken, en yüksek konsantrasyon olan 0.9 mg l^{-1} BA serisinde sürgün ucu ölümüne (apikal nekrozis) rastlanmış ve kallus oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen

sürgünlerin köklenmesi aşamasında en iyi sonucu 3 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş ½ MS besi ortamı vermiştir. IBA'nın 4 mg^l⁻¹'lik konsantrasyonunda kök gelişiminin inhibe olduğu ve kallus meydana geldiği bildirilmiştir.

Mante ve ark. (1989), erik ve vişnede olgun tohumun, şeftalide ise olgunlaşmamış tohumun embriyonik ekseni çıkarılmış kısımlarından bitki rejenerasyonu için yapılan çalışmada; 0 – 0.5 mg^l⁻¹ IBA ve 1.1 – 2.75 mg^l⁻¹ TDZ ile desteklenmiş olan MS besi ortamı kullanılmıştır. En yüksek TDZ konsantrasyonuyla birlikte 0.5 mg^l⁻¹ IBA kullanıldığı zaman sürgün rejenerasyonunun teşvik edildiği görülmüştür. Elde edilen sürgünler 0.5 – 1 mg^l⁻¹ IBA ile destekli ½ MS besi ortamında köklendirilerek aklimatizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Pedrotti ve ark. (1994), yabani kirazın *in vitro* rejenerasyonu ile elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine L-glutamine, L-glutamic asit, L-asparagine ve oksinlerin etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; 1.1 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş MS besi ortamı kullanılmıştır.

Çizelge 6. Bazı aminoasitlerin kök uzunluğuna etkisi.

Aminoasitler	Kök Uzunluğu (mm)	
	Otoklavlamadan önce	Otoklavlamadan sonra
L-glutamine (315 mg ^l ⁻¹)	9	48
L-glutamic asit (206 mg ^l ⁻¹)	16	21
L-asparagine (185 mg ^l ⁻¹)	47	47

Böylece bazı aminoasitlerin otoklavlanmasının 5-oxoproline gibi inhibitör etkisi gösterdiği, bunun için L-glutamine'nin otoklavlamadan sonra filtrasyonla ortama verilmesi gerektiği sonucuna varıldığı bildirilmiştir (Çizelge 6).

Sauer (1985), "Mazzard" kiraz çeşidinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; genç dallardaki lateral tomurcuklardan elde edilen meristemler eksplant olarak kullanılmıştır. Sürgün gelişimi için 2 mg^l⁻¹ BAP ve 0.1 mg^l⁻¹ NAA ile desteklenen MS besi ortamından, köklenme için ise, 2 mg^l⁻¹ IAA ile desteklenen 1/3 MS'den faydalandığı bildirilmiştir.

Theiler-Hedtrich ve Feucht (1985), vişneye anaç olarak kullanılan W-10, W-11, W-12, W-13 ve W-14'ün mikroçoğaltımına kültür koşullarının etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; lateral tomurcuklardan elde edilen 0.3-0.5 mm büyüklüğündeki meristem uçları kullanılmıştır. BAP'ın kontrol, 0.01, 0.1 ve 1 mg^l⁻¹ konsantrasyonları, 0.1 mg^l⁻¹ GA₃ ve 100 mg^l⁻¹ myo-inositolün farklı kombinasyonlarının etkileri incelenmiştir. Ayrıca altkültür çalışmaları süresince bütün anaç tiplerinde de 4. altkültüre kadar çoğaltım oranının arttığı, bundan sonra periyodik olarak bir düşüş yaşandığı bildirilmiştir. W-12 anacının kültür başlatma çalışmasında 1 mg^l⁻¹ BAP + 100 mg^l⁻¹ myo-inositol kullanılmış ve %70 oranında sürgün ucu gelişimi görülmüştür. Diğer anaçlarda farklı kombinasyonlar kullanılarak %100'e varan oranlarda sürgün gelişiminin kaydedildiği bildirilmiştir.

Özzambak ve Hepaksoy (1997), Alman vişnesi olarak da bilinen "Heimanns Rubinweichsel" çeşidinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; sürgün ucu eksplantlarının ana bitkilerden alınma zamanları incelenmiştir. Materyalin sterilizasyonu için %2 NaOCl içerisine birkaç damla tween-20 damlatılarak 20 dakika bekletme işlemi uygulanmış ve daha sonra 3 defa 5'er dakika steril saf suda çalkalanmıştır. En uygun zaman ilkbahar olmuş ve deney başına düşen sürgün sayısı 89 olarak gerçekleşmiştir. Sürgün çoğaltımı için, 0.5 mg^l⁻¹ BAP ve 0.1 mg^l⁻¹ NAA ile destekli MS besi ortamı kullanılmış olup, köklenme amacıyla IAA, IBA ve NAA'nın 0.1, 0.2 mg^l⁻¹ konsantrasyonlarının deney kapsamına alındığı bildirilmiştir.

Pruski ve ark. (2005), Kanada'da Bitki Sınıflandırma Merkezinde bulunan 10 yaşındaki "Mongolian" ve "Nanking" vişne çeşitlerinin *in vitro* kültür başlatma, sürgün proliferasyonu ve köklenmesi üzerine büyüme düzenleyicileri ve farklı kombinasyonlarının etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; eksplant olarak kış ayları boyunca dormant tomurcuklar kullanılmıştır. Her iki çeşit için de aynı proliferasyon ortamı (2 mg^l⁻¹ BA + 0.1 mg^l⁻¹ NAA) en iyi sonucu verirken; Nanking cherry %37.96, Mongolian cherry %45.93 oranında yaşayan kültür elde edilmiştir. Köklenme üzerine NAA ve IBA kombinasyonunun iyi cevap verdiği görülmüş ve yine sırasıyla %64 ve %73 oranında köklenmenin elde edildiği bildirilmiştir.

Grant ve Hammatt (2000), yabani kirazın farklı tiplerinin (1908, 1904, 1905, 1906, 1909, 1912, 1919, 2474, F12/1, Charger) yapraklarından sürgün gelişimini sağlamak

için yapılan çalışmada; rejenerasyon ortamı olarak 0.1 mg l^{-1} NAA ve 1 mg l^{-1} TDZ ile desteklenen WPM kullanılmıştır. En iyi sonuçları Charger tipi vermiş olup, birim yaprak alanına 0.95 adet sürgün elde edilmiştir. Sonuç olarak, bu çalışma üzerinde genotipin çok büyük etkiye sahip olduğu ve rejenerasyon başarısını etkileyen en önemli husus olduğu bildirilmiştir.

AL-Sabbagh ve ark. (1999), Şam yakınlarında doğal şartlarda yetişen 7-8 yaşındaki yarı bodur kiraz anacı olan Maxma-14'ün *in vitro* çoğaltım sistemini geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; eksplant olarak nodal (lateral) tomurcuklar ve sürgün ucu kullanılmıştır. Materyalin sterilizasyonu iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada musluk suyu içerisine birkaç damla tween-20 damlatılmış ve el yıkama deterjanı ile 10-15 dakika yıkanmış; ikinci aşamada ise, 0.01 mg l^{-1} HgCl_2 ve 0.01 mg l^{-1} tween-20 bulunduran solusyon içerisinde 8 dakika bekletilerek işlem tamamlandıktan sonra 3 defa steril saf suda çalkalanmıştır. Eksplant kaynağı olarak 7-8 yaşındaki ağaçlardan faydalanılmıştır. Kontaminasyon probleminin araziden alınan eksplantlarda 10% civarında, alt kültürler süresince ise 2% olduğu, dokularda toksik etki yapan civa klorürün etki oranının 50% olduğu görülmüştür. BAP ve kinetin konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi bakımından yan sürgün sayısı yönünden en iyi sonucu; 0.1 mg l^{-1} BA ve 0.9 mg l^{-1} IBA 5.42 olarak vermiştir. Sürgün uzunluğu bakımından ise, 0.1 mg l^{-1} kinetin ve 0.4 mg l^{-1} IAA kombinasyonunda 3.3 cm olarak bulunmuştur. Elde edilen sürgünlerin köklenmesiyle ilgili yapılan çok yönlü deneyde; sıvı ortamın agar bulunan ortamdan daha iyi olduğu ve 0.5 mg l^{-1} IBA ile destekli $\frac{1}{2}$ MS'in sıvı ortamında kök uzunluğu 6.32 cm , kök sayısı 4.85 adet ve köklenme oranının 95% olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Elde edilen köklü bitkilerin aklimatizasyon işlemleri de başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Pruski ve ark (2000), Kanada'da Pearson's Berry çiftlik bahçesinde bulunan 6 yaşındaki "Garrington (Chok-Gar), Mary Liss (Pin-ML) ve Jumping Pound (Pin-JP)" kiraz çeşitlerinin *in vitro* kültür başlatma, sürgün proliferasyonu ve köklenmeleriyle ilgili olarak yapılan çalışmada; dormant haldeki kış tomurcukları kullanılmıştır. Materyalin sterilizasyonu için önce 30 dakika süreyle musluk suyunda yıkama işlemi uygulanmıştır. Daha sonra 1% NaOCl ve 0.1% tween-20 bulunan çözelti içerisinde 10 dakika bekletilmiş ve sonuçta 3 defa steril saf su içerisinde çalkalanarak sterilantın etkisi giderilmiştir. Kültür başlatma çalışmalarında Chok-Gar çeşidi 1 mg l^{-1} BA + 0.08 mg l^{-1} IBA kombinasyonunda yaşayan kültür 97% ve rozet bitki sayısı 47 adet olmuştur. Pin-ML çeşidinde 2 mg l^{-1} BA +

0.1 mg^l⁻¹ IBA'dan %100 yaşayan kültür ve 55 adet rozet bitki, Pin-JP çeşidinde ise 1 mg^l⁻¹ BA + 0.1 mg^l⁻¹ IBA kombinasyonunda en iyi sonuç alınmış ve %100 yaşama oranı ile 55 adet rozet bitki elde edilmiştir. Mevcut sürgünlerin köklenmesi için en iyi sonucu (IBA/NAA = 2 mg^l⁻¹ /0.5 mg^l⁻¹) vermiş olup, en iyi köklenme oranı %84 olarak tespit edilmiştir.

Grant ve Hammatt (1999), M 9 elma anacı ve F12/1 kiraz anacının mikroçoğaltımı sırasında sürgün ve kök gelişimi üzerine altkültür sayısının etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada başlangıç materyali olarak tomurcuklar kullanılmıştır. Sürgün çoğaltımı için MS besisi ortamı kullanılmış, 1 mg^l⁻¹ BA, 0.1 mg^l⁻¹ GA₃ ve 0.1 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiştir. Köklenme ortamında 3 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenen MS kullanılmıştır. Mevcut genotiplerin sürgün ve kök üretimini altkültürde kaldıkları sürenin etkilediği, ancak alt kültür yapma sıklığının bunu etkilemediği bildirilmiştir.

Pascual ve Marin (2005), Marianna 2624, Myrobolan 605 AD, A-843 ve Adefuel anaçlarının 1 yaşlı bitkilerinden alınan eksplantlardan bitki rejenerasyonu ve köklenmesiyle ilgili yapılan çalışmada 2.4 D'nin etkisi üzerinde durulmuştur. Özellikle sıvı MS besisi ortamında yapılan çalışmalarda 2,4 D'nin sürgün ve kök rejenerasyonunu olumlu bir şekilde etkilediği görülmüştür.

Bhagwat ve Lane (2004), Kanada'da bulunan Pasifik Agri-food Araştırma Merkezindeki "Sweetheart" ve "Lapins" kiraz çeşitlerinin yapraklarından sürgün rejenerasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; ağaçlardan alınan sürgün uçlarının yaklaşık 3 mm uzunluğundaki kısmı başlangıç eksplantı olarak kullanılmış ve 6 ay süren altkültür çalışmalarının sonunda elde edilen yapraklar kullanılmıştır. Başlangıç materyalinin sterilizasyonu için %10 NaOCl (Javex-5TM) içerisinde, 10 dakika bekletme işlemi uygulanmıştır. Besi ortamı olarak WPM'nin daha etkili olduğu görülmüştür. Köklenme amacıyla 0.5 mg^l⁻¹ NAA ile destekli MS besisi ortamı iyi sonuç vermiş ve 6 hafta sonra köklenmeler meydana gelmiştir. Ancak aklimatizasyon aşamasında fazla başarı elde edilemediği ve sonuçların düşük olduğu bildirilmiştir.

Tang ve ark. (2002), Almanya'da "Burlat", "Early Burlat", "Hedelfinger", "Napoleon" ve "Schneiders" kiraz çeşitleri ile, "Morellenfeuer" ve "Beutal Spacher

Rexelle” vişne çeşitlerinin yapraklarından bitki rejenerasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; ağaçlardan alınan lateral tomurcuklar başlangıç eksplantı olarak kullanılmıştır. Genel olarak 2 mg l^{-1} BAP ve $0.5-1 \text{ mg l}^{-1}$ NAA ile destekli WPM besi ortamı sürgün gelişimi için en iyi ortam olarak bulunmuştur. Daha sonra buradan elde edilen sürgünlerdeki yapraklar deneyin materyalini oluşturmuştur. Deney sonucunda ortaya çıkan sürgünlerin köklenmesinde 2 mg l^{-1} IBA veya NAA (çeşitlere göre değişmiş) ile destekli $\frac{1}{2}$ MS besi ortamı kullanılmış olup, %65-92 arasında köklenme elde edilmiştir. Köklenmeye aktarılan bitkilere karanlık periyot uygulamasının etkili olmadığı bildirilmiştir.

Matt ve Jehle (2005), Almanya Oppenheim Araştırma İstasyonunda bulunan “Starking Hardy Giant”, Schneiders”, “Kordia”, “Sweetheart” ve “Regina” kiraz çeşitlerine ait 1 yaşındaki ağaçlardan alınan internod ve yaprak eksplantlarından bitki rejenerasyonu için; besi ortamı, karbon kaynağı, hormonların tipi ve farklı konsantrasyonları, etilen inhibitörleri ve fotoperiyodun etkisi üzerine yapılan çalışmada; virüsten arı bir yaşındaki fidanlardan alınan dormant tomurcuklar kullanılmıştır. Materyalin sterilizasyonu iki aşamada gerçekleştirilmiş olup; ilk aşamada %1.5 Benomyl içerisinde 10 dakika bekletilmiş, ikinci aşamada %10 CaOCl içinde 20 dakika bekletildikten sonra 3 defa 5'er dakika steril saf suda çalkalanmıştır. Sürgün çoğaltımı için 1 mg l^{-1} BAP ile destekli QL besi ortamına ekim yapılmıştır. Internod ve yapraklardan rejenerasyon sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi amacıyla 170 mg l^{-1} IAA içeren sulu ortamda karanlık koşullarda bekletildikten sonra hormon içermeyen $\frac{1}{2}$ MS besi ortamında 8 hafta sonra köklenme elde edilmiştir. Köklenme oranlarının %50-88 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Petrevica ve Bite (2003), Moskova'da Bahçe Bitkileri Araştırma İstasyonu bünyesinde bulunan “Tamaris”, “Sokoladnica”, “Desertnaja Morozovoi” ve “Bulatnikovskaja” adlı vişne çeşitlerinin *in vitro* proliferasyonuna kısa süreli soğukta muhafazanın etkisini incelemek üzere yapılan çalışmada; başlangıç materyali olarak 8-10 yaşındaki ağaçlardan alınan apikal ve lateral tomurcuklardaki meristemler kullanılmıştır. Meristemlerden sürgün üretimi için 0.5 mg l^{-1} BA ve 0.2 mg l^{-1} GA₃ ile destekli MS besi ortamı; buradan elde edilen sürgünlerin proliferasyonu için 1 mg l^{-1} BA, 0.5 mg l^{-1} IAA ve 0.3 mg l^{-1} GA₃ ile desteklenen MS besi ortamı kullanılmıştır. Köklenme amacıyla 0.1 mg l^{-1} NAA ile destekli MS'ten faydalanılmıştır. Proliferasyon sonucu elde edilen sürgün uzunlukları 11.00 – 16.40 mm arasında, köklenme oranı %56-95 arasında, ortalama kök sayısı 2.1-3.0 arasında, kök uzunluğu 51.2 – 67.1 mm arasında değişmiştir.

Aklimatizasyonu sağlanan bitkilerde ise, çeşitlere göre %89-100 arasında değişen sonuçların elde edildiği bildirilmiştir.

Dradi ve ark. (1996), 11 farklı mahleb ekotipinin ve anaç olarak kullanılan 2 kiraz çeşidinin *in vitro* çoğaltımını hızlandırmak ve ticari olarak bir sistem geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; başlangıç eksplantı olarak 2 mm uzunluğundaki tomurcuk uçları kullanılmıştır. Başlangıç besi ortamında 0.5 mgL⁻¹ BAP, 0.5 mgL⁻¹ GA₃ ve 0.01 mgL⁻¹ NAA ile destekli SH (**Schenk and Hildebrandt, 1972**) makrobesin maddeleri ve MS mikrobesein maddeleri ve vitaminler kullanılmıştır. Proliferasyon oranı kullanılan ekotip ve ortam bileşenlerine göre 1 – 4.5 arasında değişmiş olup, kalite ve kantite yönünden iyi sürgün üretimi için 1 – 2 hatta 4 farklı besi ortamının farklı kombinasyonları bir arada kullanılmıştır. Köklenme ortamında kullanılan IBA konsantrasyonları ekotipe göre 0.8 – 3.0 mgL⁻¹ arasında değişmiş olup, iyi sonuçlar alındığı görülmüştür. Her bir ekotip için en yüksek köklenme oranı %50 olarak bulunmuş ve bu oranın artmasının kaliteli sürgün ile ilgili olduğu bildirilmiştir.

Borkowska (1985), “Schattenmorello” vişne çeşidinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; vejetasyon dönemindeki aktif olarak gelişen sürgün uçları başlangıç eksplantı olarak kullanılmıştır. Materyalin sterilizasyonu %0.1 HgCl₂ içerisinde 10 dakika bekletilerek gerçekleştirilmiş ve daha sonra 3 defa steril saf su içerisinde çalkalanmıştır. Sürgün proliferasyonu için 1 mgL⁻¹ BA, 0.1 mgL⁻¹ NAA ve 0.1 mgL⁻¹ GA₃ ile destekli MS besi ortamı; sürgünlerin köklenmesi için ise IBA destekli MS besi ortamı kullanılmıştır. Kültürde geçen sürenin 5. haftaya kadar iyi gittiği, fakat bundan sonra yapraklarda sararma ve dökülmenin gözlemlendiği, bu süreye kadar bütün gözlemlerin çok iyi olduğu bildirilmiştir. Köklenmeye aktarılan sürgünlerin 8. hafta sonunda öldüğü ve yaklaşık %4-7 bitkinin hayatta kaldığı ancak, bunların aklimatizasyon işlemi yapılabilmıştır. Bu grup bitkiler içerisinde ise %85-90 oranında bitkinin hayatta kaldığı görülmüştür.

Özzambak ve Hepaksoy (1997a), “Heimanns Rubinweichsel” vişne çeşidinin *in vitro* proliferasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; başlangıç materyali olarak sürgün ucu kullanılmıştır. Dört farklı sezondan (İlkbahar – Yaz – Sonbahar – Kış) en iyi sonucu ilkbahar mevsiminde vermiştir. Kültür başlatma çalışmalarında 0.5 mgL⁻¹ BAP ve 0.1 mgL⁻¹ NAA ile destekli MS besi ortamı; altkültürler süresince sürgün çoğaltımı için ise 1.0 – 1.5 mgL⁻¹ BAP destekli MS kullanıldığı bildirilmiştir.

Özzambak ve Hepaksoy (1997b), “Heimanns Rubinweichsel” vişne çeşidinin *in vitro*dan elde edilen sürgünlerinin köklenmesi ve aklimatizasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; 1, 2, 2.5 ve 4 mg l⁻¹’lik IAA, IBA ve NAA’nın farklı konsantrasyonları ½ MS besisi ortamında denenmiştir. Elde edilen köklenme sonuçları bakımından oksinler arasında pek bir farklılık görülmemiş; IAA (%78.8), IBA (%74.3) ve NAA (%79.2) olarak kaydedilmiştir.

Vasar (2003), “Kristiina” kiraz çeşidinin *in vitro* olarak elde edilen sürgünlerin *in vitro* dışında köklenmesi ve aklimatizasyonu üzerine askorbik ve sitrik asitin etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; sürgün üretimi için 1 mg l⁻¹ BA, 0.1 mg l⁻¹ IBA destekli MS besisi ortamı kullanılmıştır. 20-30 mm uzunluğundaki sürgünler köklenme ortamına aktarılmıştır.

Gebhardt (1985), “Schattenmorello” vişne çeşidinin sürgün ucu kültürleri yoluyla elde edilen sürgünlerinin köklenmesi üzerine oksinlerin etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; başlangıç eksplantı olarak 0.1 – 0.5 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılmıştır. Proliferasyon işlemi için 1 mg l⁻¹ BA ile destekli MS besisi ortamı; köklenme için ise 1 mg l⁻¹ IBA içeren ve içermeyen MS besisi ortamı karşılaştırılmak üzere denenmiştir. IBA’nın 200 ppm (200 mg l⁻¹) konsantrasyonunda 3 dakika bekletildikten sonra hormonsuz besisi ortamına ekim işlemi yapılan köklenme deneyinden en iyi sonuç alınmış olup, 21 gün sonra eksplant başına kök sayısı 4.11 adet (2 mm’den büyük) olarak gerçekleştiği bildirilmiştir.

Schmidt ve Ketzel (1996), kiraz ıslahında *in vitro* kültür tekniklerinin gerekliliğinden yola çıkılarak yapılan çalışmada; farklı kiraz çeşitlerine ait kombinasyonları içerisinde bazı hibrit tohumlar elde edilerek bunlara ait olgun tohumların *in vitro*da çimlendirilmesi sonucu, bitki üretimi gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. Dış sert kabuğu kırılarak 2 mg l⁻¹ BA ve 1 mg l⁻¹ IAA ile destekli MS besisi ortamına ekilen tohumlardan ilk sürgünler 2 hafta sonra meydana gelmiştir. Sürgün uzaması için 0.5 mg l⁻¹ BA ve 0.1 mg l⁻¹ NAA ile destekli MS besisi ortamına aktarılan sürgünler, bundan 3-4 hafta sonra köklenme için 0.5 mg l⁻¹ NAA ile destekli ½ MS besisi ortamına aktarılmıştır. Kullanılan tohumlardaki olgunlaşma oranının yüksek olması nispetinde rejenerasyon oranının yüksek olduğu bildirilmiştir.

Hammatt ve Grant (1997), “Charger” ve “F 12/1” yabancı kiraz çeşitlerinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; başlangıç materyali olarak sürgün ucu kullanılmıştır. Materyalin sterilizasyonu için %10 NaOCl içerisinde 10 dakika bekletme işleminden sonra birkaç defa steril saf su içerisinde çalkalanmıştır. Charger çeşidi için alt kültürler süresince 162.14 mg floroglukinol, 0.5 mg^l⁻¹ BA ve 0.1 mg^l⁻¹ IBA ile destekli MS besi ortamı; F 12/1 çeşidi için 1 mg^l⁻¹ BA, 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 0.1 mg^l⁻¹ GA₃ ile destekli MS besi ortamından faydalanılmıştır. Her iki çeşitten elde edilen sürgünlerin köklenmesi için 3 mg^l⁻¹ IBA ile destekli MS besi ortamı temel olmak üzere 0.1 mg^l⁻¹ floroglukinol kullanılan ve kullanılmayan ortamlar üzerinde durulmuştur. Köklenme ortamlarında floroglukinol’un gerekli olduğunun sonucuna varılan çalışma ile elde edilen köklü bitkilerin tamamına yakınının aklimatizasyon işleminin sağlandığı bildirilmiştir.

Cerovic ve Ruzic (1987), Yugoslavya’nın vişne üretiminde önde gelen çeşidi olan “Sumadinka”nın mikroçoğaltımı için bir metot geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; 1-2 mm uzunluğundaki sürgün uçları kullanılmıştır. En iyi proliferasyon ortamının 0.5 mg^l⁻¹ BAP, 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 0.1 mg^l⁻¹ GA₃ ile destekli MS besi ortamı olduğu; 0.5 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ NAA + 0.1 mg^l⁻¹ GA₃ veya 1 mg^l⁻¹ BAP + 0.1 mg^l⁻¹ NAA + 0.1 mg^l⁻¹ GA₃ ortamlarının da iyi sonuç verdiği görülmüştür. Elde edilen sürgünlerin köklenmesi için yapılan çalışmalarda ise sürgünler önce 1 mg^l⁻¹ IBA ile destekli ½ MS besi ortamında 10 gün bekletilmiş, daha sonra hormonsuz ortama aktarılarak %88 oranında köklenme elde edilmiştir. Köklenen bitkilerin aklimatizasyonunda ise %90 oranında başarının elde edildiği bildirilmiştir.

Hokanson ve Pooler (2000), sekiz farklı süs kirazının olgun tohumlarından sürgün rejenerasyonu ve kallus oluşumu için yapılan çalışmada; çimlenme durumları ve farklı hormon kombinasyonlarının çimlenmeye etkisi üzerinde durulmuştur. Sürgün oluşturma oranları çeşitlere göre farklılık göstermiş olup, %5 – 50 arasında gerçekleşmiştir. Ancak bazı çeşitlerde sürgün oluşumunun hiç görülmediği bildirilmiştir.

Espinosa ve ark. (2006), tarafından siyah kirazın (*Prunus serotina*) *in vitro* kültürleri yoluyla sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine yapılan çalışmada; başlangıç materyali olarak 1 yaşlı çöğürlerden alınan ve nodal (lateral) tomurcuk bulunduran 2-3 cm uzunluğundaki dal parçaları kullanılmıştır. Bu bitki kısımlarının sterilizasyonu yapıldıktan sonra 1 mg^l⁻¹ BA, 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 0.1 mg^l⁻¹ GA₃

ile destekli MS besisi ortamına ekilmiştir. Bu ortamda tomurcuk patladıktan ve 1-2 cm uzunluğunda sürgün oluştuktan sonra diğer çalışmalarda kullanılır hale gelmiştir. Rejenerasyon oranı en yüksek %41.6 olarak 0.3 mg l^{-1} NAA + 1.5 mg l^{-1} TDZ kombinasyonundan elde edilirken, ortalama sürgün sayısının 4.13 olarak yine bu kombinasyondan bulunduğu bildirilmiştir.

Aka-Kaçar ve ark. (2001), “Damil, Edabriz, Gisel-A5 ve Maxma” gibi kiraz anaçlarının *in vitro* çoğaltılması amacıyla besisi ortamında kullanılan değişik katılaştırıcı maddelerin (agar, agargel, phytigel) ve farklı pH seviyelerinin (5 – 5.7 – 6.2) belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; aktif büyüme döneminde bitkilerden alınan sürgün uçları (0.5 – 1.0 mm) başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Sürgün gelişimi ve çoğaltımı amacıyla 1 mg l^{-1} BA ile desteklenen MS besisi ortamından faydalanılmıştır. Bütün anaçlardan alınan ortalama sonuçlara göre; kardeş bitki sayısı (5.8 adet/bitki) ile agargel’den, sürgün uzunluğu bakımından ise 2.5 cm’lik sürgünlerin phytigel’den elde edildiği bildirilmiştir. pH seviyeleri bakımından sadece kardeş bitki sayısı bakımından önemli bir farklılık kaydedilmiş ve en iyi sonuç pH 6.2’de elde edilmiş olup, 3.6 adet/bitki gelişmiştir.

Sülüsoğlu ve Çelik (2001), sarı ve kara idris (*P.mahaleb* L.) anaçlarının mikroçoğaltımı amacıyla farklı besisi ortamlarının (MS, WPM) ve hormon dozlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; ağaçlardan alınan sürgün uçları kullanılmıştır. Her iki anaç için de alt kültürler süresine sürgün gelişimini olumsuz etkilediği için WPM kullanılmamıştır. Sarı idris için oluşturulan hormon kombinasyonlarından 1 mg l^{-1} BAP + 0.5 mg l^{-1} IBA’da yaşama oranı %93.3, proliferasyon %86.7 ve sürgün sayısı 1.6 adet olarak belirlenmiştir. Kara idris için oluşturulan kombinasyonlarından 2 mg l^{-1} BAP + 0.1 mg l^{-1} IBA veya 0.5 mg l^{-1} IBA’da yaşama oranı %100, proliferasyon %93.3 ve sürgün sayısı 1.6 adet olarak belirlendiği bildirilmiştir.

Fidancı ve ark. (2001), Yalova Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’ne ait Koleksiyon bahçesinde yer alan 3 yaşındaki “Gisela-5, Maxma-14 ve Tabel/Edabriz” gibi kiraz ve vişne klon anaçlarının *in vitro* hızlı çoğaltım tekniklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; sürgün ucu ve nodal tomurcuklar başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Kültür başlatma ortamında; $0.5 - 1.0 \text{ mg l}^{-1}$ BAP + 0.1 mg l^{-1} IBA (NAA) + 0.1 mg l^{-1} GA₃ ile destekli MS besisi ortamından faydalanılarak deneyleri başlatabilecek materyal elde edilmeye çalışılmıştır. Eksplant alma zamanı için nisan sonundan haziran

başına kadar olan süre en iyi dönem olarak tespit edilmiştir. BAP konsantrasyonu bakımından en iyi sonuç 1 mg l^{-1} BA'dan 9 bitki/sürgün elde edilmiştir. Köklenme ortamında 1 mg l^{-1} IBA ile destekli $\frac{1}{2}$ MS besi ortamında ortalama kök sayısı 12, kök uzunluğu 3.8 cm ve %100 köklenme oranı görülmüştür. Gisela-5 ve Maxma-14 anaçlarında kültür başlatmayı takib eden zamanda vitrifikasyon (camlaşma) meydana gelmiş ve tekrar kültür başlatma gerektirdiği için çalışmanın seyri değişmiş ve sadece Tabel anacının verilerinin kaydedildiği bildirilmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Bu araştırma, Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı ve Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknoloji Laboratuvarında 2003-2006 yılları arasında yürütülmüştür. Araştırmada, materyal olarak “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidinin olgun tohumları ve meyve veren ağaçlarından (15 yaşında) alınan nodal tomurcuk ve sürgün uçları kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan materyallerin tamamı Malatya Meyvecilik Araştırma Enstitüsü’nden temin edilmiştir.

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplant Tipleri

In vitro çalışmalarda kullanılan materyal tiplerini aşağıdaki gibi sınıflandırabiliriz:

Tohum: Kayısı ağacının üzerindeki meyveler olgunlaşıp toplandıktan sonra, çekirdeğin meyve etinden ayrılmasıyla birlikte, gölge bir yerde kurutulması sonucu elde edilen materyaldir.

Sürgün Ucu: Vejetasyon döneminin başlamasından sonra (mart ayı sonundan itibaren) ağaçlardan alınan 1-2 cm uzunluğundaki bitkisel materyaldir.

Nodal (Lateral) Tomurcuk: Vejetasyon dönemi içerisinde gelişen, 1 yaşındaki sürgünler üzerinde bulunan tomurcuklardır (Resim 1).

3.2. Metot

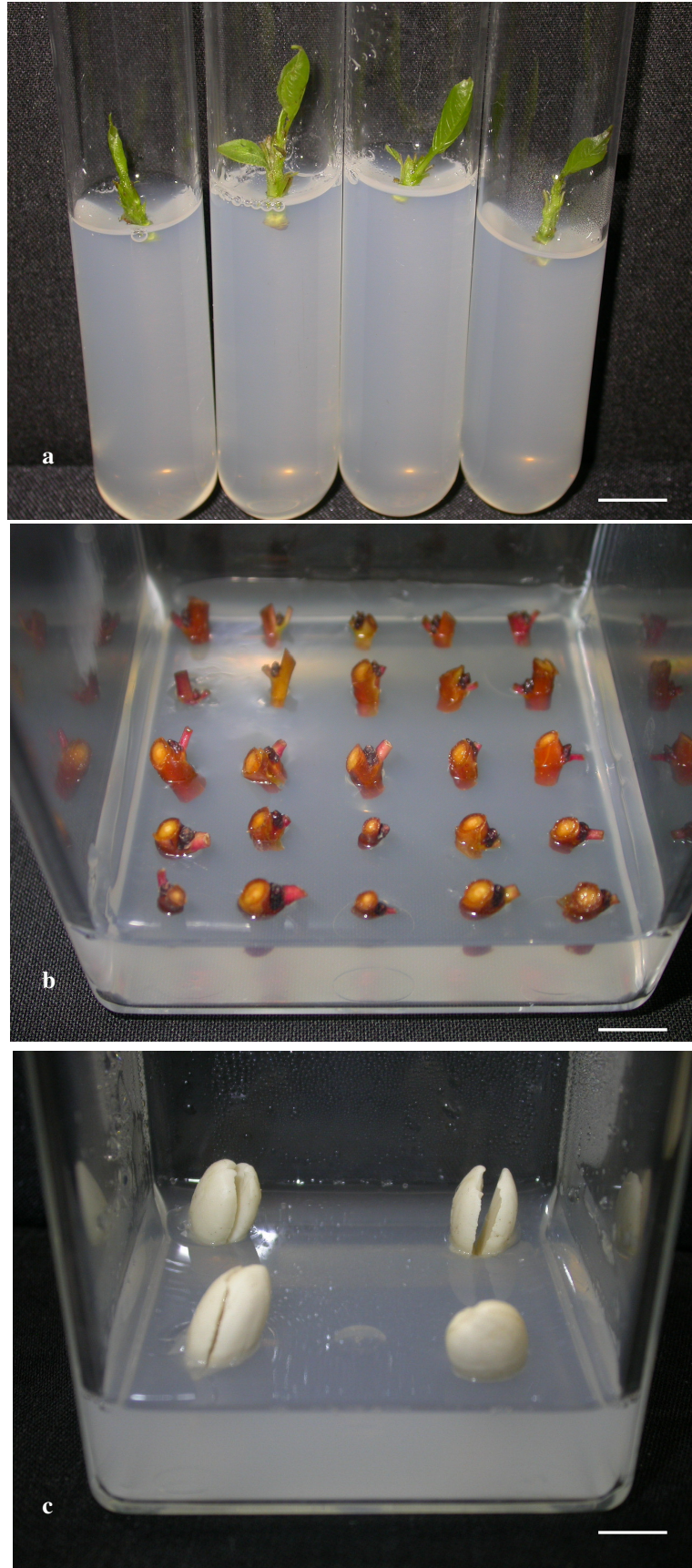
3.2.1. Kültür Ortamının ve Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Hazırlanması

3.2.1.1. Besi Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Çalışmalarımızda besi ortamı olarak (Murashige ve Skoog, 1962) tarafından önerilen temel MS besi ortamı modifiye edilerek kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda besi ortamı 6.3 gl^{-1} 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_4NO_3	16.5 g
KNO_3	19.0 g
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4.4 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.7 g
KH_2PO_4	1.7 g
Steril saf su	1000 ml’ye tamamlanır.



Resim 1. Çalışmalarda kullanılan materyallerin ilk ekim hali **a)** Sürgün ucu (bar: 10 mm), **b)** Nodal tomurcuk (bar: 7.9 mm), **c)** Tohum (bar: 8.3 mm).

MS Mikro-1 Elementler Ana Solüsyonu

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

MS Mikro-2 Elementler Ana Solüsyonu

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

Kompleks Kelatör Ana Solüsyonu

FeSO ₄ .7H ₂ O	2.78 g
Na ₂ 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.

B₁ 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.

BAP (6-Benzylaminopürin) Ana Solüsyonu

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

NAA (α -Naftalenasetik asit) Ana Solüsyonu

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

IAA (İndolasetikasit) Ana Solüsyonu

IAA	100 mg
% 95 lik Etil Alkol	5-10 ml
Steril saf su	100 ml'ye tamamlanır.

IBA (3-Indolbutirik asit) Ana Solüsyonu

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

2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetik asit) Ana Solüsyonu

2,4-D	100 mg
% 95 lik Etil Alkol	100 ml'ye tamamlanır.

Çizelge 7. Temel MS Besi Ortamının İçeriği.

Agar	6.3 g
Sukroz	30 g
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
myo-inositol	10 ml
B ₁ vitamini ana solüsyonu	1 ml
Steril saf su	1000 ml'ye tamamlanır

Kinetin Ana Solüsyonu

Kinetin	100 mg
Steril saf su	100 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 mg l^{-1} ve/veya ağırlık/hacim ile ifade edildi. Bir litrelik standart MS besi ortamı hazırlamak için 1 litrelik erlenmayer içerisine 500 ml steril saf su bırakıldı. Daha sonra belirtilen miktarda sukroz eklendi. Bu işlemi sırasıyla Çizelge 7'de verilen ortam bileşenlerinin, belirtilen konsantrasyonlarda erlenmayer 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 erlenmayere aktarıldı. Yapılacak deneyin amacına uygun olarak, bitki büyüme düzenleyiciler eklendikten sonra, pH 5.7-5.8'e ayarlandı (0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl ile). Ortamın katılaştırılması için agar eklendi. Hazırlanan besi ortamının sterilizasyonu; 1 atmosfer basınçta 121 °C'de 25 dakika süre ile, ya da besi ortamının miktarına göre bu süre azaltılarak ya da arttırılarak otoklavda bekletilmek suretiyle gerçekleştirildi. Sterilizasyonu yapılan besi ortamı, röpikaj odasında (transfer odası) steril kabin içerisinde Magenta GA-7 kültür kabı ya da küçük cam şişelere (Paşabahçe-210 ml) 40-50 ml olarak paylaştırıldı. Besi ortamı soğuyup katılaştıktan sonra deney kapsamında hazırlanan eksplantların ekim işlemi yapıldı. Kapaklarının etrafı parafilm ile sarılan kültür kapları ya da şişeler daha sonra büyüme odasına alındı.

3.2.1.2. Bitki Büyüme Düzenleyiciler İçin Stok Çözeltilerin Hazırlanması

Bitki Büyüme Düzenleyicilerine (BBD) ait stok çözeltilerin hazırlanması için, ihtiyaç duyulan miktarlar tartıldı. Stok çözeltiler genellikle mg/ml konsantrasyonlarında hazırlandı. Tartımdan sonra 50 ya da 100 ml steril balon jojelere 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 hormonlar (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, üç haftalık periyotlarla taze olarak hazırlandı.

3.2.2. Sterilizasyon Teknikleri

Çalışmada kullanılan materyale ait tomurcuk, sürgün ucu ve tohumların *in vitro* koşullarda herhangi bir kaynaktan olabilecek enfeksiyonunu engellemek ve kontaminasyondan kaçınmak için, başlangıç materyallerinin yanı sıra; besi ortamı, kullanılan alet ve kültür kaplarının tamamen steril şartlar altında hazırlanıp kullanılması son derece önemlidir.

Bu nedenle sterilize edilecek materyaller için, en iyi yüzey sterilizasyon tekniğinin geliştirilmesi gereklidir. Bununla birlikte, geliştirilen bu metodun, tüm bu mikroorganizmaları uzaklaştıracak, kullanılan materyalin sistemine zarar vermeyecek uygun bir metod olması gerekmektedir.

In vitro çalışmalar sırasında izlenen sterilizasyon teknikleri aşağıda tanımlanmıştır.

3.2.2.1. Filtrasyon ile Sterilizasyon

IAA, IBA, Zeatin, GA₃ gibi sıcakta bozulan BBD’lerin sterilizasyonu için mikrofiltrasyon kullanılmaktadır. Belirtilen maddelerden çalışmamız süresince yalnızca IAA ve IBA’dan faydalanılmıştır. Bu amaçla Steril Acrodisc (0.2 µm) mikrofiltre kullanılmıştır.

3.2.2.2. Pamuk ve Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Kullanılacak pamuklar, iki kat ambalaj kağıdına sarılıp, etüvde 180 °C’de 2 saat süreyle sterilizasyona tabi tutuldu. Kültür işlemleri sırasında kullanılacak olan pens ve bistürilerin steril kabin içerisinde muhafazası ve üzerlerinde bitki parçalarının kesilmesi amacıyla iki ayrı ebatta hazırlanan filtre kağıtları, iki kat ambalaj kağıdına sarılarak; etüvde aynı şekilde sterilize edildi.

3.2.2.3. Cam Malzemelerin Sterilizasyonu

Cam malzemeler (kültür şişesi, tüp, erlen, mezür, balon joje, pipet vb.) sadece sıcak su kullanılarak fırça yardımıyla temizlendi. Daha sonra üç defa saf sudan geçirilerek 180 °C’de etüvde 1 saat bekletilmek suretiyle kurutuldu. Tamamen kurumuş olan tüplerin ağzı steril pamuklar ile kapatılıp, ambalaj kağıtları ile iki kat sarıldıktan sonra, etüvde 180

°C’de 2 saat süre ile sterilize edildi. Kullanılacak olan Magenta GA-7 kültür kapları ve cam kültür şişeleri ise, alüminyum folyo ile sarılarak 121 °C’de, 1 atm. basınç altında, 25 dakika süre ile otoklavda sterilize edildi.

3.2.2.4. 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 edildi.

3.2.2.5. Röpikaj Odasının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Röpikaj odasında; genel olarak bir ultraviyole lambası, materyal ekim işlemlerinin gerçekleştirileceği steril bir kabin ve kabin içerisinde bunzen beki bulunmaktadır. Röpikaj 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 silindi.

3.2.3. Kültür Şartları (Büyüme Odası)

Kültür odası $40 \mu\text{m m}^{-2} \text{s}^{-1}$ yoğunluktaki ışık şiddetine sahip olup, ortam sıcaklığını 25 ± 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 ayarlandı. Bu şekilde hazırlanmış ortamda, kültürlerin gelişmesi için gerekli optimum koşullar sağlandı.

3.2.4. Aklimatizasyon Şartları (Adaptasyon Odası)

Çalışmalar sonucunda elde edilen ve büyüme odasından çıkarılan köklü bitkilerin arazi koşullarına uyumunu sağlamak amacıyla kullanılan aklimatizasyon odasının bir cephesi tamamen cam olup, gün ışığını olduğu gibi almaktadır. Ayrıca raflı bir tezgah sistemi bulunmakta ve bitkilerin gün ışığından daha iyi faydalanmaları sağlanmaktadır. Sıcaklığın daha iyi kontrol altına alınabilmesi için bir klima da bulunmaktadır.

3.2.5. Araştırmada Kullanılan Yöntemler

Bu bölümde genel olarak yöntemler tanımlanmış ve tekrarı önlemek amacıyla çalışmalar ana başlıklar halinde verilerek, çalışmayla ilgili kısa bir özet çıkarılmıştır.

Tez çalışması kapsamında yapılan tüm araştırmalar 5 ana başlık altında yürütülmüş olup, bunları şöyle sıralamak mümkündür;

- a) Sterilizasyon tekniklerinin geliştirilmesi çalışmaları,
- b) Kültür başlatma çalışmaları,
- c) Sürgün proliferasyon çalışmaları,
- d) Köklendirme çalışmaları,
- e) Aklimatizasyon (adaptasyon) çalışmaları

3.2.6. Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları

Araştırma kapsamındaki sterilizasyon çalışmalarında, %53 NaOCl içeren (Axion) ticari sterilanta yer verilmiştir. Tüm sterilizasyon işlemleri röpikaj odasında yapılmış olup, çalışmalarda genellikle cam deney tüpleri kullanılmıştır. Standart MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz ve 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilerek, BBD'siz olarak hazırlanmıştır. Ekim yapılan kültür kapları **Bölüm 3.2.3.**'te belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır.

Tüm sterilizasyon çalışmalarında yapılan gözlemler ve alınan ölçümler şöyledir;

Enfekte olan kültür (%); kültürlerin gelişmeleri dikkate alınarak 28 günlük kültür sonunda, enfekte olan kültür sayısının tüm kültürlerle oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Çimlenen tohum (%); olgun kayısı tohumlarının 28 günlük kültürü sonunda, çimlenen tohum sayısının, tüm tohumlara oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Gelişen kültür (%); kültürün 28. gününe kadar enfekte olmadan gelişen kültür sayısının, tüm kültürlerle oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Aşırı steril kültür (%); kültürün 28. gününe kadar herhangi bir gelişme olmayıp, kahverengileşerek bozulan kültür sayısının, tüm kültür sayısına oranı hesaplanarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

Sterilizasyon çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

3.2.6.1. Kayısı Tohumlarının Sterilizasyonu

3.2.6.1.1. Kayısı Tohumlarının Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde “*Hacıhaliloğlu*” kayısı tohumlarının sterilizasyonu ve *in vitro* çimlenmesi üzerine NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Endokarpı çekiçle kırılarak hazırlanmış kayısı tohumları yüzey sterilizasyonundan önce 3-5 dakika steril saf suda yıkandıktan sonra %70'lik alkol içerisinde 40 sn'lik bir ön sterilizasyona tabi tutuldu. Daha sonra NaOCl'nin %5, 10, 15 ve 20'lik konsantrasyonlarından hazırlanmış solüsyonlar içerisinde bir kontrol grubuyla birlikte 30 dakika çalkalandılar. Sterilizasyonu tamamlanan tohumlar, her tekrarda 5 dakika olmak üzere 5 defa steril saf su içerisinde çalkalanarak sterilantın etkisi giderildi. Tohum üzerindeki testanın soyulmasını kolaylaştırmak için 1 saat süreyle steril saf suda bekletildi. Steril kabin içerisine alınan tohumların testası uzaklaştırıldıktan sonra, kurutma kağıdı üzerinde kurutularak hormonsuz MS besi ortamında kültüre alındı.

3.2.6.1.2. Kayısı Tohumlarının Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi

Bu deneyde “*Hacıhaliloğlu*” kayısı tohumlarının sterilizasyonu ve *in vitro* çimlenmesi üzerine NaOCl'nin farklı bekletme sürelerindeki etkisi incelenmiştir. Endokarpı çekiçle kırılarak hazırlanmış kayısı tohumları yüzey sterilizasyonundan önce 3-5 dakika steril saf suda yıkandıktan sonra %70'lik alkol içerisinde 40 sn'lik bir ön sterilizasyona tabi tutuldu. Daha sonra NaOCl'nin %5'lik konsantrasyonunda 10, 15, 20 ve 30 dakika süreyle bir kontrol grubuyla birlikte bekletildi. Sterilizasyonu tamamlanan tohumlar her tekrarda 5 dakika olmak üzere 5 defa steril saf su içerisinde çalkalanarak sterilantın etkisi giderildi. Tohum üzerindeki testanın soyulmasını kolaylaştırmak için 1 saat süreyle steril saf suda bekletildi. Steril kabin içerisine alınan tohumların testası uzaklaştırıldıktan sonra, kurutma kağıdı üzerinde kurutularak hormonsuz MS besi ortamında kültüre alındı.

3.2.6.2. Kayısı Ağaçlarından Alınan Nodal Tomurcukların Sterilizasyonu

3.2.6.2.1. Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde kayısı ağaçlarından alınan nodal tomurcukların sterilizasyonu üzerine NaOCl (Sodyum hipoklorit)'in farklı konsantrasyonlarında 30 dakikalık bekletme süresinin

etkisi incelenmiştir. Kayısı ağaçlarından alınan sürgünler, laboratuvarında tek tomurcuk bulunduran 2-3 cm'lik küçük çelikler halinde kesilerek, musluk suyunda 3-5 dakika yıkandıktan sonra, %70'lik alkol içerisinde 40 sn bekletildi. Daha sonra NaOCl'nin %5, 10, 15 ve 20'lik konsantrasyonlarından hazırlanmış sterilantlarda kontrol grubuyla birlikte her 2-3 dakikada bir sallanarak 30 dakika bekletildi. Sterilizasyonu tamamlanan materyaller, her tekrarda 5 dakika olmak üzere 5 defa steril saf su içerisinde çalkalanarak sterilantın etkisi giderildi ve son aşamada steril distile su içerisinde bekletildi. Bu işlemten sonra steril kabin içinde kurutma kağıdı üzerinde kurutulan çelikler, 0.5-1 cm uzunluğunda kesilerek hormonsuz MS besi ortamında kültüre alındı.

3.2.6.2.2. Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi

Bu deneyde, kayısı ağaçlarından alınan nodal tomurcukların sterilizasyonu üzerine %5'lik NaOCl'nin farklı bekletme sürelerinin etkisi incelenmiştir. Kayısı ağaçlarından alınan sürgünler, laboratuvarında tek tomurcuk bulunduran 2-3 cm'lik küçük çelikler halinde kesilerek, musluk suyunda 3-5 dakika yıkandıktan sonra, %70'lik alkol içerisinde 40 sn bekletildi. Daha sonra %5'lik NaOCl içerisinde 5, 10, 20 ve 30 dakika süreyle kontrol grubuyla birlikte 2-3 dakikada bir sallanarak bekletildi. Sterilizasyonu tamamlanan materyaller, her tekrarda 5 dakika olmak üzere 5 defa steril saf su içerisinde çalkalanarak sterilantın etkisi giderildi ve son aşamada steril saf su içerisinde bekletildi. Bu işlemten sonra steril kabin içinde kurutma kağıdı üzerinde kurutulan çelikler 0.5-1 cm uzunluğunda kesilerek hormonsuz MS besi ortamında kültüre alındı.

3.2.6.3. Kayısı Ağaçlarından Alınan Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu

3.2.6.3.1. Sürgün Ucu Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, kayısı ağaçlarından alınan sürgün ucu materyalinin sterilizasyonu üzerine NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Deneyde kullanılacak sürgün uçları; ağaçlar üzerindeki tomurcukların patlamasından itibaren ve yaklaşık olarak 2-5 yaprak açıldıktan sonra alındı. Laboratuvara getirilen materyaller, musluk suyunda 3-5 dakika yıkanarak 30 sn süreyle %70'lik alkolde çalkalandı ve steril saf sudan geçirildikten sonra %5-10-15 ve 20'lik NaOCl konsantrasyonlarından hazırlanmış solusyonların içerisine bir kontrol grubuyla birlikte bırakıldı. Burada 20 dakika bekletildikten sonra her defasında 5 dakika olmak üzere 5 defa steril saf suda çalkalandı. Sterilizasyonu

tamamlanan materyaller, steril kabin içerisine alınarak, en uç kısımda bir yaprakçık ve sürgün ucu taslağı kalacak şekilde etrafı iyice temizlendi. Bu şekilde kurutma kağıtları üzerinde kurutulduktan sonra 1 mg^l⁻¹ BAP içeren MS besi ortamında kültüre alındı.

3.2.6.3.2. Sürgün Ucu Sterilizasyonuna %10'luk NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi

Bu deneyde, kayısı ağaçlarından alınan sürgün ucu materyalinin sterilizasyonu üzerine %10'luk NaOCl'te farklı bekletme sürelerinin etkisi incelenmiştir. Deneyde kullanılacak sürgün uçları; ağaçlar üzerindeki tomurcukların patlamasından itibaren ve yaklaşık olarak 2-5 yaprak açıldıktan sonra alındı. Laboratuvara getirilen materyaller, musluk suyunda 3-5 dakika yıkanarak 30 sn süreyle %70'lik alkolde çalkalandı ve steril saf sudan geçirildikten sonra %10'luk NaOCl konsantrasyonu içerisinde 10, 15, 20, 25 ve 30 dakikalık sürelerle ayrı ayrı bekletildi. Daha sonra her defasında 5 dakika olmak üzere 5 defa steril saf suda çalkalandı. Sterilizasyonu tamamlanan materyaller, steril kabin içerisine alınarak, en uç kısımda bir yaprakçık ve sürgün ucu taslağı kalacak şekilde etrafı iyice temizlendi. Bu şekilde kurutma kağıtları üzerinde kurutulduktan sonra 1 mg^l⁻¹ BAP içeren MS besi ortamında kültüre alındı.

3.2.7. Kültür Başlatma Çalışmaları

Proliferasyon çalışmalarında kullanılacak olan sürgünlerin elde edilebilmesi amacıyla yapılan kültür başlatma çalışmalarında, kayısı ağaçlarından alınan nodal (lateral) tomurcuklar ve kayısı tohumları kullanıldı. Sterilizasyon işlemi tamamlanan materyaller, deney kapsamındaki besi ortamlarında kültüre alındı. Magenta GA-7 kültür kaplarına veya cam şişelere 40-50 ml besi ortamı konuldu. Her kültür kabı veya şişesine nodal tomurcuk deneyi için 4 nodal tomurcuk, tohum deneyi için 4 tohum ekimi yapıldı. Ekim yapılan kültür kapları **Bölüm 3.2.3.**'te belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakıldı.

Kültür başlatma çalışmaları süresince yapılan deneylerdeki her uygulama için en az 16 eksplant kullanıldı. 28 günlük kültür sonunda aşağıdaki ölçümler yapıldı.

Gelişen tomurcuk (%); nodal tomurcukların besi ortamına ekiminden sonra 28 günlük gelişimleri dikkate alınarak; kabarma, patlama ve sürme faaliyetlerini gösteren tomurcuk toplamını ifade etmektedir.

Rozet bitki oluşturan tomurcuk (%); nodal tomurcukların besi ortamına ekiminden sonra 28 günlük gelişimleri dikkate alınarak, bu periyot sonunda sürgün oluşturan tomurcuk oranını ifade etmektedir.

Alt kültüre alınabilecek eksplant (%); 28 günlük kültür sonunda, gelişme görülen tomurcuklar içerisinde proliferasyon deneyinde kullanılabilecek yani alt kültürlerde faydalanılabilecek materyallerin sayısını ifade etmektedir.

Çimlenen tohum (%); kayısı tohumlarının besi ortamında ekiminin yapılmasından 14 günlük kültür periyodu sonunda çimlenen tohumların, deneyde kullanılan toplam tohuma oranı ifade etmektedir.

Sürgün oluşturan tohum (%); çimlenmesi gerçekleşen ve alt kültüre alınabilecek özellikte sürgün oluşturan tohum sayısını ifade etmektedir.

Ortalama sürgün uzunluğu (mm); tohumlardan elde edilen ve alt kültüre alınabilecek özellikteki sürgünlerin uzunluklarının ortalamasını ifade etmektedir.

Kültür başlatma çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

3.2.7.1. Kayısı Tohumlarından Kültür Başlatma Çalışmaları

3.2.7.1.1. Tohumların *In Vitro* Çimlenmesine BBD'lerin Etkisi

Bu deneyde, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi üzerine farklı sitokinin (BAP, Kinetin) ve oksin (IAA, NAA) tiplerinin kontrol (hormonsuz) grubuyla birlikte etkisi incelenmiştir. Her uygulama için BBD'lerden 1 mg l⁻¹ konsantrasyonunda kullanılmış ve MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.7.1.2. Tohumların *In Vitro* Çimlenmesine Eksplant Tipinin Etkisi

Bu deneyde, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi üzerine eksplant tipinin (tüm tohum, yarım tohum, embriyo) etkisi incelenmiştir. MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mg l⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.7.2. Nodal Tomurcuklardan Kültür Başlatma Çalışmaları

3.2.7.2.1. Farklı Besi Ortamlarının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, MS (Murashige and Skoog, 1962), WPM (McCown and Lloyd, 1981) ve SH (Schenk and Hildebrandt, 1972) gibi farklı besi ortamlarının etkisi incelenmiştir. Kullanılan besi ortamlarına; 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mg l⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.7.2.2. MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, MS besi ortamı kuvvetlerinin (1/1 MS, 1/2 MS, 1/4 MS) etkisi incelenmiştir. MS temel besi ortamının 1

litredeki bileşenleri belirtilen yoğunluklarda hazırlanarak kullanılmıştır. Mevcut besi ortamlarına; 30 gl^{-1} sukroz, 6.3 gl^{-1} agar ve 1 mgL^{-1} BAP ilave edilmiştir.

3.2.7.2.3. Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, farklı sitokinin (BAP, Kinetin) ve oksin (NAA, IBA) tiplerinin kontrol grubuyla (hormonsuz) birlikte etkisi incelenmiştir. Her uygulama için BBD'lerden 1 mgL^{-1} konsantrasyonunda kullanılmış ve MS besi ortamına 30 gl^{-1} sukroz, 6.3 gl^{-1} agar ilave edilmiştir.

3.2.7.2.4. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, BAP'ın farklı konsantrasyonlarının (0.5, 1, 2, 4, 8, 16 mgL^{-1}) etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 gl^{-1} sukroz, 6.3 gl^{-1} agar ilave edilmiştir.

3.2.7.2.5. Farklı Şeker Tiplerinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, farklı şeker tiplerinin (sukroz, fruktoz, glikoz, maltoz) etkisi incelenmiştir. Belirtilen şeker tiplerinden her bir uygulama için 30 gl^{-1} kullanılmış; MS besi ortamına 6.3 gl^{-1} agar ve 1 mgL^{-1} BAP ilave edilmiştir.

3.2.7.2.6. Sukrozun Farklı Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, bir önceki deneyde seçilen ve uygun şeker tipi olan sukrozun farklı konsantrasyonlarının (%3, 4, 6, 8) etkisi kontrol grubuyla birlikte incelenmiştir. Her uygulama için; MS besi ortamına 6.3 gl^{-1} agar ve 1 mgL^{-1} BAP ilave edilmiştir.

3.2.7.2.7. BAP'lı Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, 1 mgL^{-1} BAP içeren ortama ilave edilen IBA ve NAA'nın (0.1, 0.3, 0.5 mgL^{-1}) konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 gl^{-1} sukroz, 6.3 gl^{-1} agar ilave edilmiştir.

3.2.7.2.8. Kinetin’li Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, 1 mg^l⁻¹ kinetin içeren ortama ilave edilen IBA ve NAA’in (0.1, 0.3, 0.5 mg^l⁻¹) konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.7.2.9. Ağaçlardan Tomurcuk Alma Zamanının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmak için, ağaçlardan tomurcuk alma zamanının etkisi incelenmiştir. Aylık periyotları aksatmamak amacıyla deneyler her ayın 2. haftasında yapılmış ve yılın her ayını kapsayacak şekilde 1 yıl devam etmiştir. Hazırlanan MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mg^l⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.8. Sürgün Proliferasyon Çalışmaları

Sürgün proliferasyon çalışmaları kapsamında yapılan deneylerde, materyal olarak nodal tomurcuklardan elde edilen rozet bitkiler, tohum çalışmaları için ise, tohumlardan elde edilen sürgün uçları kullanıldı. Proliferasyona alınacak materyallerin bulunduğu kültür kapları steril kabin içerisine alınmadan önce alkol ile silindi. Kültür kaplarından çıkarılan rozet bitkiler, uygun şekilde temizlenip hazırlanarak; tohumların ise, 3 haftalık gelişme sonucu oluşan 1-1.5 cm uzunluğundaki sürgün uçları kesilip kotelidonlarından ayrılarak kullanıldı. Magenta GA-7 kültür kaplarına veya cam şişelere 40-50 ml besi ortamı konuldu. Her kültür kabı veya şişesine 4 adet rozet bitki, tohum deneyi için 4 sürgün ucu ekimi yapıldı. Ekim yapılan kültür kapları **Bölüm 3.2.3.**’te belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakıldı.

Deneylerdeki her uygulama için en az 20 eksplant kullanılmıştır. 28 günlük kültür sonunda aşağıdaki ölçümler yapıldı.

Ortalama sürgün sayısı; eksplantlar üzerinde gelişen sürgünlerin steril kabin içerisinde sayılarak ortalamasının alınması sonucu ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

Ortalama sürgün uzunluğu (mm); proliferasyon sonucu gelişen sürgünlerin steril kabin içerisinde digital kumpas yardımıyla ölçülerek ortalamasının alınması sonucu ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

Sürgün proliferasyon çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

3.2.8.1. Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları

3.2.8.1.1. MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi sonucu elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna, MS besi ortamı kuvvetlerinin (1/4 MS, 1/2 MS, 1/1 MS, 2 MS) etkisi incelenmiştir. MS temel besi ortamının 1 litredeki bileşenleri, belirtilen yoğunluklarda hazırlanarak kullanılmıştır. Mevcut besi ortamlarına; 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mg⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.8.1.2. Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi sonucu elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna, farklı şeker tiplerinin (sukroz, fruktoz, glikoz, laktoz) etkisi incelenmiştir. Belirtilen şeker tiplerinden her bir uygulama için 30 gl⁻¹ kullanılmış; MS besi ortamına 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mg⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.8.1.3. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi sonucu elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna, BAP'ın farklı konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1, 2, 4 mg⁻¹) etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.8.1.4. Alt Kültür Sayısının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi sonucu elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna, alt kültür sayısının (1., 2., 3 ve 4.) etkisi incelenmiştir. Çimlenen kayısı tohumlarından alınan sürgünler 1. alt kültüre alınmış, 28 günlük kültür periyodundan sonra sürgünlerin uygun olanları 2. alt kültüre alınmıştır. Gerekli sürenin sonunda buradan çıkan sürgünler 3. alt kültüre, buradan elde edilen sürgünler de 4. alt kültüre alınmıştır. Deney süresince kullanılan MS besi ortamına; 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mg⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.8.2. Nodal Tomurcuklardan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları

3.2.8.2.1. MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna, MS besi ortamı kuvvetlerinin (1/2 MS, 1/1 MS, 2 MS, 4 MS) etkisi incelenmiştir. MS temel besi ortamının 1 litredeki bileşenleri, belirtilen yoğunluklarda hazırlanarak kullanılmıştır. Mevcut besi ortamlarına;

30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mgl⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.8.2.2. Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna, farklı şeker tiplerinin (sukroz, fruktoz, glikoz, laktoz) etkisi incelenmiştir. Belirtilen şeker tiplerinden her bir uygulama için 30 gl⁻¹ kullanılmış; MS besi ortamına 6.3 gl⁻¹ agar ve 1 mgl⁻¹ BAP ilave edilmiştir.

3.2.8.2.3. Farklı Sitokininlerin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna, farklı sitokinin tiplerinin (BAP, kinetin ve TDZ) etkisi incelenmiştir. Sitokininlerin her biri 1 mgl⁻¹ konsantrasyonunda kullanılmıştır. MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz ve 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.8.2.4. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna, farklı BAP konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1, 2, 4 mgl⁻¹) etkisi bir kontrol grubuyla birlikte incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.8.2.5. Farklı Kinetin Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna farklı kinetin konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1, 2, 4 mgl⁻¹) etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.8.2.6. Farklı TDZ Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna farklı TDZ konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1, 2, 4 mgl⁻¹) etkisi incelenmiştir. Her uygulama için MS besi ortamına 30 gl⁻¹ sukroz, 6.3 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.9. Köklendirme Çalışmaları

Hem nodal tomurcuklardan, hem de tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonu sonucu ortaya çıkan materyallerin köklendirilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda; 2 – 3 cm uzunluğundaki sürgünler kullanılmıştır. Sürgünlerin alt tarafından

1 cm'lik kısmın yaprakları temizlendikten sonra köklenme ortamına aktarılmıştır. Ekim yapılan kültür kapları **Bölüm 3.2.3.**'te belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır.

Köklendirme deneyleri kapsamındaki uygulamaların her biri için ortalama 10 sürgün kullanılmış ve 28 günlük kültür periyodu sonunda aşağıdaki ölçümler yapılmıştır.

Köklenme oranı (%); köklenen sürgün sayısının toplam sürgün sayısına oranını ifade etmektedir.

Ortalama kök sayısı; köklenen her bir sürgündeki primer kök sayısının ortalamasını ifade etmektedir.

Ortalama kök uzunluğu (mm); köklenen sürgünlerdeki primer kök uzunluğunun digital kumpasla ölçülerek ortalamasının alınması sonucu ortaya çıkan rakamı ifade etmektedir.

Sürgünlerin köklendirilmesi çalışmaları kapsamında aşağıdaki deneyler yapılmıştır.

3.2.9.1. Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları

3.2.9.1.1. IBA'nın Köklenmeye Etkisi

Bu deney kapsamında, tohum kaynaklı sürgünlerin proliferasyonu sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine farklı IBA konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1 ve 2 mg^l⁻¹) etkisi incelenmiştir. Hazırlanan MS besi ortamına, 20 gl⁻¹ sukroz, 6.2 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.9.1.2. NAA'nın Köklenmeye Etkisi

Bu deney kapsamında, tohum kaynaklı sürgünlerin proliferasyonu sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine farklı NAA konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1, 2 mg^l⁻¹) etkisi incelenmiştir. Hazırlanan MS besi ortamına, 20 gl⁻¹ sukroz, 6.2 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.9.1.3. Karanlıkta Bırakma İşleminin Köklenmeye Etkisi

Bu deney kapsamında, tohum kaynaklı sürgünlerin proliferasyonu sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine karanlıkta bırakma işleminin (Fotoperiyot, 1 gün karanlık, 3 gün karanlık, 5 gün karanlık, 7 gün karanlık) etkisi incelenmiştir. Karanlık ortamın sağlanması amacıyla, kültür kapları alüminyum folyo ile iki kat sarılıp daha sonra kapalı bir kutu içerisine yerleştirilerek büyüme odasına bırakılmıştır. Belirtilen süreleri tamamlayan uygulamalar, sırasıyla kutulardan çıkarılmış ve normal fotoperiyoda geçilmiştir. Hazırlanan MS besi ortamına, 20 gl⁻¹ sukroz, 6.2 gl⁻¹ agar ve 0.5 mg^l⁻¹ NAA ilave edilmiştir.

3.2.9.2. Nodal Tomurcukların Proliferasyonu Sonucu Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları

3.2.9.2.1. IBA'nın Köklenmeye Etkisi

Bu deney kapsamında, nodal tomurcukların proliferasyonu sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine farklı IBA konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1, 2 mg^l⁻¹) etkisi incelenmiştir. Hazırlanan MS besi ortamına, 20 gl⁻¹ sukroz, 6.2 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.9.2.2. NAA'nın Köklenmeye Etkisi

Bu deney kapsamında, nodal tomurcukların proliferasyonu sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine farklı NAA konsantrasyonlarının (0.25, 0.5, 1, 2 mg^l⁻¹) etkisi incelenmiştir. Hazırlanan MS besi ortamına, 20 gl⁻¹ sukroz, 6.2 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir.

3.2.10. Aklimatizasyon (adaptasyon) Çalışmaları

In vitro'da köklenmiş kayısı bitkilerinin arazi şartlarına adaptasyonunda, ilk aşama olan aklimatizasyon için, torf (tam sterilize, yarı sterilize ve sterilize edilmeyen) kullanılmıştır. Bitkiler köklenme ortamından çıkarılıp musluk suyu altında yıkanarak, su içerisinde bir süre bekletildikten sonra plastik bardaklara dikilmiştir. Dikim işleminden sonra, iyice sulanan bitkilerin üzeri 50 ml'lik beherlerle kapatılarak Bölüm 3.2.3.'te belirtilen büyüme odasında gelişmeye bırakılmıştır. Sulama işlemi düzenli olarak yapılmak suretiyle, nemi kontrol altında tutulmuştur. Bu şekilde gelişmeye başlayan bitkilerin üzeri 7. günden itibaren aşamalı olarak (7. günde 10 dakika, 8. günde 20 dakika, 9. günde 1 saat, 10. günde 2 saat, 11. günde 4 saat) açıldıktan sonra 4-5 gün içinde tamamen açılmıştır. Üzerleri tamamen açılan bitkiler 1 hafta daha büyüme odasında bekletildikten sonra, **Bölüm 3.2.4.**'te özellikleri verilen ve sera koşullarına sahip alıştırma odasına alınmıştır. Bu ortamda da 2-3 hafta bekletildikten sonra arazi koşullarına transfer edilmiştir. Buradaki bakım işlemleri düzenli bir şekilde yapılarak gelişmeleri sağlanmıştır.

Aklimatizasyon çalışmalarında kullanılan torf 3 şekilde sınıflandırılmış ve şöyle hazırlanmıştır;

A. Sterilize edilmiş torf; 2.5 litrelik torf, 2 kat alüminyum folyoya sarılarak otoklavda 1 atmosfer basınçta 121 °C'de 25 dakika süre ile sterilize edilmiş materyali ifade etmektedir.

B. Yarı sterilize edilmiş torf; otoklavda 1 atmosfer basınçta 121 °C’de 25 dakika süre ile sterilize edilmiş torf ile sterilize edilmemiş torfun 1:1 oranında karışımından oluşan materyali ifade etmektedir.

C. Sterilize edilmemiş torf; sterilize edilmeden kullanılan materyali ifade etmektedir.

3.2.11. Verilerin Değerlendirilmesi

Bütün çalışmalar, tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüş ve 2 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Elde edilen verilerin analizi amacıyla **SPSS 13.0** paket programı kullanılmıştır. Test edilen işlemler arasındaki farklılıkların belirlenebilmesi için veriler, ANOVA’ya tabi tutulmuştur. İstatistiksel olarak önemli görülen işlemler belirlendiğinde, ortalama veriler arasındaki farklılıklar $P= 0.05$ seviyesinde DUNCAN testine tabi tutulmuştur. Oransal verilerde ise, Ki kare (χ^2) testi kullanılmıştır.

Analizlerde aşağıdaki önemlilik seviyeleri kullanılmıştır:

$P > 0.05$ = önemli değil

$P < 0.05$ = önemli

$P < 0.01$ = çok önemli

$P < 0.001$ = oldukça çok önemli

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları

Sterilizasyon çalışmaları kapsamında yapılan deneyler ve bu deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.1.1. Kayısı Tohumlarının Sterilizasyonu

4.1.1.1. Tohumların Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidine ait tohumların sterilizasyonu ve *in vitro* çimlenmesi üzerine NaOCl'in %5, 10, 15 ve 20'lik konsantrasyonlarının etkisi test edilmiştir. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 8'de verilmiştir.

Çizelge 8. Tohumların sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi *

İşlem	Çimlenen tohum (%)	Enfekte olan tohum (%)	Aşırı steril tohum (%)
Kontrol	13	87	-
% 5 NaOCl	67	20	20
% 10 NaOCl	20	27	53
% 15 NaOCl	13	13	87
% 20 NaOCl	13	13	87
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05

* Sonuçlar kültürün 21. gününde ve her uygulama için 15 tohumun ortalamasını içermektedir.

Deney kapsamında uygulanan işlemlerden elde edilen sonuçlar arasında; çimlenen tohum, enfekte olan tohum ve aşırı steril tohum oranlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). Çimlenme oranı bakımından en iyi sonucu %67'lik oran ile %5 NaOCl serisi vermiş, diğer seriler kontrol grubuna yakın sonuçlar verirken, oldukça düşük olduğu görülmüştür. Enfekte olan tohum oranı yönünden en olumsuz sonucu %87 ile kontrol grubu vermiştir. %15 ve %20'lik NaOCl gruplarında aşırı steril tohum oranının yüksek çıkması nedeniyle çimlenme düşük düzeyde gerçekleşmiştir. Genel bir değerlendirme ile; %5'lik NaOCl konsantrasyonunun çimlenme oranının yüksek olması ve diğer değerlerinin düşük olması bakımından kayısı tohumu için uygun bir sterilizasyon sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

4.1.1.2. Tohumların Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi

Bu deneyde, bir önceki deneyden elde edilen sonuca bağlı olarak, kayısı tohumları %5'lik NaOCl konsantrasyonunda 10, 15, 20 ve 30 dakika bekletilerek uygun süre tespit edilmeye çalışılmıştır. Çizelge 9'da; bu deneyden elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 9. Tohumların sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te farklı bekletme sürelerinin etkisi *.

İşlem	Çimlenen tohum (%)	Enfekte olan tohum (%)
Kontrol	13	87
10 dakika	60	20
15 dakika	73	13
20 dakika	53	7
30 dakika	27	-
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05	P < 0.05

* Sonuçlar kültürün 21. gününde ve her uygulama için 15 tohumun ortalamasını içermektedir.

Test edilen farklı bekletme sürelerinden elde edilen sonuçlar arasında; çimlenen tohum ve enfekte olan tohum oranlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır ($P < 0.05$). Çimlenme oranları yönünden en yüksek sonuç; 15 dakikalık gruptan elde edilmiş ve %73 oranında bir çimlenme meydana gelmiştir. Enfekte olan tohum oranı bakımından %87'lik değer ile en olumsuz sonucu kontrol grubu vermiştir. 30 dakikalık grup dışındaki, bütün gruplarda düşük oranda da olsa enfeksiyon görülmüştür. Ancak hem çimlenen tohum, hem de enfekte olan tohum verileri birlikte değerlendirildiğinde; 15 dakikalık bekletme süresi en iyi sonucu vermiştir. Tohum sterilizasyonu ile ilgili yapılan bu deneyler sonucunda; etkili bir tohum sterilizasyon için **%5 NaOCl + 15 dakika** uygulamasının yeterli olacağı belirlenmiştir.

4.1.2. Kayısı Ağaçlarından Alınan Nodal Tomurcukların Sterilizasyonu

4.1.2.1. Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde, kayısı ağaçlarından alınan nodal tomurcukların sterilizasyonu üzerine NaOCl'nin etkisini belirlemek üzere %5, 10, 15 ve 20'lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara ait istatistiksel veriler Çizelge 10'da verilmiştir.

Uygulanan işlemlerden elde edilen sonuçlar arasında; enfekte olan kültür, yaşayan kültür ve aşırı yüzey sterilizasyonuna maruz kalan kültür oranları bakımından verilere uygulanan ki kare analizine göre istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). Gruplar arasında en yüksek enfeksiyon oranı %87 ile kontrol grubunda görülmüştür.

Çizelge 10. Nodal tomurcukların sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi *.

İşlem	Enfekte olan kültür (%)	Yaşayan kültür (%)	Aşırı steril kültür (%)
Kontrol	87	13	-
% 5 NaOCl	33	53	13
% 10 NaOCl	13	33	53
% 15 NaOCl	13	13	73
% 20 NaOCl	7	7	87
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05

* Sonuçlar kültürün 21. gününde ve her uygulama için 15 nodal tomurcuğun ortalamasını içermektedir.

NaOCl konsantrasyonu arttıkça enfeksiyon oranında düşüş meydana gelmiş ve en düşük enfeksiyon oranı %20'lik konsantrasyonda %7 olarak gerçekleşmiştir. Yaşayan kültür oranı bakımından en iyi sonucu %53'lük oran ile NaOCl'nin %5'lik konsantrasyonu vermiştir. Diğer gruplardaki yaşayan kültür oranının düşük çıkması kültürlerin aşırı steril olmasından kaynaklanmıştır. Aşırı steril kültür yönünden en düşük oranı %5'lik NaOCl serisi %13 olarak vermiştir. Yapılan deneye göre; nodal tomurcukların sterilizasyonu için NaOCl'nin gerekli olduğu ve bunun içinde %5'lik konsantrasyonun yeterli olabileceği sonucuna varılmıştır.

4.1.2.2. Nodal Tomurcukların Sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi

Bu deneyde, bir önceki deneyden elde edilen sonuca bağlı olarak, nodal tomurcuklar %5'lik NaOCl konsantrasyonunda 5, 10, 20 ve 30 dakika bekletilerek uygun sürenin belirlenmesine çalışılmıştır.

Çizelge 11'de görüldüğü gibi, uygulanan işlemlerden elde edilen sonuçlar arasında hem enfekte olan kültür hem de yaşayan kültür oranlarında istatistiksel olarak önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır ($P < 0.05$). Enfekte olan kültür bakımından kontrol grubunda en yüksek oran (%94) bulunmuş, ancak diğer gruplarda %6'luk oran ile istenen sınırlarda

güzel sonuçlar elde edilmiştir. Yaşayan kültür bakımından, kontrol grubu hariç olmak üzere, diğer uygulamalar olumlu sonuç vermiş ve en yüksek değer 10 dakika uygulaması %94 olarak bulunmuştur. Yapılan deney neticesinde, kayısı ağaçlarından alınan nodal tomurcukların sterilizasyonu için en iyi NaOCl konsantrasyonu ve süresinin **%5 NaOCl + 10 dakika** olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 11. Nodal tomurcukların sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te farklı bekletme sürelerinin etkisi *.

İşlem	Enfekte olan kültür (%)	Yaşayan kültür (%)
Kontrol	94	6
5 dakika	6	88
10 dakika	6	94
20 dakika	6	75
30 dakika	6	56
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05	P < 0.05

* Sonuçlar kültürün 21. gününde ve her uygulama için 16 nodal tomurcuğun ortalamasını içermektedir.

4.1.3. Kayısı Ağaçlarından Alınan Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu

4.1.3.1. Sürgün Ucu Sterilizasyonuna NaOCl'nin Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi

Bu deneyde kayısı ağaçlarından alınan sürgün uçlarının sterilizasyonu üzerine NaOCl'nin etkisini belirlemek üzere %5, 10, 15 ve 20'lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara ait istatistiksel veriler Çizelge 12'de verilmiştir.

Çizelge 12. Sürgün ucu sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi *.

İşlem	Enfekte olan kültür (%)	Yaşayan kültür (%)	Aşırı steril kültür (%)
Kontrol	87	13	-
% 5 NaOCl	-	80	20
% 10 NaOCl	-	67	27
% 15 NaOCl	-	40	60
% 20 NaOCl	-	27	73
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05

* Sonuçlar kültürün 21. gününde ve her uygulama için 15 sürgün ucu ortalamasını içermektedir.

Enfekte olan kültür, yaşayan kültür ve aşırı steril kültür bakımından uygulamalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Sadece kontrol grubunda görülen enfeksiyonun oranı %87 olarak ortaya çıkmıştır.

Yaşayan kültür oranları yönünden en iyi sonuç, %80'lik oran ile %5 NaOCl uygulamasından elde edilirken, en kötü sonuç ise kontrol grubu ortaya çıkmış ve %13 olarak gerçekleşmiştir. Aşırı steril kültür bakımından en düşük sonucu %5 ve 10 NaOCl uygulamaları vermiştir. Aşırı steril olma durumu %15 ve %20 gruplarında en yüksek seviyelere çıkmış ve adeta kullanımının uygun olmadığı sonucunu ortaya çıkarmıştır. Genel olarak deney sonucunda %5 veya %10 NaOCl uygulamalarının etkili bir sürgün ucu sterilizasyonu için yeterli olabileceği kanaatine varılmıştır.

4.1.3.2. Sürgün Ucu Sterilizasyonuna %10'luk NaOCl'te Farklı Bekletme Sürelerinin Etkisi

Bu deneyde, bir önceki deneyden elde edilen sonuç esas alınarak, sürgün uçları %10'luk NaOCl konsantrasyonunda 10, 15, 20, 25 ve 30 dakika bekletilerek sterilizasyon için uygun süre belirlenmeye çalışılmıştır. Çizelge 13'te, elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 13. Sürgün ucu sterilizasyonuna %10'luk NaOCl'te farklı bekletme sürelerinin etkisi*.

İşlem	Enfekte olan kültür (%)	Yaşayan kültür (%)
Kontrol	87	13
10 dakika	13	87
15 dakika	-	87
20 dakika	13	87
25 dakika	13	87
30 dakika	-	47
χ^2 (s.d: 5)	P < 0.05	P < 0.05

* Sonuçlar kültürün 21. gününde ve her uygulama için 15 sürgün ucunun ortalamasını içermektedir.

Uygun bekletme sürenin bulunması amacıyla yapılan deneyde, enfekte olan kültür ve yaşayan kültür oranı bakımından uygulanan işlemlerden elde edilen sonuçlar arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). En yüksek enfekte oranı %87 ile kontrol grubunda ortaya çıkmıştır. 15 ve 30 dakika gruplarında hiç enfeksiyon

olmamasına rağmen; diğer grupların genelinde %13 oranında görülmüştür. Yaşayan kültür bakımından 10, 15, 20 ve 25 dakikalık bekletme sürelerinde %87'lik oran ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak ortalama bir süre olarak 15 dakikalık uygulamanın yeterli olabileceği sonucuna varılmıştır. Yapılan deneye göre; etkili bir sürgün ucu sterilizasyonu için; **%10 NaOCl + 15 dakika** uygulamasının yeterli olabileceği belirlenmiştir.

4.1.4. Materyalin Sterilizasyonu ile İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma

Genel olarak *in vitro* çalışmalar sırasında başlangıç materyalinin uygun bir teknikle sterilize edilmesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmaların devam edilebilirliği büyük ölçüde uygun bir şekilde sterilizasyonu yapılarak besi ortamına aktarılan materyal miktarına bağlıdır. Bu nedenle, üzerinde çalışılan bitki tür veya çeşidi için uygun sterilizasyon tekniğinin belirlenmesi ilk ve en önemli aşamadır. Yaptığımız sterilizasyon çalışmaları ile, yerli kayısı çeşitlerinin *in vitro* çalışmalarına model olabilecek şekilde “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidine ait nodal tomurcuk, sürgün ucu ve tohum materyali için sterilizasyon teknikleri belirlenmiştir.

Nodal tomurcukların sterilizasyonu ile ilgili bazı kayısı çeşitleri ve sert çekirdekli meyve türlerinde yapılan çalışmalarda; farklı sterilant, konsantrasyon, bekletme süresi ve ön sterilizasyon işlemlerinin uygulandığı görülmüştür. Bazı çalışmalarda ön sterilizasyon için Benomyl gibi fungusitler belli oranlarda kullanılırken, bazılarında ise, materyaller öncelikle el yıkama deterjanları ile belli sürelerde ön sterilizasyona tabi tutulduktan sonra normal sterilizasyon işlemine geçildiği bildirilmiştir. Ancak yaptığımız çalışma ile; “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidine ait nodal tomurcukların sterilizasyonu için %5 NaOCl içerisinde 10 dakika bekletme işleminin etkili bir sterilizasyon için yeterli olacağı tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuç genel olarak; diğer araştırmacıların sonuçlarına göre hem sterilant oranı hem de süresi yönünde oldukça düşük çıkmıştır. Bunun nedeni ise, çalışmamızda vejetasyon dönemi içerisinde nodal tomurcukların kullanılması, mevcut literatür çalışmalarında ise genellikle kış dinlenme dönemindeki tomurcukların kullanılmasıdır.

Perez-Tornero ve ark. (2000), tarafından yapılan bir çalışmada kullanılan “Canino” kayısı çeşidine ait dinlenme dönemindeki tomurcukların sterilizasyonu; %20 NaOCl (Domestos) içerisinde 20 dakika bekletilerek gerçekleştirilmiş ve bundan sonra 3 defa steril saf su ile çalkalanarak sterilantın etkisi giderilmiştir. **Andreu ve Marin (2005)**, tarafından Adesoto 101 *prunus* anacının *in vitro* çoğaltımı amacıyla yapılan çalışmada kullanılan nodal tomurcukların sterilizasyonu için %0.05 etkin madde içeren HgCl₂ (Civa

Klorit) içerisinde 15 dakika uygulama yapılmış ve daha sonra 3 defa steril saf su ile çalkalanmıştır. **AL-Sabbagh ve ark. (1999)**, yarı bodur kiraz anacı olan Maxma-14'ün *in vitro* çoğaltım sistemini geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; kullanılan nodal tomurcuklar ve sürgün ucunun sterilizasyonu iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada musluk suyu içerisine birkaç damla tween-20 damlatılmış ve el yıkama deterjanı ile 10-15 dakika yıkanmıştır. İkinci aşamada ise; %0.01 HgCl₂ ve %0.01 tween-20 bulunduran solusyon içerisinde 8 dakika bekletilerek sterilizasyon işlemi tamamlanmış ve daha sonra 3 defa steril saf suda çalkalanmıştır. **Pruski ve ark (2000)**, “Garrington, Mary Liss ve Jumping Pound” kiraz çeşitlerinin *in vitro* kültür başlatma, sürgün proliferasyonu ve köklenmeleriyle ilgili olarak yapılan çalışmada; dormant haldeki kış tomurcuklarının sterilizasyonu için önce 30 dakika süreyle musluk suyunda yıkama işlemi yapılmıştır. Daha sonra %1 NaOCl ve %0.1 tween-20 bulunan çözelti içerisinde 10 dakika bekletme uygulanmış ve sonuçta 3 defa steril saf su içerisinde çalkalanarak sterilantın etkisi giderilmiştir. **Matt ve Jehle (2005)**, Bazı kiraz çeşitlerinin internod ve yaprak eksplantlarından bitki rejenerasyonu için yapılan çalışmada; fidanlardan alınan dormant tomurcukların sterilizasyonu iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada; %1.5 Benomyl içerisinde 10 dakika bekletilmiştir. İkinci aşamada ise; %10 CaOCl içinde 20 dakika bekletildikten sonra 3 defa 5'er dakika steril saf suda çalkalanmıştır.

Sürgün uçlarının sterilizasyonu ile ilgili bazı kayısı çeşitleri ve sert çekirdekli meyve türlerinde yapılan çalışmalarda farklı sterilant, konsantrasyon, bekletme süresi ve ön sterilizasyon işlemlerinin uygulandığı görülmüştür. Ancak yaptığımız çalışma ile; “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidine ait sürgün uçlarının sterilizasyonu için %10 NaOCl içerisinde 15 dakika bekletme işleminin etkili bir sterilizasyon için yeterli olacağı tespit edilmiştir. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, bu değerin altında ve üstünde sonuçların çıktığı görülmüştür. Ancak genel olarak %10-15 oranında NaOCl'nin kullanıldığı ve bekletme süresi 10-30 dakika arasında değiştiği bildirilmiştir.

Tohumların sterilizasyonu ile ilgili bazı kayısı ve sert çekirdekli meyve türlerinde yapılan çalışmalarda farklı sterilant, konsantrasyon ve bekletme sürelerinin uygulandığı görülmüştür. Ancak yaptığımız çalışma ile; “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidine ait tohumların sterilizasyonu için %5 NaOCl içerisinde 15 dakika bekletme işleminin etkin bir sterilizasyon için yeterli olacağı belirlenmiştir.

Almehdi ve Parfitt (1986), şeftali anaçlarından “Lovell ve Nemaguard”ın *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada 1.5 cm uzunluğundaki sürgünlerin sterilizasyonu için %15 NaOCl içerisinde 30 dakika bekletme işlemi uygulanmış ve daha

sonra 3 defa steril saf suda çalkalanarak sterilantın etkisi giderilmiştir. **Özzambak ve Hepaksoy (1997)**, Alman vişnesi olarak da bilinen “Heimanns Rubinweichsel” vişne çeşidinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; sürgün ucu eksplantlarının sterilizasyonu için %2 NaOCl içerisinde birkaç damla tween-20 damlatılarak 20 dakika bekletme işlemi uygulanmış ve daha sonra 3 defa 5'er dakika steril saf suda çalkalanmıştır. **Bhagwat ve Lane (2004)**, “Sweetheart” ve “Lapins” kiraz çeşitlerinin yapraklarından sürgün rejenerasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; ağaçlardan alınan yaklaşık 3 mm uzunluğundaki sürgün uçlarının sterilizasyonu için %10 NaOCl (Javex-5TM) içerisinde 10 dakika bekletme işlemi uygulanmış ve birkaç defa steril saf suda çalkalanmıştır. **Borkowska (1985)**, “Schatenmorello” vişne çeşidinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; başlangıç materyali olarak kullanılan sürgün uçlarının sterilizasyonu %0.1 HgCl₂ içerisinde 10 dakika bekletilerek gerçekleştirilmiş ve daha sonra 3 defa steril saf su içerisinde çalkalanmıştır.

Hammatt ve Grant (1997), “Charger” ve “F 12/1” yabani kiraz çeşitlerinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; başlangıç materyali olarak sürgün ucu kullanılmıştır. Materyalin sterilizasyonu için %10 NaOCl içerisinde 10 dakika bekletme işlemi uygulanmış ve daha sonra birkaç defa steril saf suda çalkalanmıştır. **Morini ve ark. (1991)**, arazi koşullarında seleksiyon çalışması sonucu elde edilen bazı erik klonlarının (Mr. S. 1/4, 1/6, 1/8, 1/3, 1/7, 1/14, 2/3) *in vitro* çoğaltım durumlarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada, ağaçlardan alınan 1-1.5 cm uzunluğundaki sürgün uçlarının sterilizasyonu için %15 NaOCl içerisinde 15 dakika bekletme işlemi uygulanmış ve daha sonra 2 defa steril saf suda çalkalanmıştır. **Perez-Tornero ve ark. (1999 a)** tarafından meristem ucu kültürü kullanılarak yapılan çalışmada; başlangıç materyalinin sterilizasyonu için NaOCl içerisinde (Domestos) 20 dakika bekletme işlemi uygulanmıştır. **Perez-Tornero ve ark. (1999 b)**, tarafından dört farklı kayısı çeşidinin meristem ucu kültürüyle rejenerasyonu amacıyla yapılan çalışmada; 2-3 nodlu sürgünler %20 NaOCl (%0.8 Domestos) içerisinde 20 dakika bekletilerek sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

4.2. Kültür Başlatma Çalışmaları

Kültür başlatma çalışmaları kapsamında yapılan deneyler ve bu deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.2.1. Kayısı Tohumlarından Kültür Başlatma Çalışmaları

4.2.1.1. Tohumların *İn Vitro* Çimlenmesine BBD'lerin Etkisi

Bu deney, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi (Resim 2) üzerine farklı sitokinin (BAP, kinetin) ve oksin (IAA, NAA) tiplerinin etkisini belirlemek üzere yapılmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 14'de verilmiştir.

Çizelge 14. Tohumların *in vitro* çimlenmesine BBD'lerin etkisi *.

BBD tipi	Çimlenen tohum (%)	Sürgün oluşturan tohum (%)	Ortalama sürgün uzunluğu \pm SH (mm)
Hormonsuz	91	24	8.96 \pm 0.25 b
1 mg^l⁻¹ IAA	38	24	16.22 \pm 0.97 ab
1 mg^l⁻¹ NAA	52	24	11.34 \pm 2.22 ab
1 mg^l⁻¹ Kinetin	52	33	12.58 \pm 2.45 ab
1 mg^l⁻¹ BAP	67	57	17.99 \pm 2.22 a
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05	P > 0.05	-
s.d: 4.29 (F:2.743)	-	-	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan tohum sayısı: 21

Farklı BBD tiplerinden elde edilen sonuçlar arasında; ki kare testine göre çimlenen tohum oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılık bulunurken ($P < 0.05$), sürgün oluşturan tohum oranı yönünden ortaya çıkan farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0.05$). Çimlenme yönünden en yüksek oran %91 ile hormonsuz yani herhangi bir BBD kullanılmayan uygulamadan elde edilmiş; bunu %67'lik oran ile 1 mg^l⁻¹ BAP takip etmiştir. İyi bir sonuç vermesine rağmen, hormonsuz uygulama grubunda meydana gelen sürgünlerin türe özgü tip ve renkte olmadığı, yaprak oluşumunun zayıf olduğu, oluşan yaprakların ise yaprağa benzemeyen beyaz bir çıkıntı olarak meydana geldiği gözlenmiştir. Bu nedenle altkültüre alınabilecek özelliğe sahip sürgünlerin geliştiği 1 mg^l⁻¹ BAP serisinin dikkate alınmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır. Çimlenen tohumlardaki sürgün oluşturma oranları bakımından en iyi sonucu 1 mg^l⁻¹ BAP uygulaması vermiş ve %57'lik bir değer elde edilmiştir. Test edilen BBD'ler arasında ortalama sürgün uzunluğu bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$, Çizelge 14). En iyi ortalama sürgün uzunluğu 17.99 \pm 2.22 mm ile 1 mg^l⁻¹ BAP uygulamasından elde edilirken, en kısa sürgünler 8.96 \pm 0.25 mm ile hormonsuz ortamdan elde edilmiştir. Bu deney kapsamında yapılacak genel bir değerlendirme ile 1 mg^l⁻¹ BAP uygulamasının incelenen özellikler bakımından ve kültür başlatma için gerekli sürgünlerin üretilmesi açısından uygun olabileceği sonucu ortaya çıkmıştır.

4.2.1.2. Tohumların *In Vitro* Çimlenmesine Eksplant Tipinin Etkisi

Bu deney, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi üzerine tüm tohum, yarım tohum ve embriyo gibi farklı eksplant tiplerinin etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır (Resim 3). Elde edilen bulgular Çizelge 15’de verilmiştir.

Eksplant tiplerinden elde edilen sonuçlar arasında, çimlenen tohum ve sürgün oluşturan tohum oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar görülmüştür ($P < 0.05$). Her iki özellik yönünden de en iyi sonucu %100’lük oran ile embriyonun kullanıldığı uygulama vermiştir. Ancak meydana gelen sürgünlerin kalınlık ve gelişmişlik durumları yarım tohumdan meydana gelenlere göre daha zayıf olmuştur.



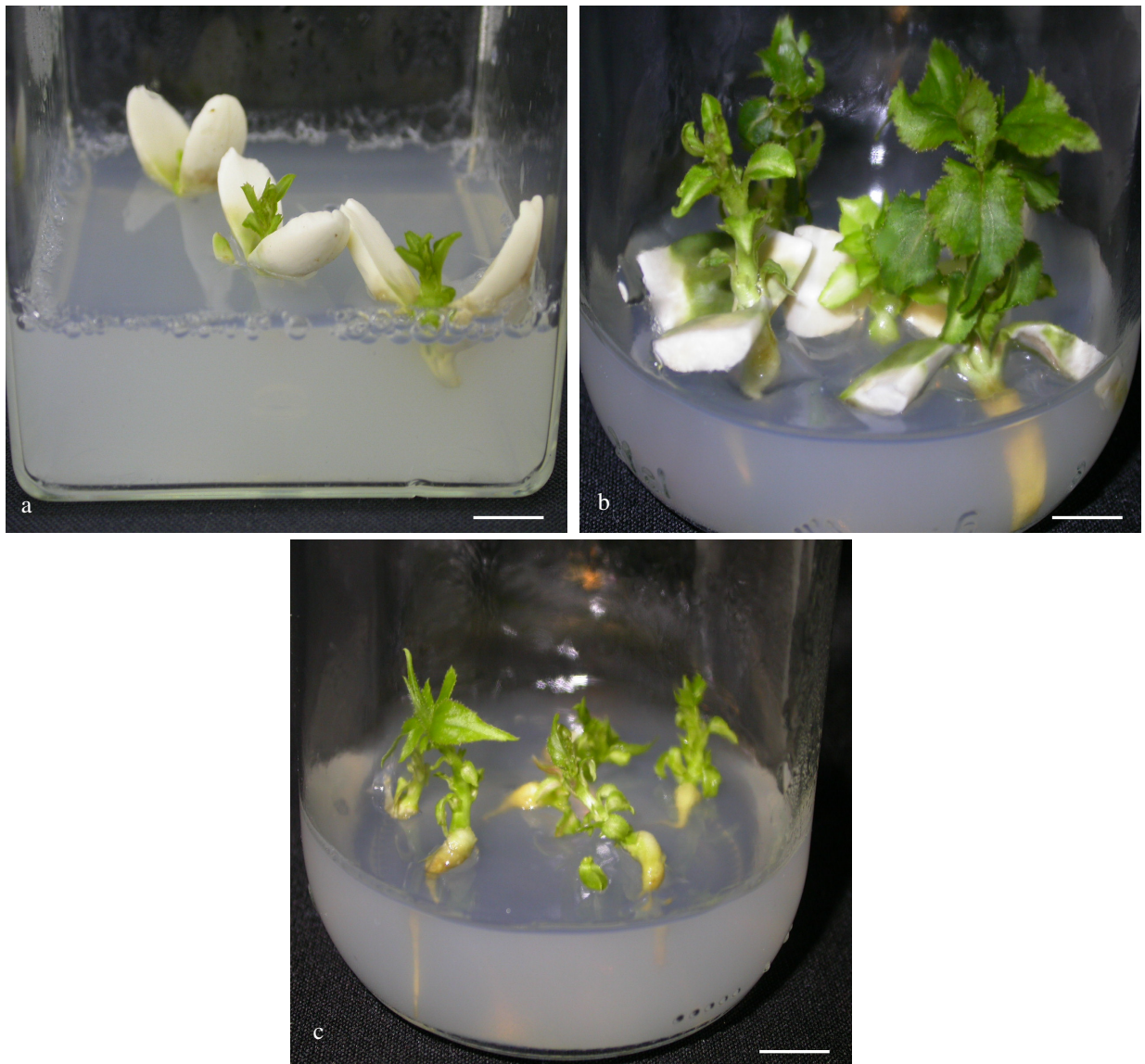
Resim 2. Kayısı tohumlarının 1 mg^l⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamında çimlenmesi (bar: 9 mm).

Çizelge 15. Tohumların *in vitro* çimlenmesine eksplant tipinin etkisi *.

Eksplant tipi	Çimlenen tohum (%)	Sürgün oluşturan tohum (%)	Ortalama sürgün uzunluğu ± SH (mm)
Tüm tohum	67	61	17.99 ± 2.22 a
Yarım tohum	94	94	17.45 ± 1.13 a
Embriyo	100	100	14.03 ± 1.34 b
χ^2 (s.d: 2)	$P < 0.05$	$P < 0.05$	-
s.d: 2.44 (F:2.109)	-	-	$P < 0.05$

* Her uygulama için kullanılan tohum sayısı: 18

Tüm tohum grubundaki çimlenmenin diğer gruplara göre daha az olmasının nedeni ise; çimlenme sırasında tohumdaki kotiledon çatlamasının önemli bir aşama olması ve bunu eksplantın kendisinin gerçekleştirmek zorunda kalmasıdır. Çünkü yarım tohum ile arasında yaklaşık %50'ye yakın bir çimlenme ve sürgün oluşturma farkı vardır. En önemli nedenin bu husus olduğu tespit edilmiştir. Farklı eksplant tiplerinden ölçülen sürgün uzunlukları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P < 0.05$). En iyi sonucu tüm tohum uygulaması vermiş ve 17.99 ± 2.22 mm sürgün uzunluğu elde edilmiştir. Gelişen sürgünlerin kalınlıkları ve yaprak büyüklükleri yarım tohum uygulamasında daha iyi olmuştur.



Resim 3. Kayısı tohumlarına ait farklı tipteki eksplantların 1 mg l^{-1} BAP ile destekli MS besi ortamında çimlenmesi **a)** Tüm tohum (bar: 8.3 mm) **b)** Yarım tohum (bar: 8.2 mm) **c)** Embriyo (bar: 8.7 mm).

4.2.2. Nodal Tomurcuklardan Kültür Başlatma Çalışmaları

4.2.2.1. Farklı Besi Ortamlarının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, “Hacıhaliloğlu” kayısı çeşidine ait nodal tomurcuklardan kültür başlatmaya MS, WPM ve SH besi ortamlarının etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Besi ortamlarından alınan sonuçlara ait istatistiksel veriler Çizelge 16’da verilmiştir.

Çizelge 16. Farklı besi ortamlarının kültür başlatmaya etkisi *.

Besi Ortamı Tipi	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)	Altkültüre Alınabilecek Eksplant (%)
MS	81	56	56
SH	81	62	50
WPM	50	25	25
χ^2 (s.d: 2)	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 16

Farklı besi ortamlarından elde edilen sonuçlar arasında; gelişen tomurcuk, rozet bitki oluşturan tomurcuk ve altkültüre alınabilecek eksplant oranları bakımından ki kare testine göre, istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmamıştır ($P > 0.05$). Ancak MS besi ortamında gelişen tomurcukların daha yeşil bir yapıda oldukları ve yaprak sayısının daha fazla olduğu gözlenmiştir (Resim 4). SH ve WPM besi ortamındaki tomurcuklarda 3. haftadan sonra kararmalar görülmüştür. Bu sonuçlar ile MS besi ortamının, kayısının nodal tomurcuklarından kültür başlatılması için en iyi besi ortamı olduğunu göstermektedir. Bir sonraki deneyde MS’in farklı kuvvetlerinin etkisi test edilecektir.

4.2.2.2. MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, 1/1 MS, 1/2 MS ve 1/4 MS besi ortamı kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Çizelge 17’de, elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 17. MS besi ortamının farklı kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi *.

Besi Ortamı Kuvveti	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)	Altkültüre Alınabilecek Eksplant (%)
1/1 MS	81	56	56
1/2 MS	88	38	38
1/4 MS	75	50	50
χ^2 (s.d: 2)	P > 0.05	P > 0.05	P > 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 16

MS besi ortamının farklı kuvvetlerinden elde edilen sonuçlar arasında; gelişen tomurcuk, rozet oluşturan tomurcuk ve altkültüre alınabilecek eksplant oranları yönünden istatistiksel olarak önemli farklılıklar çıkmamıştır ($P > 0.05$). Fakat diğer uygulamalara göre; 1 MS uygulamasındaki tomurcukların gelişme durumunun, rozet bitki oluşturma özelliğinin ve altkültüre alınabilecek eksplantlardaki canlılık ve türe özgü renk durumunun daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca gelişen tomurcuklardaki yaprak sayıları ve büyüklükleri bakımından da yine 1 MS uygulamasının iyimser bir tavır sergilediği görülmüştür.

4.2.2.3. Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmaya farklı sitokinin (BAP, kinetin) ve oksin (NAA, IBA) tiplerinin kontrol grubuyla (hormonsuz) birlikte etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen istatistiksel sonuçlar Çizelge 18’de verilmiştir.

Çizelge 18. Farklı bitki büyüme düzenleyicilerin kültür başlatmaya etkisi *.

BBD Tipi	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)	Altkültüre Alınabilecek Eksplant (%)
Hormonsuz	75	63	32
1 mg ^l ⁻¹ BAP	100	87	94
1 mg ^l ⁻¹ Kinetin	100	69	56
1 mg ^l ⁻¹ NAA	19	-	-
1 mg ^l ⁻¹ IBA	81	32	19
χ^2 (s.d: 4)	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P < 0.05$

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 16

Deney kapsamında, farklı oksin ve sitokininlerden elde edilen sonuçlar arasında gelişen tomurcuk, rozet oluşturan tomurcuk ve altkültüre alınabilecek eksplant oranlarında istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmuştur ($P < 0.05$). Gelişen tomurcuk bakımından %100’lük değerler ile en iyi sonucu 1 mg^l⁻¹ BAP ve Kinetin uygulamaları vermiştir. NAA grubunda %19 oranında meydana gelen tomurcuk gelişmesi bundan ileri gitmemiştir. İlk başlarda tomurcukların alt kısımlarında sarımsı yeşil renkli kallus benzeri yapılar görülmüş; ancak tomurcuklar kabardıktan sonra oluşan yapı ve tomurcuk tümüyle bozulmuştur. Rozet bitki oluşturma oranı yönünden en iyi sonucu 1 mg^l⁻¹ BAP vermiş ve %87 oranında tomurcukların rozet oluşturduğu görülmüştür. Alt kültürde alınabilecek eksplant bakımından %94’lük oran ile en iyi sonucu 1 mg^l⁻¹ BAP uygulaması vermiştir.

Proliferasyon deneylerin başlatılabilmesi için elde edilen altkültüre alınabilecek eksplant sayısının oldukça fazla olması istenir. Bu deney sonucunda nodal tomurcuklardan kültür başlatma çalışmalarında BAP kullanılmasının uygun olacağı tespit edilmiştir.

4.2.2.4. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, bir önceki deneyin sonucuna bağlı olarak nodal tomurcuklardan kültür başlatma amacıyla, BAP'ın 0.5, 1, 2, 4, 8 ve 16 mg l⁻¹ gibi konsantrasyonlarının etkisi üzerine çalışılmıştır. Sonuçlar Çizelge 19'da verilmiştir.

Çizelge 19. Farklı BAP konsantrasyonlarının kültür başlatmaya etkisi *.

BAP Konsantrasyonu (mg l ⁻¹)	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)	Altkültüre Alınabilecek Eksplant (%)
0.5	100	60	60
1	100	87	94
2	87	53	67
4	87	47	45
8	80	60	38
16	80	40	25
χ^2 (s.d: 5)	P > 0.05	P < 0.05	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 16

Farklı BAP konsantrasyonlarından elde edilen sonuçlara göre gelişen tomurcuk oranları yönünden istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmamasına rağmen (P > 0.05), rozet bitki oluşturan tomurcuk ve altkültüre alınabilecek eksplant oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar kaydedilmiştir (P < 0.05). Genel olarak 1 mg l⁻¹ BAP konsantrasyonunun incelenen bütün parametreler yönünden iyi olduğu görülmüştür. BAP konsantrasyonu arttıkça oluşan rozet bitkilerdeki yaprakların da küçüldüğü ve türe özgü şekillerini kaybettiği ve altkültüre alınabilirliklerinin azaldığı gözlenmiştir.

4.2.2.5. Farklı Şeker Tiplerinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmaya sukroz, fruktoz, glikoz ve maltoz gibi farklı şeker tiplerinin etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 20'de verilmiştir.

Uygun şeker tipinin tespit edilmesi için yapılan deney kapsamında, farklı şeker tiplerinden elde edilen sonuçlar arasında; gelişen tomurcuk ve rozet bitki oluşturan tomurcuk oranları bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır

($P > 0.05$). Ancak glikoz ve maltoz serilerinden alınan morfolojik gözlemlere göre, tomurcuklardaki gelişme ancak kabarma ve birazda patlama şeklinde olmuş ve çok az sayıdaki tomurcuğun sürdüğü görülmüştür. Deneyin en kötü şeker tipi maltoz olarak tespit edilmiştir. Altkültüre alınabilecek eksplant oranı yönünden uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli çıkmıştır ($P < 0.05$). Özellikle %56'lık oran ile en iyi sonucu veren sukroz şeker tipinde meydana gelen rozet bitkilerdeki gelişmenin daha iyi olduğu, yaprakların daha canlı ve türe özgü yeşil renkli olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 20. Farklı şeker tiplerinin kültür başlatmaya etkisi *.

Şeker Tipi	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)	Altkültüre Alınabilecek Eksplant (%)
Sukroz	81	56	56
Fruktoz	56	44	44
Glikoz	56	32	25
Maltoz	56	25	6
χ^2 (s.d: 3)	P > 0.05	P > 0.05	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 16

4.2.2.6. Sukrozun Farklı Konsantrasyonlarının Kültür Başlatmaya Etkisi

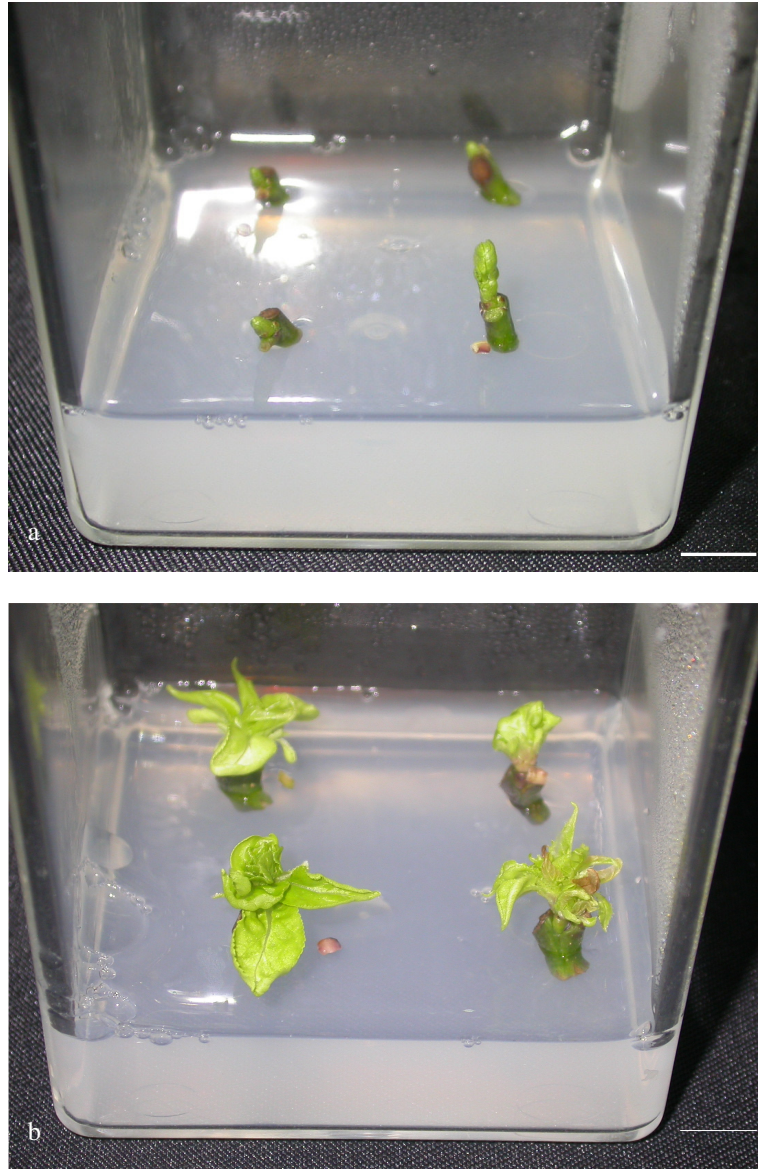
Bu deneyde sukroz şeker tipinin % 0, 3, 4, 6 ve 8 konsantrasyonlarının nodal tomurcuklardan kültür başlatma üzerine olan etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 21'de verilmiştir.

Çizelge 21. Sukrozun farklı konsantrasyonlarının kültür başlatmaya etkisi *.

Sukroz Konsantrasyonu (g l ⁻¹)	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)	Altkültüre Alınabilecek Eksplant (%)
0	-	-	-
30	83	75	75
40	100	67	75
60	83	67	33
80	92	83	25
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05	P < 0.05	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 16

Çizelge 21'deki sonuçlar arasında; gelişen tomurcuk, rozet bitki oluşturan tomurcuk ve altkültüre alınabilecek tomurcuk oranları bakımından test edilen uygulamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Gelişen tomurcuk bakımından en iyi sonuç %100'lük oran ile 40 g l⁻¹ sukroz konsantrasyonundan elde edilmiştir. Rozet bitki



Resim 4. 1 mg^l⁻¹ BAP + 0.3 mg^l⁻¹ IBA ile destekli MS Besi ortamına ekilen nodal tomurcukların; **a)** 1. hafta sonunda (bar: 8 mm) **b)** 4. hafta sonundaki (bar: 7.9 mm) görünüşleri.

oluşumu yönünden 80 gl⁻¹ sukroz konsantrasyonu yüksek çıkmasına rağmen, buradan altkültüre alınabilecek eksplant oranının en düşük düzeyde gerçekleşmesi nedeniyle pek dikkate alınmamıştır. Altkültüre alınabilecek eksplant oranı açısından en iyi sonuçları 30 gl⁻¹ ve 40 gl⁻¹ sukroz konsantrasyonları vermiştir. Oluşan rozet bitkilerin canlı, güzel ve türe özgü görünümde olmaları nedeniyle 30 gl⁻¹ sukroz uygulamasının bundan sonraki çalışmalarda esas alınmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

4.2.2.7. BAP'lı Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan kültür başlatmaya, 1 mgL⁻¹ BAP içeren ortama ilave edilen IBA ve NAA'ya ait 0.1, 0.3 ve 0.5 mgL⁻¹ konsantrasyonların etkisi üzerine çalışılmıştır. Çizelge 22'de verilere ait istatistiksel sonuçlar yer almaktadır.

Çizelge 22. BAP'lı ortama oksin ilavesinin kültür başlatmaya etkisi *.

BAP + Oksin	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)
1 mgL ⁻¹ BAP + 0.1 mgL ⁻¹ IBA	85	45
1 mgL ⁻¹ BAP + 0.3 mgL ⁻¹ IBA	100	60
1 mgL ⁻¹ BAP + 0.5 mgL ⁻¹ IBA	100	70
1 mgL ⁻¹ BAP + 0.1 mgL ⁻¹ NAA	100	80
1 mgL ⁻¹ BAP + 0.3 mgL ⁻¹ NAA	80	65
1 mgL ⁻¹ BAP + 0.5 mgL ⁻¹ NAA	95	35
χ^2 (s.d: 5)	P < 0.05	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 20

Yapılan deney kapsamında elde edilen sonuçlar arasında; gelişen tomurcuk oranları bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar görülmüştür ($P < 0.05$). Oranlar itibariyle uygulamalar birbirine çok yakın olmasına rağmen; 0.3 mgL⁻¹ IBA, 0.5 mgL⁻¹ IBA ve 0.1 mgL⁻¹ NAA ilaveli uygulamalar %100'lük oran ile en iyi sonucu vermiştir.

Bunlardan NAA ilaveli uygulamadaki materyallerin bir kısmı kallus benzeri yapılar oluşturmaya başlamış, 3. haftadan sonra ise sararmalar görülmüştür. Dolayısıyla daha sonraki deneyler için NAA kullanılmamıştır. Geriye kalan IBA ilaveli gruplar arasında ise 0.3 mgL⁻¹ IBA ilaveli grubun bazı tomurcuklardan oluşan sürgünlerin ölçülebilecek düzeyde uzadığı ve yaprak sayılarının göreceli olarak daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Rozet bitki oluşturan tomurcuk yönünden en iyi sonucu, 1 mgL⁻¹ BAP + 0.1 mgL⁻¹ NAA grubu %80 gibi bir oran ile vermiştir. 0.3 mgL⁻¹ ve 0.5 mgL⁻¹ IBA uygulamaları bu oranı sırasıyla %70 ve %60 olarak takip etmiştir. Elde edilen bütün gözlem ve ölçümler ışığında bu deneyle birlikte BBD'ler bakımından nodal tomurcuklardan etkin bir kültür başlatma için 1 mgL⁻¹ BAP + 0.3 mgL⁻¹ IBA grubunun uygun olduğu görülmüştür. Meydana gelen rozet bitkilerin sağlıklı, türe özgü renk ve şekilde bulunduklarından dolayı uygun olacağı belirlenmiştir.

4.2.2.8. Kinetin’li Ortama Oksin İlavesinin Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deneyde, 1 mg^l⁻¹ kinetin içeren ortama ilave edilen IBA ve NAA’nın 0.1, 0.3 ve 0.5 mg^l⁻¹ konsantrasyonlarının kültür başlatmaya etkisi belirlenmeye çalışılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 23’de verilmiştir.

Çizelge 23. Kinetin’li ortama oksin ilavesinin kültür başlatmaya etkisi *.

KİNETİN + Oksin	Gelişen Tomurcuk (%)	Rozet Bitki Oluşturan Tomurcuk (%)
1 mg ^l ⁻¹ Kinetin + 0.1 mg ^l ⁻¹ IBA	95	-
1 mg ^l ⁻¹ Kinetin + 0.3 mg ^l ⁻¹ IBA	100	20
1 mg ^l ⁻¹ Kinetin + 0.5 mg ^l ⁻¹ IBA	60	15
1 mg ^l ⁻¹ Kinetin + 0.1 mg ^l ⁻¹ NAA	85	10
1 mg ^l ⁻¹ Kinetin + 0.3 mg ^l ⁻¹ NAA	100	15
1 mg ^l ⁻¹ Kinetin + 0.5 mg ^l ⁻¹ NAA	85	-
χ^2 (s.d: 5)	P < 0.05	P > 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 20

Kinetin’e ilave edilen farklı oksin ve konsantrasyonlarından elde edilen sonuçlar arasında; gelişen tomurcuk oranı bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur (P < 0.05). En iyi sonucu %100’lük oran ile 1 mg^l⁻¹ kinetin + 0.3 mg^l⁻¹ IBA ve 1 mg^l⁻¹ kinetin + 0.3 mg^l⁻¹ NAA uygulamaları vermiştir. Ancak sonuçlar bu kadar yüksek çıkmasına rağmen, tomurcuklarda meydana gelen gelişme genellikle kabarma şeklinde olmuş ve bundan öteye gitmemiştir. Rozet bitki oluşturan tomurcuk oranları yönünden uygulamalardan elde edilen sonuçlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli görülmemiştir (P > 0.05).

1 mg^l⁻¹ kinetin + 0.1 mg^l⁻¹ IBA ve 1 mg^l⁻¹ kinetin + 0.5 mg^l⁻¹ NAA gruplarındaki hiçbir tomurcukta rozet oluşumu görülmemiştir. Gelişme görülen uygulamalarda ise, çok düşük sonuçlar çıkmış olup, oluşan rozet bitkilerin ise pek sağlıklı olmadıkları ve altkültüre alınabilir özelliklerinin iyi olmadığı morfolojik olarak tespit edilmiştir.

4.2.2.9. Ağaçlardan Tomurcuk Alma Zamanının Kültür Başlatmaya Etkisi

Bu deney, nodal tomurcuklardan kültür başlatmaya ağaçlardan materyal alma zamanının etkisini tespit etmek için yapılmıştır. Aylık periyotlar halinde ve her ayın 2. haftasında yapılan çalışma yılın her ayını kapsayacak şekilde 1 yıl devam etmiştir. Elde edilen bulgular Çizelge 24’te verilmiştir.

Yapılan deney kapsamında aylık periyotlar halinde *in vitro*ya aktarılan materyallerden elde edilen sonuçlar bakımından gelişen tomurcuk ve enfekte olan tomurcuk oranları arasında istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$).

Çizelge 24. Ağaçlardan tomurcuk alma zamanının kültür başlatmaya etkisi *.

Aylar	Gelişen Tomurcuk (%)	Enfekte olan Tomurcuk (%)
Ocak	-	100
Şubat	-	100
Mart	13	88
Nisan	50	38
Mayıs	94	13
Haziran	81	13
Temmuz	69	32
Ağustos	75	25
Eylül	75	25
Ekim	56	44
Kasım	13	94
Aralık	-	100
χ^2 (s.d: 11)	P < 0.05	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan nodal tomurcuk sayısı: 16

En yüksek gelişme oranı %94 ile Mayıs ayında kültüre alınan tomurcuklardan elde edilmiştir. Bu oranı Haziran, Ağustos, Eylül ve Temmuz ayları sırasıyla %81, %75, %75 ve %69 ile takip etmiştir. Ocak, Şubat ve Aralık ayları içinde tomurcuklarda görülen enfeksiyon nedeniyle herhangi bir gelişme kaydedilememiştir. Vejetasyonun sonuna doğru tomurcuklar dormant hale geldiği için sterilizasyon amacıyla uyguladığımız yüksek oranlardaki sterilant dahi etkili olmamıştır. Vejetasyonun orta dönemi içerisinde (Mayıs, Haziran) gelişen sürgünlerdeki nodal tomurcuklar kültür başlatma için çok verimli olmuştur. Enfekte olan tomurcuk oranı yönünden uygulamalar arasındaki farklılık ($P < 0.05$) seviyesinde istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Enfeksiyon oranı bakımından en yüksek sonuçlar Ocak, Şubat ve Aralık aylarında %100 olarak ortaya çıkmıştır. Mayıs ve Haziran ayları istenen şekilde enfeksiyonun en düşük çıktığı aylar olmuştur. Bu nedenle kültür başlatmada en önemli problem olan enfeksiyon sorununu ortadan kaldırmak ve altkültür çalışmalarına yüksek oranda materyal aktarmak için belirtilen aylarda çalışma yapılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.

4.2.3. Kültür Başlatma Çalışmalarıyla İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma

Kayısı ve diğer sert çekirdekli meyve türlerinin (*Prunus*) *in vitro* kültür başlatma çalışmalarında genellikle başlangıç materyali olarak; sürgün ucu, nodal tomurcuk (vejetasyon dönemi içinde ya da dormant haldeyken), meristem ucu, yaprak ve tohum kullanılmaktadır. Ancak yoğun olarak sürgün ucu ve nodal tomurcuk materyalinin kullanıldığı yapılan literatür taramaları sonucu ortaya çıkmıştır. Bazı araştırmacılar (**Perez-Tornero ve Burgos, 2000; Marino ve ark. 1991; Perez-Tornero ve ark. 1999 c; Deogratias ve ark. 1991; Balla ve Vertesy, 2001; Srinivasan ve ark. 2005; Morini ve ark. 1991; Yancheva 2002; Parfitt ve Almehti, 1986; Almehti ve Parfitt, 1986; Manganaris ve ark. 2003; Özzambak ve Hepaksoy, 1997; AL-Sabbagh ve ark. 1999; Bhagwat ve Lane, 2004; Borkowska 1985; Özzambak ve Hepaksoy, 1997a; Gebhardt 1985; Hammatt ve Grant, 1997; Cerovic ve Ruzic, 1987; Aka-Kaçar ve ark. 2001; Sülüsoğlu ve Çelik, 2001; Fidancı ve ark. 2001**) ana bitkiden aldıkları sürgün uçlarını kullanırken, bazıları (**Perez-Tornero ve ark. 2000; Perez-Tornero ve ark. 1999 b; Perez-Tornero ve ark. 2001; Deogratias ve ark. 1991; Harada ve Murai, 1996; Srinivasan ve ark. 2005; Paris ve ark. 2004; Andreu ve Marin, 2005; Manganaris ve ark. 2003; Pruski ve ark. 2005; AL-Sabbagh ve ark. 1999; Pruski ve ark. 2000; Grant ve Hammatt, 1999; Tang ve ark. 2002; Dradi ve ark. 1996; Espinosa ve ark. 2006; Fidancı ve ark. 2001**) nodal tomurcuğu başlangıç materyali olarak kullanmışlardır. Bir kısım araştırmacılar (**Perez-Tornero ve ark. 1999 a; Kramarenko 1999; Murai ve ark. 1997; Knapp ve ark. 1998; Druart 1991; Sauer 1985; Theiler-Hedtrich ve Feucht , 1985; Petrevica ve Bite, 2003**) meristem ucu kültürleriyle *in vitro* çalışmalara başlarken, amaca uygun olarak yaprak materyalini kullanan (**Perez-Tornero ve ark. 2000; Burgos ve Albuquerque, 2003; Petri ve ark. 2005 a; Petri ve ark. 2005 b; Paris ve ark. 2004; Nowak ve Miczynski, 1996; Grant ve Hammatt, 2000; Matt ve Jehle, 2005**) araştırmacılar da bulunmaktadır. Sınırlı sayıda da olsa özellikle *in vitro* çalışmalarda gereksinim duyulan anaç materyalinin üretimi amacıyla tohum kullanan (**Paris ve ark. 2004; Gentile ve ark. 2002; Mante ve ark. 1989; Schmidt ve Ketzel 1996; Hokanson ve Pooler, 2000**) araştırmacılar da bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada; aktif gelişme döneminde yani vejetasyon dönemi içerisinde kullanılan nodal tomurcukların kültür başlatma çalışmaları için uygun olacağı tespit edilmiştir. Bu nedenle yapılan optimizasyon çalışmalarında bu materyal kullanılmıştır.

Kültür başlatma çalışmalarında kullanılan besi ortamının ve kuvvetinin belirlenmesi amacıyla yaptığımız çalışmada; tam MS besi ortamının en iyi sonucu verdiği görülmüştür.

Bu bakımdan bazı araştırmacılar yapılan bu çalışmada olduğu gibi MS besi ortamını kullanırken (Srinivasan ve ark. 2005; Gentile ve ark. 2002; Mante ve ark. 1989; Sauer 1985; Özzambak ve Hepaksoy, 1997; Petrevica ve Bite, 2003; Espinosa ve ark. 2006; Fidancı ve ark. 2001) farklı besi ortamlarında daha iyi sonuç bulan araştırmacılar da bulunmaktadır. Örneğin (Perez-Tornero ve ark. 1999 a; Perez-Tornero ve ark. 1999 b; Gentile ve ark. 2002) gibi araştırmacılar QL besi ortamı; (Harada ve Murai 1996, Andreu ve Marin 2005, Manganaris ve ark. 2003, Tang ve ark. 2002, Perez-Tornero ve ark. 2001) gibi araştırmacılar WPM besi ortamı kullanırken; bir araştırmacının da (Dradi ve ark. 1996) SH besi ortamını kullandığı tespit edilmiştir.

Besi ortamlarının en önemli enerji kaynağı olan şeker tipinin ve konsantrasyonunun tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmada 30 gl⁻¹ sukroz kullanımının yeterli olacağı gözlenmiştir. Diğer araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda büyük oranda genellikle 30 gl⁻¹ sukroz kullanıldığı, ancak; (Perez-Tornero ve ark. 1999 b; Bhagwat ve Lane, 2004; Pascual ve Marin, 2005; Matt ve Jehle, 2005) tarafından 20 gl⁻¹ sukroz; (Grant ve Hammatt, 2000; Grant ve Hammatt, 1999; Hammatt ve Grant, 1997) tarafından 30 gl⁻¹ sukroz, (AL-Sabbagh ve ark. 1999) tarafından 15 gl⁻¹ sukroz kullanıldığı bildirilmiştir.

In vitro çalışmaların vazgeçilmez unsuru olan BBD'ler ve uygun BBD'ye oksin ilavesi ile ilgili yapılan kültür başlatma çalışmalarında “Hacıhaliloğlu” kayısı çeşidi için en iyi kombinasyonun 1 mg l⁻¹ BAP + 0.3 mg l⁻¹ IBA veya yalnız başına 1 mg l⁻¹ BAP olduğu saptanmıştır. Bununla ilgili olarak bir çok araştırmacı tarafından 0.5 – 2 mg l⁻¹ BAP kullanıldığı, buna ilave olarak IAA, IBA ve NAA gibi oksinlerin ve GA₃'ün belli oranlarda besi ortamlarına ilave edildiği görülmüştür. Bu anlamda; bazı araştırmacıların kullandığı BBD kombinasyonları şöyle olmuştur; (Perez-Tornero ve ark. 2001) 0.7 mg l⁻¹ BA + 0.04 mg l⁻¹ IBA; (Andreu ve Marin, 2005) 1.1 mg l⁻¹ BA + 0.1 mg l⁻¹ IBA; (Ambrozic Turk B. ve ark. 1992) 0.25 mg l⁻¹ BAP + 0.1 mg l⁻¹ IBA; (Parfitt ve Almehdi, 1986) 6 mg l⁻¹ BA + 0.01 mg l⁻¹ IBA; (Manganaris ve ark. 2003), 1.8 mg l⁻¹ BAP + 0.14 mg l⁻¹ IAA; (Sauer 1985) 2 mg l⁻¹ BAP + 0.1 mg l⁻¹ NAA; (Theiler-Hedtrich ve Feucht, 1985) 1 mg l⁻¹ BAP; (Pruski ve ark. 2000) 1 mg l⁻¹ BA + 0.1 mg l⁻¹ IBA; (Tang ve ark. 2002) 2 mg l⁻¹ BAP + 0.5-1 mg l⁻¹ NAA; (Petrevica ve Bite, 2003) 0.5 mg l⁻¹ BA + 0.2 mg l⁻¹ GA₃; (Dradi ve ark. 1996) .5 mg l⁻¹ BAP + 0.5 mg l⁻¹ GA₃ + 0.01 mg l⁻¹ NAA; (Özzambak ve Hepaksoy, 1997a) 0.5 mg l⁻¹ BAP + 0.1 mg l⁻¹ NAA; (Espinosa ve ark. 2006) 1 mg l⁻¹ BA + 0.1 mg l⁻¹ IBA + 0.1 mg l⁻¹ GA₃; (Fidancı ve ark. 2001) 0.5 – 1.0 mg l⁻¹ BAP + 0.1 mg l⁻¹ IBA veya NAA + 0.1 mg l⁻¹ GA₃. Tohumla ilgili çalışmalar kapsamında (Schmidt ve Ketzel, 1996) tarafından hibrit kiraz tohumlarının çimlendirilmesi amacıyla 2 mg l⁻¹ BA +

1 mg^l⁻¹ IAA ilaveli besi ortamından iyi sonuç alındığı bildirilmektedir. Bizim tohum çalışmalarımızda oksin grubuna gerek kalmadan 1 mg^l⁻¹ BAP kullanılarak yaklaşık %70 oranında bir çimlenme elde edilmiştir.

Kültür başlatma çalışmalarında materyalin ana bitkiden alınma zamanı oldukça önemli bir husustur. **Perez-Tornero ve ark. (1999 a)** tarafından yapılan çalışmada; meristemlerden kültür başlatmak amacıyla dormant tomurcukların kullanımının daha uygun olduğu bildirilmiş ve bunun için kasım-şubat arası ayların uygun olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmada; vejetasyon dönemindeki (mayıs-haziran) nodal tomurcuklardan kültür başlatmanın daha iyi olacağı sonucu ortaya çıkmıştır. Araştırmacıların uygun bulduğu periyot bizim deneyler açısından tamamen enfeksiyonla sonuçlanmıştır. **Fidancı ve ark. (2001)**, “Gisela-5, Maxma-14 ve Tabel/Edabriz” gibi bazı kiraz ve vişne anaçlarının *in vitro* hızlı çoğaltım tekniklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; eksplant alma zamanı için nisan sonundan haziran başına kadar olan süre en iyi dönem olarak belirlenmiştir. Eksplant alma zamanı bakımından araştırmacının bulduğu sonuçlar yapılan çalışmada tespit ettiğimiz zaman ile uyum göstermektedir.

4.3. Sürgün Proliferasyon Çalışmaları

Sürgün proliferasyon çalışmaları kapsamında yapılan deneyler ve bu deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.3.1. Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları

4.3.1.1. MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

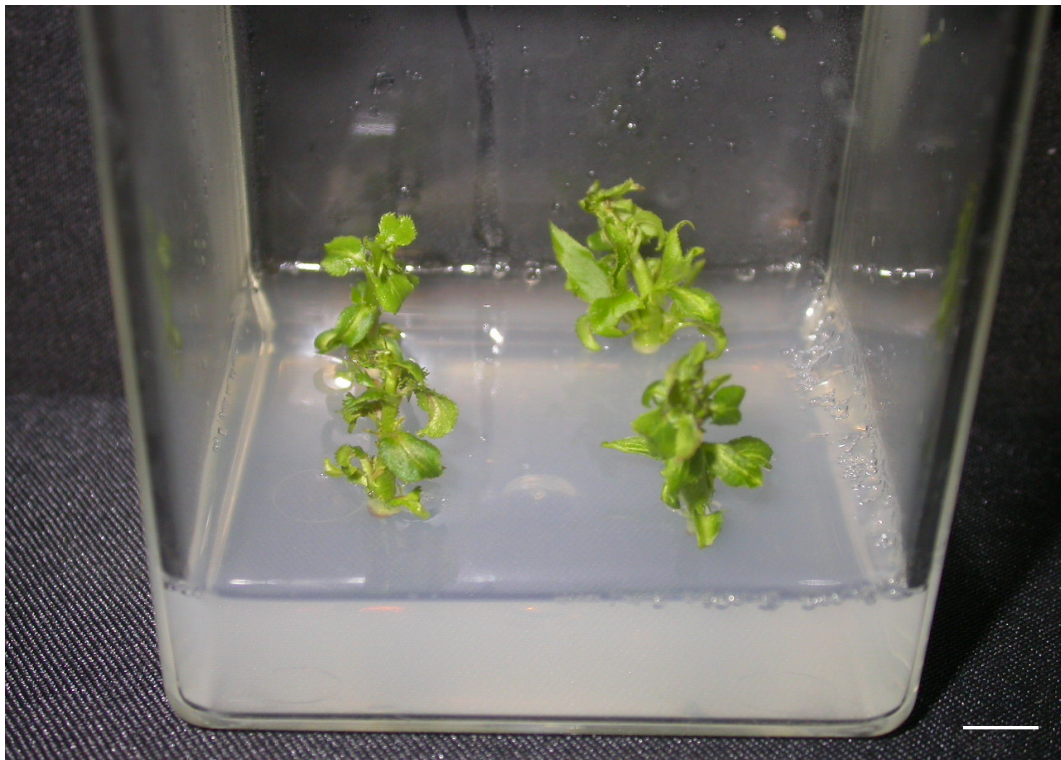
Bu deneyde, 1/4 MS, 1/2 MS, 1/1 MS, 2 MS gibi farklı kuvvetteki besi ortamlarının *in vitro*da çimlenen kayısı tohumlarından elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna etkisi üzerine çalışılmıştır. Verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 25’te verilmiştir.

Çizelge 25. Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna farklı MS kuvvetlerinin etkisi *.

MS kuvveti	Ortalama sürgün sayısı ± SH	Ortalama sürgün uzunluğu ± SH (mm)	Ortalama nod sayısı
1/4 MS	2.80 ± 0.36 b	5.60 ± 0.44 b	0.00 ± 0.00 b
1/2 MS	6.85 ± 1.49 a	9.28 ± 0.52 a	5.04 ± 0.35 a
1/1 MS	3.68 ± 0.65 b	10.66 ± 0.90 a	4.82 ± 0.43 a
2 MS	3.37 ± 0.38 b	5.28 ± 0.76 b	4.62 ± 0.59 a
	P < 0.05 F: 4.255 – sd: 3.71	P < 0.05 F: 12.94 – sd: 3.313	P < 0.05 F: 47.15 – sd: 3.60

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

MS besi ortamı kuvvetlerinin; sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve nod sayısını istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği tespit edilmiştir ($P < 0.05$). En fazla sürgünü 1/2 kuvvetteki MS besi ortamı vermiş olup, 6.85 ± 1.49 adet sürgün elde edilmiştir. Diğer uygulamaların hepsi aynı grup içerisinde yer almıştır. Sürgün uzunluğu bakımından, en iyi sonuç 1/1 MS kullanılan uygulamadan 10.66 ± 0.90 mm olarak elde edilmiştir. Analiz sonucuna göre; yapılan gruptandırma aynı grup içerisinde yer alan 1/2 MS uygulamasından ise 9.28 ± 0.52 mm'lik sürgün oluştururken, 1/1 MS besi ortamından elde edilen sürgünlere göre daha kısa oldukları görülmüştür. 1/4 MS besi ortamındaki bitkilerde kültürün 3. haftasından itibaren kahverengileşme meydana gelmiş ve neticede ölümle sonuçlanmıştır. Altkültürü yapılabilecek sürgün sayısında azalmanın meydana geldiği gözlenmiştir. Bütün gözlemlere göre, tohum kaynaklı sürgünlerin proliferasyonu için elde edilen sürgünlerdeki uzunluğun daha iyi olması ve sürgünlerin 1/2 MS besi ortamına göre morfolojik olarak daha kaliteli olması nedeniyle; gelecek deneyler kapsamında besi ortamı olarak 1/1 MS kullanılmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Resim 5).



Resim 5. Tohumdan elde edilen sürgünler ile proliferasyon çalışmalarının başlatılması (bar: 6.4 mm)

4.3.1.2. Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deney, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesiyle oluşan sürgünlerin proliferasyonuna sukroz, fruktoz, glikoz ve laktoz gibi farklı şeker tiplerinin etkisini tespit

etmek üzere yapılmıştır. Çizelge 26’da, elde edilen sonuçlara ait istatistiksel veriler bulunmaktadır.

Çizelge 26. Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna farklı şeker tiplerinin etkisi *.

Şeker tipi	Ortalama sürgün sayısı \pm SH	Ortalama sürgün uzunluğu \pm SH (mm)	Ortalama nod sayısı
Glikoz	3.05 \pm 0.46 a	10.50 \pm 0.62 a	4.61 \pm 0.22 a
Fruktoz	2.45 \pm 0.35 b	9.65 \pm 0.97 a	5.92 \pm 0.43 a
Laktoz	2.81 \pm 0.29 b	6.07 \pm 0.76 b	5.25 \pm 0.75 a
Sukroz	3.68 \pm 0.65 a	10.66 \pm 0.90 a	4.82 \pm 0.43 a
	P < 0.05 F: 5.007 – sd: 3.64	P < 0.05 F: 4.621 – sd: 3.375	P > 0.05 F: 2.596 – sd: 3.95

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

Elde edilen verilere uygulanan varyans analizine göre; sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine şeker tipinin etkisinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). En iyi sonucu 3.68 \pm 0.65 adet sürgün ile sukroz şekeri vermiş olup, bunu 3.05 \pm 0.46 ile glikoz şekeri izlemiştir. Ancak glikoz uygulamasındaki kültürlerin bir kısmı 3. haftadan sonra hafif bir şekilde bozulmaya başlarken; fruktoz şekerinden elde edilen sürgünler ile yapılan alt kültür çalışmaları sırasında materyaller daha kültürün 2. haftasından sonra bozulmaya başlamıştır. Her iki şeker tipi için de sağlam kalan bir miktar materyal üzerinde ölçüm yapılabilmektedir. En uzun sürgünü 10.66 \pm 0.90 mm ile sukroz şekeri verirken, glikoz ve fruktoz şekerleri yaklaşık değerler ile aynı grup içerisinde yer almışlardır. Uygulanan şeker tipleri arasında nod sayısı bakımından ortaya çıkan farklılıklar istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($P > 0.05$).

Genel olarak alınan bütün gözlem ve ölçümlere göre sukroz şekerinden alınan sonuçların tatminkar olduğu, elde edilen sürgünlerin kalite ve kantite yönünden de diğer şeker tiplerine göre daha iyi olduğu görülmüştür.

4.3.1.3. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesiyle elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna 0.25, 0.5, 1, 2 ve 4 mg l⁻¹ gibi farklı BAP konsantrasyonlarının etkisi üzerine çalışılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 27’de verilmiştir (Resim 6).

Çizelge 27. Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna farklı BAP konsantrasyonlarının etkisi *.

BAP konsantrasyonu (mg ^l ⁻¹)	Ortalama sürgün sayısı ± SH	Ortalama sürgün uzunluğu ± SH (mm)	Ortalama nod sayısı
0.25	3.30 ± 0.41 c	11.24 ± 1.00 a	5.69 ± 0.39 a
0.5	3.45 ± 0.36 c	11.71 ± 0.92 a	5.33 ± 0.43 a
1	3.68 ± 0.65 c	10.66 ± 0.90 a	4.82 ± 0.43 a
2	15.10 ± 1.57 b	7.37 ± 0.31 b	6.00 ± 0.31 a
4	19.50 ± 2.22 a	7.47 ± 0.26 b	4.90 ± 0.22 a
	P < 0.05 F: 28.453 – sd: 4.94	P < 0.05 F: 16.614 – sd: 4.916	P > 0.05 F: 2.702 – sd: 4.135

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

Farklı BAP konsantrasyonları arasında sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar bulunmuştur ($P < 0.05$). Sürgün sayısı yönünden en yüksek sonuç 4 mg^l⁻¹ BAP grubundan elde edilmiş olup, 19.50 ± 2.22 adet sürgün meydana gelmiştir. Bunu 2 mg^l⁻¹ BAP uygulaması takip etmiş; geriye kalan uygulamaların hepsi (0.25, 0.5 ve 1 mg^l⁻¹ BAP) aynı grup içerisinde yer almış ve sonuçlar oldukça düşük olmuştur. BAP konsantrasyonu arttıkça meydana gelen sürgün sayısı artarken, ters orantılı olarak sürgün uzunluğu ve kalitesinin düştüğü ve oluşan sürgünlerde bodurlaşmanın olduğu görülmüştür. Hatta 2 ve 4 mg^l⁻¹ BAP uygulamalarında ölçülemeyecek kadar küçük ve yumruk halinde tomurcuk topluluklarının oluştuğu gözlenmiştir.

Sürgün uzunluğu yönünden en iyi sonucu; aynı istatistiksel grup içerisinde yer alan 0.5, 0.25 ve 1 mg^l⁻¹ BAP uygulamaları sırasıyla 11.71 ± 0.92 mm, 11.24 ± 1.00 mm, 10.66 ± 0.90 mm olarak vermiştir. Uygulanan BAP konsantrasyonunun düşük olduğu uygulamalarda oluşan sürgün uzunluğunun arttığı görülmüştür. Ortalama nod sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($P > 0.05$). Ancak 2 mg^l⁻¹ BAP konsantrasyonunun 6.00 ± 0.31 adet nod ile en iyi sonucu verdiği belirlenmiştir.

4.3.1.4. Alt Kültür Sayısının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

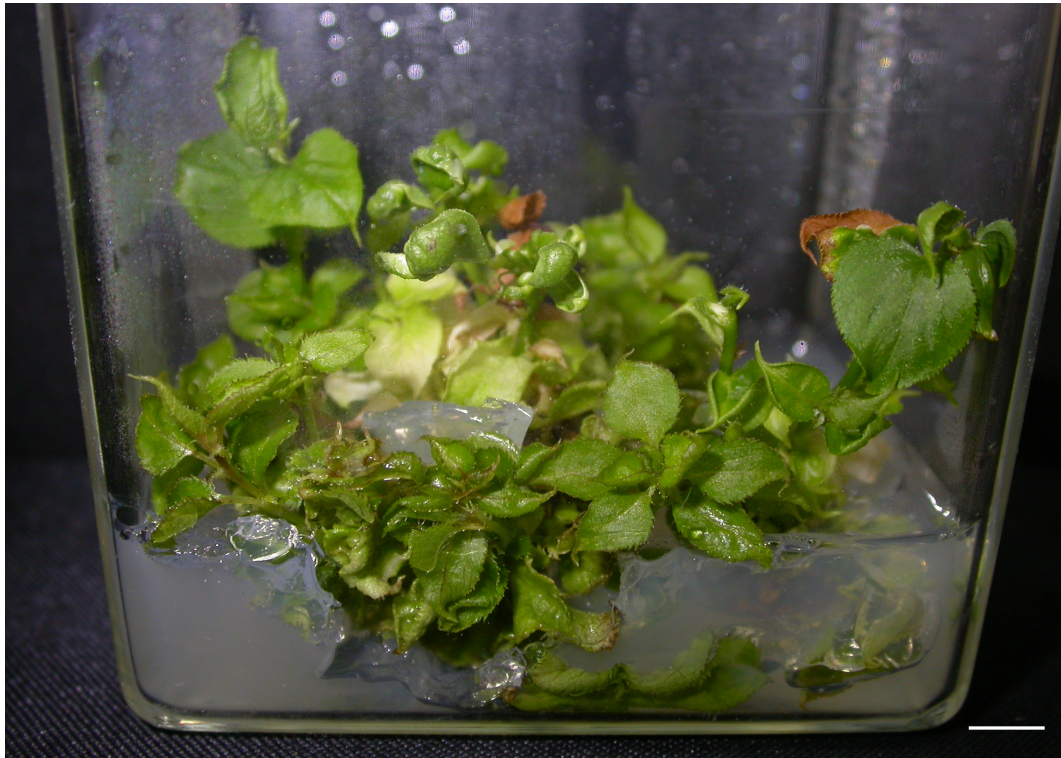
Kayısı tohumlarının *in vitro* çimlenmesi sonucu elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna alt kültür sayısının (1., 2., 3. ve 4.) etkisini tespit etmek üzere yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlara ait istatistiksel veriler Çizelge 28’de verilmiştir.

Alt kültür sayısının; sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve nod sayısı üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). 4. alt kültür

Çizelge 28. Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna alt kültür sayısının etkisi *.

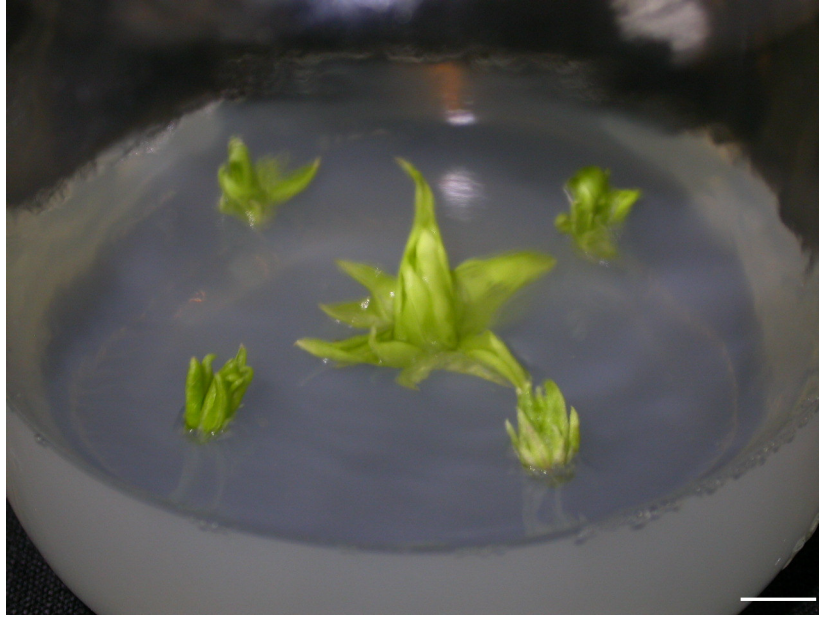
Alt kültür sayısı	Ortalama sürgün sayısı \pm SH	Ortalama sürgün uzunluğu \pm SH (mm)	Ortalama nod sayısı
1. alt kültür	3.68 \pm 0.65 b	10.66 \pm 0.90 a	4.82 \pm 0.43 b
2. alt kültür	5.50 \pm 0.70 b	6.08 \pm 0.46 b	5.87 \pm 0.37 b
3. alt kültür	5.40 \pm 0.61 b	6.07 \pm 0.62 b	8.46 \pm 0.74 a
4. alt kültür	8.10 \pm 0.68 a	5.77 \pm 0.32 b	5.42 \pm 0.75 b
	P < 0.05 F: 7.390 – sd: 3.75	P < 0.05 F: 14.297 – sd: 3.443	P < 0.05 F: 8.423 – sd: 3.59

*Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20



Resim 6. Tohumdan elde edilen sürgünlerin 1 mg^l⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamında 28 günlük kültür periyodu sonundaki proliferasyonu (bar: 5.7 mm).

uygulamasından elde edilen sürgün sayısının 8.10 \pm 0.68 ile en yüksek sonucu verdiği, diğer uygulamaların farklı bir istatistiksel grup içerisinde yer aldığı görülmüştür. Alt kültür sayısı arttıkça, oluşan sürgün sayısının da arttığı, ancak sürgün uzunluğunun kademeli olarak yavaş yavaş azaldığı tespit edilmiştir. Ortalama sürgün uzunluğu yönünden en iyi sonucu 1. alt kültür uygulaması vermiş olup, 10.66 \pm 0.90 mm uzunluğunda sürgünler meydana gelmiştir. Bu bağlamda en düşük sonucu 5.77 \pm 0.32 mm'lik sürgün uzunluğu ile 4. alt kültür uygulaması vermiştir. Nod sayısına göre; 3. alt kültür uygulamasında elde edilen en iyi sonuç 8.46 \pm 0.74 olmuştur.



Resim 7. Nodal tomurcuklardan elde edilen eksplantlar ile proliferasyon çalışmalarının başlatılması (bar: 5.9 mm).

4.3.2. Nodal Tomurcuklardan Elde Edilen Sürgünlerin Proliferasyon Çalışmaları

4.3.2.1. MS Besi Ortamının Farklı Kuvvetlerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deney, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna MS besi ortamının 1/2 MS, 1/1 MS, 2 MS, 4 MS gibi kuvvetlerinin etkisini tespit etmek üzere yapılmıştır. Standart MS besi ortamının yarım, tam, iki ve dört katından elde edilen istatistiksel sonuçlar Çizelge 29’da verilmiştir (Resim 7).

Çizelge 29. MS besi ortamının farklı kuvvetlerinin sürgün proliferasyonuna etkisi *.

MS kuvveti	Ortalama sürgün sayısı \pm SH	Ortalama sürgün uzunluğu \pm SH (mm)
1/2 MS	6.90 \pm 0.52 a	4.44 \pm 0.14 b
1/1 MS	2.64 \pm 0.69 b	5.80 \pm 0.40 a
2 MS	2.57 \pm 0.55 b	5.94 \pm 0.50 a
4 MS	--**	--**
	P < 0.05 F: 34.318 – sd: 3.72	P < 0.05 F: 36.662 – sd:3.248

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20 ** Proliferasyon görülmemiştir.

Besi ortamı kuvvetleri; ortalama sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunu istatistiksel olarak önemli derecede etkilemiştir ($P < 0.05$). En iyi sonucu 1/2 MS besi ortamı vermiş olup; 6.90 \pm 0.52 adet sürgün elde edilmiştir. Ancak deneyin 2. haftasının başından itibaren

sürgünlerin yapraklarında hafif sararmalar görülmeye başlamıştır. Proliferasyon görülmeyen 4 MS grubunda herhangi bir gelişme olmadığı için sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu ölçümü yapılamamıştır. Bu uygulamadaki sürgünlerin hepsi 3. haftadan sonra tamamen çürümüş bir hale gelip, bozulmuştur. En uzun sürgünü 5.80 ± 0.40 mm ile 1/1 MS ve 5.94 ± 0.50 mm ile 2 MS uygulamaları vermiştir. 1/1 MS besi ortamındaki sürgün durumlarının diğer gruplara göre daha iyi olduğu, kullanılabilir özelliklerinin daha fazla olduğu ve sürgünlerin daha üniform olduğu görülmüştür.

4.3.2.2. Farklı Şeker Tiplerinin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna sukroz, fruktoz, glikoz ve laktoz gibi farklı şeker tiplerinin etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 30'da verilmiştir.

Çizelge 30. Farklı şeker tiplerinin sürgün proliferasyonuna etkisi *.

Şeker tipi	Ortalama sürgün sayısı \pm SH	Ortalama sürgün uzunluğu \pm SH (mm)
Laktoz	1.75 ± 0.47 ab	4.44 ± 0.45 b
Fruktoz	1.07 ± 0.08 b	6.64 ± 0.48 a
Glikoz	1.55 ± 0.83 ab	5.98 ± 0.36 ab
Sukroz	2.64 ± 0.69 a	5.80 ± 0.40 ab
	P < 0.05 F: 7.301 – sd: 3.73	P < 0.05 F: 3.112 – sd:3.352

*Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

Elde edilen bulgulara uygulanan varyans analizine göre; ortalama sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine şeker tipinin etkisinde istatistiksel olarak önemli farklılıklar görülmüştür ($P < 0.05$). Sürgün sayısı yönünden en yüksek sonucu 2.64 ± 0.69 adet sürgün ile sukroz şekeri vermiştir. Laktoz ve glikoz şeker tiplerinden elde edilen sürgünlerin pek kullanılabilir nitelikte olmadıkları tespit edilmiştir. Sürgün uzunluğu yönünden en iyi sonucu fruktoz şekeri 6.64 ± 0.48 mm olarak verirken, sukroz şeker tipi 5.80 ± 0.40 mm ile bunu takip etmiştir. Hem sürgün sayısı hem de sürgün uzunluğu ve morfolojik gözlemler yönünden sukroz şeker tipinin sürgünlerinin çok kaliteli olduğu ve altkültüre alınabilir özelliklerinin yüksek olduğu gözlenmiştir.

4.3.2.3. Farklı Sitokininlerin Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, nodal tomurcuklardan *in vitro* gelişen sürgünlerin proliferasyonu üzerine 1 mg^l⁻¹ konsantrasyonunda kullanılan BAP, kinetin ve TDZ gibi farklı sitokininlerin etkisi incelenmiştir. Elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 31’de verilmiştir.

Çizelge 31. Farklı sitokininlerin sürgün proliferasyonuna etkisi *.

Sitokinin Tipi	Ortalama sürgün sayısı ± SH	Ortalama sürgün uzunluğu ± SH (mm)
BAP	2.64 ± 0.69 a	5.80 ± 0.40 a
Kinetin	1.05 ± 0.05 b	4.49 ± 0.27 b
TDZ	2.15 ± 0.65 ab	4.84 ± 0.14 b
	P < 0.05 F: 16.632; s.d: 2.52	P < 0.05 F: 5.135; s.d: 2.177

*Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

Uygulanan farklı sitokinin tiplerinin; sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Sürgün sayısı yönünden 1 mg^l⁻¹ BAP uygulamasının 2.64 ± 0.69 adet sürgün ile en iyi sonucu verdiği görülmüştür. TDZ’den elde edilen sonuç her ne kadar BAP uygulamasına yakın gibi görünse de; genel olarak oluşan sürgünlerin daha kalitesiz ve açık yeşil olduğu tespit edilmiştir. Sürgün uzunluğu bakımından ise yine 1 mg^l⁻¹ BAP uygulamasının en iyi sonucu vermiş olup, 5.80 ± 0.40 mm’lik sürgünlerin oluştuğu tespit edilmiştir.

4.3.2.3. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deney, nodal tomurcuk kaynaklı eksplantların proliferasyonuna 0.25, 0.5, 1, 2 ve 4 mg^l⁻¹ gibi farklı BAP konsantrasyonlarının bir kontrol grubuyla birlikte etkisini belirlemek üzere yapılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 32’de verilmiştir (Resim 8).

BAP konsantrasyonlarının sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). En fazla sürgünü 9.68 ± 1.36 adet ile 4 mg^l⁻¹ BAP uygulaması vermiştir. Kontrol ve 0.25 mg^l⁻¹ BAP uygulamalarında proliferasyon elde edilmemiş ve sürgün sayısı 1.00 olarak gerçekleşmiştir. Sadece ana sürgünlerde bir miktar uzamanın olduğu görülmüştür. Özellikle 4 mg^l⁻¹ BAP serisinde ölçüm yapılabilecek bütün sürgünler sayılmış, böyle olmasına rağmen ölçülemeyen, bodur

kalan ve yumruk halinde oluşan tomurcuk toplulukları tespit edilmiştir. Ayrıca kalite yönünden pek uygun olmadıkları kaydedilmiştir.

Çizelge 32. Farklı BAP konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkisi *.

BAP konsantrasyonu (mg ^l ⁻¹)	Ortalama sürgün sayısı ± SH	Ortalama sürgün uzunluğu ± SH (mm)
Kontrol	1.00 ± 0.00 c	2.18 ± 0.15 c
0.25	1.00 ± 0.00 c	4.95 ± 0.16 b
0.5	1.40 ± 0.13 c	5.31 ± 0.50 a
1	2.64 ± 0.69 bc	5.80 ± 0.40 a
2	4.52 ± 0.97 b	4.86 ± 0.37 b
4	9.68 ± 1.36 a	4.65 ± 0.17 b
	P < 0.05 F: 21.235 – sd: 5.103	P < 0.05 F: 3.103 – sd: 5.364

*Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

Sürgün uzunluğu yönünden en iyi sonucu veren 1 mg^l⁻¹ BAP uygulamasından elde edilen 5.80 ± 0.40 mm uzunluğundaki sürgünler iyi bir gelişim sergilerken, daha yeşil ve türe özgü görünümde olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubu en düşük sonucu verirken, 2 ve 4 mg^l⁻¹ BAP uygulamaları aynı istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır.

4.3.2.4. Farklı Kinetin Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deneyde, eksplantların proliferasyonuna 0.25, 0.5, 1, 2 ve 4 mg^l⁻¹ gibi farklı kinetin konsantrasyonlarının etkisi bir kontrol grubu ile birlikte çalışılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 33'te verilmiştir.

Çizelge 33. Farklı Kinetin konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkisi *.

Kinetin konsantrasyonu (mg ^l ⁻¹)	Ortalama sürgün sayısı ± SH	Ortalama sürgün uzunluğu ± SH (mm)
Kontrol	1.00 ± 0.00 b	2.18 ± 0.15 c
0.25	1.35 ± 0.15 a	4.37 ± 0.22 b
0.5	1.05 ± 0.05 b	5.28 ± 0.19 a
1	1.05 ± 0.05 b	4.49 ± 0.27 b
2	1.00 ± 0.00 b	3.92 ± 0.14 bc
4	1.00 ± 0.00 b	3.66 ± 0.17 c
	P < 0.05 F: 3.450 – sd: 5.100	P < 0.05 F: 5.504 – sd: 5.109

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

Test edilen kinetin uygulamaları arasında; sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir ($P < 0.05$). En yüksek sürgün sayısını 0.25 mg l^{-1} kinetin grubu 1.35 ± 0.15 adet olarak vermiştir. Kontrol, 2 ve 4 mg l^{-1} kinetin uygulamalarında herhangi bir gelişme elde edilmemiştir. Ortalama sürgün uzunluğunun en iyi olduğu uygulama, ($5.28 \pm 0.19 \text{ mm}$) 0.5 mg l^{-1} kinetin ile destekli MS besi ortamı olmuştur.

Genel bir değerlendirme ile; her ne kadar bir kısım sonuçlar elde edilmiş ve analiz sonuçları önemli çıkmış olsa dahi, önemli bir sitokinin olan kinetin kayısı proliferasyon çalışmalarında ciddi bir öneme haiz olmadığı görülmüştür. Ancak mevcut ana sürgünlerde bir miktar uzamaya yardımcı olmuştur. Bu nedenle kullanımının uygun olmadığı sonucuna varılmıştır.

4.3.2.5. Farklı TDZ Konsantrasyonlarının Sürgün Proliferasyonuna Etkisi

Bu deney, TDZ'ye ait 0.25 , 0.5 , 1 , 2 ve 4 mg l^{-1} gibi farklı konsantrasyonların bir kontrol grubuyla birlikte *in vitro* rejenerantların proliferasyonuna etkisini tespit etmek üzere yapılmıştır. Çizelge 34'te, elde edilen istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 34. Farklı TDZ konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkisi *.

TDZ konsantrasyonu (mg l^{-1})	Ortalama sürgün sayısı \pm SH	Ortalama sürgün uzunluğu \pm SH (mm)
Kontrol	1.00 ± 0.00 a	2.18 ± 0.15 c
0.25	1.09 ± 0.09 a	6.86 ± 0.56 a
0.5	1.09 ± 0.09 a	6.52 ± 0.58 ab
1	2.15 ± 0.65 a	4.84 ± 0.14 c
2	1.13 ± 0.13 a	7.04 ± 0.42 a
4	2.06 ± 0.63 a	5.63 ± 0.33 bc
	P > 0.05 F: 16.750 – sd: 5.82	P < 0.05 F: 9.403 – sd: 5.209

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 20

Uygulanan farklı TDZ konsantrasyonlarının; sürgün sayısını istatistiksel olarak önemli derecede etkilemediği görülmüştür ($P > 0.05$). En iyi sonucu 1 mg l^{-1} TDZ grubu vermiş olup, 2.15 ± 0.65 adet sürgün elde edilmiştir. 0.25 ve 0.5 mg l^{-1} TDZ gruplarında sürgün proliferasyonu gerçekleşmemiş, özellikle 0.5 mg l^{-1} TDZ uygulamasında sürgünlerin besi ortamına değdiği her noktada kallus oluşumu görülmüştür. Ancak kalluslarda herhangi bir gelişme meydana gelmemiştir. Sürgün sayısı bakımından iyi olan 1 mg l^{-1} TDZ

grubunda da kallus oluşumu gözlenmiş ve hatta bu kalluslardan sürgün oluşumunun meydana geldiği görülmüştür.



Resim 8. Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin 1 mg l^{-1} BAP içeren MS besi ortamında 28 günlük kültür periyodu sonunda; **a)** Proliferasyon (bar: 7.9 mm), **b)** Sürgünler topluluğu (bar: 8 mm), **c)** Ayrılmış sürgünlerin görünümü (bar: 7.2 mm).

Sürgün uzunluğu yönünden uygulanan TDZ konsantrasyonları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). En uzun sürgünü veren uygulama 2 mg l^{-1} TDZ olmuş ve $7.04 \pm 0.42 \text{ mm}$ uzunluğunda sürgünler elde edilmiştir. Bu sonucu 0.25 ve 0.5 mg l^{-1} TDZ uygulamaları sırasıyla $6.86 \pm 0.56 \text{ mm}$ ve $6.52 \pm 0.58 \text{ mm}$ ile takip etmiştir.

Proliferasyon çalışmalarında; TDZ kullanımının diğer sitokininlerle kombine halinde olabileceği, ancak tek başına kullanımının pek uygun olamayacağı sonucuna

varılmıştır. Özellikle 2 ve 4 mg^l⁻¹ TDZ konsantrasyonlarında daha deneyin 3. haftasından itibaren bazı sürgünlerde kırmızımsıtrak renklenmenin görüldüğü, bir kısım sürgünlerde ise, kararmaların meydana geldiği, bu nedenle deney sonunda altkültüre alınabilecek kalitede sürgün bulmanın güç olduğu tespit edilmiştir. Tabi bunun yanında, kallus çalışmaları için oldukça iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

4.3.3. Sürgün Proliferasyon Çalışmalarıyla İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma

In vitro sürgün rejenerasyonu veya proliferasyonu yoluyla mikroçoğaltım işlemi 1970'lerden beri bir kısım ılıman iklim meyvelerinde ve özellikle sert kabuklu meyvelerde uygulanmaktadır. Bu yöntem başlangıçta çilek ve ahududu gibi meyvelerde ve sonraları şeftali gibi sert çekirdekli meyvelere anaç üretimi amacıyla kullanılmış ve bundan sonra yaygınlaşmaya başlamıştır (Zimmerman ve Deberg, 1991).

Kayısı *in vitro* rejenerasyon ve çoğaltım için iyi bir aday meyve türüdür. Çünkü, hem bitkilerden alınan çeliklerin köklenmesi zordur, hem de fidan üretimi, tohumdan çıkmış çöğürler üzerine aşılama suretiyle yapılmaktadır (Hartmann ve Kester, 1975). Ayrıca kayısının *in vitro* kültürüyle ilgili literatürü, diğer sert çekirdekli meyve türleriyle kıyaslandığı zaman oldukça sınırlıdır (Skirvin ve ark. 1979; Snir 1984; Marino ve ark, 1993).

Büyük oranda genotipe; yani çalışılan meyve türü ve hatta çeşidine göre değişiklik gösteren *in vitro* rejenerasyon sistemlerinin geliştirilmesi; doku kültürü çalışmaları için önemli basamaklardan biridir. Bu amaçla araştırmacılar, kayısı ve diğer sert çekirdekli meyve türleri için; besi ortamlarının, besi ortamı kuvvetlerinin, karbon kaynaklarının, farklı BBD ve konsantrasyonlarının, altkültür sayılarının ve genotip bazında genel ortam isteklerinin belirlenmesi amacıyla çok sayıda *in vitro* çalışma yapmış bulunmaktadır.

Çalışma yapılan sert çekirdekli meyve türünde kullanılacak besi ortamını belirlemek üzere; (Perez-Tornero ve ark. 2000; Perez-Tornero ve Burgos, 2000; Burgos ve Alburquerque, 2003; Murai ve ark. 1997; Srinivasan ve ark. 2005; Andreu ve Marin, 2005; Yancheva 2002; Gentile ve ark. 2002; Almehdi ve Parfitt, 1986; Ahmad ve ark. 2003; Bhagwat ve Lane, 2004; Sülüsoğlu ve Çelik, 2001) gibi araştırmacılar tarafından çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Kullanacakları besi ortamı kuvvetinin belirlenmesi amacıyla; (Escalettes ve Dosba, 1993; Murai ve ark. 1997; Hammerschlag ve ark. 1987; Schmidt ve Ketznel, 1996; Cerovic ve Ruzic, 1987; Fidancı ve ark. 2001) gibi araştırmacılar değişik araştırmalar yapmıştır.

Besi ortamında kullanılacak şeker kaynağını tespit etmek için; (Marino ve ark. 1991; Marino ve ark. 1993; Murai ve ark. 1996; Matt ve Jehle, 2005) gibi farklı araştırmacılar çalışmışlardır.

En fazla çalışmanın bulunduğu ve farklı BBD ve bunların konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla; (Perez-Tornero ve ark. 2000; Perez-Tornero ve Burgos, 2000; Marino ve ark. 1991; Perez-Tornero ve ark. 1999 a; Perez-Tornero ve ark. 1999 b; Perez-Tornero ve ark. 2000; Escalettes ve Dosba, 1993; Kramarenko 1999; Marino ve ark. 1993; Murai ve ark. 1996; Murai ve ark. 1997; Srinivasan ve ark. 2005; Paris ve ark. 2004; Yancheva 2002; Nowak ve Miczynski, 1996; Ambrozic Turk B. ve ark. 1992; Almehdi ve Parfitt, 1986; Hammerschlag ve ark. 1987; Sotiropoulos ve Fotopoulos, 2005; Ahmad ve ark. 2003; Mante ve ark. 1989; Theiler-Hedtrich ve Feucht, 1985; Pruski ve ark. 2005; AL-Sabbagh ve ark. 1999; Pruski ve ark. 2000; Pascual ve Marin, 2005; Schmidt ve Ketzel, 1996; Cerovic ve Ruzic, 1987; Espinosa ve ark. 2006) olmak üzere çok sayıda araştırmacı bu konuda araştırma yapmışlardır.

Besi ortamında kullanılabilecek etilen inhibitörü, poliamin ve farklı antibiyotiklerle ilgili olarak; (Burgos ve Alburquerque, 2003; Petri ve ark. 2005 a; Petri ve ark. 2005 b; Matt ve Jehle, 2005) gibi araştırmacılar çalışma yapmışlardır.

Standart *in vitro* koşullar kullanarak farklı genotiplerin davranışlarını belirlemek üzere; (Morini ve ark. 1991; Fortuna ve ark. 1996; Gentile ve ark. 2002; Parfitt ve Almehdi 1986; Theiler-Hedtrich ve Feucht 1985; Grant ve Hammatt, 2000; Pruski ve ark. 2000; Matt ve Jehle, 2005; Dradi ve ark. 1996; Hammatt ve Grant, 1997; Sülüsoğlu ve Çelik, 2001; Fidancı ve ark. 2001) gibi araştırmacılar tarafından bir çok çalışma yapılmıştır.

Perez-Tornero ve ark. (2000), “Canino” kayısı çeşidi ile ilgili yapılan çalışmada; besi ortamı olarak MS’in kullanılmasıyla sürgün sayısının 2.79 adet, sürgün uzunluğunun 12.4 mm olduğu bildirilmiştir. Ayrıca uygun bir sürgün proliferasyonu için etkili BA konsantrasyonunun 0.5-0.6 mg^l⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada “Hacıhaliloğlu” çeşidi için sürgün sayısı 2.64, sürgün uzunluğu 5.80 mm olarak bulunmuştur. Etkili BAP konsantrasyonu ise 1 mg^l⁻¹ BAP olarak belirlenmiştir. Perez-Tornero ve Burgos (2000), bazı kayısı çeşitleriyle ilgili yaptıkları çalışmada MS besi ortamından elde ettiği sonuçlar, yaptığımız çalışma ile uyum içerisindedir. Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından en iyi sonuç 1 mg^l⁻¹ BA’dan sağlanmıştır. Marino ve ark. (1991), tarafından yapılan çalışmada, proliferasyon için 0.5 mg^l⁻¹ – 2 mg^l⁻¹ BA’nın etkili olduğu ve bu ortamlarda sukroz kullanılmasının gerektiği ortaya bildirilmiştir. Yapılan bu

çalışmada proliferasyon ortamında 30 gl^{-1} sukroz kullanılmasının ve 1 mgl^{-1} BAP ile desteklenmesinin uygun olduğu tespit edilmiş olup; araştıracının bulduğu sonuçlar ile uyum içerisindedir. **Perez-Tornero ve ark. (1999 a)**, sürgün uzunluğu bakımından en uygun BA konsantrasyonunun $0.5 - 1 \text{ mgl}^{-1}$ BA olduğu bildirilmiştir. Ortama GA_3 ilave edildiği zaman yaşayan sürgün oranında azalmanın olduğu tespit edilmiş ve proliferasyon ortamlarında GA_3 kullanımının uygun olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Araştıracının bulduğu sonuçlara göre; proliferasyon çalışmaları sırasında besi ortamlarında GA_3 kullanılmamıştır. **Perez-Tornero ve ark. (1999 b)**, tarafından dört farklı kayısı (Canino, Currot, Bulida, Bergeron) çeşidinde yapılan çalışmada; BA konsantrasyonunun $0.5 - 1 \text{ mgl}^{-1}$ olduğu ortama 2-4 hafta sonra $2-4 \text{ mgl}^{-1}$ GA_3 ilave edilmesiyle sürgün uzamasının teşvik edildiği bildirilmiştir.

Perez-Tornero ve ark. (1999 c), “Helena” kayısı çeşidiyle ilgili yaptığı çalışmada; %3 sukroz, 0.4 mgl^{-1} BA ve 0.04 m l^{-1} IBA kullanılmış ve 2-6 haftada bir altkültür yapılarak materyalin *in vitro* koşullarda 3-12 ay süreyle muhafaza edilebileceği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada altkültürler 4 haftada bir yapılmış olup, araştıracının altkültür yapma süreleri ile uyum içerisindedir. **Perez-Tornero ve ark. (2001)**, farklı kayısı çeşitleriyle ilgili yaptıkları *in vitro* çalışmada; “Helena” çeşidi için QL besi ortamı, “Lorna” çeşidi için WPM besi ortamı kullandığını, altkültür çalışmalarını 3 haftada bir yaptığını bildirmiştir. Yaptığımız çalışma sonucunda, altkültür çalışmalarının 4 haftalık periyotlarla yapılması gerektiği, bu sürenin artması durumunda sürgünlerde sararmanın olduğu tespit edilmiştir. **Kramarenko (1999)**, tarafından yapılan çalışmada; MS besi ortamının 1 mgl^{-1} BAP ile desteklendiği bildirilmiştir. Araştıracının sonuçları ile çalışma kapsamında bizim elde ettiğimiz sonuçlar bire bir benzerlik göstermekte olup, uyum içerisindedir. **Marino ve ark. (1993)**, tarafından “San Castrese ve Portici” kayısı çeşitlerinin *in vitro* proliferasyon çalışmalarında; MS besi ortamında sorbitol şekeri ve BA bulunmasının iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. **Balla ve Vertesy (2001)**, tarafından Sharka virüsüne karşı alternatif önlemler geliştirmek üzere *in vitro* proliferasyon çalışmasında MS besi ortamında 3 haftada bir altkültür çalışması yapılarak sürgün üretiminin gerçekleştirildiği bildirilmiştir. **Harada ve Murai (1996)**, Japon kayısının *in vitro* mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yaptıkları çalışmada; sürgün proliferasyonu amacıyla kullanılan farklı şeker tipleri içerisinden glikoz şekerinin en iyi sonucu verdiği, sukroz kullanıldığı durumlarda yaprak sararmasının görüldüğü bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmalar sırasında glikoz ve fruktoz şekerinden elde edilen sürgünlerle yapılan altkültür çalışmalarında materyallerin öldüğü görülmesinden dolayı kullanımlarının uygun olmadığı

sonucuna varılmış, ancak sukrozun iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir.

Murai ve ark. (1996), 3 farklı Japon kayısı (Ichinotani, Hakubotan ve Yae-bungo) çeşidinin *in vitro* sürgün proliferasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada; en etkili sitokininin $1-2 \text{ mg l}^{-1}$ BA olduğu, kültürlerin hayatta kalması ve proliferasyon bakımından en iyi şeker tipinin sorbitol, sürgün uzaması bakımından ise glikoz şekerinin etkili olduğu bildirilmiştir. **Murai ve ark. (1997)**, “Bakuoh junkyou” kayısı çeşidinin *in vitro* çoğaltımı ile ilgili yaptıkları çalışmada; besi ortamı olarak WP, sitokinin olarak BA ve sürgün uzaması için Zeatin ve 2-İP’nin etkili olduğu bildirilmiştir. **Petri ve ark. (2005 b)**, tarafından kayısıda *in vitro* rejenerasyon üzerine antibiyotiklerle ilgili yapılan çalışmada; streptomycin ve paromycin konsantrasyonları arttıkça rejenerasyon oranının düştüğü görülmüş, geneticin’in ise kayısı yapraklarında toksik etki yaptığı ve bütün konsantrasyonlarının rejenerasyonu engellediği bildirilmiştir. **Pinker (1995)**, bazı *Prunus* (sert çekirdekli) türlerinin *in vitro* sürgün üretiminde ışıklandırma periyodunun etkisini belirlemek üzere yapılan çalışmada; kısa gün koşullarının (8 saat ışık – 16 saat karanlık) ve özellikle bir gün içerisinde 2 periyot halinde geçen (8 saat ışık – 4 saat karanlık – 8 saat ışık – 4 saat karanlık) uygulamasının sürgün proliferasyonu, dallanma ve lateral tomurcuk oluşumunu önemli oranda teşvik ettiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışma kapsamında kullanılan büyüme odasının fotoperiyot özelliği 8 saat karanlık + 16 saat aydınlık olacak şekilde ayarlanmış olup, araştırmacının bulgularıyla uyum içerisindedir.

Yancheva (2002), “Stanley” erik çeşidinin sağlıklı bitkilerinden alınan sürgünlerin *in vitro* koşullarda çoğaltılması ile ilgili yapılan çalışmada, TDZ’nin 1 mg l^{-1} ’lık konsantrasyonu ile desteklenmiş MS besi ortamında %100 sürgün gelişimi teşvik edilmiş olup, B5 besi ortamında 6.6 mg l^{-1} TDZ kullanılarak ancak %87 oranında sürgün gelişiminin olduğu bildirilmiştir. **Ambrozic Turk B. ve ark. (1992)**, kayısı için anaç olarak kullanılabilecek “Bistrica” erik ekotipinin *in vitro* koşullarda hızlı çoğaltımı için metot geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada MS besi ortamının kullanıldığı, 0.25 mg l^{-1} BAP ve 0.1 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiş ve bu ortamın en iyi sürgün proliferasyonunu gerçekleştirdiğini tespit etmiştir. Çalışmanın ilerleyen aşamalarında besi ortamına $0.1 - 0.05 \text{ mg l}^{-1}$ GA₃ ilave edilmiş, fakat ne proliferasyonu ne de sürgün uzamasını teşvik etmediği görülmüştür. 2-İP ilave edilen ortamda hemen hemen hiç proliferasyon görülmüştür. **Parfitt ve Almehdi (1986)**, 58 adet şeftali ve nektarin çeşidinin *in vitro* çoğaltımı ve sürgün gelişimini belirlemek için AP besi ortamı (**Almehdi ve Parfitt, 1986**) kullanılarak yapılan çalışmada; sürgün çoğaltım ortamı 6 mg l^{-1} BA ve 0.01 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiş ve 5 haftalık periyotlarla ölçümler yapılmıştır. Yapılan çalışma

ile AP besi ortamının klonal çoğaltım ve sürgün ucu kültürleri için şeftali ve nektarin çeşitleri bakımından iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. **Manganaris ve ark. (2003)**, “Armking” nektarin çeşidinde PPV ve PNRSV virüsleriyle bulaşık bitkilerden alınan meristemlerin *in vitro* kültürü yoluyla sağlık bitkilerin çoğaltımı amacıyla yapılan çalışmada; sürgün çoğaltım ortamında 1.8 mg l^{-1} BAP ve 0.14 mg l^{-1} IAA ile desteklenmiş WPM besi ortamından %38 oranında rejenerasyonun sağlandığı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada; MS besi ortamında %100'lük bir rejenerasyon oranı elde ederek, uygun sitokininin 1 mg l^{-1} BAP olduğu tespit edilmiştir.

Hammerschlag ve ark. (1987), 8 şeftali çeşidi ve 1 adet anacın *in vitro* sürgün çoğaltımı ve köklenmesi üzerine yaptıkları çalışmada; sürgün çoğaltım ortamında 2 mg l^{-1} BA ile desteklenmiş MS besi ortamının iyi olduğu bildirilmiştir. **Sotiropoulos ve Fotopoulos (2005)**, şeftali anacı olarak kullanılan PR 204/84 anacının *in vitro* üretimi sırasında sürgün uzamasını teşvik etmek için; aktif kömür, GA_3 ve BAP'ın etkisini belirlemek üzere yapılan çalışmada; aktif kömürün de farklı konsantrasyonlarının uygulandığı, ancak çalışmanın genelinde istatistiksel bakımdan bir farklılık kaydedilmediği, sadece 0.02 mg l^{-1} BAP + 0.01 mg l^{-1} GA_3 uygulamasından elde edilen sürgünlerin daha iyi bir görünüme sahip oldukları bildirilmiştir. **Ahmad ve ark. (2003)**, GF 677 şeftali ve badem anacının mikroçoğaltımına besi ortamının ve büyüme düzenleyicilerin etkisini araştırmak üzere yapılan çalışmada; sürgün proliferasyonu, uzaması ve gelişimi üzerine en iyi sonucu MS besi ortamının verdiği, AND besi ortamındaki bitkilerin sarardığı, vitrifiye olduğu ve küçük kaldıkları görülmüştür. En fazla sürgün sayısı 0.6 mg l^{-1} BA serisinde elde edilirken, en yüksek konsantrasyon olan 0.9 mg l^{-1} BA serisinde sürgün ucu ölümüne (apikal nekrozis) rastlanmış ve kallus oluşumunun gözlemlendiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma kapsamında yürüttüğümüz BAP konsantrasyonlarının belirlenmesi amacıyla yapılan deneyde, hiçbir konsantrasyonda kallus oluşumunun görülmediği ve en uygun konsantrasyonun 1 mg l^{-1} BAP olduğu belirlenmiştir. **Mante ve ark. (1989)**, erik ve vişnede olgun tohumun, şeftalide ise, olgunlaşmamış tohumun embriyonik ekseni çıkarılmış kısımlarından bitki rejenerasyonu için yapılan çalışmada; en yüksek doz olan 2.75 mg l^{-1} TDZ ile desteklenmiş olan MS besi ortamı ile birlikte 0.5 mg l^{-1} IBA kullanıldığı zaman sürgün rejenerasyonunun teşvik edildiği bildirilmiştir. Yapılan bu araştırma kapsamında yürütülen ve TDZ konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla yapılan deneyde hiçbir konsantrasyonunun proliferasyon için uygun olmadığı ve özellikle 1 mg l^{-1} TDZ ile destekli ortamda kallus oluşumunun yoğun olduğu saptanmıştır.

Pruski ve ark. (2005), Mongolian ve Nanking vişne çeşitleriyle ilgili yapılan *in vitro* çalışmalar kapsamında; her iki çeşitte de aynı proliferasyon ortamı (2 mg l^{-1} BA + 0.1 mg l^{-1} NAA) en iyi sonucu vermiş ve Nanking cherry (%37.96), Mongolian cherry (%45.93) oranında yaşayan kültür verdiği bildirilmiştir. **AL-Sabbagh ve ark. (1999)**, yarı bodur kiraz anacı olan Maxma-14'ün *in vitro* çoğaltım sistemini geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; BAP ve kinetin konsantrasyonlarının proliferasyona etkisi bakımından yan sürgün sayısı yönünden en iyi sonucu; 0.11 mg l^{-1} BA ve 0.9 mg l^{-1} IBA'dan 5.42 adet olarak vermiştir. Sürgün uzunluğu bakımından; 0.1 mg l^{-1} Kinetin ve 0.4 mg l^{-1} IAA kombinasyonunda 3.3 cm olarak bulunduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada BAP ile elde edilen sonuçlar uyum içerisindeyken; kinetin kullanılarak yapılan proliferasyonun pek iyi olmadığı, kayısı için tavsiye edilemeyeceği sonucuna varılmıştır.

Petrevica ve Bite (2003), bazı vişne çeşitlerinin *in vitro* proliferasyonuna kısa süreli soğukta muhafazanın etkisini incelemek üzere yapılan çalışmada; sürgünlerin proliferasyonu için 1 mg l^{-1} BA, 0.5 mg l^{-1} IAA ve 0.3 mg l^{-1} GA₃ ile desteklenen MS kullanılmıştır. Proliferasyon sonucu elde edilen sürgün uzunluklarının 11.00 – 16.40 mm arasında değiştiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma sonucunda 1 mg l^{-1} BAP destekli MS besisi ortamından elde ettiğimiz sürgün uzunluğu nodal tomurcuk kaynaklı sürgünlerde 5.80 mm, tohum kaynaklı sürgünlerde ise 10.66 mm olarak bulunmuş olup, çalışma ile yakın sonuçlar elde edilmiştir. **Dradi ve ark. (1996)**, 11 farklı mahlep ekotipinin ve anaç olarak kullanılan 2 kiraz çeşidinin *in vitro* çoğaltımını hızlandırmak ve ticari olarak bir sistem geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; proliferasyon oranı kullanılan ekotip ve ortam formülasyonuna göre 1 – 4.5 arasında değişmiş olup, kalite ve kantite yönünden iyi sürgün üretimi için 1 – 2 hatta 4 farklı besisi ortamının farklı kombinasyonları bir arada kullanılmıştır. Başlangıç besisi ortamında 0.5 mg l^{-1} BAP, 0.5 mg l^{-1} GA₃ ve 0.01 mg l^{-1} NAA ile destekli SH (**Schenk and Hildebrandt, 1972**) makrobesin maddeleri ve MS mikrobesein maddeleri ve vitaminler kullanılmıştır. **Borkowska (1985)**, “Schatenmorello” vişne çeşidinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; sürgün proliferasyonu için 1 mg l^{-1} BA, 0.1 mg l^{-1} NAA ve 0.1 mg l^{-1} GA₃ ile destekli MS besisi ortamı kullanmıştır. Kültürde geçen sürenin 5. haftaya kadar iyi gittiği, fakat bundan sonra yapraklarda sararma ve dökülmenin olduğu gözlenmiştir. Yapılan bu araştırmada kültürde geçen sürenin 4 haftadan fazla olmaması gerektiği belirlenmiştir.

Özzambak ve Hepaksoy (1997a), “Heimanns Rubinweichsel” vişne çeşidinin *in vitro* proliferasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; altkültürler süresince sürgün çoğaltımı için $1.0 - 1.5 \text{ mg l}^{-1}$ BAP destekli MS kullanıldığı bildirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla,

araştıracının sonuçları uyum içerisindedir. **Gebhardt (1985)**, “Schattenmorello” vişne çeşidinin sürgün ucu kültürleri yoluyla elde edilen sürgünlerinin köklenmesi üzerine, oksinlerin etkisini belirlemek üzere yapılan çalışmada; proliferasyon için 1 mg l^{-1} BA ile destekli MS besi ortamının kullanıldığı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma kapsamında elde edilen sonuçlarla bire bir uygunluk göstermektedir. **Hammatt ve Grant (1997)**, “Charger” ve “F 12/1” yabani kiraz çeşitlerinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; Charger çeşidi için altkültürler süresince 0.15 mg l^{-1} floroglukinol, 0.5 mg l^{-1} BA ve 0.1 mg l^{-1} IBA ile destekli MS besi ortamı; F 12/1 çeşidi için 1 mg l^{-1} BA, 0.1 mg l^{-1} IBA ve 0.1 mg l^{-1} GA₃ ile destekli MS besi ortamından faydalandığı bildirilmiştir. **Cerovic ve Ruzic (1987)**, “Sumadinka” vişne çeşidinin mikroçoğaltımı için bir metot geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; en iyi proliferasyon ortamının 0.5 mg l^{-1} BAP, 0.1 mg l^{-1} IBA ve 0.1 mg l^{-1} GA₃ ile destekli MS besi ortamı olduğu; 0.5 mg l^{-1} BAP + 0.1 mg l^{-1} NAA + 0.1 mg l^{-1} GA₃ veya 1 mg l^{-1} BAP + 0.1 mg l^{-1} NAA + 0.1 mg l^{-1} GA₃ ortamlarının da iyi sonuç verdiği saptanmıştır.

Espinosa ve ark. (2006), siyah kirazın (*Prunus serotina*) *in vitro* kültürleri yoluyla sürgün rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine yapılan çalışmada; rejenerasyon oranı en yüksek %41.6 olarak, 0.3 mg l^{-1} NAA + 1.5 mg l^{-1} TDZ kombinasyonundan elde edilmiştir. Sürgün sayısı ise, yine bu kombinasyonda 4.13 olarak bulunduğu bildirilmiştir. **Sülüsoğlu ve Çelik (2001)**, sarı ve kara idris (*P.mahaleb* L.) anaçlarının mikroçoğaltımı amacıyla farklı besi ortamlarının (MS, WPM) ve hormon dozlarının belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; her iki anaç için altkültürler süresince sürgün gelişimini olumsuz etkilediği için WPM kullanılmamıştır. Sarı idris anacında; oluşturulan hormon kombinasyonlarında 1 mg l^{-1} BAP + 0.5 mg l^{-1} IBA’da; yaşama oranı %93.3, proliferasyon %86.7 ve sürgün sayısı 1.6 adet olarak belirlenmiştir. Kara idris anacında; oluşturulan kombinasyonlarından 2 mg l^{-1} BAP + 0.1 mg l^{-1} IBA veya 0.5 mg l^{-1} IBA’da; yaşama oranı %100, proliferasyon %93.3 ve sürgün sayısı 1.6 adet olarak belirlendiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada da WPM besi ortamından yüksek sonuçlar alınmasına rağmen altkültür süresinde kullanımında görülen olumsuzluklar nedeniyle MS besi ortamı ile devam etmenin uygun olacağı sonucuna varılmıştır. **Fidancı ve ark. (2001)**, tarafından “Gisel A-5, Maxma-14 ve Tabel/Edabriz” gibi bazı kiraz ve vişne anaçlarının *in vitro* hızlı çoğaltım tekniklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; BAP konsantrasyonu bakımından en iyi sonuç 1 mg l^{-1} BA’dan 9 bitki/sürgün elde edilmiştir.

Schmidt ve Ketzel (1996), kiraz ıslahında *in vitro* kültür tekniklerinin gerekliliğinden yola çıkılarak yapılan çalışmada; hibrit kiraz tohumlarının *in vitro*da

çimlendirilmesi sonucu bitki üretimi gerçekleştirilmiştir. Dış sert kabuğu kırılarak, 2 mg l^{-1} BA ve 1 mg l^{-1} IAA ile destekli MS besisi ortamına ekilen tohumlardan ilk sürgünler 2 hafta sonra meydana gelmiştir. Sürgün uzaması için 0.5 mg l^{-1} BA ve 0.1 mg l^{-1} NAA ile destekli MS besisi ortamına aktarılmıştır. Kullanılan tohumlardaki olgunlaşma oranının yüksek olması nisbetinde, rejenerasyon oranının da yüksek olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada kullanılan kayısı tohumlarının dış sert kabukları (endokarp) kırılarak, ve sterilizasyondan sonra ekim işlemi sırasında testa soyularak ekim yapılmıştır, aksi takdirde testa soyulmadığı zaman çimlenmenin olmadığı görülmüştür. Tam olgun kayısı tohumlarının kullanıldığı çalışmalar kapsamında en iyi çimlenme oranını 1 mg l^{-1} BAP ile desteklenmiş MS besisi ortamı verirken, eksplant tipi bakımından yarım tohum ya da embriyo kullanımının daha fazla çimlenme ve sürgün uzunluğu verdiği tespit edilmiştir. Elde edilen uygun proliferasyon ortamı olarak; MS besisi ortamı, sukroz şeker tipi ve 1 mg l^{-1} BAP olarak belirlenmiştir. Bulgularımız araştıracının bulgularıyla uyum içerisindedir. **Hokanson ve Pooler (2000)**, sekiz farklı süs kirazının olgun tohumlarından sürgün rejenerasyonu ve kallus oluşumu için yapılan çalışmada; çimlenme durumları ve farklı hormon kombinasyonlarının çimlenmeye etkisi üzerinde durulmuştur. Sürgün oluşturma oranları çeşitlere göre değişiklik göstermiş olup, %5 – 50 arasında gerçekleşmiştir. Ancak bazı çeşitlerde sürgün oluşumunun hiç görülmediği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada 1 mg l^{-1} BAP ile destekli MS besisi ortamı kullanılarak; tüm tohumda %61, yarım tohumda %94 ve embriyoda %100 oranında sürgün oluşturma gerçekleşmiştir.

4.4. Köklendirme Çalışmaları

In vitro çoğaltılan sürgünlerin köklendirme çalışmaları kapsamında yapılan deneyler ve bu deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.4.1. Tohumdan Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları

4.4.1.1. IBA'nın Köklenmeye Etkisi

Bu deney, tohum kaynaklı sürgünlerin *in vitro* proliferasyonu sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine 0.25, 0.5, 1.0, ve 2.0 mg l^{-1} gibi farklı IBA konsantrasyonlarının etkisini belirlemek için yapılmıştır. Elde edilen bulgular Çizelge 35'te verilmiştir.

Çizelge 35. Farklı IBA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi *.

IBA konsantrasyonu (mg ^l ⁻¹)	Köklenme oranı (%)	Ortalama kök sayısı \pm SH	Ortalama kök uzunluğu \pm SH (mm)
0.25	..**	..**	..**
0.5	..**	..**	..**
1	100	1.50 \pm 0.70 a	4.04 \pm 0.26 a
2	..**	..**	..**
χ^2 (s.d: 3)	P < 0.05		
	--	P < 0.05 F: 45.00 – sd: 3.36	P < 0.05 F: 147.06 – sd: 3.41

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 10 **; Köklenme olmadığı için veri kaydedilemedi.

Farklı IBA konsantrasyonlarının köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu değerleri üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli görülmüştür ($P < 0.05$). Köklenmenin gerçekleştiği tek uygulama olan 1 mg^l⁻¹ IBA'da %100 oranında köklenme elde edilirken, kök sayısı 1.50 \pm 0.70, kök uzunluğu ise 4.04 \pm 0.26 mm olarak belirlenmiştir. Uygulamalar arasında yeralan 0.25 – 0.5 ve 2 mg^l⁻¹ IBA'nın hiç birisinde köklenme elde edilmemiştir. Sürgünlerin besi yeri içerisindeki dip kısımlarında kırmızı renkte yumruk halinde kallus geliştiği görülmüştür. 2 mg^l⁻¹ IBA konsantrasyonundaki sürgünlerde erken dönemde yoğun bir sararmanın olduğu gözlenmiştir.

4.4.1.2. NAA'in Köklenmeye Etkisi

Bu deney, tohumdan elde edilen sürgünlerin *in vitro* proliferasyonu sonucu meydana gelen sürgünlerin köklenmesi üzerine NAA'in 0.25, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg^l⁻¹'lik farklı konsantrasyonlarının etkisini tespit etmek amacıyla yapılmıştır. Çizelge 36'da elde edilen verilere uygulanan istatistiksel analiz sonuçları yer almıştır.

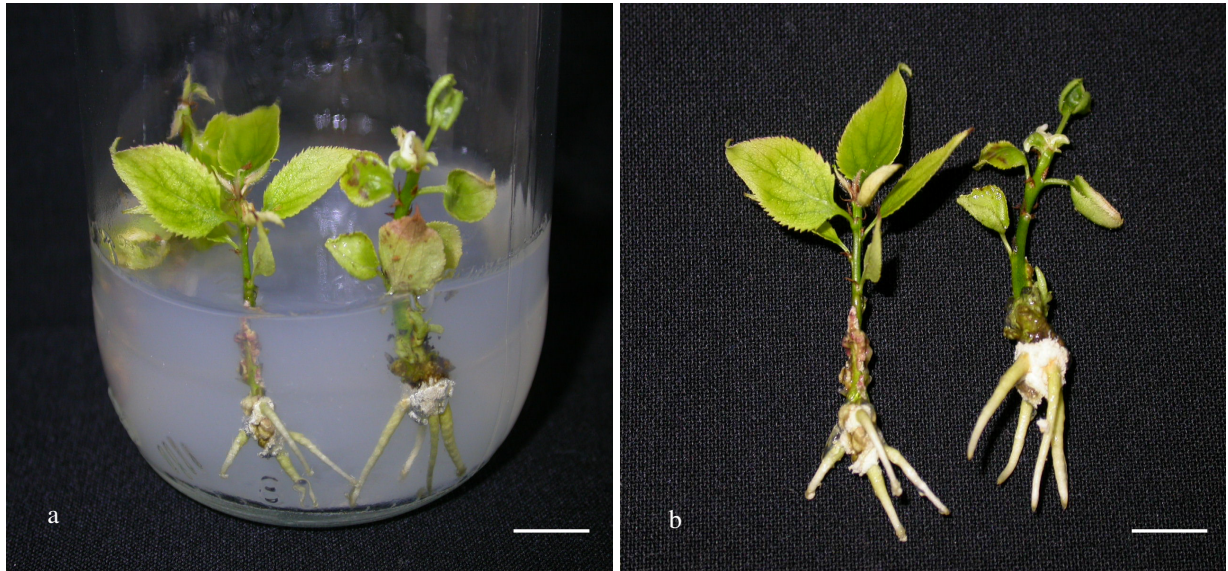
NAA'nın farklı konsantrasyonlarının köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu üzerine olan etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). Köklenme oranı bakımından en iyi sonucu 0.5 mg^l⁻¹ NAA vermiş olup, %60 oranında köklenme meydana gelmiştir. Bunu %40'luk köklenme ile 1 mg^l⁻¹ NAA ve çok düşük düzeyde de olsa 2 mg^l⁻¹ NAA uygulamasında %25 köklenme görülmüştür. 0.25 mg^l⁻¹ NAA'da herhangi bir köklenme meydana gelmemiştir. Bu uygulamadaki sürgünlerde bulunan yaprakların kültürün 3. haftasından sonra sararıp döküldüğü ve ayrıca besi yeri içerisindeki alt kısımlarında kırmızımsıtrak renkte şişkinliklerin meydana geldiği görülmüştür.

Çizelge 36. Farklı NAA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi *.

NAA konsantrasyonu (mg ^l ⁻¹)	Köklenme oranı (%)	Ortalama kök sayısı \pm SH	Ortalama kök uzunluğu \pm SH (mm)
0.25	–**	–**	–**
0.5	60	3.66 \pm 0.21a	10.43 \pm 0.38 a
1	40	1.66 \pm 0.33 b	3.26 \pm 0.07 b
2	25	1.05 \pm 0.09 bc	2.98 \pm 0.22 b
χ^2 (s.d: 3)	P < 0.05		
	--	P < 0.05 F: 266.09 – sd: 3.25	P < 0.05 F: 236.75 – sd: 3.43

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 10 **; Köklenme olmadığı için veri kaydedilemedi.

0.5 mg^l⁻¹ NAA uygulamasında meydana gelen kök sayısı 3.66 \pm 0.21 olurken, ortalama kök uzunluğunun 10.43 \pm 0.38 mm olduğu tespit edilmiştir. Yapılan deney kapsamında; hem iyi sonuçlar veren, hem de köklenen bitkilerin ve oluşan köklerin morfolojik olarak sağlıklı ve iyi durumda görünmeleri nedeniyle 0.5 mg^l⁻¹ NAA'ın köklenme deneyleri açısından kullanımının uygun olduğu sonucuna varılmıştır (Resim 9).



Resim 9. 0.5 mg^l⁻¹ NAA içeren MS besi ortamında 28 günlük kültür periyodu sonunda köklenen bitkilerin; **a)** besi ortamında (bar: 9.5 mm) **b)** saksılara aktarılmadan önceki (bar: 7.8 mm) görünümü.

4.4.1.3. Karanlıkta Bırakma İşleminin Köklenmeye Etkisi

Bu deney, *in vitro*da çoğaltılan tohum kaynaklı sürgünlerin köklenmesi üzerine farklı sürelerde, karanlıkta bırakma işleminin (Fotoperiyot, 1 gün karanlık, 3 gün karanlık, 5 gün karanlık, 7 gün karanlık) etkisini belirlemek için yapılmıştır. Elde edilen bulgulara ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 37’de verilmiştir.

Çizelge 37. Karanlıkta bırakma işleminin sürgün köklenmesi üzerine etkisi *.

İşlem	Köklenme oranı (%)	Ortalama kök sayısı \pm SH	Ortalama kök uzunluğu \pm SH (mm)
Fotoperiyot	60	3.66 \pm 0.21 a	10.45 \pm 0.30 b
1 gün karanlık	20	2.00 \pm 1.00 b	27.11 \pm 5.81 a
3 gün karanlık	20	1.00 \pm 0.00 bc	8.29 \pm 1.17 b
5 gün karanlık	10	1.00 \pm 0.00 bc	6.64 \pm 0.24 b
7 gün karanlık	–**	–**	–**
χ^2 (s.d: 4)	P < 0.05		
	--	P < 0.05 F: 35.75 – sd: 4.12	P < 0.05 F: 28.142 – sd: 4.30

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 10 ** Köklenme olmadığı için veri kaydedilemedi.

Farklı sürelerde karanlıkta bırakma işleminin köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). En iyi sonucu, fotoperiyot uygulaması vermiş olup %60 oranında köklenme elde edilmiştir. Diğer uygulamalardaki köklenme durumları düşük oranlarda cereyan ederken, 7 gün karanlık uygulamasından köklenme elde edilmemiştir. Kontrol grubu en fazla kök sayısını 3.66 \pm 0.21 adet olarak verirken, diğer gruplardaki kök sayılarının 1 veya 2 adedi geçmediği görülmüştür. Ortalama kök uzunluğu bakımından 1 gün karanlık uygulamasında 27.11 \pm 5.81 mm uzunluğunda kökler elde edilmiş ve en iyi uygulama olarak ön plana çıkmıştır. Diğer uygulamalarda, meydana gelen kök uzunlukları 6.64 mm – 10.45 mm arasında değişmiş olup, köklerin kalitesi yönünden morfolojik olarak bir farklılık görülmemiştir. Genel bir değerlendirme ile, sürgünlerin köklenmesi açısından karanlıkta bırakma işleminin önemli olmadığı görülmüştür.

4.4.2. Nodal Tomurcukların Proliferasyonu Sonucu Elde Edilen Sürgünlerin Köklendirilmesi Çalışmaları

4.4.2.1. IBA'nın Köklenmeye Etkisi

Bu deney kapsamında, nodal tomurcukların proliferasyonu sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi üzerine 0.25, 0.5, 1 ve 2 mg l⁻¹ gibi farklı IBA konsantrasyonlarının etkisi tespit edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel analiz sonuçları Çizelge 38'de verilmiştir.

Çizelge 38. Farklı IBA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi *.

IBA konsantrasyonu (mg l ⁻¹)	Köklenme oranı (%)	Ortalama kök sayısı ± SH	Ortalama kök uzunluğu ± SH (mm)
0.25	10	1.00 ± 0.04 bc	1.18 ± 0.15 b
0.5	10	1.00 ± 0.12 bc	1.10 ± 0.08 b
1	25	1.25 ± 0.09 b	1.25 ± 0.10 b
2	60	2.33 ± 0.21 a	2.91 ± 0.07 a
χ^2 (s.d: 3)	P < 0.01		
	--	P < 0.01 F: 217.778 – sd: 3.32	P < 0.01 F: 1047.22 – sd: 3.40

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 10

Uygulanan farklı IBA konsantrasyonlarının köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak oldukça önemli bulunmuştur ($P < 0.01$). Kullanılan IBA konsantrasyonları içerisinde yalnız 2 mg l⁻¹ IBA uygulamasında en yüksek köklenme meydana gelmiştir. %60 oranında köklenmenin görüldüğü uygulamada, kök sayısı 2.33 ± 0.21 adet olarak gerçekleşmiş ve ortalama kök uzunluğu 2.91 ± 0.07 mm olmuştur. Yapılacak *in vitro* çalışmalar kapsamında 2 mg l⁻¹ IBA kullanımının uygun olduğu veya daha yüksek IBA konsantrasyonlarının kullanımının uygun olabileceği sonucuna varılmıştır. Diğer uygulamalarda yer alan sürgünlerde meydana gelen kök sayısının yaklaşık 1 ile sınırlı olduğu ve oluşan köklerin uzunluklarının yeterli olmadığı görülmüştür. Ayrıca, 0.25, 0.5 ve 1 mg l⁻¹ IBA uygulamalarında sürgünlerin dip kısımlarında kültürün 2. haftasından itibaren açık kahverengimsi kallus oluşumu görülmüştür. 3. haftadan itibaren sürgünlerde yavaş yavaş deformasyonlar görülmeye başlamıştır.

4.4.2.2. NAA'in Köklenmeye Etkisi

Bu deneyde, sürgünlerin köklendirilmesi amacıyla; 0.25, 0.5, 1.0 ve 2.0 mgL⁻¹ gibi farklı NAA konsantrasyonlarının etkisi üzerine çalışılmıştır. Çizelge 39'da istatistiksel analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 39. Farklı NAA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi *.

NAA konsantrasyonu (mgL ⁻¹)	Köklenme oranı (%)	Ortalama kök sayısı \pm SH	Ortalama kök uzunluğu \pm SH (mm)
0.25	..**	..**	..**
0.5	..**	..**	..**
1	30	2.33 \pm 0.33 a	1.96 \pm 0.05 a
2	20	1.50 \pm 0.70 b	1.68 \pm 0.09 b
χ^2 (s.d: 3)	P > 0.05	--	--
	--	P < 0.05 F: 101.0 – sd: 3.21	P < 0.05 F: 1185.39 – sd: 3.26

* Her uygulama için kullanılan sürgün sayısı: 10 ** Köklenme olmadığı için veri kaydedilemedi.

Elde edilen bulgulara uygulanan varyans analizine göre, farklı NAA konsantrasyonlarının köklenme üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P > 0.05). Düşük oranlarda olmakla birlikte, 1 ve 2 mgL⁻¹ NAA uygulamalarında sırasıyla %30 ve %20 oranında köklenme meydana gelmiştir. Geriye kalan 0.25 ve 0.5 mgL⁻¹ NAA uygulamalarında herhangi bir köklenme elde edilmemiştir. Farklı NAA konsantrasyonları, kök sayısını ve kök uzunluğunu istatistiksel olarak önemli derecede etkilemiştir (P < 0.05). Her iki özellik yönünden de en iyi sonucu; 1 mgL⁻¹ NAA grubu vermiş olup; kök sayısı 2.33 \pm 0.33 adet, kök uzunluğu ise 1.96 \pm 0.05 mm olarak bulunmuştur.

4.4.3. Köklendirme Çalışmalarıyla İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma

İn vitro çalışmaların her aşamasında olduğu gibi elde edilen sürgünlerin yüksek oranda köklendirilmesi de önem arzeden bir husustur. Ayrıca bitkilerin arazi koşullarına aktarılmasını etkileyen faktörler içerisinde de köklenmenin önemli bir yeri vardır. Bu bakımdan çok sayıda araştırmacı *in vitro* çalışmalarından sonra ortaya çıkan bitkilerinin köklenmesi amacıyla değişik parametreler üzerinde araştırma yürütmüşlerdir.

Yaptığımız çalışma süresince yapılan köklenme deneyleri kapsamında; nodal tomurcuklardan ve tohumlardan üretilen sürgünlerin köklenmesi amacıyla deneyler ayrı kategorilerde yürütülmüştür. Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin köklenmesi

bakımından en iyi sonucu, 2 mg^l⁻¹ IBA uygulaması vermiş; %60 oranında köklenme oranı, 2.33 adet kök ve 2.91 mm kök uzunluğu ölçülmüştür. Tohumdan elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi çalışmalarında; köklenme oranı bakımından en iyi sonucu 1 mg^l⁻¹ IBA %100 ile verirken; elde edilen kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından NAA'e göre daha düşük sonuç verdiği için dikkate alınmamıştır. Köklenme oranı %60, kök sayısı 3.66 ve kök uzunluğu 10.43 mm olarak ölçülen ve tüm köklenme parametreleri bakımından en iyi sonucu veren 0.5 mg^l⁻¹ NAA kullanımının uygun olduğu tespit edilmiştir. Karanlıkta bırakma uygulamalarında 1 gün karanlık uygulamasında kök uzunluğu 27.11 mm olarak kaydedilmiş diğer parametrelerin düşük çıkması nedeniyle önemsenmemiştir. Bu bağlamda; araştırmacılar tarafından yürütülen çalışmaları gözden geçirecek olursak;

Perez-Tornero ve ark. (2000), “Canino” kayısı çeşidinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili yaptıkları çalışmada; kök gelişimi ve sürgün başına kök sayısı bakımından IBA ve NAA arasında farklılık görülmemiş; yani köklenmeyi aynı oranda teşvik ettikleri görülmüştür. En iyi köklenme oranı %93 ile 2 mg^l⁻¹ NAA konsantrasyonundan sağlanırken, sürgün başına düşen kök sayısı bakımından 6 mg^l⁻¹ IBA konsantrasyonundan 5.3 adet kök elde edildiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada; en iyi köklenme oranı 2 mg^l⁻¹ IBA'dan %60 olarak gerçekleşmiş, ve 2.33 adet kök elde edilmiştir. Verilerimiz araştırmacının bulgularına göre düşük olurken, genotiplerin farklılığından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Perez-Tornero ve Burgos (2000), bazı kayısı çeşitlerinin *in vitro* koşullarda proliferasyon, köklenme ve aklimatizasyonu süresince gerekli isteklerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada; gerçekleştirilen bütün köklenme deneylerinin sonuçlarına göre; Helena çeşidi %60, Lorna çeşidi %60.3, Canino çeşidinde %73.5 köklenme elde edilmiştir. Mikroçoğaltılan sürgünlerin köklenmesinde bir problem olmamasına rağmen, köklenme ortamındaki sürgünlerde karşılaşılan yüksek orandaki sürgün ucu ölümü (apikal nekrozis) nedeniyle, çeşitli uygulamalar yapılmıştır. Karanlıkta bırakma işlemi (1, 4 ve 7 gün) olarak uygulanmıştır. Ancak 0.2 – 0.4 mg^l⁻¹ gibi düşük IBA konsantrasyonlarında ışıklı ortamda köklenmenin gerçekleştiği görülmüştür. Ayrıca ortama 1 gl⁻¹ Ca(NO₃)₂.4H₂O ilave edilmesi “Helena” çeşidinde apikal nekrozisin azalmasında etkili olurken, “Lorna” çeşidinde köklenmenin azalmasına neden olmuştur. Ortama ilave edilen Kalsiyum Glukonat ise, hem köklenme oranı hem de apikal nekrozis üzerine etkili olmamıştır. Ayrıca bu uygulamalardan farklı olarak, sürgünler köklenme ortamına aktarılmadan önce Kalsiyum Glukonat'ın 6.5 – 13 gl⁻¹ çözeltileri içerisinde bekletildiği, ancak etkisinin görülmediği belirtilmiştir. Yine aynı şekilde köklenme ortamına

aktarılmadan BA'nın ($2.5 - 5 - 10 - 15 \text{ mg l}^{-1}$) solüsyonlarında bekletildiği durumlarda ise; 5 ve 10 mg l^{-1} BA solüsyonları "Helena" çeşidinde %20 oranında, "Lorna" çeşidinde ise %10 oranında apikal nekrozisin azalmasına neden olmuştur. Köklenme ortamına BA ($0.02 - 0.2 \text{ mg l}^{-1}$) veya kinetin ($0.02 - 0.2 \text{ mg l}^{-1}$) ilave edildiği bir başka uygulamada; BA yönünden apikal nekrozisin önemli derecede azaldığı görülürken, köklenmeyi ve köklenmiş sürgün oranını azalttığı tespit edilmiştir. Kinetin açısından köklenmenin arttığı ancak apikal nekrozisin etkilenmediği görülmüştür. Sonuç olarak; karanlıkta köklenmenin teşvik edilmesi klorozis ve sürgün ölümüne neden olabileceği, köklenme üzerine Ca'nın etki mekanizmasının büyük oranda genotipe bağlı olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz köklenme oranı; 2 mg l^{-1} IBA'da %60 olarak araştırıcının bulgularıyla uyum içerisindedir. Araştırıcının köklenme üzerine oldukça fazla yoğunlaşması nedeniyle çok sayıda uygulama yapmış ve bazılarında olumlu sonuç alırken, bazıları olumsuz sonuçlanmıştır.

Marino ve ark. (1991), tarafından "San Castrese ve Portici" çeşitlerinin mikroçoğaltımı için protokol oluşturulması amacıyla yapılan çalışmada; elde edilen sürgünlerin köklenmesi için yapılan deneyler sonucunda $0.5 - 1 \text{ mg l}^{-1}$ IBA konsantrasyonlarının uygun olduğu görülmüş; "Portici" çeşidinde %60, "San Castrese" çeşidinde ise %80 oranında köklenme elde edilmiştir. Köklenme ortamları için sukrozun gerekli olduğu, ancak sorbitol kullanımının köklenmeyi teşvik etmediği ve bitkilerin köklendikten sonra yaşama oranlarını azalttığı bildirilmiştir. Yaptığımız köklenme çalışmalarında 20 g l^{-1} sukroz kullanılmış olup, 2 mg l^{-1} IBA'da %60 oranında köklenme elde edilmiştir. **Kramarenko (1999)**, tarafından *in vitro* çoğaltılan bitkilerin arazi performanslarını belirlemek için yapılan çalışmada, kayısının *in vitro* çoğaltımında etkili bir mikroçoğaltım metodu geliştirilmeye çalışılmıştır. Köklenme ortamı için IBA'nın farklı konsantrasyonları yer almıştır ve köklenmenin %70 oranında elde edildiği bildirilmiştir. Araştırmacıyla uyum içinde gerçekleşen köklenme deneyi sonuçlarımızda köklenme oranı %60 olarak 2 mg l^{-1} IBA'dan elde edilmiştir. **Marino ve ark. (1993)**, tarafından "San Castrese ve Portici" kayısı çeşitlerinin modifiye MS besisi ortamına ilave edilen çeşitli büyüme düzenleyicilerin ve sukroz ve sorbitol gibi temel enerji kaynaklarının *in vitro* proliferasyon ve köklenme kapasiteleri üzerine etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; köklenme ortamlarında sorbitol kullanıldığı zaman düşük bir köklenme oranıyla birlikte kısa ve zayıf kökler meydana gelmiştir. Fakat IBA ile desteklenmiş ve sukrozun kullanıldığı köklenme ortamlarında %70 oranında aklimatize edilebilecek bitkinin elde edildiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada köklenme ortamını sukroz ile destekleyip

oksin olarak IBA kullanımının en uygun kombinasyon olduğu sonucuna varılmış olup, araştırmacının sonuçlarına benzerlik gösterdiği görülmüştür.

Harada ve Murai (1996), Japon kayısısının *in vitro* mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yaptıkları çalışmada; elde edilen sürgünlerin köklenmesiyle ilgili çalışmalarda en iyi sonucu 0.2 mg l^{-1} NAA verdiği bildirilmiştir. **Murai ve ark. (1996)**, 3 farklı Japon kayısı (Ichinotani, Hakubotan ve Yae-bungo) çeşidinin *in vitro* sürgün proliferasyonu ve köklenmesiyle ilgili mikroçoğaltım durumlarının belirlenmesiyle ilgili çalışmada, köklenme bakımından en iyi sonucu “Ichinotani” çeşidi vermiş ve 0.2 mg l^{-1} IBA konsantrasyonuyla 10 günlük karanlıkta bekletme uygulamasının; köklenme oranı ve eksplant başına düşen kök sayısı bakımından etkili olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada karanlıkta bırakma uygulamasının “Hacıhaliloğlu” kayısı çeşidi için uygun olmadığı, köklenme oranlarının kontrol grubuna göre oldukça düşük oranda gerçekleştiği tespit edilmiştir. **Murai ve ark. (1997)**, “Bakuoh junkyou” kayısı çeşidinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili yapılan çalışmada; köklenme ortamlarında IBA kullanılmadan köklenmenin olmadığı, optimum IBA konsantrasyonunun 0.4 mg l^{-1} olduğu bildirilmiştir.

Srinivasan ve ark. (2005), tarafından yapılan çalışmanın mikroçoğaltım ile ilgili kısmında; sert çekirdekli grubunda genellikle anaç üretimi ve virüsten ari bitki üretimi için mikroçoğaltımın yaygın olarak kullanıldığı; elde edilen sürgünlerin köklenmesi için besi ortamında 2 mg l^{-1} NAA kullanılarak %92.8 oranında köklenme gerçekleştirildiği bildirilmiştir. **Morini ve ark. (1991)**, arazi koşullarında seleksiyon çalışması sonucu elde edilen bazı erik klonlarının (Mr. S. 1/4, 1/6, 1/8, 1/3, 1/7, 1/14, 2/3) *in vitro* çoğaltım durumlarını belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; elde edilen sürgünlerin köklenmesi amacıyla besi ortamı 0.5 mg l^{-1} IBA ile desteklenmiş ve 25 gün sonra gözlem ve ölçümler yapılmıştır. Köklenme oranları %62.2 – 83.3 arasında değişmiş olup, en iyi köklenme Mr.S. 1/6 klonunda, ortalama kök sayısı bakımından 4.8 olarak yine aynı klonun en iyi sonucu verdiği bildirilmiştir. **Almehdi ve Parfitt (1986)**, şeftali anaçlarından “Lovell ve Nemaguard”ın *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; köklenme amacıyla $\frac{1}{2}$ AP’nin sıvı besi ortamı hazırlanmış ve 9 mg l^{-1} IBA ile %70 oranında köklenme elde edildiği bildirilmiştir. Farklı bir besi ortamında yaklaşık olarak aynı köklenme oranını elde eden araştırmacının köklenme oranı bulguları, yaptığımız çalışmada ortaya çıkan sonuçlarla uyum içerisindedir.

Antonopoulou ve ark. (2005), şeftali ve badem anacı olan GF 677’nin *in vitro* elde edilen sürgünlerinin köklenmesi üzerine farklı riboflavin konsantrasyonlarının 0.5, 1, 1.5 ve 2 mg l^{-1} etkisinin incelendiği çalışmada sürgün çoğaltımı için MS besi ortamı

kullanılmıştır. Köklenme ortamına, 1 mg^l⁻¹ IBA, 30 gl⁻¹ sukroz ve 6 gl⁻¹ agar ilave edilmiştir. Ortamdaki riboflavin konsantrasyonunun artmasıyla birlikte köklenme oranının azaldığı görülmüş, en yüksek riboflavin konsantrasyonu olan 2 mg^l⁻¹'de köklenmenin inhibe olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca yüksek konsantrasyonlarda sürgün ucu ölümü (apikal nekrozis) ve sararmasının (klorozis) meydana geldiği görülmüştür. Yine en iyi sonuç, hiç riboflavin kullanılmayan kontrol grubunda elde edilmiş olup, %100 köklenme, 5.6 adet kök ve 5.19 cm ortalama kök uzunluğunun elde edildiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada yalnız IBA'nın etkisi üzerinde de durulmuş olup, araştırmacı gibi yüksek olmamakla birlikte uygun köklenme oranı elde edilmiştir. **Fotopoulos ve Sotiropoulos (2004)**, şeftaliye anaç olarak kullanılan GF-677'ye alternatif olarak geliştirilen PR 204-84 anacının *in vitro* köklenmesi üzerine deney tüpünün ağzını örtmek için kullanılan malzeme (parafilm, kauçuk, pamuk, alüminyum folyo) ve karbon kaynaklarının (sukroz, glikoz) belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada (Çizelge 40); besi ortamı olarak 1 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş MS kullanılmış ve adı geçen faktörlerin en yüksek köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu ile köklerin taze ve kuru ağırlıkları bakımından sonuçları tespit edilmiştir. Her iki şeker tipinde de en yüksek köklenme oranı, sürgün başına kök ve kök uzunluğu sukrozun 20 gl⁻¹, glikozun 16 gl⁻¹ konsantrasyonlarından elde edilmiştir.

Çizelge 40. Farklı şeker tiplerinin köklenmeye etkisi.

Şeker tipi	Köklenme (%)	Ortalama kök sayısı (adet)	Ortalama Kök Uzunluğu (mm)
Sukroz (20 gl ⁻¹)	100	8.0	14.5
Glikoz (16 gl ⁻¹)	100	10.8	19.6

Deney tüplerinin ağzını örtmek için kullanılan materyallerden en olumsuz ve düşük sonuç veren pamuk olmuştur. Diğer materyallerde %100 köklenme elde edilirken, pamukta %58 köklenme elde edilmiştir. Buna göre diğer parametrelerin de en düşük bu materyalden elde edildiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada sukroz şekeri 20 gl⁻¹ olarak kullanılmıştır.

Molassiotis ve ark. (2003), GF 677 anacının *in vitro* koşullarda üretilen sürgünlerin köklenmesi üzerine Fe-EDDHA'nın etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; 30 gl⁻¹ sukroz, 7 gl⁻¹ agar, 0.6 mg^l⁻¹ BA, 0.2 mg^l⁻¹ GA₃ ve 0.05 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş MS besi ortamı kullanılmıştır. FeCl₃, Fe-EDTA ve Fe-EDDHA gibi üç demir formu 3 konsantrasyon olarak (0.002 – 0.005 – 0.01 mg^l⁻¹ Fe) uygulanmıştır. Fe-EDDHA'dan elde edilen sonuçlar, diğer gruplarla karşılaştırıldığı zaman en iyi sonucu verdiğinin bildirildiği çalışmada; 0.01 mg^l⁻¹ Fe-EDDHA uygulamasında; köklenme oranı %100, ortalama kök sayısı 7.3, kök uzunluğunun ise 3.8 cm olarak gerçekleştiği bildirilmiştir. **Manganaris ve**

ark. (2003), “Armking” nektarin çeşidinde PPV ve PNRSV virüsleriyle bulaşık bitkilerden farklı dönemlerde alınan meristemlerin *in vitro* kültürü yoluyla sağlıklı (virüsten ari) bitkilerin çoğaltımı amacıyla yapılan çalışmada; köklenme ortamında 0.4 mg^l⁻¹ IBA ile destekli ½ WPM kullanımının iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada 2 mg^l⁻¹ IBA destekli MS besi ortamının kullanılması sonucunda %60 oranında köklenme elde edilmiştir. **Hammerschlag ve ark. (1987)**, 8 şeftali çeşidi ve 1 adet anacın *in vitro* sürgün çoğaltımı ve köklenmesi üzerine yaptıkları çalışmada; köklenme ortamında 5 mg^l⁻¹ IAA – IBA veya NAA ile desteklenmiş ½ MS besi ortamı kullanılmıştır. En iyi köklenme 5.3 mg^l⁻¹ NAA bulunan ortamdan elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmamız kapsamında 1 MS besi ortamı temel olarak kullanılmış ve en iyi sonuçlar IBA konsantrasyonlarından elde edilmiştir. **Ahmad ve ark. (2003)**, GF-677 şeftali anacının mikroçoğaltımına besi ortamının ve büyüme düzenleyicilerin etkisini araştırmak üzere yapılan çalışmada; elde edilen sürgünlerin köklenmesi aşamasında en iyi sonucu 3 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş ½ MS besi ortamı vermiştir. IBA’nın 4 mg^l⁻¹’lik konsantrasyonunda kök gelişimi inhibe olmuş ve kallus meydana geldiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada 2 mg^l⁻¹ IBA kullanılmasının uygun olabileceği görülmüş olup, köklenme olmayan diğer IBA konsantrasyonlarında araştıracının bulduğu gibi, köklenme olmamış ve kallus oluşumunun meydana geldiği tespit edilmiştir.

Mante ve ark. (1989), erik ve vişnede olgun tohumun, şeftalide ise olgunlaşmamış tohumun embriyonik ekseni çıkarılmış kısımlarından bitki rejenerasyonu için yapılan çalışmada; gelişen sürgünler 0.5 – 1 mg^l⁻¹ IBA ile destekli ½ MS besi ortamında köklendirilerek aklimatizasyon işlemlerinin yapıldığı bildirilmiştir. **Pedrotti ve ark. (1994)**, yabani kirazın *in vitro* elde edilen sürgünlerinin köklenmesi üzerine L-glutamine, L-glutamic asit, L-asparagine ve oksinlerin etkisiyle ilgili olarak yapılan çalışmada; 1.1 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenmiş MS besi ortamı kullanılmıştır. Böylece bazı aminoasitlerin otoklavlanmasının 5-oxoproline gibi inhibitör etkisi gösterdiği, bunun için L-glutamine’nin otoklavlamadan sonra ortama filtrasyonla verilmesi gerektiği bildirilmiştir (Çizelge 41).

Çizelge 41. Bazı aminoasitlerin kök uzunluğuna etkisi.

Aminoasitler	Kök Uzunluğu (mm)	
	Otoklavlamadan önce (mm)	Otoklavlamadan sonra (mm)
L-glutamine (315 mg ^l ⁻¹)	9	48
L-glutamic asit (206 mg ^l ⁻¹)	16	21
L-asparagine (185 mg ^l ⁻¹)	47	47

Sauer (1985), “Mazzard” kiraz çeşidinin *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; köklenme için 2 mg^l⁻¹ IAA ile desteklenen 1/3 MS besisi ortamından faydalandığı bildirilmiştir. **Pruski ve ark. (2005)**, Mongolian ve Nanking vişne çeşitlerinin *in vitro* kültür başlatma, sürgün proliferasyonu ve köklenmesi üzerine büyüme düzenleyiciler ve farklı kombinasyonlarının etkisi üzerine yapılan çalışmada; köklenme üzerine NAA ve IBA kombinasyonunun iyi cevabı verdiği görülmüş ve sırasıyla %64 ve %73 oranında köklenmenin elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmamızda, kombinasyonlardan ziyade ayrı ayrı NAA ve IBA oksinleri üzerinde durulmuş ve IBA’nın 2 mg^l⁻¹ konsantrasyonundan %60 köklenme oranı elde edilmiştir. **AL-Sabbagh ve ark. (1999)**, yarı bodur kiraz anacı olan Maxma-14’ün *in vitro* çoğaltım sistemini geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; elde edilen sürgünlerin köklenmesiyle ilgili yapılan çok yönlü deneyde sıvı ortamın agarlı ortamdaki daha iyi olduğu ve 0.5 mg^l⁻¹ IBA ile destekli ½ MS’in sıvı ortamında kök uzunluğu 6.32 cm, kök sayısı 4.85 adet ve köklenme oranının %95 olarak tespit edildiği bildirilmiştir.

Pruski ve ark (2000), “Garrington (Chok-Gar), Mary Liss (Pin-ML) ve Jumping Pound (Pin-JP)” kiraz çeşitlerinin *in vitro* kültür başlatma, sürgün proliferasyonu ve köklenmeleriyle ilgili olarak yapılan çalışmada; gelişen sürgünlerin köklenmesi için en iyi sonucu (IBA/NAA = 2 mg^l⁻¹ / 0.5 mg^l⁻¹) vermiş olup, köklenme oranı %84 olarak tespit edildiği bildirilmiştir. **Grant ve Hammatt (1999)**, M-9 elma anacı ve F12/1 kiraz anacının mikroçoğaltımı sırasında sürgün ve kök gelişimi üzerine altkültür sayısının etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmada; köklenme ortamında 3 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenen MS kullanılmıştır. Mevcut genotiplerin sürgün ve kök üretimini kültürde kaldıkları süre etkilemiş, ancak alt kültür yapma sıklığının bunu etkilemediği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma ile köklenme deneylerinde bitkilerin en geç 4. haftanın sonuna kadar kültürden çıkarılması gerektiği sonucuna varılmıştır. **Pascual ve Marin (2005)**, Marianna 2624, Myrobolan 605 AD, A-843 ve Adefuel anaçlarının 1 yaşlı bitkilerinden alınan eksplantlardan bitki rejenerasyonu ve köklenmesiyle ilgili yapılan çalışmada; özellikle sıvı MS besisi ortamında yapılan çalışmalarda 2,4 D’nin kök rejenerasyonunu olumlu bir şekilde etkilediği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada katı MS besisi ortamı kullanılmıştır. **Bhagwat ve Lane (2004)**, “Sweetheart” ve “Lapins” kiraz çeşitlerinin yapraklarından sürgün rejenerasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; köklenme amacıyla MS besisi ortamı 0.5 mg^l⁻¹ NAA ile desteklendiği zaman iyi sonuç vermiş ve 6 hafta sonra köklenme meydana gelmiştir. **Tang ve ark. (2002)**, bazı kiraz ve vişne çeşitlerinin yapraklarından bitki rejenerasyonu ile ilgili yapılan çalışma sonucunda; ortaya çıkan sürgünlerin köklenmesinde

2 mg^l⁻¹ IBA veya NAA (çeşitlere göre değişmiş) ile destekli ½ MS besi ortamı kullanılmıştır. Köklenme oranının %65-92 arasında gerçekleştiği, köklenmeye aktarılan bitkilere karanlık periyot uygulamasının etkili olmadığı bildirilmiştir. Çalışma sonucu elde ettiğimiz sonuçlarla araştıracının bulguları uyum içerisinde olup; tam MS besi ortamını 2 mg^l⁻¹ IBA ile desteklenerek %60 köklenme oranı elde edilmiştir. Ayrıca karanlıkta bırakma işleminin uygun olmadığı sonucunu çıkardığımız çalışmamız, araştıracının bulgularıyla uyum içerisinde. **Matt ve Jehle (2005)**, bazı kiraz çeşitleri üzerine yapılan çalışmada; internod ve yapraklardan rejenerasyon sonucu elde edilen sürgünlerin köklenmesi amacıyla 170 mg^l⁻¹ IAA içeren sulu ortamda karanlık koşullarda bekletildikten sonra hormon içermeyen ½ MS besi ortamında 8 hafta sonra köklenme meydana gelmiştir. Köklenme oranlarının %50-88 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Petrevica ve Bite (2003), bazı vişne çeşitlerinin *in vitro* proliferasyonuna kısa süreli soğukta muhafazanın etkisini incelemek üzere yapılan çalışmada; üretilen sürgünlerin köklenme ortamında 0.1 mg^l⁻¹ NAA kullanılarak; köklenme oranının %56-95 arasında, ortalama kök sayısının 2.1-3.0 arasında, ortalama kök uzunluğunun 51.2 – 67.1 mm arasında değiştiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada, köklenme oranı %60 ve kök sayısı 2.33 olması bakımından yaklaşık aynı sonuçlar bulunmuş olup, araştıracının bulgularıyla uyum içinde gerçekleşmiştir. **Dradi ve ark. (1996)**, 11 farklı mahlep ekotipinin ve anaç olarak kullanılan 2 kiraz çeşidinin *in vitro* çoğaltımını hızlandırmak ve ticari olarak bir sistem geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; köklenme ortamında kullanılan IBA konsantrasyonları ekotipe göre 0.8 – 3.0 mg^l⁻¹ arasında değişmiş olup, iyi sonuçların alındığı görülmüştür. Her bir ekotip için en yüksek köklenme oranı %50 olarak bulunmuş ve bu oranın artmasının kaliteli sürgün ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma ile elde ettiğimiz köklenme oranı %60 çıkmış olup, bu sonuç 2 mg^l⁻¹ IBA'dan elde edilmiştir. **Borkowska (1985)**, “Schattenmorello” vişne çeşidinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; sürgünlerin köklenmesi için IBA destekli MS besi ortamı kullanılmıştır. Köklenmeye aktarılan sürgünlerin 8. hafta sonunda öldüğü ve yaklaşık %4-7 bitkinin hayatta kaldığı bildirilmiştir. **Özzambak ve Hepaksoy (1997b)**, “Heimanns Rubinweichsel” vişne çeşidinin *in vitro* dan elde edilen sürgünlerinin köklenmesi ve aklimatizasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; 1, 2, 2.5 ve 4 mg^l⁻¹ IAA, IBA ve NAA'nın farklı konsantrasyonları ½ MS besi ortamında denenmiştir. Elde edilen köklenme oranları bakımından oksinler arasında pek bir farklılık çıkmazken, IAA %78.8, IBA %74.3 ve NAA %79.2 olarak kaydedildiği bildirilmiştir.

Gebhardt (1985), “Schattenmorello” vişne çeşidinin sürgün ucu kültürleri yoluyla elde edilen sürgünlerinin köklenmesi üzerine oksinlerin etkisini belirlemek üzere yapılan çalışmada, 1 mg l^{-1} IBA içeren ve içermeyen MS besi ortamı karşılaştırılmıştır. IBA’ın 200 ppm (200 mg l^{-1}) konsantrasyonunda 3 dakika bekletildikten sonra hormonsuz besi ortamına ekim işlemi yapılan köklenme deneyinden en iyi sonuç alınmış olup, 21 gün sonra ortalama kök sayısının 4.11 (2 mm’den büyük) olarak gerçekleştiği bildirilmiştir.

Schmidt ve Ketzel (1996), kiraz ıslahında *in vitro* kültür tekniklerinin gerekliliğinden yola çıkılarak yapılan çalışmada; farklı kiraz çeşitlerine ait kombinasyonları içerisinde bazı hibrit tohumlar elde edilerek bunlara ait olgun tohumların *in vitro*da çimlendirilmesi sonucu bitki üretimi gerçekleştirilmeye çalışılmıştır. Elde edilen sürgünler, 0.5 mg l^{-1} NAA ile destekli $\frac{1}{2}$ MS besi ortamına köklenme için aktarılmış ve iyi sonuç alındığı bildirilmiştir. Tohumdan elde edilen sürgünlerin köklenmesiyle ilgili çalışmada; 0.5 mg l^{-1} NAA ile destekli MS besi ortamında en iyi sonuç bulunmuş, köklenme oranı %60 olarak gerçekleşmiş olup, araştıracının bulgularıyla uyum içerisindedir.

Hammatt ve Grant (1997), “Charger” ve “F 12/1” yabani kiraz çeşitlerinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; her iki çeşitten elde edilen sürgünlerin köklenmesi için 3 mg l^{-1} IBA ile destekli MS besi ortamı temel olmak üzere 162.14 mg l^{-1} floroglukinol kullanılan ve kullanılmayan ortamlar üzerinde durulmuştur. Köklenme ortamlarında floroglukinol’un gerekli olduğu bildirilmiştir.

Cerovic ve Ruzic (1987), “Sumadinka” vişne çeşidinin mikroçoğaltımı için bir metot geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; sürgünlerin köklenmesi için öncelikle 1 mg l^{-1} IBA ile destekli $\frac{1}{2}$ MS besi ortamında 10 gün bekletildikten sonra hormonsuz ortama aktarılmış ve %88 oranında köklenme elde edildiği bildirilmiştir.

Fidancı ve ark. (2001), “Gisel A-5, Maxma-14 ve Tabel/Edabriz” gibi bazı kiraz ve vişne anaçlarının *in vitro* hızlı çoğaltım tekniklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; Tabel anacı için 1 mg l^{-1} IBA ile destekli $\frac{1}{2}$ MS besi ortamında; kök sayısının 12, kök uzunluğunun 3.8 cm ve köklenme oranının %100 olarak elde edildiği bildirilmiştir.

4.5. Aklimatizasyon (Adaptasyon) Çalışmaları

İn vitro yoluyla elde edilen köklenmiş bitkilerin aklimatizasyonu çalışmaları kapsamında yapılan deneyler ve bu deneylerden elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.5.1. Başlangıç Materyali Tohum Olan Köklenmiş Bitkilerin Aklimatizasyonu Üzerine Farklı Düzeylerde Steril Edilen Torf Materyalinin Etkisi

Bu deney, tohumdan elde sürgünlerin köklendirilmesiyle elde edilen bitkilerin aklimatizasyonu üzerine farklı düzeylerde steril edilen torf materyalinin etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çizelge 42’de, elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar yer almıştır.

Çizelge 42. Köklenmiş bitkilerin aklimatizasyonu üzerine farklı düzeylerde steril edilen torfun etkisi*.

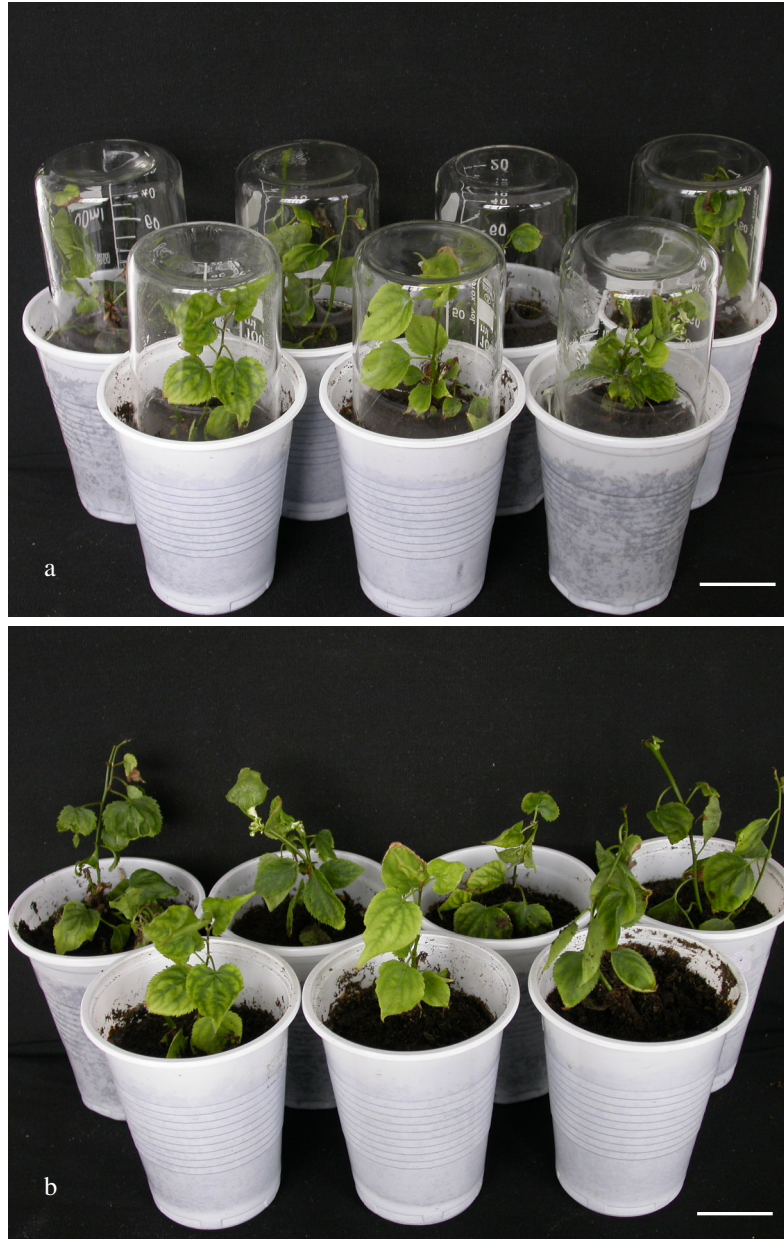
İşlem	Yaşayan bitki oranı (%)
Steril Torf	80
Yarı steril torf	30
Steril olmayan torf	10
χ^2 (s.d: 2)	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan bitki sayısı: 10

Torfun farklı aşamalarda sterilizasyonu ile ilgili yapılan uygulamaların yaşayan bitki oranı üzerine etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($P < 0.05$). En yüksek değeri steril torf uygulaması %80’lik oran ile verirken, steril edilmeyen torf uygulamasında elde edilen yaşayan bitki oranı %10 gibi düşük düzeyde gerçekleşmiştir. Aklimatizasyon için kullanılan materyal ne olursa olsun, sterilizasyonunun mutlak yapılmasının gerektiği tespit edilmiştir.

4.5.2. Başlangıç Materyali Nodal Tomurcuk Olan Köklenmiş Bitkilerin Aklimatizasyonu Üzerine Farklı Düzeylerde Steril Edilen Torf Materyalinin Etkisi

Bu deney, nodal tomurcuk kaynaklı köklenmiş bitkilerin aklimatizasyonu üzerine farklı düzeylerde steril edilen torf materyalinin etkisini belirlemek üzere yapılmıştır. Elde edilen verilere ait istatistiksel sonuçlar Çizelge 43’te verilmiştir.



Resim 10. Köklenme ortamından çıkarılan köklenmiş kayısı bitkilerinin torf bulunan plastik bardaklara aktarılmış hali (a. bar: 27 mm) (b. bar: 25 mm).

Uygulanan işlemler arasında yaşayan bitki oranı bakımından istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0.05$). En iyi sonucu steril edilen torf materyali vermiş olup, aktarılan bitkilerdeki yaşama oranı %70 olarak gerçekleşmiştir. Yaşayan bitki oranı yönünden en düşük sonucu steril edilmeden kullanılan torf vermiş olup aklimatize edilen bitkilerin %10'u yaşamıştır. Bu nedenle yürütülecek olan *in vitro* çalışmalar kapsamında elde edilen köklü bitkilerin araziye aktarılması aşamasında kullanılan torfun sterilizasyonuna dikkat edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 43. Köklenmiş bitkilerin aklimatizasyonu üzerine farklı düzeylerde steril edilen torfun etkisi*.

İşlem	Yaşayan bitki oranı (%)
Steril Torf	70
Yarı steril torf	20
Steril olmayan torf	10
χ^2 (s.d: 2)	P < 0.05

* Her uygulama için kullanılan bitki sayısı: 10

4.5.3. Aklimatizasyon ile İlgili Genel Değerlendirme ve Tartışma

Bitki doku kültürü ve *in vitro* rejenerasyon çalışmalarında köklenmiş bitkilerin sağlıklı bir şekilde geliştirilmesi kadar, *in vitro* koşullarda yetiştirilerek arazi koşullarına aktarılınca kadar geçen süre içerisinde de sağlıklı olması önemli bir süreçtir (Resim 10). Bu bakımdan, bir çok araştırmacı tarafından torf ya da farklı ortamlar sterilize edilip kullanılmak suretiyle, elde edilen köklü bitkiler arazi şartlarına aktarılmıştır. Sterilizasyon işleminin uygulanması her zaman için yaşayan bitki oranında artış göstermiştir (Resim 11).



Resim 11. *In vitro* yoluyla elde edilen ve aklimatize edildikten sonra bahçeye aktarılabilir hale gelen kayısı bitkileri (bar: 41.6 mm).

Yapılan bu çalışmayla; nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerden oluşan köklü bitkilerin aklimatizasyonu aşamasında tam steril torf kullanılarak yaşayan bitki oranı %70 olarak gerçekleşmiştir. Tohum kaynaklı sürgünlerden oluşan köklü bitkilerin arazi koşullarına aktarılma aşamasında ise %80 oranında yaşayan bitki oranı elde edilmiştir. Her iki deney yönünden elde edilen değerler, diğer araştırmacılar tarafından elde edilen bulguların bir çoğuyla uyuşmakta olup, hatta bir kısmından daha iyi çıkmıştır (Resim 12)

Perez-Tornero ve Burgos (2000), bazı kayısı çeşitlerinin *in vitro* koşullarda proliferasyon, köklenme ve aklimatizasyonu süresince gerekli isteklerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada; aklimatizasyon aşamasında 1:1 oranında turba ve perlit kullanarak uygun koşullarda yaklaşık olarak “Helena” çeşidinde %71, “Lorna” çeşidinde %82 oranında bitkinin aklimatizasyonunun gerçekleştirildiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma kapsamında elde ettiğimiz sonuçlarla araştırmacının bulguları uyum içerisinde olup, “*Hacıhaliloğlu*” çeşidi için %70’lik bir sonuç alınmıştır. **Marino ve ark. (1991)**, tarafından bazı kayısı çeşitlerinin *in vitro* çoğaltımı üzerine yapılan çalışmada; köklenme ortamları için sukrozun gerekli olduğu, ancak sorbitol kullanımının köklenmeyi teşvik etmediği ve bitkilerin köklendikten sonra yaşama oranlarını azalttığı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada köklenme ortamlarında araştırmacının belirttiği gibi sukroz kullanılmış olup, yaşama oranlarının ortalama %70 olarak gerçekleştiği görülmüştür. **Kramarenko (1999)**, tarafından *in vitro* çoğaltılan bitkilerin arazi performanslarını belirlemek için yapılan çalışmada, köklendikten sonra aklimatizasyonu yapılan bitkilerdeki yaşama oranının %70-80 arasında olduğu bildirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içerisinde olduğu görülmüştür.

Pennone (1999), tarafından “Bebecou” kayısı çeşidinin *in vitro* olarak çoğaltıldıktan sonra arazi koşullarındaki durumunu incelemek amacıyla yapılan çalışmada, hem normal aşılama suretiyle çoğaltılan fidanların hem de *in vitro* çoğaltılan fidanların durumu karşılaştırılmıştır. Aşılama ile üretilen fidanlara göre daha düşük gelişme görülen mikroçoğaltılmış fidanlardaki ürün etkinliğinin (gr/cm^2) ilerleyen verim yıllarında daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Her iki yöntem ile çoğaltılan fidanların meyvelerinde morfolojik ve pomolojik olarak bir farklılık görülmediği bildirilmiştir. **Harada ve Murai (1996)**, Japon kayısının *in vitro* mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yaptıkları çalışmada; köklenen bitkilerin aklimatizasyonu çalışmasında hayatta kalma oranının %20-30 olduğu kaydedilmiştir. **Fortuna ve ark. (1996)**, mikroçoğaltım yoluyla elde edilen erik ve elma klonlarının saksıya transferi ve oradan araziye aklimatizasyonu süresince bazı gübreleme (fosfor) uygulamalarının ve mikoriza’nın sürgün ucu gelişimine olan etkisini incelemek



Resim 12. *In vitro* yoluyla çoğaltılan ve bahçeye aktarılan kayısı bitkisinin 1. hafta sonundaki görünümü (bar: 8.9 mm).

üzere yapılan çalışmada; köklenme ortamına aktarıldıktan 3 hafta sonra Mr.S.2/5'e ait 1-2 cm uzunluğunda 3-5 adet köke sahip bitkiler, saksılara transfer edilmiştir. Uygulanan fosfor gübresinin ve mikorizanın; bitkilerin hayatta kalma oranını etkilemediği görülmüş, aynı zamanda 2. aydan itibaren gübrenin düşük oranda uygulandığı bitkilerde sürgün gelişiminin düşük olduğu tespit edilmiştir. Sonuçta, fidanlık koşullarında sürgün gelişiminden iyi sonuç almak için Mikorizal uygulamaların ve gübrelemenin gerekli olduğu bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmada köklenmiş bitkileri saksılara transfer edildiği durumda az miktarda azotlu gübre uygulamasının, bitkinin gelişimini desteklediği tespit edilmiştir. **Ambrozic Turk B. ve ark. (1992)**, kayısı için anaç olarak kullanılabilecek "Bistrica" erik ekotipinin *in vitro* koşullarda hızlı çoğaltımı için metot geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; 2-İP ilave edilen ortamda hemen hemen, hiç proliferasyon görülmemiş, ancak bu ortamdan çıkan sürgünlerin aklimatizasyondan sonra daha iyi oldukları bildirilmiştir.

Almehdi ve Parfitt (1986), şeftali anaçlarında “Lovell ve Nemaguard”ın *in vitro* çoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; köklü bitkilerin aklimatizasyonu başarı ile yapılmış ve %100 yaşama oranı sağlandığı bildirilmiştir. **Hammerschlag ve ark. (1987)**, 8 şeftali çeşidi ve 1 adet anacın *in vitro* sürgün çoğaltımı ve köklenmesi üzerine yaptıkları çalışmada; elde edilen köklü bitkilerin aklimatizasyonu sırasında hiç bitki kaybı olmadığı bildirilmiştir. Yaptığımız çalışma kapsamında kaybedilen bitki sayısı çok düşük oranda gerçekleşmiştir. **Mante ve ark. (1989)**, erik ve vişnede olgun tohumun, şeftalide ise olgunlaşmamış tohumun embriyonik ekseni çıkarılmış kısımlarından bitki rejenerasyonu için yapılan çalışmada; köklendirilen bitkilerin uygun şekilde aklimatizasyon işlemleri gerçekleştirildiği bildirilmiştir.

AL-Sabbagh ve ark. (1999), yarı bodur kiraz anacı olan Maxma-14’ün *in vitro* çoğaltım sistemini geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; elde edilen köklü bitkilerin aklimatizasyon işlemlerinin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiği bildirilmiştir. **Bhagwat ve Lane (2004)**, “Sweetheart” ve “Lapins” kiraz çeşitlerinin yapraklarından sürgün rejenerasyonu ile ilgili yapılan çalışmada; aklimatizasyon aşamasında fazla başarı elde edilemediği ve sonuçların düşük oranda gerçekleştiği bildirilmiştir. Yaptığımız çalışmadan elde edilen sonuçlar, tatmin edici düzeyde gerçekleşmiştir. **Borkowska (1985)**, “Schatenmorello” vişne çeşidinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; aklimatizasyon işlemi yapılan bitkilerdeki yaşama oranının %85-90 olduğu bildirilmiştir. **Hammatt ve Grant (1997)**, “Charger” ve “F 12/1” yabani kiraz çeşitlerinin mikroçoğaltımıyla ilgili olarak yapılan çalışmada; elde edilen köklü bitkilerin tamamına yakınının uygun bir şekilde aklimatizasyonunun sağlandığı bildirilmiştir. **Cerovic ve Ruzic (1987)**, “Sumadinka” vişne çeşidinin mikroçoğaltımı için bir metot geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada; köklenen bitkilerin aklimatizasyonunda %90 oranında başarının elde edildiği bildirilmiştir.

5. SONUÇ

Ülkemiz, sahip olduğu değişik iklim ve toprak şartları nedeniyle, meyvecilik açısından çok sayıda tür ve çeşit yetiştirme şansına sahiptir. Türkiye, bugün gerek meyve tür ve çeşit sayısı, gerekse üretim miktarı bakımından dünyanın önemli “meyve üreticisi” ülkeleri arasında yer almaktadır (Özçağırın ve ark, 2003). Dünya yaş ve kuru kayısı üretiminde birinci sırada yer alan Türkiye, gerek kayısı gen kaynakları ve gerekse ekolojik şartlar nedeniyle büyük bir potansiyele sahiptir (Asma, 2000). 2005 yılı FAO verilerine göre 2.700.000 ton olan dünya kayısı üretiminin, 370.000 tonu ülkemizde gerçekleşmektedir (Anonim. 2006). Bu üretimin %50’si Malatya’da olmak üzere Mersin, Elazığ, Ankara ve Kahramanmaraş illerinde yoğunlaşmıştır. Malatya ve Elazığ illeri dışında yetiştirilen kayısı çeşitleri daha çok taze tüketime yöneliktir. Malatya’da üretilen yaş kayısının yaklaşık %90-95’i kurutularak “ihraç edilmektedir”.

Kayısı fidanlarında problem oluşturan ve bu nedenle üretim aşamasında tedbir alınması gereken bir durum da virüstür. Virüsten ari fidan üretimi için, sürgün ucu aşılama yöntemi (turuncgiller için geliştirilen yöntem) kayısıda da uygulanabilmektedir. Bu yöntem; doğal veya *in vitro*da elde edilen 2-3 mm uzunluğundaki sürgün uçlarının anaç üzerine aşılama suretiyle yapılan bir çoğaltma yöntemidir.

Bitki biyoteknolojisiyle ilgili çalışmalarda hücreye kadar olan konular genellikle Bitki Genetik Mühendisliğinin, “hücre-tohum-bitki” arası konular ise, bitki doku kültürünün ilgi alanlarıdır. Görüldüğü gibi, bitki doku kültürü; bitki genetik mühendisliği ile birlikte bitki biyoteknolojisini oluşturan ana unsurlardan birisidir. Bitki doku kültürü işlemlerinde ve genetik iyileştirmelerde kullanılan temel sistem bitki rejenerasyonudur. Bitki rejenerasyonunda kullanılan ve *in vitro* tekniklerin başında ise; organogenezis ve mikroçoğaltım teknikleri gelmektedir. Dolayısıyla bu tekniklerin, kayısının da içerisinde yer aldığı *Prunus* (sert çekirdekli) grubu meyvelerin ıslahında kullanımı gün geçtikçe artarak devam etmektedir.

Tez çalışması kapsamında yapılan araştırmalar; 5 ana başlık altında yürütülmüş olup, sonuçlar aşağıda sunulmuştur. Her bölümde elde edilen sonuçlar bir sonraki bölümde de kullanıldığı için sonuçlar birbiriyle yakından ilişkili bulunmaktadır. Tüm bölümlerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda, “*Hacıhaliloğlu*” kayısı çeşidi için etkili bir *in vitro* rejenerasyon ve çoğaltım sistemi tanımlanmıştır.

5.1. Sterilizasyon Tekniklerinin Geliştirilmesi Çalışmaları

Genel olarak *in vitro* çalışmaları, sırasında başlangıç materyalinin uygun bir teknikle sterilize edilmesi büyük önem taşımaktadır. Çalışmaların devam edebilirliği büyük ölçüde uygun olarak sterilizasyonu yapılarak, besi ortamına aktarılan materyalin miktarına bağlıdır. Bu nedenle üzerinde çalışılan bitki tür veya çeşidi için uygun sterilizasyon tekniğinin belirlenmesi ilk ve en önemli aşamadır. Yaptığımız sterilizasyon çalışmaları ile, yerli kayısı çeşitlerinin *in vitro* çalışmalarına model olabilecek şekilde “Hacıhaliloğlu” kayısı çeşidine ait nodal tomurcuk, sürgün ucu ve tohum materyali için sterilizasyon teknikleri geliştirilmiştir. Tohumların sterilizasyonu için %5 NaOCl içerisinde 15 dakika; nodal tomurcukların sterilizasyonu için %5 NaOCl içerisinde 10 dakika; sürgün uçlarının sterilizasyonu için %10 NaOCl içerisinde 15 dakika bekletme işleminin; etkili bir sterilizasyon için yeterli olduğu sonucuna varılmıştır.

5.2. Kültür Başlatma Çalışmaları

Kayısı ve diğer sert çekirdekli meyve türlerinin (*Prunus*) *in vitro* kültür başlatma çalışmalarında genellikle başlangıç materyali olarak; sürgün ucu, nodal tomurcuk meristem ucu, yaprak ve tohum kullanılmaktadır. Yaptığımız çalışma ile tohum ve nodal tomurcuk ve ile kültür başlatma çalışmaları yapılmıştır. Her iki materyal için optimum ortam istekleri belirlenmiştir. Tohum kaynaklı çalışmalar için uygun çimlenme amacıyla sitokinin olarak 1 mg l^{-1} BAP; ekim sırasında kullanılacak tohumun eksplant tipi olarak yarım tohum ya da embriyo kullanımının daha iyi çimlenme oranı verdiği sonucuna varılmıştır. Nodal tomurcuklarda kültür başlatma için; besi ortamı ve kuvveti olarak tam MS; ortamda katılaştırıcı olarak 6.3 g l^{-1} agar; şeker kaynağı ve konsantrasyonu olarak 30 gr l^{-1} sukroz; sitokinin tipi, konsantrasyonu, oksin ilavesi olarak 1 mg l^{-1} BAP ve/veya 0.3 mg l^{-1} IBA; kültüre başlama zamanı açısından mayıs – haziran aylarının uygun olacağı saptanmıştır.

5.3. Proliferasyon Çalışmaları

Büyük oranda genotipe; yani çalışılan meyve türü ve hatta çeşidine göre değişiklik gösteren *in vitro* rejenerasyon sistemlerinin geliştirilmesi; doku kültürü çalışmaları için önemli basamaklardan biridir. Başlangıç materyali olarak nodal tomurcuklardan 4. hafta sonunda gelişen rozet bitkilerin, tohumlardan ise 2. hafta sonunda gelişen sürgünlerin kullanımının uygun olduğu görülmüştür. Yapılan proliferasyon çalışmalarına göre; besi ortamı olarak MS; ortam katılaştırıcısı olarak 6.3 g l^{-1} agar; şeker olarak 30 gr l^{-1} sukroz; sitokinin ve konsantrasyonu olarak 1 mg l^{-1} BAP destekli besi ortamı kullanımının uygun

proliferasyon sağlayacağı sonucuna varılmıştır. Tohum kaynaklı sürgünlerle yapılan altkültür deneyleri kapsamında; ilk altkültür çalışmasının daha iyi sonuç verdiği halde, sonraki deneylerde sürgün uzunluğunda düşüş görülmüş fakat, sürgün sayısının arttığı belirlenmiştir.

5.4. Köklendirme Çalışmaları

Hem tohumdan, hem de nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin proliferasyonu sonucu elde edilen materyallerin köklendirilmesi amacıyla yapılan çalışmalarda 2 – 3 cm uzunluğundaki sürgün kullanımının uygun olacağı saptanmıştır. Ortam istekleri bakımından; besi ortamı olarak MS; şeker olarak 20 grl⁻¹ sukroz, ortam katılaştırıcı olarak 6.3 gl⁻¹ agar kullanımının uygun olacağı tespit edilmiştir. En önemli husus olan köklenme hormonlarının yani oksinlerin belirlenmesiyle ilgili çalışma kapsamında; tohum kaynaklı sürgünlerin köklendirilmesi için 0.5 mg l⁻¹ NAA kullanımının; nodal tomurcuk kaynaklı sürgünlerin köklendirilmesi için 2 mg l⁻¹ IBA kullanımının en iyi köklenmeyi sağladığı belirlenmiştir. Öte yandan, karanlıkta bırakma işleminin köklenme açısından etkili olmadığı sonucuna varılmıştır.

5.5. Adaptasyon Çalışmaları

In vitro yoluyla köklenen bitkilerin doğal koşullara alıştırılması tam kontrollü büyüme odasında gerçekleştirilmiştir. Kullanılacak torfun mutlak sterilize edilmesi gerektiğinin tespit edildiği bu çalışmada; tohum kaynaklı sürgünlerden oluşan köklü bitkilerin arazi koşullarına aktarılma aşamasında %80 oranında yaşayan bitki oranı elde edilmiştir. Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerden oluşan köklü bitkilerin aklimatizasyonu aşamasında tam steril torf kullanılarak yaşayan bitki oranı %70 olarak gerçekleşmiştir. Şu an için bahçe koşullarında *in vitro*dan aktarılmış 2 adet kayısı bitkisi bulunmakta olup; 8 adet bitki ise, sera koşullarında saksı içerisinde bahçeye aktarılma aşamasında beklemekte olup, vejetasyon dönemi sonunda bahçeye aktarılacaktır.

Çalışmamız, Malatya’da yoğun bir şekilde yetiştiriciliği yapılan ve dünya kayısı piyasalarında *Turkish apricot* olarak bilinen “*Hacıhaliloğlu*” çeşidinin *in vitro* tekniklerle çoğaltılmasına yönelik olarak yapılmış ilk çalışma mahiyetindedir. Yerli kayısı çeşitleriyle ilgili gelecekte yapılacak olan *in vitro* araştırmalara temel teşkil etmesi bakımından yararlı olabileceği kanısındayız.

Konumuzla ilgili olarak önümüzdeki dönemlerde daha kapsamlı *in vitro* çalışmalar yapacak olan herkese faydalı olması dileğiyle...

6. KAYNAKLAR

- AHMAD, T., HAFEEZ-UR, R., AHMED, CMS., 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.
- AKA-KAÇAR, Y., YILMAZ, N., YALÇIN-MENDİ, Y., KÜDEN, A., ÇETİNER, S., 2001.** *İn Vitro* Besi Ortamında Kullanılan Değişik Katılaştırıcıları Maddelerinin ve Farklı pH Düzeylerinin Bazı Kiraz (*Prunus avium* L.) Anaçlarının Çoğaltılması Üzerine Etkileri. I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu. 25-28 Eylül, S: 161-166. Yalova.
- ALMEHDI, A. A., FARFITT, D. E., 1986.** *In Vitro* Propagation of Peach: I. Propagation of “Lovell” and “Nemaguard” Peach Rootstocks. Fruit Varieties Journal 40 (1): 12-17.
- AL-SABBAGH, M., ABDUL-KADER, A., KHODER, M., KALHOUT, A., 1999.** *In Vitro* Propagation of a Semi-Dwarfing Cherry Rootstock. Plant Cell Tissue and Organ Culture 59: 203-208.
- AMBROZIC TURK, B., SMOLE, J., SIFTAR, A., 1992.** Micropropagation of Plum Ecotype (*Prunus domestica* L.) as Rootstock for Apricot. *Acta Horticulturae* 300: 111-114.
- ANDREU, P., MARIN, J. A., 2005.** *In Vitro* Culture Establishment and multiplication of the *Prunus* Rootstock “Adesoto 1001” (*P. insititia* L.) as Affected by Type of Propagation of the Donor Plant and by the Cultur Medium Composition. Scientia Horticulturae 106: 258-267.
- ANONİM, 1996.** Kayısı Çeşit Katoloğu. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü Bitkisel Üretimi Geliştirme Daire Başkanlığı Mesleki Yayınlar Serisi.
- ANTONOPOULOU, V., DIMASSI, K., THERIOS, I., CHATZISSAVVIDIS, C., TSIRAKOGLU, V., 2005.** Inhibitory Effect of Riboflavin (Vitamin-B₂) on the *In Vitro* Rooting and Nutrient Concentration of Explant of Peach Rootstocks GF 677 (*Prunus amygdalus* x *P. persica*). Scientia Horticulturae 106: 268-272.

ANONİM, 2006. FAO Statistical Database (www.fao.org – Erişim tarihi: Mayıs 2006).

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

ASMA, B. M., BİRHANLI, O., 2004. Mişmiş. Evin Ofset. 220 s. Malatya, 220 s.

ASMA, B.M., GÜLTEK, A., KAN, T., BİRHANLI, O., 2005. Kayısıda Kükürt Sorunu. Özgayret Ofset. Malatya, 108 s.

BALLA, I., VERTESY, J., 2001. *In Vitro* Culture of Hungarian Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Varieties. Acta Horticulturae 560: 395-398.

BHAGWAT, B., DAVID LANE, W., 2004. *In Vitro* Shoot Regeneration from Leaves of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) “Lapins” and “Sweetheart”. Plant Cell Tissue and Organ Culture 78 (2): 173-181.

BORKOWSKA, B., 1985. Micropropagation of Sour Cherry Cultivar “Schattenmorelle”. Acta Horticulturae 169: 329-333.

BURGOS, L., ALBURQUERQUE, N., 2003. Ethylene Inhibitors and Low Kanamycin Concentrations Improve Adventitious Regeneration from Apricot Leaves. Plant Cell Reports 21: 1167-1174.

CEROVIC, R., RUZIC, D., 1987. Micropropagation of Sour Cherry (*Prunus cerasus* L.) cv. “Sumadinka”. Plant Cell Tissue and Organ Culture 9: 151-157.

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.

DEOGRATIS, J. M., DOSBA, F., LUTZ, A., 1989. Eradication of Prune Dwarf Virus, *Prunus* Necrotic Ring Spot Virus and Apple Chlorotic Leaf Spot Virus in Tissue Cultured Sweet Cherry. Can. J. Plant. Path. (In pres).

DRADI, G., VITO, G., STANDARDI, A., 1996. *In Vitro* Mass Propagation of Eleven *Prunus mahaleb* Ecotypes. *Acta Horticulturae* 410: 477-483.

DRIVER, J. A., KUNIYUKI, A. H., 1984. *In Vitro* Propagation of Paradox Walnut Rootstock. *HortScience* 19: 507-509.

DRUART, PH., 1991. Potentialities of the *In Vitro* Culture to Improve Plum-Tree Breeding. *Acta Horticulturae* 283: 199-206.

ESCALETTES, V., DOSBA, F., 1993. *In Vitro* Adventitious Shoot Regeneration from Leaves of *Prunus spp.* *Plant Science*. 90 (2): 201-209.

ESPINOSE, C., PIJUT, P. M., MICHLER, C. H., 2006. Adventitious Shoot Regeneration and Rooting of *Prunus serotina* *In Vitro* Cultures. *HortScience* Vol. 41, N:1.

FİDANCI, A., BURAK, M., ERENOĞLU, B., 2001. Bazı Klonal Kiraz ve Vişne Anaçlarının *In Vitro*'da Hızlı Çoğaltım Tekniklerinin Belirlenmesi (I. Aşama). I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu 25-28 Eylül. s: 181-186. Yalova.

FORTUNA, P., CITERNESI, A. S., MORINI, S., VITAGLIENO, C., GIOVANNETTI, M., 1996. Influence of Arbuscular Mycorrhizae and Phosphate Fertilization on Shoot Apical Growth of Micropropagated Apple and Plum Rootstocks. *Tree Physiology* 16: 757-763.

FOTOPOULOS, S., SOTIROPOULOS, T. E., 2004. *In Vitro* Propagation of the Peach Rootstock: The Effect of Different Carbon Sources and Types of Sealing Material on Rooting. *Biologia Plantarum* 48 (4): 629-631.

GENTILE, A., MONTICELLI, S., DAMIANO, C., 2002. Adventitious Shoot Regeneration in Peach (*Prunus persica* L.) Batsch. *Plant Cell Reports* 20: 1011-1016.

GRANT, N. J., HAMMATT, N., 1999. Increased Root and Shoot Production During Micropropagation of Cherry and Apple Rootstocks: Effect of Subculture Frequency. *Tree Physiology* 19: 899-903.

GRANT, N. J., HAMMATT N., 2000. Adventitious Shoot Development from Wild Cherry (*Prunus avium* L.) Leaves. New Forest 20: 287-295.

HAMMATT, N., GRANT, N. J., 1997. Micropropagation of Mature British Wild Cherry. Plant Cell Tissue and Organ Culture 47: 103-110.

HAMMERSCHLAG, F. A., BAUCHAN, G. R., SCORZA, R., 1987. Factors Influencing *In Vitro* Multiplication and Rooting of Peach Cultivars. Plant Cell Tissue and Organ Culture 8 (3): 235-242.

HARADA, H., MURAI, Y., 1996. Micropropagation of *Prunus mume*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 46 (3): 265-267.

HARTMANN, H.T., KESTER, D.E., 1975. Plant Propagation, Principles and Practices. 3rd. Ed. Newyor: Prentice-Hall Englewood Cliffs: 1975.

HATİPOĞLU, R., 2002. Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Genel Yayın No: 190, Ders Kitapları Yayın No: A-58, 4. baskı, ADANA.

HOKANSON, K. E., POOLER, M. R., 2000. Regeneration of Ornamental Cherry (*Prunus*) taxa from Mature Stored Seed. HortScience 35 (4): 745-748.

HU, C.Y., WANG, P.J., 1983. Meristem, shoot tip and bud cultures. In: Handbook of Plant Cell Culture Vol. 1: 177-227, P.V. Ammirato, D.A. Evans, W.R. Sharp ve Y. Yamada (eds), Macmillian Publishing Company, Newyork.

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.

KNAPP, E., HANZER, V., MENDONÇA, D., CAMARA MACHADO, A., KATINGER, H & CAMARA MACHADO, M. L., 1998. Improved Virus Detection in Rocaceous Fruit Trees *In Vitro*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 52: 3-6.

KOUBOURIS, G., VASILAKAKIS, M., 2006. Improvement of *In Vitro* Propagation of Apricot Cultivars “Bebecou”. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 85: 173-180.

KRAMARENKO, L. A., 1999. Micropropagation of Apricot and Field Performance of *In Vitro* Propagated Plants. *Acta Horticulturae*, 488: 417-420.

MANGANARIS, G. A., ECONOMOU, A. S., BOUBOURAKAS, I. N., KATIS, N. I., 2003. Elimination of PPV and PNRSV through Thermootherapy and Meristem-Tip Culture in Nectarine. Plant Cell Reports 22: 195-200.

MANTE, S., SCORZA, R., CORDTS J. M., 1989. Plant Regeneration from Cotyledons of *Prunus persica*, *Prunus domestica* and *Prunus cerasus*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 19 (1): 1-11.

MARINO, G., BERTAZZA, G., MAGNANINI, E., ALTAN, A.D., 1993. Comparative Effects of Sorbitol and Sucrose as Main Carbon Energy Sources in Micropropagation of Apricot. Plant Cell Tissue and Organ Culture 34 (3): 235-244.

MARINO, G., MAGNANINI, E., BATTISTINI, S., RIGHETTI, B., 1991. Effect of Hormones and Main Carbon Energy Sources on *In Vitro* Propagation of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) cvs. “San Castrese” and “Portici”. *Acta Horticulturae* 293: 355-361.

MARINO, S., LORETI, F., SCIUTTI, R., 1991. Response of Some Mr.S. Clones to *In Vitro* Propagation. *Acta Horticulturae* 283: 207-212.

MATT, A., A JEHL, J., 2005. *In Vitro* Plant Regeneration from Leaves and Internode Section of Sweet Cherry Cultivars (*Prunus avium* L.). Plant Cell Reports 24: 468-476.

McCOWN, B. H., LLOYD, G., 1981. Woody Plant Medium (WPM) – a Medium Nutrient Formulation for Microculture for Woody Plant Species, Hort. Sci. 16: 453.

MOLASSIOTIS, A. N., DIMASSI, K., THERIOS, I., DIAMANTIDIS, G., 2003. Fe-EDDHA Promotes Rooting of Rootstock GF 677 (*Prunus amygdalus* x *P. persica*) Explants *In Vitro*. Biologia Plantarum 47 (1): 141-144.

MURAI Y., HARADA, H., TAKAGI, T., 1996. *In Vitro* Shoot and Root Proliferation in Flowering *mume* Cultivars. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 65 (1): 155-159.

MURAI, Y., HARADA, H., YAMASHITA, H., 1997. *In Vitro* Propagation of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. "Bakuoh Junkyou". Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 66 (3-4): 475-480.

MURASHIGE, T., SKOOG, F., 1962. A Rivesed Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum, 15, 473-97.

NOWAK, B., MICZYNSKI, K., 1996. Regeneration Capacity of *Prunus domestica* L. cv. "Wegierka Zwycla" from Leaf Explants of *In Vitro* Shoots Using TDZ. Folia Horticulturae 8/2: 41-49.

ÖZBEK, S., 1977. Genel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 111, Ders Kitabı: 6, Ankara Üniversitesi Basımevi.

ÖZÇAĞIRAN, R., ÜNAL, A., ÖZEKER, E., İSFENDİYAROĞLU, M., 2004. Ilıman İklim Meyveleri Cilt-I (Sert Çekirdekli Meyveler). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 553. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir.

ÖZZAMBAK, E., HEPAKSOY, S., 1997a. Investigations on *In Vitro* Proliferation of Sour Cherry cv. "Heimanns Rubinweichsel". Acta Horticulturae 447: 155-157.

ÖZZAMBAK, E., HEPAKSOY, S., 1997b. Investigation on *In Vitro* Rooting and Acclimatization of Sour Cherry cv. "Heimanns Rubinweichsel". Acta Horticulturae 447: 153-154.

PARFITT D. E., ALMEHDI, A. A., 1986. *In Vitro* Propagation of Peach: II. A Medium for *In Vitro* Multiplication of 56 Peach Cultivars. Fruit Varieties Journal 40 (2): 45-47.

PARIS, R., PRATESI, D., NEGRI, P., 2004. *In Vitro* Morphogenic Ability of Mature or Embryonic Apricot Tissue. Acta Horticulturae 663 (1): 487-490.

PASCUAL, L., MARIN, J. A., 2005. A Liquid 2,4 D Pulse Increased Shoot and Root Regeneration from Leaf Explants of Adult *Prunus* Rootstocks. Scientia Horticulturae 106: 582-592.

PAYDAŞ, S., KÜDEN, A., 2000. Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Kayısı Yetiştiriciliği. TÜBİTAK, Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları. Adana, 15 s.

PEDROTTI, E. L., ALLEMAND C. J., DOUMAS, P., CORNU, D., 1994. Effect of Autoclaving Aminoacids on *In Vitro* Rooting Response of Wild Cherry Shoot. Scientia Horticulturae 57 (1-2): 89-98.

PENNONE, F., 1999. Horticultural Evoluotion of the cv. "Bebecou" Propagated *In Vitro*. Acta Horticulturae 488: 427-431.

PEREZ-TORNERO, O., BURGOS, L., 2000. Different Media Requirements for Micropropagation of Apricot Cultivars. Plant Cell Tissue and Organ Culture (63): 133-141.

PEREZ-TORNERO, O., BURGOS, L., EGEA, J., 1999. Introduction and Establishment of Apricot *In Vitro* Through Regeneration of Shoot from Meristem Tips. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 35: 249-253. May-June 1999.

PEREZ-TORNERO, O., BURGOS, L., EGEA, J., LOPEZ, J.M., 1999. Apricot Meristem Tip Culture. Acta Horticulturae 488: 411-416.

PEREZ-TORNERO, O., EGEA, J., OLMOS, E., BURGOS, L., 2001. Control of Hyperhydricity in Micropropagated Apricot Cultivars. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant 37: 250-254.

PEREZ-TORNERO, O., EGEA, J., VANOOSTENDE, A., BURGOS, L., 2000. Assesment of Factors Affecting Adventitious Shoot Regeneration from *In Vitro* Cultured Leaves of Apricot. Plant Science 158: 61-70.

PEREZ-TORNERO, O., LOPEZ, J.M., EGEA, J., BURGOS, L., 2000. Effect of Basal Media and Growth Regulators on the *In Vitro* Propagation of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. Canino. Journal of Horticultural Science & Biotechnology (3): 283-286.

PEREZ-TORNERO, O., ORTIN-PARRAGA, F., EGEA, J., BURGOS, L., 1999. Medium-Term Storage of Apricot Shoot Tips *In Vitro* by Minimal Growth Method. HortScience 34 (7): 1277-1278.

PETREVICA, L., BITE, A., 2003. The Influence of Short-Term Cold Storage on the Cherry Microshoot Proliferation. *Acta Horticulturae* 616: 327-330.

PETRI, C., ALBURQUEQUE N., BURGOS, L., 2005. The Effect of Aminoglycoside Antibiotics on the Adventitious Regeneration from Apricot Leaves and Selection of nptII-Transformed Leaf Tissue. Plant Cell Tissue and Organ Culture 80: 271-276.

PETRI, C., ALBURQUEQUE N., PEREZ-TORNERO, O., BURGOS, L., 2005. Auxin Pulses and a Synergistic Interaction Between Polyamines and Ethylene Inhibitors Improve Adventitious Regeneration from Apricot Leaves and Agrobacterium Mediated Transformation of Leaf Tissue. Plant Cell Tissue and Organ Culture 82: 105-111.

PINKER, I. 1995. Influence of Light Dark Cycle on *In Vitro* Multiplication of Shoot Cultures of Woody Plants. *Garten Bauwissen Schaft* 60 (1): 37-41.

PRUSKI, K., ASTATKIE, T., NOWAK, J., 2005. Tissue Culture Propagation of Mongolian Cherry (*Prunus fruticosa*) and Nanking Cherry (*Prunus tomentosa*). Plant Cell Tissue and Organ Culture 82: 207-211.

PRUSKI, K. W., LEWIS, T., ASTATKIE, T., NOWAK, J., 2000. Micropropagation of Chokecherry and Pincherry Cultivars. Plant Cell Tissue and Organ Culture 63: 93-100.

QUOIRIN, M., LEPOIVRE, P., 1977. Etude de Milieux adaptes aux Cultures *In Vitro* de *Prunus*. *Acta Horticulturae*, (78) 437: 42.

SAUER, A., 1985. *In Vitro* Propagation of *Prunus avium* L. and Storage of *In Vitro* Derived Plantlets. *Acta Horticulturae* 169: 351.

SCHENK, R. U. & HILDEBRANT, A. C., 1972. Medium and Techniques for Induction and Growth of Monocotyledonous and Dicaotyledonous Plant Cell Cultures. *Can. J. Bot.* 50: 199-204.

SCHMIDT, H., KETZEL, A., 1996. *In Vitro* Culture Techniques in Sweet Cherry Breeding. *Acta Horticulturae* 410: 111-114.

SKIRVIN, R. M., CHU, M. C., RUKAN, H., 1979. Tissue Culture of Peach, Sweet and Sour Cherry and Apricot Shoot Tips. Proceedings of the 124th Annual Meeting of the Illinois State Horticultural Society 113: 30-38.

SNIR, I., 1984. *In Vitro* Propagation of “Canino” Apricot. *HortScience* 19: 229-230.

SOTIROPOULOS, T. E., FOTOPOULOS S., 2005. *In Vitro* Propagation of the PR 204/84 Peach Rootstock (*Prunus persica* x *P.amygdalus*): The Effect of BAP, GA₃ and Activated Charcoal on Shoot Elongation. *European Journal of Horticultural Science* 70 (5): 253-255.

SRINIVASAN, C., ISABEL, M.G., SCORZA, R., 2005. *Prunus spp.* Almond, Apricot, Cherry, Nectarine, Peach and Plum. In: *Biotechnology of Fruit and Nut Crops. Biotechnology in Agriculture N: 29.* (eds: Richard E. Litz) p: 512-542.

SÜLÜŞOĞLU, M., ÇELİK, M., 2001. Kara ve Sarı İdris Anaçlarının Mikro Üretiminde Temel Besin Ortamının ve Hormanların Sürgün Proliferasyonu ve Kalitesi Üzerine Etkileri. I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu 25-28 Eylül, S: 167-174. Yalova.

TANG, H., REN, Z., REUSTLE, G., KRCZAL, G., 2002. Plant Regeneration from Leaves of Sweet and Sour Cherry Cultivars. *Scientia Horticulturae* 93: 235-244.

THEILER-HEDTRICH, C. M., FEUCHT, W., 1985. Micropropagation of *Prunus cerasus* Rootstocks: Influence of Culture Medium Constituents on Growth in Stage I and II. *Acta Horticulturae* 169: 335-340.

VASAR, V., 2003. Effect of Ascorbic Acid and Citric Acid on *Ex Vitro* Rooting and Acclimatization of *Prunus avium* L. Microshoot. *Acta Horticulturae* 616: 251-254.

WERBROUCK, P.O., DEBERGH P.C., 1994. Applied Aspects of Plant Regeneration. 6A. Micropropagation. In: Dixon RA, Gonzales RA (eds), *Plant Cell Culture. A Practical Approach*. Second Edition, pp. 127-135, Oxford Press, UK.

YANCHEVA, S.D., 2002. Adventitious Shoot Formation from Intact *In Vitro* Plants an Alternative Approach towards Genetic Modification of Plum (*Prunus domestica* L.). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 16 (2): 62-66.

YÜCECAN, S., 1993. Kayısının Beslenme Açısından Önemi. 3. Kayısı ve Kayısı Sorunları Paneli, s: 12-14, Malatya.

ZIMMERMAN, R. H and DEBERG, P. C., 1991. Micropropagation of Temperate Zone Fruit and Nut Crops. In: *Micropropagation : Technology and Application*. (Zimmerman, R.H and Deberg, P., Eds). Kluwer Academic, Boston, USA. 231-246.

7. ÇİZELGE LİSTESİ

	S. No
Çizelge 1. Dünya Kayısı Üretimi	7
Çizelge 2. 100 gr taze ve kuru kayısının besin değeri	8
Çizelge 3. Kayısı ile ilgili olarak yapılan <i>in vitro</i> çoğaltım ve rejenerasyon çalışmaları	9
Çizelge 4. Farklı kayısı çeşitlerinin MS besi ortamındaki ortalama sürgün sayısı, ortalama sürgün uzunluğu (mm), verimlilik (mm) değerleri	10
Çizelge 5. Farklı şeker tiplerinin köklenmeye etkisi	21
Çizelge 6. Bazı aminoasitlerin kök uzunluğuna etkisi	23
Çizelge 7. Temel MS Besi Ortamının İçeriği	36
Çizelge 8. Tohumların sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi	52
Çizelge 9. Tohumların sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te farklı bekletme sürelerinin etkisi	53
Çizelge 10. Nodal tomurcukların sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi	54
Çizelge 11. Nodal tomurcukların sterilizasyonuna %5'lik NaOCl'te farklı bekletme sürelerinin etkisi	55
Çizelge 12. Sürgün ucu sterilizasyonuna NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarının etkisi	55
Çizelge 13. Sürgün ucu sterilizasyonuna %10'luk NaOCl'te farklı bekletme sürelerinin etkisi	56
Çizelge 14. Tohumların <i>in vitro</i> çimlenmesine BBD'lerin etkisi	60
Çizelge 15. Tohumların <i>in vitro</i> çimlenmesine eksplant tipinin etkisi	61
Çizelge 16. Farklı besi ortamlarının kültür başlatmaya etkisi	63
Çizelge 17. MS Besi ortamının farklı kuvvetlerinin kültür başlatmaya etkisi	63
Çizelge 18. Farklı bitki büyüme düzenleyicilerin kültür başlatmaya etkisi	64
Çizelge 19. Farklı BAP konsantrasyonlarının kültür başlatmaya etkisi	65
Çizelge 20. Farklı şeker tiplerinin kültür başlatmaya etkisi	66
Çizelge 21. Sukrozun farklı konsantrasyonlarının kültür başlatmaya etkisi	66
Çizelge 22. BAP'lı ortama oksin ilavesinin kültür başlatmaya etkisi	68
Çizelge 23. Kinetin'li ortama oksin ilavesinin kültür başlatmaya etkisi	69

Çizelge 24.	Ağaçlardan tomurcuk alma zamanının kültür başlatmaya etkisi	70
Çizelge 25.	Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna farklı MS kuvvetlerinin etkisi	73
Çizelge 26.	Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna farklı şeker tiplerinin etkisi	75
Çizelge 27.	Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna farklı BAP konsantrasyonlarının etkisi	76
Çizelge 28.	Tohumdan elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna alt kültür sayısının etkisi	77
Çizelge 29.	MS besi ortamının farklı kuvvetlerinin sürgün proliferasyonuna etkisi	78
Çizelge 30.	Farklı şeker tiplerinin sürgün proliferasyonuna etkisi	79
Çizelge 31.	Farklı sitokininlerin sürgün proliferasyonuna etkisi	80
Çizelge 32.	Farklı BAP konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkisi	81
Çizelge 33.	Farklı kinetin konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkisi	81
Çizelge 34.	Farklı TDZ konsantrasyonlarının sürgün proliferasyonuna etkisi	82
Çizelge 35.	Farklı IBA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi	92
Çizelge 36.	Farklı NAA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi	93
Çizelge 37.	Karanlıkta bırakma işleminin sürgün köklenmesi üzerine etkisi	94
Çizelge 38.	Farklı IBA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi	95
Çizelge 39.	Farklı NAA konsantrasyonlarının sürgün köklenmesi üzerine etkisi	96
Çizelge 40.	Farklı şeker tiplerinin köklenmeye etkisi	100
Çizelge 41.	Bazı aminoasitlerin kök uzunluğuna etkisi	101
Çizelge 42.	Köklenmiş bitkilerin aklimatizasyonu üzerine farklı düzeylerde steril edilen torfun etkisi	105
Çizelge 43.	Köklenmiş bitkilerin aklimatizasyonu üzerine farklı düzeylerde steril edilen torfun etkisi	107

8. RESİM LİSTESİ

	S. No
Resim 1. Çalışmalarda kullanılan materyallerin ilk ekim hali a) Sürgün ucu, b) Nodal tomurcuk, c) Tohum	34
Resim 2. Kayısı tohumlarının 1 mg ^l ⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamında çimlenmesi	61
Resim 3. Kayısı tohumlarına ait farklı tipteki eksplantların 1 mg ^l ⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamında çimlenmesi a) Tüm tohum, b) Yarım tohum, c) Embriyo	62
Resim 4. 1 mg ^l ⁻¹ BAP + 0.3 mg ^l ⁻¹ IBA ile destekli MS Besi ortamına ekilen nodal tomurcukların; a) 1. hafta sonunda, b) 4. hafta sonundaki görünüşleri	67
Resim 5. Tohumdan elde edilen sürgünler ile proliferasyon çalışmalarının başlatılması	74
Resim 6. Tohumdan elde edilen sürgünlerin 1 mg ^l ⁻¹ BAP ile destekli MS besi ortamında 28 günlük kültür periyodu sonundaki proliferasyonu	77
Resim 7. Nodal tomurcuklardan elde edilen eksplantlar ile proliferasyon çalışmalarının başlatılması	78
Resim 8. Nodal tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin 1 mg ^l ⁻¹ BAP içeren MS besi ortamında 28 günlük kültür periyodu sonunda; a) proliferasyon, b) sürgünler topluluğu, c) ayrılmış sürgünlerin görünümü	83
Resim 9. 0.5 mg ^l ⁻¹ NAA içeren MS besi ortamında 28 günlük kültür periyodu sonunda köklenen bitkilerin; a) besi ortamında, b) saksılara aktarılmadan önceki görünümü	93
Resim 10. Köklenme ortamından çıkarılan köklenmiş kayısı bitkilerinin torf bulunan plastik bardaklara aktarılmış hali	106
Resim 11. <i>İn vitro</i> yoluyla elde edilen ve aklimatize edildikten sonra bahçeye aktarılabilecek hale gelen kayısı bitkileri	107
Resim 12. <i>İn vitro</i> yoluyla çoğaltılan ve bahçeye aktarılan kayısı bitkisinin 1. hafta sonundaki görünümü	109

9. ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Elazığ'da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Elazığ ili Baskil ilçesi'nde tamamladım. 1993 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'ne girdim ve buradan 1997 yılında "Fakülte Birincisi" olarak mezun oldum. Mezuniyetimi müteakip Elazığ Yem Sanayii A. Ş.'de işletme müdürü olarak 1 yıl süreyle görev yaptım. 1998 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak göreve başladım. D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda 2000 yılında başladığım Yüksek Lisans öğrenimimi "Bazı Şeftali ve Nektarin Çeşitlerinin Diyarbakır Koşullarında Gelişme Durumlarının Belirlenmesi" konulu tez çalışması ile 2002 yılında tamamladım. Aynı yıl eylül ayında D. Ü. F. B. Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda başladığım doktora öğrenimim devam etmektedir. Halen, Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım. Evli ve bir kız çocuğu babasıyım.