

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
EN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

139054

**PIKAN CEVİZİ (*Carya ilinoensis*) ve KIVI (*Actinidia deliciosa*)'nin  
BİYOTEKNOLOJİK YÖNTEMLERLE  
MİKROPROPAGASYON YOLLARININ ARAŞTIRILMASI**

Filiz ADIYAMAN (AKBAŞ)

**DOKTORA TEZİ  
(BİYOLOJİ ANABİLİM DALI)**

139054

**22. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU BAŞKANLIĞI  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

DİYARBAKIR - 2003

T.C

DİCLE UNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DIYARBAKIR

Bu çalışma , jürimiz tarafından ..... BİYOLOJİ.....

Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı

Adı Soyadı

Başkan:..Prof.Dr.Davut BAŞARAN (Danışman).....

Üye : .....Doç.Dr.Ahmet ONAY.....

Üye : ....Yrd.Doç.Dr.Sevda KIRBAĞ.....

Üye : ... Yrd.Doç.Dr. Hatice BUDAK.....

Üye : ... Yrd.Doç.Dr. Süreyya NAMLI.....

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

04.07/2003

Prof. Dr. Çetin AYTEKİN

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ



## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Sayın Prof. Dr. Davut BAŞARAN'ın danışmanlığında yürütülmüştür. Çalışmayı planlayan ve yön veren, çalışmalarım süresince yapıcı eleştirileri ile araştırmaların yürütülmesinde ve değerlendirilmesinde büyük emeği geçen, danışman hocama teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

İlgi ve yardımlarından dolayı sayın hocam Doç. Dr. Ahmet ONAY'a ve tez süresi boyunca her an yanımda olan, laboratuvar çalışmalarında ve tez yazımında yardımcı olan sevgili arkadaşım Araş. Gör. Dr. Çiğdem IŞIKALAN'a, teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemde büyük emekleri geçen, maddi manevi desteklerini yanımda ve yüreğimde hissettiğim sevgili anne ve babama minnetlerimi sunarım. Büyük manevi desteklerini gördüğüm eşim A. Rahim AKBAŞ ve arkadaşlarım sayın Yrd. Doç. Dr. Süreyya NAMLI ve Yrd. Doç. Dr. Aysel BEKLEYEN'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca literatür temininde katkıda bulunan sayın Araş. Gör. Hakan YILDIRIM'a (Ziraat Fakültesi) teşekkürü bir borç bilirim.

Materyalin temini için yaptığım yolculuklarda bana arkadaşlık eden Nihat ve Faysal ADIYAMAN'a, teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Bu çalışma, D.Ü. Araştırma Fonu tarafından DÜAP-2001-FF-428 nolu proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

|   |    |
|---|----|
| 1. GİRİŞ.....   | 1  |
| 1.1. Bitki Doku Kültürlerinin Tarihi Gelişimi ve Bazı Önemli Çalışmalar.....  | 3  |
| 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....   | 8  |
| 2.1. Pikan cevizi ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....  | 8  |
| 2.2. Kivi ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....  | 11 |
| 3. MATERYAL VE METOD.....   | 16 |
| 3.1. Materyal.....  | 16 |
| 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplant Şekilleri.....   | 29 |
| 3.2. Metod.....   | 31 |
| 3.2.1. Pamuk ve Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu.....   | 31 |
| 3.2.2. Cam Malzemelerin Sterilizasyonu.....   | 31 |
| 3.2.3. Pens ve Bisturilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu.....   | 32 |
| 3.2.4. Besi Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu.....  | 32 |
| 3.2.5. Röpikaj ve Kültür Odalarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu.....   | 34 |
| 3.2.6. Kullanılan Materyalin Sterilizasyonu.....  | 34 |
| 3.2.6.1. Pikan Cevizi Tohumlarının Çimlenmesi ve Dekontaminasyonu Üzerine<br>NaOCl'in Etkisi.....   | 35 |
| 3.2.6.2. Ürün Veren (18 yaşında) Pikan Cevizi Ağaçlarından Alınan lateral ve<br>apikal tomurcukların Yüzeysel Sterilizasyonuna NaOCl'in Farklı<br>Konsantrasyonlarının Etkisi.....          | 36 |
| 3.2.6.3. Ürün Veren (18 yaşında) Pikan Cevizi Ağaçlarından Alınan lateral<br>ve apikal tomurcuklar Dekontaminasyonu Üzerine NaOCl İçinde<br>Optimum Bekletilme Süresinin Araştırılması..... | 37 |
| 3.2.7. Ekim İşlemleri.....  | 39 |
| 3.2.7.1. Pikan Cevizi ( <i>Carya illinoensis</i> ) ve Kivi ( <i>Actinidia deliciosa</i> )'nın<br>İn Vitro Koşullarda Mikroçoğaltma Çalışmaları.....   | 39 |
| 3.2.7.1.1. Pikan Cevizinin ( <i>Carya illinoensis</i> ) Olgun Tohumlarından<br>İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmalarında Sitokininlerin Etkisi.....   | 39 |
| 3.2.7.1.2. Ürün Veren Pikan Cevizi ( <i>Carya illinoensis</i> ) Ağaçlarından Alınan Apikal<br>ve Lateral Tomurcuklarından İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmaları.....                           | 39 |



|   |    |
|---|----|
| 3.2.7.1.3. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde Materyal Şeklinin Etkisi.....  | 40 |
| 3.2.7.1.4. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde MS Konsantrasyonunun Etkisi.....   | 40 |
| 3.2.7.1.5. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde Şeker Çeşidinin Etkisi.....  | 41 |
| 3.2.7.1.6. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde BAP Oranlarının Etkisi.....  | 41 |
| 3.2.7.1.7. <i>İn Vitro</i> Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna MS Konsantrasyonunun Etkisi.....   | 42 |
| 3.2.7.1.8. <i>İn Vitro</i> Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna Şeker Çeşitlerinin Etkisi.....   | 42 |
| 3.2.7.1.9. <i>İn Vitro</i> Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna Sitokinlerin Etkisi.....   | 43 |
| 3.2.7.2. <i>İn Vitro</i> Koşullarda Kivi ( <i>Actinidia deliciosa</i> )'nin Farklı Dokularından Kallus ve Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonu Çalışmaları..... | 43 |
| 3.2.7.2.1. Kivinin Olgun Tohumlarından İtibaren Kallus Oluşturma Çalışmalarında IAA'in Etkisi.....  | 43 |
| 3.2.7.2.2. Kallus Oluşumunda eksplant çeşidinin etkisi çalışmaları Çalışmaları.....   | 44 |
| 3.2.7.2.3. Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonuna BAP Konsantrasyonlarının Etkisi.....  | 45 |
| 3.2.7.3. <i>İn Vitro</i> Koşullarda Elde Edilen Kivi ( <i>Actinidia deliciosa</i> ) Sürgünlerinin Köklendirilme Çalışmaları.....                                  | 45 |
| 4. BULGULAR.....  | 47 |
| 4.1. Pikan Cevizi ( <i>Carya illinoensis</i> ) ve Kivi ( <i>Actinidia deliciosa</i> )'nin <i>İn Vitro</i> Mikroçoğaltma Çalışmaları.....                          | 47 |
| 4.1.1. Pikan Cevizinin ( <i>Carya illinoensis</i> ) Olgun Tohumlarından İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmalarında Sitokinlerin Etkisi.....                            | 47 |
| 4.1.2. Ürün Veren Pikan Cevizi ( <i>Carya illinoensis</i> ) Ağaçlarından Alınan Apikal ve Lateral Tomurcuklarından İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmaları.....        | 49 |
| 4.1.3. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde Materyal Şeklinin Etkisi.....  | 51 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.1.4. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde MS<br>Konsantrasyonunun Etkisi.....   | 52  |
| 4.1.5. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde Şeker<br>Çeşidinin Etkisi.....  | 56  |
| 4.1.6. Kivi Tohumlarının <i>İn Vitro</i> Şartlarda Çimlenmesinde BAP<br>Oranlarının Etkisi.....  | 59  |
| 4.1.7. <i>İn Vitro</i> Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna<br>MS Konsantrasyonunun Etkisi.....   | 64  |
| 4.1.8. <i>İn Vitro</i> Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna Şeker<br>Çeşidinin Etkisi.....  | 67  |
| 4.1.9. <i>İn Vitro</i> Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna<br>Sitokinlerin Etkisi.....   | 68  |
| 4.2. <i>İn Vitro</i> Koşullarda Kivi ( <i>Actinidia deliciosa</i> )'nin Farklı Dokularından Kallus<br>ve Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonu Çalışmaları..... | 77  |
| 4.2.1. Kivinin Olgun Tohumlarından İtibaren Kallus Oluşturma<br>Çalışmalarında IAA'in Etkisi.....  | 77  |
| 4.2.2. Kallus Oluşumunda Ekspant Çeşidinin Etkisi Çalışmaları.....   | 78  |
| 4.2.3. Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonuna BAP Konsantrasyonlarının<br>Etkisi.....  | 83  |
| 4.3. <i>İn Vitro</i> Koşullarda Elde Edilen Kivi ( <i>Actinidia deliciosa</i> ) Sürgünlerinin<br>Köklendirilme Çalışmaları.....                                  | 90  |
| 4.4. <i>İn Vitro</i> Koşullarda Elde Edilen Kivi ( <i>Actinidia deliciosa</i> ) Fidelerinin<br>Toprağa Adaptasyonu.....  | 92  |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....  | 94  |
| 6. KAYNAKLAR.....  | 97  |
| 7. TABLOLARIN LİSTESİ.....   | 106 |
| 8. RESİMLERİN LİSTESİ.....   | 107 |
| 9. ÖZGEÇMİŞ. ....  | 109 |

## AMAÇ

Araştırmalarımızı, yurdumuz ekonomisine büyük katkılar sağlayacağını düşündüğümüz pikan cevizi ve kivi üzerinde yoğunlaştırdık.

Pikan cevizi, gerek ülkemiz koşullarına adaptasyon kapasitesi ve gerekse yüksek kalori ve dekar başına yüksek verim nedeniyle, araştırma materyali olarak seçilmiştir.

Kivi bitkisi, son 30-50 yılda adından en çok söz edilen ve üretimi hızla artan meyve türlerinden biridir. Vitamin ve mineral maddeler bakımından zengin olması, kalori değerinin düşük olması nedeni ile aranan bir meyve türüdür. Geniş adaptasyon yeteneği, bitki ve meyve özellikleri, depolama kolaylıkları, yüksek fiyatla alıcı bulması, üretimindeki sığramayı sağlamıştır.

Bir sağlık meyvesi olarak adlandırılan kivin, ülkemizde yetiştiriciliğinin yapılabileceği bölgelerin olmasına rağmen meyve talebinin büyük çoğunluğu yurt dışından ithalat yoluyla temin edilmektedir. Gerek dünyada gerekse ülkemizde büyük önem kazanan kivi, geleneksel yöntemlerin yanı sıra, doku kültürü yöntemleriyle kısa sürede istenilen miktarda çoğaltılarak hızlı fide-fidan üretimi yapılabilir. Fidan talebinin karşılanması ile kivi yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılabileceği ve ülke ekonomisine büyük katkı sağlayacağı kanısındayız.

Bu özellikler göz önünde bulundurularak gerek kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin ve gerekse pikan cevizinin (*Carya illinoensis*) *in vitro* koşullarda çoğaltılma olanaklarının araştırılması çalışmaları gerçekleştirildi.

## ÖZET

Çalışmada, olgun tohumlar ve ürün veren ağaçların farklı dokuları kullanılarak, *Carya illinoensis* pikan ceviz çeşidinin, organogenesis ile çoğaltılması metodları geliştirildi. Bunun için, pikan cevizinin meyve veren ağaçlardan alınan lateral ve apikal tomurcuklar ve olgun tohumlarından itibaren, steril eksplantların üretimi için, yüzey sterilizasyon metodları geliştirildi.

Ayrıca kivi (*Actinidia deliciosa*) olgun tohumlarından itibaren organogenesis ile çoğaltılması ve yaprak kalluslarından itibaren bitki rejenerasyonu metodları geliştirildi.

Pikan cevizinin olgun tohumları, BAP ve kinetin farklı konsantrasyonlarında (0.5 – 4.0 mg l<sup>-1</sup>) kültüre alınarak çimlenmeye sitokinlerin etkisi araştırıldı ve 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamın en iyi sonucu verdiği saptandı.

Ürün veren pikan ağaçlarından alınan apikal ve lateral tomurcuklar, BAP ve kinetin 0.5 – 4.0 mg l<sup>-1</sup>'lik konsantrasyonlarında, ayda bir kez olmak üzere bir yıl boyunca kültüre alındı. Bu zaman periyodu içerisinde tomurcukların (lateral ve apikal) yukarıda belirtilen hormon konsantrasyonlarında kültüre cevap vermeyerek gelişmediği tespit edildi.

Kivi tohumlarının *in vitro* şartlarda çimlendirilmesine materyal şekli, MS konsantrasyonu, şeker çeşidi ve BAP oranlarının etkisi ayrı ayrı araştırıldı. 2.0 mg l<sup>-1</sup>BAP, 30 g/l sakkaroz ve 1/4 MS'in ideal çimlenme ortamı olduğu saptandı.

*In vitro* şartlarda elde edilen kivi sürgünlerinin proliferasyonuna, MS konsantrasyonu, şeker çeşidi ve sitokinlerin etkisi ayrı ayrı araştırıldı. Sürgün proliferasyonu için, 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP ve 30 g/l sakkaroz ile desteklenmiş 1/1 MS besi ortamının optimum sonuç verdiği tespit edildi. Elde edilen sürgünler, 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA'li MS besi ortamında köklendirilerek *in vivo* şartlara adaptasyonu sağlandı.

Kallustan itibaren bitki rejenerasyonu çalışmalarında başlangıç kallusunu elde etmek amacı ile materyal şeklinin, 2,4-D ile desteklenmiş oksin (1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA) ve sitokin (1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP) etkisi ayrı ayrı araştırıldı. Sonuçta, 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D'li MS besi ortamında kültüre alınan yaprak eksplantlarından, bitki rejenerasyonu için ideal kallus elde edildi.

Birkaç alt kültür sonrasında, test edilen tüm BAP oranlarında (1.0 - 8.0 mg l<sup>-1</sup> ), kallustan itibaren sürgün elde edildi. Ancak en iyi sürgün oluşumunun 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda olduğu saptandı.

## SUMMARY

Methods were developed for organogenesis of pecan, "*Carya illinoensis*" using tissues of mature seeds and lateral, apical buds of mature trees. Effective surface sterilization methods were achieved for the production of sterile explants from mature seeds and mature lateral, apical buds of *Carya illinoensis*.

Methods were developed for organogenesis of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) using tissues of mature seeds and plant regeneration from leaf callus.

Mature seeds of pecan were cultured in MS medium containing different concentrations of BAP and kinetin (0.5 – 4.0 mg l<sup>-1</sup>). Best results for germination was obtained with 2.0 mg l<sup>-1</sup>BAP concentration.

Apical and lateral buds from mature trees of pecan have been cultured on MS medium containing different concentrations of BAP and kinetin (0.5 – 4.0 mg l<sup>-1</sup>), for a period of one year. Buds (lateral and apical) were not developed on these concentrations during this period.

Effects of explants source, strength of MS, types of sugar and BAP concentrations on axenic germination of seeds from kiwi were examined and 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP, 30 g/l sucrose and 1/4 MS were found to be the optimum medium.

Effect of the strength of MS, types of sugar and cytokinin on shoot proliferation of kiwi were investigated. The optimum result for shoot proliferation was obtained on 1/1 MS medium containing 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP and 30 g/l sucrose. The shoots developed in this medium were rooted on MS medium with 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA. The *in vitro* rooted shoots were successfully adapted at *in vivo* condition.

Effects of explants source, auxin (1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA) and cytokinin (1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP) supplemented with 2.0 mg l<sup>-1</sup>2,4-D on the initiation of callus were examined in order to obtain callus for plant regeneration. The best callus for plant regeneration was obtained from leaf explants on MS medium containing 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup>2,4-D.

After several subcultures, the shoots were obtained from callus in all MS media containing different BAP concentrations (2.0 – 8.0 mg l<sup>-1</sup>) tested. The best shoots formation were obtained on MS medium containing 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP.

## 1. GİRİŞ

Değişen çevre şartları ve hızla artan dünya nüfusu, bitkisel üretimde yeni çeşit geliştirmenin ve dolayısıyla bitki ıslahı çalışmalarının önemini daha da artırmıştır. Bitki ıslahının başlangıcı, insanlık tarihi kadar eskidir. İnsanoğlu yerleşik hayata geçip, kendisinin ve yakınlarının yiyecek, giyecek ve barınma ihtiyaçlarını karşılayabilmek için, yetiştirdiği ürünler arasından yüksek verime sahip olanları seçmekle bir tür ıslah yapmıştır. Ancak dünyadaki insan nüfusu arttıkça bitkilerden ve hayvanlardan daha yüksek verim almanın yolları bilimsel olarak araştırılmaya başlanmıştır. Nitekim, son 50 yılda ulaşılan tarımsal verim artışı, modern ıslah yöntemlerinin uygun yetiştirme teknikleri ile birlikte kullanılması sonucu elde edilmiştir.

Bugüne kadar uygulanan ıslah programlarında daha çok ürün kalitesi ve miktarının artırılmasına çalışılmış, kültür bitkilerine hastalık ve zararlılar ile olumsuz şartlara karşı dayanıklılık kazandırılması, her zaman ikinci plana bırakılmıştır. Halbuki, tarımsal üretim artışını sınırlayan en önemli faktörlerden biri de, hastalık ve zararlılar nedeniyle ortaya çıkan ürün kayıplarıdır. Kültür bitkileri hastalık ve zararlılara karşı kimyasal ilaçlarla korunmaya çalışılmış, fakat kullanılan bu kimyasal ilaçların kalıntıları gerek üründe, gerekse toprak ve suda uzun süre ayrışmadan kalabildiğinden insan, hayvan ve çevre sağlığını önemli ölçüde tehdit eder konuma ulaşmıştır (Babaoğlu ve ark., 2002).

Klasik bitki ıslahının olumsuz olan diğer bir yönü de; oldukça zaman alıcı bir uğraş olmasıdır. Klasik bitki ıslahı yöntemlerinden beklenen başarı, üzerinde çalışılan populasyondaki genetik çeşitlilik ile doğru orantılıdır. Dolayısıyla, populasyonda var olan genetik çeşitliliğin ve farklılığın artırılması gerekmektedir. Bu ise, türler arasındaki uyumsuzluğun kaldırılması, bağlılık engelini aşarak yalnız istenilen genin aktarılması, mutasyonlar, protoplast füzyonu, haploid hücre ve haploid bitkilerle mümkündür. İşte, bitkilerin tarımsal özelliklerinin iyileştirilmesinde açıklamaya çalıştığımız klasik bitki ıslahının doğasında var olan zorluklar, **Bitki Doku Kültürleri** ve **Bitki Genetik Mühendisliği** teknikleri kullanılarak aşılabilecek durumdadır.

Bilim ve mühendislik yöntemlerini kullanarak ve biyolojik materyallerden yararlanarak yeni ürünler elde etmek, ürünleri değiştirmek veya özel kullanım amaçlı mikroorganizmaları geliştirmek amacıyla kullanılan teknolojiler olarak tanımlanabilen biyoteknolojinin uygulama alanları içinde, en hızlı gelişme potansiyeline sahip alanların başında, bitki biyoteknolojisi gelmektedir.



Türkiye’de 25 yıl önce başlayan bitki biyoteknolojisi çalışmaları, başlangıçta doku kültürleri üzerinde yoğunlaşmış, son 10 yılda da moleküler biyoloji ve moleküler genetik teknikleri ile bütünleşmeye başlamıştır. Bu şekilde virüssüz meyve ve asma fidanı üretimi, dihaploid hatların üretimi ile ıslah süresinin kısaltılması ve hastalıklara dayanıklı çeşitlerin geliştirilmesi gibi konularda, pratik sonuçlar elde edilmiştir (Babaoğlu ve ark., 2002).

**Bitki Doku Kültürü;** aseptik şartlarda, yapay bir besin ortamında, bütün bir bitki, hücre (meristematik hücreler, süspansiyon veya kallus hücreleri), doku (çeşitli bitki kısımları) veya organ (apikal meristem, kök vb) gibi bitki kısımlarından yeni doku, bitki veya bitkisel ürünlerin (metabolitler) üretilmesidir.

Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik varyabilite oluşturmak, doku kültürünün temel amaçları arasında sayılabilir. Bu nedenle bitki doku kültürleri, genetiksel iyileştirme çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin korunmasında ve çoğaltılmasında, zor olan türlerin üretiminde çeşitli doku kültürü teknikleri rutin olarak uygulanmaktadır.

Bitki doku kültürü teknikleri, günümüzde bitki biyoteknolojisinin en önemli entegre dallarından birisi olarak, bitki bilimlerinin birçok alanında, gittikçe artan bir hızla kullanılmaktadır. Buradaki temel güç, bu tekniklerin tek bir hücreye müdahale etme veya kontrol altına alma imkanını tanımasıdır. Bu nedenle doku kültürleri; bitki fizyolojisi, biyokimya ve moleküler biyolojide en çok başvurulan yöntem ve araçlar arasında yer almaktadır (Babaoğlu ve ark., 2002).

Mikroçoğaltım, bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip bitki kısımlarından, yapay besin ortamlarında ve aseptik koşullar altında, yeni bitkilerin elde edilmesi olarak tanımlanabilir. Eğer bitkilerin uygun besin maddeleri ihtiyacı, hormon ve kültür istekleri yeterince biliniyorsa, mikroçoğaltım tekniği kullanılarak tüm bitki türlerinin üretilmesi mümkündür (Hartman ve Kester, 1975). Bitkilerin *in vitro* üretimi, kullanılan eksplantın özelliğine göre (embriyo, meristem, anter, hücre veya protoplast kültürü vb.) adlandırılır. Ancak çoğunlukla üretimde tek boğum yöntemi aksiller dallanma, adventif sürgün yada tomurcukların rejenerasyonu, kallus, hücre ve protoplastlardan bitki rejenerasyonu gibi yöntemler kullanılmaktadır.

Organogenezis ise, hücre veya dokulardan yeni bitki bireyleri meydana getirmeye imkan tanıdığı için, generatif yoldan çoğaltılması zor olan bitki türlerinin üretiminde büyük kolaylıklar sağlamaktadır. Organogenezisin belirtilmesi gereken diğer bir önemi de, bitki transformasyon çalışmalarının başarısını yakından etkilemektedir. Çünkü optimize edilmiş bir rejenerasyon sistemine sahip olmayan bir türde, transformasyon yapmanın fazla bir

anlamı yoktur. Diğer taraftan, organogenesisin kendine has bazı önemli dezavantajları vardır. Bunlardan en önemlisi bütün bitki türleri için evrensel bir rejenerasyon sisteminin olmayışıdır. Bu nedenle, her bitki türü, hatta her bitki çeşidi için spesifik bir sistemin optimize edilmesi gerekir (Babaoğlu ve ark., 2002).

Meyve türleri ve özellikle de sert kabuklu türlerin mikroçoğaltımı, otsu bitkilerin mikroçoğaltımına göre oldukça zordur. Son yıllara kadar, sert kabuklu meyve türlerinde mikroçoğaltımın başarısı, tohumdan yada anaçlardan alınan eksplantlarla sınırlı kalmanın yanı sıra, kaliteli meyve üretimi de sadece olgun bitkilerden alınan eksplantlarla yapılabilmektedir. Bu nedenle seçilmiş sert kabuklu meyve türü klonlarının mikroçoğaltımında:

1- Tür için uygun fizyolojik dönem ve eksplant seçimi

2- Kùltürlerde tanen ve diğer toksik bileşiklerin zararlı etkilerinin üstesinden gelinmesi

3- Kabul edilebilir sürgün çoğaltım oranının sağlanması

4- Köklü sürgünlerin elde edilmesi,

konuları önem arz etmektedir (Hansman ve Novoa, 1986).

Sert kabuklu meyve türlerinden olan ceviz ve kestane, aşı ve çelikle çoğaltmada anatomik ve fizyolojik sorunları olan ve en zor çoğaltılabilen meyve türleridir ( Vasquez ve Gesto, 1986, Diaz ve ark. 1988, Iglesias ve ark. 1988, Vieitez ve Ballaster 1988).

Ülkemizde fındıktan sonra en çok üretilen sert kabuklu meyve türü, 120.000 ton üretim ile cevizdir. Cevizi 76.000 ton ile kestane, 47.000 ton ile badem, 40.000 ton ile antep fıstığı izlemektedir. Ülkemiz yaklaşık %10'luk bir üretim payı ile ceviz üretiminde önemli bir yere sahip olmasına rağmen, dünya ceviz dış satımında ismi geçmemektedir. Cevizin genetik yapısı nedeni ile tohumla çoğaltılmada açılım göstermesi üretimde standardizasyonun olmamasına neden olmaktadır (Akça, 2001)

### 1.1. Bitki Doku Kùltürlerinin Tarihi Gelişimi ve Bazı Önemli Çalışmalar

İlk topraksız üretim şekli olan hidrofoni (sulu çözeltiler içinde bitkilerin topraksız ortamlarda yetiştirilmesi), tüm bir bitkinin laboratuvar ortamında tam olarak formüle edilmiş besin ortamlarında yetiştirilebilmesi düşüncesini ve daha sonra da bitki organlarının benzer şekilde kùltüre alınabilmesi fikrini doğurmuştur (Chrispeels ve Sadava, 1994). Bu yolda en önemli adımlardan birisi, besin ortamlarının geliştirilmesi ve tamamen aseptik şartlarda doku kùltüründe kullanılmasıdır. Günümüzde bitki doku kùltürleri bir çok alanda uygulanmaktadır. Bu yöntem, günümüzde çok çeşitli bitki



türlerinde tohum, çelik, daldırma ve aşılama gibi geleneksel çoğaltılma yöntemlerine karşı önemli bir seçenek haline gelmiştir. Bitki türlerinde doku kültürü yöntemleri anaçların ve istenilen hatların yoğun üretimi, virüs eliminasyonu, ıslah sonucu elde edilen üstün özellikli çeşitlerin hızlı çoğaltımı, germplazmalarının korunması ve bitki ıslahı için haploid bitkilerin üretilmesi amaçlarına yönelik olarak kullanılmaktadır (Hutchinson ve Zimmerman, 1987, Torres, 1989).

1902 yılında Haberlandt, ilk izole edilmiş hücre kültürünü gerçekleştirmiştir. Hanning (1904), olgun embriyoların kültürünü yapmıştır. Kotte ve Robbins (1922 ), laboratuvarında kök ve sürgün uçlarını çoğaltmıştır. White (1934), şeker, inorganik tuz ve bira mayası bulunan besi ortamında kültüre aldığı domates kök uçlarının aktif bir şekilde geliştiğini saptamıştır. Gautheret (1934), ilk kallus kültürünü, 1942 yılında ise bu kallustan sekonder metabolitleri elde etmiştir. Ball (1946), ilk defa sürgün uçlarından itibaren bitki elde etmiştir. Muir ve ark. (1954), hücre süspansiyon kültürlerinden bitki elde etmiştir.

Steward ve ark. (1958), havuç kallus ve hücre kültürlerinde somatik embriyoların oluşumunu saptamışlardır. Murashige ve Skoog (1962), günümüzde de en fazla kullanılan besi ortamı olan suni besi ortamını geliştirmişlerdir. Vasil ve Hildebrant (1965), tek hücreden itibaren bitki rejenerasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bourgin ve Nitsch (1967), anter polen kültürü ile ilk haploid bitkileri elde etmişlerdir. Nagata ve Takabe (1971), ilk defa bitki protoplastlarından, bitki rejenerasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Melchers ve ark. (1978), domates ve patates bitkilerinin protoplastlarını birleştirerek, ilk defa cinsler arası somatik melezleri elde etmişlerdir. Murai ve ark. (1983), tütün bitkisine gen aktararak ilk transgenik bitkiyi elde etmişlerdir (Babaoğlu ve ark.,2002).

Başaran (1980), tarafından *Nicotiana tabacum* L.cv.Siirtin pistil ve stamenlerinden *in vitro* olarak elde edilmesi araştırmaları yapmıştır.

Başaran ve ark. (1991), *Nicotiana rustica* gibi otsu bitkilerin pistillerinden itibaren diploid bitkiler elde etmişlerdir.

Yücel ve ark. (1991), *Pistacia vera* L. bitkisinin lateral ve apikal tomurcuklarından itibaren mikroçoğaltma çalışmaları yaparak, *in vitro* şartlarda sürgünler ve rizogenetik faaliyetler gerçekleştirmişlerdir.

Yücel ve ark. (1992), *Nicotiana rustica*'nın pistillerinden itibaren *in vitro* şartlarda MS kültür besi ortamında IAA etkisi ile n ve 2n kromozumlu bitkiler elde etmişlerdir.

**Çolak (1994)**, yaptığı doktora tez çalışmasında, 1 mg/l IAA + 2 mg/l kinetin içeren MS besi ortamında kültüre aldığı *Impatiens walleriana* var. Sultanii gövde parçalarından mikroçoğaltma ile 1 kültür periyodu içerisinde 1260 adet bitki elde ettiğini rapor etmiştir.

Yine aynı araştırmacı, 1 mg/l IAA + 2 mg/l kinetin içeren MS çözeltilerinde kültüre aldığı *Nicotiana rustica* L. anterlerinden n kromozomlu haploid ve 2n kromozomlu homozigot diploid fertler elde ettiğini ve IAA (3 mg/l) miktarını kinetine göre (1 mg/l) daha fazla içeren MS çözeltilerinde kültüre alınan *Nicotiana rustica* L. gövde parçalarında yalnızca kallojenik faaliyetlere tanık olduğunu, hiçbir zaman kolojenez olayına rastlanmadığını belirtmiştir.

**Taşkın (1995)**, doktora tezinde, *Pistacia vera* L.cv. Siirt (Antep fıstığı ) bitkisinin çeşitli doku ve organlarından *in vitro* koşullarda doku kültürü teknikleri ile fide elde edilme imkanlarını araştırmıştır. Yaptığı çalışmada, *in vitro* şartlarda çimlendirmiş olduğu tohumdan gelişen fidelerin epikotil, nod ve sürgün ucu bölgelerinden aldığı explantları MS besi ortamında kültüre almış. 2 mg/l BAP içeren MS besi ortamının sürgün gelişimi ve çoğaltımı için uygun olduğunu belirlemiştir. Olgunlaşmamış embriyoların 2 mg/l kinetin + 2x10 mg/l 2,4-D içeren MS besi ortamında bitkiciklere dönüştüğünü belirtmiştir.

**Namlı (1995)**, *Vitis vinifera* L.cv. Cardinal asma varyetesinde, çeşitli organlarından itibaren litrede 2 mg BAP içeren ve 1/2 oranında sulandırılmış MS besi ortamını kullanarak mikroçoğaltmasını sağlamış ve keza ilk kez dişi organ ovaryumlarından *in vitro* şartlarda çekirdeksiz üzüm elde etmiştir.

**Onay ve ark. (1995)**, 200 mg/l hidrolize-kazein ve 114 µM 1-askorbik asit ve BAP ile desteklenen sıvı MS besi ortamında kültüre aldıkları olgunlaşmamış Antep fıstığı çekirdeklerinden embriyojenik doku elde etmişlerdir. Eksplantları kültüre aldıktan 2 hafta sonra 8.9 µM BAP'lı sıvı MS besi ortamında direkt olarak yoğun embriyojenik kütlelerin farklılaştığını bildirmişlerdir. Farklılaşan embriyojenik dokuları 4.4 µM BAP'lı besi ortamına aktararak somatik embriyolar elde etmişlerdir. Daha sonra oluşan somatik embriyoları büyüme düzenleyicileri olmayan katı MS besi ortamında kültüre alarak, bitkilerin oluştuğunu rapor etmişlerdir.

**Taşkın ve ark. (1996)**, *Pistacia vera* L.cv. Siirt'in olgunlaşmamış tohumlarından somatik embriyolar elde etmek amacıyla, zigotik embriyolar ve kotiledoner eksplantlar izole edilerek, sıvı ve agarlı MS ortamlarında kültüre almışlardır. Bunlardan gerçek anlamda somatik embriyolar 1.5 mg/l NAA içeren agarlı MS ortamlarında ve kotiledon eksplantlarından direkt olarak meydana gelmiştir. Somatik embriyoların daha sonra 1.5

mg/l BAP içeren sıvı MS ortamlarında ve 1 mg/l GA3 + 600 mg/l L-Glutamin içeren agarlı MS ortamlarında çimlendirilmesi ile bitkiciklere dönüşmesi sağlanmıştır.

**Onay (1996)**, Antep fıstığının (*Pistacia vera* L.cv.) yaşlı ağaçlarından, fidelerinden, olgun meyvelerinden, zigotik embriyolarından ve genç yaprak eksplantlarından somatik embriyogenesis ve organogenesis çalışmaları için bir metot geliştirmiştir. Çeşitli oksin ve sitokinler kullanarak, yaşlı ağaçlardan aldığı değişik organlardan, bitki rejenerasyonunu başararak, ayrıca BAP içeren sıvı MS besi ortamında somatik embriyolar elde ettiğini rapor etmiştir.

**Işıkalan (1997)**, *Vitis vinifera* L.cv.Alphonse asma çeşidinin değişik organlarından itibaren mikroçoğaltma olanaklarını araştırmıştır. Ayrıca, 2 mg/l BAP'lı MS besi ortamında kültüre aldığı çiçek durumlarından itibaren, yoğun kallus oluşumuna tanık olmuş ve aynı besi ortamında kallustan itibaren sürgün elde ettiğini bildirmiştir. Ovaryumlarından hormon kökenli meyveler elde etmiştir.

**Işıkalan ve ark. (1998)**, *Vitis vinifera* L.cv.Alphonse asma çeşidinin lateral tomurcuklarının proliferasyon kapasitelerinin, yılın değişik zamanlarına göre *in vitro* şartlarda karşılaştırılması araştırmalarını yapmışlardır. Bir yıllık zaman periyodu içinde 2 mg/l BAP'lı ve 1/2 oranında sulandırılmış MS besi ortamında kültüre alınan lateral tomurcuklardan, köklü fideler elde ederek, en sağlıklı ve verimli fideciklerin Kasım ve Aralık ayları içerisinde kültüre alınan materyallerden oluştuğunu bildirmişlerdir.

**Adıyaman (1998)**, *Vitis vinifera* L.cv. Perle de Csaba'nın lateral tomurcuklarını, litrede 2 mg BAP bulunan 1/2 MS besi ortamında kültüre almış. Buna göre, lateral tomurcukların izole edildiği aylara göre, Kasım, Aralık ve Ocak aylarında oldukça iyi geliştiğini ve Aralık ayında kültüre aldığı tomurcuklardan %80'lik verim elde ettiğini rapor etmiştir. Keza, Namlı'nın (1995) Cardinal ovaryumlarıyla ilgili çalışmalarını, Perle de Csaba'da gerçekleştirmiştir.

**Namlı ve ark.(1999)**, 1/2 oranında sulandırılmış MS besi ortamında, *Vitis vinifera* L.cv.Cardinal asma çeşidinin pistillerinden itibaren litrede 2 mg/l BAP'ın etkisi ile 2 ve 3 karpelli partenokarpik üzümler oluşturduklarını bildirmişlerdir.

**Onay (2000)**, 100 mg/l hidrolize kazein, 100 mg/l 1-askorbik asit ve BAP ile desteklenen sıvı MS besi ortamında kültüre aldığı *Pistacia atlantica*'nın tohumlarından embriyojenik doku rejenere ettiğini bildirmiştir. Embriyojenik dokuları sıvı besi ortamında BAP (0.5-4.0 mg/l) ile birkaç alt kültür sonrasında tohumdan direkt olarak somatik embriyolar elde ettiğini bildirmiştir. Olgunlaşmamış somatik embriyoları bitki büyüme

düzenleyicisi olmayan katı MS besi ortamında çimlendirerek, fideler elde ettiğini rapor etmiştir.

**Onay (2000)**, BAP ile desteklenen MS besi ortamında, *Pistacia vera* L.'nin yaşlı ağaçlarından aldığı nodal tomurcuklardan itibaren sürgün çoğaltılmasını gerçekleştirmiştir. *in vitro* proliferasyonu ettiği sürgünlerin, sürgün uçlarını kullanarak, 8.8 µM BA içeren katılaştırılmış MS besi ortamında maksimum sürgün oluşumu elde ettiğini bildirmiştir. Mikro sürgünleri, IBA içeren MS besi ortamında köklendirerek toprağa adaptasyonlarını gerçekleştirmiştir. Daha sonra toprağa adaptasyonlarını yaptığı bitkileri seraya aktardığını rapor etmiştir.

**Işıksal (2003)**, Nonpareil badem çeşidinin biyoteknolojik yöntemlerle *in vitro* koşullarda mikropropagasyon yollarını araştırmıştır. Olgun tohumlardan izole ettiği embriyoların *in vitro* çimlenmesinin, BAP'ın düşük konsantrasyonlarında (0.5 – 1.0 mg l<sup>-1</sup>) ve sürgün proliferasyonunun ise, 1.0 – 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP konsantrasyonlarında maksimum randıman verdiğini bildirmiştir. Ürün veren badem ağaçlarından aldığı apikal ve lateral tomurcuklardan itibaren, 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren MS besi ortamında sürgün çoğaltmayı başardığını rapor etmiştir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. Pikan Cevizi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Türkiye, cevizin gen merkezi ve anavatanı arasında bulunmaktadır. Tohumdan yetişmiş muazzam bir genetik yapıya sahip ceviz popülasyonlarına sahip ülkemizde, ceviz yetiştiriciliği özel bir konuma sahiptir. Ceviz ağacının diğer meyve ağaçlarına göre çok amaçlı kullanılabilirliği ve çok uzun ömürlü bir ağaç olması gibi nedenler, ülkemizde ceviz, diğer meyve türlerine göre daha çok önem verilmesine neden olmuştur. Birkaç yıl öncesine kadar kerestesinin çok yüksek fiyatlara satılması nedeni ile ülkemizde çok hızlı bir ceviz ağacı kesimi yaşanmıştır. Böylece ceviz popülasyonumuzda ciddi gen erezyonları yaşanmıştır. Türkiyede, ceviz yetiştiriciliğinde standart çeşitlere dayalı bir üretim olmadığı için dış satım imkanımız bulunmamaktadır.

Pikan cevizi, ekonomik değeri olan ve Kuzey Amerika'da doğal yetişen sert çekirdekli bir meyve türüdür. *Juglandaceae* familyasının bir üyesi olan pikan kerestesi, mobilya yapımında önemli bir yere sahiptir. Meyvesinden elde edilen yağ yenilebilir ve ilaç sektöründe kullanılmaktadır. Daha önceleri, pikan cevizinin çoğaltılması köklü anaçların üzerine aşılama yolu ile yapılmaktaydı. Günümüzde ise ticari fidelerin elde edilmesi *in vitro* klonal çoğaltma yolu ile yapılmaktadır. Bu metod ile hastalık ve nematodlara dirençli istenilen karakterlere sahip fideler seri bir şekilde elde edilebilir (Wetzstein ve ark., 2000).

Doku kültürü ile ilgili yapılan çalışmalar 1950'lerde *Juglans regia* türü ile başlamış, daha sonraki çalışmalar *Juglans regia*, *Juglans nigra*, *Juglans cinerea* türleri ve *Juglans hindsii* X *Juglans regia* hibridi olan paradox anacı üzerinde devam etmiştir. Araştırmalarda eksplant olarak olgun ağaç ve anaçların boğumları, kotiledon parçaları, gövde dokuları, tohumlar, endosperm, embriyo, tepe ve yan tomurcuklar, kullanılmıştır (Driver ve Kuniyuki 1985, Hansman ve Novoa 1986, Hutchinson ve Zimmerman 1987, Gruselle ve Boxus 1990, Kyte ve Kleyn 1996, Dong ve Shenge 1998).

Smith (1977), pikan cevizinin gövde eksplantlarından Walter besi ortamında kallus dokusu elde etmiştir. Araştırmacı, maksimum kallus gelişiminin 0.1-1.1 mg/l IAA'li ortamda, organogenezisin ise 0.5-1.0 mg/l kinetinli ortamda oluştuğunu bildirmiştir.

Smith ve Storey (1978), sürgün çoğaltma çalışmalarında 0.5 mg/l IAA ve çeşitli konsantrasyonlarda izopentil adenin içeren MS besi ortamında sürgün uçlarını kültüre



aldıklarını bildirmişlerdir. Sürgünlerin ancak 12 hafta kadar canlı kaldığını ve çoğaltmayı başaramadıklarını rapor etmişlerdir.

**Cheema ve Mehra (1982)**, %3 sakkaroz ve çeşitli konsantrasyonlarda büyüme düzenleyicilerinin bulunduğu modifiye MS besi ortamında olgun pikan cevizinin endosperm eksplantlarını kültüre almışlar ve kök elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Ancak kültüre aldıkları başlangıç eksplantlarında, embriyonun olup olmadığını kesin belirleyemediklerini bildirmişlerdir.

**Knox ve Smith (1980, 1981)**, Pikan cevizi ile yaptıkları ilk çalışmalarda, dormant tomurcukların *Alternia* ile kontamine olmasından dolayı başarı elde edememişlerdir. Araştırmacılar, ayrıca terminal uçtaki 5 cm'lik kontamine olmayan kısmı keserek kültüre almışlar ve 11 hafta içerisinde sürgünlerin elde edildiğini bildirmişlerdir (Riverside kültüründe). Sürgünlerde kök oluşumunun zayıf olması nedeni ile bitkiciklerin toprağa adaptasyonunu başaramamışlardır.

**Lazerta (1981)**, pikan cevizi fidelerinin gövde parçalarını modifiye WP besi ortamında kültüre alarak, tek sürgünlü (uniform) gelişim elde ettiğini bildirmiştir.

**Wood (1982)**, stuart kültür varyetesinin tohumlarını, serada 4 hafta kadar çimlendirmiş ve buradan bir tomurcuk içeren eksplantları kültüre aldığını bildirmiştir. Araştırmacı, modifiye WP besi ortamına, otoklavlanmadan önce 200 mg/l streptomisin ve 40 mg/l pimorsin ilave ederek, kontaminasyonu kontrol ettiğini rapor etmiştir.

**Wood (1982)**, sürgün proliferasyonuna BA ile birlikte izopentil adenin, IBA ve IAA'nın etkisini test etmiş ve en iyi kombinasyonun 4 mg/l BA – 1 mg/l IBA olduğunu rapor etmiştir. Sürgünlerin, sadece lateral tomurcukların olduğu yerden geliştiğini, ancak adventif tomurcuk oluşumu ve sürgün sayısının sınırlı kaldığını belirtmişlerdir. Araştırmacı, sürgünlerin alt kültüre alınması ve köklenmesinde sonuç alamadığını bildirmiştir.

**Lazerta (1983, 1984)**, pikan cevizinin mikroçoğaltılmasında başarının, ancak 2 aylık fidelerden alınan eksplantlardan elde edilebileceğini bildirmiştir. Araştırmacı, %2 glukoz içeren modifiye WP besi ortamında, lateral veya gövde parçalarını kültüre alarak sürgün çoğaltımını gerçekleştirmiştir. Kültüre aldığı eksplantları 16 saatlik fotoperiyoda bırakmadan önce, 2 hafta karanlıkta bekleterek optimum sürgün çoğaltımının 3 mg/l BA içeren besi ortamında geliştiğini bildirmiştir.

**Hansen ve Lazerta (1982, 1984)**, tarafından en iyi köklenme çalışmaları yapılmıştır (38 bitkinin %63'ü). Araştırmacılar, *in vitro* gelişen sürgünleri %2 glukoz ve 3 mg/l IBA içeren WP besi ortamında kültüre alarak 10 gün içerisinde sonuç aldıklarını

bildirmişlerdir. Ayrıca araştışıcılar, bu sürgünlerin *in vivo* ortamda da köklenebileceğini rapor etmişlerdir.

**Merkle ve ark. (1987)**, pıkan cevzinde somatik embriyogenesis ile ilgili ilk başarılı çalışmalarını yapmışlardır. Araştışıcılar, kazein hidrolizat, 2,4-D ve BAP içeren WPM besi ortamında, embriyo elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Daha sonra **Wetzstein ve ark. (1988)**, iki pıkan varyetesi üzerinde çalışmış ve her iki varyetede de, %40'ın üzerinde somatik embriyo elde ettiklerini bildirmişlerdir. Kültüre alınan materyalin, embriyo elde etmede önemli olduğunu, tozlaşmadan 15 hafta sonra alınan eksplantların en iyi sonucu verdiğini rapor etmişlerdir.

**Burns ve Wetzstein (1994)**, hormonsuz sıvı süspansiyon kültüründe pıkandan elde ettikleri embriyo kütlelerinden itibaren yarı sıvı besi ortamından somatik embriyolar geliştirmişler, ancak bunların bitkiye dönüşümlerinin zayıf olduğunu bildirmişlerdir.

**Burns ve Wetzstein (1995)**, sıvı besi ortamında elde ettikleri somatik embriyolarını, polietilen glikol bulunan katı besi ortamına aktararak polietilen glikol konsantrasyonunun, embriyoların çimlenmesi ve gelişmesine etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak, oluşan embriyo sayısının polietilen glikol konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu ancak bunun embriyoların çimlenmesi ve bitkiye dönüşümünde etkili olmadığını rapor etmişlerdir.

**Rodriguez ve Wetzstein (1994)**, olgunlaşmamış pıkan cevizi tohumlarının zigotik embriyolarından itibaren embriyojenik kültür başlatmışlardır. Araştışıcılar, NAA ve 2,4-D'nin 2-6-12 mg/l'lik konsantrasyonlarının bulunduğu WPM besi ortamında eksplantları bir hafta boyunca bekletmişler ve sonra bazal besi ortamında alt kültüre almışlardır. Somatik embriyo morfolojisinin ve kallus proliferasyonunun oksin tipine göre değiştiğini bildirmişlerdir.

Araştışıcılar, 2,4 D'li ortamda daha fazla somatik embriyo elde edilmesine rağmen, NAA'lı ortamda oluşan somatik embriyoların ise daha çok bitkiye dönüştüğünü bildirmişlerdir.

**Rodriguez ve Wetzstein (1998)**, pıkan cevzinin başlangıç ve ileri safhalarındaki somatik embriyolarının, morfolojik ve histolojik farklılıklarının karşılaştırılması ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Araştışıcılar, NAA ve 2,4-D bulunan sıvı besi ortamında elde ettikleri somatik embriyoların morfolojik farklılıklarını incelediklerini rapor etmişlerdir.

## 2.2. Kivi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Tüketilen kivinin %90'dan fazlası ithal yoluyla karşılandığından, tüketiciye oldukça yüksek fiyatlarla yansımaktadır. Bu nedenle Türkiye'de kişi başına düşen kivi tüketim miktarı yok denecek kadar azdır. Ayrıca ithal edilen meyvenin bir kısmı tüketici beğenisinden uzaktır. Zira yeterli olgunluğa ulaşmadan hasat edilip tüketiciye yeme olumunun altında sunulmaktadır. Kivi, bu yüzyıl içinde kültüre alınan ve üretimi 1970 – 1990 yılları arasında büyük artış gösteren bir meyve türüdür. Geniş adaptasyon kabiliyeti, bitki ve meyve özellikleri, depolama kolaylıkları, yüksek fiyatla alıcı bulması üretimindeki sızramayı sağlamıştır.

Kivi, son yirmi yıl içerisinde dünyanın birçok ülkesinde, taşıdığı besin ve tıbbi değerinden ötürü popüler olan bir meyve türüdür. Bu ürünün yaygınlaştırılması ve yetiştiriciliğinin hızlandırılması için bir çok ülkede alternatif çoğaltma metodu olarak, doku ve organ kültürü teknikleri geliştirilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmaların çoğu kallustan adventif organogenesis yoluyla bitki rejenerasyonu çalışmaları olmuştur. Bu meyvenin yetiştirilmesi ve toprağa adaptasyonu çok dikkat gerektirir. Çünkü *in vitro* olarak çoğaltılan bitkilerin kökleri ince ve tüsüzdür. Kuvvetli kök yapısına sahip olmadıklarından, toprağa aktarımından kısa bir süre sonra bitkicikler yaşayamaz ve ölürler (Kumar ve Sharma, 2002).

Son on yılda *Actinidia* da, biyoteknoloji ve moleküler biyoloji alanında yapılan çalışmalar ile büyük ilerlemeler katedilmiştir. Protoplast içeren elverişli tüm eksplant çeşitlerinden bitki rejenerasyonu gerçekleştirilmektedir. Rejenere bitkilerin morfolojik, anatomik, hücresel analizleri ve tarımsal performansı incelenmektedir. Transgenik bitkilere yabancı genler başarılı bir şekilde aktarılarak transgenik bitkiler iyileştirilmektedir (Xiao, 1999).

Kivinin anavatanı Çin'dir. Dünya'da çok yaygın olarak bilinen iki önemli kivi çeşidi olan, *Actinidia chinensis* ve *A. deliciosa* Çin'de doğal olarak yetişmektedir. Çin'de kivinin yaygın tarımı 20 yıl önce başlayıp, 1998'de 45.000 ha kivi meyve bahçesi kurulmuştur. 1998'de Çin'deki kivi üretimi 118.500 ton ve 1999'da ise 165.000 ton olmuştur (Huang ve Ferguson, 2001).

Canhoto ve Cruz (1987), kivinin genç yapraklarını kültüre alarak *in vitro* çoğaltma kapasitesini araştırmışlardır. Araştırmacılar, 2 mg/l BAP ile 0.1 yada 0.5 mg/l NAA içeren besi ortamında rejenerasyon kapasitesinin en iyi olduğunu rapor etmişlerdir.



**Mii ve Ohashi (1988)**, kivinin yaprak protoplastlarından itibaren zeatin içeren besi ortamında rejenere sürgünler elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, yaprakları önce BAP ve NAA içeren ortamda ön kültüre alarak kallus oluşturdıklarını ve kallustan izole ettikleri protoplastları kültüre aldıklarını bildirmişlerdir.

**Oliveira ve Pais (1992)**, kivinin yaprak protoplastlarından itibaren 2 mg/l zeatin içeren besi ortamında somatik embriyolar elde ettiklerini rapor etmişlerdir. Ancak yaprak mezofil hücrelerinin protoplastlarının düşük kapasitede olduğunu bildirmişlerdir.

**Lionakis ve Zirari (1992)**, Hayward kivi çeşidinin *in vitro* çoğaltma çalışmalarında, kültüre almada başlangıç materyalinin etkisini test etmişlerdir. Bunun için uyur haldeki lateral tomurcukları ve gelişmekte olan sürgün uçlarını kullandıklarını bildirmişlerdir. Kültür başlatma ve proliferasyon aşamalarında lateral tomurcukların, kültüre daha iyi cevap verdiğini, daha çok sürgün proliferasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, mikroçoğaltma çalışmalarında kullanılmak üzere alınan eksplant seçiminde, lateral tomurcukların sürgün uçlarından daha iyi olduğunu rapor etmişlerdir.

**Fraser ve ark. (1992)**, doku kültüründe, *Actinidia* türlerinde, ploidi değişimlerini incelemişlerdir. Serada yetiştirilen bitkilerin meristem bölgelerini kolşisin ile muamele etmişler ve sonuçta değişen bir şeyin olmadığını, başarısız olduklarını, ancak bunun yanında *in vitro*da yetiştirilen bitkilerin kolşisin ile muamelesinde, tetraploid bitkiler oluşturdıklarını bildirmişlerdir. Bununla birlikte, kolşisin ile muamele edilen gövde parçalarından oluşan kallustan gelişen tetraploid bitkilerin rejenerasyonunun düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, ploidi manipülasyon miktarını ölçmede kullanılan bir başka yöntemin, endosperm kültürü çalışmaları olduğunu bildirmişlerdir. Endosperm kültüründe oluşan kallusta, kromozom sayıları ve genetik denge elde edilmiş. Kallustan oluşan bitki rejenerasyonunda miksoploid tespit etmişler, ancak devam eden alt kültürlerde kromozom sayılarının dengelendiğini görmüşlerdir.

**Hirsch ve ark. (1992)**, kivinin nod, yaprak, sepal, ovaryum, anter ve stamen filamentlerinden, *in vitro* kültürü yoluyla rejenere bitkiler elde ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca olgun tohumun, endosperm ve embriyolarından itibaren bitki rejenerasyonunda başarılı olduklarını rapor etmişlerdir.

**Crowhurst ve ark. (1992)**, kivi kültür varyetesi olan *Actinidia deliciosa*'nın, 6x: 174 kromozoma sahip bir hexaploid tür olduğunu ve *Actinidia* türlerinin en büyük öneminin diploid kromozomlu olduğunu (2x:58) göstermişlerdir. Araştırmacılar, kivinin genetik yapısındaki bu değişkenliğin kendiliğinden mi, yoksa allopolyploidi ile mi olduğunu ve diploid türleri saptamak için bir çalışma yaptıklarını bildirmişlerdir.

**Oliveira ve ark. (1994)**, *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* cv. Hayward kivi çeşidinde protoplast kültürü yapmışlar. Bunun için Hayward kivi çeşidinin sürgünlerini, önce hormonsuz besi ortamında geliştirdiklerini bildirmişlerdir. Daha sonra 0.025 mg/l IAA-1.5 mg/l zeatin içeren ortamda oluşan kallustan sürgünlerin oluştuğunu saptamışlardır.

**Infante ve ark. (1994)**, kivin gelişimine güneş ışığının etkisini araştırmışlar. Bunun için *in vitro* ortamda çoğalttıkları kivi sürgünlerini mavi, beyaz ve güneş ışığı ile ışısız ortamda yetiştirerek sürgünlerin proliferasyon oranı ile sürgün boyuna etkisini test etmişler. Sonuç olarak, en yüksek sürgün proliferasyonunun beyaz ışık, en iyi sürgün uzamasının ise mavi ışık altında olduğunu bildirmişler. Güneş ışığı altında gelişen yapraklarda, fotosentez kapasitesinin yüksek olduğunu rapor etmişler.

**Gonzalez ve ark. (1995)**, *in vitro* çoğaltılan bitkilerden alınan petiyollerin bitki rejenerasyon kapasitelerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, kültüre alınan yaprak petiyollerinin 0.1 mM IAA – 4.5 mM zeatin içeren %2 sukrozlu Cheng's K (h) besi ortamında çok iyi kallus oluştuğunu belirtmişler. Oluşan kallusların daha sonra sürgün tomurcuğu verdiğini ve bu sürgünlerin 5 mM IBA'lı ½ K (h) besi ortamında %82 oranında kök oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar köklendirilen bitkiciklerin başarılı bir şekilde toprağa aktarıldığını göstermişler.

**Piccioni ve Standardi (1995)**, *in vitro* ortamda çoğaltılan kivi tomurcuklarının sodyum alginat matrix içinde kapsüle alındıktan sonra, tekrar gelişmesi üzerine bir çalışma yapmışlar. Sonuç olarak, kapsüle alınan tomurcukların zenginleştirilmiş besi ortamında tekrar geliştiğini rapor etmişlerdir.

**Xiao ve Hirsch (1996)**, *Actinidia* genusunun 6 tür ve varyetesinin yaprak mezofil protoplastlarından, sıvı ve katı kültür besi ortamında mikrokallus oluştuğunu rapor etmişlerdir.

**Raquel ve Oliveira (1996)**, kivin yaprak protoplastlarını kullanarak bitki rejenerasyonu ve DNA transferi oluşturma yeteneği üzerine bir araştırma yapmışlardır. Sonuç olarak 1.5 mg/l zeatin ile 0,05 mg/l IAA içeren MS besi ortamına bırakılan sürgünlerin yapraklarında, kallus oluştuğunu ve bu kallustan itibaren sürgünlerin rejenerere olduğunu rapor etmişlerdir.

**Yang ve ark. (1997)**, *Actinidia* cinsine ait 7 türün kromozom sayılarını tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar, *Actinidia melanandra* ve *A. chinensis* var. *chinensis*'te ploidi varyasyonu olduğunu ( $2n=2x=58$  ve  $2n=4x=116$ ) bildirmişlerdir.

Ayrıca kromozom morfolojisi ile ilgili detaylı çalışmaların, *Actinidia* kromozomlarının çok küçük olması sebebiyle ışık mikroskobu altında mümkün olmadığını rapor etmişlerdir.

**Machno ve Przywara (1997)**, üç farklı *Actinidia* türünün olgun endosperm dokusundan itibaren kallus oluşturma çalışmaları yapmışlardır. Araştırmacılar, en iyi kallusun 2-4 mg/l 2,4-D ile 5 mg/l kinetin bulunan MS besi ortamında oluştuğunu rapor etmişlerdir. Oluşan kallusun 0.1 mg/l IAA - 1.0 mg/l BAP içeren ortamda %40 oranında kök, 0.3 mg/l IAA - 5.0 mg/l 2İP ortamında ise, kök ile birlikte sürgün elde ettiklerini bildirmişlerdir. Oluşan sürgünler köklendirilerek kromozom analizi yapılmış ve oluşan sürgünlerin endosperm dokusundan köken aldığını tespit etmişler.

**Pastorello ve ark. (1998)**, kivide bulunan ve alerjiye sebep olan bileşik üzerinde bir çalışma yapmışlardır. Sonuç olarak, kivi meyvesinde alerjiye sebep olan en önemli maddenin Act cl, Actinidin denilen bir proteolitik enzim olduğunu rapor etmişler.

**Ludvova ve Ostrolucka (1998)**, *Actinidia chinensis*'in kallustan itibaren bitki rejenerasyonu ve kallus dokusunun morfolojisini incelediklerini bildirmişlerdir. 1 mg/l BAP + 1 mg/l GA<sub>3</sub> 'li modifiye MS besi ortamında, adventif tomurcukları kültüre aldıklarını ve bitki rejenerasyonunu başardıklarını belirtmişler. Sürgünlerin köklenmesi için 0.5-1.0 mg/l IBA'li MS besi ortamını kullandıklarını ve sonuçlarını rapor etmişlerdir.

**Moncaleon ve ark. (1999)**, *Actinidia deliciosa* sürgünlerinin *in vitro* ortamda çoğaltılmasında, sitokininlerin ve mineral elementlerin etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak, kivi eksplantlarının kültür ortamında gelişebilmesi için içsel sitokininlerin (BA ve zeatin) yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca deney sonucunda, kivinin *in vitro* koşullarda gelişebilmesi için MS besi ortamının mineral elementler bakımından yeterli (fosfat hariç) olduğunu tespit etmişlerdir.

**Centeno ve ark. (1999)**, *Actinidia deliciosa*'nın dokularından kallus oluşması sırasında IAA ve NAA'in alınma şekli ve metabolizması üzerine bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar, kallus oluşma safhasında, eksplantlardaki NAA ve IAA'nın konsantrasyonlarını test etmişler. Sonuçta, petiyollerden itibaren *in vitro* kallus oluşturmada NAA ve BA'nın gerekli olduğunu rapor etmişler.

**Ono ve ark. (1997, 2000)**, kivi çeliklerinin köklenmesi üzerinde oksinlerin ve bor elementinin etkilerini araştırmışlardır. Çelikleri, farklı oksin (NAA, IBA) konsantrasyonlarının bulunduğu nemli ortamda 120 gün boyunca bekleterek, çalışmayı bir yıl içinde 4 ayrı mevsimde tekrarlamışlar ve sonuçta, yaz mevsiminde en iyi köklenmeyi elde ettiklerini, kullanılan IBA ve NAA'in çeliklerin köklenmesinde gerekli olmadığını rapor etmişler.

**Adriani ve ark. (2000)**, Hayvard kivi çeşidinin *in vitro* kültürde proliferen olan sürgünlerinden çıkarılan tomurcukları, kapsüle aldıklarını ve embriyojenik olmayan sentetik tohumlar ürettiklerini bildirmişlerdir. Apikal ve lateral tomurcukların kapsüllenmesi ve sentetik tohum üretme yeteneklerini ölçmek için 3 farklı deney yaparak, bu tomurcukların tüm bir bitki verebilen sentetik tohumlara dönüşebildiğini bildirmişlerdir.

**Hirsch ve ark. (2002)**, yaptıkları çalışmada *Actinidia chinensis* ve *A. deliciosa* 'nın gövde ve meyvesinde fraxin ve esculin kumarinlerini bulduklarını bildirmişler. Araştırmacılar, bu iki kumarinin diğer *Actinidia* türlerinde bulunmadığını rapor etmişlerdir.

Son yıllarda oldukça popüler olan ancak ülkemizde yurtdışından ithal edildiği için tüketiciye pahalı sunumundan dolayı rağbet görmeyen kivi'nin yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması için, geleneksel yöntemlerin dışında MS besi ortamlarının değişik modifikasyonlarını kullanarak, bitki doku kültürleri yöntemi ile, çoğaltılma olanaklarını araştırdık.



### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

Bu çalışmada, materyal olarak Pikan cevizi (*Carya illinoensis*) ve Kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin olgun tohumları ve farklı organları kullanıldı. Materyal olarak kullanılan pikan cevizi, Şanlıurfa-Koruklu Tarımsal Araştırma İstasyonundan (Resim: 1), kivi ise tüketiciye sunulan meyvelerden temin edildi.



Resim 1. Şanlıurfa-Koruklu Tarımsal Araştırma İstasyonunda bulunan Pikan cevizi (*Carya illinoensis*) üretim alanının görünüşü.

Çalışmalarda materyal olarak kullanılan pikan cevizi ve kivinin sistematikteki yeri, aşağıda verildiği gibidir.

#### Pikan

|           |                 |
|-----------|-----------------|
| Phylum    | : Spermatophyta |
| Subphylum | : Angiospermae  |
| Classis   | : Magnoliopsida |
| Subclass  | : Hamamalidae   |
| Takım     | : Juglandales   |
| Familia   | : Juglandaceae  |
| Cins      | : Carya         |

*Carya illinoensis* (Seçmen ve ark. 2000).

#### Kivi

|           |                 |
|-----------|-----------------|
| Phylum    | : Spermatophyta |
| Subphylum | : Angiospermae  |
| Classis   | : Dicotyledones |
| Subclass  | : Choripetalea  |
| Takım     | : Biolypetale   |
| Familia   | : Actinidiaceae |
| Cins      | : Actinidia     |

*Actinidia deliciosa*

#### **Bitkinin Genel Özellikleri**

*Actinidia* adaptasyonu geniş olan bir türdür. Bu nedenle farklı ekolojilerde yetiştirilebilir. Yetiştiriciliğini düşük kış sıcaklıkları, ilkbahar geç donları ve sürekli rüzgar kısıtlar. Vejetasyon dönemi 230-260 gün sürer. Yetiştirileceği topraklar derin, süzek, az kireçli olmalıdır. Bakım işlemlerinin en önemlisi sulama ve budamadır. Bitkiler orta bünyeli topraklarda bile susuzluğa ancak 7-10 gün dayanabilir.

Tam çiçeklenmeden 40-160 gün sonra hasat edilen kivi meyvesi, ancak olgunlaştıktan sonra yenebilir. Meyve, sertliğini korur ve renk değişmez. Geç hasat edilen meyvelerde kalite daha yüksek olup hasat edilen meyve hemen yenilmez. Tüketim olgunluğuna gelmesi için mutlaka olgunlaştırılması gerekir. Nemli ve serin ortamda 2 ay kadar kolaylıkla saklanabilen meyveler, soğuk hava depolarında (0 - 0.5 °C sıcaklık, %90 nem) 6 aya kadar muhafaza edilebilirler.



Kivi yetiştiriciliğinin yaygınlaştığı yıllarda, araştırma çalışmalarına öncelik verilmiş, özellikle bitki-çevre ilişkileri, fidan üretim teknikleri, bahçe tesis teknikleri, tozlaşma ve meyve tutumu, hasat ve ambalaj konuları üzerinde araştırma çalışmaları yoğunlaşmıştır.

## **Orijini**

### Pıkan Cevizi

Pıkan cevzinin anavatanı Kuzey Amerika olup Georgia, Texas, Mississippi, Arkansas, Doğu Oklahoma, Doğu Kansas, Missouri, Alabama, Batı Tennessee, Kentucky, Güney Indiana, Arizona, İllinois gibi eyaletler, pıkan cevizi yetiştiriciliğinin önemli merkezleridir. Buralardan Kaliforniya, Meksika'nın kuzeyi ve öteki eyaletlere yayılmıştır. Kaliforniya'da bugün 40 yaşında pıkan ağaçları bulunmaktadır. Meksiko Körfezi, Kanada ve ABD'nin büyük gölleri arasında kalan geniş alanlar pıkan cevzinin tabii yayılma bölgeleridir (Faraçlar, 1988).

Pıkan cevzinin tarihi incelendiğinde, 1529'da Kuzey Amerika'ya giden İspanyol Gabezade Vaca adlı araştırmacının, 1541'de pıkana ilişkin ilk belgeyi yazdığı görülür. 1729'da Jean Panicault yayınladığı metinde, 3 tür ceviz bulunduğunu ve en irisinin "Pecanes" diye isimlendirildiğini belirtmektedir.

Güney Afrika'da pıkan cevzine ilişkin çalışmaların 1912 yılında başladığı bilinmektedir. Arizona bölgesinde ise pıkanın 1920 yılından sonra yayıldığı kabul edilebilir. Meksika ve Avustralya'da, pıkan cevizi ile ilgili çalışmalar 1937'de, İtalya'da ise 1939'da başlamıştır. Güney Amerika'da, Arjantin, Brezilya ve Peru ilk pıkan cevizi plantasyonları kurulan ülkelerdendir. Türkiye'ye ise, ilk olarak 1953 yılında gelmesine rağmen 1969 yılında İsrail'den getirilen materyallerle çalışmalar başlatılmıştır. 1980 yılından beri, bazı çeşitleri yetiştiricilere verilmektedir (Faraçlar, 1988).

### Kivi

*Actinidia* cinsine ait kivinın bilinen 50 kadar türü vardır. Bu türler Baltık Denizi kıyılarından güneyde Endonezya'ya, doğuda Çin'e kadar olan geniş bir coğrafyada orman kenarı bitkisi olarak yayılmışlardır. Yabani kivi popülasyonlarının en yoğun olduğu yer olan ve kivinın anavatanı olarak kabul edilen Çin'in Sarı Nehir vadisindeki orman eteklerinden her yıl 100.000 tonun üzerinde yabani kivi meyvesi toplanarak tüketilmektedir. Günümüzde kültürel olarak yetiştiriciliği yapılan kivi çeşitleri Yeni Zelanda'da ıslah edilmiştir. İlk sera tipi kivi bahçeleri de bu ülkede 1930'lu yıllarda kurulmuştur. Dünya kivi ticareti 1970'li yıllara kadar bu ülkenin tekelinde kalmıştır. Bu

tarihten sonra kuzey Akdeniz ülkeleri, Avustralya, Güney Afrika, Şili, ABD, Japonya gibi bir çok ülkede de yetiştirilmeye başlanmıştır ( Warrington ve Weston, 1990).

## **Türün Önemi**

### **Pikan Cevizi**

Pikan cevzinin besleyici özelliği yüksektir. Pikan meyvesinin diğer sert kabuklu meyve türlerine göre daha çok kalori verdiği, B<sub>1</sub> ve C vitamini ve özellikle E vitamini yönünden daha zengin olduğu bilinmektedir. Pikan cevzinin vermiş olduğu kalori, aynı miktardaki sığır etinin kalorisinden daha yüksektir. Sığır etine göre, vitaminler ve mineral maddelerce daha zengin bir besin kaynağıdır. Bir kilogram pikan içi ile insan vücuduna 6870 kalori kazandırılmaktadır. Bilindiği gibi bu kalori bir insanın yaklaşık 2 günlük enerji ihtiyacıdır (Faraçlar, 1988).

Pikan meyvesi çeşitlere göre değişmekle birlikte, genel olarak kuru maddenin %65-76'sı oranında yağ içermektedir. Pikan meyvesi başta oleik ve linoleik olmak üzere, palmitik, stearik ve linolenik asitleri içermektedir. Yağ asitlerinin %93'ünü doymamış yağ asitlerinin meydana getirmesi, pikan cevizi yağının beslenme yönünden son derece önemli olduğunu göstermektedir. İnsan sağlığını tehdit eden kollerin birikimleri ve damar sertliğini önleyen şifalı etkilere de sahiptir.

Pikan meyvesi taze ve kuru yemiş olarak tüketildiği gibi, değişik şekillerde de kullanılmaktadır. Genellikle iyi cins ekmek yapımında, meyveli kek ve böreklerde, şekerleme, dondurma ve çikolata sanayiinde, değişik meze ve salatalarda, sebze ve et yemeklerinde, çorba ve tatlılarda kullanılabilir. Pikan cevzinin yaprak, kabuk ve kökleri ile yağları da, ayrıca değerlendirilebilmektedir. Pikan yağı hem teknolojiye ve hem de resim dalında aranan kıymetli bir yağdır. Kabuk ve kökleri, tane ve boya endüstrisinde kullanılır. Bunlardan aynı zamanda sabun ve yapıştırıcı üretiminde, içerdikleri tannik asit dolayısıyla da asit toprağı seven bitkiler için, malç olarak faydalanılmaktadır (Faraçlar, 1988).

### **Kivi**

Kivi, son 30-50 yılda adı en fazla duyulan ve üretimi hızla artan meyve türlerinden birisidir. Kültürü yapılan meyvelerin dışı kahverengi, içi yeşil ve kabuğu ince tüylerle kaplıdır. Meyvenin vitamin ve diğer mineral maddelerce zenginliği ve kalori değerinin düşük oluşu, aranan meyve türü olma kimliğini kazanmıştır.



**Tablo.1. 100 gram kiviinin gıda değeri**

| Analizler              | Taze Meyve | Konserve | Donmuş  |
|------------------------|------------|----------|---------|
| <b>Kalori</b>          | 66         | *        | 66      |
| <b>Rutubet</b>         | 81.2 g     | 73.0 g   | 80.7 g  |
| <b>Protein</b>         | 0.79 g     | 0.89 g   | 0.95 g  |
| <b>Yağ</b>             | 0.07 g     | 0.06 g   | 0.08 g  |
| <b>Karbonhidratlar</b> | 17.5 g     | 25.5 g   | 17.6 g  |
| <b>Kül</b>             | 0.45 g     | 0.45 g   | 0.53 g  |
| <b>Kalsiyum</b>        | 16 m       | 23 mg    | 18 mg   |
| <b>Demir</b>           | 0.51 mg    | 0.40 mg  | 0.51 mg |
| <b>Magnezyum</b>       | 30 mg      | 30 mg    | 27 mg   |
| <b>Fosfor</b>          | 64 mg      | 48 mg    | 67 mg   |
| <b>Thiamine</b>        | 0.02 mg    | 0.02 mg  | 0.01 mg |
| <b>Niacin</b>          | 0.50 mg    | 0.40 mg  | 0.22 mg |
| <b>Riboflavin</b>      | 0.05 mg    | 0.02 mg  | 0.03 mg |
| <b>Vitamin A</b>       | 175 IU     | 155 IU   | 117 IU  |
| <b>Ascorbic Acid</b>   | 105 mg     | 103 mg   | 218 mg  |

Kaynak: Kaliforniya Üniversitesi (Morton, 1987).

Kivi meyvesi üzerinde yapılan değerlendirme analizlerinde genelde dört şekilde yararlanılmaktadır. Bunlar dondurulma, konserveleme, meyve suyu özütlemesi ve taze meyve olarak tüketilmektedir. Bunun yanında gıda sanayiinde, pasta, tatlı ve içki yapımında kullanılmaktadır. Kivi meyve bileşiminde en önemli ve dikkat çekici unsur, **C vitamini** içeriğidir. Bu unsur, kivi meyvesine değer katan ve aranan bir meyve olmasını sağlayan etmenlerin başında gelmektedir. Kivi meyvesinin 100 gramında, değişmekle birlikte, ortalama 100 – 400 mg C vitamini bulunur. Meyvede bulunan C vitamini oranı çevre koşullarına, gelişme ve olgunlaşma durumuna hatta meyvenin bitkide bulunduğu yere göre değişmektedir.

Kivi meyvesinin besin değeri yanında, hekimlikte kullanımı da söz konusudur. Çin'de yapılan analizlerde, meyve suyunda bulunan bazı maddelerin kansere neden olan faktörleri önlediği ortaya çıkmıştır. Yine bazı tıbbi içeceklerle birlikte kullanıldığında astım, öksürük ve nefes açıcı özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Morton, 1987).

## **Morfolojisi**

### **Pikan Cevizi**

Pikan ağaçları serbest büyümeye bırakıldıklarında, 30-50 m yüksekliğine ulaşır, 350-400 m<sup>2</sup>'lik alanı tek başına kaplayabilir. Yabani pikan ağaçları, kültür çeşitlerine göre çok daha büyük habitüslü olup, boyları çoğu kez 50 metreye kadar uzayabilir. Böyle bir ağacın gövde çapı da 1.5 m'den kalın olabilmektedir. Pikan ağacı, sera bahçeleri dışında

ihtişamı, güzel görünüşü ve meyvelerindeki üstün niteliklerinden dolayı ev bahçelerinde, parklarda ve bordürlerde aranılan bir bitkidir.

Gövde, ilk yıllarda beyazımsı-gri renktedir. İleriki yıllarda pürüzlü ve çatlamış görünüm alır. Gövde, genellikle düzgün büyür ve istenilen şekil verilebilir. Genelde, pıkan ağaçlarının dalları çok gevrek olup, dayanıksızdır. Özellikle iyi şekil budaması yapılmadığında ürün fazlalığı ve şiddetli rüzgarlarda kolaylıkla kırılır.

Yapraklar, uzun saplı olup 9-13 adet mızrağımsı yaprakçıktan oluşmuş bileşik yapıdadır. Pıkanın yaprak koltuklarında, bileşik gözler bulunmaktadır ve bir gözde üç tip beraber bulunur. Aynı gözden dal, yaprak ve erkek çiçek aksamı çıkmaktadır. En üstteki boyunlu göz (primer) çok çabuk uyanıp, sürer ve gövde ile dar açılı yapan zayıf bir dal oluşturur. Hemen altındaki sekonder göz, gövde ile geniş açılı yaparak, kuvvetli bir dal meydana getirir. Bundan dolayı ilk yıllar, genç ağaca şekil budaması uygulanırken, özellikle boyunlu gözün alınması ve gövde ile geniş açılı yapan, sekonder gözden oluşan sürgünlerin bırakılmasına dikkat edilmelidir.

Çiçekler monoik olup, erkek ve dişi çiçekler aynı ağaç üzerinde fakat farklı yerlerde bulunurlar. Pıkan ağacında erkek çiçekler, bir yıllık sürgünlerin yan veya uç gözlerinden çıkarlar. Dişi çiçekler, mutlaka aynı yıl süren odun gözlerinden meydana gelen sürgünlerin uç salkımlarında teşekkül eder. Dişi çiçeklerin gelişmeye başlaması, ilkbahar ile birlikte olur. Pıkanlarda, hem erkek hem de dişi çiçekler, çeşitlere göre değişen farklı zamanlarda açarlar. Dolayısıyla dış döllenmeye müsait bir özellik arzederler. Böylece akraba evliliğine son vermiş olurlar.

Meyveler, kültür çeşitlerine göre değişiklik gösterip, farklı büyüklük, şekil ve renk özelliklerindedirler. Pıkan, ekso ve mezokarpı etlenmiş, endokarpı sertleşmiş eriksi bir meyvedir. Yani meyveleri drupa tipindedir (**Faraçlar, 1988**)

### Kivi

Kiviler sarılıcı-tırmanıcı bitkilerdir. Toprak üstü aksamı çok kuvvetli değildir. Kök, saçak kök yapısında olup, kılcal kökler hızlı gelişir ve yenilenir.

Gövde, sarılıcı asma gövdesi gibidir. Genç yaşlarda gevşek ve gevrek olup, gövde ağırlığını taşıyamaz. Bu nedenle dikimden itibaren herekle desteklenmelidir.

Sürgünler, çok kuvvetli büyür. Yaz ortasına kadar 2-3 m uzunluğana erişirler. Çiçeklenmeye kadar körpe ve gevşek olan sürgünler, rüzgarla dipten kırılırlar.

Çiçekler, dekoratif yapılı olup taç yaprakları beyazdır. Bir asmada yüzlerce çiçek bulunur. Tek tek veya üçlü gruplar halinde olup erkek ve dişi çiçekler ayrı bitkilerde bulunur. Yani diklin çiçekler dioiktirler.

Meyve, yıllık sürgünlerde tek tek veya 3'lü gruplar şeklinde olur. Üst kabuğu, ince ve kahverengi tüylerle kaplıdır. 60-150 g arası ağırlıkta olan meyve, yeşil renkte olup, ortalama 1000 adet çekirdek içerir.

Kivi asmaları, Mart sonu - Nisan başında uyanır. Mayıs'ın sonu – Haziran'ın ilk haftasında çiçek açarlar. Hasat mevsimi, Ekimin ikinci yarısı ve Kasımın birinci yarısında yapılır ve Aralık ayı ortasında yaprak dökerler (Yalçın, 1999).

### **Döllenme Biyolojisi**

Pikan cevzinde tozlaşma, rüzgar aracılığıyla (anemofil) sağlanmaktadır. Çiçek tozunun rüzgarla taşındığı diğer türlerde olduğu gibi, olgunlaşmış püsküllerden dökülen polenler çevreye yayılır. Yayılma işi, gün doğuşundan batışına kadar olan süre içerisinde gerçekleşir (Faraçlar, 1988).

Kivide, etkin bir tozlaşma ve meyve tutumu için, çiçeklenme zamanı bahçede arı kovani bulundurulmalıdır. Erkek çiçeklerin polenleri arılarla dişi çiçeklere taşınırlar. Rüzgarla tozlaşma çok az olur (Yalçın, 1999).

### **Ekolojik İstekleri**

#### **Pikan Cevizi**

Pikan cevizi yetiştiriciliği genel olarak kışları ılık, yazları uzun ve sıcak geçen yerlerde başarılı bir şekilde yapılabilmektedir. Bu nedenle, Türkiye'de Akdeniz ve Ege bölgelerinde, sahillerin denize bakan yamaç kısımları ideal yerler olarak görülmektedir. Sıcaklık, pikan cevzinin meyve olgunlaşmasını, meyve büyüklüğünü ve şeklini, kabuk kalınlığını ve meyve içi muhteviyatını oldukça etkilemektedir. Doğal olarak yetişen pikan ağaçları, -18°C'ye kadar toleranslı ise de, kültür çeşitleri -6 °C'den daha aşağı düşen yerlerde yetiştirilemez. Pikan cevizi için en iyi topraklar kumlu-tınlı, drenajı iyi, süzek derinliği 180-200 cm olan topraklardır. Pikan cevizi aynı zamanda, iyi drene edilmiş fakir topraklara karşı da toleranslıdır. pH'ı 6.5-7.0 olan organik maddece zengin, su tutma kapasitesi yüksek topraklar, pikan cevizi için ideal olup, alkali ve taşlık topraklarda yetiştirilmemelidir (Faraçlar, 1988).

#### **Kivi**

Kivi asmaları asitli topraklarda iyi gelişir ve toprak pH'sı tercihen 5.5-7.0 arasında olmalıdır. Organik maddece zengin topraklarda sonuç daha olumludur. *Actinidia* asmaları vejetasyon dönemleri uzun olan bitkilerdir. tomurcukların uyanmasından yaprak dökümüne kadar 240-260 gün don olmayan gelişme süresi ister. İlkbaharın geç donlarında sürgünler

zarar görebilir. Bitkiler sürekli ve sert rüzgar alan yörelerde yetişemez. Verim yaşındaki bitkiler, kışın -13 °C'ye kadar dayanabilirken genç bitkiler daha yüksek (-4, -6 °C) sıcaklıklarda zarar görebilirler (Yalçın, 1999).

## **Bahçe Tesisi**

### **Pikan Cevizi**

Pikan ağaçları normal olarak kendini dölleyemediklerinden, karışık dikim tavsiye edilir. Karşılıklı tozlanmayı yeterince sağlayabilmek için, bahçe en az iki çeşitten tesis edilmelidir. Pikan, dikimden sonraki ilk birkaç yıldan sonra, çok hızlı bir gelişme gösterir ve büyük bir taç oluştururlar. Bu nedenle dikim sıklığı 9x9 m veya 10x10 m'dir.

Pikan fidanlarının dikimi dinlenme periyodu içerisinde gerçekleştirilir. Buna göre yaprak dökümünden, gözler uyanıncaya kadar olan süre içerisinde dikim yapılır. Yeni dikilen ağaçların yaşaması, onların fidanlıkta sökülüp ayrıldığı zamandan, büyümenin başladığı ilkbahara kadar gösterilecek dikkat ve bakıma büyük ölçüde bağımlıdır.

Pikan cevizi yetiştiriciliğinde, su ihtiyacının yeterli düzeyde karşılanması büyük önem taşır. Yeterli sulama ile, vegetatif büyüme yanında, meyve iriliği ve meyve içinin kabuğu doldurma arasında, ilgi bulunmaktadır. Yetersiz sulamada meyve küçük kalır, kabuğu tam dolduramaz.

Pikan ağaçlarında budama, kış ve yaz olmak üzere yılda iki kez yapılır. Dinlenme devresi dediğimiz ve ağaçlarda yaprak dökülmesi ile ilkbaharda tomurcukların patlaması arasında geçen süre, budama için en uygun zamandır. Meyve ağaçlarının bol ve kaliteli ürün vermeleri, gübreleme ile yakından ilgilidir. Bütün uygulanan kültürel işlemler ve toprak yapısı, gübre uygulamasını etkiler. Verilecek gübre miktarı, ağacın yaşına, gelişimine, verimliliğine, toprak tipi ve kültürel faaliyetlere göre değişmektedir. En ideali, toprak ve yaprak analizi yaptırdıktan sonra, toprağa verilecek miktarı tespit etmektir (Faraçlar, 1988).

### **Kivi**

Bahçe tesisinde, kivi fidanları iklim ve toprağa bağlı olarak 4x5, 5x2, 4x3 gibi değişik aralıklı ve mesafelerle dikilmelidir. Dikimde çukurlar derin açılmalı ve fidanların gövdesi 8-12 mm çapında ve iyi olgunlaşmış olmalıdır. Kivi asmalarının gövdesi, kendi ağırlıklarını taşıyamadıkları için direk ve tellerle desteklenmelidir. *Actinidia* asmalarının su isteği fazladır. Doğu Karadeniz bölgesi dışında yağış durumuna göre Haziran – Eylül ayında sulama gerekebilir. Bu dönemde sulama aralığı 2 ile 7 gün arasında değişir.



Kivi asmalarında beş yaşından sonra, gelişmeye göre kış budamasında 100-400 göz bırakılır. Çubuk uzunlukları 6-18 gözlü olabilir. Bitkilerde sıkışıklığı azaltmak ve güneşlenmeyi artırmak için yaz budamaları da yapılabilir. Kivi asmalarında kış ve yaz budamaları esasları bağcılıktakine benzer.

Kivi asmaları, topraktan her yıl fazlaca miktarda makro ve mikro besin elementlerini alır. Bu nedenle besin elementlerinin düzenli olarak toprağa verilmesi gerekir. Dikimden önce dekara 2-3 ton verilecek çiftlik gübresi, 3-4 yıl aralarla tekrarlanmalıdır. Kivi asmaları mineral madde noksanlıklarına duyarlıdır. Özellikle K, Mg, Zn ve Fe noksanlıkları sık görülmektedir (Yalçın, 1999).

## **Çoğaltılması ve Islahında Kullanılan Geleneksel Yöntemler**

### **Pikan Cevizi**

Pikan cevizi çeşitleri, anaçlar üzerine göz veya kalem aşılarının yapılması ile ıslah edilir. Amerika'da yapılan birçok araştırmalarda, pikan ağaçlarının çelik ve daldırma ile çoğaltılabilmesine rağmen, istenilen kök sistemini vermediği, dolayısıyla bu safhada tercih edilmediği belirtilmiştir.

Fidan üretim parsellerinde, tohum ekiminden önce toprak çok iyi işlenmeli, çiftlik gübresi verilmeli ve toprak altı zararlılara karşı ilaçlanmalıdır. Hazırlanan tavalarda, sıra arası 1 m, sıra üzeri 20 cm ve 10-15 cm derinlikte olmak üzere tohumlar ekilir. Erken ilkbaharda fidelerin çıktığı görülür. İyi gelişmiş ve kuvvetli fidan elde etmek için, düzenli sulama, gübreleme, zararlı ve yabancı ot mücadelesi sürdürülmelidir. İyi bakım yapıldığı takdirde fidan, ertesi yıl güz döneminde aşı yapılabilecek duruma gelir. Aşılamanın başarılı olabilmesi için, iyi, düzgün ve olgun gözlerin kullanılmasına özen gösterilir. En iyi aşı kalemleri, ağacın tepe kısımlarından alınan sürgünlerdir. Kalem alınacak ağaçlarda, sürgün gelişimini kuvvetlendirmek, gözün sayısını artırmak için, 2-3 yıllık dalları kapsayan bir taç budamasının uygulanması yararlıdır.

Kalem aşısının değişik bir versiyonu olan yama göz aşısı için kullanılacak gözler, bir önceki mevsimde yetişen sürgünlerden alınır. Alınma zamanı, kış aylarının sonlarında ağaçların vejetatif faaliyete geçmesinden önceki dönemdir (şubatın son haftası).

Güz dönemindeki aşılar için gözler, aynı mevsimde yetişen sürgünlerden alınır. İhtiyaç duyulan aşı kalemi, günlük olarak kesilip kullanılmalı, mecbur olmadıkça kalem stoğu yapılmamalıdır. Büyük ve yabancı ağaçlar, genellikle tohum kaynağı olarak kullanılır. Apache, Riverside, Halbert ve Curtis çeşitlerinin tohumları da anaç olarak kullanılmaktadır (Faraçlar, 1988).

## Kivi

Kivide çoğaltma şekilleri; aşı, çelik ve doku kültürü yöntemleriyle yapılan çoğaltma şekilleridir.

### **Aşı ile ıslah etme ve çoğaltma:**

Aşıyla ıslah etme ve çoğaltmada, tohumdan üretilen fidanlar anaç olarak kullanılmaktadır. Fidanların kök yapısı kuvvetli olduğundan, üzerlerine aşılanan kivilerin gelişmesi ve verimi de, çelikle üretilmiş olanlara oranla daha fazla olmaktadır. Kivilerde kök yapısının kuvvetli olması özel bir önem taşır. Çünkü, kivilerdeki yaprak alanı diğer meyve türlerinin birkaç mislidir. Sıcak havada yapraklardan kaybolan suyun ancak kuvvetli köklerle bitkiye yeniden kazandırılması mümkün olmaktadır.

Göz Aşıları: Son yıllarda meyvecilikte en fazla kullanılan aşı, yongalı göz aşısıdır. Yongalı göz aşısının hem uygulanması kolay, hem de başarı oranı daha yüksektir. Mayıs ayı, kiviler için en uygun aşı zamanıdır. Yongalı göz aşısında, gözler kalemlerde odun dokusu ile birlikte alınır. Alınan yonganın 25-30 mm uzunlukta ve 8-10 mm genişlikte olması, yandan bakıldığında üstten dip kısma doğru 45°'lik bir açı meydana getirmesi gerekir. Aynı kesim işlemi anaçta da yapılarak, yonganın anaç üzerine iyice oturması sağlanmalıdır. Bilindiği gibi anaç ile kalemin birleşen kısımlarında ne kadar geniş yara yüzeyi açılırsa, bu iki parçanın kaynaşma oranı o ölçüde artar. Daha sonra plastik aşı bağı ile üstten başlayarak alta doğru sıkıca sarılmalıdır. Aşının kaynaşması 2-3 hafta içerisinde tamamlandığından, boğulmayı önlemek için bu süre sonunda aşı bağı çözülmelidir.

Kalem Aşıları: Kivilerde kalem aşıları göz aşısı yapılamayacak kadar kalınlaşmış anaçlara ve çeşit değiştirmek için yaşlı kivi gövdelerindeki dallara uygulanan bir aşı tekniğidir. Kalem aşıları bitkiye su yürüme başlangıcında uygulanır. Ülkemiz şartlarında kivi yetiştirilen bölgeler için en uygun zaman Şubat ve Mart aylarıdır. Bu dönemde bitkilerde özsu hareketi henüz başlamadığından aşı tutma şansı %100'e yakındır. Kivilerin çoğaltılmasında en yaygın kullanılan kalem aşıları dilcikli aşı, yarma aşı ve kakma aşısıdır (Yalçın, 1999).

### **Çelik ile çoğaltma:**

Kivi aşı ile ıslah edilip çoğaltıldığı gibi çelikle de çoğaltılabilmektedir. Kivilerde sürgün, diğer meyve türlerinde olduğu gibi, başlangıçta yeşil renkli ve yumuşak dokuludurlar. Mevsim ilerledikçe dokular sertleşir ve mevsim sonuna doğru tamamen odunlaşır. Bu nedenle, çelikler alınma zamanlarına göre yeşil çelik, yarı odunsu çelik ve odun çeliği adlarını alır.

Yeşil çelikler, yaz başlangıcında Mayıs-Haziran aylarında çoğunlukla yaz budaması ile kesilen sürgünlerden elde edilir. Bu çeliklerin kalınlıkları yaklaşık 4-5 mm ve uzunlukları 20- 25 cm dir. Üzerlerinde bulunan yaklaşık 3 yaprağın altta kalan 2 si dipten, üst yaprak da yarıdan kesilerek, mümkün olduğu kadar yaprak alanı minimuma indirilir. Eğer yapraklar tamamen kesilirse köklenme meydana gelmez. Çünkü kesilen çeliklerin bünyesinde yeterince besin maddesi henüz birikemediğinden, ihtiyaç duyulan besinin bırakılan bu yaprak parçası tarafından fotosentez yolu ile karşılanması sağlanır. Çelikler köklendirilme ortamlarına konulmadan önce, alt kısımları 1 cm boyunda yontulmalıdır. Köklenmelerini teşvik etmek amacı ile çelikler IBA veya NAA hormonları ile muamele edilmelidirler. Yeşil çelikler, gevşek dokulu olduklarından olumsuz şartlara özellikle hastalıklara karşı dayanıksızdırlar. Bu nedenle çoğu kez köklendirmeye alınan yeşil çeliklerde çürüme baş gösterir. Ortaya çıkan bu olumsuzluk nedeni ile kivilerin yeşil çelik ile çoğaltılması yöntemi pek fazla benimsenmemektedir.

Yarı odunsu çelikler, aynı yıl süren ve tam olarak odunlaşmamış sürgünlerden Temmuz-Ağustos aylarında alınarak köklendirilirler. Yarı odunsu çelikler olumsuz koşullara karşı daha çok dayanıklı olduklarından, çoğaltmada daha çok tercih edilmektedirler. Alınacak çelikler 15-20 cm uzunluğunda, 5-10 mm kalınlığında ve boğum araları kısa olmalıdır. Çelikler alındıktan sonra su kaybetmemeleri için, gerekli tedbirler mutlaka alınmalıdır. Zira çelikler yapraklı olup yeterince odunlaşmadıklarından, su kaybına karşı tahammüllü değildirler. Çeliklerin yapraklı olmaları gereklidir, çünkü yapraksız çeliklerin köklenme oranları azalmaktadır. Köklenmelerini teşvik etmek amacıyla çeliklerin dip kısımları yeşil çeliklerde olduğu gibi, hormon ile muamele edilmelidir.

Odun çeliği, köklenme oranı %60'ın üstüne çıkamadığından, odun çelikleri ile kivilerin çoğaltılması pek olağan değildir. Odun çelikleri ile çoğaltma yapılacağı zaman bir önceki yıla ait dinlenme halindeki çelik alınmalıdır. Bunlar 20-25 cm uzunluğunda ve 10-12 mm kalınlığında olup en az 2 göz ihtiva etmelidir. Köklendirmeyi artırmak amacı ile çeliklerin dip kısmı yontularak yara yüzeyi genişletilir. Çelikler bu şekilde hazırlandıktan sonra %50 etanol içerisinde eritilmiş 5 g/l konsantrasyonundaki IBA solüsyonuna kısa süre ile daldırılarak köklendirme ortamına dikilirler. Ortamın nemli olması ve ayrıca köklerin alttan 25°C seviyesinde ısıtılması zorunludur (Yalçın, 1999).

## **Verim ve Hasat**

### **Pikan Cevizi**

Pikan ağaçlarının verimlilik durumu topraktan aldığı bitki besin maddelerine, dikim aralıklarına, ağaç hacminin iriliğine ve yaşa göre değişmektedir. Pikan ağaçlarının 150 yaşından sonra da meyve verdikleri bilinmektedir.

Antalya şartlarında, mevcut pikan çeşitleri Kasım başlarından Aralık başlarına kadar olan, bir aylık süre içinde olgunlaşıp hasata gelirler. ABD’de hasat, çeşitlere göre değişmekle birlikte, genelde, Eylül ayı ortalarından Aralık ayına kadar sürer. Güney Afrika’da ise 2 aydan uzun bir dönemde tamamlanabilir. Anlaşılacağı gibi meyvenin hasat olgunluğuna, bölgedeki ekolojik şartlar ve çeşit özellikleri önemli derecede etkili olmaktadır (Faraçlar, 1988).

### **Kivi**

Kivi asmalarında, doğal olarak ilk yıllar az olan verim, bitki gelişmesine paralel olarak artar. Asmalar tam verim yaşına 5. veya 6. yıllarda girerler. Bitki başına verim, uygun çevre ve bakım koşullarında 40 – 50 kg’a çıkar. Bu durumda dekara verim 2-3 tonu bulur (Yalçın, 1999).

## **Ülkemizdeki Yetiştiricilik**

### **Pikan Cevizi**

Türkiye için henüz yeni bir meyve türü olan pikan cevizi, ülkemize ilk defa 1953 yılında ABD’den tohum olarak getirilmiştir. Bu tohumlardan elde edilen fidanlar, Antalya Turunçgiller Araştırma Enstitüsü ve Alanya Üretim İstasyonu arazilerine dikilmiştir. Daha sonraları 1969 yılında, FAO kanalıyla İsrail’den getirtilen 14 kültür çeşidine ait aşılı fidanlar, yine aynı arazilere dikilip bunlardan 7 çeşidin Antalya şartlarında ekonomik olarak yetiştirilebileceği belirlenmiştir. 1977 yılında Antalya Turunçgiller Araştırma Enstitüsü ve 1983 yılında Alanya Üretim İstasyonunda fidan üretimine başlanmıştır (Faraçlar, 1988).

### **Kivi**

Türkiye’de kivi üretim çalışmalarına diğer Akdeniz ülkelerinden 15-20 yıl sonra başlanmıştır. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı programı ile 1988 yılında İtalya’dan sağlanan 1800 kivi fidanı ile 150 ayrı ekolojide 1 er dekarlık adaptasyon-demonstrasyon bahçeleri kurulmuştur. Bu parseller sahil kuşakları ile geçit bölgelerde yer almıştır. Artvin, Tokat, Düzce ve Çal gibi geçit bölgelerde yer alan parseller aşırı kış soğukları (-16°C ve daha aşağı) nedeni ile elden çıkmış ve bu ekolojilerde ticari yetiştiricilik yapılamayacağı



anlaşılmıştır. Doğu ve Batı Karadeniz, Marmara ve Ege sahil bölgelerinde alınan sonuçlar çok olumlu çıkmıştır.

Ülkemizde kivi üretimi oldukça yenidir. Kivi ekolojisine uygun bölgelerin başında Karadeniz, Marmara ve Ege bölgesi gelmektedir. Özellikle bitkinin nem ve su ihtiyacının fazla oluşu, Doğu Karadeniz bölgesinde kivi üretiminin diğer bölgelere nispeten daha ekonomik ve kaliteli yapılacağını göstermektedir.

Doğu Karadeniz bölgesinde ticari anlamda yetiştiriciliğinin yeni yeni yapıyor olması, birçok sorunu da beraberinde getirmiştir. Bu sorunların başında tekniğine uygun bir şekilde bahçelerin kurulmamasıdır. Bu suretle yeni kurulan kivi bahçelerinin mutlak suretle tekniğine uygun yapılması gerekmektedir. Kivi bahçeleri tesis edilirken, uzun vadeli düşünmek gerekmektedir. Tesis aşamasında yapılan hataların sonraki yıllarda telafi edilmesi oldukça güçleşmektedir. Bunun için kivi üreticilerinin uzman ve bilirkişilerle diyalog halinde çalışmaları gerekmektedir (Yalçın ve Ark., 1998).

## **Dünyada Yetiştiriciliği**

### **Pıkan Cevizi**

Başlıca büyük üretici ülke, ABD'dir. Dünya pıkan cevizi üretiminin %80'i bu ülkeden elde edilir. Amerika Birleşik Devletler'inde ticari olarak pıkan cevizi üretiminin önemi, 60 yıl önceleri anlaşılmış olup, halen bir çok eyaletin en önemli kuru yemişidir. Meksika'nın kuzeyi, Güney Afrika'nın Transvaal bölgesinin orta ve yüksek yamaçları, İsrail, Batı Avustralya'nın güney-batı kesimleri, pıkan cevizinin üretildiği öteki bölgelerdir. Hindistan ve Çin'de de az miktarda üretim yapılmaktadır.

ABD'de toplam ürün miktarı, 1977 yılında 90.600 ton dur. Bu üretime kültür plantasyonları dışında, doğal olarak yetişen pıkan ağaçlarından elde edilenler de dahildir. ABD ve Meksika'daki üretimin büyük kısmı bu ülkelerde tüketilmektedir. Bu nedenle ihracat çok sınırlı olup, üretimini yapmayan ülkeler bu meyveyi pek tanımamaktadır (Faraçlar, 1988).

### **Kivi**

Dünyadaki kivi üretimine bakıldığında başta Yeni Zelanda gelmektedir. Bu ülkeyi Çin, Japonya, Güney Afrika, A.B.D, İspanya, Fransa, İtalya İsviçre, Yunanistan gibi ülkeler izlemektedir. Doğal olarak yetiştiği yer orman eteklerinde, nispi nemin % 70-80 olduğu deniz seviyesinden en az 300, çoğunlukla 800-1400 m yükseklikte olduğu yerlerdir. Kivi, kuzey yarım kürede 38-48 enlem dereceleri arasında azami olarak yetiştirilmektedir (Yalçın ve Ark., 1998).

### 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Eksplant Şekilleri

Biyoteknolojik çalışmalarına, aşağıda belirtilen pikan cevizi ve kivi eksplantları ile başlandı.

**-Olgun tohum:** Materyal olarak pikan ve kivi bitkilerinin olgun tohumları kullanıldı (Resim: 2, 3). Pikan cevizi tohumunun ölçümleri aşağıda verildiği gibidir.

Uzunluğu (cm) : 4.4

Çap (cm) : 2.0

Kabuklu ağırlık (g) : 6.6

Yağ oranı (%) : 75

İç randımanı (%) : 59

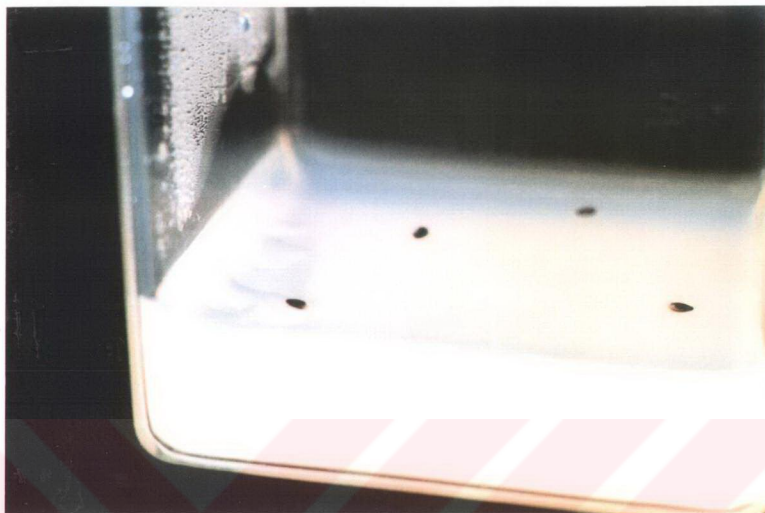
1 kg'daki meyve sayısı: 151 (Faraçlar, 1988)

**-Lateral tomurcuk:** Pikan cevizinin (*Carya illinoensis*) ürün veren ağaçlarından (18 yıllık) alınan lateral tomurcuklar kullanıldı (Resim: 4).

**-Apikal tomurcuk:** Pikan cevizinin (*Carya illinoensis*) ürün veren ağaçlarından (18 yıllık) alınan apikal tomurcuklar materyal olarak kullanıldı (Resim: 4).



Resim 2. Pikan cevizinin olgun tohumu. x 2.00



Resim 3. Kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin olgun tohumları. x 2.08



Resim 4. Ürün veren pıkan cevizi ağaçlarından alınan lateral ve apikal tomurcuklar.

### 3.2. Metod

Bu çalışmada Gautheret (1959) ve Başaran (1990) tarafından izlenen ve önerilen teknikler esas alınarak yürütülmüştür. Buna göre yapılan işlemleri şöyle sıralayabiliriz.

#### 3.2.1. Pamuk ve Filtre Kağıtlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Pamuklar 2 kat ambalaj kağıdına sarılıp, etüvde 180°C'de iki saat süreyle sterilizasyona tabi tutuldu. Kültür işlemleri esnasında kullanılan pens ve bistürilerin muhafazası ve bitki parçalarının kesilmesi amacı ile iki ayrı ebatta kullanılan filtre kağıtları, iki kat ambalaj kağıtlarına sarılarak, etüvde 180°C'de iki saat süre ile sterilize edildi.

#### 3.2.2. Cam Malzemelerin Sterilizasyonu

Cam malzemeler (tüp, petri kutusu, erlen, mezür, balon joje, pipet, beher) sadece sıcak su kullanılarak fırça yardımı ile iyice temizlendi. Daha sonra üç defa saf sudan geçirilerek, 180°C'de etüvde bir saat bekletilmek suretiyle kurutuldu. Tamamen kurumuş olan tüplerin ağzı steril pamuklar ile kapatıldı. Daha sonra ambalaj kağıtları ile iki kat sarılıp etüvde 180°C'de iki saat süre ile sterilize edildi.

Kullanılan magenda GA-7 kültür kapları ise alüminyum folyo ile sarılarak 121°C'de ve 1 atmosfer basınçta 25 dakika süre ile otoklavda sterilize edildi.

#### 3.2.3. Pens ve Bistürilerin Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Pens ve bistüriler, önce %96'lık etil alkol ile silinip 10'arlı gruplar halinde alüminyum folyolara sarılarak, 300°C'lik bir kuru sterilizatörde, 30 dakika süre ile sterilize edildi.

#### 3.2.4. Besi Ortamlarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Çalışmalarımızda besi ortamı olarak Murashige ve Skoog (1962) tarafından önerilen temel besi ortamının modifiye edilmiş şekli kullanıldı. MS (Murashige ve Skoog) besi ortamında kullanılan stok çözeltilerin hazırlanması, aşağıda belirtilmiştir:

**MS (makro elementler) Ana Solüsyonu**

|   |                        |
|---|------------------------|
| $\text{NH}_4\text{NO}_3$                  | 16.5 g                 |
| $\text{KNO}_3$                            | 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                  |
| $\text{KH}_2\text{PO}_4$                  | 1.7 g                  |
| Distile Su                                | 1000 ml'ye tamamlanır. |

**MS Mikro 1 Elementler Ana Solüsyonu**

|   |                        |
|---|------------------------|
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                             | 620 mg                 |
| $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 2230 mg                |
| $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$           | 860 mg                 |
| KI  | 83 mg                  |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 25 mg                  |
| Distile su  | 1000 ml'ye tamamlanır. |

**MS Mikro 2 Elementler Ana Solüsyonu**

|   |                       |
|---|-----------------------|
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 25 mg                 |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 25 mg                 |
| Distile su                                | 100 ml'ye tamamlanır. |

**Kompleks Kelatör Ana Solüsyonu**

|   |                        |
|---|------------------------|
| $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 2.78 g                 |
| $\text{Na}_2\text{EDTA}$                  | 2.00 g                 |
| Distile su                                | 1000 ml'ye tamamlanır. |

**Vitamin Karışımı Ana Solüsyonu**

|                |                       |
|----------------|-----------------------|
| Nikotinik asit | 50 mg                 |
| Glisin         | 2.00 mg               |
| Piridoksin HCl | 50 mg                 |
| Distile su     | 100 ml'ye tamamlanır. |

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

|            |                       |
|------------|-----------------------|
| Tiamin HCl | 100 mg                |
| Distile su | 100 ml'ye tamamlanır. |

**BAP (6-Benzylaminopurin) Ana Solüsyonu**

|            |                       |
|------------|-----------------------|
| BAP        | 100 mg                |
| 1N HCl     | 2-3 ml                |
| Distile su | 100 ml'ye tamamlanır. |

**NAA ( $\alpha$  Naftalenasetik asit) Ana Solüsyonu**

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

**IAA (İndolasetikasit) Ana Solusyonu**

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

**IBA (3-İndolbutirik asit) Ana Solüsyonu**

|                     |                       |
|---------------------|-----------------------|
| IBA                 | 100 mg                |
| % 95 lik Etil Alkol | 3-5 ml                |
| Distile 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. |

**Kinetin Ana Solüsyonu**

|            |                       |
|------------|-----------------------|
| Kinetin    | 100 mg                |
| Distile su | 100 ml'ye tamamlanır. |



1 litrelik MS besi ortamı hazırlamak için, yukarıdaki bileşimlerden aşağıda belirtilen miktarlar alındı.

|                                       |                        |
|---------------------------------------|------------------------|
| Agar                                  | 7 g                    |
| Sakkaroz                              | 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                   |
| B <sub>1</sub> vitamini ana solüsyonu | 1 ml                   |
| Distile su                            | 1000 ml'ye tamamlandı. |

Besi ortamlarının sterilizasyonu, 1 atmosfer basınçta 121°C'de 25 dakika süre ile otoklavda bekletilmek sureti ile yapıldı. Sterilizasyonu yapılan besi ortamı, steril kabin içerisinde magenda GA-7 kültür kaplarına bölüştürüldü (50-60 ml).

### 3.2.5. Röpikaj ve Kültür Odalarının Hazırlanması ve Sterilizasyonu

Röpikaj odasında, bir ultraviyole lambası, içinde ekim işlemlerinin gerçekleştirildiği steril bir kabin ve kabin içerisinde bunzen beki bulunmaktadır. Röpikaj odasına girilmeden 24 saat önce, kapı, duvar, masa, dolaplar, taban vs. seyreltilmiş sodyum hipoklorit (%53 NaOCl) veya kalsiyum hipoklorit (CaOCl) ile steril edildi. Steril kabinin iç ve dış yüzeyi alkol (%70) ile temizlendi. Oda temizlendikten sonra, ultraviyole lambası ekim işlemlerinden bir gece önce 2-4 saat açık bırakılarak sterilizasyon tamamlandı.

Kültür odasında, 3000-5000 lüks'lik ışık şiddetine sahip floresans ampulleri ve ortam sıcaklığının 25±2 °C'de sabit tutan bir sıcaklık kontrol sistemi bulunmaktadır. Kültür odası bir zaman ayarlayıcı yardımı ile 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olacak biçimde fotoperiyoda ayarlandı.

### 3.2.6. Kullanılan Materyalin Sterilizasyonu

Bir ceviz çeşidi olan pikanın organogenesis çalışmalarında kullanılmak üzere, olgun tohumları ile ürün veren ağaçlarından alınan apikal ve lateral tomurcukları herhangi bir sterilizasyon işlemine tabi tutulmadan kültüre alındı. Ekim işleminden 3-7 gün sonra,

materyallerin tamamının enfekte olduğu tespit edilerek bir sterilizasyon tekniğinin geliştirilmesi amacı ile, aşağıdaki sterilizasyon çalışmaları yapıldı.

### 3.2.6.1. Pikan Cevizi Tohumlarının Çimlenmesi ve Dekontaminasyonu Üzerine NaOCl'in Etkisi

Pikan cevzinin olgun tohumlarından itibaren organogenesis çalışmaları için sterilizasyon tekniğinin geliştirilmesi amacı ile, NaOCl'nin etkisi araştırıldı. Bu deneyde, tohumların aksenik çimlenmesi ve dekontaminasyonuna etkisini tespit etmek için, NaOCl (%53)'in %3 - %5 - %10 - %15'lik konsantrasyonları, ayrı ayrı test edildi. Olgun tohumların yüzey sterilizasyonu aşağıdaki gibi yapıldı.

Sert kabukları çıkarılmış tohumlar, musluk suyunda yıkandıktan sonra %70'lik alkolde 30 sn çalkalanarak ön sterilizasyonu yapıldı. Daha sonra tohumlar, NaOCl'in %3 - %5 - %10 - %15'lik çözeltileri içerisine 30 dakika süre ile bekletildi. Yüzey sterilizasyonu tamamlanan tohumlar, steril distile su ile 5 kez 5'er dakika çalkalanmak üzere NaOCl'den arındırıldı. Daha sonra steril kurutma kağıtları üzerinde pens ve bistüri yardımı ile testası soyuldu ve kotiledonun yarısı kesilerek radikulanın yönü alta gelecek şekilde Magenda GA-7 kültür kaplarındaki iktılaştırılmış besi ortamına ekimi yapıldı.

Tohumların çimlenmesi ve gelişmesi için kullanılan MS besi ortamı, 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ile desteklendi. Besi ortamı pH'sı agar ilavesinden önce, KOH ile, 5.7-5.8 olacak şekilde ayarlanarak, 1 atm basınçta 121 °C'de 25 dakika süre ile otoklavda sterilize edildi. Kültürün 14. gününde enfekte olan ve çimlenen tohumların sayısı yüzde olarak tespit edildi. Elde edilen veriler **Tablo.2'**de verilmektedir.

**Tablo.2. Pikan cevzinin olgun tohumlarının çimlenmesi ve dekontaminasyonu üzerine NaOCl' in etkisi.**

| İşlemler                   | Enfekte Olan Tohum (%) | Çimlenen Tohum (%) |
|----------------------------|------------------------|--------------------|
| %3 NaOCl 30 dakika         | 17                     | 33                 |
| %5 NaOCl 30 dakika         | 8                      | 42                 |
| %10 NaOCl 30 dakika        | 0                      | 75                 |
| %15 NaOCl 30 dakika        | 0                      | 83                 |
| X <sup>2</sup> test (3 sd) | P<0,01                 | P<0,01             |

Rakamlar kültürün 14. gününde toplam 12 eksplantın ortalamasını göstermektedir.

**Tablo.2.** de görüldüğü gibi, verilere X<sup>2</sup> analizi uygulandığında test edilen işlemler arasında enfekte olan tohum ile çimlenen tohum frekansı (%) bakımından fark, istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo.2, P<0,01).

**Tablo.2.** de görüldüğü gibi, sterilantın konsantrasyon oranı yükseldikçe enfeksiyon oranı düşerken, bütün serilerde ise çimlenme görüldü. Enfeksiyonun en az ve çimlenmenin en fazla olduğu oran, %15 NaOCl olarak belirlendi.

*Morfolojik gözlemler,* eksplantların kültüre alınmasından yaklaşık 1 hafta sonra, kotiledonlarla birlikte radikulayı verecek kısımda hacim artışı olduğu görüldü. Kültüre alındıktan 2 hafta sonra, açılmış kotiledonların arasında kalın plumula çıkışı gözlemlendi. 3 hafta sonra primer kök ve gövde uzaması belirginleşti. Kültüre alınan tohumlarda en son olarak, kalın gövde üzerinde yaprak gelişimi tespit edildi.

### **3.2.6.2. Ürün Veren (18 yaşında) Pikan Cevizi Ağaçlarından Alınan Eksplantların (lateral ve apikal tomurcuklar) Yüzey Sterilizasyonuna NaOCl'in Farklı Konsantrasyonlarının Etkisi**

Çalışmada, yaşlı ağaçlardan alınan lateral ve apikal tomurcukların sterilizasyonu için bir sterilant olan NaOCl'in etkisi araştırıldı. Tomurcukların büyümesi ve dekontaminasyonuna etkisini saptamak için, NaOCl'in %3 - %5 - %10 konsantrasyonları ayrı ayrı test edildi.

Pikan ağacının çelikleri, 1-1.5 cm boyunda ve bir tomurcuk (apikal ve lateral) içerecek şekilde kesilerek, musluk suyunda 3-5 dakika yıkayıp %70'lik alkolde 30 saniye çalkalanarak ön sterilizasyonu yapıldı. Materyaller, yukarıda belirtilen NaOCl çözeltileri içerisinde 30 dakika süre ile bekletilerek yüzey sterilizasyonu tamamlandı. Her seri, steril distile su ile 5 kez 5'er dakika çalkalanarak steril kurutma kağıtları üzerinde steril pens ve bistüri yardımı ile, lateral ve apikal tomurcuklar gövdeden ayrıldı. Tomurcukların koruyucu örtü tabakası soyularak magenda GA-7 kültür kaplarına ekimi yapıldı.

Tomurcukların büyümesi ve gelişmesi için kullanılan MS besi ortamı 30 g/l sakkaroz, 7 g/l agar ve materyalden kaynaklanabilecek fenolik bileşiği önlemek için 200 mg/l askorbik asit ile desteklendi. Besi ortamı pH'sı agar ilavesinden önce 5.7-5.8'e ayarlanarak 1 atmosfer basınçta 121°C'de 25 dakika süre ile otoklavda steril edildi. Tomurcukların büyümesi, morfolojik olarak gözlenerek rapor edildi. Deney sonucunda elde edilen veriler **Tablo.3.** de verilmektedir.

**Tablo.3. Lateral ve apikal tomurcukların yüzey sterilizasyonuna NaOCl'in farklı konsantrasyonlarının etkisi**

| İşlemler                  | Apikal tomurcuk  |                     | Lateral tomurcuk    |
|---------------------------|------------------|---------------------|---------------------|
|                           | Enfekte olan (%) | Yaşayan kültür %'si | Yaşayan kültür %'si |
| %3 NaOCl                  | 90               | 10                  | 20                  |
| %5 NaOCl                  | 100              | 10                  | 30                  |
| %10 NaOCl                 | 90               | 0                   | 20                  |
| X <sup>2</sup> test (2sd) | P>0,01           | P>0,01              | P>0,01              |

Rakamlar kültürün 14.gününde her işlem için 10 eksplantın ortalamasını göstermektedir.

**Tablo.3.** deki verilerden anlaşılacağı gibi, verilere X<sup>2</sup> analizi uygulandığında test edilen işlemler arasında enfekte olan apikal tomurcuk frekansı (%) ve yaşayan kültür frekansı bakımından fark, istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Tablo.3, P>0,01). Lateral tomurcuklarda ise, yaşayan kültür frekansı yine istatistiksel olarak anlamsız bulundu (Tablo.3, P>0,01)

**Tablo.3.** deki verilerden anlaşılacağı gibi, lateral tomurcukların yüzey sterilizasyonu için %5 NaOCl'in, apikal tomurcuklar için ise %3 NaOCl'in en uygun konsantrasyon olduğu tespit edildi.

### 3.2.6.3. Ürün Veren (18 yaşında) Pikan Cevizi Ağaçlarından Alınan Eksplantların (lateral ve apikal tomurcuklar) Dekontaminasyonu Üzerine NaOCl İçinde Optimum Bekletilme Süresinin Araştırılması

Bir önceki deneyde apikal ve lateral tomurcukların yüzey sterilizasyonu için %3 ve %5 NaOCl en iyi oran olarak belirlendi. Materyallerin hazırlanışı ve kültüre alınışı bir önceki deneyde olduğu gibi yapıldı. Deney sonucunda elde edilen veriler **Tablo.4.** ve **Tablo.5'**de verildiği gibidir.

**Tablo.4. Apikal tomurcukların dekontaminasyonu üzerine NaOCl içinde optimum bekletilme süresinin tespiti**

| İşlemler                  | Enfekte olan kültür %'si | Yaşayan kültür %'si |
|---------------------------|--------------------------|---------------------|
| %3 NaOCl 15 dakika        | 90                       | 10                  |
| %3 NaOCl 20 dakika        | 70                       | 30                  |
| %3 NaOCl 25 dakika        | 50                       | 20                  |
| %3 NaOCl 30 dakika        | 40                       | 30                  |
| X <sup>2</sup> test (3sd) | P<0,01                   | P<0,01              |

Rakamlar kültürün 14.gününde her işlem için 10 eksplantın ortalamasını göstermektedir.



**Tablo.4**'de görüldüğü gibi, apikal tomurcukların dekontaminasyonuna NaOCl içinde optimum bekletilme süresinin tespiti için yapılan kültürden alınan verilere  $\chi^2$  analizi uygulandığında, test edilen işlemler arasında, enfekte olan ve yaşayan kültür frekansları (%) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo.4,  $P<0,01$ ).

**Tablo.5. Lateral tomurcukların dekontaminasyonu üzerine NaOCl içinde optimum bekletilme süresinin tespiti**

| <b>İşlemler</b>     | <b>Enfekte olan kültür %'si</b> | <b>Yaşayan kültür %'si</b> |
|---------------------|---------------------------------|----------------------------|
| %5 NaOCl 20 dakika  | 50                              | 0                          |
| %5 NaOCl 25 dakika  | 30                              | 0                          |
| %5 NaOCl 30 dakika  | 40                              | 30                         |
| %5 NaOCl 35 dakika  | 20                              | 30                         |
| $\chi^2$ test (3sd) | $P<0,01$                        | $P<0,01$                   |

Rakamlar kültürün 14.gününde her işlem için 10 eksplantın ortalamasını göstermektedir.

**Tablo.5**'de verildiği gibi, lateral tomurcukların kültüründen alınan verilere  $\chi^2$  analizi uygulandığında test edilen işlemler arasında, enfekte olan ve yaşayan kültür frekansları (%) istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo.5,  $P<0,01$ ).

Tablolardan anlaşılacağı gibi, apikal tomurcukların sterilizasyonu için %3 NaOCl içinde 30 dakika, lateral tomurcukların sterilizasyonu için ise %5 NaOCl içinde 35 dakika bekletmenin en iyi sonucu verdiği tespit edildi.

### 3.2.7. Ekim İşlemleri

#### 3.2.7.1. Pikan Cevizi (*Carya illinoensis*) ve Kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin *İn Vitro* Koşullarda Mikroçoğaltma Çalışmaları

##### 3.2.7.1.1. Pikan Cevizinin (*Carya illinoensis*) Olgun Tohumlarından İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmalarında Sitokinlerin Etkisi

Pikan cevizinin olgun tohumlarının mikroçoğaltma kapasitesine, sitokinlerin (BAP ve kinetin) etkisi araştırıldı. Bu amaçla, aşağıda verilen sitokin konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte test edildi.

-0.5 - 1.0 – 2.0 – 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-0.5 - 1.0 – 2.0 – 4.0 mg l<sup>-1</sup> kinetin

-kontrol (hormon içermeyen MS )

Sert kabukları çıkarılmış tohumların sterilizasyonu ve kültüre alma şekli, **Bölüm 3.2.6.1** de verildiği gibi yapıldı. Olgun tohumların çimlenmesi ve gelişmesi için MS besi ortamı, 30 g/l sakkaroz, 7 g/l agar ve 50 mg/l askorbik asit ile desteklendi. Tohumların çimlenmesi ve gelişmesinde sitokinlerin (BAP, kinetin) etkisi, kültüre alındıktan 4 hafta sonra morfolojik olarak gözlemlendi.

##### 3.2.7.1.2. Ürün Veren Pikan Cevizi (*Carya illinoensis*) Ağaçlarından Alınan Apikal ve Lateral Tomurcuklardan İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmaları

Yaşlı pikan cevizi ağaçlarından (18 yaşında) alınan lateral ve apikal tomurcukların *in vitro* çoğaltılmasına BAP ve kinetin etkisi araştırıldı. Eksplantlar her ay düzenli olarak, BAP ve kinetin 0.5 - 1.0 - 2.0 - 4.0 mg l<sup>-1</sup>'lik konsantrasyonlarında bir kontrol grubu ile birlikte bir yıl süre ile kültüre alındı.

Şanlıurfa- Koruklu araştırma merkezinden temin edilen eksplantların (lateral ve apikal tomurcuklar) sterilizasyonu ve kültüre alma şekli, **Bölüm 3.2.6.2.** ve **3.2.6.3.**'te verildiği gibi yapılarak magenda GA-7 kültür kaplarına ekimi yapıldı. Tomurcukların gelişmesi ve büyümesi için MS besi ortamı, 30 g/l sakkaroz, 7 g/l agar ve 200 mg/l askorbik asit ilavesi ile desteklendi.



### 3.2.7.1.3. Kivi Tohumlarının *In Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde Materyal Şeklinin Etkisi

Kivinin *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi çalışmalarına başlamadan önce tohumlardan yüksek verim randımanı alabilmek için başlangıç materyalinin tespiti araştırıldı. Bu amaçla, materyale uygulanan yüzey sterilizasyonu ve kültüre alma şekli aşağıdaki gibi yapıldı.

Ön sterilizasyon için, kivi meyvesi musluk suyunda 3-5 dakika yıkandı. Daha sonra steril kabin içerisinde kahverengi tüylü dış kabuğu soyularak %70'lik alkolle yıkandı. Yine steril kabin içerisinde, bunzen beki alevi önünde steril pens ve bistüri yardımı ile filtre kağıtları arasında tohumlar birer birer meyveden izole edildi.

Tohumların çimlenmesi ve büyümesi için MS besi ortamı, 30 g/l sakkaroz, 7 g/l agar ve 1 mg l<sup>-1</sup> BAP ilavesi ile desteklendi. Besi ortamı pH'sı agar ilavesinden önce, KOH veya NaOH ile 5.7-5.8 olacak şekilde ayarlanarak 1 atm basınçta 121 °C'de 25 dakika süre ile otoklavda steril edildi. Hazırlanan besi ortamı, magenda GA-7 kültür kaplarına, steril kabin içerisinde bölüştürüldü. İzole edilen tohumlara, aşağıda belirtilen işlemler uygulanarak, besi ortamının bulunduğu kültür kaplarına ekimi yapıldı.

#### Materyal şekli

- Tohum- müdahale edilmemiş
- Tohum- testası çatlatılmış
- Tohum-ikiye bölünmüş
- Tohum-etli meyve kısmı ile

Her işlem için 9 adet olmak üzere ekimi yapılan tohumlar, sıcaklık ayarı 25±2 °C olan ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyoda ayarlanmış kültür odasında gelişmeye bırakıldı.

### 3.2.7.1.4. Kivi Tohumlarının *In Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde MS Konsantrasyonunun Etkisi

Kivinin olgun tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlenmesine MS konsantrasyonlarının etkisini araştırmak amacıyla, besi ortamına, 30 g/l sakkaroz, 7 g/l agar ilave edilerek, aşağıda belirtilen MS oranları hazırlandı.

-1/4 MS

-1/2 MS

-1/1 MS

-2/1 MS

Her işlem için 12 adet materyal kullanıldı. Materyalin yüzey sterilizasyonu ve kültüre alma şekli, **Bölüm.3.2.7.1.3**'de belirtildiği gibi uygulandı. Kültüre alınan materyal şekli ise bir önceki deneyin sonucu doğrultusunda, tohumlara herhangi bir işlem uygulanmadan, olduğu gibi besi ortamına ekimi yapıldı.

#### **3.2.7.1.5. Kivi Tohumlarının *In Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde Şeker Çeşidinin Etkisi**

Kivi tohumlarının *in vitro* çimlenmesine etkisini test etmek için 3 farklı şeker çeşidi kullanıldı. 7 g/l agar ve 2 mg l<sup>-1</sup> BAP ile desteklenen 1/4 MS besi ortamına aşağıda belirtilen şeker miktarları ilave edildi.

-30 g/l sakkaroz

-30 g/l maltoz

-30 g/l dekstroz

Her işlem için 12 adet materyal kullanıldı. Materyalin yüzey sterilizasyonu ve kültüre alma şekli **Bölüm.3.2.7.1.3**'de belirtildiği gibi uygulandı.

#### **3.2.7.1.6. Kivi Tohumlarının *In Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde BAP Oranlarının Etkisi**

Kivinin olgun tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlenmesine, BAP oranlarının etkisi araştırıldı. Bu amaç için MS besi ortamına, aşağıda verilen hormon miktarları ilave edilerek bir kontrol grubu ile birlikte test edildi.

-0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP

-1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-6.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

Materyalin yüzey sterilizasyonu ve kültüre alma şekli **Bölüm.3.2.7.1.3'**de belirtildiği gibi uygulanarak, her işlem için 12 adet materyal kullanıldı.

### **3.2.7.1.7. *İn Vitro* Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna MS Konsantrasyonunun Etkisi**

Kivinin olgun tohumlarından itibaren, *in vitro* şartlarda elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna, MS besi ortamının etkisi araştırıldı. Bu amaçla besi ortamına, 30 g/l sakkaroz, 7 g/l agar ve 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP ilave edilerek, aşağıda belirtilen MS oranları hazırlandı.

-1/4 MS + 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-1/2 MS + 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-1/1 MS + 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

-2/1 MS + 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

*İn vitro* koşullarda gelişen kivi sürgünleri, steril kabin içerisinde, bunzen beki alevi önünde steril pens ve bistüri yardımı ile steril filtre kağıtları arasında jelozundan arındırıldı. Kültüre alınacak sürgünler, 1.0-1.5 cm uzunluğunda 2-4 yaprak içerecek şekilde kesilerek, yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanan besi ortamının bulunduğu magenda GA-7 kültür kaplarına ekimi yapıldı.

### **3.2.7.1.8. *İn Vitro* Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna Şeker Çeşidinin Etkisi**

*İn vitro* şartlarda elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna şeker çeşidinin etkisi test edildi. Bu amaçla aynı miktarlarda, farklı 3 şeker çeşidi kullanıldı. 1/1 MS, 7 g/l agar ve 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP ile desteklenen besi ortamına, karbon kaynağı olarak aşağıda belirtilen şeker miktarları ilave edildi.

-30 g/l sakkaroz

-30 g/l maltoz

-30 g/l dekstroz

Sürgünler, steril kabin içerisinde ve steril filtre kağıtları arasında, jelozundan arındırılarak, tek sürgünlü ve 0.5 – 2 cm uzunluğunda kesildi. Ekimi yapılacak materyaller, yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan besi ortamında kültüre alındı. Test edilen her işlem için 9 adet materyal kullanıldı.

### **3.2.7.1.9. *In Vitro* Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna Sitokininlerin Etkisi**

Kivi bitkisinin tohumlarından itibaren *in vitro* koşullarda elde edilen sürgünlerin proliferasyonuna sitokininlerin (BAP, kinetin) etkisi araştırıldı. Bu amaçla, aşağıda verilen sitokinin konsantrasyonları bir kontrol grubu ile birlikte test edildi.

- 0.5 - 1.0 – 2.0 – 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP
- 0.5 - 1.0 – 2.0 – 4.0 mg l<sup>-1</sup> kinetin
- kontrol (hormon içermeyen MS )

Sürgünlerin gelişmesi için besi ortamı, 1/1 MS, 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ile desteklendi. Yukarıda belirtilen hormon miktarlarının bulunduğu besi ortamına sürgünler, tek tek ve 2-3 yaprak içerecek şekilde kültüre alındı. Her test grubu için 9 adet materyal kullanılarak, sıcaklık ayarı 25±2 °C olan ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık periyoda ayarlanmış kültür odasında, gelişmeye bırakıldı.

### **3.2.7.2. *In Vitro* Koşullarda Kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin Farklı Dokularından Kallus ve Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonu Çalışmaları**

Kivinin farklı doku ve organlarından itibaren kallus oluşturma ve kallustan itibaren bitki rejenerasyonu için, aşağıda verildiği gibi, seri deneyler yapıldı. Bu amaçla, MS besi ortamına farklı bitki büyüme düzenleyicileri, farklı konsantrasyonlarda ilave edilerek, kullanıldı. Kallus oluşturmak için ideal besi ortamını tespit etmenin yanı sıra kullanılacak başlangıç materyalinin tespiti için de, farklı eksplantlar kullanıldı.

#### **3.2.7.2.1. Kivinin Olgun Tohumlarından İtibaren Kallus Oluşturma Çalışmalarında IAA'in Etkisi**

Kallus oluşturma çalışmalarında, kültür başlangıç materyalini tespit etmek için öncelikle olgun tohumlar kullanıldı. Çalışmada, olgun tohumlardan itibaren kallus

oluşumuna IAA'in etkisi test edildi. Bunun için aşağıda belirtilen IAA konsantrasyonları ayrı ayrı denendi.

- 0.5 mg l<sup>-1</sup> IAA
- 1.0 mg l<sup>-1</sup> IAA
- 2.0 mg l<sup>-1</sup> IAA
- 4.0 mg l<sup>-1</sup> IAA

Olgun tohumlardan itibaren kallus oluşumunu sağlamak için MS besi ortamı, 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ile desteklendi. Kültüre alınan olgun tohumların bir kısmının testası çatlatılarak besi ortamına ekimi yapıldı. Çalışmada her test grubu için, 6 tanesi testası çatlatılmış olmak üzere toplam 11 materyal kullanıldı.

### 3.2.7.2.2. Kallus Oluşumunda Eksplant Çeşidinin Etkisi Çalışmaları

Çalışma, kallustan itibaren bitki rejenerasyonu elde etmede, öncelikle en iyi kallus oluşumunun hangi materyal şeklinden gelişeceğini tespit etmek amacı ile yapıldı.

Materyalleri kültüre almak için, 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ile desteklenen 1/1 MS besi ortamına hormon olarak,

- 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D
- 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D

ilave edildi. Hazırlanmış olan MS besi ortamı 1 atm basınçta 121 °C'de 25 dakika süre steril edilerek, magenda GA-7 kültür kaplarına, steril kabin içerisinde bölüştürüldü.

*In vitro* koşullarda olgun tohumdan itibaren geliştirilen kivi sürgünlerinin farklı kısımları materyal olarak kullanıldı. Steril kabin içerisinde, aşağıda belirtilen şekillerde sürgünlerden izole edilen eksplantlar MS besi ortamının bulunduğu kültür kaplarında kallus oluşturmak amacı ile kültüre alındı.

- 0.5 cm uzunluğunda gövde parçaları
- Genç yapraklar (yaprak sapıyla birlikte)
- Yaşlı yapraklar
- Yaprak sapı (petiyol)
- Yaşlı yaprakların orta damarları
- Taban kallusu

Kültüre alınan materyaller, sıcaklık ayarı  $25\pm 2$  °C olan ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık periyoda ayarlanmış kültür odasında gelişmeye bırakıldı.

### 3.2.7.2.3. Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonuna BAP Konsantrasyonlarının Etkisi

**Bölüm 3.2.7.2.2.** de yapılan çalışma sonucu elde edilen kalluslar bu deneyde materyal olarak kullanıldı. Kallustan itibaren bitki rejenerasyonunu sağlamak amacıyla, aşağıda verilen BAP konsantrasyonlarının etkisi bir kontrol grubu ile birlikte ayrı ayrı test edildi.

- 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP
- 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP
- 6.0 mg l<sup>-1</sup> BAP
- 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP

Yukarıda belirtilen oranlarda hormon ilave edilen 1/1 MS besi ortamı, 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ile desteklendi. Hazırlanan besi ortamı **Bölüm 3.2.7.2.2.**de verildiği gibi, sterilize edilip kültür kaplarına bölüştürüldü. Steril kabin içerisinde, organogenezise gidebilecek morfolojik özelliğe (koyu yeşil, sert tekstürlü ve taneli) sahip seçilmiş kalluslar, steril pens ve bistüri ile küçük parçalara bölünerek yukarıda belirtilen şekilde hazırlanmış olan besi ortamında kültüre alındı.

Her test grubu için 6 adet magenda GA-7 kaplarında kültüre alınan materyaller, sıcaklık ayarı  $25\pm 2$  °C olan ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık periyoda ayarlanmış kültür odasında gelişmeye bırakıldı.

### 3.2.7.3. *In Vitro* Koşullarda Elde Edilen Kivi (*Actinidia deliciosa*) Sürgünlerinin Köklendirilme Çalışmaları

*In vitro* koşullarda elde edilen kivi sürgünlerinin köklendirilmesine NAA'nın 0.5 – 1.0 ve 2.0 mg l<sup>-1</sup> lik konsantrasyonlarının etkisi bir kontrol grubu ile birlikte ayrı ayrı test edildi. Bu amaçla birkaç alt kültür sonrasında elde edilen 1.0 – 1.5 cm uzunluğunda, kalın gövdeli sürgünler materyal olarak kullanıldı.

30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar içeren 1/1 MS besi ortamına 0.5 – 1.0 – 2.0 mg l<sup>-1</sup> NAA ayrı ayrı ilave edilerek köklenme ortamı hazırlandı. Hazırlanan besi ortamı **Bölüm 3.2.7.2.2.**de verildiği gibi sterilize edilip kültür kaplarına bölüştürüldü. Steril kabin



içerisinde, yukarıdaki özelliklere sahip sürgünler jelozundan arındırılarak besi ortamına aktarıldı. Ekimi yapılan sürgünler, sıcaklık ayarı  $25\pm 2$  °C olan ve 16 saat aydınlık 8 saat karanlık periyoda ayarlanmış kültür odasında gelişmeye bırakıldı.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Pikan Cevizi (*Carya illinoensis*) ve Kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin *İn Vitro* Koşullarda Mikroçoğaltma Çalışmaları

#### 4.1.1. Pikan Cevizinin (*Carya illinoensis*) Olgun Tohumlarından İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmalarında Sitokinlerin Etkisi

Olgun pikan cevizi tohumlarının *in vitro* çoğaltılmasına sitokin çeşidi olan BAP ve kinetinin etkisi araştırıldı. Bu amaçla, Bölüm.3.2.6.1'de belirtildiği şekilde olgun tohumlara yüzey sterilizasyonu uygulandı. Steril edilen tohumlar BAP ve kinetinin 0.5 - 1.0 - 2.0 - 4.0 mg l<sup>-1</sup>'lik konsantrasyonlarında bir kontrol grubu ile birlikte kültüre alındı.

Tohumların kültüre alınmasında kullanılan yöntem Bölüm.3.2.7.1.1'de anlatıldığı gibi uygulandı. Kültüre alındıktan 4 hafta sonra çimlenme oranı (% olarak), sürgün sayısı, sürgün boyu, nod ve yaprak sayısı ayrı ayrı tespit edilerek elde edilen veriler aşağıda belirtildiği gibi tespit edildi.

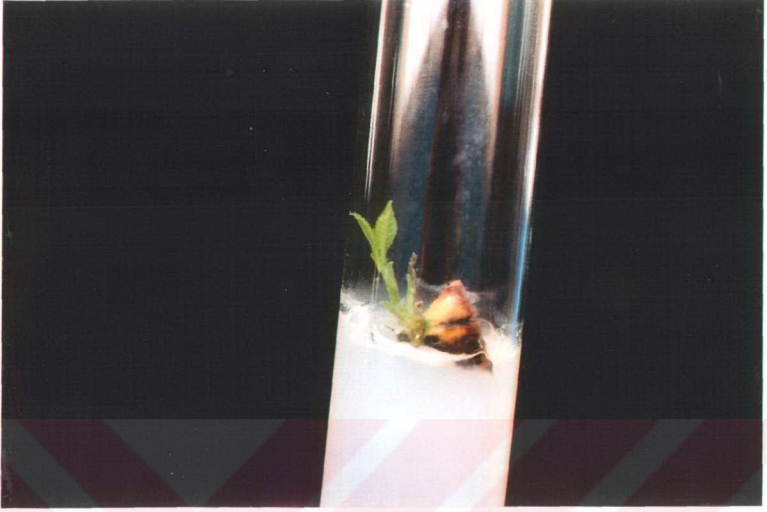
0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP ile desteklenmiş besi ortamında, kültüre alınan tohumlardan 0.7 cm uzunluğunda, 2 nodlu, tek sürgün gelişimi tespit edilerek çimlenme oranının (%20) en az olduğu grup olarak belirlendi.

1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında, 0.7 cm uzunluğunda, 4 noda sahip, 1 yapraklı tek sürgün gelişimi gözlenirken, tohum çimlenmesi %80 civarında olup, en fazla bu grupta çimlenme tespit edildi.

2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren besi ortamında, 1.0 cm uzunluğunda, 3 nodlu, 2 sürgünlü gelişim görülürken, tohumlarda çimlenme oranı ise, yaklaşık %40 olarak belirlendi (Resim: 5).

4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP ile desteklenmiş MS besi ortamında kültüre alınan tohumlar, 0.5 cm uzunluğunda, 2 noda sahip tek sürgün şeklinde gelişirken, tohumlarda çimlenme oranı, 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'ta olduğu gibi alındı.

BAP oranları kendi aralarında karşılaştırıldığında, 1.0 mg l<sup>-1</sup>BAP ile desteklenmiş besi ortamındaki tohumlarda, çimlenme oranı yüksek olmasına rağmen 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında, tohumların çimlenmesinin çok az olduğu tespit edildi. Bunun yanında 2.0 - 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP ile desteklenmiş besi ortamında, çimlenme aynı oranlarda olmasına rağmen, sürgün, nod, yaprak sayısı ve sürgün boyu bakımından farklı veriler elde edildi.



**Resim 5.** 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren MS besisi ortamında kültüre alındıktan 4 hafta sonra çimlenmiş pıkan cevizi tohumlarının genel görünüşü. x 1.44



**Resim 6.** 0.5 mg l<sup>-1</sup> kinetin içeren MS besisi ortamında kültüre alındıktan 4 hafta sonra pıkan cevizi tohumlarının genel görünüşü. x 1.91

0.5 mg l<sup>-1</sup> kinetin içeren besi ortamında, 0.2cm uzunluğunda, 1 nodlu, tek sürgünlü gelişim görülürken, kültüre alınan tohumlarda çimlenme oranının %80 olduğu belirlendi (Resim: 6).

1.0 mg l<sup>-1</sup> kinetin ile desteklenmiş besi ortamında, 0.3 cm uzunluğunda, 1 noda sahip sürgün gelişimi gözlenirken çimlenme oranının %40 olduğu saptandı.

2.0 mg l<sup>-1</sup> kinetini içeren ortamında kültüre alınan tohumlardan 0.5 cm uzunluğunda, 2 nodlu sürgün gelişimi ile birlikte %20 civarında çimlenme olduğu tespit edildi.

4.0 mg l<sup>-1</sup> kinetin içeren besi ortamında, 0.4 cm uzunluğunda, 2 nodlu sürgün gelişimi olurken, tohumların çimlenme oranının en yüksek (%80) olduğu grup olarak gözlemlendi.

Test edilen kinetin oranlarında kültüre alınan tohumların gelişimleri karşılaştırıldığında, en yüksek çimlenme oranının 0.5 - 4.0 mg l<sup>-1</sup>'lik konsantrasyonlarda olduğu müşahade edildi. Sürgün, nod sayısı ve sürgün boyu bakımından ise test edilen bütün gruplarda aşağı yukarı sonuçların benzer olduğu belirlendi.

Yukarıdaki sonuçlardan anlaşılacağı gibi, kültüre alınan tohumların sürgün uzaması ve nod sayısı bakımından, test edilen BAP konsantrasyonlarının, kinetin konsantrasyonlarına oranla daha iyi sonuç verdiği tespit edildi. Sonuç olarak olgun pikan tohumlarının mikroçoğaltma çalışmalarında sitokinin konsantrasyonları içinde 2 mg/l BAP ile desteklenen MS besi ortamının sürgün sayısı, sürgün boyu ve nod sayısı bakımından en iyi sonucu verdi.

#### 4.1.2. Ürün Veren Pikan Cevizi (*Carya illinoensis*) Ağaçlarından Alınan Apikal ve Lateral Tomurcuklardan İtibaren Mikroçoğaltma Çalışmaları

Yaşlı pikan ağaçlarından (18 yaşında) alınan lateral ve apikal tomurcukların *in vitro* çoğaltılmasına, BAP ve kinetin etkisi araştırıldı. Eksplantlar, BAP ve kinetin 0.5 - 1.0 - 2.0 - 4.0 mg l<sup>-1</sup>'lik konsantrasyonlarının bulunduğu besi ortamında bir kontrol grubu ile birlikte, her ay düzenli olarak, bir yıl süre ile kültüre alındı.

Şanlıurfa- Koruklu araştırma merkezinden getirilen eksplantların (lateral ve apikal tomurcuklar) sterilizasyonu ve kültüre alma şekli **Bölüm.3.2.7.1.2'**de belirtildiği gibi yapıldı.

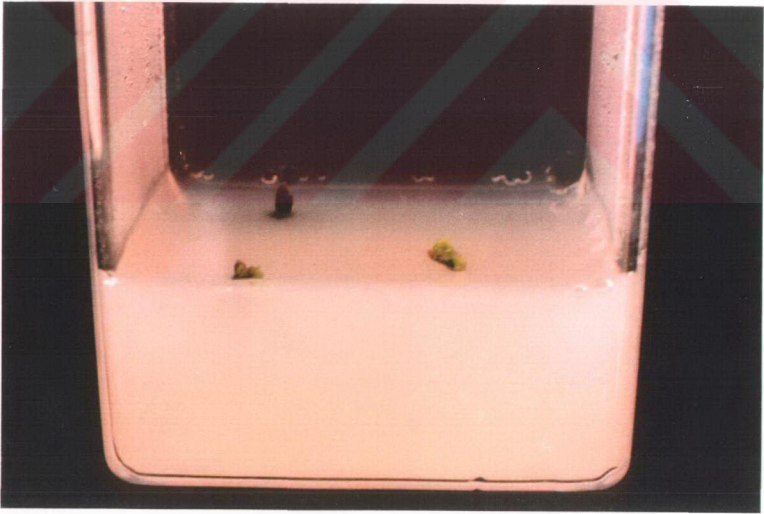
Apikal ve lateral tomurcukların kültüre alınması, Mayıs 2001 tarihinden itibaren her ay düzenli olarak, ayda bir kez olmak üzere, Mayıs 2002 tarihine kadar devam ettirildi.

Çalışmanın yapıldığı bir yıllık zaman periyodu içinde, Nisan ayında yapılan kültürde apikal tomurcukların gelişmediği, bunun yanında lateral tomurcuklarda yavaş bir

büyüme olduğu görüldü. Kültüre alındıktan 10 gün sonra hemen hemen bütün sitokinin (BAP ve kinetin) konsantrasyonlarında 1, 2 yapraklı tek sürgünlü bitkiciklerin geliştiği gözlemlendi. Kullanılan sitokinin konsantrasyonları içinde  $4 \text{ mg l}^{-1}$  kinetin ile desteklenen MS besi ortamında kültüre alınan lateral tomurcukların yarısında, 0.1-0.3 cm boyunda, 2-3 yapraklı tek sürgün gelişimi görüldü (Resim: 7).

Kültüre alındıktan 20 gün sonra, gelişen sürgünlerin yavaş yavaş kararıp büyüme faaliyetlerinin durduğu tespit edildi. Bunların bir kısmı kendi besi ortamlarında alt kültüre alınarak morfolojik gelişimleri gözlemlendi. Ancak yapılan alt kültür sonrasında da eksplantların büyük bir çoğunluğunun 4 haftalık kültür dönemi içerisinde tamamen kahverengileşip, gelişimlerinin durduğu saptandı.

Ürün veren pikan ağacından alınan lateral ve apikal tomurcuklar, bir yıl boyunca kültüre alınarak, mikroçoğaltma çalışmaları sürdürüldü. Ancak bu süre içinde yukarıda belirtilen hormon konsantrasyonlarında, lateral ve apikal tomurcukların, (Nisan 2002 ayı dışında) kültüre cevap vermeyerek, gelişmediği tespit edildi.



Resim 7.  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  kinetin içeren MS besi ortamında kültüre alınan lateral tomurcukların gelişimi.



#### 4.1.3. Kivi Tohumlarının *İn Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde Materyal Şeklinin Etkisi

Kivi tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlendirilmesinde maksimum randıman alabilmek için, **Bölüm. 3.2.7.1.3.** de verildiği gibi materyal şekilleri test edildi. 40 günlük kültür süresince aşağıda verildiği gibi gözlemler alındı.

Kültüre alındıktan bir hafta sonra, her test grubunda bulunan dokuz adet materyalin hiç birinde enfeksiyona rastlanmadı. Besi ortamına meyve etiyile birlikte bırakılan tohumlardan yedi tanesinde sadece hacim artışı görülürken, iki tanesinde herhangi bir gelişme görülmedi. Herhangi bir müdahale uygulanmadan kültüre alınan tohumların tümü, hacim artışı ile sınırlı kaldı. Testası çatlatılarak bırakılan tohumlardan bir tanesinde radikula çıkışı görülürken, geriye kalan tohumlarda, sadece hacim artışı gözlemlendi. İkiye bölünerek kültüre alınan tohumlardan beş tanesinde, radikula çıkışı gözlemlendi.

Kültürün 20. gününde, meyve etiyile birlikte kültür besisi ortamına bırakılan dokuz adet tohumun hepsinde, testada açılma görülürken, bunlardan bir tanesinde, radikula çıkışı belirlendi. Müdahale edilmeden kültüre alınan tohumların bir tanesinde sadece radikula çıkışı, diğer bir tanesinde ise, radikula ile birlikte ilk yaprak oluşumu gözlemlendi. Geriye kalan materyallerde ise, sadece testada açılma tespit edildi. Testası çatlatılmış tohumlarda, bir materyalde radikula çıkışı ile birlikte hipokotil uzaması görülürken, geriye kalan materyallerde herhangi bir gelişme olmadığı görüldü. İkiye bölünerek bırakılan tohumlardan daha önce radikulası gelişen beş materyalden üçünde hipokotil uzaması görülürken, diğerlerinde herhangi bir gelişmeye tanık olunmadı.

Kültürün 40.gününde, tohumlardaki morfolojik gelişmeler, aşağıda verildiği gibi gözlemlendi.

Meyve etiyile bırakılan tohum, materyallerden bir tanesinde çimlenmeyle birlikte minik sürgün geliştiği gözlenirken, geriye kalan tohumlarda ise, testada açılma ve hacim artışı tespit edildi.

Müdahale edilmeyen tohum; kültüre alınan materyallerden sadece iki tanesinde bitkicik geliştiği, beş materyalde ise testada açılma ile birlikte radikula çıkışı gözlemlendi. Geriye kalan iki materyalde herhangi bir gelişme görülmedi.

Testası çatlatılmış tohum; dört materyalde zayıf radikula çıkışı, geriye kalan materyallerde ise herhangi bir gelişme görülmedi. Gelişen radikula kısımlarının da daha sonra karardığı belirlendi.

İkiye bölünmüş tohum; kültüre alınan materyallerden üçünde gelişme görülmezken, geriye kalan altı materyaldeki gelişim, radikula çıkışı ile sınırlı kaldı. Daha sonraki kültür süreci içinde, gelişmiş olan radikulanın karardığı tespit edildi.



Tohumların ikiye bölünerek yada testası çatlatılarak kültüre alınması, çimlenmeyi hızlandırmak amacıyla uygulandı. Ancak bu uygulamaların çimlenme hızını etkilemediği belirlendi. Yapılan çalışmalar sonucunda alınan veriler değerlendirilip çimlenmeye en uygun materyal şekli tespit edilerek, *in vitro* kültür çalışmalarında, başlangıç materyali olarak kullanılan kivi tohumlarına herhangi bir müdahale uygulanmadan besi ortamına bırakılması gerektiği sonucuna varıldı.

#### 4.1.4. Kivi Tohumlarının *İn Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde MS Konsantrasyonunun Etkisi

Kivi tohumlarının çimlenmesine MS konsantrasyonunun etkisini tespit etmek amacı ile kültür besi ortamının hazırlanışı ve ekim işlemleri, **Bölüm.3.2.7.1.4.** de anlatıldığı gibi uygulandı.

Tohumların *in vitro* çimlendirilmesi çalışmalarında, morfolojik gelişimler kültür dönemi boyunca gözlenerek aşağıdaki veriler tespit edildi.

Kültüre alındıktan üç gün sonra test edilen grupların (1/4 -1/2 - 1/1 - 2/1 MS ) tümünde, eksplantlarda herhangi bir morfolojik değişiklik gözlenmezken, enfeksiyona da rastlanmadı.

Kültürün 6. gününde sadece kontrol grubunda bulunan eksplantlarda hacim artışı ile birlikte, çimlenme belirtileri tespit edilirken test edilen MS oranlarında kültüre alınan tohumlarda, sadece hacim artışı görüldü.

Kültürün 10. gününde, 1/4 MS ortamında kültüre alınan oniki tohumdan yedi tanesinde çimlenme görülürken, geriye kalan materyallerin (beş adet) hepsinde hacim artışı ile birlikte, testanın çatladığı görüldü. 1/2 , 1/1 ve 2/1 MS oranlarında kültüre alınan tohumların tamamında hacim artışı ve açılma gözlenirken, çimlenme gözlenmedi. Kontrol grubundaki materyallerden dört tanesinde çimlenme, geriye kalan tohumlarda ise hacim artışı ile birlikte açılma tespit edildi.

Kültürün 24. gününde 1/4 MS ortamında bulunan tohumların tümünün çimlendiği gözlemlendi. Oniki materyalden altısında, radikula kısmının 1 cm kadar uzadığı ve üç materyalde de radikula ile birlikte kotiledonların geliştiği belirlendi. 1/2 MS besi ortamında yetiştirilen oniki materyalden dokuz tanesinde çimlenme görüldü. Bunlardan beş tanesinin hipokotil ve radikula kısımlarının 0.5-1.0 cm kadar uzadığı, geriye kalan materyallerde ise ilk çimlenme belirtilerinin görüldüğü tespit edildi. 1/1 MS besi ortamında ise, kültüre alınan oniki tohumdan dokuz tanesinde çimlenme gözlemlendi. Bunlardan üç tanesinde hipokotil bölgesinin uzadığı, ancak kotiledonların gelişmediği belirlendi. 2/1 MS besi ortamında kültüre alınan

oniki materyalden sadece üç tanesinde ilk çimlenme belirtileri gözlemlendi. Kontrol grubunda ise ( MS içermeyen) oniki materyalden dokuz tanesinde çimlenmenin ilk belirtisi olan radikulanın geliştiği, bunun dışında herhangi bir gelişme olmadığı tespit edildi.

Kültürün 35. gününde, 1/4 MS besisi ortamında kültüre alınan tohumlardan dört tanesinin 3-6 yapraklı ve köklü minik fidecik oluşturduğu gözlemlendi (Resim: 8). Diğer dört materyalde ilk yaprakcıklar görülürken, geriye kalan materyallerde sadece radikula'nın belirginleştiği saptandı. 1/2 MS besisi ortamında kültüre alınan eksplantlardan üç tanesinde, 2-8 yapraklı minik fidecikler geliştiği, bir materyalde ise sadece ilk yaprakların oluştuğu görüldü (Resim: 9). Geriye kalan beş materyalde radikula belirginleşirken, üç materyalde ise sadece testanın açıldığı belirlendi. 1/1 MS besisi ortamında ise, bir materyalin 6-7 yapraklı minik fidecik, diğer bir materyalde ise ilk yaprakcıklar gözlemlendi (Resim: 10). Geriye kalan on materyalin yedisinde radikula belirgin ve uzamış, diğer üçünde ise sadece testada açılma tespit edildi. 2/1 MS besisi ortamında kültüre alınan oniki materyalden altısı hacim artışı ile sınırlı kalırken geriye kalan altı materyalden üçünde açılma, diğer üç eksplantta ise radikula (kısa) geliştiği görüldü. Kontrol grubundaki oniki materyalden bir tanesi açılmamış diğer eksplantlarda ise sadece radikula kısmının geliştiği saptandı.

1/4 MS besisi ortamında kültüre alındıktan 50 gün sonra kivi tohumlarındaki (12 adet) morfolojik gözlemler;

- Dört materyalde sadece radikula gelişimi (0.3-0.5 cm),
- Dört materyalde, ilk radikula belirtisi ve ilk yaprak taslağı gelişimi,
- Dört materyalde 1-2 cm uzunluğunda, 4-10 yapraklı, 1-2 sürgünlü ve 1-3 nod içeren fideciklerin geliştiği gözlemlendi.

1/2 MS besisi ortamında kültüre alındıktan 50 gün sonra kivi tohumlarındaki (12 adet) morfolojik gözlemler;

- Dört materyalde 3-9 yapraklı, 1-2 cm uzunluğunda tek sürgünlü ve 1-2 nod içeren fidecikler oluştuğu,
- İki materyalde herhangi bir gelişme görülmezken, diğer iki materyalde ise radikula ile birlikte ilk yaprak taslağı gelişimi,
- Dört materyalde sadece radikula gelişimi tespit edildi.

1/1 MS besisi ortamında kültüre alındıktan 50 gün sonra kivi tohumlarındaki (12 adet) morfolojik gözlemler;

- Üç materyalde sadece hacim artışı ile birlikte testada açılma,
- Yedi materyalde radikula gelişimi

- Bir materyalde 8 yapraklı, 3 nod içeren, 1.5 cm uzunluğunda, internodları uzun olan tek sürgün,

- Bir materyalde ise sadece ilk yaprakcıkların geliştiği tespit edildi.

2/1 MS besi ortamında kültüre alındıktan 50 gün sonra kivi tohumlarındaki (12 adet) morfolojik gözlemler;

- Altı materyal, hacim artışı ile sınırlı kalıp çimlenme belirtileri görülmedi.

- Üç materyalde sadece radikula gelişimi,

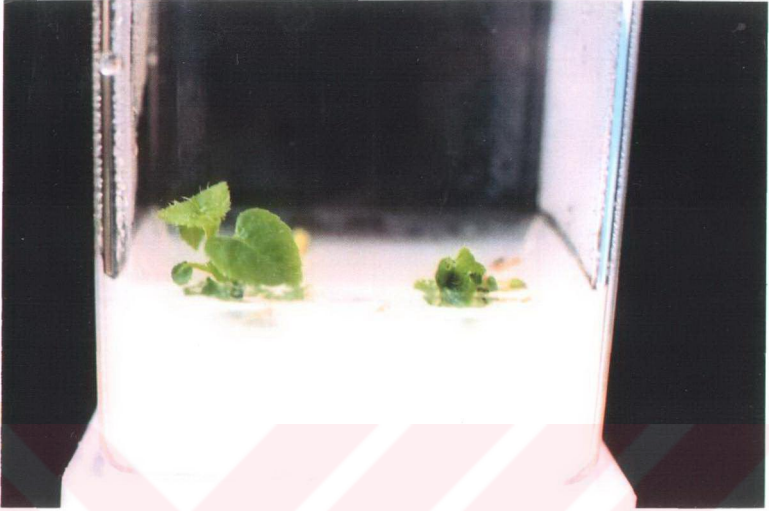
- Üç materyalde ise testada açılma olduğu tespit edildi.

MS içermeyen besi ortamında (kontrol grubu) kültüre alındıktan 50 gün sonra kivi tohumlarındaki (12 adet) morfolojik gözlemler;

- Hacim artışı ile sınırlı kalan bir materyal dışında tohumların tamamında sadece radikula gelişimi gözlemlendi.

Sonuç olarak: kivi tohumlarının çimlenmesine MS konsantrasyonunun etkisini test etmek için yapılan çalışmada, ilk on gün içinde 1/4 MS ve kontrol gruplarında hızlı bir gelişme ile çimlenme belirtileri görüldü. MS'in diğer oranlarında ise, çimlenme hızının daha yavaş olduğu belirlendi. Daha sonraki günlerde kontrol grubunda test edilen tohumların gelişiminin yavaşlayıp durduğunu, bunun yanında 1/4 MS oranında bulunan tohumların aynı hızla gelişmesine devam ettiğini saptadık.

Yukarıda alınan gözlemler ışığında, MS konsantrasyonuna göre tohumların çimlenme oranı ve hızının değiştiği belirlendi. Sırasıyla en iyi çimlenmenin 1/4 - 1/2 - 1/1 MS oranlarında olduğu tespit edildi. Bu sonuçlar ışığında, MS konsantrasyonu seyreltikçe, tohumların çimlenmesi ve gelişmesinin daha iyi olduğu belirlendi.

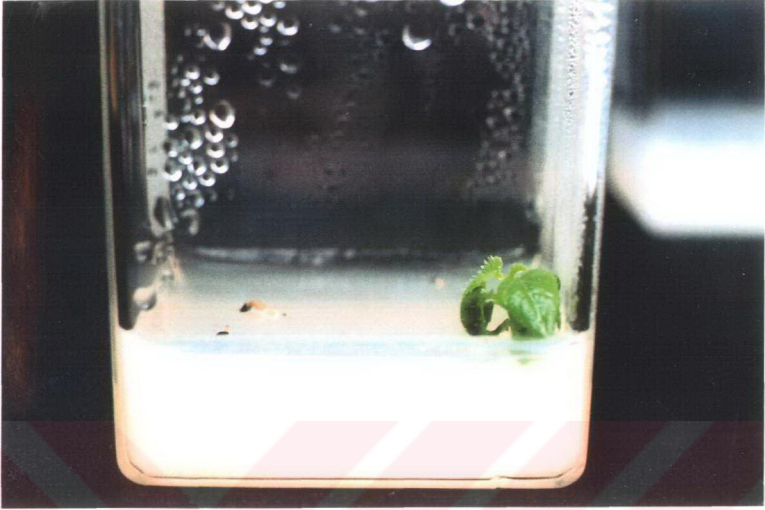


Resim 8. Kivi tohumlarının çimlenmesine, 1/4 MS besi ortamının etkisi. x 1.63



Resim 9. Kivi tohumlarının çimlenmesine, 1/2 MS besi ortamının etkisi. x 2.03





Resim 10. Kivi tohumlarının çimlenmesine, 1/1 MS besi ortamının etkisi. x 1.53

#### 4.1.5. Kivi Tohumlarının *In Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde Şeker Çeşidinin Etkisi

Kivinin olgun tohumlarının *in vitro* koşullarda çimlendirilmesinde sakkaroz, maltoz ve dekstroz şeker çeşitlerinin etkisi test edildi.

Her test grubu için 12 adet materyal kullanıldı. Tohumlar kültüre alındıktan bir hafta sonra, 30 g/l maltozda 1 tane, 30 g/l dekstrozda 2 tane ve sakkarozda 1 kaptan olmak üzere enfeksiyon görüldü.

Kültürün 14.gününde, maltoz şeker çeşidinin kullanıldığı test grubunda üç materyalde, sakkarozla desteklenmiş MS besi ortamında beş materyalde ve dekstrozda iki materyalde ilk çimlenme belirtisi görüldü. Geriye kalan materyallerde herhangi bir gelişme görülmezken test grupları karşılaştırıldığında, 30 g/l sakkaroz bulunan besi ortamlarının en iyi cevabı verdiği tespit edildi.

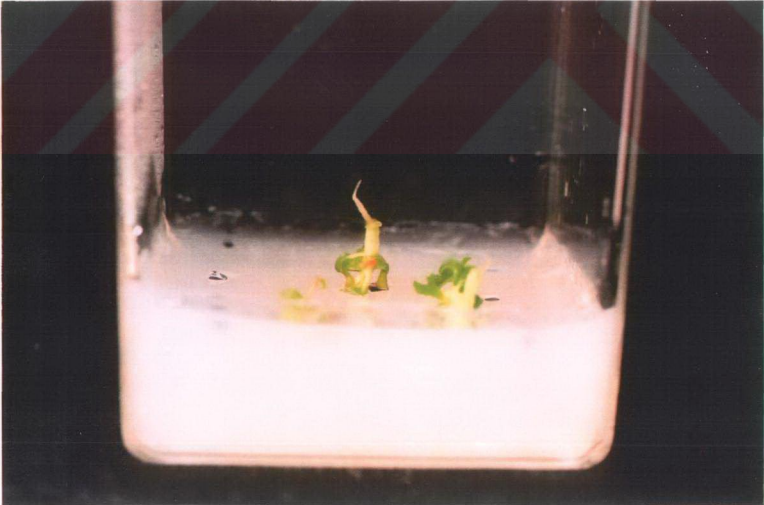
30.günde, 30 g/l maltoz bulunan MS besi ortamında kültüre alınan tohumlardan on tanesinde çimlenme belirtisi olan, radikula ve ilk yaprak çıkışı görüldü. Geriye kalan materyallerden sadece bir tanesinde hacim artışı belirlendi.

30 g/l dekstroz ile desteklenmiş MS besi ortamında kültüre alınan tohumlardan on tanesinde çimlenme belirtisi görülürken, bunlardan dokuz tanesinde sadece radikula çıkışı gözlemlendi. Geriye kalan materyallerden bir tanesinde hacim artışı olduğu tespit edildi.

30 g/l sakkarozlu MS besi ortamında kültüre alınan tohumlardan beş tanesinde çimlenme, beş tanesinde radikula çıkışı ve beş materyalde ise hacim artışı belirlenirken, geriye kalan materyallerde herhangi bir gelişme olmadığı belirlendi.

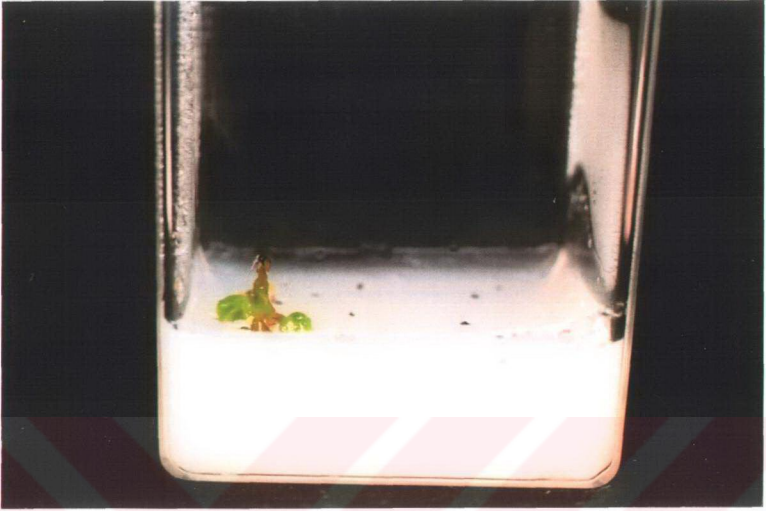
Kültüre alındıktan yaklaşık 2 ay sonra maltozlu MS besi ortamında, yetiştirilen materyallerden iki tanesinde 5 yapraklı, 1.0 cm uzunluğunda ve 1 adet primer köke sahip minik bitkicik oluşumu görüldü (Resim: 11). üç materyalde ise 0.5 cm uzunluğunda, 2 yapraklı ve birer primer köke sahip sürgün gelişimi gözlemlendi. beş materyalde, sadece radikula çıkışı görülürken bir materyalde testada açılma tespit edildi. Geriye kalan materyallerde herhangi bir gelişme görülmedi

Dekstroz şeker çeşidinin kullanıldığı besi ortamında bulunan tohumlardan bir tanesinde, 1.5 cm uzunluğunda, kalın gövdeli, yaprakları cılız-küçük ve 1 primer köke sahip sürgün gelişimi görüldü (Resim:12). dokuz materyalde radikula çıkışı gözlenirken, bir tanesinde ise sadece testada açılma tespit edildi.



Resim 11. Kivi tohumlarının çimlenmesinde, maltoz şeker çeşidinin etkisi. x 1.61





Resim 12. Kivi tohumlarının çimlenmesinde, dekstroz şeker çeşidinin etkisi. x 1.50



Resim 13. Kivi tohumlarının çimlenmesinde, sakkaroz şeker çeşidinin etkisi. x 1.65

Sakkarozlu MS besi ortamında kültüre alınan tohumlardan dört tanesinde, 1.5-2.0 cm uzunluğunda, kalın gövdeli, 5-7 yapraklı (yeşil, büyük ve geniş yaprak) ve 2-3 tane primer köke sahip bitkicik gelişimi tespit edildi (Resim: 12). bir materyalde ise, 1.0 cm uzunluğunda, 5 yapraklı sürgün geliştiği belirlendi. Geriye kalan materyallerden üç tanesinde testada açılma, beş tanesinde ise radikula çıkışı gözlemlendi.

Sonuç olarak, kivinin olgun tohumlarının, *in vitro* şartlarda geç çimlendiği ve çimlenme hızına şeker çeşitlerinin etkili olmadığı görüldü. Bununla birlikte test edilen gruplar içerisinde, 30 g/l sakkarozlu MS besi ortamının en iyi sonucu verdiği belirlendi.

#### 4.1.6. Kivi Tohumlarının *İn Vitro* Şartlarda Çimlenmesinde BAP Oranlarının Etkisi

Kivi tohumlarının çimlenmesinde, BAP oranlarının etkisi bir kontrol grubu ile birlikte araştırıldı. Her test grubu için 12 adet materyal kullanılarak yapılan çalışma sonucunda, aşağıdaki morfolojik gözlemler alındı.

.Kivi tohumları kültüre alındıktan 2 hafta sonra, 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında oniki adet materyalden dördünde, 1.0 – 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında altı materyalde, 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında yedi materyalde, 6.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda sekiz materyalde ve 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda beş materyalde, tohum testasında açılma ile birlikte hacim artışı olduğu görüldü. Her test grubundaki geriye kalan materyallerde herhangi bir gelişme belirtisine tanık olunmadı. Hormon içermeyen besi ortamında kültüre alınan tohumlarda ise, hemen hemen hepsinin testasında açılma ve iki adet tohumda ilk çimlenme belirtisi olan radikula çıkışı gözlemlendi.

Kültürün 20. gününde 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında iki adet tohumda, 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda altı adet tohumda, 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda ise bir adet tohumda radikula oluştuğu gözlemlendi. Geriye kalan test gruplarında ise çimlenme belirtisine rastlanmazken, açılan tohum sayısında artış olduğu belirlendi. Hormon içermeyen kontrol grubunda ise, iki adet tohumda radikula kısımlarının 0.2-0.4 cm kadar uzadığı ve bunlardan bir tanesinde hipokotil kısmının belirginleştiği tespit edildi.

Kültürün 40. gününde, test edilen BAP oranlarında çimlendirilen tohumların morfolojik gözlemleri aşağıda verildiği gibi alındı.

0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı MS besi ortamında kültüre alınan oniki adet tohumdan, altı tanesinde hiçbir gelişmeye tanık olunmazken dört materyalde gelişim sadece testada açılma ile sınırlı kaldı. Bu ortamda kültüre alınan tohumlardan sadece iki tanesinde çimlenme görüldü. Bunlardan bir tanesi 0.5 cm uzunluğunda, iki yapraklı ve nodsuz minik sürgün şeklinde, diğeri ise 0.2 – 0.3 cm uzunluğunda radikula gelişimi ile sınırlı kaldı (Resim: 14).

1.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı besi ortamında kültüre alınan dokuz materyalden iki tanesinde gelişme görülmezken diğer beş materyalde ise testanın açılması ile birlikte radikula çıkışı gözlemlendi. Geriye kalan iki materyalden, tek sürgünlü 1-1.3 cm uzunluğunda ve 1 nodlu bitkicik geliştiği belirlendi (Resim: 15).

2.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı besi ortamında kültüre alınan tohumlardan dört tanesinde açılma ile birlikte radikula çıkışı görüldü. dört materyalde, herhangi bir gelişme görülmezken geriye kalan beş materyalin çimlendiği tespit edildi. Bunların sırasıyla, üç tanesinin 0.2 - 0.3 - 0.5 cm uzunluğunda 2-5 yapraklı ve birer primer köke sahip minik sürgün oluşturduğu gözlemlendi (Resim: 16). Çimlenen tohumların diğer iki tanesinin 1.0-1.5 cm uzunluğunda 3-5 yapraklı, 1 nodlu sürgün oluşturduğu saptandı. Ayrıca bu tohumlarda 1-2 adet primer kök oluşumuna da tanık olundu.

4.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı MS besi ortamında kültüre alınan üç materyalde herhangi bir gelişme görülmezken sekiz materyalde sadece testada açılmaya tanık olundu. Bu ortamda kültüre alınan bir materyalin ise, 1 cm uzunluğunda 4 yapraklı ve 2 primer köke sahip minik sürgün oluşturduğu tespit edildi (Resim: 17).

6.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı besi ortamında, beş adet tohumda gelişme görülmezken yedi tanesinde testada açılma görüldü. Bu ortamda kültüre alınan tohumların hiçbirinde çimlenmeye rastlanmadı.

8.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı besi ortamında, beş materyalde testada açılma görülürken altı materyalde herhangi bir gelişme olmadı. Bu test grubunda sadece bir materyalin çimlendiği gözlemlendi (Resim: 18).

Hormon içermeyen kontrol grubunda ise kültüre alınan materyallerden sadece iki tanesinde çimlenme görüldü. Bunlardan bir tanesinde sadece radikula uzaması, diğerinin ise 2 yapraklı, 0.5 cm uzunluğunda minik sürgün oluşturduğu tespit edildi (Resim: 19).

Yapılan çalışma sonucunda genel olarak kültür besi ortamında BAP oranı arttıkça çimlenme oranının azaldığı ve hormon içermeyen yada düşük hormon içeren MS besi ortamlarında, çok az sayıda tohumun çimlendiği, çimlenen tohumların da zayıf geliştiği tespit edildi. Sonuç olarak, 2.0 mg  $\Gamma^1$  BAP içeren besi ortamının çimlenme oranı bakımından, test edilen gruplar arasında en iyi olduğu tespit edildi.

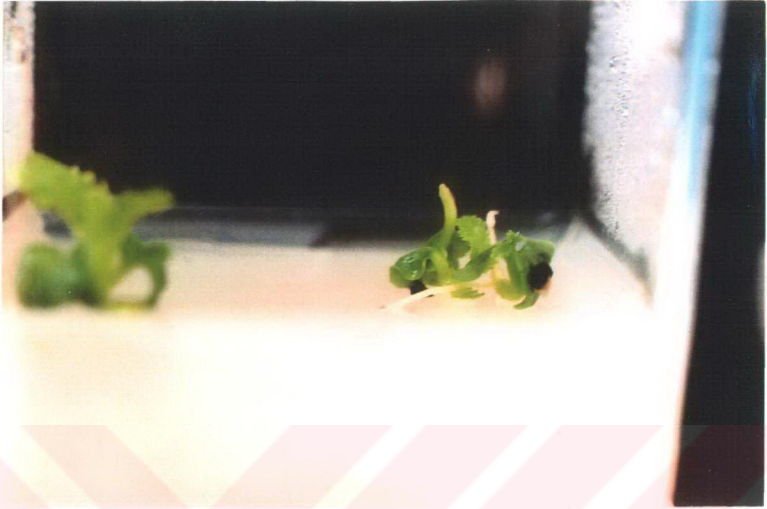


Resim 14. Kivi tohumlarının çimlenmesine  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besî ortamının etkisi. x 2.41

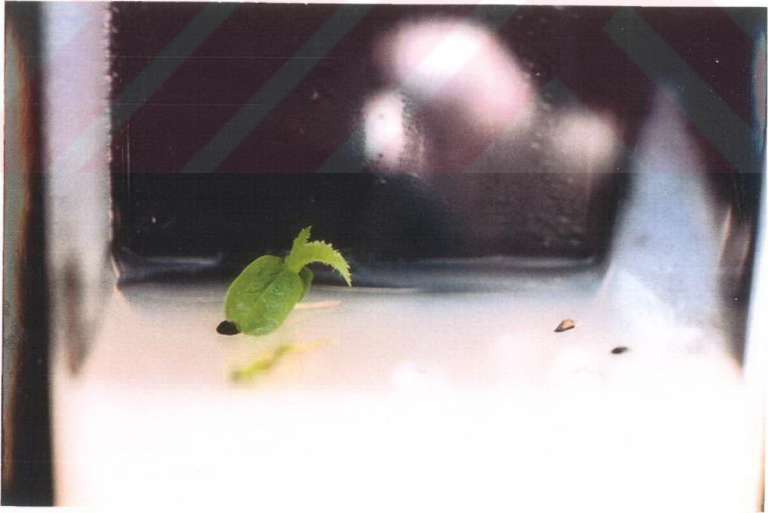


Resim 15. Kivi tohumlarının çimlenmesinde  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besî ortamının etkisi. x 2.00





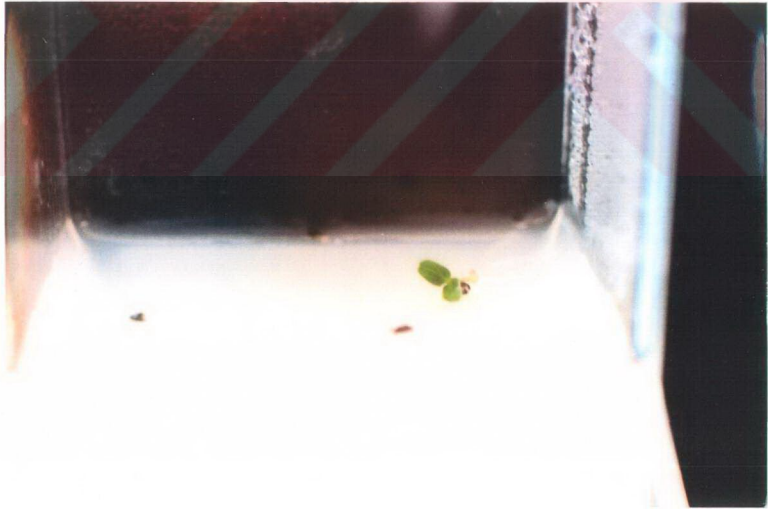
Resim 16. Kivi tohumlarının çimlenmesinde  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besi ortamının etkisi. x 2.16



Resim 17. Kivi tohumlarının çimlenmesinde  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besi ortamının etkisi. x 2.25



Resim 18. Kivi tohumlarının çimlenmesinde 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamının etkisi. x 2.25



Resim 19. Kivi tohumlarının çimlenmesinde hormonsuz besi ortamının etkisi. x 2.08



#### 4.1.7. *İn Vitro* Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna MS Konsantrasyonunun Etkisi

*İn vitro* şartlarda elde edilen kivi sürgünlerinin proliferasyonuna MS konsantrasyonunun etkisi test edildi. Kültür süresi boyunca sürgünlerin morfolojik gelişimleri gözlenerek aşağıdaki veriler tespit edildi.

Sürgünler kültüre alındıktan 5 gün sonra 2/1 ve 1/2 MS besisi ortamının bulunduğu kültür kaplarında birer tane olmak üzere, 2 kültür kabında enfeksiyon görüldü.

Kültürün 14. gününde 2/1 MS besisi ortamında bulunan sürgünlerde yaprakların oldukça koyu yeşil, aşırı büyük ve kalın olduğu tespit edildi. Test edilen diğer MS oranlarına göre oldukça hızlı bir büyüme gözlemlendi. 1/1 MS besisi ortamında kültüre alınan sürgünlerin yaprakları orta büyüklükte olup boy uzunluğu, sürgün ve nod sayısında artış olduğu görüldü. İlk iki haftalık gözlem sonucunda sürgünlerin normal bir hızla gelişimine devam ettiği belirlenerek materyallerin bir kısmında taban kallusu oluşumu tespit edildi. 1/2 MS besisi ortamında ise, sürgün, nod sayısı ve boy uzunluğunda sınırlı bir gelişme olduğu belirlendi. 1/4 MS besisi ortamında, sürgünlerin gelişimi oldukça zayıf olup, sürgün boyu kısa, yaprak sayısı diğer MS oranlarında bulunan sürgünlere göre daha az ve açık yeşil renkte olduğu gözlemlendi.

4 haftalık kültür dönemi sonunda, 2/1 MS besisi ortamında sürgünlerin yaprakları koyu yeşil, oldukça iri ve geniş olduğu belirlendi. Sürgünlerin boy uzunluğu 2.5-4.5 cm, yeni oluşan sürgün sayısı 1-5 adet ve nod sayısının ise 1-4 tane olduğu gözlenirken kök oluşumuna rastlanmadı (Resim: 20). İlk iki haftalık kültür süreci içerisinde çok hızlı olan sürgün gelişiminin daha sonraki dönemde ise yavaşlayarak durduğu tespit edildi (Resim: 23).

1/1 MS besisi ortamında, sürgünlerin boy uzunluğu 2.5-4.5 cm, yeni oluşan sürgün sayısı 4-7 adet ve nod sayısının ise 3-4 tane olduğu belirlendi. Genel olarak, kültür süresi boyunca sürgünlerdeki gelişimin istikrarlı devam ettiği görüldü. Yeni oluşan sürgünlerde, gövdenin kalın ve sert dokulu, yaprakların ise koyu yeşil ve iri olduğu tespit edilirken kök oluşumuna rastlanmadı (Resim: 21).

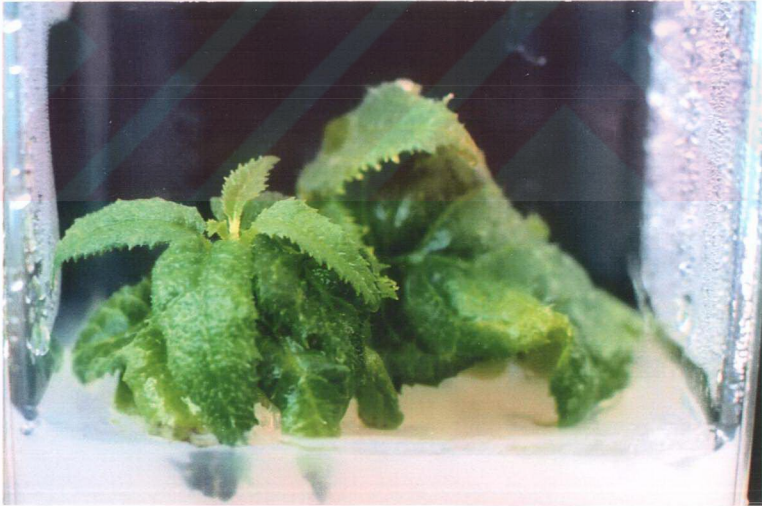
1/2 MS besisi ortamında, sürgünlerin boy uzunluğu 2-3 cm, yeni oluşan sürgün sayısı 1-7 adet ve nod sayısının ise 1-3 tane olduğu gözlemlendi. Bu ortamda kültüre alınan materyallerin tümünde primer ve sekonder kök oluşumuna tanık olundu (Resim: 22). Oluşan sürgünlerin yaprakları açık yeşil renkte olup sürgün sayısı bakımından 1/1 MS ten sonra en iyi MS oranı olduğu tespit edildi.

1/4 MS besisi ortamında, oluşan sürgünlerin boy uzunluğunun 1.5-3.5 cm, yeni oluşan sürgün sayısının 1-3 adet ve nod sayısının 1-2 tane olduğu belirlendi. Sürgünlerin boyunun

kısa, yaprak sayısının az, küçük ve açık yeşil renkte olduğu görüldü. Kültüre alınan materyallerin yarısında primer kök oluşumuna tanık olundu. Test edilen MS oranları içerisinde en zayıf sürgün gelişiminin bu test grubunda olduğu tespit edildi (Resim: 23).

Yapılan çalışma sonucunda, sürgün proliferasyonuna MS konsantrasyonunun etkili olduğu gözlemlendi. MS konsantrasyonu düşürüldükçe (1/4 ve 1/2 MS) yeni sürgün oluşumunda ve yaprak sayısında azalma görülmürken, sürgünlerde kök oluşumu izlendi. MS konsantrasyonu 2 katına çıkarıldığında ise, sürgünlerde çok hızlı bir gelişme ile birlikte yapraklarda aşırı büyüme (3-3.5 cm uzunluğunda kalın yapraklar) olduğu, daha sonra ise büyümenin yavaşlayarak durduğu tespit edildi. Bu grupta, yaprak ve sürgün sayısının diğer MS oranlarına göre daha az miktarda olduğu belirlendi.

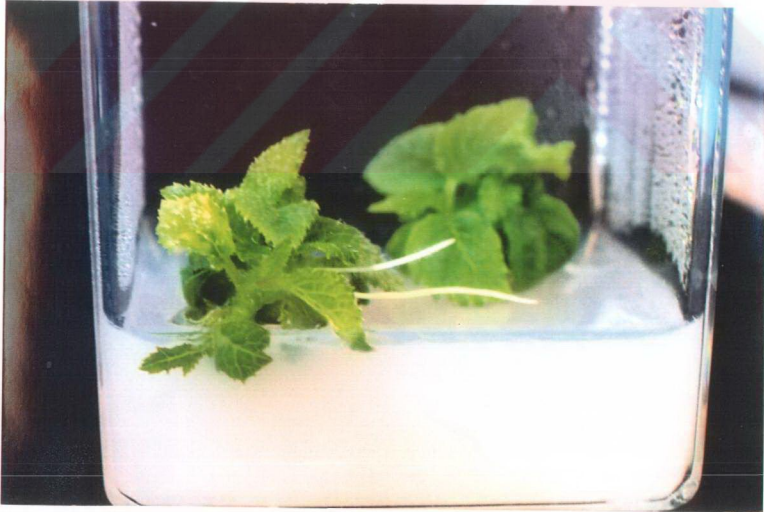
Test edilen gruplar içerisinde sürgün proliferasyonuna en iyi cevabın 1/1 MS besi ortamında kültüre alınan sürgünlerden elde edildiği saptandı. Gerek sürgün ve nod sayısı gerekse sürgün boyu bakımından 1/1 MS in en iyi kültür besi ortamı olduğu sonucuna varıldı.



**Resim 20.** 2/1 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi. x 2.41

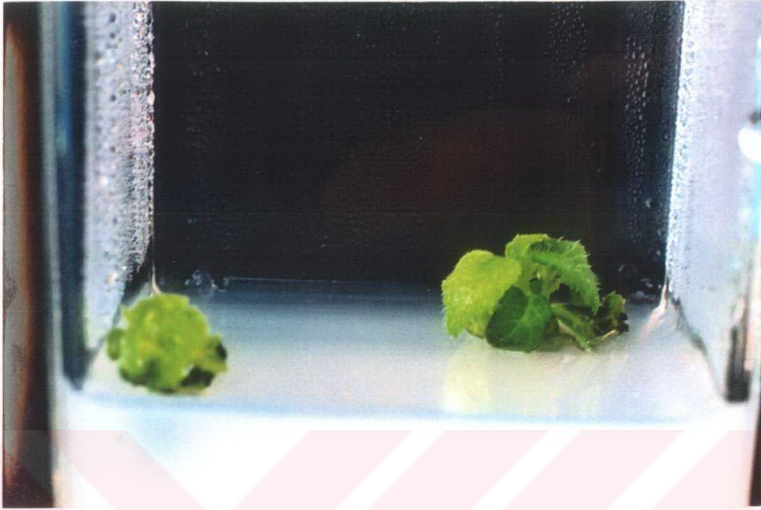


**Resim 21.** 1/1 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi. x 2.20



**Resim 22.** 1/2 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi. x 1.93





Resim 23. 1/4 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi. x 2.25

#### 4.1.8. *İn Vitro* Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna Şeker Çeşidinin Etkisi

*İn vitro* koşullarda elde edilen kivi sürgünlerinin proliferasyonuna şeker çeşidinin etkisini tespit etmek için yapılan kültür çalışmalarında, aşağıdaki veriler elde edilmiştir.

Sürgünler, kültüre alındıktan 1 hafta sonra 30 g/l sakkaroz ile desteklenen MS besi ortamının bulunduğu 2 adet kültür kabında enfeksiyon tespit edildi.

Kültürün 14. gününde alınan morfolojik gözlemlerde, 30 g/l maltoz ile desteklenen MS besi ortamındaki sürgünlerin gelişiminin yavaş ve zayıf olduğu, dekstroz ve sakkaroz ile desteklenen besi ortamındaki sürgünlerde ise, gelişimin birbirine benzer şekilde devam ettiği ve maltozlu ortamdan daha iyi olduğu saptandı.

4 haftalık kültür dönemi sonunda, 30 g/l maltoz bulunan MS besi ortamındaki materyallerden üç tanesinin boy uzunluğunun 3.5-4.5 cm, yeni oluşan sürgün sayısının 1-4 adet ve nod sayısının ise 3-4 tane olduğu tespit edildi. Geriye kalan materyallerde, sürgünlerin boy uzunluğu 2-3 cm arasında olup sürgün sayısının 1-5 adet, nod sayısının ise 1-3 tane olduğu görüldü. Genel olarak sürgünlerin kısa, yaprakların orta büyüklükte ve açık yeşil renkte olduğu, gövde kalınlığının ise ince ve yumuşak dokulu bir yapıya sahip

olduğu gözlemlendi. Bunun yanında, kültüre alınan üç materyalde, sürgünlerin besi yerine temas eden taban kısmında az miktarda kallus oluşumuna tanık olunurken, kök oluşumu gözlenmedi.

30 g/l dekstrozu ile desteklenen MS besi ortamında kültüre alınan kivi sürgünlerinden dört tanesinin boy uzunluğu 3.5 cm olup yeni oluşan sürgün sayısının 1-3 adet ve nod sayısının ise 3-4 tane olduğu belirlendi. Geriye kalan sürgünlerin boy uzunluğu 2-3 cm, yeni oluşan sürgün sayısı 2-3 adet ve nod sayısının ise 2-3 tane olduğu gözlemlendi. Genel olarak yapraklar büyük, koyu yeşil ve yaprak sayısının çok miktarda, gövdenin kalın ve sert dokulu olduğu belirlendi. Maltozlu besi ortamında olduğu gibi, kültüre alınan sürgünlerde kök oluşumuna rastlanmazken, materyallerin hemen hepsinde az miktarda taban kallusu oluşumuna tanık olundu.

30 g/l sakkaroz bulunan MS besi ortamındaki kivi sürgünlerinin boy uzunluğu 4.5-5.5 cm, yeni oluşan sürgün sayısının 2-8 adet ve nod sayısının ise 3-4 tane olduğu gözlemlendi. Sürgünlerin tamamında yoğun miktarda taban kallusu tespit edilirken kök oluşumuna rastlanmadı.

Yapılan çalışma sonucunda kivi sürgünlerinin proliferasyonuna, kullanılan şeker çeşidinin etkili olduğu ve en iyi sürgün oluşumunun 30 g/l sakkaroz bulunan MS besi ortamında elde edildiği tespit edildi.

#### **4.1.9. *In Vitro* Şartlarda Elde Edilen Kivi Sürgünlerinin Proliferasyonuna Sitokinlerin Etkisi**

Kivi sürgünlerinin proliferasyonuna iki farklı sitokin olan BAP ve kinetin etkisi, ayrı ayrı test edildi. Bu amaçla, *in vitro* koşullarda elde edilen kivi sürgünleri, **Bölüm 3.2.7.1.9'**da belirtilen sitokin oranlarında, bir kontrol grubu ile birlikte kültüre alındı.

Mikroçoğaltmada sitokinlerin etkisini test etmek amacıyla ile kültüre alınan kivi sürgünlerinden, 4 haftalık kültür dönemi sonrasında oluşan sürgün sayısı, sürgün boyu, nod sayısı ve köklenme oranı tespit edildi. Verilerdeki değişkenliği hızlı bir şekilde görmek için, bütün çalışma sonuçlarının tanımlayıcı analizleri yapıldı (Sigma Plot 2.0). İstatistiksel önem görülen işlemler belirlendiğinde, ortalama veriler arasındaki farklılıklar, P: 0.05 seviyesinde *t*-testine tabi tutuldu. Deney sonucunda elde edilen veriler **Tablo.6 ve Tablo.7.**'de verildi.

4 haftalık kültür dönemi sonunda 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren besi ortamında kültüre alınan her bir materyalden yaklaşık 4-5 adet yeni sürgün oluşumu tespit edildi. Oluşan yeni

sürgünlerin yapraklarının çok sayıda, iri ve koyu yeşil renkte, gövdenin ise kalın olduğu belirlendi. Bu oranda kültüre alınan materyallerin taban kısmında az miktarda kallus oluşurken sadece iki materyalde zayıf primer kök oluşumu saptandı. Test edilen BAP oranları içerisinde en fazla sürgün oluşumu, bu grupta elde edildi (Resim: 24).

1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kültüre alınan her bir materyalden yaklaşık 4 adet yeni sürgün oluşumu tespit edildi (Resim: 25). Sürgünlerin gövdesi kalın ve sert dokulu olup, materyallerin taban kısmında oldukça yoğun kallus oluşumuna tanık olundu (Resim: 26). Bu grupta kültüre alınan materyallerden 6 tanesinde primer kök oluşumu gözlemlendi.

2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda kültüre alınan materyallerde ortalama 4 yeni sürgün oluşumu görüldü. Oluşan yeni sürgünlerin yaprakları çok iri, koyu yeşil renkte olup gövdenin kısa ve sert dokulu olduğu saptandı (Resim: 27). Bu oranda kültüre alınan materyallerden dört tanesinde primer kök oluşumu görülürken taban kallusunun az miktarda olduğu tespit edildi.

4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren besi ortamında kültüre alınan her bir materyalden ortalama 3 yeni sürgün oluşumu gözlemlendi. Oluşan yeni sürgünlerin yaprakları, test edilen diğer BAP oranlarına nazaran daha küçük, açık renkte, gövdenin ise ince ve nod sayısının daha az olduğu saptandı (Resim:28). Bu ortamda sadece bir materyalde primer kök oluşumuna rastlanırken çok az miktarda kallus oluşu gözlemlendi.

Hormon içermeyen MS besi ortamında kültüre alınan her materyalden bir adet yeni sürgün oluşumu gözlemlendi. Oluşan sürgünlerde yaprak sayısı az, ancak iri ve açık yeşil renkte, gövdenin ise hormonlu ortamlara göre daha zayıf olduğu belirlendi. Bu grupta kültüre alınan materyallerde kök ve kallus oluşumuna rastlanmadı (Resim: 29).

**Tablo.6. Kivi sürgünlerinin proliferasyonuna BAP konsantrasyonlarının etkisi.**

| İşlemler                   | Sürgün boyu (cm) | Sürgün sayısı | Nod sayısı  | Köklenme (%) |
|----------------------------|------------------|---------------|-------------|--------------|
| Kontrol                    | 2.5 ± 0.28b      | 1.3 ± 0.23b   | 2.3 ± 0.23b | 0            |
| 0.5 mg l <sup>-1</sup> BAP | 4.5 ± 0.28a      | 4.7 ± 1.08a   | 3.8 ± 0.39a | 25           |
| 1.0 mg l <sup>-1</sup> BAP | 4.2 ± 0.41a      | 4.4 ± 0.47a   | 3.1 ± 0.20a | 65           |
| 2.0 mg l <sup>-1</sup> BAP | 4.3 ± 0.39a      | 4.1 ± 0.20a   | 3.2 ± 0.27a | 45           |
| 4.0 mg l <sup>-1</sup> BAP | 2.6 ± 0.30b      | 3.2 ± 0.55a   | 2.1 ± 0.39b | 10           |

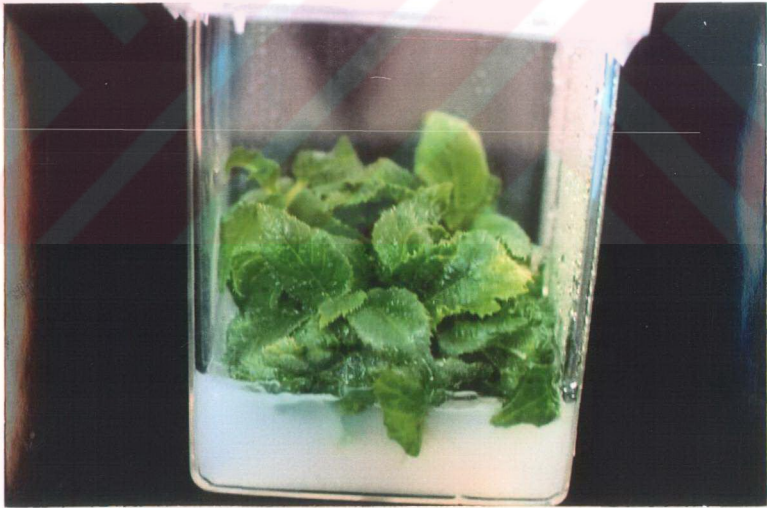
Rakamlar kültürün 28. gününde toplam 9 eksplantın ortalamasını göstermektedir.

**Tablo.6.** da verildiği gibi, hormon içermeyen besi ortamında kültüre alınan materyallerde yeni sürgün oluşumunun zayıf ve az sayıda olması nedeni ile, sürgün proliferasyonu için besi ortamına mutlak suretle sitokinin (BAP) ilavesi gerekliliği tespit



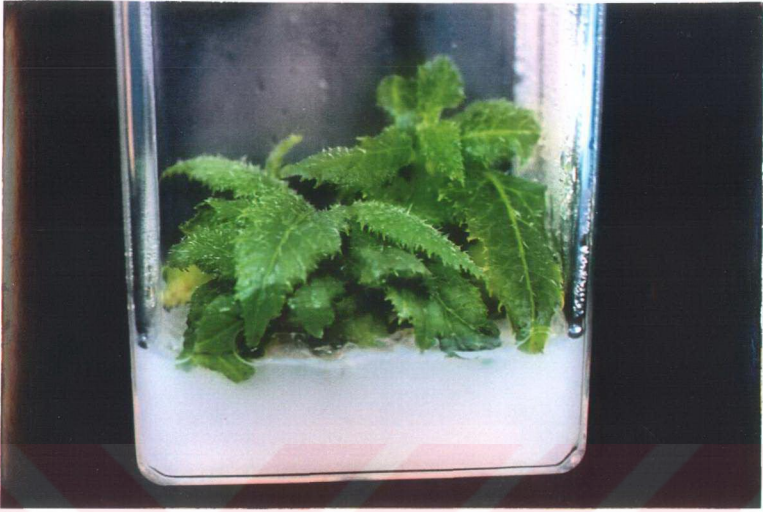
edilmiştir. Test edilen BAP oranları ve kontrol grubu *t*-testi ile karşılaştırıldığında da, hem sürgün sayısı hem de nod sayısı bakımından önemli istatistiksel farklılıkların olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). BAP oranları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise, sürgün sayısı bakımından herhangi bir farklılık görülmezken ( $P>0.05$ ), sürgün boyu ve nod sayısı bakımından  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP oranı arasında önemli istatistiksel farklılıkların olduğu gözlemlendi ( $P<0.05$ ).

Bu çalışmada, test edilen gruplar arasında  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP içeren MS besisi ortamının sürgün proliferasyonu için optimum oran olduğu tespit edildi.

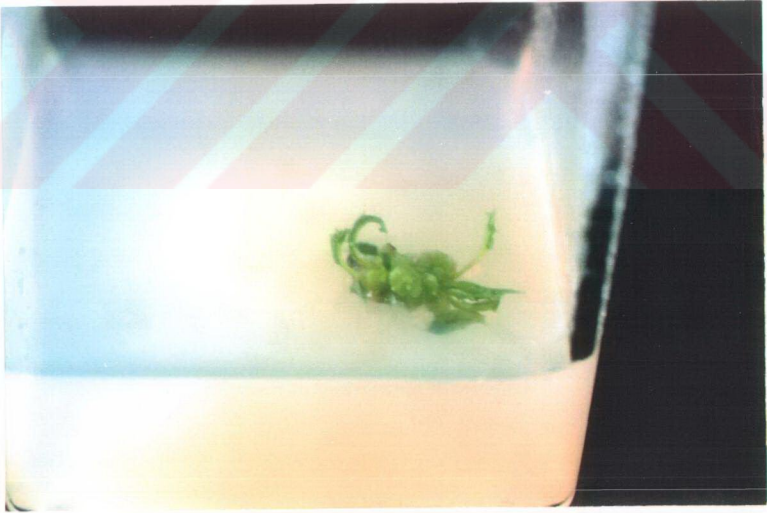


Resim 24. Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'ın etkisi.

x 1.25



**Resim 25.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'ın etkisi.  
x 1.46



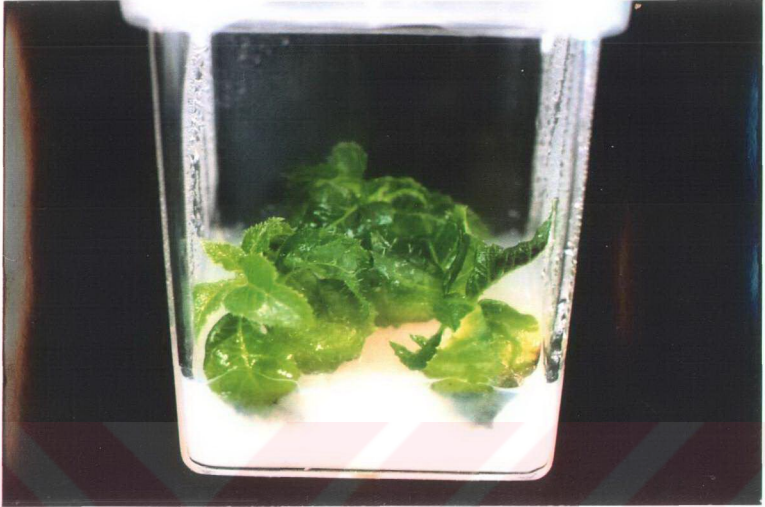
**Resim 26.**  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı MS besi ortamında proliferasyonla birlikte gelişen taban kallusu. x 1.91



Resim 27. Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'in etkisi.  
x 1.25



Resim 28. Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'in etkisi.  
x 1.25



Resim 29. Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna hormonsuz ortamın etkisi.  
x 1.31

Sürgün proliferasyonuna etkisi test edilen diğer bir sitokinin çeşidi olan kinetinin oranları kullanıldı. Çalışmada elde edilen veriler aşağıda verildiği gibidir.

0.5 mg l<sup>-1</sup> kinetinli besi ortamında kültüre alınan her bir materyalden yaklaşık dört adet yeni sürgün oluşumu gözlenirken, gelişen sürgün yapraklarının orta büyüklükte, koyu yeşil renkte ve gövdenin ise kalın olduğu belirlendi (Resim: 30). Bu grupta kültüre alınan materyallerden iki tanesinde primer kök, üç tanesinde ise kallus oluşumuna tanık olundu.

1.0 mg l<sup>-1</sup> kinetin içeren besi ortamında kültüre alınan her bir materyalden yaklaşık 3-4 adet yeni sürgün oluşumu tespit edildi. Yeni sürgünlerin internodları uzun ve nod sayısı fazla, yaprakların ise koyu yeşil ve orta büyüklükte olduğu belirlendi (Resim: 31). Bu gruptaki materyallerden üç tanesinde primer kök görülürken az miktarda kallus oluşumuna rastlandı.

2.0 mg l<sup>-1</sup> kinetinli besi ortamında kültüre alınan her bir materyalden yaklaşık olarak 3 yeni sürgün oluştuğu görüldü. Yaprakları küçük olan sürgünlerin cılız, internodları uzun ve gövdenin ise kalın olduğu tespit edildi (Resim: 32). Bu ortamda bulunan sürgünlerde kök oluşumuna rastlanmazken, altı materyalde çok az miktarda taban kallusu oluşumu saptandı.



Test edilen gruplar arasında sürgün sayısı ve sürgün boyu bakımından en düşük veri, 4.0 mg l<sup>-1</sup> kinetin içeren besi ortamında bulunan sürgünlerden elde edildi. Bu grupta kültüre alınan her bir materyalden yaklaşık olarak 2 tane yeni sürgün oluştuğu görüldü. Sürgünlerin gövdeleri ince, yaprakların küçük ve cılız olduğu belirlendi. Bu oranda nod sayısının ise test edilen diğer oranlardan daha fazla sayıda olduğu saptandı (Resim: 33). Sürgünlerde kök oluşumu görülmezken sadece bir materyalde taban kallusu oluşumu gözlemlendi.

**Tablo.7. Kivi sürgünlerinin proliferasyonuna kinetin konsantrasyonlarının etkisi .**

| İşlemler                   | Sürgün boyu (cm) | Sürgün sayısı | Nod sayısı  | Köklenme (%) |
|----------------------------|------------------|---------------|-------------|--------------|
| Kontrol                    | 2.5 ± 0.28b      | 1.3 ± 0.23c   | 2.3 ± 0.23b | 0            |
| 0.5 mg l <sup>-1</sup> kin | 4.3 ± 0.47a      | 4.0 ± 0.44a   | 3.5 ± 0.34a | 10           |
| 1.0 mg l <sup>-1</sup> kin | 4.2 ± 0.42a      | 3.8 ± 0.47ab  | 3.8 ± 0.30a | 50           |
| 2.0 mg l <sup>-1</sup> kin | 4.1 ± 0.25ab     | 3.1 ± 0.20b   | 3.6 ± 0.23a | 0            |
| 4.0 mg l <sup>-1</sup> kin | 3.6 ± 0.16a      | 2.3 ± 0.21bc  | 4.5 ± 0.50a | 0            |

Rakamlar kültürün 28. gününde toplam 9 eksplantın ortalamasını göstermektedir

**Tablo.7.**'deki verilere göre, sürgün sayısı bakımından en iyi sonuç 0.5 mg l<sup>-1</sup> kinetini ortamda elde edilirken, test edilen yüksek kinetin oranlarında (2.0 ve 4.0 mg l<sup>-1</sup>) yeni sürgün oluşumunda düşüş olmuştur. Bu gruplar *t*-testine tabi tutulduğunda, istatistiki fark önemli bulundu ( $P < 0.05$ ). sürgün boyu ve nod sayısı bakımından gruplar *t*-testi ile karşılaştırıldığında, kinetin oranları arasında önemli istatistiki fark görülmezken ( $P > 0.05$ ), bu gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiki farkın önemli olduğu tespit edildi ( $P < 0.05$ ).

Yapılan çalışma sonucunda, test edilen kinetin oranları arasında en iyi sürgün oluşumunun 0.5 mg l<sup>-1</sup> oranında olduğu tespit edildi.



**Resim 30.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  kinetinin etkisi.

x 1.95



**Resim 31.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  kinetinin etkisi.

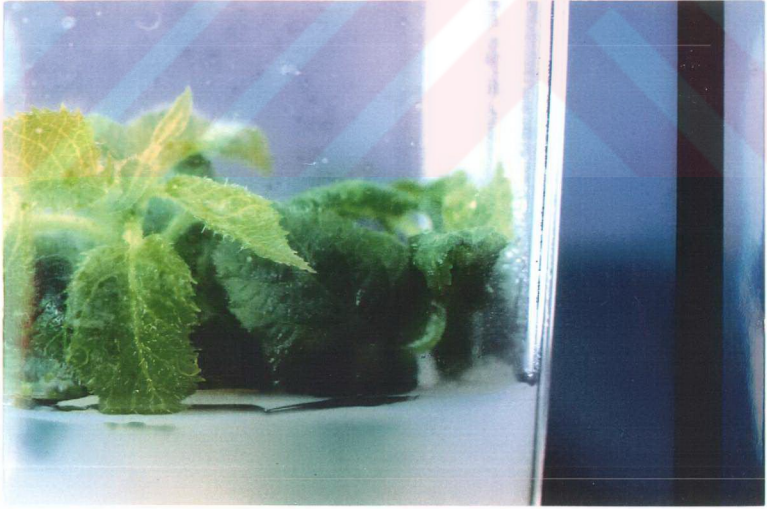
x 2.33





**Resim 32.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  kinetinin etkisi.

x 1.91



**Resim 33.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  kinetinin etkisi.

x 1.78

## 4.2. *İn Vitro* Koşullarda Kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin Farklı Dokularından Kallus ve Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonu Çalışmaları

### 4.2.1. Kivinin Olgun Tohumlarından İtibaren Kallus Oluşturma Çalışmalarında IAA'in Etkisi

Kallustan itibaren bitki rejenerasyonu çalışmalarında, en iyi kallusu elde etmek amacıyla materyal tespiti için öncelikle olgun tohumlar kullanıldı. Her test grubu için onbir materyal kullanıldı.

Bu çalışmada, olgun tohumların testası çatlatılarak (altı adet) ve çatlatılmadan (beş adet) kültüre alınıp, kallus oluşumuna IAA'in 0.5 – 1.0 – 2.0 – 4.0 mg l<sup>-1</sup>lik konsantrasyonlarının etkisi araştırıldı.

Kültüre alındıktan 2 hafta sonra, 0.5 mg l<sup>-1</sup> IAA'li MS besi ortamında çatlatılmamış tohumlarda hiçbir gelişme görülmezken, testası çatlatılmış bir tohumda radikula ile birlikte ilk yaprak çıkışına tanık olundu. 1.0 mg l<sup>-1</sup> IAA'li besi ortamında, testası çatlatılmış üç materyalde, radikula ile birlikte ilk yaprak çıkışı görüldü. Testası çatlatılmamış tohumlarda ise, gelişme belirtisi görülmedi. 2.0 mg l<sup>-1</sup> IAA'li ortamda kültüre alınan materyallerde herhangi bir gelişme görülmezken, bir materyalde enfeksiyon görüldü. 4.0 mg l<sup>-1</sup> IAA'li besi ortamında ise, testası çatlatılarak bırakılan iki tohumda, sadece radikula çıkışına tanık olunurken geriye kalan materyallerde herhangi bir gelişme belirtisine rastlanmadı.

Kültürün 35. gününde, 0.5 mg l<sup>-1</sup> IAA'li besi ortamında, testası çatlatılmamış beş tohumdan bir tanesinde 0.5 cm uzunluğunda, 2 yapraklı bitki geliştiği, testası çatlatılmış altı tohumdan yine sadece bir tanesinde, radikula ile birlikte ilk yaprak gelişimine tanık olundu.

1.0 mg l<sup>-1</sup> IAA'li besi ortamında kültüre alınan tohumlardan testası çatlatılmış üç materyalde gelişme görüldü. Bunlardan iki tanesinin, 0.5 – 1.0 cm uzunluğunda, 4 yapraklı ve 1 nodlu bitkicik oluşturduğu tespit edildi. bir tanesinde ise sadece radikula ile birlikte ilk yaprak oluşumu görüldü.

2.0 ve 4.0 mg l<sup>-1</sup> IAA'li besi ortamında, kültüre alınan materyallerin (testası çatlatılmış-testası çatlatılmamış) tamamında gelişme olmadığı görüldü.

Materyaller 45 gün boyunca kültürde bekletilmelerine rağmen, çimlenen tohumlar dışında, yeni gelişme kaydedilmedi. Özellikle testası çatlatılmış tohumlarda beklenen kallus oluşumu görülmedi. Sonuç olarak, kallus oluşturma çalışmalarında olgun tohumların başlangıç materyali olarak kullanılmasının uygun olmadığı kanısına varıldı.

#### 4.2.2. Kallus Oluşumunda Eksplant Çeşidinin Etkisi Çalışmaları

*In vitro* koşullarda kallus oluşturma ve kallustan itibaren bitki rejenerasyonuna, başlangıç materyalinin etkisi araştırıldı. Bu amaçla, *in vitro* koşullarda elde edilen kivi sürgünlerinin çeşitli doku ve organları izole edildi. Eksplantlar, 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D ile NAA ve BAP'ın 1.0 mg l<sup>-1</sup>lik konsantrasyonları ile kombine edilmiş MS besi ortamında ayrı ayrı kültüre alındı.

1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D'li besi ortamında kültüre alınan gövde eksplantları (0.5 cm), genç yapraklar (yaprak sapı ile birlikte), yaşlı yapraklar, yaprak sapı ve taban kallusunun morfolojik gözlemleri aşağıda verildiği gibi alındı.

20. günde, 0.5 cm uzunluğunda kültüre alınan gövde eksplantlarının tamamında kallus oluşumu gözlemlendi. Oluşan kallus, açık yeşil renkte olup şeffaf ve homojen bir yapı arz etmekteydi. Materyal olarak kullanılan genç yapraklarda renk değişimi ( koyu yeşilden açık yeşile doğru) ve yaprak kenarlarında kıvrılma olduğu görüldü. Kallus yaprak damarlarının üzerinde başlayarak yavaş bir gelişme gösterdi. Yaşlı yaprakların kenarlarında ise kararma ile birlikte çok az miktarda kallus oluşumuna tanık olundu. Yaşlı yapraklarda oluşan kallusun morfolojik olarak, genç yapraklardaki kallustan daha az ve homojen, renginin ise sarımsak olduğu tespit edildi. Materyal olarak kullanılan yaşlı yaprakların orta damarlarındaki kallus gelişimi, az miktarda ve sarımsak renkteydi. Kültüre alınan bir diğer materyal olan yaprak saplarında ise, kallus oluşumundan önce materyallerin tümünde hacim artışı olduğu ve daha sonraki kültür döneminde az miktarda ve açık renkte kallus oluşumu saptandı.

Daha önceki sürgün proliferasyonu çalışmalarında elde edilen taban kalluslarının üçte ikisinde kallus oluşumunun devam ettiği, geriye kalan materyallerde kararma ile birlikte gelişiminin durduğu belirlendi. Oluşan kallusun, açık koyulu yeşil renkte ve taneli bir yapı arz ettiği tespit edildi.

Kallus yoğunluğunun materyal şekline göre değiştiği ve kültüre alındıktan yaklaşık 2.5-3 ay sonra hem yoğunluk hemde morfolojik özellikleri bakımından en iyi kallus oluşumunun gövde eksplantlarında olduğu tespit edildi. Test edilen diğer gruplarda ise kallus oluşumu yoğun miktarda olmasına rağmen organogenesis çalışmalarında başlangıç materyali olarak kullanılacak nitelikte olmadığı sonucuna varıldı. Bu gruplarda oluşan kallusun homojen, açık yeşil renkte ve yumuşak tekstürlü olduğu belirlendi.

1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D'li besi ortamında gövde, yaprak ve yaprak sapları kültüre alınarak, aşağıdaki veriler elde edildi.



Gövde; bir hafta sonra kültüre alınan materyallerin büyük çoğunluğunda, uç kısımlarından itibaren şeffaf, yumuşak tekstürlü ve açık yeşil renkte kallus oluşumu görülürken, geriye kalan materyallerin ise yan kısımlarından itibaren kallus oluşumuna tanık olundu (Resim: 34).

Yaprak; kültüre alınan materyallerin üçte birinde çok az (yoğunlukta) miktarda şeffaf, çok yumuşak tekstürlü ve açık renkte kallus oluşumu tespit edildi (Resim: 35).

Yaprak sapı; materyallerin yarısında az yoğunlukta kallus oluşumu görülürken geriye kalan materyallerde kallus oluşumuna tanık olunmadı (Resim: 36).

Bir haftalık gözlem sonucunda, genel olarak en iyi kallus gelişiminin gövde parçalarında, daha sonra yaprak saplarında ve en son olarak yapraklarda olduğu tespit edildi.

Kültürün 40. gününde, gövde eksplantlarının hepsinde kallus oluşumuna tanık olunurken, bunların bir kısmının kahverengileştiği ve gelişiminin yavaşladığı görüldü.

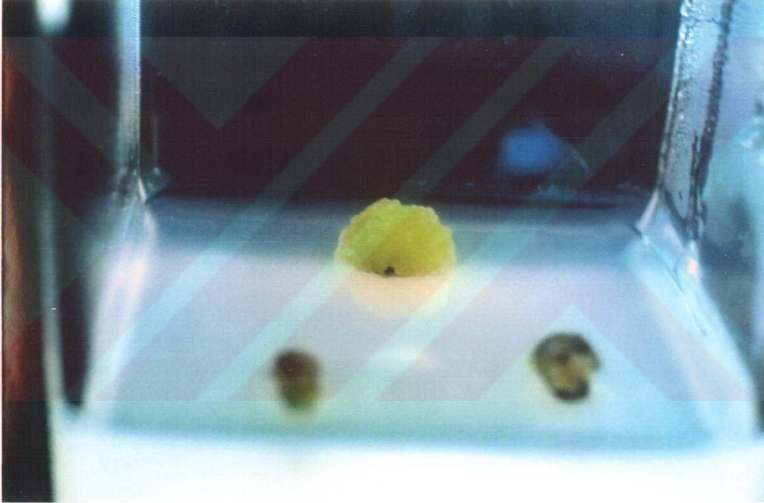
Yaprak; test edilen gruplar içerisinde en yoğun kallus oluşumunun bu grupta olduğu görüldü. Yaprak damarlarının üzerinde başlayan kallus oluşumu, daha sonra yaprağın tümüne yayıldı. Oluşan kallusun homojen bir yapıda ve yeşil renkte olduğu belirlendi. Özellikle en yoğun kallusun, sapları kesilmiş olan büyük yapraklarda olduğu gözlemlendi.

Yaprak sapı; kallus oluşumu, gövde parçalarında oluşan kallustan daha yavaş ve az miktarda idi.

Yapılan çalışma sonucunda bazı test gruplarında istenilen nitelikte kallus elde edilmesine rağmen, organogenezise rastlanmadı. Organogenezisi başlatma amacı ile, 1.0 mg  $\Gamma^1$  BAP + 2.0 mg  $\Gamma^1$  2,4-D'li besi ortamındaki taban kallusundan (Resim: 37) ve 1.0 mg  $\Gamma^1$  NAA + 2.0 mg  $\Gamma^1$  2,4-D'li besi ortamındaki yaprak eksplantlarından elde edilen kallus, hormon içermeyen ve 1.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı besi ortamında alt kültüre alındı.

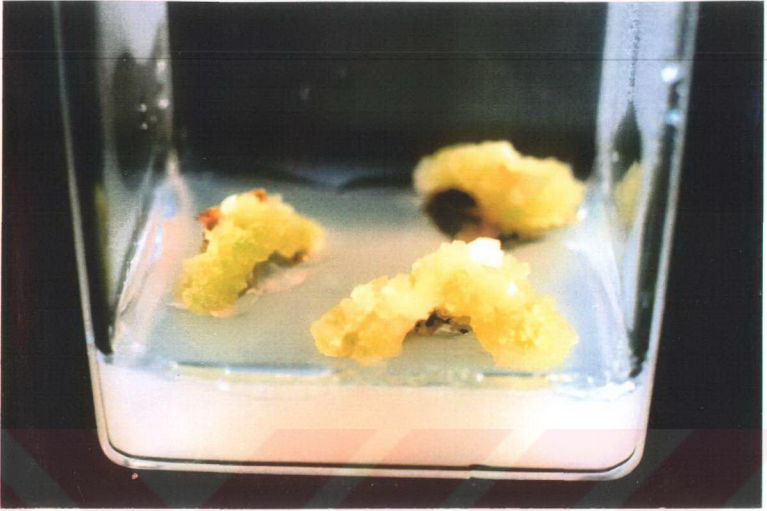
1.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı ortamda alt kültüre alınan kallusların gelişim hızı 1.5-2 ay çok yavaş olup, daha sonraki kültür döneminde ise gelişimin hızlandığı gözlemlendi. Gelişimin hızlanmasıyla birlikte kallusta morfolojik farklılıklar da (sert tekstürlü, koyu yeşil ve taneli) görüldü. Kültüre alındıktan yaklaşık 2.5 ay sonra taban kallusu hariç materyallerde gelişimin çok yoğun bir şekilde devam ettiği, oluşan kallusun ise sert tekstürlü koyu yeşil ve taneli bir yapıda olduğu tespit edildi. Taban kalluslarında ise gelişimin yavaşlayarak karardığı belirlendi. Hormonsuz ortamda kültüre alınan kalluslar, 1.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı ortamdaki kallus ile karşılaştırıldığında gelişimin daha yavaş ve kallus yoğunluğunun daha az olduğu görüldü. Kültüre alınan materyallerin bir çoğunda kahverengileşme ile birlikte kararırma belirlendi.

1.0 mg  $\Gamma^{-1}$  BAP'lı besi ortamında kültüre alınan materyallerden çok yoğun ve istenilen kallus elde edilmesine rağmen, organogenezise rastlanmadı (Resim: 38). Bu nedenle elde edilen kalluslar, bir sonraki bölümde anlatılacağı gibi, kallustan itibaren bitki rejenerasyonu elde etmek amacıyla BAP'ın yüksek oranlarının bulunduğu MS besi ortamlarında alt kültüre alındı.

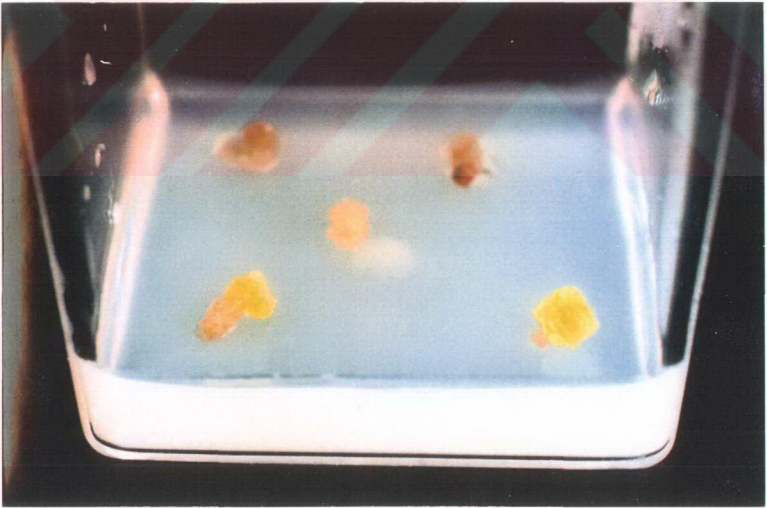


Resim 34. 1.0 mg  $\Gamma^{-1}$  NAA + 2.0 mg  $\Gamma^{-1}$  2.4-D'li besi ortamında kültüre alınan gövde parçalarında kallus oluşumu. x 2.33

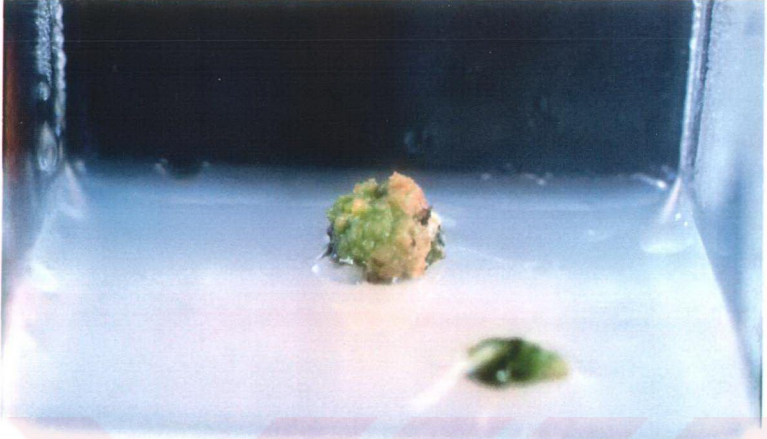




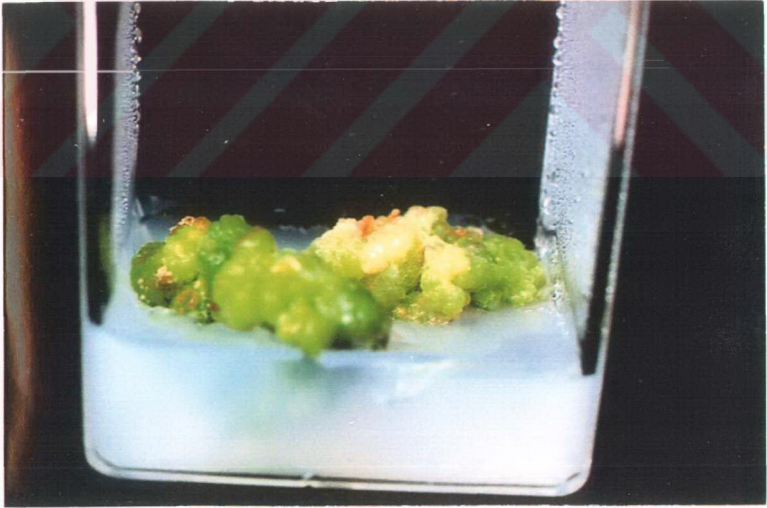
Resim 35.  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  NAA +  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D'li besi ortamında kültüre alınan yapraklarda kallus oluşumu. x 1.83



Resim 36.  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  NAA +  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D'li besi ortamında kültüre alınan yaprak saplarında kallus oluşumu. x 2.00



Resim 37.  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP +  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D'li besi ortamında kültüre alınan taban kallusunun genel görünüşü. x 2.46



Resim 38.  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü. x 1.68

#### 4.2.3. Kallustan İtibaren Bitki Rejenerasyonuna BAP Konsantrasyonlarının Etkisi

Önceki çalışmalarda, 1.0 mg  $\Gamma^1$  NAA + 2.0 mg  $\Gamma^1$  2,4-D ve 1.0 mg  $\Gamma^1$  BAP + 2.0 mg  $\Gamma^1$  2,4-D'li ortamda elde edilen kallusların bir kısmı 1.0 mg  $\Gamma^1$  BAP içeren besi ortamında alt kültüre alındı. Ancak herhangi bir organogenezis izine rastlanmamıştı. Bu nedenle, kallustan itibaren bitki rejenerasyonuna BAP'ın yüksek oranlarının etkisi test edildi.

Materyaller kültüre alındıktan 20 gün sonra, özellikle 8.0 mg  $\Gamma^1$  BAP bulunan kültür kaplarında yoğun olmak üzere, bütün test gruplarında kallus gelişiminin devam ettiği görüldü.

Kültüre alındıktan 1.5 ay sonra 2.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı besi ortamının bulunduğu 3 kültür kabında sarımsak renkte, yarı homojen- yumuşak tekstürlü yoğun kallus oluşumu gözlemlendi (Resim: 39). Gelişen kallusların bir bölümünde, taban kısmından itibaren kahverengileşme tespit edildi.

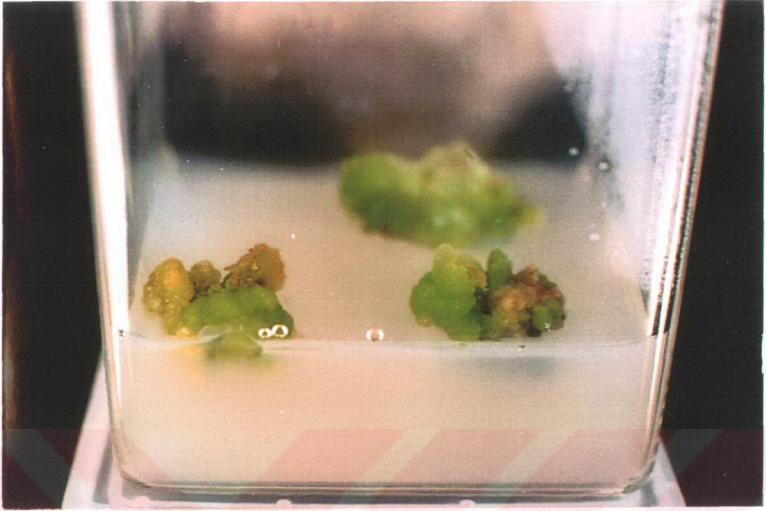
4.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı MS besi ortamının bulunduğu 4 kaptaki yoğun kallus oluşumu görüldü. Oluşan kallus açık yeşil, yumuşak tekstürlü ve homojen olup 6.0 - 8.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'ta gelişen kalluslardan farklı morfolojik yapıya sahipti (Resim: 40).

6.0 mg  $\Gamma^1$  BAP ile desteklenmiş MS besi ortamının bulunduğu 3 kültür kabında, yoğun, sert tekstürlü, koyu yeşil renkte ve taneli yapıda kallus gelişimi, 2 kaptaki ise kallus gelişimi yavaş, yumuşak tekstürlü ve homojen yapıdaydı (Resim: 41).

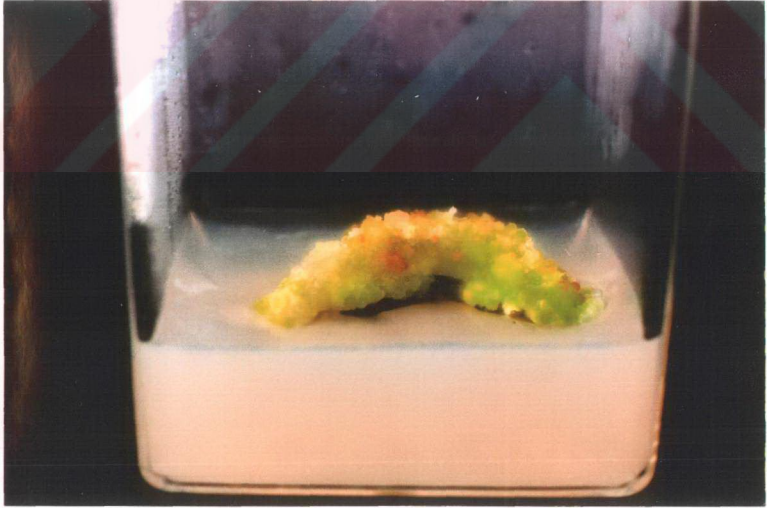
8.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı MS besi ortamının bulunduğu 4 kültür kabında çok yoğun koyu yeşil renkte, taneli, sert tekstürlü kallus gelişimi tespit edildi (Resim: 42). 2 kaptaki ise açık yeşil renkte, yumuşak tekstürlü, homojen ve az yoğunlukta kallus gelişimi görüldü.

Yapılan çalışma sonucunda en yoğun kallus gelişiminin 6.0-8.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı MS besi ortamlarında olduğu, ancak organogenezis gelişiminin görülmediği tespit edildi. Bu nedenle her test grubunda gelişen kalluslardan bir kısmı kültürde bekletilirken, diğer bir kısmı ise aynı hormon oranlarının bulunduğu besi ortamlarında alt kültüre alındı.

Kültürde bekletilen kalluslar ise, 3 hafta sonra kendi ortamlarında alt kültüre alındı. Kallusların alt kültürü yapılırken 6.0 ve 8.0 mg  $\Gamma^1$  BAP'lı besi ortamlarında sürgün gelişimi tespit edildi.

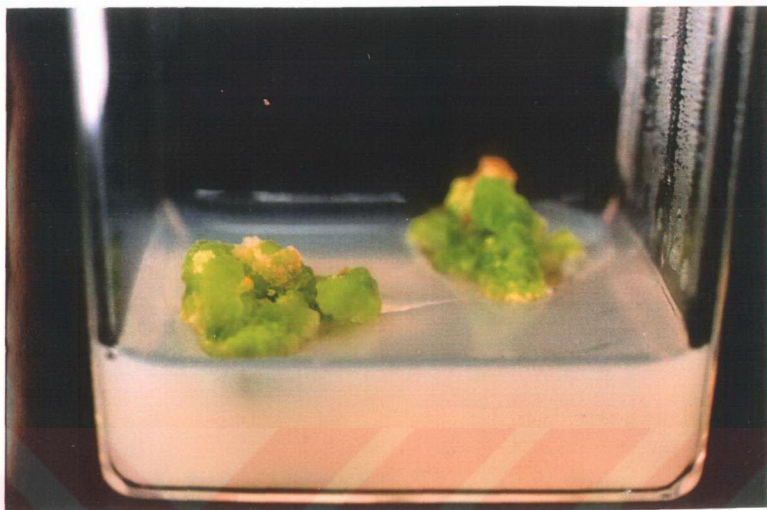


Resim 39. 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü. x 1.80

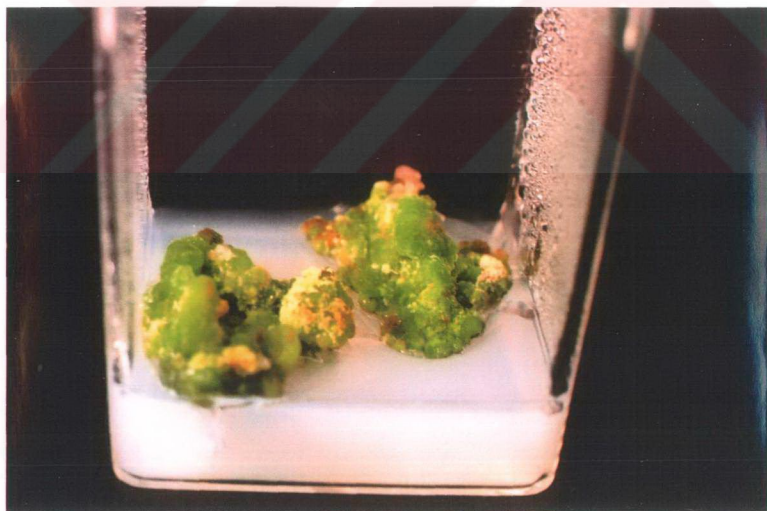


Resim 40. 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü. x 1.75





Resim 41. 6.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü. x 2.01



Resim 42. 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü. x 1.48



BAP'ın yüksek oranlarında alt kültüre alınan kallusların 2 ay sonraki gözlem sonuçları aşağıda verildiği gibidir.

2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kültüre alınan 18 materyalden iki tanesinde kallustan itibaren organogenezis gelişimine rastlandı. Bunlardan bir tanesi 3 yapraklı, 0.5 cm uzunluğunda minik sürgün, diğeri ise yaprak taslağı şeklinde idi (Resim: 43). sekiz materyalde koyu yeşil, taneli ve yoğun kallus gelişimi görüldü. altı materyalde ise kallus gelişimi, yok denecek kadar az ve kahverengileşme olduğu belirlendi. Geriye kalan materyallerde, kallus gelişiminin çok yavaş olduğu görülerek, test edilen gruplar arasında kallus ve sürgün gelişiminin en az bu grupta olduğu saptandı.

4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kültüre alınan dört materyalde kallustan itibaren organogenezise rastlandı. Bunlardan üç tanesi minik sürgün taslağı şeklinde idi. Bu ortamda gelişen sürgünlerin, 6.0 ve 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda gelişen sürgünlerden daha sonra geliştiği tespit edildi. Test edilen gruplar içerisinde gerek yoğunluk ve gerekse nitelik bakımından en iyi kallus gelişimi (onbir materyalde aşırı yoğun kallus oluşumu) bu grupta elde edildi. Oluşan kallusun açık- koyu yeşil, taneli ve sert tekstürlü olduğu, bunun yanında bazı materyallerde kallusun renginin pembeleştiği belirlendi (Resim: 44).

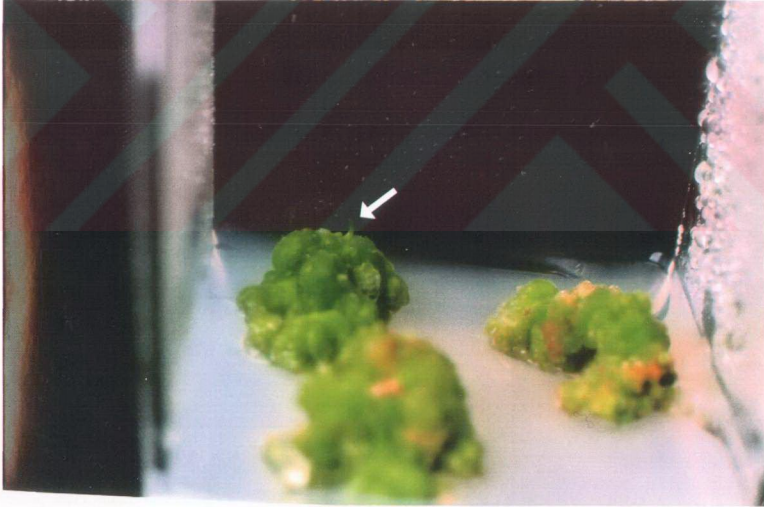
6.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kültüre alınan kalluslardan üç tanesinde sürgün gelişimi tespit edildi. Bunlardan iki tanesinin 3 büyük yapraklı, bir tanesinin ise tek yapraklı olduğu gözlemlendi (Resim: 45). Bu grupta oluşan sürgünlerin yaprakları, 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında oluşan sürgün yapraklarından daha büyük ve koyu yeşil olduğu saptandı. sekiz materyalde ise taneli, koyu yeşil, sert tekstürlü yoğun kallus gelişimi görülürken bu grupta kallus yoğunluğunun 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında oluşan kallusa nazaran daha az yoğunlukta olduğu belirlendi. Yoğun kallus oluşumu görülen materyallerde organogenezise rastlanmadı. Geriye kalan materyallerde ise kallus gelişimi yok denecek kadar az olup, dört materyalde kahverengileşme görüldü.

8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kültüre alınan materyallerden beş tanesinde organogenezise tanık olundu. Bunlardan dört tanesi tek yapracık halinde iken bir tanesi ise yaklaşık 1.0 cm uzunluğunda, 4 yapraklı bir sürgün olduğu gözlemlendi (Resim: 46). Sürgün oluşturan kalluslarda gelişim oldukça yavaş olup, materyallerin taban kısımlarında kahverengileşme görüldü. beş materyalde kallusun, taneli koyu yeşil, sert tekstürlü ve yoğun geliştiği belirlendi. Bu materyallerde sürgün gelişimi veya organogenezise rastlanmadı.

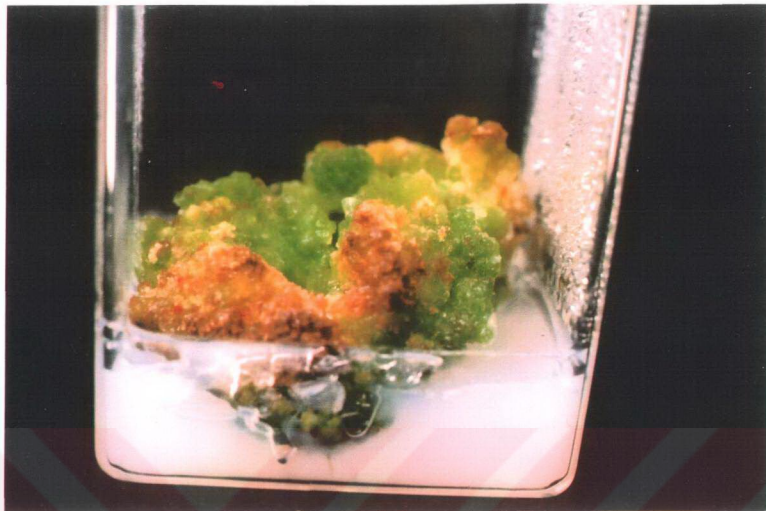
Yukarıda belirtilen oranlarda oluşan kallus ve kallustan gelişen sürgün taslaklarının gelişiminin, belli bir süreden sonra yavaşlayarak, durduğu tespit edildi. Bu sebeple, sürgün

taslakları kallustan izole edilerek yeni bir besi ortamına (  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ) aktarıldı (Resim: 47). Alt kültür işlemi yapılırken, yukarıda belirtilen verilere ilave olarak, çok sayıda sürgün gelişimine rastlandı. Oluşan mikro sürgünler, yoğun kallusun arasında ve dışardan görünmeyecek şekilde bulunuyordu. Bu durumda bulunan sürgünler, özellikle çok yoğun kallus oluşturan,  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı MS besi ortamında olduğu tespit edildi. Bu besi ortamında, bir materyalde, kallusun içinde gizlenmiş halde yaklaşık 14 tane minik sürgüne rastlandı. Tüm test gruplarında, kallustan itibaren toplam onaltı materyalden, 30 adet sürgün veya sürgün taslağı elde edildi. Kallustan izole edilen bu sürgünler, çoğaltma amacı ile  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı MS besi ortamına aktarılarak gelişmeye bırakıldı.

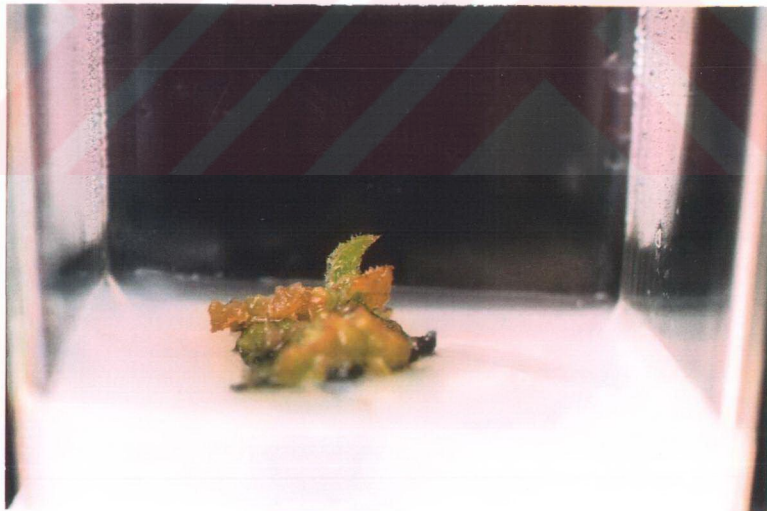
Sonuç olarak, kallustan itibaren bitki rejenerasyonu çalışmalarında, en iyi sürgün ve en yoğun kallus gelişiminin  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP ile desteklenmiş MS besi ortamlarında olduğu saptandı.



**Resim 43.** 2. alt kültür sonrasında  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu. x 2.01



Resim 44. 2.alt kültür sonrasında 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu. x 1.58

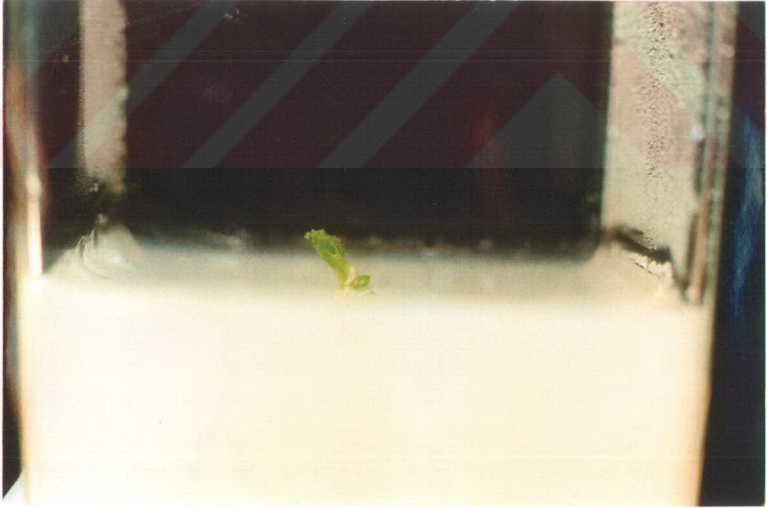


Resim 45. 2.alt kültür sonrasında 6.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu. x 2.38





**Resim 46.** 2.alt kültür sonrasında  $8.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu. x 2.03



**Resim 47.** 2.alt kültür sonrasında kallustan gelişen mikro sürgünlerin  $1^{-1}$  BAP'lı besi ortamına aktarılmış hali. x 2.25

### 4.3. *İn Vitro* Koşullarda Elde Edilen Kivi (*Actinidia deliciosa*) Sürgünlerinin Köklendirilme Çalışmaları

*In vitro* koşullarda elde edilen kivi sürgünlerinin köklendirilmesinde NAA'nın 0.5 – 1.0 – 2.0 mg l<sup>-1</sup> lik konsantrasyonları, bir kontrol grubu ile birlikte, ayrı ayrı test edildi.

Sürgünler, kültüre alındıktan 5 gün sonra 2.0 mg l<sup>-1</sup> NAA bulunan kültür kaplarından bir tanesinde enfeksiyon görüldü. Kültür süresi boyunca, sürgünlerdeki kök oluşumu aşağıda verildiği gibi gözlemlendi.

3 hafta sonra özellikle 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA'li besi ortamındaki materyallerde ilk kök belirtileri tespit edildi. Geriye kalan materyallerde herhangi bir kök gelişimi görülmezken gövde kısımlarında küçük kabartıların oluştuğu belirlendi.

Kültürün 8. haftasında 0.5 mg l<sup>-1</sup> NAA'li besi ortamında kültüre alınan sürgünlerden bir tanesinde taban kallusu görülürken, kök oluşumuna rastlanmadı. Geriye kalan materyallerden iki tanesinde 3.0 - 4.5 cm uzunluğunda primer kök, 2-3 tane cılız sekonder kökler görülürken, kallus oluşumuna tanık olunmadı. Dört materyalde 2.5 - 4.0 cm uzunluğunda ince primer kök oluşurken, sürgünlerin taban kısmında çok az kallus oluşumu görüldü. Bir materyalde 0.5 - 2.0 cm uzunluğunda 3-4 tane primer kök oluşurken, kallus oluşumu gözlenmedi. İki materyalde, 2.5 - 4.0 cm uzunluğunda primer kök ve bunun yanında 5-10 tane sekonder kök oluşumu tespit edilirken bu sürgünlerde kallus oluşumuna rastlanmadı. Bir materyalde ise çok sayıda sekonder ve primer kök (12 cm) görülürken, taban kallusunun çok az miktarda olduğu belirlendi.

1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA'li besi ortamında kültüre alınan sürgünlerden bir tanesinde taban kallusu gözlemlendi, ancak kök oluşumuna rastlanmadı. İki materyalde 2.0 - 4.0 cm uzunluğunda primer köklerin yanında zayıf sekonder kökler görüldü. Bu materyallerde kök oluşumunun yanı sıra kallus oluşumu da saptandı. İki materyalde, 3.0 - 7.0 cm uzunluğunda kalın primer kök ve ince sekonder kökler elde edildi. Bu materyallerde kallus oluşumu az miktardaydı. İki materyalde 10 - 15 cm uzunluğunda çok sayıda primer ve sekonder kök oluşumu tespit edildi. Bu materyallerde taban kallusu yok denecek kadar az miktardaydı. İki materyalde 0.5 - 2.5 cm uzunluğunda primer ve sekonder kökler tespit edilirken az miktarda taban kallusu oluşumu görüldü. Bir materyalde, çok sayıda sekonder ve primer kökler (3.0-9.0 cm) oluşurken taban kallusunun az yoğunlukta olduğu belirlendi. Diğer bir materyalde ise 1.0 - 3.0 cm uzunluğunda zayıf sekonder kökler görülürken kallus gelişimi gözlenmedi.



2.0 mg l<sup>-1</sup> NAA'li besi ortamında kültüre alınan sürgünlerden bir tanesinde 1.0 - 3.0 cm uzunluğunda primer kök görülürken sekonder kök oluşumunun çok zayıf olduğu belirlendi. Bu materyalde taban kallusu oluşumuna rastlanmadı. Bir materyalde, 4.0 - 6.0 cm uzunluğunda primer kökler görülürken, çok sayıda sekonder kök oluşumu da tespit edildi. Diğer bir materyalde ise, 6.0 - 8.0 cm uzunluğunda, 3-4 tane primer kökün yanı sıra çok zayıf sekonder kökler görüldü. Bu materyalde taban kallusu oluşumu yok denecek kadar az miktardaydı.

Hormon içermeyen besi ortamında kültüre alınan sürgünlerde ise, 4.0 - 6.5 cm uzunluğunda zayıf primer kök oluşumu belirlenirken, taban kallusuna rastlanmadı.

Genel olarak, test edilen tüm gruplarda zayıf da olsa kök oluşumu tespit edildi. Ancak gerek primer gerekse sekonder köklerin sayısı ve gelişimi bakımından, 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA'in en iyi kültür besi ortamı olduğu saptandı (Resim: 48). Bu oranda çok sayıda, toprağa aktarılabılır nitelikte köke sahip fidecikler elde edildi.



**Resim 48.** 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA'li besi ortamında kültüre alınan kivi sürgünlerinin köklenmiş hali. x 1.91

#### 4.4. *İn Vitro* Koşullarda Elde Edilen Kivi (*Actinidia deliciosa*) Fidelerinin Toprağa Adaptasyonu

*İn vitro* ortamda elde edilen köklü fidelerden 7 tanesinin toprağa adaptasyonu, aşamalı olarak, aşağıda belirtildiği gibi yapıldı.

-*İn vitro* koşullarda kök oluşturan fideler, kültür kaplarından çıkarılıp musluk suyunda iyice yıkanarak jelozdan arındırıldı.

-Turbiyer toprağın bulunduğu saksılar bolca sulandı ve köklü fideler, hazırlanan bu saksılara ekildi. Hava almayacak şekilde saksıların üzeri plastik torbalar ile kapatıldı.

-Saksılara ekimi yapılan fideler, 16/8 fotoperiyoda  $25\pm 2$  °C'deki kültür odasında gelişmeye bırakıldı.

-3. gün saksıların üzerini örten plastik torbalarda küçük delikler açıldı. Bu sayı 9. güne kadar aşamalı olarak artırıldı.

-9. gün saksıların üzerindeki plastik torbalar 5 dakika süre ile komple çıkarıldı. Toprağa adaptasyonu sağlanmak istenen fidelerden, 2 tanesinde enfeksiyon görüldüğünden kültür odasından çıkarıldı. Geriye kalan fidelerin adaptasyonunda herhangi bir problem görülmeyerek, üzerindeki torbaların çıkarılma süresi 21. güne kadar kademeli olarak artırıldı.

-21. gün plastik torbalar tamamen çıkarıldı ve 5 adet saksı ekvator odasında büyümeye bırakıldı (Resim: 49, 50).

-Ekvator odasında yaklaşık bir ay kadar muhafaza edilen fidelerin 4 tanesinde, 3-6 cm kadar uzama ve yeni yaprak çıkışı ile birlikte bitkide komple bir büyüme gözlemlendi. 1 tanesinde ise gelişmenin çok yavaş ve yapraklarında sararma olduğu tespit edildi.



Resim 49. Doğal şartlara adapte olmuş Kivi fidelerinin görünüşü. x 0.58



Resim 50. Doğal şartlara adapte olmuş Kivi fidelerinin görünüşü. x 0.50

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, olgun tohum ve yaşlı dokular kullanılarak, pıkan cevizi çeşidi için uygun sterilizasyon ve *in vitro* çoğaltma tekniği geliştirildi.

Ayrıca, kiviğin olgun tohumları kullanılarak *in vitro* çoğaltma tekniği ve yaprak kalluslarından itibaren bitki rejenerasyonu metodları geliştirildi.

Virüsten arı stokları üretmek için virüs ile bulaşık olmayan tohumlar, kök stokları olarak kullanılmaktadır (Babaoğlu, Gürel, Özcan 2000). Bu görüşten yola çıkarak, tohumdan çoğaltılan kivi sürgünleri, aşılama çalışmalarında sağlıklı anaç olarak kullanılmak üzere, metod geliştirilmiştir.

Pıkan cevizinin olgun tohumlarından itibaren mikroçoğaltma çalışmalarında, kültür başlatılması aşamasında en iyi sonuç  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP içeren MS besisi ortamında elde edildi.

Smith ve Storey (1978),  $0.5 \text{ mg l}^{-1}$  IAA ve izopentil adenin içeren MS besisi ortamında, pıkan cevizinin sürgün uçlarını kültüre almışlar ve çoğaltmayı başaramadıklarını rapor etmişlerdir.

Knok ve Smith (1980, 1981), pıkan cevizinin Riverside kültür varyetesinde, 5 cm'lik uç kısmını kültüre aldıklarını ve ancak 11 hafta sonra sürgünleri elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Wood (1982), Stuart kültivarının tohumlarını serada 4 hafta çimlendirdikten sonra, buradan bir tomurcuk içeren eksplantları kültüre almış ve  $4 \text{ mg l}^{-1}$  BA ve  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  IBA'li ortamda sınırlı sayıda sürgün proliferasyonu elde ettiğini rapor etmiştir. Araştırmacı, bunların alt kültüründe de başarısız olduğunu bildirmiştir.

Yine Lazerta (1983, 1984), pıkanın mikroçoğaltılmasında, başarının ancak 2 aylık fidelerden alınan eksplantlardan elde edilebileceğini bildirmiştir.

Meyve türleri ve özellikle de sert kabuklu türlerin mikroçoğaltımı oldukça zordur (Hansman ve Novoa, 1986). Biz de, sert kabuklu bir meyve türü olan pıkan cevizinin yaşlı (18) ağaçlarından aldığımız lateral ve apikal tomurcukları, 1 yıl boyunca sitokinin içeren MS besisi ortamında kültüre aldık. Vejetasyonun hızlı olduğu nisan ayında,  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  kinetin içeren MS besisi ortamında kültüre alınan lateral tomurcuklardan itibaren tek sürgün gelişimi ile sınırlı kalan bir sonuç elde ettik. Bu sürgünlerin alt kültüre alınmasında ise başarılı olmadık. Sonuçta, araştırmacıların belirttiği gibi, pıkan cevizinin ürün veren ağaçlarından itibaren mikroçoğaltımın oldukça zor olduğu sonucuna vardık.



İkinci bölüm biyoteknolojik çalışmalarımızda, *in vitro* koşullarda, kivi tohumlarının çimlendirilmesi ve mikroçoğaltılması olanakları araştırıldı.

**Mancalon ve ark. (1999)**, *Actinidia deliciosa* sürgünlerinin *in vitro* ortamda çoğaltılmasında sitokininlerin etkisini araştırmışlar. Çalışmada sürgünler kültür ortamına alındıktan 0, 0.5, 1, 2, 8 ve 16 saat sonra BA, zeatin ve makro elementlerin bitki tarafından alınması ve metabolizmasını ölçmüşler. Sonuçta kivi eksplantlarının kültür ortamında gelişebilmesi için içsel sitokininlerin yeterli olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca MS besi ortamının mineral elementler bakımından yeterli olduğunu tespit etmişlerdir. Biz de yaptığımız çalışmada kivi sürgünlerinin hormon içermeyen MS besi ortamında çok zayıf geliştiğini, sitokinin (BAP ve kinetin) içeren, özellikle 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı ortamda sürgün proliferasyonunun çok daha iyi sonuç verdiğini saptadık. Araştırmacının belirttiği gibi, kivi sürgünlerinin proliferasyonu için besi ortamına mutlak suretle bir sitokinin ilavesinin gerekliliğini tespit ettik.

Kivinin farklı dokularından itibaren kallus ve kallustan bitki rejenerasyonu ile ilgili çalışmalara gelince: **Centeno ve ark. (1999)**, *Actinidia deliciosa*'nın dokularından kallus oluşumu süresince, IAA ve NAA'in alınması, dağılması ve metabolizmasını araştırmışlar. Yaprak petiyollerini kültüre aldıktan 1, 6, 12, 24, 48 ve 96 saat sonra besi ortamındaki IAA ve NAA miktarını ölçmüşler ve petiyollerden itibaren kallus oluşturmada NAA ve BA'nın gerekli olduğunu rapor etmişlerdir. Yine **Gonzalez ve ark. (1995)**, *in vitro* çoğaltılan kivi bitkisinden alınan petiyollerin 0.1 mM IAA- 4.5 mM zeatin içeren %2 sakkarozlu Cheng's K (h) besi ortamında çok iyi kallus oluşturduğunu ve kallustan daha sonra sürgün tomurcuğu oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Biz de, kivinin yaprak, gövde ve petiyollerini 1.0 mg l<sup>-1</sup>NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D ve 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D içeren MS besi ortamlarında kallus oluşturma çalışmaları yaptık ve 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2,4-D'li ortamda, tüm eksplantlardan BAP'lı ortama nazaran daha yoğun ve nitelikli kallus oluşturduk. Ancak test edilen eksplantlar arasında yaprakların, petiyollerden daha fazla kallus oluşturduğunu tespit ettik.

**Raquel ve Oliveira (1996)**, kivinin yaprak protoplastlarını kullanarak bitki rejenerasyonu çalışmaları yapmışlar ve 1.5 mg/l zeatin + 0.05 mg/l IAA içeren MS besi ortamına bırakılan sürgünlerin yapraklarında kallus oluştuğu ve kallustan itibaren sürgünlerin rejenere olduğunu rapor etmişlerdir. **Mii ve Ohashi (1988)** kivinin yapraklarının BAP + NAA içeren besi ortamında kallus oluşturdıklarını ve kallustan izole ettikleri protoplastlarından itibaren zeatin içeren besi ortamında rejenere sürgünler elde ettiklerini bildirmişlerdir.



Biz ise, kivinin genç ve yaşlı yapraklarından  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  NAA +  $2.0 \text{ mg l}^{-1}$  2,4-D içeren besi ortamında çok yoğun kallus elde ederek  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı ortamda da çok sayıda rejenerasyon sürgün oluşturmayı başardık. Yaptığımız çalışmada kallus oluşturmak için NAA ve 2,4-D hormon kombinasyonunun 2,4-D ve BAP kombinasyonundan daha iyi sonuç verdiğini tespit ettik.

**Machno ve Przywara (1997)**, *Actinidia* türlerinin olgun endosperm dokusundan itibaren en iyi kallusun  $2-4 \text{ mg/l}$  2,4-D +  $5 \text{ mg/l}$  kinetin bulunan besi ortamında oluştuğunu, oluşan kallusun ise  $0.3 \text{ mg/l}$  IAA +  $5.0 \text{ mg/l}$  2İP ortamında kök ile birlikte sürgün (2 adet) elde ettiğini rapor etmişlerdir.

**Ludvova ve Ostrolucka (1988)**,  $1 \text{ mg/l}$  BAP +  $1 \text{ mg/l}$  GA<sub>3</sub> MS besi ortamında, *Actinidia chinensis*'in kallusundan itibaren bitki rejenerasyonunu başardıklarını bildirmişlerdir. Yine **Oliveira ve ark. (1994)**, *Actinidia deliciosa* var. *Deliciosa* cult. Hayward kivi çeşidinin  $0.025 \text{ mg/l}$  IAA +  $1.5 \text{ mg/l}$  zeatin içeren ortamda oluşan kallustan sürgünler elde ettiklerini rapor etmişlerdir.

Biz ise, yaptığımız çalışmalarda, sadece BAP içeren MS besi ortamında kültüre aldığımız kallustan çok sayıda (30 adet) rejenerasyon sürgün elde ettik. Özellikle  $4.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'ın hem kallus hemde sürgün rejenerasyonunda çok iyi sonuç verdiğini saptadık.

## 6. KAYNAKLAR

**ADİYAMAN, F., 1998.** *Vitis vinifera* L.cv. Perle de Csaba'nın gövdelerinin, çiçek durumlarının ve lateral tomurcuklarının proliferasyon kapasitelerinin, yılın değişik zamanlarına göre *in vitro* şartlarda karşılaştırılması araştırmaları. Yüksek lisans tezi. D.Ü.F.B.E. Diyarbakır.

**ADRIANI, M., PICCIONI, E., STANDARDI, A., 2000.** Effect of different treatments on the conversion of 'hayward' kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of *in vitro* –derived buds. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science . Vol, 28, Iss, 1, pp 59-67.

**AKÇA, Y., 2001.** Türkiye Ceviz Yetiştiriciliğine Genel Bakış. Gaziosman paşa Üniv. Ziraat Fakültesi. Bahçe Bitkileri Bölümü, Tokat.

**BABAOĞLU, M., GÜREL, E., ÖZCAN, S., 2002.** Bitki biyoteknolojisi-1, Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı yayımları, Konya.

**BAŞARAN, D., 1980.** *Nicotiana tabacum* L.cv. Siirt'in pistil ve stamenlerinden *in vitro* olarak elde edilmesi araştırmaları. TBTA VII. Bilim Kongresi İzmir.

**BAŞARAN, D., 1990.** Bitki Doku Kültürleri Ders Kitabı. Dicle üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Yayınları, Yayın No:14.Diyarbakır.

**BAŞARAN, D., ÇOLAK, G., NAMLI, O., YÜCEL, S., 1991.** Recherches sur l'obtention des plantes diploides en *in vitro* a partir des pistils de *Nicotiana rustica* L. Plant Biotechnology, Acta Horticulturae 289, 215-216.

**BURNS, J.A., WETZSTEIN, H.Y., 1994.** Storage reserves in pecan somatic embryos derived from suspension culture. Plant Science, 102 (2); 213-219.

**BURNS, J.A., WETZSTEIN, H.Y., 1995.** Development and germination of pecan somatic embryos derived from liquid culture. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*.31 (2): 72-78.

**CANHOTO, J.M., CRUZ, G.S., 1987.** *In vitro* multiplication of *Actinidia chinensis* plant by culture of young leaves. *Bol. Soc. Brot. Sér. 2*, 60: 239-252.

**CENTENO, M.L., FERNANDEZ, B., FEITO, I., RODRIGUEZ, A., 1999.** Uptake, distribution, and metabolism of 1-naphthaleneacetic acid and indole-3-acetic acid during callus initiation from *Actinidia deliciosa* tissues. *Journal of plant Growth Regulation*, 18 (2): 81-88.

**CHEEMA, G.S., MEHRA, P., 1982.** Morphogenesis in endosperm cultures. In Fujiwara, A. (Ed.) *Plant tissue culture 1982. Proceedings of the 5 th international congress of plant tissue and cell culture*, Japan. Japanese Association for plant tissue culture (pp. 111-112) xxvi +839pp.

**CHRISPEELS, M.J., SADAVA, D.E., 1994.** *Plants, Genes and Agriculture.*, pp. 58-81, Jones and Barlett Publishers, London, UK.

**CROWHURST, R.N., WHITTAKER, D., GARDNER, R.C., 1992.** The genetic origin of kiwifruit. II. International Symposium on Kiwifruit, *ISHS Acta Horticulturae*, 297.

**ÇOLAK, G., 1994.** Biyoteknolojik yöntemlerle *Impatiens walleriana* var. Sultanii ve *Nicotiana rustica* L gövdelerinin mikropropagasyonu, *Nicotiana rustica* L pistillerinden çiçek, anterlerinden n ve 2n kromozomlu homozigot diploid bitkiler oluşturulması araştırmaları. D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi. Diyarbakır.

**DIAZ, T., IGLESIAS, I., GONZALEZ, E., 1988.** Influence of cold storage (4C) and Auxin Application on the Rooting Chestnut Cuttings. *Acta Hort*, 227: 272-274.

**DONG, P., SHENG, X., 1998.** Mini shoot scion proliferation in vitro of precocious walnut cultivars. *Forest Res.* 1998, 11: 350-354.

**DRIVER, J.A., KUNIYUKI, A.H., 1985.** In vitro propagation of paradox walnut rootstock. Hort. Sci. (1984), 19 (4): 507-509 (Hort Abst. 55 (1):140).

**FARAÇLAR, E., 1988.** Pikan Yetiştiriciliği. Antalya Narenciye Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, 80s.

**FRASER, L.G., HARVEY, C.F., KENT, J., 1992.** Ploidy manipulations of kiwifruit in tissue culture. II. Internatioanl symposium on kiwifruit, ISHS. Acta Horticulturae, 297, vol 2.

**GAUTHERET, R.J., 1959.** La Culture des tissus vegetaux, 1 vol, masson Ed. Paris, 863 pp

**GONZALEZ, M.V., REY, M., RODRIGUEZ, R., 1995.** Plant regeneration from petioles of kiwifruit microshoots. Hort Science, Vol 30, Iss 6, pp 1302-1303.

**GRUSELLE, R., BOXUS, P., 1990.** Walnut micropropagation. Acta Hort. 284, 1990. Walnut production: 45-52.

**HANSEN, K.C., LAZARTE, J.E., 1982.** In vitro propagation of pecan (*Carya illinoensis*). Abstract no. 1093 Hort. Science 17, 487.

**HANSEN, K.C., LAZARTE, J.E., 1984.** In vitro propagation of pecan seedlings. Hort. Science 19, 237-239.

**HANSMAN, D., NOVOA, D., 1986.** Micropropagation of temperate nut trees. Hort. Abst. Vol 56, No: 6, 404-413

**HARTMAN, H.T., KESTER, D.E., 1975.** Plant propagation – principles and practices. Prentice-Hall. Inc., New Jersey.

**HIRSCH, A.M., LONGEON, A., GUYOT, M., 2002.** Fraxin and esculin: two coumarins specific to *Actinidia Chinensis* and *A. deliciosa* (kiwifruit). Biochemical Systematics and Ecology. Vol 30, Iss 1, pp 55-60.

**HIRSCH, A.M., FORTUNE, D., XIAO, X.G., BLANCHET, P., 1992.** Somaclonal variations related to kiwifruit micropropagation, study of fruitful male plants and use of peroxidase as an early sex marker. II. Internatioanl symposium on kiwifruit, ISHS. Acta Horticulturae, 297. vol 2.

**HUANG, H., FERGUSON, A.R., 2001.** Kiwifruit in China, New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 29 (1); 1-14.

**HUTCHINSON, S.F., ZİMMERMAN, R.H., 1987.** Tissue culture of temperate fruit and nut trees. Hort. Rev. Vol. 9: 272-349.

**IGLESIAS, I., DIAZ, T., GONZALEZ, E., 1988.** Effect of dormancy on the rooting of chestnut cuttings. Acta Hort, 227: 173-175.

**INFANTE, R., ROTANDI, A., MORINO, G., FASOLO, F., 1994.** Solar lighth effects on growth, net photosynthesis, and leaf morphology of *in vitro* kiwifruit (*Actinidia deliciosa* cv. Hayward ). In Vitro Cellular & Developmenthol Biology –Plant, vol 30p, Iss 3, pp 160-163.

**İŞİKALAN, Ç., 1997.** *Vitis vinifera* L.cv. Alphonse'un gövdelerinin, çiçek durumlarının ve lateral tomurcuklarının proliferasyon kapasitelerinin, yılın değişik zamanlarına göre *in vitro* şartlarda karşılaştırılması araştırmaları. Yüksek lisans tezi. D.Ü.F.B.E. Diyarbakır.

**İŞİKALAN, Ç., ADIYAMAN, F., BAŞARAN, D., 1998.** The Comparison studies on the proliferation of lateral buds of *Vitis vinifera* L.cv. Alphonse during different periods of the year at *in vitro* conditions. Biochemical Archives international J. for Rapid Publication of Commnications in Pure and Applied Biochemistry, 14, pp 319-325.

**İŞİKALAN, Ç., 2003.** Bademin (*Amygdalus communis* L.cv. Nonpareil) biyoteknolojik yöntemlerle *in vitro* koşullarda mikropropagasyon yollarının araştırılması. Doktora tezi. D.Ü.F.B.E. Diyarbakır.

**KNOX, C.A., SMITH, R.H., 1980.** Advances in propagation of pecans by tissue culture. Pecan Quarterly 14,11.



**KNOX, C.A., SMITH, R.H., 1981.** Progress in tissue culture methods for production of 'Riverside' stocks. Pecan Quarterly 15,27-28,30,34.

**KUMAR, S., SHARMA, D.R., 2002.** *In vitro* propagation of Kiwifruit. Journal of Hort. Science & Biotechnology. 77 (5): 503-508.

**KYTE, L., KLEYN, L., 1996.** Plants from Test Tubes. An introduction to micropropagation. Third Edition Timber Press Inc. Portland, Oregon 97204. USA, pp. 240.

**LAZARTE, J.E., 1981.** Woody tissue culture research. Combined proceedings, International Plant Propagators Society 31, 649-655.

**LAZARTE, J.E., 1983.** Tissue culture of pecan, oak and other woody plant species. Combined proceedings, International Plant Propagators Society 33, 614-618.

**LAZARTE, J.E., 1984.** Propagating pecan root stock by tissue culture. American Nurseryman 159, 79-80,82.

**LIONAKIS, S.M., ZIRARI, A., 1992.** The effect of kind of explant and of chilling pretreatment of plant material on shoot proliferation of kiwifruit *in vitro*. II. International symposium on kiwifruit, ISHS. Acta Horticulturae, 297, vol 2.

**LUDVOVA, A., OSTROLUCKA, M.G., 1998.** Morphogenic processes in callus tissue cultures and de novo regeneration of plants in *Actinidia chinensis* planch. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, Vol 67, Iss 3-4, pp217-222.

**MACHNO, D., PRZYWARA, L., 1997.** Endosperm culture of *Actinidia* species. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, Vol 39, pp 55-61.

**MERKLE, S.A., WETZSTEIN, H.Y., SOMMER, H.E., 1987.** Somatic embryogenesis in tissue cultures of pecan. Hort. Science 22, 128-130.

**MIL, M., OHASHI, H., 1988.** Plantlet regeneration from protoplast of kiwifruit, *Actinidia chinensis* Planch. Acta Hort. 230, 167-170.

**MONCALEON, P., CONOL, M.J., FEITO, I., RODRIGUEZ, A., FERNANDEZ, B., 1999.** Cytokinins and mineral nutrition in *Actinidia deliciosa* (kiwi) shoots cultured *in vitro*. Journal of Plant, Physiology, Vol. 155, Iss. 4-5, pp 606-612.

**MORTAN, J., 1987.** Kiwifruit. P.293-300. In fruits of warm climates. Julia F. Mortan, Miami, FL.

**MURASHIGE, T., SKOOG, F., 1962.** A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15, 473-479.

**NAMLI, S., 1995.** *Vitis vinifera* L.cv. Cardinal asma çeşidinin doku ve organlarından itibaren biyoteknolojik yöntemler ile mikroçoğaltma araştırmaları. Doktora tezi. D.Ü.F.B.E. Diyarbakır.

**NAMLI, S., TAŞKIN, T., BAŞARAN, D., (1999).** The formation of partenocarpic grapes in *in vitro* conditions from flowers of *Vitis vinifera* L.cv. Cardinal. Biochemical Archives international J. for Rapid Publication of Communications in Pure and Applied Biochemistry. 15, pp 13-18.

**OLIVEIRA, M.M., PAIS, M.S., 1992.** Somatic embryogenesis in leaves and leaf derived protoplast of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* cv. Hayward (kiwifruit). Plant Cell Rep. 11; 314-317.

**OLIVEIRA, M.M., BARROSO, J., MARTINS, M., PAIS, M.S., 1994.** Genetic transformation in *Actinidia deliciosa* (kiwifruit), In: Y.P.S Bajaj (ed), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 29, *Plant Protoplast and Genetic Engineering V* (Cap. 14), Springer – Verlag, Berlin Heidelberg pp -1 89-210.

**ONAY, A., JEFFREE, C.E., YEOMAN, M.M., 1995.** Somatic embryogenesis in cultured immature kernels of Pistachio, *Pistacia vera*.L. Plant Cell Reports. 15, 192-195.

**ONAY, A., 1996.** *In vitro* organogenesis and embryogenesis of Pistachio, *Pistacia vera*.L. PhD Thesis, University of Edinburgh, UK.

ONAY, A., 2000. Somatic Embryogenesis From Mature Seed Cultures of *Pistacia atlantica*. Türk J. Agric. For., 24, 465-473.

ONAY, A., 2000. Micropropagation of Pistachio from mature trees. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 60, 159-162.

ONO, E.O., RODRIGUEZ, J.D., DE PÍNHO, S.Z., 1997. Action of auxins, boron and harvest season on rooting of kiwifruit stem cuttings (*Actinidia chinensis* pl cv. Monty). Phyton-international Journal of Experimental Botany, Vol 60, pp 1-10.

ONO, E.O., RODRIGUEZ, J.D., DE PÍNHO, S.Z., 2000. Studies on stem cuttings of kiwi (*Actinidia chinensis* pl cv. Bruno). Brazilian Archives of Biology and Technology, Vol 43, Iss 1, pp 45-50.

PASTORELLO, E.A., CONTI, A., PRAVETTONI, V., FARIOLI, L., RIVOLTA, F., ANSALONI, R., ISPANO, M., INCORVARIA, C., GIUFFRIDA, M.G., ORTOLANI, C., 1998. Identification of actinidin as the major allergen of kiwifruit. Journal of Allergy and Clinical Immunology, Vol 101, Iss 4, pp 531-537.

PICCIONI, E., STANDARDI, A., 1995. Encapsulation of micropropagated buds of 6 woody species. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Vol. 42, Iss 3, pp 221-226.

RAQUEL, M.H., OLIVEIRA, M.M., 1996. Kiwifruit leave protoplast competent for plant regeneration and direct DNA transfer. Plant Science, Vol 121, Iss 1, pp 107-114.

RODRIGUEZ, A.P.M., WETZSTEIN, H.Y., 1994. The effect of auxin type and concentration on pecan (*Carya illinoensis*) somatic embryo morphology and subsequent conversion into plants. Plant Cell Reports 13 (11): 607-611.

RODRIGUEZ, A.P.M., WETZSTEIN, H.Y., 1998. A morphological and histological comparison of the initiation and development of pecan (*Carya illinoensis*) somatic embryogenic cultures induced with naphthaleneacetic acid or 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Protoplasma, 204 (1-2): 71-83.

**SEÇMEN, Ö., GEMİCİ, Y., GÖRK, G., BEKAT, L., LEBLEBİCİ, E., 2000.** Tohumlu Bitkiler Sistematığı. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar serisi no:116. Ege Ü. Basımevi, Bornova-İzmir.

**SMITH, M.W., 1977.** Shoot meristem and callus tissue culture of pecan *Carya illinoensis* (Wang) K. KOCH. Dissertation Abstracts international. B 38, 1484B-1485B.

**SMITH, M.W., STOREY, J.B., 1978.** Shoot tip culture of pecan. Hort. Science 13, 263

**TAŞKIN, T., 1995.** *Pistacia vera* L. (Antep fıstığı)'nın çeşitli doku ve organlarından doku kültürü yöntemleriyle rejenere bitkilerin elde edilmesi araştırmaları. F.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Elazığ.

**TAŞKIN, T., ÇOBANOĞLU, D., ÇOLAK, G., NAMLI, S., BAŞARAN, D., GASPAR, Th. 1996.** Plant regeneration through somatic embryogenesis in *Pistacia vera* L. Saussurea, 27, 59-65.

**TORRES, K.C., 1989.** Application of Tissue Culture Techniques to Horticultural Crops. Published in Great Britain by Chapman and Hall 2-6 Boundary Row London, Se 18 HN pp.285.

**WARRINGTON, I.J., WESTON, G.C., 1990.** Kivifruit science and management. Bennetts Unit. New Zealand.

**WETZSTEIN, H.Y., MERKLE, S.A., AUCTION, J.R., SOMMER, H.E., 1988.** Somatic embryogenesis in pecan (*Carya illinoensis*) SAAS Biochem Biotech, I, 64-67.

**WETZSTEIN, H.Y., JEYARETNAM, B.S., VENDRAMA, G.A., RODRIGUEZ, A.P.M., 2000.** Somatic embryogenesis in pecan (*Carya illinoensis*) S.M. Join, P.K., Gupta and R.J., Newton (eds.) Somatic Embryogenesis in Woody Plants, Kluwer Academic Publishers, Printed in the Netherlands. 6, 331-414.

**WOOD, B.W., 1982.** *In vitro* proliferation of pecan shoots. Hort Science 17, 890-891.

**XIAO, X.G., HIRSCH, A.M., 1996.** Microcallus formation from leaf mesophyll protoplast in the genus *Actinidia* Lindl. Plant Cell Reports, Vol 15, Iss 12, pp 896-899.

**XIAO, X.G., 1999.** Advances in *Actinidia* biotechnology and molecular biology. IV. International Symposium on Kiwifruit. ISHS Acta Horticulturae 498.

**VAZQUEZ, A., GESTO, D.V., 1986.** Rooting, Endogenous Root-Inducing Cofactors and Proanthocyanidins in Chestnut. Biologia Plantarum, 28 (4): 303-306.

**VIEITEZ, J., BALLASTER, A., 1988.** Endogenous Rooting Inhibitors in mature Chestnut Cuttings. Acta Hort., 227: 167-169.

**YALÇIN, T., SAMANCI, H., ATAK, A., 1998.** Türkiye’de kivi yetiştiriciliğinin durumu, geleceği, potansiyeli ve araştırma öncelikleri. 4. Bağcılık Sempozyumu, 20-23 Ekim 1998, Yalova.

**YALÇIN, T., 1999.** Kivi Yetiştiriciliği. Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yayın no:76. Yalova, 37s.

**YAN, G., YAO, J., FERGUSON, A.R., Mc NEILAGE, M.A., SEAL, A.G., MURRAY, B.G., 1997.** New reports of chromosome numbers in *Actinidia* (Actinidiaceae). New Zealand Journal of Botany vol 35, Iss 2, pp 181-186.

**YÜCEL, S., ONAY, A., ÇOLAK, G., BAŞARAN, D., 1991.** The researches of obtaining from *Pistacia vera* L. apical bud and nodal bud by micropropagation. Plant Biotechnology. Acta Horticulturae, 289: 167-168.

**YÜCEL, S., ÇOLAK, G., ONAY, A., OPAK, Y., BAŞARAN, D., NAMLI, O., 1992.** *Nicotiana rustica* L. (Yabancı tütùn) pistillerinden itibaren *in vitro* olarak n ve 2n kromozumlu fertler elde edilmesi araştırmaları. Doęa Tr. J. of Botany 16, 124-135.



## 7. TABLOLARIN LİSTESİ

**Tablo.1.** 100 gram kiviinin gıda değeri

**Tablo.2.** Pikan cevizin olgun tohumlarının çimlenmesi ve dekontaminasyonu üzerine NaOCl'in etkisi

**Tablo.3.** Lateral ve apikal tomurcukların yüzey sterilizasyonuna NaOCl'in farklı konsantrasyonlarının etkisi

**Tablo.4.** Apikal tomurcukların dekontaminasyonu üzerine NaOCl içinde optimum bekletilme süresinin tespiti

**Tablo.5.** Lateral tomurcukların dekontaminasyonu üzerine NaOCl içinde optimum bekletilme süresinin tespiti

**Tablo.6.** Kivi sürgünlerinin proliferasyonuna BAP konsantrasyonlarının etkisi

**Tablo.7.** Kivi sürgünlerinin proliferasyonuna kinetin konsantrasyonlarının etkisi

## 8. RESİMLERİN LİSTESİ

**Resim 1.** Şanlıurfa-Koruklu Tarımsal Araştırma İstasyonunda bulunan Pikan (*Carya illinoensis*) üretim alanının görünüşü.

**Resim 2.** Pikan cevizinin olgun tohumu.

**Resim 3.** Kivi (*Actinidia deliciosa*)'nin olgun tohumları.

**Resim 4.** Ürün veren pikan cevizi ağaçlarından alınan lateral ve apikal tomurcuklar.

**Resim 5.** 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP içeren MS besi ortamında kültüre alındıktan 4 hafta sonra çimlenmiş pikan cevizi tohumlarının genel görünüşü.

**Resim 6.** 0.5 mg l<sup>-1</sup> kinetin içeren MS besi ortamında kültüre alındıktan 4 hafta sonra pikan cevizi tohumlarının genel görünüşü.

**Resim 7.** 4.0 mg l<sup>-1</sup> kinetin içeren MS besi ortamında kültüre alınan lateral tomurcukların gelişimi.

**Resim 8.** Kivi tohumlarının çimlenmesine 1/4 MS besi ortamının etkisi.

**Resim 9.** Kivi tohumlarının çimlenmesine 1/2 MS besi ortamının etkisi.

**Resim 10.** Kivi tohumlarının çimlenmesine 1/1 MS besi ortamının etkisi.

**Resim 11.** Kivi tohumlarının çimlenmesinde, maltoz şeker çeşidinin etkisi.

**Resim 12.** Kivi tohumlarının çimlenmesinde, dekstroz şeker çeşidinin etkisi.

**Resim 13.** Kivi tohumlarının çimlenmesinde, sakkaroz şeker çeşidinin etkisi.

**Resim 14.** Kivi tohumlarının çimlenmesine 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamının etkisi.

**Resim 15.** Kivi tohumlarının çimlenmesine 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamının etkisi.

**Resim 16.** Kivi tohumlarının çimlenmesinde, 2. 0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamının etkisi

**Resim 17.** Kivi tohumlarının çimlenmesinde, 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamının etkisi.

**Resim 18.** Kivi tohumlarının çimlenmesine 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamının etkisi.

**Resim 19.** Kivi tohumlarının çimlenmesinde, hormonsuz besi ortamının etkisi.

**Resim 20.** 2/1 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi.

**Resim 21.** 1/1 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi.

**Resim 22.** 1/2 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi.

**Resim 23.** 1/4 MS besi ortamının sürgün proliferasyonuna etkisi.

**Resim 24.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 0.5 mg l<sup>-1</sup> BAP'ın etkisi.

**Resim 25.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'ın etkisi

**Resim 26.** 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı MS besi ortamında proliferasyonla birlikte gelişen taban kallusu.

**Resim 27.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'ın etkisi.

**Resim 28.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'ın etkisi.

**Resim 29.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna hormonsuz ortamın etkisi.

**Resim 30.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 0.5 mg l<sup>-1</sup> kinetinin etkisi.

**Resim 31.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 1.0 mg l<sup>-1</sup> kinetinin etkisi.

**Resim 32.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 2.0 mg l<sup>-1</sup> kinetinin etkisi.

**Resim 33.** Kültüre alındıktan 4 hafta sonra sürgünlerin proliferasyonuna 4.0 mg l<sup>-1</sup> kinetinin etkisi.

**Resim 34.** 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2.4-D'li besi ortamında kültüre alınan gövde parçalarında kallus oluşumu.

**Resim 35.** 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2.4-D'li besi ortamında kültüre alınan yapraklarda kallus oluşumu.

**Resim 36.** 1.0 mg l<sup>-1</sup> NAA + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2.4-D'li besi ortamında kültüre alınan yaprak saplarında kallus oluşumu.

**Resim 37.** 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP + 2.0 mg l<sup>-1</sup> 2.4-D'li besi ortamında kültüre alınan taban kallusunun genel görünüşü.

**Resim 38.** 1.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü.

**Resim 39.** 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü.

**Resim 40.** 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü

**Resim 41.** 6.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü

**Resim 42.** 8.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında alt kültüre alınan kallusun genel görünüşü

**Resim 43.** 2.alt kültür sonrasında 2.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu

**Resim 44.** 2.alt kültür sonrasında 4.0 mg l<sup>-1</sup> BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu

**Resim 45.** 2.alt kültür sonrasında  $6.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu

**Resim 46.** 2.alt kültür sonrasında  $8.0 \text{ mg l}^{-1}$  BAP'lı besi ortamında kallustan itibaren bitki rejenerasyonu

**Resim 47.** 2.alt kültür sonrasında kallustan gelişen mikro sürgünlerin  $1^{-1}$  BAP'lı besi ortamına aktarılmış hali.

**Resim 48.**  $1.0 \text{ mg l}^{-1}$  NAA'li besi ortamında kültüre alınan kivi sürgünlerinin köklenmiş hali.

**Resim 49.** Doğal şartlara adapte olmuş Kivi fidelerinin görünüşü

**Resim 50.** Doğal şartlara adapte olmuş Kivi fidelerinin görünüşü



## 9. ÖZ GEÇMİŞ

1971 yılında Batman'da doğdum. İlk öğrenimimi Batman'da, orta ve lise öğrenimimi ise Mardin'de tamamladım.

1995 yılında Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum.

1996 yılında Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne Araştırma Görevlisi olarak atandım.

1998 yılında Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde "*Vitis vinifera* L.cv. Perle de Csaba'nın gövdelerinin, çiçek durumlarının ve lateral tomurcuklarının proliferasyon kapasitesinin, yılın değişik zamanlarına göre in vitro şartlarda karşılaştırılması araştırmaları" konulu tezle yüksek lisansı bitirdim.

1999 Eylül'ünde doktora yapmaya hak kazandım.

Halen doktora öğrencisi olup, aynı kurumda Araştırma Görevlisi olarak görev yapmaktayım.