

**T.C.
ISPARTA UYGULAMALI BİLİMLER ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

**ARONYA (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott)'NİN *İN VİTRO*
KOŞULLARDA MİKROÇOĞALTIMI VE KÜLTÜRE ALINMASI**

İlknur ESKİMEZ

**Danışman
Doç. Dr. Mehmet POLAT**

ISPARTA-2019



© 2019 [İlknur ESKİMEZ]

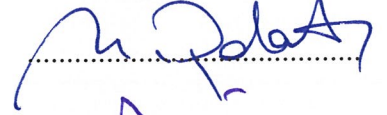
TEZ ONAYI

ARONYA (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott)'NİN *İN VİTRO* KOŞULLARDA MİKROÇOĞALTIMI VE KÜLTÜRE ALINMASI

İlknur ESKİMEZ tarafından hazırlanan bu tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

İmza

Başkan **Doç. Dr. Mehmet POLAT**
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Üye **Doç. Dr. Şerife Evrim ARICI**
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi



Üye **Doç. Dr. Yasemin EVRENOSOĞLU**
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi



Yukarıdaki Jüri kararı Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... tarih ve/..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Yusuf UÇAR
Enstitü Müdürü

ETİK BEYANI

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak ve bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yol ve yardıma başvurmaksızın hazırladığım bu tez çalışmasında;

Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, tezimle ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara katlanacağımı bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

28/06/2019

İlknur ESKİMEZ



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	6
2.1. Aronya'nın Botaniği.....	6
2.2. Bitki Doku Kültürü	8
2.2.1. Doku kültürlerinde besin ortamlarının içeriğindeki maddeler	10
2.3. Aronya Hakkında Yapılan Çalışmalar	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Bitki Materyali	18
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Sürgün uçlarının sterilizasyonu.....	20
3.2.2. Bitki büyüme düzenleyiciler	20
3.2.3. Kültür ortamı bileşimi.....	21
3.2.3.1. Çoğaltma ortamı.....	21
3.2.3.2. Köklendirme ortamı	22
3.2.4. Araştırmada incelenen özellikler.....	22
3.2.5. Verilerin analizi.....	24
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	25
4.1. <i>In Vitro</i> Rejenerasyon ve Kardeşlenme.....	25
4.1.1. Birinci alt kültür	26
4.1.2. İkinci alt kültür.....	29
4.1.3. Üçüncü alt kültür.....	32
4.1.4. Kullanılan ortamların özellikler bakımından değerlendirilmesi	34
4.1.5. Uygulamaların alt kültürler bakımından karşılaştırılması.....	36
4.1.5.1. MS+1 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması	36
4.1.5.2. MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması	37
4.1.5.3. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt alt kültürler bakımından karşılaştırılması	38
4.1.5.4. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt alt kültürler bakımından karşılaştırılması	39
4.1.5.5. MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt alt kültürler bakımından karşılaştırılması	40
4.1.6. Vitrifikasyon oranı, sürgün boyu ve boğum sayısı için interaksiyon tabloları	42
4.2. Köklenme Ortamı.....	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	56

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ARONYA (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott)'NİN *İN VİTRO* KOŞULLARDA MİKROÇOĞALTIMI VE KÜLTÜRE ALINMASI

İlknur ESKİMEZ

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet POLAT

Bu çalışmada, farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının *Aronya'nın* (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) mikroçoğaltımı üzerine etkileri araştırılmıştır. Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesine ait olan üretim parselinde bulunan sürgün uçları, bitki rejenerasyonu için BAP, IBA ve GA₃ içeren 5 farklı ortamda kültüre alınırken, köklendirme ortamı olarak 5 farklı IBA konsantrasyonu denenmiştir. Araştırmada sürgün oluşturan eksplant sayısı (SOES), eksplant başına bitki sayısı (EBBS), sürgün boyu (SB), vitrifikasyon oranı (VO), boğum sayısı (BS), köklenme oranı (KO), sürgün başına kök sayısı (SBKS) ve kök uzunluğu (KU) gibi parametreler incelenmiştir.

Kullanılan ortamlar incelendiğinde eksplant başına bitki sayısı (4,56 adet/eksplant), sürgün boyu (20,25 mm/eksplant) ve boğum sayısı (4,72 adet/eksplant) bakımından en iyi ortam MS+1 mg/L IBA+0.02 mg/L IBA+ 1 mg/L GA₃ içerikli 4. ortam olmuştur. Vitrifikasyon oranı en yüksek (%32,29), MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içeren ortamda gözlemlenmiştir. Kök sayısı (13,03 adet), kök uzunluğu (23,26 mm) ve köklenme oranı (%90,00) bakımından en iyi ortam ½ MS+ 1 mg/L IBA içeren ortamdır.

Araştırma sonuçları incelendiğinde, çok yüksek ya da çok düşük BAP ve GA₃ kullanımının eksplant başına bitki sayısını olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Düşük IBA konsantrasyonunda köklenme düşük olurken, çok yüksek konsantrasyonda da yine aynı sonuçlara ulaşılmıştır. Ayrıca çalışma sonucunda yüksek BAP konsantrasyonunun Aronya'da vitrifikasyon oranını arttırdığı, bu nedenle de sürgün gelişimini olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Bu çalışma tüm bu sonuçlar ışığında çoğaltma ve köklendirme için uygulanan ortamlarda kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri dozları ile alt kültür sayısının sonuçlara birlikte etki ettiğini ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler ışığında büyüme düzenleyici konsantrasyonlarında optimum ortam belirlemek için tek bir büyüme düzenleyicinin değil, farklı kombinasyonların birlikte etkisinin incelenmesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, ortam denemelerinde farklı bitki büyüme düzenleyicilerin uygulanmasının daha uygun olduğu düşünülmektedir. Araştırma sonucunda, sürgün çoğaltımı için en iyi ortam 1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ ve köklendirme için en iyi ortam ½ MS+1 mg/L IBA olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Mikroçoğaltım, MS, BAP, GA₃, Aronya.

2019, 56 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

MICROPROPAGATION AND CULTURE OF ARONIA (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) UNDER *IN VITRO* CONDITIONS

İlknur ESKİMEZ

Isparta University of Applied Sciences
The Institute of Graduate Education
Department of Horticulture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet POLAT

In this study the effects of different combinations of growth regulators on micropropagation of Aronia (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) were investigated. The shoot tips in the production parcel of Isparta University of Applied Sciences, Faculty of Agricultural Sciences and Technologies were taken and planted in 5 different regeneration and 5 different rooting environments. In this study the number of shoots, number of plants per explant, shoot length, vitrification percentage, number of nodes, rooting rate, number of roots per shoot and root length parameters were investigated.

As a result of the data obtained, it is thought that the effect of different combinations should be examined together, not a single growth regulator, in order to determine the optimum environment in growth regulator concentrations. According to the data obtained, the medium for shoot propagation is medium containing the best number of plants per explant (4.56 number/explant), shoot length (20.55 mm/explant) and number of nodes (4.72 number/explant) MS + 1 mg / L IBA + 0.02 mg / L IBA + 1 mg / L GA₃. The medium with the highest vitrification rate (%32.29) is the 5th medium with a concentration of 2 mg / L BAP. The best of ½ MS + 1 mg / L IBA in terms of number of roots (13,03), root length (23,26 mm) and rooting rate (%90,00).

When the results of the study were examined, it was found that the use of very high or very low BAP and GA₃ negatively affected the number of plants per explant. Rooting rates were low at both low and high IBA concentrations. In addition, it was determined that high BAP concentration increased vitrification rate in Aronia and thus negatively affected shoot development. In the light of all these results, this study reveals that the subculture numbers and the doses of plant growth regulators applied for propagation and rooting affects the results together. In the light of the data obtained, it was reveals that the effects of different combinations should be examined together in order to determine the optimum growth regulator concentrations. Therefore, it is considered that it is more appropriate to apply different plant growth regulators in the medium trials. As a result, the best medium for shoot propagation is medium containing 1 mg/L BAP + 0.02 mg/L IBA + 1 mg/L GA₃. The best medium for rooting is medium containing ½ MS + 1mg/L IBA.

Key Words: Micropropagation, MS, BAP, GA₃, Aronia

2019, 59 pages



TEŞEKKÜR

Bu araştırma için beni ynlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile her aşamamda yardımcı olan, ülkemiz literatürü açısından özgün olan bu konuda beni çalışmaya yönlendiren, her türlü maddi manevi desteğini esirgemeyen kıymetli Danışman Hocam Doç. Dr. Mehmet POLAT'a teŐekkürlerimi sunarım.

2019-YL1-0014 ile tezimi maddi olarak destekleyen Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Çalışma sürecinde desteğiyle ve bilgisi ile beni aydınlatan, karşılaştığım problemlere karşı çözüm üreten, değerli hocam şerife Evrim ARICI'ya ve çalışmam boyunca bana yardımcı olan yüksek lisans ğrencisi Ziyet Nurin TUNCEL'e teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında beni yalnız bırakmayan ve her türlü zorlukta beni büyük bir sabırla dinleyen ve destekleyen annem Ayfer ESKİMEZ'e, babam Mehmet ESKİMEZ, kardeşlerim Onur ESKİMEZ ve Kübra ESKİMEZ'e sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

ISPARTA, 2019
İlknur ESKİMEZ

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1. <i>Aronya melanocarpa</i> bitkisinin tomurcuk ve çiçek salkım yapısı.....	18
Şekil 3.2. <i>Aronya melanocarpa</i> bitkisinin mikroskop altındaki görünümü.....	19
Şekil 3.3. Aronya 'Nero' çeşidi meyvelerinin renk dönüşüm aşamaları	19
Şekil 3.4. Aronya 'Nero' çeşidi meyvesinin görünümü.....	19
Şekil 4.1. Ön denemelerde doku kültüründen elde edilen bitkiler.....	25
Şekil 4.2. Dikim aşamasında kullanılan kardeşlenmiş <i>in vitro</i> bitkiler	41
Şekil 4.3. İklim odasına alınan bitkiler	41
Şekil 4.4. Alt kültür sonucu elde edilen <i>in vitro</i> bitkiler.....	41
Şekil 4.5. Farklı IBA dozlarında <i>in vitro</i> köklenmiş bitkiler	47
Şekil 4.6. <i>In vitro</i> köklenmiş olan bitkilerin kumpas yardımı ile ölçülmesi.....	48
Şekil 4.7. <i>In vitro</i> köklenmiş olan bitkilerin dış koşullara adaptasyonu.....	48

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Dünyada Aronya üreten ülkelerin yıllara göre üretim alanları	2
Çizelge 1.2. Dünyada Aronya üreten ülkelerin yıllara göre üretim miktarları ...	2
Çizelge 1.3. Bazı meyve türlerinin antosiyanin içeriklerinin incelenmesi.....	4
Çizelge 1.4. Bazı türlerin fenolik madde içeriklerinin karşılaştırılması	4
Çizelge 3.1. Murashige-Skoog (MS) temel besin ortamı.....	21
Çizelge 3.2. Denemede kullanılan çoğaltma ortamı içeriği	22
Çizelge 3.3. Denemede kullanılan köklendirme ortamı içeriği.....	22
Çizelge 4.1. Birinci alt kültür için EBBS, VO, SOES, SB, BS verileri	26
Çizelge 4.2. İkinci alt kültür için EBBS, VO, SOES, SB, BS verileri.....	29
Çizelge 4.3. Üçüncü alt kültür için EBBS, VO, SOES, SB, BS verileri.....	32
Çizelge 4.4. Ortamların EBBS, VO, SOES, SB, BS bakımından karşılaştırılması	34
Çizelge 4.5. MS+1 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması	36
Çizelge 4.6. MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması	37
Çizelge 4.7. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması	38
Çizelge 4.8. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması	39
Çizelge 4.9. MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması	40
Çizelge 4.10. Vitrifikasyon oranı için (%) interaksiyon tablosu.....	42
Çizelge 4.11. Sürgün boyu (mm) için interaksiyon tablosu.....	43
Çizelge 4.12. Boğum sayısı (adet) için interaksiyon tablosu	44
Çizelge 4.13. Farklı konsantrasyonda IBA içeren ortamların Aronya'nın sürgünlerinin <i>in vitro</i> köklenmesi üzerine etkisi.....	45

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABA	Absizik asit
BA	6-benziladenin
BAP	6-benzilaminopürin
cm	Santimetre
DKW	Driver and Kuniyuki Walnut Medium
DW	Kuru ağırlık
EBBS	Eksplant başına sürgün sayısı
g	Gram
GA ₃	Gibberellik asit
HClO	Hidro klorik oksit
HgCl ₂	Civa klorür
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IAA	İndol asetik asit
IBA	İndol bütirik asit
Kg	Kilogram
KO	Köklenme oranı
KU	Kök uzunluğu
L	Litre
LS	Linsmaier ve Skoog
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MS	Murashige ve Skoog
NAA	a-naftalenilsetik asit
NRM	Nas and Read Medium
ORAC	Oksijen radikalleri absorban kapasitesi
ppm	Milyonda bir kısım
SOES	Sürgün oluşturan
SB	Sürgün boyu
SBKS	Sürgün başına kök sayısı
TDZ	Thidiazuron
VO	Vitrifikasyon oranı
WPM	Woody Plant Medium
µM	Mikro molar
µl	Mikrolitre
2,4-D	2,4-Diklorofenoksiasetik asit
%	Yüzde

1. GİRİŞ

Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), Rosaceae familyasına ait, Kuzey Amerika ve Kanada'nın güneydoğusunda doğal olarak yetişen, yapraklarını döken çok yıllık çalı formunda, uzun ömürlü, üzüksü meyveler grubuna ait bir bitkidir. *Aronia arbutifolia* (Ell.) Pers. (Red chokeberry), *Aronia melanocarpa* (Black chokeberry), *Aronia prunifolia* (Marsh.) (Purple chokeberry) olmak üzere üç türü bulunmaktadır. Meyvesi çok yüksek miktarda antosiyanin ve flavonoidler içermektedir. Aronya geniş bir iklim kuşağı ve toprak şartlarına adapte olabilen bir türdür. Çok zengin içeriği, insan sağlığına ve beslenmesine katkısından dolayı 'süper meyve' olarak bilinmektedir (Fidancı, 2015).

ABD ve Kuzey Avrupa ülkelerinde ve Almanya'da her geçen gün önemi ve üretim alanları artmaktadır. Yalova Atatürk Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde 2012 yılında sunulan bir proje ile Türkiye'de ilk defa devlet sektörü tarafından üretime başlanmıştır. Türkiye'de yapılan bu proje ile 5-6 yıldır tanınmaya başlamış ve şu anda çiftçiler tarafından Tokat, Malatya, Edirne ve Yalova illerinde yetiştiriciliğine başlamıştır. Aronya'nın içerisinde bulunan biyokimyasal özellikleri nedeniyle 4 tip kanser hücrelerini küçültme ve durdurma etkileri üzerine Celal Bayar Üniversitesi'nde araştırmalar yapılmaktadır (Anonim, 2018a; Anonim 2018b).

Sağlığa yararları konusunda, insan beslenmesindeki önemi ve hücre kültürü konusunda yapılan çalışmalar Aronya'nın önemini arttırmıştır. Aronya meyvesinin bileşimi, farmakolojik özellikleri ve gıda yönünden değerlendirilmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Bu da son yıllarda Amerika ve Avrupa'da binlerce dönüm Aronya dikimine sebep olmuştur. Bugün Aronya en fazla Rusya 'da olmak üzere, Polonya, Ukrayna, Fransa gibi birçok ülkede yetiştirilmektedir (Fidancı, 2015). Dünya'da Aronya üreten ülkelerin yıllara göre üretim alanları Çizelge 1.1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Dünyada Aronya üreten ülkelerin yıllara göre üretim alanları (ha)
(Anonim, 2019)

Ülkeler	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Rusya	46000	46000	47700	47700	53192	48952
Polonya	44707	45938	45392	44374	44181	44041
Ukrayna	4400	4500	4500	4500	4800	4800
Fransa	2812	2758	2900	2870	2810	2700
Birleşik Krallık	2471	2525	2538	2514	2502	2552
Almanya	2292	2388	2459	2401	2333	2338
Finlandiya	1813	1773	1681	1607	1656	1740
Danimarka	2199	1950	1580	1202	1500	622
Macarisatan	1460	1340	1320	1158	1195	1195
Yeni Zelenda	1408	1314	1261	1225	1190	1158
Çek Cumhuriyeti	1202	1144	1069	1023	859	860

Dünya’da Aronya üreten ülkelerin yıllara göre üretim miktarları (ton) Çizelge 1.2’de verilmiştir. Buna göre üretim alanları ve üretim miktarları bakımından yine Rusya, Polonya ve Ukrayna ilk üç sırada yer almaktadır.

Çizelge 1.2. Dünyada Aronya üreten ülkelerin yıllara göre üretim miktarları (ton)
(Anonim, 2019)

Ülkeler	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Rusya	346000	372700	372000	360000	395045	351304
Polonya	194522	198459	165562	159922	166110	128808
Ukrayna	24100	26610	25790	25540	24500	27140
Almanya	10764	12658	18888	13870	13992	12470
Birleşik Krallık	11910	16986	12698	15224	11353	13899
Yeni Zelenda	10000	10340	10458	10503	10733	9092
Danimarka	12793	13687	4719	7910	9890	3305
Macaristan	3330	3380	2620	3558	4582	3912
Azerbaycan	1700	2000	2000	2500	2906	2505
Hollanda	2461	2351	2221	2149	1889	1795
Özbekistan	1700	1600	1600	1800	1849	1786

İç tüketim ve özellikle dış ülkelerdeki tüketim miktarının son yıllardaki artışı, iç ve dış ticarete üzüksü meyvelerin önemini her geçen gün artırmaktadır. Genellikle yüksek fiyatta satılabilen ürünler grubunda olan Aronya’nın Türkiye’deki yetiştiriciliği sosyo-ekonomik açıdan önem arz etmektedir. Çünkü gelir düzeyi düşük ve göç veren bölgelerimizde kolaylıkla yetiştirilebilecek potansiyele sahip bir türdür. Üzüksü meyve yetiştiriciliği el emeği yoğun bir tarım kolu olması nedeniyle işsizlik sorununa olumlu yönde katkı yapabilecek ve özellikle toplama işçiliği açısından kadın ve çocuk el emeğinden faydalanılabilecek bir özelliğe sahiptir (Fidancı, 2015).

Türkiye’de tarımsal yapının ekonomideki ağırlığı ve mevcut teknoloji ile tarımsal yapıdaki farklılıklar, tarımda işgücü talebinin de daha fazla olmasına neden olmaktadır. Kullanılan teknoloji, işletmelerin organizasyon yeteneği, biyolojik-teknolojik gelişmelerin tarımda kullanımı, üretim yapısı ve çeşitliliği işgücü talebinin farklılık göstermesine neden olan faktörlerdir (TEAE, 2007). Bu nedenle kırsal alandaki işgücünün ve özellikle kırsal alanda tarımsal faaliyetlerde istihdam edilen işgücünün önemi artmaktadır. *Aronya melanocarpa*’nın Türkiye’de yetiştiriciliğinin teşvik edilmesi ve arttırılmasıyla tarıma dayalı endüstri kuruluşlarının da çoğalmasa sağlanmalıdır. Üzümsü meyveler dünya genelinde, özellikle refah seviyesi yüksek ülkelerde geniş çapta üretimi yapıлып aynı zamanda tüketilmektedir.

Üzümsü meyvelerin taze ve işlenmiş ürün olarak pazarlanabilmesi satış potansiyellerini giderek arttırmaktadır. Üzümsü meyvelerin; yoğurt, mısır gevrekleri, tatlılarda daha yoğun olarak kullanılmaya başlaması ile satış potansiyeli daha çok artmıştır. Bunun yanında Aronya, süs bitkisi olarak da değerlendirilmektedir. Ayrıca içeriğindeki yüksek miktardaki antosiyanin ve flavonoidler sayesinde ilaç sanayisi içinde önemli bir hammadde niteliğindedir. Aronya meyveleri antioksidan kapasitesi ve antosiyanin miktarı bakımından diğer üzümsü meyvelere göre daha yüksek değere sahiptir (Fidancı, 2015). Bu durum Aronya’nın pazarlanabilirliğini olumlu etkileyen bir faktör olarak görülmektedir.

Doğal şifacı ve koruyucu olarak adlandırılan Aronya meyvesi, yapılan bir bilimsel çalışmada 100’den fazla ürün içerisinde antioksidan kapasitesi yönünden çok yüksek değerler göstermiştir. Meyvesi çeşitli kompleks kimyasallar içermektedir. Kimyasal olarak klorogenik, neoklorogenik, malik, tartarik, sitrik asit gibi organik asitler yönünden zengindir. pH değeri 3,3-3,8 arasındadır. Avrupa’daki diğer popüler meyvelerle karşılaştırıldığında maviyemiş, cranberry (turna yemişi), kiraz ve vişneden çok daha yüksek miktarda antosiyanin ve polifenoller içerir. Oldukça yüksek miktarda K, Zn bulunur, bunun yanında Na, Ca, Mg, Fe vitaminlerden A, C, E, K, B1, B2, B6 ve folik asit içerir. İçerdiği tanenler virüslere karşı korur (Tolic vd., 2017).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar Aronya’nın ORAC (oksijen radikalleri absorbans kapasitesi) değerinin diğer ürünlerle karşılaştırıldığında çok yüksek olduğunu

göstermiştir. Aronya meyvesi doğal antosiyanin yönünden en zengin meyvedir. 100 gr Aronya meyvesinde 800 mg antosiyanin bulunur (Çizelge 1.3.). Aronya meyveleri çok yüksek konsantrasyon da polifenoller içerir. Polifenollerin içerdiği antosiyaninler sağlık açısından önemli bir paya sahiptir. Aronya, yüksek biyolojik aktivitesi nedeniyle Rusya’da tıbbi bitki olarak kabul edilmiştir. Soğuk algınlığı, mide hastalıkları, bağırsak, karaciğer ve safra kesesi dahil olmak üzere çeşitli hastalık ve radyasyon zehirlenmesi tedavisinde kullanılmaktadır (Tolic vd., 2017)

Çizelge 1.3. Bazı meyve türlerinin antosiyanin içeriklerinin incelenmesi (Tolic vd., 2017)

Çeşitler	Antosiyanin içeriği (mg/100 gr)
Aronya	800
Kiraz	180
Kırmızı üzüm	165
Maviyemiş	165
Böğürtlen	160
Ahududu	140
Çilek	30

Bazı türlerin fenolik madde içerikleri Çizelge 1.4’de verilmiştir. Diğer türlerle karşılaştırıldığında Aronya’da 100 gr meyve içerisinde 2000-8000 mg fenolik madde bulunmaktadır.

Çizelge 1.4. Bazı türlerin fenolik madde içeriklerinin karşılaştırılması (Tolic vd., 2017)

Türler	Fenolik madde içeriği (mg/100 gr)
Aronya	2000-8000
Siyah frenk üzümü	530
Kırmızı üzüm	113

Mikroçoğaltım genel olarak bitki üretimi ve ıslahı açısından önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu avantajların başında, ürünün kalitesini olumsuz etkileyen, bitkiye vejetatif çoğaltma yoluyla geçebilen virüs ve hastalıklardan arındırılmış olarak bitki üretilmektedir. Bu durum sertifikalı fidan üretiminin bir sonucudur. Diğer yandan mikro çoğaltma ile diğer klonal çoğaltım yöntemlerine göre daha kısa sürede ve daha fazla sayıda fidan üretimi gerçekleştirilmektedir. Bunun sonucunda da bu fidanların ülkeler ve bölgeler arasında transferi kolaylaşmaktadır. Yine diğer vejetatif yöntemlerle üretilmeyen türlerin üretimi daha kolay ve daha hızlı yapılabilmektedir (Güçlü vd., 2010).

Doku kültüründe bir bitkinin yetiştirilmesinde uygun besi ortamının kullanılması, olmazsa olmazlardan biridir. Besi ortamı olarak günümüzde dikotiledon bitki gelişimi için en uygun olanı Murashige ve Skoog tarafından 1962 yılında geliştirilen MS besin ortamıdır (Murashige ve Skoog, 1962). MS içeriğinde bitkilerin yaşamları için gerekli olan inorganik tuzlar, bitki büyüme düzenleyicileri, vitaminler, amino asitler, mikro ve makro elementler ve su bulunmaktadır.

Çok yıllık odunsu bitkilerin mikroçoğaltımında köklenme, klasik yöntemlere göre daha kolay ve daha az zaman almaktadır. Mikroçoğaltım çalışmalarında başarı üzerine genotipin de önemli düzeyde etkili olması nedeniyle her klon anacı için ayrı bir protokolün geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu bakımdan bitkilerin mikroçoğaltım katsayılarının artırılması amacıyla yeni büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının denenmesi gerekmektedir (Güçlü vd., 2010).

Doku kültüründe (*in vitro* veya mikro üretim), kullanılan tıbbi ve aromatik bitki türü sayısı hızla artmaktadır. Bunun başlıca nedenleri, doğal yollar ile çoğaltılması zor olan türlerin çoğaltılması, biyoteknolojik yöntemlerin uygulanabilmesi ve bitkilerde bazı bileşiklerin doku kültürü yöntemleriyle üretilmesi olarak sayılabilir. Doku kültürü tekniklerinin tarihi geçmişi oldukça eski olmasına rağmen Aronya'da yapılan doku kültürü çalışmaları sınırlıdır. Aronya önemli bir tıbbi ve aromatik bitki olması nedeniyle *in vitro* çalışmalarının yapılması yararlı olacaktır.

Bu araştırmada özellikle besin maddesi içeriği zengin ve antioksidan aktivitesi çok yüksek olan ve bu nedenle insan sağlığı açısından son yıllarda önemi giderek artan Aronya türünde mikro çoğaltım olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır. Türkiye için yeni bir tür olan ve klasik yöntemlerle çoğaltılması zor olan Aronya'nın, doku kültürüyle çoğaltma (rejenerasyon) ve *in vitro* da elde edilen bitkilerin köklenme özellikleri için optimum büyüme düzenleyici kombinasyonlarının belirlenmesine katkı sağlayacaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Aronya'nın Botaniği

Aronya Rosaceae familyası, Aronia cinsi içerisinde yer almaktadır. Bu cins içerisinde *Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot (Black chokeberry), *Aronia prunifolia* (Marsh) (Purple chokeberry) ve *Aronia arbutifolia* (L.) Elliot (Red chokeberry) olmak üzere bilinen üç tür mevcuttur Avrupa'da en yaygın Aronya çeşitleri arasında 'Aron' (Danimarka), 'Nero' (Çek Cumhuriyeti), 'Viking' (Finlandiya), 'Rubin' (Rusya), 'Kurkumachki' (Finlandiya), 'Hugin' (İsveç), 'Fertödi' (Macaristan) 'Albigowa', 'Dabrowice', 'Egerta', 'Kutno', 'Nova' 'Wies', 'Hakkija', 'Ahonnen', 'Serina', 'Autum Magic', 'McKenzie', 'Morton', 'Galicjanka' (Polonya) yer almaktadır (Šnebergrová vd., 2014; Fidancı, 2015).

Odunsu çok yıllık çalı formunda bir bitkidir. Oldukça uzun ömürlü bir türdür. Çiçeklenme için soğuklama ihtiyacı vardır. Fakat bu süre henüz tam olarak bilinmemekle birlikte 800–1000 saat civarında olduğu söylenmektedir. Yetiştiricilik için en uygun toprak pH'sı 6–6.5 arasındadır. İkinci yıldan itibaren verim alınabilmektedir. Beşinci yılda tam verime ulaşmaktadır. Bitki başına verim 5–17 kg arasında değişmektedir. Aronya bitkisi yıllık 600–800 milimetre suya ihtiyaç duymaktadır. Meyve tutumundan hasat sonuna kadar düzenli şekilde sulama yapılmalıdır (Engin vd., 2016).

Yıllık dallar ve vejetasyon dönemindeki sürgünler yarı odunsu yapıda, daha yaşlı dallar odunsu yapıdadır. Nero ve Viking çeşitlerinde bir ve üzeri yaşlı dalların kabuk rengi gri–kahve rengine, yıllık sürgünlerin ise parlak kızılımturak kahverenginde olduğu görülmüştür. Dal ve sürgünler üzerinde oval şekilli, beyaz renkte lentiseller bulunmaktadır. Yapraklarının oval şekilli, sivri uçlu ve kenarlarının ince olduğu gözlemlenmiştir. Alternat yaprak dizilişine sahiptir. Yaprakların üst yüzeyi koyu yeşil renkli, alt yüzeyi ise açık yeşil renkte ve tüylü bir yapıya sahiptir (Engin vd., 2016; Engin, 2018).

Tomurcuklar 1 yaşlı sürgünlerin boğumlarında çapraz şekilde dizilmiştir. Uzun, sivri uçlu ve kırmızımsı renktedir. Karışık tomurcuk yapısına sahiptir. Bir tomurcuk

açtığına hem çiçek salkımı hem de yaprakların bulunduğu sürgün meydana gelmektedir. Bir yaşlı dallar üzerindeki tomurcukların sürmesi ile o yıla ait sürgünler üzerinde çiçek salkımları oluşmaktadır (Engin vd., 2016).

Çiçek salkımı yapısının kimoza, bileşik yalancı şemsiye şeklinde olduğu yani birkaç salkımın bir araya gelmesiyle oluştuğu belirlenmiştir. Bir salkımda ortalama 20–25 çiçek vardır. Bir salkımdaki ortalama çiçek sayısı ‘Viking’ çeşidinde 34, ‘Nero’ çeşidinde 30 olarak bulunmuştur. Çiçeklenme aşamalı olarak devam etmektedir. Salkımdaki çiçekler merkezden dışarıya doğru açmaktadır. Başlangıçta merkezdeki çiçekler açmaktadır. Aynı zamanda ince dallardaki çiçeklerin kalın dallardakilere göre daha erken çiçek açtığı tespit edilmiştir. Bir yıllık dallar üzerindeki çiçek salkımları uçtan dibe doğru açmaktadır. Çiçeklenme hem salkım hem de dal üzerinde aşamalı olarak gerçekleştiği için çiçeklenme periyodu sıcaklığa bağlı olarak değişmekte ve yaklaşık 20 gün sürmektedir. Çiçek yapısı bakımından erseliktir, çiçekleri hem erkek hem dişi organlara sahiptir (Engin vd., 2016; Ristvey ve Mathew, 2011). İncelenen ‘Nero’ çeşidinde çiçeklerin çanak ve taç yaprak sayısı 5’tir ve 1 adet yumurtalık bulunmaktadır. Ovaryum inferior tiptedir. Stil sayısı 5 olup taban kısmı bileşiktir. Stigma yüzeyi saydam yapıda parlak nektar diskisi ile kaplıdır (Engin vd., 2016).

Rosaceae familyası içerisinde nektar yoğunluğunun en fazla olduğu tür *Aronya*’dır. Çanak yapraklar koyu yeşil renk yapısına sahip olup, yoğun tüylerle kaplıdır. Taç yaprakları iri ve gösterişlidir. Taç yapraklar çiçeklenme başlangıcında açık yeşildir daha sonra zamanla beyaz renge dönüşmektedir. Çeşitler bazında ortalama erkek organ sayısı ‘Nero’ çeşidinde 24 olarak belirlenmiştir. Erkek organlar uzun, beyaz ve kalın filamentlere sahiptir. Filamentlerin anter olgunlaşmasıyla birlikte stigmaya doğru eğildiği, çiçek tozu dağılımından sonra tekrar dışa doğru açılım gösterdiği gözlemlenmiştir. Yapılan mikroskopik incelemelerde anter gelişimiyle birlikte renk değişimleri ve şekillerinin düzensiz yapıda olduğu görülmüştür. Anterlerin ilk gelişim döneminde açık pembe, tam gelişim döneminde pembe, tozlanma sonrasında mor renge döndüğü gözlemlenmiştir. *Aronya* türü botanik bakımdan yalancı meyvedir. Meyvelerin 5 karpeli ve her karpelde 1 tohum taslağı bulunduğu belirlenmiştir. İlk dönemde meyveler yeşil renkte üzeri yoğun tüylerle kaplıdır.

Meyve gelişimi ile meyve yüzeyindeki tüylenmenin giderek azaldığı, mumsu yapıdadır (Engin vd., 2016).

Çiçek burnunda stamen artıkları bulunmaktadır. İkinci dönemde çiçek burnundan itibaren meyvelerde renklenme başlamakta, üçüncü dönemde meyve yüzeyi pembe renge, dördüncü dönemde pembe–mor, beşinci dönemde mor–siyah renk dönüşümleri olmaktadır. Altıncı dönem olan olgun meyve döneminde meyveler tam iriliğine ulaşarak siyah rengini almaktadır. Meyve siyah renge döndükten sonra da olgunlaşmanın devam ettiği ve meyve iriliğinin arttığı görülmüştür (Engin vd., 2016). Aronya meyvesinin bileşimi, farmakolojik özellikleri ve gıda yönünden değerlendirilmesine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Morfolojisi ve biyolojisi ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır (Engin vd., 2016; Weryszko vd., 1997).

2.2. Bitki Doku Kültürü

Bitki doku kültürü genel olarak aseptik koşullarda besin ortamında bitkilerin, tohumların ve bitki kısımlarının (dokular, organlar, embriyolar, tek hücreler, protoplastlar vs.) çoğaltılmasıdır (Chawla, 2002). Mikro çoğaltımın diğer vejetatif çoğaltım yöntemlerine göre birtakım avantajları bulunmaktadır. Doku kültürü yöntemiyle üretilen bitkiler daha hızlı çoğalmakta, diğer vejetatif yöntemlerle çoğaltılamayan türler çoğaltılabilmekte olup, *in vitro*'daki üretim *in vivo*'dan daha hızlıdır, *in vivo*'da çoğaltılamayan bazı türler *in vitro*'da çoğaltılabilir, *in vitro*'da çoğaltılan bitkiler *in vivo*'dakilerden daha kuvvetli bir gelişme gösterir, hastalısız üretim yapmak ve elde edilen explant materyalinin dayanıklı olanlarının seçimi mümkündür, seradaki konvansiyonel vejetatif üretimle karşılaştırıldığında sera alanı ve yakıt maliyetinden tasarruf sağlar, çoğaltım mevsimlere bakılmaksızın yıl boyunca yapılabilir, F1 hibrit üretiminde kullanılan ebeveynlerin klonlarının eldesinin çabuk olması ıslahçılar açısından yarar sağlar, *in vivo* çoğaltımda ticari olarak kullanılabilen yeni varyetelerin elde edilmesi *in vitro*'dan daha hızlıdır, sağlam mutantların elde edilmesi, gen bankalarının kurulması, genetik işlemler (somatik hibridizasyon gibi) (Pierik, 1987).

Murashige, mikro çoğaltımın içerdiği 4 ana aşamayı şu şekilde belirtmiştir; uygun explant seçimi, sterilizasyon ve besin ortamına transfer, çoğaltım ortamında

sürgünlerin çoğaltılması, sürgünlerin köklenme ortamına transferi pişkinleştirme ve toprağa transfer etme. *In vitro*'da bitki; varolan apikal veya axillary meristemlerin çoğaltımı (meristem, sürgün ucu, tek boğum veya axillary tomurcuk kültürü), organogenesis, somatik embriyogenesis'den elde edilir (Chawla, 2002). Meristem ve sürgün ucu kültürünün büyüme düzenleyici gereksinimi bitki türlerine ve kültür aşamalarına bağlı olarak değişmektedir. Örneğin; Compositae familyası bitkileri içsel büyüme düzenleyicilerin daha yüksek konsantrasyonlarına gereksinim duyarken Solanaceae ve Leguminosae'ye ait bitki türleri daha düşük konsantrasyonlara ihtiyaç duyarlar (Mohammed, 2006).

Dış ve iç büyüme düzenleyiciler arasındaki ilişki; ışık, sıcaklık gibi birtakım faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler aynı zamanda sürgün, kök, bitkicik ve kallus gelişimini ve başlatılmasını teşvik eder. Mikroçoğaltımda sürgün kardeşlenmesi çoğunlukla yüksek sitokininin ve düşük oksin konsantrasyonunda artmaktadır (Styer ve Chin, 1983). Bitki organogenesis'i oksin/sitokin oranından etkilenir. Yüksek oksin seviyesi kök oluşumunu ve yüksek sitokin seviyesi ise sürgün oluşumunu artırır (Chu ve Huang, 1983). Fazla miktarda sürgün eldesi için sitokin miktarı arttırılabilir (Sagawa ve Kunisaki, 1990).

Doku kültürüne 20. yüzyılın başlarında başlanmış ve birçok bitki türünde çalışmalar yapılmıştır. Tarihsel geçmişi eski olmasına rağmen, biyoteknolojik çalışmaların temeli olması sebebiyle güncelliği ve önemini korumaktadır. Gen transferi, protoplast füzyonu, haploid teknoloji, hücre kültürü gibi biyoteknolojik yöntemlerin uygulanabilmesi için bitkilerin doku kültüründe üretilmesi ve çoğaltılması gerekmektedir. Doku kültürü; canlıların eksplant adı verilen hücre, doku ya da organlarından yararlanarak, steril koşullarda yapılan üretilmesidir. Bitki doku kültürünü bitkilerin çeşitli kısımlarından alınan hücre, doku ve organların sterilize edilip çeşitli besin maddeleri içeren steril ortamlarda ve uygun çevre koşullarında kültüre alınması ve büyütülmesi olarak tanımlanmıştır. Günümüzde bitki doku kültürleri çok geniş bir kullanım alanına sahiptir. Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik farklılığı oluşturmak bitki doku kültürünün farklı amaçları arasında sayılabilir. Bu nedenle bitki doku kültürleri ıslah çalışmalarında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin korunmasında ve çoğaltılması zor olan türlerin

üretiminde, çeşitli doku kültürü uygulamaları rutin olarak uygulanmaktadır (Babaoğlu vd., 2001).

Doku kültüründe bitki türü ve kültür amacına (hücre, kallus, organ vb.) göre çok sayıda besi ortamı geliştirilmiştir (Franklin ve Dixon, 1994; Gamborg ve Phillips, 2013). Bitki gelişimi için en yaygın olarak kullanılan besi ortamı Murashige ve Skoog (MS) tarafından 1962 yılında geliştirilmiştir (Murashige ve Skoog, 1962). MS içeriğinde bitkilerin yaşamları için gerekli olan inorganik tuzlar, bitki büyüme düzenleyicileri, vitaminler, aminoasitler, aminler, karbon ve enerji kaynağı ile su yer almaktadır.

Doku kültürü ile mevsim değişikliklerine bağlı kalınmaksızın, yıl içinde sürekli, sağlıklı bitkiler üretilebilir. Aynı genetik yapıya sahip, sağlıklı bitkilerin kısa sürede üretilmesinin yanında kontrol altındaki farklı ortam şartlarına fizyolojik tepkilerin izlenilebilmesine olanak sağlaması nedeniyle deneysel çalışmalarda en doğru sonuçların alınabileceği üretim yöntemidir (Yıldız, 2012). Klonal çoğaltma yoluyla doku kültüründe kısa zamanda oldukça fazla sayıda bitki elde edilmektedir. Bir bitki ile başlanan üretimde bir yıl içinde bir milyon kat artış sağlanabilmektedir (Murashige vd., 1974). Bitkinin bu kısa zamanda rejenerasyon yeteneği bitkinin yaşına ve ortam koşullarına göre değişmektedir.

2.2.1. Doku kültürlerinde besin ortamlarının içeriğinde bulunan maddeler

1) Su: Doku kültürlerinde besin ortamının %95'i sudur. Besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılacak suyun kalitesi yüksek olmalıdır. Musluk suyu besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılamaz. Musluk suyu, miktarı belli olmayan oranlarda çeşitli katyonları, anyonları, organik maddeleri, partikülleri, zararlı gazları içermektedir. Besin ortamlarında kullanılacak suyun bu maddelerden arındırılmış olması gerekmektedir. Besin ortamlarının hazırlığında kullanılacak su en azından deiyonize su olmalıdır. Deiyonize suyun daha sonra iki kez destile edilmesi ise ideal olanıdır (Mohammed, 2006).

2) Makro ve mikro elementler: Besin ortamlarında makro elementler; N (25-60mM), K (20-30mM), P, Ca, S ve Mg (1-3mM) ve Mikro elementler; Fe, Mo (1µM), I

(5 μ M), Zn (5-30 μ M), Mn (20-90 μ M), B (25-100 μ M), Cu, Co (0.1 μ M) bulunur. Makro elementler milimol düzeyinde ilave edilirken mikro elementler mikromol düzeyinde ortamlara katılır. Bu elementlerin kullanım miktarları farklı araştırıcılar tarafından geliştirilmiş besin ortamı reğetelerinde değişiklik göstermektedir. Bu reğetelerden hangisinin kullanılacağı bitki türü, doku kültürünün tipi, eksplant kaynağı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Mohammed, 2006).

3) Vitaminler: Vitaminler enzim reaksiyonlarında katalitik etkiye sahiptir. Bitkilerde büyümeyi ve gelişmeyi olumlu yönde etkilerler. Thiamin (B1), nikotinic asit, pyridoksin (B6) ve myo-inositol doku külürü ortamlarında sıkça kullanılmaktadır. Farklı besin ortamlarında thiamin ve pyridoksin 0.1-10 mg/L; nikotinic asit 0.1-5mg/L, myo-inositol 50-5000 mg/L dozlarında kullanılmaktadır. Biotin, folik asit, askorbik asit, pantotenik asit (B5), tokoferol (E vitamini), riboflavin (B2) ve paminobenzoik asit de besin ortamlarında kullanılan diğer vitaminlerdir (Mohammed, 2006).

4) Amino asitler: Hücre gelişimini uyarmak için kullanılan organik azot kaynaklarıdır. Glisin (2mg/L), L-glutamin, L-asparagin (100mg/L) sık kullanılan amino asitlerdir (Mohammed, 2006).

5) Organik maddeler: Kazein hidrolizat (%0.05-0.1), hindistan cevizi sütü (%5-20), maya ekstraktları, malt ekstraktları vb. kompleks maddeler de kimi kültürlerde kullanılmaktadır. Bu maddelerin zararlı etki yaratmaması için kullanmadan önce test edilmeleri önemlidir (Mohammed, 2006).

6) Aktif karbon: Kùltürlerde olumsuz etki yapabilecek toksik maddeleri (fenolik bileşikler gibi) absorbe eder, kültürlerde karanlık koşul oluşturulmasını sağlar. Besin ortamlarına %0,2-3 dozlarında aktif kömür katılabilmektedir (Mohammed, 2006).

7) Büyümeyi düzenleyici maddeler: Doku kültürlerinde oksinler, sitokininler ve gibberellik asit (GA₃) en fazla kullanılan büyümeyi düzenleyici maddelerdir. Absizik asit (ABA) ve etilen de nadir olmakla birlikte doku kültürlerinde kullanılabilen diğer büyümeyi düzenleyici maddelerdir. Oksinler: Oksinler hücre bölünmesini ve genişlemesini sağlar. Kallus kültürleri, hücre süspansiyon kültürleri, somatik

embriyo ve kök oluşturmada çok etkili maddelerdir. Sitokininler ile düşük dozlarda kullanıldığında sürgün oluşumunu da olumlu etkilemektedir. İndol asetik asit (IAA), indolbütirik asit (IBA), naftalenasetik asit (NAA), 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) en yaygın kullanılan oksinlerdir. IAA doğal oksindir. Diğerleri sentetik olarak üretilmektedir. Sitokininler: Sitokininler hücre bölünmesi, farklılaşma, rejenerasyon ve sürgün çoğaltımında etkilidir. Köklenme üzerine olumsuz etkiye sahiptir. Kinetin, BA, BAP (benziladenin, benzil amino purin), zeatin, thidiazuron (TDZ) en fazla kullanılan sitokininlerdir. Zeatin doğal sitokinin formudur. Gibberellik Asit: Gibberellik asit (GA₃) boğum aralarının ve dolayısıyla sürgün boylarının uzamasını, gözlerin gelişimini, meristemlerden sürgün oluşumunu, embriyolarda ve tomurcuklarda dormansiyi kaldırarak çimlenme ve sürmeyi uyarır. Kallus gelişimi ve köklenme üzerine olumsuz etkiye sahiptir (Mohammed, 2006).

8) Karbon ve enerji kaynağı: Doku kültürlerinde eksplantlar heterotrof (kendi besinlerini yapamayan) oldukları için enerji kaynağı olarak besin ortamlarında şekere gereksinim duyarlar. En fazla sakkaroz bu amaçla kullanılmaktadır. Kullanım dozu kültür tipine göre değişmekle birlikte %1-5'dir. En fazla %3 dozunda kullanılmaktadır. Sık olmamakla birlikte glikoz, maltoz ve fruktoz da bu amaçla kullanılabilen diğer şekerlerdir. Manitol ve sorbitol gibi alkol şekerleri bitki dokularında metabolize edilemezler ve bunlar genellikle protoplast kültürlerinde ozmotik dengeleyici olarak kullanılırlar (Mohammed, 2006).

2.3. Aronya Hakkında Yapılan Çalışmalar

Szopa vd. (2013), tarafından yapılan bir çalışmada, Aronya'nın sürgün ve kallus kültürlerinden elde edilen hidroksibenzoik asitlerin ve diğer biyolojik olarak üretilen aktif fenolik asit birikimi araştırılmıştır. Çalışmada *Aronia melanocarpaya* ait sürgün ucu ve kallus kültürleri, farklı seviyelerde a-naftalenilsetik asit (NAA) ve 6-benziladenin (BA) içeren Linsmaier ve Skoog (LS) ortamlara dikilmiş ve muhafaza edilmiştir. Bu kültürlerin biyokütlesinden ve toprakta yetiştirilen bitkilerin meyvelerinden elde edilen metanolik özler, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi kullanılarak serbest fenolik asitlerin ve sinamik asit miktarlarının saptanması için kullanılmıştır. Toplam on iki analiz bileşiğinden dördünün içeriğinde: cafeik asit, p-hidroksibenzoik asit, siringik asit ve vanilik asit

bulunmaktadır. Ayrıca, filiz ekstreleri p-kumarik asit ve salisilik asit (p-hidroksibenzoik asit) içermektedir. Diğer taraftan, meyve ekstreleri de salisilik asit ve p-kumarik asit içermektedir. Sürgün ve kallus kültürlerinden elde edilen ekstraktlardan, analiz edilen bileşiklerin toplam miktarı kullanılan LS ortamına bağlı olarak 103.05-150.95 mg olarak bulunmuş, kuru ağırlık DW ortamında 50.23-81.56 mg arasında değişmiştir. Her iki kültür türü de meyve ekstrelerinden daha yüksek seviyelerde fenolik asit 32.43 mg 100 g⁻¹ DW içermektedir. Sürgün ucunda, p-hidroksibenzoik asit ve salisilik asit miktarı sırasıyla 55.14, 78.25 mg 100 g-DW'ye ulaşırken, kallus kültüründe p-hidroksibenzoik asit (25.60 mg 100 g⁻¹ DW) ve siringik asit (41.20 mg 100 g⁻¹ DW) olarak bulunmuştur. Meyve ekstraktlarında salisilik asit (15.60 mg 100 g⁻¹ DW) ve p-hidroksibenzoik asit (5.29 mg 100 g⁻¹ DW) bulunmuştur.

Siyanesan vd. (2016), tarafından yapılan bir çalışmada, *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott'un sürgün ucu kültürlerinden biyoaktif bileşiklerin üretimi için verimli bir *in vitro* çoğaltma protokolü geliştirilmiştir. Araziden alınan eksplantlar TDZ (0.25, 0.50, 1.0 ve 2.0) ile takviye edilmiş Murashige ve Skoog (MS) ortamı üzerinde kültüre alınmış Tidiazuron (TDZ), tek başına ya da 0.1 ya da 0.5 ile kombinasyon halinde sürgün çoğalması için α -naftalenilasetik asit (NAA) içeren ortama dikilmiştir. İncelenen çeşitli TDZ konsantrasyonları arasında, en yüksek sürgün oranı %85.2, ortalama sürgün sayısı 10.4 ve ortalama sürgün boyu 3.2 cm olarak 0.5 mg/L TDZ ile takviye edilmiş MS ortamı üzerinden elde edilmiştir. Düşük konsantrasyonda NAA ve TDZ içeren kültür ortamı, yüksek NAA konsantrasyonuna göre daha fazla sürgün üretmiştir. Sürgün çoğalması %98.9 oranında, sürgün sayısı 19.8 ve ortalama sürgün boyu 3.8 cm olarak 0.5 ile takviye edilmiş MS ortamı üzerinden elde edilmiştir. Sürgünlerin tamamı köklendirilmiş, sürgün başına kök sayısı ortalama 10.6 adet, ortalama kök uzunluğu 5.4 cm olarak bulunmuştur. 30 günlük kültürden sonra en iyi köklenme 1.0 mg/L IBA ile takviye edilmiş ½ MS ortamı üzerinden elde edilmiştir. Bitkilerin tamamı serada dış koşullara alıştırılmıştır. En yüksek karotenoidler, a-tokoferol ve yağ asidi içeriği, *in vitro* bitkilerden elde edilen yapraklarda ve *in vitro* olarak elde edilen sürgünlerden oluşan normal ve hiperhidrik yapraklarda bulunmuştur. En fazla bulunan karotenoid olan All-E-lutein, 65.1–191.4 μ g olarak bulunmuştur. Test edilen yaprak örneklerinde en fazla bulunan yağ asidi %45.91-50.04 oranında Linolenik asittir.

Kwiecień vd. (2013), tarafından yapılan bir çalışmada, Aronya'nın mikroçoğaltımı ile üretilen bitkilerden biotransformasyon yoluyla arbutin üretimi denenmiştir. Arbutin (hidrokinon β -D-glukozit), ekzojen olarak takviye edilmiş biyotransformasyon yoluyla farklı taksonlara ait bitkilerin *in vitro* kültürlerinden elde edilebilen bitki kökenli bir bileşiktir. *Aronia melanocarpa* büyüme düzenleyicileri içeren Murashige ve Skoog ortamında sitokinin olarak BAP (6-benzilaminopürin), 2 mg/L ve oksin olarak NAA (α -naftalenilsetik asit), 2 mg /L içeren ortamda 2 hafta kültüre alınmış ve daha sonra farklı dozlarda hidrokinon şeklinde 96, 144, 192, 288 ve 384 mg/L takviye edilmiş daha sonra bölünmemiş ya da 24 saatlik aralıklarla eklenen iki ya da üç bölüme ayrılmıştır. Reaksiyon ürününün içeriği arbutin, son prekürsör dozun eklenmesinden 24 saat sonra toplanan biyokütle ve liyofilize ortam örneklerinden metanolik ekstraktlarda bir HPLC yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Arbutin'in toplam miktarı 2.71-8.27 g/100 g DW arasında değişmiştir. Arbutin üretimi, artan hidrokinon konsantrasyonu ile artmıştır. Ürünün maksimum içeriği, iki parçaya bölünmüş 384 mg/L'deki hidrokinon ilavesinden sonra gözlenmiştir. Biotransformasyon verimliliği %37.04-73.80 arasında değişmektedir. Ürünün kimliği arbutin, izolasyonu ve arıtılmasından sonra spektral analizle doğrulanmıştır.

Petrovic vd. (1990), tarafından *Aronia melanocarpa* Elliot'un *in vitro* olarak çoğalma olasılığı araştırılmıştır. Mevcut bitki örtüsünden bir yıllık dalların tomurcuklarından izole edilen meristemler, farklı besi ortamlarına dikilmiştir. Sürgünler, 1.0 mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA, 0.1 mg/L GA₃ içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Aksiller tomurcukların en iyi gelişimi ve çoğaltılması, 0.5 mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA, 0.1 mg/L GA₃ içeren MS ortamından elde edilmiştir. En iyi köklenme, 1.5 mg/l-1 IBA ile elde edilmiştir.

Suzuki vd. (2006), tarafından yapılan bir çalışmada daha büyük meyveler taşıyan çeşitler yetiştirmek için, Mavi Hanımeli ve Aronya'dan *in vitro* poliploidi üretimi yapılmıştır. Çalışmada Siyah chokeberry sürgün apikallerinin birincil kültürü, 0.2-1.0 μ M benziladenin (BA) ile desteklenmiş Murashige ve Skoog bileşenlerinin $\frac{1}{4}$ 'ünü içeren ortamda başarılı olmuştur. Birincil kültürde elde edilen sürgünler, 5 μ M BA ile takviye edilmiş MS ortamı üzerinde etkili bir şekilde çoğaltılmıştır. Mavi Hanımeli eksplantlarının kolşisin ile muamele edilmesi üç kolşisin uygulaması arasında poliploid sürgünler elde etmek için en etkili yöntem olarak belirtilmiştir

(kültürlemeden önce kolşisin çözeltisine daldırılması, alt kültürler üzerinde kolşisin çözeltisinin eklenmesi ve kolşisin ile takviye edilmiş ortam üzerinde kültürleme). akım sitometrik analizi, diploid ve tetraploidin kimerik dokusunun, önce hem mavi hanımeli hem de siyah chokeberry kolşisin ile muamele edilmiş eksplantlarından oluştuğunu ve daha sonra birkaç alt kültür tekrarı sırasında tetraploidi sürgünlerin kimerik sürgünlerden ayrılabilceğini göstermiştir. Tetraploid bitkilerin iki katı kromozom sayısı ve diploidinkine kıyasla daha büyük stomalarının olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Litwińczuk (2012), tarafından yapılan bir çalışmada *Aronya* üç aşamalı olarak çoğaltılmıştır. Siyah chokeberry *Aronia (Aronia melanocarpa)*, Kuzey Amerika'ya özgü bir çalıdır. Meyveler ve sebzeler arasında en zengin antioksidan kaynağı bitki olarak kabul edilir. Chokeberry tohumla kolayca çoğaltılabilir ancak bu yöntem önerilmez. Mikro çoğaltım, diğer geleneksel klonlama yöntemlerinden çok daha verimlidir. Eksplantlar alt kültürlerine dayalı olarak dört veya üç aşamalı yöntemle *in vitro* olarak çoğaltılmıştır. İkili seyreltilmiş MS veya %50 Ca⁺² ve Mg⁺² içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. Bunlar 0.5-1.0 mg IBA ve 0.05 mg IBA ile desteklenmiştir. Köklendirme işleminden önce son geçişte çift fazlı ortam önerilmektedir. Çoğalan sürgünler ½ MS ve 0.05 mg/L IBA içeren ortamda köklendirilmiştir. Dış koşullara alıştırmaya aşamasında turba ve perlit kullanılarak serada büyütülmüştür.

Zatyko ve Molnar (1990), tarafından yapılan bir çalışmada meristem kültüründen elde edilen *Aronia melanocarpa* ait sürgünler, ½ MS içerikli hormon içermeyen ortam üzerinde kültüre alınmıştır. pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 ve 7.0 olarak ayarlanmış ve eksplantlar, bu süreçte ışıktaki 24 ± 2 °C de köklendirilmiştir. Köklü sürgünlerin yüzdesi pH 3.0 ve 4.0'te biraz artmış fakat fark anlamlı bulunmamıştır. Sürgünlerde oluşan köklerin sayısı, pH 3.0'a ayarlanan ortamda en yüksek bulunmuştur.

Kami vd. (2008), tarafından yapılan bir çalışmada, Siyah chokeberry (*Aronia melanocarpa*) ait *in vitro* sürgünler, vitrifikasyon, kapsülleme-vitrifikasyon ve kapsülleme-dehidrasyon olmak üzere üç metot kullanılarak başarıyla dondurulmuştur. Kapsülleme-dehidrasyon ve kapsülleme-vitrifikasyon, vitrifikasyon için daha iyi olduğu belirlenmiştir. En yüksek yüksek canlılık oranı (%71,1 ± 2.2 ve

%77,8 ± 4.4) olarak bulunmuştur. Kapsülleme-dehidrasyonda, en yüksek canlılık, 6 saat boyunca silika jel ile kurutularak taneciklerin nem içeriği %19'a düştüğü ortamdan elde edilmiştir. Bu çalışmada, kapsülleme-dehidrasyon sırasında boncuklara ve yükleme solüsyonlarına 1.0 M gliserol eklenmesinin, siyah chokeberry'nin çizgileri ve poliploidlerine bakılmaksızın yüksek canlılık (%91,7-%95,0) ile sonuçlandığını göstermiştir.

Nas vd. (2012), tarafından yapılan bir çalışmada kültür ortamının ve sitokin tiplerinin *Aronia melanocarpa*'nın mikroçoğaltımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tek aksiller tomurcuk eksplantları kullanarak, 4.44 µM benziladenin (BA) ve 0.05 µM indol-3-bütirik asit (IBA) içeren MS, WPM, DKW ve NRM üzerinde kültürlerin büyümesi ve thidiazuron, meta-Topolin içeren (1.25, 2.5, 5.0) veya (7.5 µM ve 0.05 µM IBA) değerler karşılaştırılmış, kültür ortamındaki sürgün sayısı ve uzunluğu üzerindeki etkilerine bakılmıştır. MS, DKW ve WPM ile karşılaştırıldığında, sürgün üretimi NRM'de 5.7 adet/sürgün olarak bulunmuştur. MS, DKW ve WPM'de sırasıyla 4.2, 4.2 ve 4.1 adet/sürgün elde edilmiştir. TDZ eksplantlar üzerinde oluşturulacak rozet filizlerin büyük kallus oluşumuna neden olmuştur. Eksplantların sadece bir kısmı sürgünlere dönüşmüştür. Benziladenin hem sürgün proliferasyonunu hem de filiz uzamasını destekleyen tek sitokinidir. Daha yüksek sürgün sayıları, BA'nın daha düşük konsantrasyonları ile karşılaştırıldığında, 5.0 ve 7.5 µM BA'da elde edilmiştir. Mikroskobik köklerin %80'inden fazlası dış koşullara adapte edilebilmiştir.

Şutan vd. (2017), genotip ve kültür ortamı bileşiminin *Aronia melanocarpa*'da yenilenen sürgünlerin sayısı ve art arda alt kültürlerde sürgün uzunluklarını araştırmışlardır. *Aronya melanocarpa* (Michx.) Elliott türüne ait 'Melrom' ve 'Nero' çeşitleri kıyaslanmıştır. MS makro, mikro elementleri ve vitaminleri içeren 4,5 mg/L BA+0,6 mg/L IBA içeren ortamda Melrom çeşidinde en yüksek sürgün sayısı elde edilmiştir.

Kwak vd. (2015), tarafından yapılan bir çalışmada, bitki büyüme düzenleyicilerinin sürgün çoğalması ve köklenmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada en iyi sürgün sayısı, 1.0 mg/L zeatin (8.3 ± 1.0 sürgün/eksplant) ile takviye edilmiş WPM üzerinde gözlenirken, en yüksek köklenme oranı 3.0 mg/L IBA ile yarı-kuvvetli

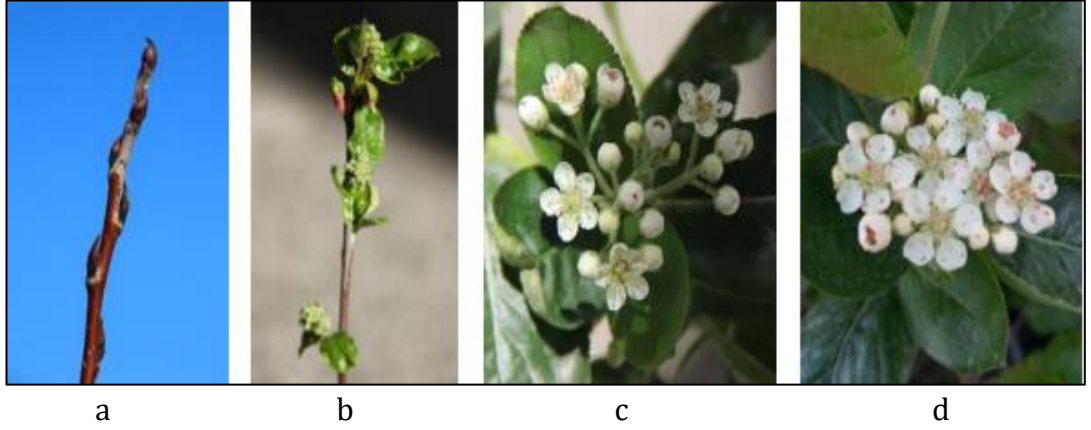
WPM'den elde edilmiştir (8.8 kök/eksplant). Köklü bitkicikler, turba yosunu: perlit: vermikülit, karışımına (1:1:1) dikilmiştir. Çalışmada, beş farklı Aronya çeşidinde de farklı sürgün çoğalması ve köklenme özellikleri olduğu bildirilmektedir. Çeşit başına toplam çoğalan sürgün sayısı; Nero için 17.4 ± 0.8 , Mor ve Mackenzie için 14-15 ve hem Viking hem de Odamamachiko için 10 adet olarak bulunmuştur. Köklenme oranları incelendiğinde; Odamamachiko'nun %88'i, Viking ve Mor'un %80'i, Nero'nun %76'sı ve Mackenzie'nin %60'ı köklenmiştir. Köklendirilmiş bitkilerin canlılık oranları ise %92-100 arasında bildirilmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Araştırmada Aronya meyvesinin Nero çeşidine ait sürgün uçları eksplant olarak kullanılmıştır. Fidanlar Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesine ait üretim parselinde bulunan 3 yıllık fidanlardan alınmıştır. Nero; Slovak ve Rusya çeşitlerinin melezlemesi ile oluşmuş, iyi gelişim gösteren ve çok dallanan bir çeşittir. Bitki boyu 1-1,5 m arasındadır. Geniş taç yaprakları bulunmaktadır. Meyvelerinin çapı 12 mm'dir. Tek bir meyvenin ağırlığı 1,5 gr olup, meyveler mumlu yapıda, renkleri mavi ya da mor, şekli daireseldir. Salkım meyve yapısına sahiptir ve her salkımda 10-20 adet meyve bulunur. Tadı acı fakat hoş bir kokusu vardır. C vitamini içeriği oldukça yüksektir. Diğer çeşitlere göre meyve iriliği ve verimi bakımından daha üstündür (Tolic vd., 2017).



Şekil 3.1. Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) bitkisinin tomurcuk ve çiçek salkımı yapısı. a) 1 yıllık sürgün üzerinde tomurcukların görünümü, b) patlayan tomurcuklarda yaprak ve salkım gelişimi, c-d) çiçek salkımı görünümü (Engin vd., 2016)

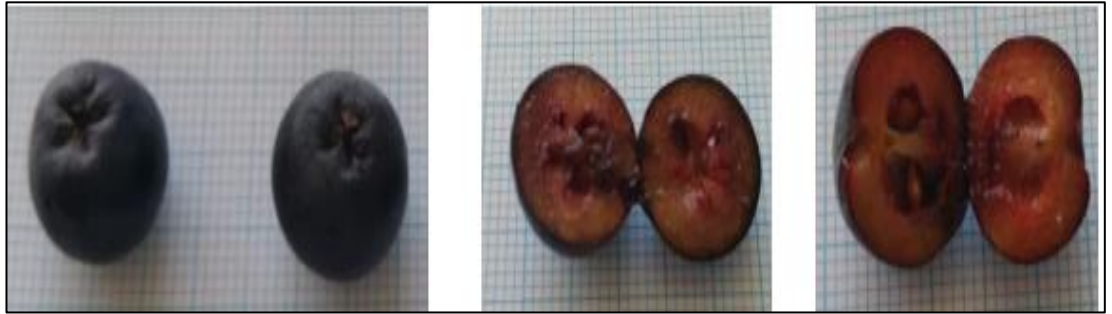


a b c d

Şekil 3.2. Aronya bitkisinin çiçeklerinin mikroskop altındaki görünümü a) çiçeklerin ilk gelişim aşaması, b-c) çanak ve taç yaprak, anter ve dişi organın görünümü, d) çiçek tozu yayılımı gerçekleşmiş çiçekten görünüm (Engin vd., 2016).



Şekil 3.3. Aronya 'Nero' çeşidi meyvelerinin renk dönüşüm aşamaları (Engin vd., 2016).



a b c

Şekil 3.4. Aronya 'Nero' çeşidi meyvesinin görünümü. a) bütün meyve, b) enine kesiti, c) boyuna kesiti (Engin vd., 2016).

3.2. Yöntem

3.2.1. Sürgün uçlarının sterilizasyonu

Aronya fidanlarından Mayıs ayında alınan sürgün uçları musluk suyunda temizlenmiş daha sonra sıvı bulaşık deterjanı ile 3-5 dakika yıkanmıştır. Ardından %70'lik etil alkol ile 1-2 dakika muamele edilmiş, daha sonra saf su ile alkolden arındırılmıştır. Son olarak %15'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 12 dakika bekletilmiş ardından 3 kez 5'er dakika süreyle steril saf su ile çalkalanmıştır. Steril edilen sürgün uçları steril kâğıtta kurutulduktan sonra yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır.

3.2.2. Bitki büyüme düzenleyicileri

Denemede, Murashige-Skoog (MS)'un temel besin ortamı (çizelge 3.1.) kullanılmış olup yapılan önceki çalışmalar dikkate alınarak değişik bitki büyüme düzenleyici maddelerinin farklı dozları ilave edilmiştir. Oksin grubundan IBA (indol bütirik asit), sitokinin grubundan BAP (benzil amino pürin), gibberellin olarak da GA₃ (Gibberellik asit) çalışmada farklı dozlarda kullanılmıştır. Besin ortamlarına 30 g/L sakkaroz ve 6,5 g/L agar eklenerek pH'ı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.7'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besin ortamları 100 ml olan magenta kaplarına 20 ml olarak konulmuş ve 121 °C'de 1.2 atmosfer basınçtaki otoklavda 15 dakika tutularak sterilizasyonu yapılmıştır. Araştırmada herhangi bir enfeksiyon ile karşılaşılmamıştır. Bu nedenle enfeksiyon oranı %0 olarak bulunmuştur. Sterilizasyon ve tüm doku kültürü işlemleri steril kabin içinde yürütülmüştür.

Çizelge 3.1. Murashige-Skoog (MS) temel besin ortamı (Murashige and Skoog, 1962)

Bileşikler (mg/L)	Konsantrasyon
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂ . H ₂ O	440
MgSO ₄ . 7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ . H ₂ O	16,9
NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,025
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8,6
CoCl ₂ . H ₂ O	0,025
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27,8
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,3
Vitaminler	
Thiamine	1,0
Nicotinic asit	0,5
Pyridoksin-HCL	0,5
Aminoasit	
Glycin	2
Organik maddeler	
Myo-İnositol	100

3.2.3. Kültür ortamının bileşimi

3.2.3.1 Çoğaltma ortamı

Araştırmada 5 farklı çoğaltma ortamı kullanılmıştır. Bu aşamada eksplant olarak 2-3 boğumlu (≥ 2 cm) sürgünler kullanılmıştır. Çoğaltma ortamı için denemede kullanılan büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonları ve ortam numaraları Çizelge 3.2’de verilmiştir. Besin ortamlarına 30 g/L sakkaroz ve 6,5 g/L agar eklenerek pH’ı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.7’ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besin ortamları 100 ml olan magenta kaplarına 20 ml olarak konulmuş ve 121 °C’de 1.2 atmosfer basınçtaki otoklavda 15 dakika tutularak sterilizasyonu yapılmıştır.

Çizelge 3.2. Denemede kullanılan çoğaltma ortamı içeriği

Ortam numarası	Ortam içeriği (mg/L)
1	MS+1 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA
2	MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃
3	MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃
4	MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA ₃
5	MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA ₃

3.2.3.2 Köklendirme ortamı

Köklendirme ortamı için denemede kullanılan ortam içerikleri ve ortam numaraları Çizelge 3.3’de verilmiştir. Bu aşamada eksplant olarak 2-3 boğumlu (≥ 2 cm) sürgünler kullanılmıştır. Köklendirme ortamı için yarı mukavemetli MS ortamı kullanılmıştır. Çalışmada $\frac{1}{2}$ MS ortamına IBA’nın (0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ppm) farklı dozları ile 30 gr/L sakaroz, 6,5 gr/L agar ilave edilmiş ve pH 5.6’ya ayarlanmıştır. Hazırlanan besin ortamları 100 ml olan magenta kaplarına 20 ml olarak konulmuş ve 121 °C’de 1.2 atmosfer basınçtaki otoklavda 15 dakika tutularak sterilizasyonu yapılmıştır. Ayrıca ön deneme çalışmalarında karanlık uygulamalarına yer verilmiş fakat karanlık uygulamalarının kök gelişimi üzerine herhangi bir etkisi bulunmadığı için denemede kullanılmamıştır

Çizelge 3.3. Denemede kullanılan köklendirme ortamı içeriği

Ortam numarası	Ortam içeriği (mg/L)
1	$\frac{1}{2}$ MS+0.1mg/L IBA
2	$\frac{1}{2}$ MS+0.5mg/L
3	$\frac{1}{2}$ MS+ 1.0 mg/L IBA
4	$\frac{1}{2}$ MS+1.5 mg/l IBA
5	$\frac{1}{2}$ MS+2.0 mg/l IBA

Kültüre alınan sürgün uçları 24 ± 2 °C sıcaklık, 8 saat karanlık ve 16 saat aydınlık koşullarda, floresan lambalarının bulunduğu iklim odasında 3 hafta süreyle inkübe edilmiştir. Eksplantlar aynı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonu içeren MS ortamında arka arkaya 3 defa 3’er hafta süreyle alt kültüre alınmıştır.

3.2.4. Araştırmada incelenen özellikler;

1)Sürgün oluşturan eksplant sayısı (SOES) (%): Her magenta kabında sürgün oluşturan eksplantlar sayılarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

2)Eksplant başına sürgün sayısı (EBBS) (adet): Her eksplantta gelişen sürgünler sayılmış ve sürgün veren eksplantların ortalaması alınmıştır.

3)Sürgün boyu (SB) (mm): Her alt kültürden sonra sürgün boyu kumpas ile mm cinsinden ölçülmüştür.

4)Köklenme oranı (KO) (%): Her magenta kabındaki köklenen sürgünler sayılarak yüzde olarak ifade edilmiştir.

5)Sürgün başına kök sayısı (SBKS) (adet): Her sürgündeki kökler sayılarak ortalama olarak ifade edilmiştir.

6)Kök uzunluğu (KU) (mm): Köklerin uzunluğu kumpas ile mm cinsinden ölçülmüştür.

7)Vitrifikasyon oranı (VO) (%): Her kaptaki vitrifikasyon oranı yüzdesel olarak ifade edilmiştir.

8)Boğum sayısı (BS) (adet): Her sürgündeki boğum araları sayılarak ortalama olarak ifade edilmiştir.

9)Kök kalınlığı (KK) (mm): Kök kalınlıkları kumpas ile ölçülerek ortalama ifade edilmiştir.

Araştırmada dış koşullara adaptasyonla ilgili çalışma yapılmamıştır. Fakat köklenen bitkiler agardan temizlendikten sonra fungusitle muamele edilmiş ve torf-perlit karışımı kullanılarak viyollere dikilmiştir. Bitkilerde oluşan su kaybını önlemek için bitkilerin üzeri streç filmle sarılmış ve hava akışını sağlamak için streç film üzerinde delikler açılmıştır. Bitkiler 2 hafta kadar iklim odasında muhafaza edilmiş ve daha sonra dış ortama alınmıştır.

3.2.5. Verilerin analizi

Deneme 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme Desenine göre yürütülmüş olup elde edilen veriler, MİNİTAB 17.0 paket programı kullanılarak Varyans analizine ($P<0.01$ - $P<0.05$) tabi tutulmuş ve ortaya çıkan farklılıklar Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak belirlenmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Aronya'nın (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) doku kültürü yöntemiyle çoğaltımı üzerine farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının etkilerini ortaya koymak için yapılan bu çalışmada Isparta koşullarında yetişen Aronya'nın Nero çeşidine ait fidanlarından alınan sürgün uçlarından, sürgün oluşturan eksplant sayısı (SOES) (adet), eksplant başına sürgün sayısı (EBSS) (adet), sürgün boyu (SB) (mm), köklenme oranı (KO) (adet), sürgün başına kök sayısı (SBKS) (adet), kök uzunluğu (KU) (mm), vitrifikasyon oranı (VO) (%), boğum sayısı (BS) (adet) gibi birtakım parametreler incelenmiştir.

4.1. *In Vitro* Rejenerasyon ve Kardeşlenme

Çalışmada Aronya'nın Nero çeşidine ait sürgün uçları eksplant olarak kullanılmıştır. Şekil 4.1'de Ön denemelerde (MS+1 g/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃) içerikli ortamdan elde edilen bitkiler verilmiştir.



Şekil 4.1. Ön denemelerde doku kültüründen elde edilen bitkiler

4.1.1. Birinci alt kültür

Çizelge 4.1. Birinci alt kültür için EBBS, VO, SOES, SB, BS verileri

Ortam içeriği (mg/L)	EBBS (adet)*	VO (%)**	SOES (%)	SB (mm)*	BS (adet)*
MS+1 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA	2,78±1,1 ^b	3,13±1,4 ^b	100±0,0	17,51±0,9 ^a	4,22±0,2 ^a
MS+0.5 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,00±1,0 ^{ab}	18,75±4,8 ^{ab}	100±0,0	16,02±1,5 ^b	3,69±0,3 ^b
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	4,06±1,2 ^{ab}	18,75±5,3 ^{ab}	100±0,0	16,08±1,1 ^b	3,85±0,3 ^b
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 1 mg/L GA ₃	4,37±2,1 ^a	20,31±2,5 ^{ab}	100±0,0	16,51±0,8 ^{ab}	3,97±0,2 ^{ab}
MS+2 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	2,84±1,8 ^{ab}	34,38±2,6 ^a	100±0,0	16,17±1,0 ^b	3,95±0,3 ^{ab}

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Birinci alt kültüre ait eksplant başına bitki sayısı (EBBS), sürgün oluşturan eksplant sayısı (SOES), vitrifikasyon oranı (VO), sürgün boyu (SB), ve boğum sayısı (BS) ortalamaları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çoğaltma aşamasında kullanılan farklı büyümeyi düzenleyici kombinasyonlarının eksplant başına bitki sayısı üzerine etkisi incelendiğinde, ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). Eksplant başına bitki sayısı bakımından en iyi ortam 4,37 adet/eksplant ile MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamdır. Eksplant başına bitki sayısı bakımından 2. (MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃), 3. (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃) ve 5. (MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃) ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. En düşük EBBS değeri ortalama 2,78 adet/eksplant ile MS+1 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA içerikli ortamdır elde edilmiştir. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın en yüksek olmasının nedeninin, içerisindeki sitokinin/oksin miktarı olduğu düşünülmektedir. Kwak vd. (2015), tarafından aronya çeşitleri üzerine yapılan bir çalışmada ise bitki büyüme düzenleyicilerinin sürgün çoğalması ve köklenmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada en iyi sürgün sayısı, 1.0 mg/L zeatin (8.3 sürgün/eksplant) ile takviye edilmiş WPM üzerinde gözlenirken, çeşit başına toplam çoğalan sürgün sayısı; Nero için 17.4, Mor ve Mackenzie için 14-15 ve hem Viking hem de Odamamachiko için 10 adet olarak

bulunmuştur. Bu sonuçlarla çalışma sonuçlarımızın farklı olmasının nedeni kullanılan WPM ortamı ve Zeatin kullanımı olduğu düşünülmektedir. Bazı türler için 1 mg/L IBA'ın kardeşlenme için iyi olduğu bildirilmektedir. Nitekim Kapari türlerinin (*Capparis L.*) tohumla ve doku kültürü ile çoğaltılması üzerine yapılan bir araştırmada, MS temel besin ortamına ilave edilen 0.05 mg/L IAA ve 0.1 mg/L GA₃ uygulamalarında artan BAP dozlarının (1.0-2.0-3.0 mg/L) etkisi araştırılmış, en yüksek çoğaltım sayısının 1 mg/L BAP içeren ortamdan elde edildiği bildirilmiştir (Sayılır vd., 2007).

Araştırmamızda farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin vitrifikasyon oranı üzerine etkisi incelenmiştir. Ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.01-P<0.05). En yüksek vitrifikasyon oranı MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamda gözlenmiştir (%34,38). Diğer 4 ortam arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamda diğer ortamlara göre daha fazla vitrifikasyon olmasının sebebinin bu ortam içerisindeki yüksek BAP konsantrasyonu olduğu düşünülmektedir. Yapılan benzer çalışmalarda da vitrifikasyon oranının, yüksek sitokinin seviyesiyle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Chawla (2002), vitrifikasyonu; Vitrifikasyon yapraklarda ve bazen gövdelerde görülen camsılaşma, saydamlaşma, sukkulent veya ıslak ve genellikle şiş görünümlü olan *in vitro* dokuların istenmeyen fiziksel bozukluğudur şeklinde tanımlamaktadır. Vitrifikasyonun oluşumu ve derecesi çok sayıda kompleks faktörden etkilenebilmektedir. Mikroçoğaltımda vitrifikasyonun birçok sebebi olabilir. Bunlar arasında ışık şiddeti, sıcaklık, BAP konsantrasyonu ve bitkinin fizyolojik yapısı gösterilebilir. Karanfil ve enginar da artan agar ve/veya şeker konsantrasyonu vitrifikasyonu genellikle azaltmaktadır. Bu, bazı durumlarda kültür kabındaki daha iyi gaz değişimiyle engellenebilir. Pierik (1987), genç, yumuşak bitki materyalinin vitrifikasyona daha hassas olduğunu 2 fazlı ortam kullanımının (yarı katı+likid ortam) vitrifikasyonu kısmen azalttığı veya tamamen önlediğini bildirmektedir. Sitokinin seviyesi, düşük ışık, yüksek sıcaklık, kültür kabının tipi, alt kültürlerin sayısı ve uzunluğu ve dezenfeksiyon süresince zararlanma benzeri faktörler vitrifikasyona neden olmaktadır (Puchooa vd., 1999).

Araştırmamızda sürgün oluşturan eksplant sayısı için uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Besin ortamlarına dikilen bütün eksplantlarda

kardeşlenme gözlemlendiği için bu oran %100 olarak tespit edilmiştir. Bu durum Aronya'nın fizyolojik yapısından kaynaklanmaktadır. Bitkide yüksek miktarda vitrifikasyon ya da enfeksiyon olmadığı sürece ortama dikilen bütün bitkilerin sürgün verdiği belirlenmiştir. Aronya üzerine yapılan farklı bir çalışmada da sürgün çoğaltma aşamasında, TDZ kullanılarak %98,9 oranında sürgün oluşturan eksplant sayısı tespit edilmiştir (Siyanesan vd., 2016).

Farklı büyüme düzenleyicilerin sürgün boyu üzerine etkileri incelenmiş olup, ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Sürgün boyu bakımından en yüksek ortalama 17,51 mm/eksplant ile MS+1 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA içerikli ortamdan elde edilmiştir. Sürgün boyu açısından MS+1 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA ve MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamlar arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Bir numaralı ortamda sürgün boyunun yüksek olmasının sebebinin sitokinin/oksin oranı olduğu düşünülmektedir. Bazı araştırmacılar ise artan BAP konsantrasyonlarında sürgün boylarının azaldığını bildirmektedirler (Sayılır vd., 2007). Bu durum aynı zamanda alt kültür sayısı ile de ilişkilendirilebilir. Alt kültür sayısı arttıkça bitkinin farklı ortamlardaki adaptasyonu sayesinde farklı sonuçlar da elde edilebilmektedir.

Farklı büyüme düzenleyicilerin boğum sayısı üzerine etkileri incelenmiş olup, uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Boğum sayısı açısından en iyi ortam 4,22 adet/eksplant ile 1 numaralı ortamdır. Boğum sayısı bakımından MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃, MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃, ve MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. En düşük boğum sayısı 3,69 adet/eksplant ile MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamdan elde edilmiştir. GA₃ konsantrasyonunun boğum sayısını arttırdığı bilinmekle araştırmamızda 1. alt kültürde GA₃ bulunmayan ortamın boğum sayısının en yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumda bitkilerin 1. alt kültürde GA₃ ilavesine tepki göstermediği düşünülebilir. Bazı kiraz anaçları üzerine yapılan bir araştırmada, çoğalma ve meydana gelen yeni sürgünlerin gelişmesi üzerine düşük konsantrasyonda GA₃ uygulamasının herhangi bir etkide bulunmadığı, buna karşılık konsantrasyonun artırılması halinde çoğalmanın olumsuz yönde etkilendiği bildirilmektedir (Hepaksoy, 2004).

4.1.2. İkinci alt kültür

Çizelge 4.2. İkinci alt kültür için EBBS, VO, SOES, SB, BS verileri

Ortam içeriği (mg/L)	EBBS (adet)**	VO (%)**	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
MS+1 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA	2,53±0,4 ^b	26,25±9,5 ^{ab}	100±0,0	16,48±2,2 ^b	3,95±0,6 ^b
MS+0.5 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	2,56±0,4 ^b	16,88±4,7 ^{ab}	100±0,0	17,00±3,4 ^b	4,00±0,8 ^b
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,78±0,5 ^a	11,25±2,0 ^b	100±0,0	15,43±2,7 ^b	3,72±0,7 ^b
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 1 mg/L GA ₃	4,78±1,7 ^a	15,00±3,9 ^b	100±0,0	23,55±3,8 ^a	5,39±0,9 ^a
MS+2 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	2,68±0,6 ^b	31,88±5,5 ^a	100±0,0	22,52±6,1 ^a	5,46±1,1 ^a

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

İkinci alt kültüre ait bazı parametreler Çizelge 4.2’de verilmiştir. Araştırmada kullanılan farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının eksplant başına bitki sayısı üzerine etkisi incelenmiştir. Eksplant başına bitki sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.01-P<0.05). Eksplant başına bitki sayısı açısından en iyi ortam bitki başına 4,78 adet/eksplant ile 4 numaralı (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃) ortamdır. Üçüncü (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃) ve 4. (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃) ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Eksplant başına bitki sayısı bakımından MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın yüksek olmasının sebebinin BAP-IBA-GA₃ kombinasyonundan kaynaklı etkileşimler olduğu düşünülmektedir. Bu konuyla ilgili literatür incelendiğinde sitokininlerin ve gibberallinlerin hücre büyümesi ve hücre bölünmesini dolayısıyla da yan sürgün oluşumunu teşvik ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca sitokinin/oksin oranı yanı sıra oksin/gibberallin oranının da önemli olabileceği düşünülmektedir. Farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının bazı kiraz anaçları üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada ortalama sürgün sayıları bakımından Gisela 5 anacında MS ortamına ilave edilen 1 mg/L BAP, 0.02 mg/L IBA ve 1 mg/L GA₃ hormon kombinasyonlarında en yüksek sürgün sayısına (5.08 adet/eksplant) ulaşıldığı bildirilmiştir (Güçlü vd., 2010).

Sülüşoğlu ve elik (2003), ise sürgün sayısı bakımından 1 mg/L BAP ve 0.5 mg/L IBA, sürgün uzunluğu bakımından ise 0.5 mg/L IBA konsantrasyonlarının en iyi sonucu verdiğini saptamışlardır. Ayrıca, Theiler-Hedtrict ve Feucht (1984), en iyi çoğaltım ortamının 0.1 mg/l ve 1 mg/l BAP olduğunu bununla birlikte Silva vd. (2003), ise en iyi çoğaltmanın 0.5 mg/L BAP 'da gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir.

Farklı büyüme düzenleyicilerin vitrifikasyon oranı üzerine etkisi incelenmiştir. Vitrifikasyon oranı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01-P<0.05). En yüksek vitrifikasyon oranı MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamda gözlemlenmiştir (%31,88). Vitrifikasyon oranı bakımından 1., 2., 3., ve 5. ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. En düşük vitrifikasyon oranı MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.05 GA₃ içeren ortamda tespit edilmiştir (%11,25). En yüksek vitrifikasyon oranınının 2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 GA₃ içeren ortamda olma sebebi olarak bu ortam içerisindeki BAP konsantrasyonunun diğer ortamlara göre yüksek olmasının yanında dikim aşamasından sonra oluşabilecek sıcaklık değişimi ve çevre şartları da gösterilebilir. Bir, 3 ve 4 numaralı ortalamalar arasında vitrifikasyon oranı bakımından fark olmamasının sebebinin her iki ortamda da 1 mg/L BAP kullanılması olduğu düşünölmektedir. Literatür incelendiğinde yapılan çalışmalarda da türlere göre değişmekle birlikte artan sitokinin konsantrasyonunun vitrifikasyon oranını arttırdığı sonucuna ulaşıldığı bildirilmektedir. Puchooa vd. (1999), sitokinin seviyesi, düşük ışık, yüksek sıcaklık, kültür kabının tipi, alt kültürlerin sayısı ve uzunluğu ve dezenfeksiyon süresince zararlanma benzeri faktörlerin de vitrifikasyona neden olduğunu belirtmektedir.

Bütün eksplantlarda sürgün oluştuğu için denemede bu oran %100 olarak belirlenmiştir. Bu durumun nedeni Aronya'nın doku kültürü ile çoğaltımında BAP kullanımının yan sürgün sayısını teşvik etmesi ve sürgün sayısını arttırmasıdır. Siyanesan vd. (2016), tarafından yapılan bir çalışmada da *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott'un sürgün ucu kültürlerinden biyoaktif bileşiklerin üretimi için verimli bir *in vitro* çoğaltma protokolü geliştirilmiştir. Araziden alınan eksplantlar TDZ (0.25, 0.50, 1.0 ve 2.0) ile takviye edilmiş Murashige ve Skoog (MS) ortamı üzerinde kültüre alınmıştır. Sürgün çoğalması %98.9 oranında gerçekleşmiştir. Bu araştırma çalışma sonuçlarımızı destekleyici niteliktedir.

Bitki büyüme düzenleyicilerin sürgün boyu üzerine etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$ - $P<0.05$). En uzun sürgün boyu 1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içeren ortamda (23,55 mm/eksplant) elde edilmiştir. Sürgün boyu bakımından 4. ve 5. ortamlar arasındaki fark ile 1., 2., ve 3. ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli uygulamada sürgün uzunluğunun yüksek olmasının nedeni, ortam içerisindeki BAP ve GA₃ kombinasyonunun sürgün uzunluğunu artırmasıdır. Bulgularımızı destekler nitelikteki bir çalışmada Aspir'in (*Carthamus tinctorius L.*) *in vitro* mikroçoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine yapılan farklı bir çalışmada 4 haftalık kültür periyodu sonunda, test edilen BAP konsantrasyonlarında, en iyi sürgün boyu 3.39 cm ile 2.0 mg/L BAP içeren ortamdan elde edildiği ve 1 mg/L BAP içeren ve 2 mg/L BAP içeren ortamlar arasında fark olmadığı tespit edilmiştir (Birecikli ve Akbaş, 2018).

Farklı büyüme düzenleyicilerin boğum sayısı üzerine etkisi incelenmiştir. Boğum sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$ - $P<0.05$). Boğum sayısı açısından en yüksek ortalama 5,39 adet/eksplant ile 1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içeren ortamdan elde edilmiştir. Dördüncü ve 5. ortamlar ile 1.-2.-3. ortamlar arasında farklar istatistik olarak önemli değildir. En yüksek GA₃ konsantrasyonu 1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ ilaveli ortamda bulunduğu için en yüksek boğum sayısının da yine bu ortamdan elde edildiği düşünülmektedir. Güçlü vd. (2010), ise Maxma 14 anacında en uzun sürgün boyuna (1.61 cm) MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içeren besi ortamından elde etmiş ve besi ortamına gibberellik asit eklenmesinin sürgün boylarını uzattığını bildirmiştir. Yine aynı çalışmada sürgün uzunluklarını artırmak amacıyla ortamlara ilave edilen 0.5 ve 1.0 mg/L GA₃ sürgün boyunu önemli oranda arttırmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızı da destekleyici niteliktedir.

4.1.3. Üçüncü alt kültür

Çizelge 4.3. Üçüncü alt kültür için EBBS, VO, SOES, SB, BS verileri

Ortam içeriği (mg/L)	EBBS (adet)**	VO (%)	SOES (%)	SB (mm)*	BS (adet)
MS+1 mg/LBAP 0.01 mg/L IBA	2,68±0,6 ^b	17,50±2,9	100±0,0	21,30±3,2 ^a	4,93±0,7
MS+0.5 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,00±1,0 ^b	27,50±4,2	100±0,0	19,55±2,6 ^{ab}	4,75±0,6
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	4,59±1,6 ^a	25,63±2,5	100±0,0	19,71±2,2 ^{ab}	4,62±0,7
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 1 mg/L GA ₃	4,53±1,2 ^a	22,69±3,8	100±0,0	21,59±2,8 ^a	4,81±0,5
MS+2 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,56±1,5 ^{ab}	30,63±6,9	100±0,0	18,65±2,0 ^b	4,44±0,5

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Çizelge 4.3’de üçüncü alt kültüre ait bazı parametreler verilmiştir. Farklı büyüme düzenleyicilerin eksplant başına bitki sayısı üzerine etkisi incelenmiş, uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.01-P<.05). Eksplant başına bitki sayısı bakımından en yüksek ortalama 4,53 adet/eksplant ile 4 numaralı (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃) ortamdan elde edilmiştir. Üçüncü, 4. ve 5. ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Bu durum önceki alt kültürlerle paralel olarak ortam içerisindeki bitki büyüme düzenleyicilerin birlikte etkisiyle açıklanabilir. MS+1 mg/L IBA+0.01 mg/L IBA içerikli ortamda ortamda en düşük eksplant sayısına ulaşılmıştır. Bunun sebebi olarak 0.01 mg/L IBA dozu gösterilebilir. Araştırma sonucunda BAP’ın GA₃ ile kullanımının yan sürgün sayısını arttırdığı düşünülmektedir. Bu nedenle de 1 numaralı ortam (MS+1 mg/L IBA+0.01 mg/L IBA) eksplant sayısı bakımından düşük olmuştur. Çünkü diğer 4 ortam içerisinde farklı dozlarda GA₃ bulunmaktadır. Petrovic vd. (1990), tarafından *Aronya melanocarpa*’nın *in vitro* olarak çoğalma olasılığının araştırıldığı farklı bir çalışmada ise mevcut bitki örtüsünden bir yıllık dalların tomurcuklarından izole edilen meristemler, farklı besi ortamlarına dikilmiştir. Sürgünler, 1.0 mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA, 0.1 mg/L GA₃ içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Aksiller tomurcukların en iyi gelişimi ve çoğaltılması, 0.5 mg/L BAP, 0.1 mg/L IBA, 0.1 mg/L GA₃ içeren MS ortamından elde edilmiştir. Myrobolan 29-C, MaxMa14,

MaxMa60, GF677 ve GN gibi anaçların doku kültürü ile çoğaltılması ile ilgili yapılan bir çalışmada ise sürgün oluşumu ve gelişimi için en uygun besi ortamının 1 ve 2 mg/L BAP içeren besi ortamları olduğu bildirilmiştir (Arıcı, 2008). Literatür incelendiğinde sürgün ucu kültüründe yapılan çalışmalarda GA₃ araştırmalarda kullanılmaktadır.

Farklı büyüme düzenleyicilerinin vitrifikasyon oranı üzerine etkisi istatistik olarak önemli değildir. En yüksek vitrifikasyon oranı MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamdan (%30,63) elde edilmiştir. Genel olarak bitkilerde alt kültür sayısı arttıkça vitrifikasyon oranı artmaktadır. Bu nedenle de ortamlar arasındaki farklar önemli bulunmamıştır. Bu durum önceki bilgilere paralel olarak yüksek BAP konsantrasyonu ve çevre şartlarıyla da ilişkilendirilebilir. Çünkü vitrifikasyonun birçok sebebi olabilir. Bunlar arasında sıcaklık değişimi, ortamın nem içeriği, ışık şiddeti, alt kültür sayısı gösterilebilir.

Sürgün oluşturan eksplant sayısı daha önceki kültürlere paralel olarak %100 bulunmuştur. Araştırmada, Aronya'nın doku kültürü yöntemiyle çoğaltımında optimum çevre şartları sağlanması ve kontaminasyondan kaynaklı bir problem oluşmaması durumunda besin ortamına dikilen sağlıklı materyalin yan sürgün oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Farklı büyüme düzenleyicilerin sürgün uzunluğuna etkisi incelenmiş, uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.05). En iyi sürgün boyu MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamdan (21,59 mm/eksplant) elde edilmiş olup, 1., 2., 3. ve 4. ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. En kısa sürgün boyu ise MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.05 mg/L GA₃ içeren ortamdan elde edilmiştir (18,65 mm/eksplant). En kısa sürgün boyunun 5. ortamdan elde edilmesinin nedeninin, ortam içerisindeki yüksek BAP kullanımından kaynaklandığı düşünülmektedir. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın sürgün uzunluğu bakımından yüksek olmasının nedeni alt kültür sayısının artması ve ortam içerisindeki sitokin miktarı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda literatür incelendiğinde, artan BAP konsantrasyonunda sürgün boyunun hem arttığı hem de azaldığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır. Nitekim sert çekirdekli türler üzerine yapılan farklı bir

çalışmada, ortalama sürgün boyları karşılaştırılmış, MS ortamına ilave olarak 1 mg/L BAP, 0.02 mg/L IBA ve 1 mg/L GA₃ içeren ortamda en uzun sürgünler (1.56 cm/eksplant) elde edilmiştir (Arıcı, 2008). Gisela 5 kiraz anacının çoğaltılması ve köklenmesi üzerine yapılan başka bir çalışmada ise MS besi ortamına eklenen 1 mg /L BAP dozunun sürgün boyu bakımından en iyi sonuçları verdiği tespit edilmiş ve ortalama sürgün boyu 1.70 cm bulunmuştur (Demiral ve Ülger, 2008). MaxMa 14 anacında yapılan farklı bir çalışmada da en uzun sürgün boyu (1.61cm) MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA +1 mg/L GA₃ içeren besi ortamında MaxMa 14 anacında elde edilmiştir (Güçlü vd., 2010). Görüldüğü gibi sürgün boyu açısından literatür ile çalışmamız arasında benzer sonuçlar bulunmaktadır.

Çalışmamızda farklı bitki büyüme düzenleyicilerin boğum sayısına etkisi incelenmiştir. Boğum sayısı açısından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Çalışmamızda alt kültür sayısının artması boğum sayısını etkilememiştir. Bu durumun nedenleri arasında bitkinin fizyolojik yapısı ve alt kültür sayısı gösterilebilir. Çünkü bitkilerin boğum sayısının sürekli artması beklenen bir durum değildir ve aynı zamanda alt kültür sayısı arttıkça bitki yaşlanmakta ve uygulamaların istenilen etkiyi gösterememiş olabileceği düşünülmektedir.

4.1.4. Kullanılan ortamların özellikler bakımından değerlendirilmesi

Çizelge 4.4. Ortamların EBBS, VO, SOES, SB, BS bakımından karşılaştırılması

Ortam içeriği (mg/L)	EBBS (adet)**	VO (%)**	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
MS+1 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA	2,66±0,7 ^b	15,63±4,9 ^b	100±0,0	18,43±3,1 ^{ab}	4,37±0,7 ^{ab}
MS+0.5 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	2,85±0,8 ^b	21,04±4,1 ^b	100±0,0	17,52±2,9 ^b	4,14±0,7 ^b
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	4,14±1,2 ^a	18,54±4,3 ^b	100±0,0	17,07±2,8 ^b	4,07±0,7 ^b
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 1 mg/L GA ₃	4,56±1,7 ^a	19,33±4,6 ^b	100±0,0	20,55±4,0 ^a	4,72±0,8 ^a
MS+2 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,03±1,4 ^b	32,29±4,4 ^a	100±0,0	19,11±4,5 ^{ab}	4,62±0,9 ^{ab}

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Alt kültürlerin *in vitro* rejenerasyon ve kardeşlenme üzerine etkisi gözlemlenmeden farklı büyüme düzenleyicilerin bazı parametreler üzerine etkisi Çizelge 4.4'de incelenmiştir. Buna göre farklı büyüme düzenleyicilerin eksplant başına bitki sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$ - $P<0.05$). Dört numaralı ortam (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃) eksplant başına 4,56 adet/eksplant bitki sayısı ile en yüksek bulunmuş olup 3. ve 4. ortalamalar arasında ki fark istatistik olarak önemsizdir. Bu durumun nedeni olarak, her iki ortamda da sitokinin/oksin oranının aynı olması gösterilebilir. En düşük EBBS ise 2. ortamdan (MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃) 2,85 adet/eksplant elde edilmiştir. Bu durum 2. ortamda kullanılan düşük sitokinin ve kullanımı ile ilişkilendirilebilir. Nas vd. (2012), tarafından yapılan bir çalışmada ise kültür ortamının ve sitokinin tiplerinin *Aronia melanocarpa*'nın mikroçoğaltımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tek aksiller tomurcuk eksplantları kullanılmıştır. MS, DKW ve WPM ile karşılaştırıldığında, sürgün üretimi NRM'de 5.7 adet sürgün olarak bulunmuştur. MS, DKW ve WPM'de sırasıyla 4.2, 4.2 ve 4.1 adet sürgün elde edilmiştir. Benziladenin hem sürgün poliferasyonunu hem de sürgün uzamasını destekleyen tek sitokinin olduğu bildirilmektedir. Gisela 5 anacında yapılan farklı bir çalışmada da ortamlara göre değişmekle birlikte 1 mg/L BAP kullanımında ortalama 4.26 adet/eksplant elde edilmiştir (Hepaksoy, 2004). Bu durum bizim çalışma sonuçlarımızın literatürle örtüşüğünü göstermektedir. Eksplant başına bitki sayısı bakımından 1., 2., ve 5., ortalamaların düşük olma nedeni incelendiğinde, çok yüksek ya da çok düşük BAP ve GA₃ kullanımının EBBS'ni olumsuz etkilediği sonucuna ulaşılabilmektedir. Gisela 5 anacında yapılan farklı bir çalışmada da oksin konsantrasyonunun düşük, buna karşılık GA₃ konsantrasyonunun yüksek olmasında olduğu gibi, oksin miktarının yüksek, GA₃ miktarının düşük olması durumunda da çoğalmanın olumsuz yönde etkilendiği bildirilmektedir (Hepaksoy, 2004).

Sürgün oluşturan eksplant sayısı bakımından ortalamalar arasında bir fark gözlemlenmemiştir. Ortamlara dikilen bütün bitkilerde yan sürgün gözlenmiştir. Farklı büyüme düzenleyicilerinin sürgün boyu üzerine etkisi incelenmiş, uygulamalar arasındaki farklar istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($P<0.05$ - $P<0.01$). Sürgün boyu bakımından en iyi (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃) içerikli ortamdır (21,35 mm/eksplant). Diğer 4 ortam arasında istatistik olarak fark

bulunmamaktadır. Sürgün boyu bakımından MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın yüksek olma sebebi; sitokinin/oksin oranı yanında 1 mg/L GA₃ ilave edilmesidir. Çünkü GA₃ miktarının boğum sayısını uzatmanın yanı sıra, hücre büyüme ve bölünmesini arttırdığı böylece sürgün boyunu da artabileceği düşünülmektedir. Nitekim bazı araştırmalarda, ortam içerisindeki GA₃ miktarının sürgünde canlılığı ve sürgün boyunu arttırdığı aynı zamanda daha fazla çoğalma olduğunu bildirmiştir (Hepaksoy, 2016).

Farklı büyüme düzenleyicilerin boğum sayısına etkisi incelendiğinde, boğum sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.01-P<0.05). Boğum sayısı bakımından en iyi ortam 4,72 adet/eksplant ile MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamdır. Boğum sayısı bakımından 2., 3. ve 5. uygulamalar arasında istatistik olarak farklar önemli değildir. Bu durum her 3 ortam içerisinde bulunan 0.5mg/L GA₃ miktarı ile ilişkilendirilmektedir. 4 numaralı ortamın (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃) sürgün uzunluğu ve sitokinin oranı nedeniyle en yüksek olduğu düşünülmektedir.

4.1.5. Uygulamaların alt kültürler bakımından karşılaştırılması

4.1.5.1. MS+1 mg/L IBA+0.01 mg/L IBA içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması

Çizelge 4.5. MS+1 mg/L IBA+0.01 mg/L IBA içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması

Alt kültür	EBBS (adet)	VO (%)**	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
1	2,73±1,1	3,13±0,5 ^b	100±0,0	17,51±0,9 ^b	4,22±0,2 ^b
2	2,53±0,4	26,25±8,1 ^a	100±0,0	16,48±2,2 ^b	3,95±0,6 ^b
3	2,68±0,6	17,50±7,3 ^a	100±0,0	21,30±3,2 ^a	4,93±0,7 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Alt kültürlerin MS+1 mg/L IBA+0.01 mg/L IBA içerikli ortam üzerine etkisi Çizelge 4.5'de verilmiştir. Buna göre eksplant başına bitki sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Alt kültür sayısı arttıkça eksplant başına bitki sayısının artmadığı görülmüştür. Bu durumun nedeninin ortam içeriğiyle ve bitkinin fizyolojik durumuyla ilgili olabileceği düşünülmektedir. En yüksek

eksplant başına bitki sayısı 2,73 adet/eksplant olarak birinci alt kültürden elde edilmiştir. Bu durum bitkinin rejenerasyon yeteneğinin sabit bir şekilde devam ettiğinin bir göstergesidir.

Vitrifikasyon oranı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$ - $P<0.05$). En yüksek vitrifikasyon oranı 2. alt kültürden elde edilmiş olup 2. ve 3. alt kültürler arasında istatistik olarak fark önemli değildir. Bitkide alt kültür sayısı arttıkça bitki yaşlanmaya başlamakta, bu nedenle de vitrifikasyon oranının da artacağı düşünülmektedir. Sürgün oluşturan eksplant sayısı bütün alt kültürlerde %100 olarak bulunmuştur. Bu durum bitkinin 3 alt kültür süresince rejenerasyon yeteneğinin devam ettiğinin bir göstergesidir. Sürgün boyu ve boğum sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$ - $P<0.05$). Sürgün boyu ve boğum sayısı bakımından en iyi sonuçlar sırasıyla 21,30 mm/eksplant ve 4,93 adet/eksplant ile 3. alt kültürden elde edilmiştir. Bu durumun sebebinin alt kültür sayısı arttıkça sürgün boyu ve boğum sayısının da artmasıdır. Aynı zamanda çalışmada sürgün uzunluğu arttıkça boğum sayısının da arttığı görülmüştür.

4.1.5.2. MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından incelenmesi

Çizelge 4.6. MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması

Alt kültür	EBBS (adet)	VO (%)**	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
1	3,10±0,9	19,17±3,3	100±0,0	16,11±1,5 ^b	3,68±0,3 ^b
2	2,56±0,4	16,88±4,1	100±0,0	17,00±3,4 ^b	4,00±0,8 ^b
3	3,00±1,0	27,50±2,1	100±0,0	19,55±2,6 ^a	4,75±0,6 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.05$).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$).

Alt kültürlerin MS+0.5 mg/L BAP+0.01 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortam üzerine etkisi çizelge 4.6'da verilmiştir. Eksplant başına bitki sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. EBBS bakımından en yüksek sonuç 1. alt kültürde eksplant başına 3,10 adet olarak bulunmuştur. Bitkide rejenerasyon yeteneği arttıkça eksplant sayısının da artması beklenmektedir. Fakat çalışmada ortalamalar arasındaki farklar birbirine çok yakın olduğu için böyle bir sonuç alınmamıştır. Bu durum bitkinin

fizyolojik yapısı ve ortam içeriğine karşı göstermiş olduğu tepki ile alakalı olabilir.

Vitrifikasyon oranı açısından alt kültürler arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. En yüksek vitrifikasyon oranı %27,50 ile 3. alt kültürden elde edilmiştir. Vitrifikasyon oranı çalışmada denemeyi engelleyecek boyutlara ulaşmadığı için istatistiki açıdan da önemli bulunmamıştır. Yine yüksek olmasa da alt kültür sayısı arttıkça vitrifikasyon oranının da arttığı söylenebilir.

Alt kültürlerin sürgün boyu üzerine etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). En yüksek sürgün boyu 3. alt kültürden (19,55 mm/eksplant) elde edilmiştir. Bu sonuçlar, alt kültür sayısı arttıkça sürgün boyunun da arttığını göstermektedir. Bu durum artan alt kültürle birlikte bitkinin ortam koşullarına uyum sağladığını göstermektedir. Sürgün boyu açısından 1 ve 2. alt kültürler arasında istatistik olarak önemli bir fark yoktur. Alt kültürlerin boğum sayısına etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$ - $P<0.05$). En yüksek boğum sayısı 4,75 adet ile 3. alt kültürden elde edilmiştir. Boğum sayısı bakımından 1 ve 2. alt kültür ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir.

4.1.5.3. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından incelenmesi

Çizelge 4.7. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması

Alt kültür	EBBS (adet)	VO (%)*	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
1	4,06±1,2	18,75±5,6 ^{ab}	100±0,0	16,08±1,1 ^b	3,85±0,3 ^b
2	3,78±0,5	11,25±3,1 ^b	100±0,0	15,43±2,7 ^b	3,72±0,7 ^b
3	4,59±1,6	25,63±4,8 ^a	100±0,0	19,71±2,2 ^a	4,62±0,7 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.05$).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$).

Alt kültürlerin MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortam üzerindeki etkisi Çizelge 4.7'de verilmiştir. Buna göre eksplant başına bitki sayısı bakımından alt kültürler arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. En yüksek rejenerasyon 3. alt kültürden sağlanmıştır (4,59 adet/eksplant). Alt kültürler arasındaki ortalamalar birbirine yakın olduğu için istatistiki bir fark bulunmamıştır. Alt kültürlerin vitrifikasyon oranı üzerine

etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$ - $P<0.05$). En yüksek vitrifikasyon oranı 3. alt kültürden elde edilmiştir (%25,63). Vitrifikasyon oranı bakımından 1 ve 3. alt kültürler arasında fark istatistik olarak önemli değildir.

Alt kültürlerin sürgün boyu ve boğum sayısına etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$ - $P<0.05$). En iyi sürgün boyu ve boğum sayısı sırasıyla 19,71 mm/eksplant, 4,62 adet/eksplant olarak 3. alt kültürden elde edilmiştir. Sürgün boyu ve boğum sayısı bakımından 1 ve 2. alt kültürler arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Araştırmada sürgün boyunun yüksek olması durumunda, boğum sayısının da arttığı belirlenmiştir.

4.1.5.4. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından incelenmesi

Çizelge 4.8. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması

Alt kültür	EBBS (adet)	VO (%)	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
1	4,37±0,5	20,00±3,5	100±0,0	16,51±0,8 ^b	3,97±0,2 ^b
2	4,78±1,7	15,00±3,2	100±0,0	23,55±3,8 ^a	5,39±0,9 ^a
3	4,53±1,2	22,69±3,4	100±0,0	21,59±2,8 ^a	4,81±0,5 ^a

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.05$).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$).

Alt kültürlerin MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortam üzerine etkisi Çizelge 4.8'da verilmiştir. Buna göre eksplant başına bitki sayısı bakımından ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Eksplant başına bitki sayısı en yüksek 2. alt kültürden elde edilmiştir. Eksplant başına bitki sayısı bakımından alt kültürler arasında fark olmaması, bitkinin alt kültür sayısı arttıkça yaşlandığını bu nedenle sabit bir çoğaltım katsayısına ulaştığını göstermektedir.

Vitrifikasyon oranı bakımından ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Araştırma sonucunda uygulamalara göre değişmekle birlikte alt kültür sayısı arttıkça vitrifikasyon oranının da arttığı söylenebilir. Sürgün boyu ve boğum sayısı bakımından ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$ - $P<0.05$). En uzun sürgün boyu ve boğum sayısı sırasıyla 23,55 mm/eksplant ve 5,39 adet/eksplant ile 2. alt kültürden elde edilmiş olup 2. ve 3. alt kültürler arasında

istatistik olarak fark önemli değildir. Bu sonuçlar doğrultusunda bitkide artan alt kültür sayısı ile sürgün boyunun ve boğum sayısının da arttığı söylenilebilir.

4.1.5.5. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından incelenmesi

Çizelge 4.9. MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamın alt kültürler bakımından karşılaştırılması

Alt kültür	EBBS (adet)	VO (%)	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
1	2,84±0,2	34,38±10,1	100±0,0	16,17±1,0 ^b	3,95±0,3 ^b
2	2,68±0,6	31,88±10,6	100±0,0	22,52±3,7 ^a	5,46±1,1 ^a
3	3,56±1,1	30,63±10,2	100±0,0	18,65±2,0 ^{ab}	4,43±0,5 ^b

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

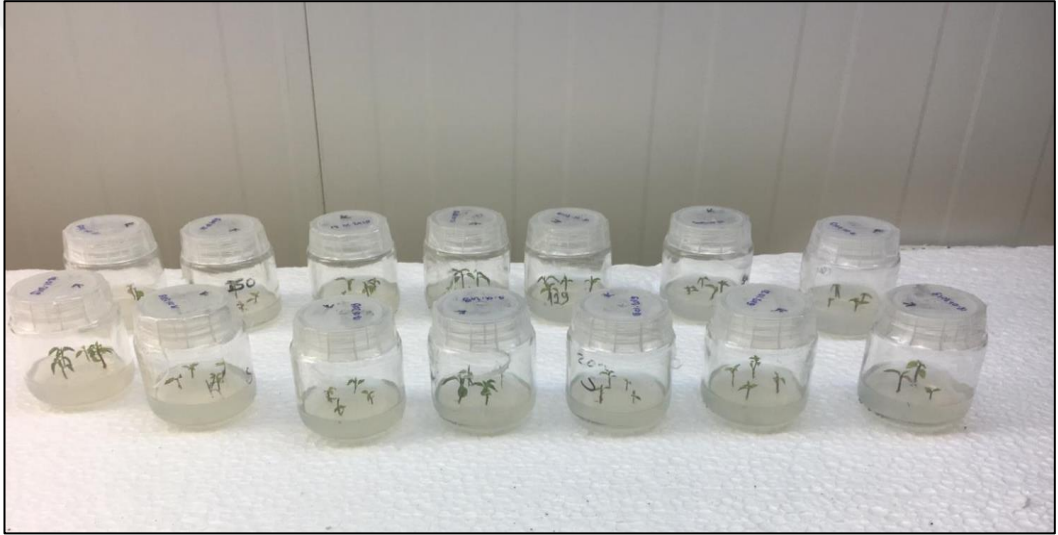
**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Alt kültürlerin MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortam üzerine etkisi Çizelge 4.9'da verilmiştir. Buna göre eksplant başına bitki sayısı bakımından ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Alt kültürlerin ortam üzerinde artan bir etkisi görülmemiştir. Nitekim sert çekirdekli türler üzerinde yapılan farklı bir çalışmada da kullanılan ortamın (2 mg/L BAP+0,1 mg/l IBA+0,5 mg/l GA₃) benzer sonuçlar verdiği ifade edilerek alt kültür sayısı arttıkça kardeşlenmenin azaldığı bildirilmiştir (Zainel ve Hepaksoy, 2018).

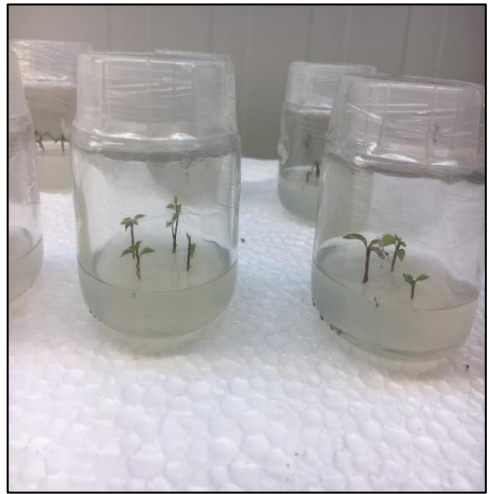
Vitrifikasyon oranı bakımından ortalamalar arasındaki farklılık istatistik açıdan önemli bulunmamıştır. Çalışmada genel olarak 2 mg/L BAP içeren ortamda vitrifikasyon oranı diğer ortamlara göre yüksek olduğu için, bu yüksekliğin alt kültür sayısından kaynaklanmadığı düşünülmektedir. Sürgün boyu bakımından ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.01-P<0.05). En uzun sürgün boyu (22,52 mm/eksplant) 2. alt kültürden elde edilmiş olup, 2. ve 3. ortalamalar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli değildir. Boğum sayısı bakımından ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01-P<0.05). En yüksek boğum sayısı sürgün uzunluğuna paralel olarak 2. alt kültürden (5,46 adet) elde edilmiş, yine 1 ve 3. alt kültür ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Sürgünlerdeki boğum sayıları yaprak sayısı hakkında da bilgi vermektedir. Şekil 4.2'de 3 numaralı ortamdan elde edilen in vitro bitkiler verilmiştir. Şekil 4.3 ve 4.4'de ise 2. alt kültür aşamasında MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içeren 4. ortama ait bitkiler verilmiştir.



Şekil 4.2. Dikim aşamasında kullanılan kardeşlenmiş *in vitro* bitkiler



Şekil 4.3. İklim odasına alınan bitkiler



Şekil 4.4. Alt kültür sonucu elde edilen *in vitro* bitkiler

4.1.6. Vitrifikasyon oranı, sürgün boyu ve boğum sayısı için interaksiyon tabloları

Araştırma sonucunda vitrifikasyon oranı, sürgün boyu ve boğum sayısı için ortam x alt kültür interaksiyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$ - $P<0.05$). Bu 3 özelliğin alt kültür ve ortam üzerine etkileri Çizelge 4.10, Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.10. Vitrifikasyon oranı (%) için interaksiyon tablosu

Ortam içeriği (mg/L)	Alt kültür			*Ortalama
	1	2	3	
MS+1 mg/LBAP 0.01 mg/L IBA	3,13±0,5	26,25±8,1	17,50±7,3	15,63B
MS+0.5 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	19,17±3,3	16,88±4,1	27,50±2,1	21,04B
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	18,75±5,6	11,25±3,1	25,63±4,8	18,54B
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 1 mg/L GA ₃	20,00±3,5	15,00±3,2	22,69±3,4	19,33B
MS+2 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	34,38±10,1	31,88±10,6	30,63±10,2	32,30A
Ortalama	19,06a	20,25a	24,79a	

*Aynı sütunda farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P<0.01$).

Vitrifikasyon oranı için interaksiyon tablosu Çizelge 4.10’da verilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda farklı büyüme düzenleyicilerin ve alt kültür sayısının vitrifikasyon oranı üzerine etkisi incelendiğinde vitrifikasyon oranı için ortam x alt kültür interaksiyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P<0.01$ - $P<0.05$). En yüksek vitrifikasyon oranı %32,30 ile MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+0.5 mg/L GA₃ içerikli ortamda bulunmuştur. Bu durumun sebebi ortam içerisindeki yüksek BAP konsantrasyonu ile ilgilidir. Diğer 4 ortam arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Araştırma sonuçları incelendiğinde tek başına alt kültür sayısının vitrifikasyona neden olmadığı, ortam içeriğinin de vitrifikasyon oranı için önemli olduğu tespit edilmiştir. Tüm bu bilgiler ışığında vitrifikasyonun ortam içeriğinden, alt kültür sayısına göre daha çok etkilendiği ifade edilebilir.

Çizelge 4.11. Sürgün boyu (mm) için interaksiyon tablosu

Ortam içeriği (mg/L)	Alt kültür			*Ortalama
	1	2	3	
MS+1 mg/LBAP 0.01 mg/L IBA	17,51±0,9	16,48±2,2	21,30±3,2	18,43BC
MS+0.5 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	16,11±1,5	17,00±3,4	19,55±2,6	17,52BC
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	16,08±1,1	15,43±2,7	19,71±2,2	17,07C
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 1 mg/L GA ₃	16,51±0,8	23,55±3,8	21,59±2,8	20,55A
MS+2 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	16,17±1,0	22,52±3,7	18,65±2,0	19,11AB
**Ortalama	16,46b	19,00a	20,16a	

*Aynı sütunda farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

**Aynı satırda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Sürgün boyu için interaksiyon tablosu Çizelge 4.11’de verilmiştir. Buna göre alt kültürler arasındaki farklar ve ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01-P<0.05). Sürgün boyu için en yüksek ortalama 20,16 mm/eksplant ile 3. Alt kültürden elde edilmiştir. İkinci ve 3. alt kültür ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Çalışma sonucunda alt kültür sayısı arttıkça sürgün boyunun da arttığı görülmektedir. Bu durum, ortam içerisindeki sitokin miktarının artan alt kültür karşısında hücre büyümesi ve bölünmesini arttırmasından kaynaklanmaktadır.

En yüksek sürgün boyu ortalama 20,55 mm/eksplant ile MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içeren ortamdan elde edilmiştir. Dördüncü ve 5. ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Üçüncü ve 4. ortamlar arasındaki farkın artan GA₃ miktarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu bilgiler ışığında sürgün boyu için ortam içeriği ve alt kültür sayısının yanı sıra, ortam içeriğindeki farklı büyüme düzenleyicilerinin birlikte etkisinin de alt kültür sayısı kadar önemli olduğu kanısına varılmıştır.

Çizelge 4.12. Boğum sayısı (adet) için interaksiyon tablosu

Ortam içeriği (mg/L)	Alt kültür			*Ortalama
	1	2	3	
MS+1 mg/LBAP 0.01 mg/L IBA	4,22±0,2	3,95±0,6	4,93±0,7	4,37AB
MS+0.5 mg/L BAP 0.01 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,68±0,3	4,00±0,8	4,75±0,6	4,14B
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,85±0,3	3,72±0,7	4,62±0,7	4,07B
MS+1 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 1 mg/L GA ₃	3,97±0,2	5,39±0,9	4,81±0,5	4,72A
MS+2 mg/L BAP 0.02 mg/L IBA 0.5 mg/L GA ₃	3,95±0,3	5,46±1,1	4,43±0,5	4,62A
**Ortalama	3,94b	4,51a	4,71a	

*Aynı sütunda farklı büyük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

**Aynı satırda farklı küçük harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Boğum sayısı için alt kültür x ortam interaksiyonu Çizelge 4.12’de verilmiştir. Boğum sayısı için alt kültür x ortam interaksiyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur (P<0.01-P<0.05). En yüksek boğum sayısına 3. alt kültürde ulaşılmıştır. İkinci ve 3. alt kültür ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Bulgularımıza göre bütün ortamlarda alt kültür sayısı arttıkça boğum sayısı da artmıştır. En yüksek boğum sayısı 4,72 adet/eksplant ile MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃ içerikli ortamdan elde edilmiştir. Dördüncü ve 5. ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir. Tüm bu sonuçlar ışığında sürgün boyu üzerine hem alt kültür sayısının hem de ortam içeriğinin önemli olduğu görülmüştür.

4.2.Köklenme Ortamı

Mikroçoğaltımda kullanılan köklenme ortamında çeşitli oksin grubuna ait bitki büyüme düzenleyiciler kullanılmaktadır. Bunlar arasında IBA, NAA en çok tercih edilen bitki büyüme düzenleyicileri arasındadır. Ön deneme çalışmalarında farklı dozlarda büyüme düzenleyiciler denenmiş, literatür ve ön deneme sonuçları incelenerek 5 farklı köklendirme ortamı içeriği belirlenmiştir. Çoğaltma ortamında olduğu gibi köklenme ortamında da MS kullanılmıştır. Köklenme ortamında ½ MS

köklenme için yeterli olduğu için yarı kuvvetli bir MS ortamı tercih edilmiştir. Bu aşamada eksplant olarak 2-3 boğumlu (≥ 2 cm) sürgünler kullanılmıştır. Bu sürgünler, sürgün çoğaltım aşamasında tanımlanan sürgün ucu eksplantları ile alt kültürler neticesinde elde edilmiştir.

MS ($\frac{1}{2}$) gibi tuzca fakir ortamlarda köklendirilmiş *in vitro* bitkiciklerin *in vivo* koşullara alışmasının ve gelişmesinin çok daha iyi olduğu bildirmektedir (Pierik, 1987). Alstroemeria rizom kültüründe köklenme için tam MS ortamının yarım MS ortamına tercih edilmesi gerektiği bildirilmektedir (Pierik vd., 1988). Mineral madde sayısının ve miktarının azaltılması birçok bitki türünde iyi sonuç vermektedir (Hasegawa, 1980; Drew, 1987; Welander, 1985; Hyndman vd., 1982; Dimassi-Theriou, 1995. Fouad vd., 1997). Seyreltilmiş besin ortamlarının olumlu etkisinde azot yoğunluğundaki azalmaya bağlı olabilmektedir (Driver ve Suttle, 1987). Literatür incelendiğinde çoğu türde $\frac{1}{2}$ MS ortamının köklenme için yeterli olduğu görülmüştür. Köklendirme ortamında kullanılan farklı konsantrasyonda IBA içeren ortamların Aronya'nın Nero çeşidine ait sürgünlerinin *in vitro* köklenmesi üzerine etkisi Çizelge 4.13'de incelenmiştir.

Çizelge 4.13.Farklı konsantrasyonda IBA içeren ortamların Aronya'nın sürgünlerinin *in vitro* köklenmesi üzerine etkisi

Ortam içeriği (mg/L)	SB (mm)	BS (adet)	KS (adet)**	KU (mm)	KK (mm)	KO (%)**
$\frac{1}{2}$ MS+0.1 mg/L IBA	24,27 \pm 7,9	11,06 \pm 2,4	8,76 \pm 3,5 ^b	18,25 \pm 4,8	0,30 \pm 0,11	30,00 \pm 5,4 ^c
$\frac{1}{2}$ MS+0.5 mg/L IBA	22,63 \pm 4,5	11,53 \pm 1,1	11,20 \pm 3,6 ^{ab}	19,78 \pm 3,2	0,33 \pm 0,06	51,25 \pm 6,2 ^b
$\frac{1}{2}$ MS+1 mg/L IBA	27,54 \pm 5,1	11,28 \pm 2,0	13,03 \pm 2,7 ^a	23,26 \pm 5,7	0,33 \pm 0,05	90,00 \pm 7,4 ^a
$\frac{1}{2}$ MS+1.5 mg/L IBA	27,06 \pm 7,5	12,15 \pm 1,4	10,90 \pm 3,5 ^{ab}	22,25 \pm 4,9	0,35 \pm 0,05	60,00 \pm 6,3 ^a
$\frac{1}{2}$ MS+2 mg/L IBA	28,54 \pm 6,3	11,09 \pm 1,6	10,66 \pm 2,6 ^{ab}	20,05 \pm 5,9	0,29 \pm 0,05	48,75 \pm 7,2 ^b

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.05).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (P<0.01).

Buna göre farklı IBA dozlarının sürgün boyu ve boğum sayısı üzerine etkisi istatistik olarak önemli değildir. Uygulamalar arasında istatistik olarak önemli fark olmamasının sebebi IBA'nın sürgün boyu ve boğum sayısına herhangi bir etkisinin olmadığı düşüncesidir. Zaten IBA köklendirme hormonu olarak bilinmektedir.

Farklı IBA dozlarının kök sayısı üzerine etkisi incelenmiş olup uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.01$ - $P < 0.05$). Kök sayısı bakımından en iyi sonuç 1 mg/L IBA içeren 3. ortamdan elde edilmiştir (13,03 adet/eksplant). Bitki fizyolojisi açısından bu miktarın yeterli olduğu düşünülmektedir. En düşük kök sayısı (8,76 adet/eksplant) 0.1 mg/L IBA içeren 1. ortamdan elde edilmiş olup 2., 4. ve 5. ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Siyanesan vd. (2016), tarafından *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott'un sürgün ucu kültürlerinden biyoaktif bileşiklerin üretimi için yapılan bir çalışmada ise, sürgün başına kök sayısı ortalama 10.6 adet, ortalama kök uzunluğu 5.4 cm olarak bulunmuştur. 30 günlük kültürden sonra en iyi köklenme 1.0 mg/L IBA ile takviye edilmiş ½ MS ortamı üzerinden elde edilmiştir. Bitkilerin tamamı serada dış koşullara alıştırılmıştır. Bu sonuçların aksine Zimmerman (1981), düşük konsantrasyonlarda uygulanan oksinlerin köklenmeyi teşvik ettiğini saptamışlardır. Bununla birlikte Zilkah vd., (1992), köklenme ortamında 0.5 ppm NAA uygulamasının daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Petrovic vd. (1990), tarafından *Aronya melanocarpa* Elliot'un *in vitro* olarak çoğalma olasılığının araştırıldığı bir çalışmada ise en iyi köklenme, 1.5 mg/L IBA ile elde edilmiştir. Her bitkinin fizyolojik ihtiyacı farklı olabileceği için bu durum bitki ve hormon türüne göre de değişebilmektedir.

Kök uzunluğu ve kök kalınlığı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli değildir. Kök uzunluğu ve kök kalınlığı bakımından ortalamaların birbirine çok yakın olması nedeniyle ortamlar arasında fark bulunamamıştır. En iyi kök uzunluğu 1 mg/L IBA içeren 3. ortamdan (23,26 mm/eksplant) elde edilmiştir. Bu durumun sebebi bitki için bu dozun optimum köklenme için yeterli olmasından kaynaklanmaktadır. Nitekim Endemik bir tür olan '*Astragalus trojanus*' üzerine yapılan bir çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş olup 1 mg/L IBA içeren ortamda ortalama kök uzunluğu 2,90 cm olarak bulunmuştur (Atalay vd., 2017). Buna sonuçlar literatürle bizim sonuçlarımızın benzerliğini göstermektedir. Kök kalınlığı bakımından ortalamalar arasında fark yoktur. Kök kalınlığı bakımından en iyi ortam 1,5 mg/L IBA içeren 4. ortamdır (0.35 mm/adet).

Şekil 4.6'da *in vitro* köklenmiş olan bitkilerin kumpas ile ölçümü gösterilmektedir. Şekil 4.7'de ise *in vitro* köklenmiş olan bitkilerin dış koşullara adaptasyonu

verilmiştir. Denemede dış koşullara adaptasyonla ilgili bir veri alınmamıştır. Köklenmiş olan bitkiler agardan iyice temizlendikten sonra fungusitle ilaçlanmış torf perlit karışımı topraklara dikilmiştir. Köklenmiş olan bitkilerin üzeri streç filmle kapatılmış ve daha sonra streç film üzerinde hava akışını sağlamak için delikler açılmıştır. Bu şekilde bitkilerdeki su kaybı engellenmiştir. Yaklaşık 2-3 hafta kadar iklim odalarında bekletildikten sonra dış ortam alınmıştır.



Şekil 4.5. Farklı IBA dozlarında *in vitro* köklenmiş bitkiler a) 1 mg/L IBA
b) 1.5 mg/L IBA c) 0.1 mg/L IBA



Şekil 4.6. *İn vitro* köklenmiş bitkilerin kumpas yardımı ile ölçülmesi



Şekil 4.7. *İn vitro* köklenmiş olan bitkilerin dış koşullara adaptasyonu

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada farklı bitki büyüme düzenleyici kombinasyonlarının Aronya'nın (*Aronia melanocarpa* (Michx). Elliot) 'Nero' çeşidine ait sürgün uçlarının mikroçoğaltımı üzerine etkileri incelenmiştir. Yapılan çalışmada 5 farklı çoğaltma ortamı ve 5 farklı köklendirme ortamı kullanılmıştır. Çoğaltma ortamında bitkiler 3 alt kültüre alınmıştır. Bu çalışma sonucunda sürgün oluşturan eksplant sayısı (%), eksplant başına sürgün sayısı (adet), sürgün boyu (mm), köklenme oranı (%), sürgün başına kök sayısı (adet), kök uzunluğu (mm), boğum sayısı (adet) gibi parametreler belirlenmiş olup farklı konsantrasyonlarda kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerin bu parametreler üzerine etkileri araştırılmıştır.

Elde edilen veriler ışığında büyüme düzenleyici konsantrasyonlarında optimum ortam belirlemek için tek bir büyüme düzenleyicinin değil, farklı kombinasyonların birlikte etkisinin incelenmesi gerektiği düşünülmektedir. Bu nedenle, ortam denemelerinde farklı bitki büyüme düzenleyicilerin uygulanmasının daha uygun olduğu düşünülmektedir.

Araştırmada ortam içeriği ve alt kültür sayısının yanı sıra ortam içeriğindeki farklı büyüme düzenleyicilerinin birlikte etkisinin de alt kültür sayısı kadar önemli olduğu görülmüştür. Bu nedenle de özellikle farklı büyüme düzenleyicilerin birlikte etkisi değerlendirilmelidir. Bu doğrultuda sitokin oranının yüksek olması durumunda bitkide sürgün oluşumu gözlemlenirken, oksin oranının yüksek olduğu ortamda da bitki köklenme oranının arttığı görülmüştür.

Araştırma sonuçları incelendiğinde, çok yüksek ya da çok düşük BAP ve GA₃ kullanımının eksplant başına bitki sayısını olumsuz etkilediği tespit edilmiştir. Düşük IBA konsantrasyonunda köklenme düşük olurken, çok yüksek konsantrasyonda da yine aynı sonuçlara ulaşılmıştır. Ayrıca çalışma sonucunda yüksek BAP konsantrasyonunun Aronya'da vitrifikasyon oranını arttırdığı, bu nedenle de sürgün gelişimini olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Çalışmada sürgün boyunun uzaması halinde boğum sayısının da arttığı görülmüştür.

Bu çalışma tüm bu sonuçlar ışığında çoğaltma ve köklendirme için uygulanan ortamlarda kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri dozları ile alt kültür sayısının sonuçlara birlikte etki ettiğini ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler ışığında büyüme düzenleyici konsantrasyonlarında optimum ortam belirlemek için tek bir büyüme düzenleyicinin değil, farklı kombinasyonların birlikte etkisinin incelenmesi gerektiği ortaya çıkmıştır.

Tüm bu sonuçlar ışığında dört numaralı ortam (MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L IBA+1 mg/L GA₃) Aronya'nın *in vitro* çoğaltımı için, üç numaralı köklendirme ortamı (½ MS+1 mg/L IBA) da Aronya'nın *in vitro* köklendirilmesi için araştırmacılara ve üreticilere tavsiye edilebilir niteliktedir.

Çelikle çoğaltımı zor olan bir tür olan Aronya bitkisi için araştırmacılar, doku kültür yöntemi kullanarak kısa zamanda yeterli çoğaltım katsayısına ulaşabilir. Bu nedenle özellikle ticari çoğaltımda Aronya'nın doku kültürü yöntemi kullanılarak çoğaltılması daha doğru olacaktır. Aronya dünyada sağlık açısından popüler meyveler arasındadır. Ülkemiz içinde yeni bir tür olması nedeniyle bu çalışmanın literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ani, J. I. & Pre, A. (1980). Embryo culture and micropropagation of cherries in vitro. *Scientia Horticulturae*, 12(1), 77-82.
[https://doi.org/10.1016/0304-4238\(80\)90040-0](https://doi.org/10.1016/0304-4238(80)90040-0)
- Anonim, (2018a). <https://www.haberler.com/aronya-yalova-nin-iksir-i-olacak-11348126-haberi/> (Son erişim tarihi: 27.12.2018).
- Anonim, (2018b). <https://www.healwithfood.org/health-benefits/aronia-berries-buy-organic.php> (Son erişim tarihi: 27.12.2018).
- Anonim, (2019). Aronia harvested area online <https://www.fao.org> (Son erişim tarihi: 23.05.2019).
- Arıcı, Ş. E. (2008). Bazı sert çekirdekli meyve anaçlarının doku kültürü ile çoğaltılması. *SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 9(1), 19-23.
- Atalay, E., Erkoyuncu, M. T., Erişen, S. & Yorgancılar, M. (2017). Endemik *Astragalus trojanus* Stev'in Nodal Kültür ile Mikroçoğaltımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(2), 268-275.
<https://doi.org/10.29133/yyutbd.268674>
- Babaoğlu, M., Gürel, E. & Özcan, S. (2001). *Bitki Biyoteknolojisi ve Doku Kültürü ve Uygulamaları*. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya. (pp 211-261)
- Birecikli, A. H. & Akbaş, F. "Balcı" Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Çeşidinin in vitro Sürgün Uçlarının Mikroçoğaltımı ve Köklendirilmesi Üzerine Oksin ve Sitokininlerin Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(4), 438-443.
<https://doi.org/10.29133/yyutbd.443012>
- Chawla, H. S. (2002). Introduction to plant biotechnology. Science Publishers, Inc., Plymouth, UK, 538 P.
- Chu, C. Y. & Huang, M. C. (1983). In vitro formation of gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) plantlets through excised scape culture. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 52(1), 45-50.
<https://doi.org/10.2503/jjshs.52.45>
- Demiral, S. & Ülger, S. (2008). Gisela 5 kiraz anacının doku kültürü ile çoğaltılması üzerine bir araştırma. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1), 117-121.
- Dimassi-Theriou, K. (1995). In vitro rooting of rootstock GF-677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*) as influenced by mineral concentration of the nutrient medium and type of culture-tube sealing material. *Journal of Horticultural Science*, 70(1), 105-108.
<https://doi.org/10.1080/14620316.1995.11515279>

- Drew, R. A. (1987). The effects of medium composition and cultural conditions on in vitro root initiation and growth of papaya (*Carica papaya* L.). *Journal of Horticultural Science*, 62(4), 551-556. <https://doi.org/10.1080/14620316.1987.11515820>
- Driver, J. A. & Suttle, G. R. (1987). Nursery handling of propagules. In *Cell and Tissue Culture in Forestry*. (pp. 320–335)
- Engin, S., P., Boz, Y., Mert, C., Fidancı, A. & İkinci, A. (2018). *Growing Aronia Berry (Aronia Melanocarpa (Michx.) Elliot) (Turkey)*. I. International Gap Agriculture & Livestock Congress, April 25-27, Şanlıurfa, 664-667.
- Engin, S., P., Mert, C., Fidancı, A. & Boz, Y. (2016). Aronya (*Aronia melanocarpa (Michx.) Elliot*) Meyve Türünde Morfolojik İncelemeler. *Bahçe* 45(2), 71-78.
- Fidancı, A. (2015). *Türkiye İçin Yeni Bir Minör Meyve: Aronia Bitkisi ve Yetiştirme Teknikleri*. VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 25-29 Ağustos Çanakkale, 1177-1180.
- Franklin, C. I. & Dixon R. (1994). Initiation and maintenance of callus and cell suspension cultures. In: Dixon RA, Gonzales RA (eds), *Plant Cell Culture- A Practical Approach*, Second Edition, Oxford University Press, Oxford, UK. (pp. 1-27)
- Fouad, M. M., Gomaa, A. H., El-Zaher, M. H. (1997): Factors influencing in vitro establishment and multiplication stages of peach. *Horticultural Abstracts*, 67: 69. <https://doi.org/10.17221/359/2014-HORTSCI>
- Gamborg, O., & Phillips, G. C. (2013). *Plant cell, tissue and organ culture: fundamental methods*. Springer Science, Business Media.
- Güçlü, F., Koyuncu, F., & Şan B. (2010). Bazı Klon Kiraz Anaçlarının Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltılması. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(2), 144-147. <https://doi.org/10.19113/sdufbed.13617>
- Hasegawa, P. M. (1980). Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 105(2), 216-220.
- Hepaksoy, S. (2016). GF 677 (*P. amygdalus x P. persica*) Klon Anacının Doku Kültüründe Sürgün Ucu Tekniği ile Çoğaltılması. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(4), 447-451. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.386559>
- Hepaksoy, S. (2004). Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar I. Gelişme ve Çoğalma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(3).
- Hyndman, S. E., Hasegawa, P. M. & Bressan, R. N. (1982). Stimulation of root initiation from cultured rose shoots through the use of reduced concentrations of mineral salts. *Horticultural Science*, 17. (pp. 82-83)

- Kami, D., Uenohata, M., Suzuki, T. & Oosawa, K. (2008). Cryopreservation of black chokeberry in vitro shoot apices. *CryoLetters*, 29(3), 209-216.
- Kwiecień, I., Szopa, A., Madej, K. & Ekiert, H. (2013). Arbutin production via biotransformation of hydroquinone in in vitro cultures of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. *Acta Biochimica Polonica*, 60(4).
https://doi.org/10.18388/abp.2013_2074
- Litwińczuk, W. (2012). Micropropagation of Chokeberry By *In Vitro* Axillary Shoot Proliferation., In *Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants*. (pp. 179-186)
- Mohammed, S. A. (2006). Gerbera'nın (*Gerbera jamesonii* Bolus) Doku Kültürü ile Çoğaltımının Optimizasyonu. (Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Murashige, T., Serpa & Jones, J. B. (1974). Clonal multiplication of gerbera through tissue culture. *Hort. Sci.* 9: 175-180.
- Nas, M. N., Gokbunar, L., Sevgin, N., Aydemir, M., Dagli, M. & Susluoglu, Z. (2012). Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., a medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pome fruit. *Plant growth regulation*, 67(1), 57-63. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9662-x>
- Petrovic, D. M. & Jacimovic-Plavšic, M. M. (1990). *Aronia melanocarpa* and propagation *in vitro*. *In Vitro Culture, XXIII IHC* 300, 133-136.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1992.300.16>
- Pierik, R. L. M. (1987). *In vitro* culture of higher plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Netherlands. (pp 344)
- Pierik, R. L. M., Voorst, A., Booy, G., Acker, C. A. M. Lelivelt, C. L. C. & Dawit, J. C. (1988). Vegetative propagation of *Alstroemeria* hybrids *in vitro*. *Acta Horticulture*. 226: 81-89. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1988.226.7>
- Puchooa, D., Purseramen, P. N. & Rujbally, B. R. (1999). Effects of medium support and gelling agent in the tissue culture of tobacco (*Nicotiana tabacum*). *University of Mauritius Research Journal*, 3(1), 129-144.
- Ristvey, A. & Mathew S. (2011). *Aronia*: Cultural and Production Considerations as an Alternative Crop. *International Plant Propagators' Society, Combined Proceedings*, 61:463-468
- Sagawa, Y. & Kunisaki, J. T. (1990). Micropropagation of floriculture crops. *Handbook of plant cell culture. Ornamental species.*, 25-56.

- Sayılır, A., Özzambak, E., Erefnur, Ö. & Eşiyok, D. (2007). Kapari Türlerinin (*Capparis L.*) Tohumla ve Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. *Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1), 71-80.
- Silva, A.L., Rogalski, M., Moraes, L., Feslibino, C., Crestani, L. & Guerra, M. (2003). In vitro establishment and multiplication of *Prunus* rootstock. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25 (2): 297-300.
- Sivanesan, I., Saini, R. K. & Kim, D. H. (2016). Bioactive compounds in hyperhydric and normal micropropagated shoots of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. *Industrial Crops and Products*, 83, 31-38.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.042>
- Šnebergrová, J., Čížková, H., Neradova, E., Kapci, B., Rajchl, A. & Voldřich, M. (2014). Variability of characteristic components of aronia. *Czech Journal of Food Sciences*, 32(1), 25-30.
- Suzuki, T., Uenohata, M. & Oosawa, K. (2006). Polyploidy Breeding of Blue Honeysuckle and Black chokeberry By Utilizing *In Vitro*-Cultures Treated with Colchicine, In XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: II International Symposium on Plant Genetic Resources of Horticultural 760, 389-396. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.760.52>
- Sülüsoğlu, M. & Çelik, M. (2003). *SL-64 (Prunus mahaleb) ve F 12/1 (Prunus avium) anaçlarının mikro üretiminde temel besin ortamının ve hormonlarının sürgün proliferasyonu ve kalitesi üzerine etkileri*. Türkiye IV. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 8-12 Eylül, Antalya, 111-114.
- Styer, D. J. & Chin, C. K. (1983). Meristem and shoot-tip culture for propagation, pathogen elimination, and germplasm preservation. *Horticultural Reviews*, 5(5), 221-277.
- Szopa, A., Ekiert, H. & Muszyńska, B. (2013). Bitki Hücresi Tiss Organ Cult. (pp. 113: 323)
- Şutan, N. A., Isac, V., Duminica, C. & Popescu, A. (2017). Studies on the *in vitro* micropropagation ability of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot. *Current Trends in Natural Sciences*, 6(11), 85-92.
- TEAE, (2007). Ekonomik Göstergelerle Türkiye’de Tarım, TEAE Yayın No: 167, Ankara.
- Theiler-Hedtrich, C. M. & Feucht, W. (1984). Micropropagation of *Prunus cerasus* rootstocks Influence of culture medium constituents on growth in stage I and II. *Acta Horticulturae*, 169: 335-340.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1985.169.46>

- Tolic, M. (2017). Effects of Weather Conditions on Phenolic Content and Antioxidant Capacity in Juice of *chokeberries* (*Aronia melanocarpa* L.). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67.1, 67-74.
<https://doi.org/10.1515/pjfn-2016-0009>
- Welander, M. (1985). *In vitro* culture of raspberry (*Rubus ideaus*) for mass propagation. *Journal of horticultural science*, 60(4), 493-499.
<https://doi.org/10.1080/14620316.1985.11515656>
- Weryszko-Chmielewska, E. M., Masierowska A. & Konarska A. (1997). Surfaces of the Nectaries and Nectar Production of Four Pomoideae Representatives (Rosaceae). *Acta Hort* 437: 359–367.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.437.45>
- Yıldız, D. & Barut, E. (2006). Böğürtlende Mikro Çoğaltım Çalışmaları. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1), 25-31.
- Yıldız, B. (2012). *Limonotu Bitkisinde Doku Çalışmaları*. (Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü)
- Zainel, A. & Hepaksoy, S. (2018). Bir İdris Anacı 'Pontaleb'in Doku Kültürü ile Çoğaltılma Olanaklarının Araştırılması. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 55(1), 83-88. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.390987>
- Zatyko, J. M. & Molnar, I. (1990). Adventitious root formation of chokeberry (*Aronia melanocarpa* Elliot) influenced by the pH of medium. *Fruit Science Reports*, 17(1), 21-27.
- Zilkah, S., Faingersh, E. & Rotbaum, A. (1992). *In vitro* propagation of three MXM (*Prunus avium* X *Prunus mahaleb*) cherry rootstocks. *Acta Horticulturae*, 314: 93-98. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1992.314.10>
- Zimmerman, R.H. (1981). Micropropagation of fruit plants. Growth regulators in fruit production. *Acta Horticulturae*, 120: 217-227.
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1981.120.29>

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İlknur ESKİMEZ
Doğum Yeri ve Yılı : Konya, 1995
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ilknureskimez01@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Konya Bosna Hersek Lisesi, 2013
Lisans : SDÜ, Ziraat Fakültesi-Tarım Ekonomisi Bölümü, 2017

Mesleki Deneyim

Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Stajyer, 2016.
ISUBÜ-Yenişarbademli MYO-Ücretli Öğretim Görevlisi, 2019.
Halk Eğitim, Eğitici, 2019.