

**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAHÇE BİTKİLERİ YETİŞTİRME VE ISLAHI
ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**EŞME AYVASI (*Cydonia oblonga* Mill.)'NİN DOKU KÜLTÜRÜ
İLE ÇOĞALTIMI**

TÜLAY KORANA AKTAŞ

KOCAELİ 2020

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



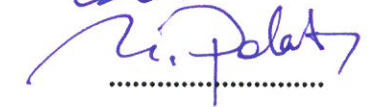
BAHÇE BİTKİLERİ YETİŞTİRME VE ISLAHI
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EŞME AYVASI (*Cydonia oblongo* Mill.)'NİN DOKU KÜLTÜRÜ
İLE ÇOĞALTIMI

TÜLAY KORANA AKTAŞ

Doç.Dr.Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL
Danışman, Kocaeli Üniversitesi
Dr.Öğr.Üyesi.Gülsüm Ebru ÖZER UYAR
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi
Doç.Dr.Mehmet POLAT
Jüri Üyesi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniv.


.....

.....

.....

Tezin Savunulduğu Tarih: 07.02.2020

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER

Artan dünya nüfusunun gıda ihtiyacını karşılayabilmek için tarımsal alanda yeni yöntemler geliştirilmeye başlanmıştır. Bitkisel materyalin hızlı çoğaltılması açısından son derece etkili bir teknik olan doku kültürü çalışmalarına hem dünya da hem de ülkemizde son yıllarda ağırlık verilmiştir. Bu tez çalışmamızda Kocaeli ve çevre illerde en çok yetiştiriciliği yapılan Eşme Ayvası sürgünlerinin *in vitro*da çoğaltım çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarında beni destekleyen, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen, ben umutsuzluğa düşsem de pes etmemem gerektiğini söyleyen ve bana cesaret veren Danışman Hocam Doç.Dr. Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL'a sonsuz teşekkür ederim.

Benim üstümde emeği olan ve beni yetiştiren başta ilkokul öğretmenim Sayın Salih ÖRS olmak üzere tüm hocalarıma minnet ve şükranlarımı sunarım.

Çalışmalarında bana yardımcı olan Ziraat Yüksek Mühendisi Serdar MEMİŞ'e, Ziraat Mühendisi Evrim TAYLAN'a, Ziraat Mühendisi İsmail EFE'ye, Dr. Ceren ÖZCAN'a, mesai arkadaşlarım Ziraat Mühendisi Ece GEZGİN DEMİR'e, Ziraat Mühendisi Korhan Baran KILIÇASLAN'a, Gıda Mühendisi Ahmet ULUDOĞAN'a teşekkür ederim.

İş hayatımda bana destek olan, eğitime verdiği önemi birkez daha gösterip yüksek lisans yapmam konusunda beni destekleyen, bana bazen bir abla, bazen de bir anne şefkatiyle yaklaşan Körfez İlçe Tarım ve Orman Müdürü Semra KOŞUMCU'ya sonsuz teşekkür ederim.

Beni yetiştiren, bu günlere gelmemi sağlayan ve benden dualarını esirgemeyen anneme ve babama, uzakta olsalarda hep yanımda olduklarını hissettiğim kardeşlerime teşekkür ederim.

Hayat arkadaşım Murat AKTAŞ'a, kayınvalideme ve bana enerji veren çocuklarım Ahmet Fuat AKTAŞ ve Zehra AKTAŞ'a teşekkür ederim.

Şubat-2020

Tülay KORANA AKTAŞ

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜRLER	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
TABLolar DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
GİRİŞ	1
1. GENEL BİLGİLER	4
1.1. Ayvanın Genel Özellikleri	4
1.2. Besin Değeri ve Kimyasal Bileşimi	5
1.3. Ayvada Yapılan Çalışmalar	5
1.3.1. Ayvada gen kaynakları ve ıslah çalışmaları	5
1.3.2. Ayvanın çelik, daldırma ve aşı ile çoğaltılması üzerine çalışmalar	7
1.3.3. Doku kültürü çalışmalarının önemi	7
1.3.4. Doku kültüründe başarıyı etkileyen faktörler	9
1.3.5. Ayvada doku kültürü çalışmaları	11
2. MATERYAL VE YÖNTEM	15
2.1. Materyal	15
2.2. Yöntem	15
2.2.1. Sürgün uçlarının toplanması ve hazırlanması	15
2.2.2. Sterilizasyon çalışması	16
2.2.3. Sürgün gelişimi aşamasında kullanılan besin ortamlarının hazırlanması	17
2.2.4. Sterilizasyon aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları	18
2.2.5. Kuruluş aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları	19
2.2.6. Alt kültür aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları	19
2.2.7. Çoğaltma aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları	19
2.2.8. Köklendirme aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları	20
2.2.9. Kültür koşulları	21
2.2.10. Adaptasyon aşaması	21
2.2.11. İncelenen özellikler ve değerlendirmede izlenen yöntemler	21
2.2.11.1. Sterilizasyon denemesi	21
2.2.11.2. Sürgün ucu kültürleri	22
2.2.11.3. Köklenme kültürleri	23
2.2.11.4. Adaptasyon denemesi	23
2.2.12. Verilerin değerlendirilmesi	23

3. BULGULAR	25
3.1. Sterilizasyon Çalışmasından Elde Edilen Sonuçlar	25
3.2. Kuruluş Kùltürlerinin Sonuçları	26
3.3. Alt Kùltür Sonuçları.....	35
3.4. Çoğaltma Aşamasının Sonuçları.....	37
3.5. Köklenme Aşamasının Sonuçları	42
3.6. Adaptasyon Aşamasının Sonuçları	47
4. TARTIŞMA.....	49
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	56
KAYNAKLAR.....	58
KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Ayva bitkisinden görüntüler a) Ayva çiçekleri b) Ayva sürgünü.....	4
Şekil 2.1.	Sürgünlerin toplanması	15
Şekil 2.2.	Laboratuarda sürgün dikimi	16
Şekil 3.1.	Sterilizasyon sürelerinin sürgün uçlarının yaşama oranına etkileri ve enfeksiyon durumu	25
Şekil 3.2.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaşama oranı üzerine etkileri (%)	26
Şekil 3.3.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzama oranı üzerine etkileri (%)	27
Şekil 3.4.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzaması üzerine etkileri (cm)	28
Şekil 3.5.	Kuruluş kültürlerinde MS (a) ve WPM (b) besin ortamlarına dikilen sürgün ucu eksplantları.....	28
Şekil 3.6.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının çoğalma oranı üzerine etkileri (%)	29
Şekil 3.7.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün verimi üzerine etkileri (adet/eksplant)	30
Şekil 3.8.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün boyu (cm) üzerine etkileri.....	31
Şekil 3.9.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus oluşum oranı üzerine etkileri (%)	32
Şekil 3.10.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus büyüklüğüne etkileri (cm)	33
Şekil 3.11.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının vitrifikasyon oluşumuna etkileri (%).....	33
Şekil 3.12.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgünlerde rozetleşme oranına etkileri (%)	34
Şekil 3.13.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaprakların anormal gelişimine etkileri (%)	35
Şekil 3.14.	Alt kültür aşamasında BAP dozlarında (0, 0,5, 1, 2, 4 ve 6 mg/l) sürgün gelişimi	36
Şekil 3.15.	Çoğaltma aşamasında BAP+IBA kombinasyonlarında sürgün gelişimi.....	40
Şekil 3.16.	Çoğaltma aşamasında BAP+IBA kombinasyonlarında sürgün gelişimi (devam)	41
Şekil 3.17.	İkinci çoğaltma aşamasındaki sürgün gelişimi.....	42
Şekil 3.18.	Işık-karanlık uygulaması ve hormonların köklenme oranına etkileri (%).....	43
Şekil 3.19.	Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kök sayısına etkileri (adet)	44
Şekil 3.20.	Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kök uzunluğuna etkileri (cm)	44

Şekil 3.21. Köklenme aşamasında karanlık ortamda tutulan sürgünlerdeki kök gelişimi	45
Şekil 3.22. Köklenme aşamasında ışıklı ortamda tutulan sürgünlerdeki kök gelişimi.....	45
Şekil 3.23. Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kallus oranına etkileri (%)	46
Şekil 3.24. Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kallus büyüklüğüne etkileri (cm)	47
Şekil 3.25. Dış ortama alınan mikro bitkilerin adaptasyonu	48

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	Murashige Skhoog (1962) temel besin ortamı içeriği	17
Tablo 2.2.	Woody Plant Medium temel besin ortamı içeriği (McCown & Lloyd, 1981)	18
Tablo 2.3.	Kuruluş, alt kültür ve çoğaltma aşamalarında kullanılan besin ortamları ve hormon kombinasyonları.....	19
Tablo 3.1.	Sterilizasyon sürelerinin sürgün uçlarının yaşama oranına etkileri ve enfeksiyon durumu	25
Tablo 3.2.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaşama oranı üzerine etkileri (%)	26
Tablo 3.3.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzama oranı üzerine etkileri (%)	27
Tablo 3.4.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzaması üzerine etkileri (cm)	27
Tablo 3.5.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının çoğalma oranı üzerine etkileri (%)	29
Tablo 3.6.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün verimi üzerine etkileri (adet/eksplant)	30
Tablo 3.7.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün boyu üzerine etkileri (cm).....	31
Tablo 3.8.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus oluşum oranı üzerine etkileri (%)	31
Tablo 3.9.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus büyüklüğüne etkileri (cm).....	32
Tablo 3.10.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının vitrifikasyon oluşumuna etkileri (%).....	33
Tablo 3.11.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgünlerde rozetleşme oranına etkileri (%)	34
Tablo 3.12.	MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaprakların anormal gelişimine etkileri (%)	35
Tablo 3.13.	Alt kültür aşamasında BAP dozlarında sürgünlerdeki gelişme durumu	36
Tablo 3.14.	BAP ve IBA dozlarının çoğaltma aşamasında sürgün çoğalması ve sürgün gelişimine etkileri	38
Tablo 3.15.	BAP ve IBA dozlarının çoğaltma aşamasında ana sürgün gelişimine ve kallus oluşumuna etkileri.....	39
Tablo 3.16.	Işık-karanlık uygulaması, hormon ve hormon dozlarının köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğuna etkileri.....	43
Tablo 3.17.	Işık-karanlık uygulaması, hormon ve hormon dozlarının köklenme aşamasında kallus oluşumuna etkileri	46
Tablo 3.18.	Adaptasyon aşamasının sonuçları.....	47

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Derece santigrat
g	: Gram
H ⁰	: Hue
kcal	: Kilo kalori
kg	: Kilogram
l	: Litre
m	: Metre
M	: Molar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Mili Molar (Molarite)
N	: Newton
cm	: Santimetre
cm ²	: Santimetre kare

Kısaltmalar

AgNO ₃	: Gümüş Nitrat
BA	: Benzil Adenin
BAP	: 6-Benzil Amino Pürin
Ca(OCl) ₂	: Kalsiyum Hipoklorit
Fe	: Demir
GA ₃	: Giberellik asit
HgCl ₂	: Civa Klorür
IAA	: İndol-3-Asetik Asit
IBA	: İndol-3-Butirik Asit
MS	: Murashige and Skoog Besi Ortamı
NAA	: Naftalen Asetik Asit
NaFeEDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
ppm	: Parts Per Million (Milyonda Bir Birim)
RAPD	: Rastgele Artırılmış Polimorfik DNA
SÇKM	: Suda Çözünür Kuru Madde
TDZ	: Thidiazuron
TEA	: Titre Edilebilir Asit
WPM	: Woody Plant Medium Besi Ortamı

EŞME AYVASI (*Cydonia oblongo* Mill.)'NİN DOKU KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTIMI

ÖZET

Bu çalışmada Eşme ayvası sürgünlerinin doku kültürü ile çoğaltma olanakları araştırılmıştır. MS ve WPM besin ortamlarında farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin ve dozlarının sürgünlerin çoğaltılması ve köklenmesi üzerine etkileri incelenmiş, köklü sürgünlerin dış koşullara adaptasyonu değerlendirilmiştir. İlk önce Eşme Ayvası için uygun sterilizasyon tekniğinin belirlendiği denemede %70 etil alkol ve bir dakika + %20 NaOCl ile 12 dakika uygulaması en etkili yöntem olmuştur. Kuruluş aşamasında MS ve WPM ortamları kullanılmış, BAP dozlarının (0, 1, 2, 4 mg/l BAP + 0,1 mg/l GA₃) eksplant üzerindeki etkileri incelenmiştir. Sürgün proliferasyonu MS besin ortamlarında daha yüksek olmuştur (%68,33). Alt kültür aşamasında MS besin ortamı uygulanmış ve diğer aşamalarda da MS besin ortamı ile devam edilmiştir. Alt kültürde BAP dozlarının (0, 0,5, 1, 2, 4 ve 6 mg/l BAP + 0,1 GA₃) etkileri arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Birinci çoğaltma aşamasında 0, 0,1, 0,5, 1, 2, 4 ve 6 mg/l BAP + 0, 0,1 ve 0,5 IBA + 0,1 GA₃ kombinasyonları uygulanmıştır. 4 mg/l BAP + 0 mg GA₃ ile 4 mg/l BAP + 0,5 mg/l IBA + 0,1 mg/l GA₃ kombinasyonlarında sürgünlerin tamamında (%100) proliferasyon olmuştur. İkinci çoğaltma aşamasında 4 mg/l BAP + 0,5 mg/l IBA + 0,1 mg/l GA₃ uygulanmıştır. Ana sürgün uzaması 2,10 cm, proliferasyon oranı %100, sürgün verimi 6,0 (adet/eksplant), sürgün boyu 1,83 cm kallus oranı %100 ve kallus çapı 0,43 cm olarak kaydedilmiştir. Köklenmede NAA ve IBA hormonlarının 2, 4, 6 mg/l dozları kullanılmış, ortamlara GA₃ ilave edilmemiştir. Sürgünlerin yarısı 10 gün süresince karanlıkta, diğer yarısı 16 saat karanlık ve 8 saat aydınlıkta bırakılmıştır. En yüksek köklenme oranı (% 57,14) 6 mg/l IBA ortamına dikilen ve 10 gün süre ile karanlıkta bırakılan sürgünlerde olmuştur. Kaliteli kök oluşmaması dış koşullara adaptasyon için alınan bitkilerde yaşama oranını düşürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Bitki Büyüme Düzenleyicileri, Eşme Ayvası, In Vitro, Köklenme, Sürgün Çoğaltımı.

MICROPROPAGATION OF QUINCE cv. EŞME (*Cydonia oblonga* Mill)

ABSTRACT

In this study, *in vitro* propagation possibilities of 'Eşme quince' were investigated. The effect of different plant growth regulators and doses on propagation and rooting of shoots in MS and WPM nutrient media were investigated and adaptation of rooted shoots to external conditions was evaluated. Firstly, the most effective sterilization technique was determined for Eşme quince, as 70% ethyl alcohol for 1 minute + 20% sodium hypochlorite for 12 minutes. MS and WPM media were used during the establishment phase and the effects of BAP doses (0.0, 1.0, 2.0, 4.0 mg/l BAP+0.1 mg/l GA₃) on the explant growing were examined. Shoots proliferation was higher in MS nutrient media (68.33%). MS nutrient medium was applied in subculture stage and continued with MS nutrient medium in other stages. No significant difference was observed between the effects of BAP doses (0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0 mg/l BAP + 0.1 mg/l GA₃) in the subculture. In the first propagation step, combination of 0.0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 or 6.0 mg/l BAP + 0.0, 0.1, 0.5 mg/l IBA+0.1 GA₃ were administered. All shoots (100 %) had proliferation in combinations of 4.0 mg/l BAP+0.0 mg/l IBA+0.1 mg/l GA₃ and 4.0 mg/l BAP+0.5 mg/l IBA+0.1 mg/l GA₃. In the second propagation step, 4.0 mg/l BAP+0.5 mg/l IBA+0.1 mg/l GA₃ was administered. Main shoot length was 2.10 cm, proliferation rate was 100 %, shoot yield was 6.0 (piece/explant), shoot length was 1.83cm, callus rate was 100 % and callus diameter was 0.43 cm. 2.0, 4.0 ve 6.0 mg/l doses of NAA and IBA hormones were used in rooting. GA₃ was not added to the media. Half of the shoots were left in dark conditions for 10 days, the other half were left in dark for 16 hours and 8 hours in light conditions. The highest rooting rate (57.14%) was in shoots planted in 6.0 mg/l IBA medium and left in the dark for 10 days. The lack of quality roots reduced the survival rate of the plant taken for adaptation to external conditions.

Keywords: Plant Growth Regulator, Quince cv. Eşme, In Vitro, Rooting, Shoot Propagation.

GİRİŞ

Ayva, yumuşak çekirdekli meyve türlerinden biri olup, ılıman iklim meyvesidir. Anavatanı Kuzey-Batı İran, Türkmenistan, Kuzey Kafkasya, Hazar Denizi kıyıları ve Kuzey Anadolu'dur. Ayvanın yabani formlarının Kafkasya, İran, Türkiye, Suriye, Afganistan ve Pakistan'a kadar uzanan bölgede yayıldığı belirlenmiştir. Ayva ilk kez kültüre alındığı Mezopotamya'dan Yunanistan'a, Orta ve Doğu Avrupa'ya yayılmıştır. Günümüzde ılıman kuşakta yer alan tüm yerlerde yetişebilmektedir (URL-1, Özçağırın ve diğ., 2005). Yetiştirildiği ülkelerde kültürü yapılan diğer meyve türlerine göre daha az yer bulabilen ayvanın üretimi sınırlı kalmıştır.

Dünyada önemli ayva yetiştiriciliği yapan ülkeler arasında ilk sıralarda Türkiye, Çin, İran, Fas ve Özbekistan yer almaktadır. 2017 yılı verilerine göre Türkiye 174.038 ton üretim miktarıyla ilk sırada yer almaktadır. Bunu 112.783 ton üretim miktarıyla Çin takip etmektedir (FAOSTAT, 2019).

Türkiye'de ayva üretiminde toplam üretimin %76,44'ü Marmara Bölgesi'nden sağlanmaktadır. Sakarya 102.476 ton üretim miktarıyla ilk sırada olup, bunu Bursa, Bilecik, Denizli ve Çanakkale izlemektedir. Kocaeli'nde ise 2017 yılı verilerine göre 1.986 ton üretim yapılmıştır (TUIK, 2017). Kocaeli ili ve çevresinde ayva yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir. Bölge içerisinde ayva yetiştiriciliği daha çok Sapanca Gölünün çevresinde, Kartepe İlçesi Eşme ve Uzuntarla mahallelerinde göle yakın arazilerde yapılmaktadır.

Ayva ağacı 4-5 m boylanabilen, kırmızımsı-kahverengi gövdeli, gövdesi çatlaklı bir ağaç olup, yüzeysel gelişen kök sistemine sahiptir. Ayva ağaçlarında karışık tomurcuklardan ilkbaharda bir sürgün oluşmakta, sürgünün ucunda aynı sezonda oluşan tomurcuktan çiçek ve meyve vermektedir. 10-1000 m rakımda, kumlu-tınlı, sıcak ve geçirgen topraklarda yetişebilen, nemli göl iklimini seven bir meyvedir. Genel olarak geç çiçek açması nedeniyle ilkbahar donlarından zarar görmemektedir (Ercan ve diğ., 1992). Kocaeli gibi daha ılıman iklime sahip bölgelerde zaman zaman ilkbahar donlarından etkilendiği görülmüştür. Soğuk ve rutubetli topraklarda meyve

kalitesi bozulmakta, meyve dokusu sertleşmektedir. Meyveler dalların ucunda olduğundan, rüzgârdan zarar görmekte, yaralanan meyvelerin pazar kalitesi düşmektedir.

Ayva sıcak, kurak iklimlere adaptasyonu yüksek olan bir türdür. Kireçli topraklarda kloroz olduğundan, yetişmesinde sorunlar oluşmakta, demir noksanlığı ortaya çıkmaktadır (Kafkas ve diğ., 2018).

Ayva meyveleri ideal koşullarda gerçekten lezzetli olan meyveleri için yetiştirilmesinin dışında, armut için bodurlaşma sağlaması nedeniyle kıymetli bir anaçtır. Bazı Avrupa armut çeşitleri ile uyuşma sorununun bulunmasına ve ateş yanıklığına hassasiyetine karşın, ağacın büyüme kuvvetini azaltıcı etkisi ile Fransa ve İngiltere’de birçok armut anacının elde edilmesinde kaynak olmuştur (Kafkas ve diğ., 2018).

Ayva kendine verimli bir türdür. Bu nedenle tek çeşit ile ekonomik getirisi yüksek kapama bahçeler kurulabilmektedir. Vejetatif olarak çelik, dip sürgünü gibi materyallerle çoğaltılabildiğinden ve daha az tercih edilen bir meyve türü olduğundan çeşit sayısı da oldukça azdır. Yabani ayva popülasyonlarından seçilen verimli ve kaliteli ayvalar bugünkü çeşitlerin kaynağını oluşturmuştur (Özbek, 1978; Westwood, 1993). Meyveleri genellikle Ekim sonu-Kasım başı gibi olgunlaşmaktadır. Tam bir kış meyvesidir.

Ekonomik değere sahip türlerin üretimi, araştırılması, çalışmaların bu türler üzerinde odaklanması, ayva gibi bazı meyve türlerinin ihmal edilmesi tüketicileri farklı lezzetlerden uzak bırakabilmektedir. Tüm bitki türlerinin üretimine yönelik araştırmalar hızlandırılmalıdır (Koçak, 2006). Beslenme ve sağlık açısından önemi tartışılmaz olan ayvanın kültür çeşitleri diğer meyveler kadar çok değildir. Bu sebeple tüketim amacına göre yeni ayva çeşitlerinin ıslah edilmesi, yaygınlaştırılması gerekmektedir (Bak ve diğ., 2016).

Ayva yetiştiriciliği fazla zorlu olmayan, hasadı özen gerektiren, depolama açısından dayanıklı bir meyvedir. Son yıllarda pazarda iyi fiyat bulması, üreticilerin kapama ayva bahçeleri kurmalarını teşvik etmiştir (Ercan ve Özkarakaş, 2005). İhracatının

gelişmesi Türkiye’de ayvanın değerini artırmış, bunun sonucunda yetiştiricilerin daha fazla dikkatini çekmeye başlamıştır (Atay ve diğ., 2011).

Doku kültürü ıslah çalışmalarında farklı kriterlerin incelenmesi açısından büyük kolaylıklar sunan, bitkilerin kısa sürede çoğaltımı ile sonuç alınabilen bir tekniktir. Ayvanın giderek artan ekonomik değeri göz önüne alındığında, hızlı ve ekonomik çoğaltımı önem kazanmaktadır. Eşme ayvası ekonomik değeri yüksek bir çeşittir. Gerek ıslah çalışmalarında değerlendirecek materyalin elde edilmesi, gerekse çeşidin çoğaltılmasının geliştirilmesi bakımından bu tez çalışmasında, Eşme ayvası sürgünlerinin doku kültürü ile çoğaltılma olanakları araştırılmıştır. MS (Murashige & Skoog, 1962) ve WPM (McCown & Lloyd, 1981) temel besin ortamlarında, farklı bitki büyüme düzenleyicilerin ve dozlarının sürgünlerin çoğaltılması ve köklenmesi üzerine etkileri incelenmiş, köklü sürgünlerin dış koşullara adaptasyonu değerlendirilmiştir.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Ayvanın Genel Özellikleri

Ayva (*Cydonia oblonga* Miller.) Rosales takımının Rosaceae familyasının Pomoideae alt familyasının Cydonia cinsine ait bir meyvedir ve bu cins içindeki tek tür olma özelliğine sahiptir (Bell ve diğ., 2011, Anonymus, 2019). Ayva kök sürgünü vermeye eğilimi fazla olan, çalı veya tek gövdeli, 6-8 metreye kadar boylanabilen ağaç formunda gelişmektedir. Kırmızımsı kahverengi gövdeli, yüzeysel kök yapısına sahip, ikiden fazla yaşlı dalları seyrek tüylü, kahverengi-yeşildir. Ayvanın yaprakları oval, geniş elips biçiminde, koyu yeşil, kenarları dişsizdir (Özçağırın ve diğ., 2011, URL-1). Beş çanak, beş taç yaprak, beş karpelli bir adet dişi organ ve 20 veya daha fazla sayıda erkek organa sahip çiçekleri erselik yapıdadır (Ünal, 2011). Beyazımsı pembe renkli taç yaprakları ile oldukça gösterişli bir meyve türüdür (Şekil 1.1). Meyve yalancı meyve tipindedir. Meyveler iri, köşeli, dikdörtgenimsi yuvarlak şekilli, bazı çeşitlerde armut şeklindedir. Meyvelerin üzeri az ya da çok havlı olup, olgunlaştığında kolayca silinebilmektedir. Canlı, çekici sarı renkteki meyvelerin tadı az ya da çok buruk-tatlı olup, yeme keyfi kişiye göre değişebilen bir tada sahiptir. Beş karpelli olan meyvede, her karpelde çok sayıda çekirdek bulunmaktadır. Çekirdekleri parlak kızıl-kahverengi, üzeri yapışkan, jelatinimsi bir madde ile kaplıdır.



Şekil 1.1. Ayva bitkisinden görüntüler a) Ayva çiçekleri b) Ayva sürgünü

Ayvada tomurcuklar karışık tomurcuk olup, dalların ucunda oluşmaktadır. İlkbaharda ilk olarak 10-15 cm sürgün oluşmakta, çiçekler bu sürgünün ucunda aynı büyüme periyodunda oluşan tomurcuktan açmaktadır (Şekil 1.1). Geç çiçek açması nedeniyle ilkbahar geç donlarından etkilenmez (Şahin ve diğ., 2016, URL-1).

1.2. Besin Değeri ve Kimyasal Bileşimi

Ayva meyvelerinin 100 g'ında 83,80 g su, 57 kcal. enerji, 0,40 gr. protein, 0,10 gr. lipit, 15,30 gr. karbonhidrat, 1,9 gr. lif ve 8,08 gr. şeker bulunmaktadır. Kalsiyum, demir, potasyum ve magnezyum bakımından zengin bir meyvedir. A, B ve C vitamini de içermektedir (Rodriquez-Guisado ve diğ., 2009, USDA, 2019). Antioksidan özelliği de yüksek olan bir meyve olarak sağlık açısından değeri büyüktür (Hegedus ve diğ., 2013). Meyve kabuğu meyve etine göre daha fazla fenolik madde içermekte olup, antioksidan etkisi daha yüksektir ve kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurucu etkisi bulunmaktadır (Sun ve diğ., 2002).

Ayva meyvesi asidik, buruk tada sahip ve sert dokulu olması nedeniyle taze meyve olarak çok fazla talep görmemektedir. Bu nedenle işlenmiş olarak reçel, meyveli tatlı, marmelat olarak tüketimi yaygındır (Alvarenga ve diğ., 2008). Meyvelerinin kendine özgü aroması çok yoğundur ve bu aroma ticari değere sahiptir (Adler, 2001).

1.3. Ayvada Yapılan Çalışmalar

1.3.1. Ayvada gen kaynakları ve ıslah çalışmaları

Islah programlarının ilk aşaması bitkisel materyalin gen kaynağının belirlenmesidir. Seleksiyon çalışmalarında ne kadar çok çeşitliliğe sahip genetik kaynak oluşturulabilirse, bu zenginliğe göre başarı oranı artmaktadır. İtalya, Yunanistan, İspanya ve Fransa'da 11 koleksiyon yer almaktadır (Kafkas ve diğ. 2018). Türkiye, İran, Türkmenistan ve Ukrayna gibi ülkelerde de doğada bulunan yabani popülasyonlardan seleksiyon bitkileri bulunmaktadır (Şahin ve Mısırlı, 2016, Abdollahi 2013, Gharaghani ve diğ., 2016, Yezhov ve diğ., 2005).

Türkiye'de 1964 yılında İzmir'de Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde, 1969 yılında Ankara Üniversitesi'nde ayva anacı seleksiyonu çalışmaları yürütülmüştür. Ankara Üniversitesi'nde Sebahattin Özbek S.Ö. ayva anaçlarının seleksiyonunu yapmıştır.

2015 yılında ise Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü tarafından B35 anacı geliştirilmiştir. Bugüne kadar yapılan çalışma sonuçlarından elde edilen ayvaları içeren koleksiyon bahçesi Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Tarımsal Araştırma Merkezi ve Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Bahçesi'nde bulunmaktadır. Hali hazırda 17 anaç ve dokuz çeşit mevcuttur (Kafkas ve diğ., 2018, Şahin ve Mısırlı, 2016).

Gerçekçioğlu ve diğ., (2014) Tokat ekolojisinde yetiştirilen Eşme ve Limon ayva çeşitlerinin bitkisel ve pomolojik özelliklerini inceledikleri çalışmada, her iki çeşit arasında meyve özellikleri açısından çok belirgin farklılıklar görülmesi de, yeme kalitesinin daha belirgin olması nedeniyle Eşme ayva çeşidini öncelikli olarak önermektedirler.

Ayva Türkiye'de meyve olarak önemli bir yere sahiptir. Eşme ayva çeşidinde optimum derim zamanının belirlemek için yapılan çalışmada, hasatın belirlenmesinde tam çiçeklenmeden sonraki gün sayısı, meyve kabuk rengi, meyve eti sertliği ve nişasta miktarının kullanılması faydalı bulunmuştur. Meyvelerin optimum hasat döneminde tam çiçeklenmeden sonraki gün sayısı 155-165 gün, kabuk renk skalası değeri yedi, meyve kabuk rengi h° değeri 110°-105°, meyve eti sertliği 75-80 N ve nişasta skalası değeri altı olarak belirlenmiştir (Çalhan ve Koyuncu, 2018).

Urfa koşullarında tam çiçeklenmeden hasada kadar geçen zamanın 180 gün olduğu belirlenmiştir. Tam çiçeklenme 27 Nisan-7 Mayıs tarihleri arasında meydana gelmektedir. Meyve hasadı 24 Ekim-3 Kasım tarihleri arasında yapılmaktadır. On yaşındaki Eşme ayvasının ağaçlarında verim 47,6 kg olmuştur. Çalışmada meyve ağırlığı 349,26 g, SÇKM miktarı %15,60, TEA değeri 0,63 ve meyve eti sertliği 7.73 kg/cm² olarak belirlenmiştir (Bolat ve İkinci, 2015). Tokatta yapılan çalışmada ise 2 yaşındaki Eşme ayva ağaçlarından ağaç başına 5,73 kg verim vermiştir (Gerçekçioğlu ve diğ. 2014).

Ayvada yapılan diğer bir çalışmada, aralarında Eşme ayvasının da yer aldığı Türkiye'den seçilen 13 ayva çeşidinin RAPD analizi ile aralarındaki genetik ilişki ortaya koyulmuştur (Bayazit ve diğ. 2011).

Ayva kendine tozlanan bir tür olarak bilinmekle birlikte, Kozma ve diğ. (2004) melezlemelerle elde edilen ayva çeşitlerinde arasında karşılıklı uyuşmanın olabildiğini rapor etmişlerdir. Son yıllarda önem kazanan ayva çeşitlerinin polen çimlenme durumlarının ortaya konması, elde edilecek yeni çeşitlerin değerlendirilmesinde ve yapılacak çalışmalara da ışık tutacağından, bazı ayva çeşitlerinde polen çimlenme durumu ele alınmıştır (Dalkılıç ve Mestav, 2011).

1.3.2. Ayvanın çelik, daldırma ve aşı ile çoğaltılması üzerine çalışmalar

Ayva genel olarak çelik, daldırma ve dip sürgünleri ile çoğaltılan bir türdür (Hartmann ve diğ.,1997). Ayva odun çelikleri, yarı-odun çelikleri, yumuşak odun çelikleri ve doku kültürü gibi yöntemlerle çoğaltılmaktadır (Tsipouridis ve diğ., 2005). Ayrıca ayva tohumla, kök sürgünleri ve çelikle üretilebildiği gibi, ayva klon anaçları üzerine aşılama suretiyle yetiştirilebilmektedir (Ercan ve Özkarakaş, 2005).

Atay ve diğ. (2011), bazı ayva çeşitlerinde (Ege-2, Ege-22 ve Eşme) odun çeliklerinin köklenme durumlarını tespit etmek amacıyla yaptıkları çalışmada 1000 ppm IBA uygulanan çeliklerde köklenme yüzdesini Ege-2 çeşidinde % 64,0, Ege-22 çeşidinde % 40,0 ve Eşme çeşidinde % 24,5 olarak tespit etmişlerdir.

Kauppinen ve diğ., (2003) Japon ayvasında (*Chaenomeles japonica*) yaptıkları çalışmada, 30 mg/l IBA'da 18 saat süresince bekletilen 20 cm uzunluğundaki tepe çeliklerinde köklenme yüzdesinin %90'ın üzerinde olduğunu ortaya koymuşlardır.

Elivar ve Dumanoğlu (1999), Eşme ayva çeşidini Quince A ayva anaçı üzerine aşıladıkları çalışmada, sürgün ve durgun T göz aşılarda sırasıyla % 38,3 ve % 78,3 aşı tutma oranı, % 62,0 ve % 91,6 aşılarda sürme oranı elde etmişlerdir.

1.3.3. Doku kültürü çalışmalarının önemi

Bitki doku kültürü aseptik şartlarda, yapay besin ortamında, gerçekleştirilen bir üretim tekniğidir. Yeni çeşit geliştirmek ve mevcut çeşitlerde genetik varyasyon oluşturmayı amaçlayan bitki doku kültüründe bütün bir bitki, hücre, doku veya organ gibi bitki kısımları kullanılmaktadır (Babaoğlu ve diğ., 2001). Bitki doku kültürü teknikleri bitki ıslahında haploid bitki üretimi, kontrollü *in vitro* koşullarda

seleksiyon, dölllenme çalışmaları, gen kaynaklarının muhafazası, gen transferi, embriyo ve somatik embriyogenesis çalışmaları için kullanılmaktadır. Bitkisel materyalin hızlı ve yığın olarak üretimi açısından son derece etkili bir teknik olan doku kültürleri, ticari olarak sekonder bitki metabolitlerinin üretiminde de etkili bir kullanıma sahiptir (Khan ve Ahmad, 1994).

Bitki doku kültürleri geleneksel ıslah yöntemlerinin yerine/yanında kullanılmakta, ıslah süresini oldukça kısaltmakta ve kolaylaştırmaktadır (Nabors ve diğ., 1980, Tal, 1983). Bitki doku kültürleri tuza dayanıklılık gibi, ıslah çalışmalarında, bitkilerin seçiminde oldukça yararlı bir tekniktir (Vitagliano ve diğ., 1991).

Ayva anaçları MA ve Ct.S.212'de Fe alımının ve eksikliğinin belirlenmesinde doku kültürü tekniğinin etkinliği incelenmiştir. Çalışmada, Ct.S.212 anacı %15 ve %25 Fe içeren ortamlarda MA anacına göre daha fazla proliferasyon göstermiş, gelişmesi daha iyi olmuştur. Her iki demir konsantrasyonunda da iki klon anaçta kloroz belirtileri gözlenmiştir. Doku kültürü çalışmalarında başarının bir göstergesi olarak ele alınan vegetatif gelişme parametrelerinin demir eksikliği gibi taramaların gözlenmesinde kullanılmasının zor olabileceği ve farklı testlerin gerekliliği belirtilmiştir. Tersine klorofil miktarı ve tipi (a,b) tam anlamıyla yeterli olmasa da belirleyici bir indikatör olarak kabul edilebilir bulunmuştur (Muleo ve diğ., 1995).

Meyve fidanı üretiminde aşılı fidan kullanımı önemlidir. Sınırlı sayıda meyve türü çelik veya daldırma gibi klasik yöntemler ile kendi kökleri üzerinde üretilen fidanlarla yetiştirilmektedir. Bu gibi çoğaltma yöntemlerinin yetersiz kaldığı ya da daha hızlı bir sürecin gerektiği durumlarda *in vitro* çoğaltım öne çıkabilmektedir. Özellikle seleksiyon çalışmalarından elde edilen farklı genotiplerin geleneksel yöntemlerle bitkilerinin elde edilmesinin güç olduğu türlerde, ıslah çalışmalarında doku kültürü başarıyı artırmaktadır.

Doku kültürü ile üretimde en önemli aşamalardan biri uygun besin ortamlarında, uygun kombinasyonlarda bitki büyüme düzenleyicilerinin seçimi ve uygun kültür koşullarının sağlanmasıdır. Yapılan çalışmalar her farklı kombinasyonun aynı türün farklı klonlarında farklı fizyolojik etkilere neden olabildiğini, başarının artırılması için mevcut protokollerin iyileştirilmesi gerektiğini ortaya koymuştur (Dumanoğlu ve diğ., 2009; Palaz ve Uğur, 2018). Bu durum da doku kültürü çalışmalarında besi

ortamlarının ve bitki büyüme düzenleyicilerin üzerinde çok sayıda çalışma yapılmasını gerektirmektedir.

Bitki dokularından organ farklılaşmasında oksin ve sitokininler önemli rol oynamaktadır. BAP çok sık kullanılan ve genellikle olumlu sonuçlar veren bir sitokininidir. Genel olarak 1-2 mg/l sitokinin sürgün gelişiminin başlatılması ve sürgün gelişimi için yeterli olmaktadır. BAP'ın daha yüksek dozları adventif sürgün oluşumunu arttırmakta, ancak sürgünlerde bazı problemlere de neden olabilmektedir. Doku kültürlerinde mikro sürgünlerin köklenmesinde daha çok sentetik oksinlerden IBA ve NAA kullanılmaktadır. Oksinler sürgün gelişim aşamasında sitokininin etkinliğini artırdığından 0,1-1,0 mg/l dozlarında çoğaltma ortamına da eklenmektedir (Werbrouck ve Debergh,1994).

1.3.4. Doku kültüründe başarıyı etkileyen faktörler

Uygun sterilizasyonun belirlenmesi: Doku kültürü çalışmalarında başarıyı birçok faktör etkilenmekte ve sterilizasyonun etkili bir şekilde sağlanması ile başlamaktadır. Uygun sterilizasyonun sağlanamaması yüksek oranda materyal kayıplarına yol açabilmektedir. Sterilizasyonda kullanılan sterilantın dozu ve uygulama süresi arasındaki denge çok önemlidir. Doku kültüründe karşılaşılan enfeksiyonların çoğu endofitik bakterilerden ya da yüzey dezenfeksiyonuna dayanıklı olan mikroorganizmalarla bulaşık olan başlangıç materyallerinden kaynaklanmaktadır (Cassells, 2001). Doku kültürü çalışmalarında kontaminasyonu tamamen ortadan kaldırmak mümkün olmasada kaynaklarının iyi anlaşılması ve iyi bir aseptik teknik izlenerek görülme sıklığını ve sorunun boyutunu azaltmak mümkündür.

Muz varyetesinin dip sürgünlerinin sterilizasyonunda akan çeşme suyunda yıkama, % 2'lik bavistin solüsyonundan bekletme, akan çeşme suyu altında 30 dakika yıkama, % 1'lik indofil M-45 solüsyonunda 15-20 dakika bekletme, sonrasında sodyum hipoklorit:su (1:1) ile 15-20 dakika sterilizasyon ve son olarak 30 saniye süre ile saf alkol'de tutma aşamaları uygulanmıştır (Babu, 2019).

Elma boğum eksplantlarında % 70 etil alkol ile 1 dakika yüzey sterilizasyonunun ardından, NaOCl'in farklı doz ve sürelerinin denendiği, % 1'lik Ca(OCl)₂ dozunun 10 dakika süre ile uygulanmasının sterilizasyon için yeterli olduğu önerilmiştir

(Boudabous ve diğ., 2010). Antepfıstığı sürgün uçları %10'luk NaOCl solüsyonunda 30 dakika bekletilmiş, sürgün uçlarında canlılık oranı % 32,5 olmuştur (Ersalı ve diğ., 2017).

Memiş (2018), kocayemiş genotiplerinin sürgün ucu ve boğum eksplantları kullanılarak gerçekleştirilen doku kültürü çalışmasında etil alkol ve NaOCl'nin farklı konsantrasyonlarını denemiştir. Sürgün ucunda % 85,06 ve boğumda % 84,41 en yüksek yaşama oranları % 50 etil alkol ile 1 dakika muamele ve ardından % 20'lik NaOCl ile 12 dakika dezenfeksiyon uygulamasından elde edilmiştir.

Uygun hormon dozlarının seçimi: Doku kültüründe kullanılan hormon konsantrasyonu kültür başarısını etkileyen diğer bir faktördür.

Kalkışım ve diğ., (2013) kara dut (*Morus nigra* L.) bitkisinin *in vitro* çoğaltılabilme imkanlarını belirlemek amacıyla karadut bitkisinin obur dallarından aldıkları nodal eksplantları materyal olarak kullanmışlar ve BAP konsantrasyonunun 1,0 mg/l ve 2,0 mg/l olduğu ortamlarda sürgün sayısının artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

Adak (2016) çilekte *in vitro* şartlarda değişik bitki büyüme düzenleyicilerinin kallus ve sürgün gelişimi üzerine etkilerini araştırdığı çalışmada, materyal olarak kol uçlarını kullanmıştır. Kallus kültürü için NAA (0,2 ve 4 mg/l) ve IBA (0,2 ve 4 mg/l) konsantrasyonlarının etkileri ile sürgün gelişimi için BAP (0 ve 2 mg/l) ve TDZ (0 ve 2 mg/l) konsantrasyonlarının etkileri denenmiştir. En yüksek kallus oluşturma oranı % 95,93 ile 4 mg/l NAA konsantrasyonunda, en yüksek sürgün oluşumu 7,33 adet/eksplant ile 2 mg/l konsantrasyonunda belirlenmiştir.

Alizadeh ve diğ., (2018) yapılan çalışmada OHxF 333 armut anacında mikro çeliklerin *in vitro* köklenmesini çalışmışlardır. IBA ve IAA'nın 0, 12, 24, 48, 120 ve 240 ppm dozlarını aseptik koşullarda, yavaş daldırma yöntemiyle (bir saat) uygulamışlardır. Kültürler bir hafta karanlık ve beş hafta 16 saat aydınlık - 8 saat karanlık koşullarda tutulmuştur. En yüksek köklenme oranı % 83,3 ile 120 ve 240 ppm IAA uygulamalarından elde edilmiştir.

Normah ve diğ., 1995, mango meyvesinde (*Garcinia mangostana* L.) eksplant başına en fazla ortalama sürgün sayısını (16,8) 40 mM BA ve 2,5 mM NAA içeren MS ortamında elde etmişlerdir. Aynı ortama 2 g/l aktif kömür ilave edildiğinde sürgün

sayısı azalmış, ancak aktif kömür ilavesi ile sürgünlerin daha iyi geliştiği ve % 75 oranında köklendiği belirlenmiştir. Çalışmada MS ortamının yanı sıra, WPM ortamı da denenmiş; fakat WPM ortamının sürgün çoğaltımı için uygun bir ortam olmadığı sonucuna varılmıştır.

Yüzbaşıoğlu ve Dalyan (2017) çalışmalarında kardelen (*Galanthus woronowii* Losinsk.) soğanının *in vitro* koşullarda BAP, NAA, GA₃ ve 2,4-D bitkisel hormon kombinasyonlarını farklı konsantrasyonlarda aktif kömür içeren MS besin ortamında denemiştir. 1 mg/l BAP ve 0,1 mg/l NAA içeren MS besin ortamından 3,67 adet soğancık elde edilmiştir. En yüksek soğancık sayısı 5 g/l aktif kömür içeren MS besin ortamında 5,95 adet/eksplant olarak kaydedilmiştir.

Ghanbari (2014) elmada yaptığı çalışmada BA'nın (0,5, 1,0 ve 1,5 mg/l) konsantrasyonunda MS ve WPM ortamında sürgün çoğaltımı ile IBA'nın (0,5, 1,0 ve 1,5 mg/l) konsantrasyonunda MS ve ½ MS besin ortamında köklenme oranlarını araştırmıştır. Sürgün çoğaltımı için 1,5 mg/l BA içeren MS besin ortamı, köklenme için 1,5 mg/l IBA içere ½ MS besin ortamını en iyi olarak belirlenmiştir.

Boudabous ve diğ., (2010) elmada (*Malus domestica* L. cultivar Douce de Djerba) aksiler tomurcuklarının *in vitro* kültüründe 1,0 mg/l ve 2,0 mg/l BAP içeren ortamda sürgünlerin hızla çoğaldığını gözlemlemişler, en yüksek sürgün oluşumunu elde etmişlerdir. BAP'ın bitki çoğalmasında ve gelişiminde olumlu etkisi görülmüş, fakat 1,0 mg/l BAP dozundan yüksek dozların bitkinin gelişiminde gerilemeye neden olduğu tespit edilmiştir. Sürgünlerin 3,0 mg/l IBA ve 2,0 g/l aktif kömür içeren ½ MS ortamında kültüre alınmasıyla yüksek oranda (% 66,7) kök oluşumu meydana gelmiştir. Kökleri gelişen bitkiler daha sonra dışarıya alıştırılmış ve bitkilerin % 60 oranında yaşadığı tespit edilmiştir.

1.3.5. Ayvada doku kültürü çalışmaları

Eşme ayvasının mikro çeliklerinden alınan yaprak diskleri tam ve yarı kuvvetindeki MS temel besin ortamlarında kültüre alınmıştır. Çalışmada 0,33 mg/l TDZ + 0,5 mg/l NAA+ 2,0 mg/l AgNO₃ kombinasyonunda sürgün oluşturma oranı % 36,7 ve ortalama sürgün sayısı 0,6 adet/disk olarak belirlenmiştir (Aygün ve Dumanoğlu, 2006).

Bir diğerk çalışmada, iki ayva anacı BN 70 ve Quince A ile Romanya'da 1982 yılında elde edilen Aurii ayva çeşidinin *in vitro* çoğaltımı üzerine çalışılmıştır. Kasım-Şubat ayları arasında, dinlenme döneminde bir yaşlı dallardan farklı dönemlerde alınan gözler kullanılmış, temel besin ortamları değerlendirilmiştir. En iyi çoğalma oranı Şubat döneminde alınan gözlerden elde edilmiş, WPM temel besin ortamı en düşük sonuçları vermiştir. Lepoivre ortamı BN70 ve A anaçlarında en iyi sonucu verirken, Aurii ayva çeşidinde en iyi sürgün çoğalması MS ortamında gerçekleşmiştir. Köklenme aşamasında başarı 1,0 mg/l IBA, 0,1 mg/l GA₃, 3,2 mg/l NaFeEDTA, 20 g/l sakkaroz içeren yarı kuvvetindeki MS besin ortamında elde edilmiştir. Köklenme aşaması başlangıcında sekiz gün karanlık, ardından 30 gün süre ile 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık ışık rejiminin uygulamasının en etkili olduğu belirlenmiştir (Giorgota ve diğ., 2009).

Mingozzi ve diğ., (2011), ayvanın (*Cydonia oblonga* Mill.) çoğaltımında kullanılacak donör bitkilerin elde edilmesinde farklı büyüme koşullarının ve sakkaroz dozlarının etkilerini araştırmıştır. Çalışmanın ilk kısmında sakkarozun artan dozları donör sürgünlerin yapraklarında sakkaroz birikimini artırmıştır. Ardından bu bitkilerden alınan yaprak dokularından ventilasyon yapılan veya kapatılan petrielerde somatik embriyolar geliştirilmiştir. Gerek ilk aşamadaki kullanılan sakkaroz dozu, gerekse ikinci aşamadaki havalandırma uygulaması somatik embriyo oluşumunu etkilemiştir. Donor bitkinin yaprağındaki sakkaroz konsantrasyonu ile somatik embriyo gelişimi arasında pozitif korelasyon çıkmıştır.

Maari ve diğ. (1986), armut anacı olarak kullanılan Provence ayvasının (*Cydonia oblonga* Mill.) *in vitro* çoğaltılmasında mikro çeliklerden çok sayıda bitki elde etmişlerdir. BAP'ın sürgün çoğalması ve uzaması üzerinde etkili olduğu, en iyi sonuçların 2 mg/l dozundan (beş sürgünden fazla) elde edildiğı belirtilmiştir. Mikro sürgünlerin köklenmesi 0,1-1,0 mg/l NAA ile sağlanmıştır. Bir süre NAA içeren ortamda tutulan mikro sürgünlerin hormonsuz ortama transfer edilmesi köklenmeyi olumlu etkilemiştir.

Basu ve diğ. (2017), SKAU-016 ayva çeşidinin dinlenme durumundaki yetişkin bitkilerinden Kasım-Aralık ayında topladıkları odun çeliklerini fungusit ile muamele ettikten sonra 45 gün 4±3 °C'de polietilen torbalarda depoda bekletmişlerdir.

Ardından cam kavanozlara yerleştirilen çelikler 24 ± 1 °C'de 15-20 gün sürmeye bırakılmış, gelişen sürgünler doku kültürü çalışmasında kullanılmıştır. Çalışmada etkili sterilizasyon (başarı oranı % 64.99) % 0,1 HgCl₂ ile 10 dakika+% 70 etil alkol ile 10 saniye yapılan sterilizasyon ile sağlanmıştır. % 10 NaOCl veya tek başına %70 etil alkol uygulamasında enfeksiyon oranları daha yüksek olmuştur. SKAU-016 ayva çeşidinde 0,5 mg/l BAP+0,01 mg/l IBA içeren MS besin ortamı kuruluş aşamasında en iyi sonuçları vermiştir. Aynı kombinasyon çoğaltma aşamasında da % 72,49 ile en yüksek proliferasyonu oluşturmuştur. 0,50 mg/l BAP+0,01 mg/l IBA içeren WPM ortamında en düşük sürgün çoğalma yüzdesinin olduğu (% 41,66) belirlenmiştir. Köklenme aşamasında 1,25 mg/l IBA içeren MS ortamı % 81,66 köklenme oranı oluşturmuş, kök sayısı beş, kök uzunluğu ise 6,15 cm olmuştur.

Ayvannın aksilar sürgün uçları 0,75 mg/l BAP eklenen Linsmaier ve Skoog (1965) besin ortamında kültüre alınmış, farklı NaOCl dozlarının sürgün gelişimine etkileri araştırılmıştır (Vitagliano ve diğ. 1991).

Ayvada genetik transformasyonda faydalanmak üzere *Cydonia oblonga* çeşitleri K.11, K.16 ve K.19'nin mikro sürgünlerinden izole edilen yapraklardan MS besin ortamına TDZ eklenerek mikro sürgünlerin oluşturulması üzerine çalışılmıştır. Araştırmada, 2,2 mg/l TDZ K.11 ve K.16 çeşitlerinde en fazla (sırasıyla % 43,8 ve % 35,0) sürgün rejenerasyonu sağlarken, K.19 da en fazla sürgün rejenerasyonu 7,05 mg/l TDZ içeren ortamda (% 33,3) elde edilmiştir. Yaprak eksplantından sürgün rejenerasyonu kallus dokusu ile birlikte gelişmiştir (Staniene ve Stanys, 2004).

Yaprak disklerinden sürgün organogenesisinin uyarıldığı diğer bir çalışmada, bitkisel materyal olarak ayva anaçları (S.Ö. 39-200, S.Ö.18-82 ve S.Ö.58-315 ve Quince A) ile ayva çeşitleri (Çukurgöbek, Limon ve Eşme) yer almıştır. TDZ+NAA kombinasyonları veya BA+NAA, AgNO₃ ve Putrasin uygulamalarının etkilerinin araştırıldığı denemelerde, en fazla sürgün gelişimi Quince A anacının yapraklarında (% 80,0) 0,33 mg/l TDZ+0,5 mg/l NAA+2,0 mg/l AgNO₃ içeren ½ kuvvetinde MS ortamında elde edilmiştir. Eşme ayva çeşidinde rejenerasyon oranı aynı ortamda %36,7 olmuştur. Aynı ortamın diğer anaç ve çeşitlerde de sürgün oluşumunu artırdığı görülmektedir (Aygün ve Dumanoglu, 2006).

Quince A ayva anacında farklı agar tiplerinin *in vitro* köklenme üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, mikro bitkiler 0,5 mg/l IBA ilave edilen, Merck agar, gelrite ve Bacto agar ekelenen ortamlarda köklenmeye alınmıştır. Çalışmada köklenme üzerinde 7 g/l Bacto agarın daha etkili olduğu belirlenmiştir (Sulusoglu, 2014).

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Tez çalışmasında Eşme ayvasının sürgün uçları bitkisel materyal olarak alınmış, çalışmalar 2018-2019 yılları arasında Kocaeli Üniversitesi Arslanbey Meslek Yüksekokulu Bitki Doku Kültürü ve Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Eşme ayvası sürgün uçları Arslanbey Meslek Yüksekokulu Uygulama Bahçesi'ndeki tek bir ağaçtan temin edilmiştir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Sürgünlerin toplanması

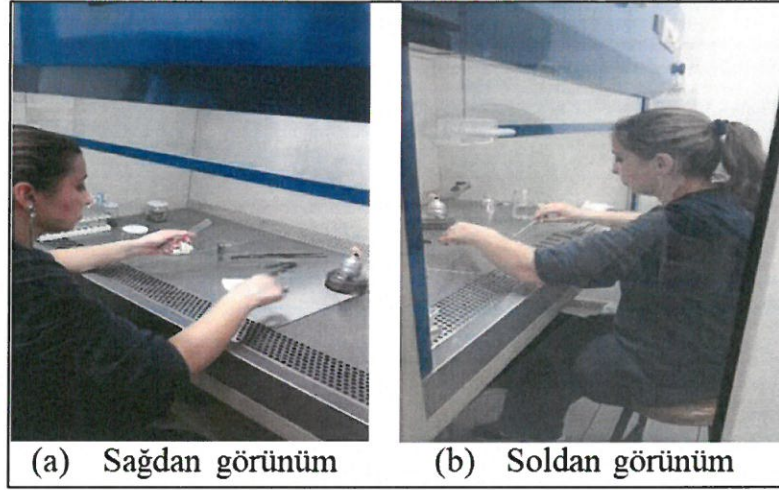
2.2. Yöntem

2.2.1. Sürgün uçlarının toplanması ve hazırlanması

İlkbaharda aktif büyüme başladıktan sonra, yaklaşık 10-15 cm uzunluğa erişen sürgünlerin uç kısmından 5 cm uzunluğundaki kısımları toplanmıştır. Laboratuvara getirilen sürgünlerin, kontaminasyon kaynağını artırabilecek dış yaprakları temizlenerek, sürgün uçlarının dezenfektan ile en iyi temasının sağlanmasına çalışılmıştır. Ayvadan alınan sürgünler akan musluk suyu altında 30 dakika boyunca bekletilmiş, sürgünlerin yüzeysel kontaminasyon kaynağı azaltılmıştır. Ardından

sürgün uçlarının sterilizasyonu gerçekleştirilmiş, dikime hazır hale getirilmiştir. Sterilizasyon işlemleri laminar hava akışlı kabin içinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.2)

Sürgünler steril filtre kağıtları üzerine alınarak, meristem dokusu etrafındaki 4-5 yaprak taslağı ile beraber, yaklaşık 0,5 cm büyüklüğünde eksplantlar dikim için hazırlanarak, hemen ortamlara dikilmiştir.



Şekil 2.2. Laboratuarda sürgün dikimi

2.2.2. Sterilizasyon çalışması

Çalışmada Eşme ayvasından alınan sürgün uçlarında uygun sterilizasyon işleminin yapılarak *in vitro* kültürlerde başarı oranının artırılması tezdeki ilk çalışmayı oluşturmuştur. Bitkisel materyalin sterilizasyonu için etil alkol ve (NaOCl) kullanılmış, dezenfeksiyon süresi değiştirilmiştir. Sterilizasyon sırasında dezenfektan sıvısına 1-2 damla Tween 20 ($C_{58}H_{114}O_{26}$) ilave edilerek sterilizasyonun etkinliği artırılmıştır. Sterilizasyon uygulanma süreleri aşağıda verilmiştir:

1. %70 Etil Alkol (1 dakika)+ %20 NaOCl (12 dakika)
2. %70 Etil Alkol (1 dakika)+ %20 NaOCl (15 dakika)
3. %70 Etil Alkol (1 dakika)+ %20 NaOCl (20 dakika)

Sterilizasyon için hazırlanan sürgün uçları üç gruba ayrılmıştır. Her grup sürgün uçları %70' lik etil alkol ile bir dakika çalkalanmış, takiben, üç defa steril saf su ile üçer dakika durulanmıştır. Durulamanın ardından, eksplantlar 1-2 damla Tween 20

ilave edilen % 20'lik NaOCl solüsyonu ile 12, 15 veya 20 dakika süresince çalkalanarak sterilize edilmiştir. Bu işlem sonrası üçer defa steril saf su ile beş dakika çalkalanan eksplantlar, dikim için hazır hale getirilmiştir.

2.2.3. Sürgün gelişimi aşamasında kullanılan besin ortamlarının hazırlanması

Denemelerde tam kuvvetinde MS (Murashige&Skoog, 1962) (Tablo 2.1) ve tam kuvvetinde Woody Plant Medium (McCown&Lloyd, 1981) (Tablo 2.2) besin ortamı olmak üzere iki farklı besin ortamı kullanılmıştır. 2018 yılında çalışmalara başlandığında, dezenfeksiyon çalışmasında ve ilk dikim aşamasında denemelerde MS ve WPM temel besin ortamları yer almıştır.

Tablo 2.1. Murashige Skhoog (1962) temel besin ortamı içeriği

(A) MAKRO ELEMENTLER	Konsantrasyon (mg/l)
Amonyum nitrat (NH ₄ NO ₃)	1650
Potasyum nitrat (KNO ₃)	1900
Kalsiyum klorür dihidrat (CaCl ₂ 2 H ₂ O)	440
Potasyum dihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	170
Magnezyum sülfat heptahidrat (MgSO ₄ 7 H ₂ O)	370
Sodyum – demir EDTA (C ₁₀ H ₁₂ N ₂ FeNa)	36.7
(B) MİKRO ELEMENTLER	Konsantrasyon (mg/l)
Mangan sülfat monohidrat (MnSO ₄ H ₂ O)	16
Çinko sülfat heptahidrat (ZnSO ₄ 7 H ₂ O)	8.6
Borik asit (H ₃ BO ₃)	6.2
Potasyum iyodur (KI)	0.83
Sodyum molibdat dihidrat (Na ₂ MoO ₄ 2H ₂ O)	0.25
Bakır sülfat pentahidrat (CuSO ₄ 5 H ₂ O)	0.025
Kobalt klorür heksahidrat (CoCl ₂ 6 H ₂ O)	0.025
(C) VİTAMİNLER	Konsantrasyon (mg/l)
Myo-inositol (C ₆ H ₁₂ O ₆)	100
Thiamin klorid hidroklorid (C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ OS x H ₂ O)	0.1
Nikotinik asit (C ₆ H ₅ NO ₂)	0.5
Pridoksil hidroklorid (C ₈ H ₁₂ ClNO ₃)	0.5
Glisin (C ₂ H ₅ NO ₂)	2

WPM temel besin ortamının sürgün gelişimindeki olumsuz etkileri nedeniyle, alt kültürler, çoğaltma ve köklendirme aşamalarında sadece MS besin ortamına yer verilmiştir. Ortamların hazırlanmasında 100 kuvvetinde hazırlanmış stok besin çözeltilerinden yararlanmıştır. Stoklar hazırlandıktan sonra, buzdolabında +4 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

Tablo 2.2. Woody Plant Medium temel besin ortamı içeriği (McCown & Lloyd, 1981)

(A) MAKRO ELEMENTLER	Konsantrasyon (mg/l)
Amonyum nitrat (NH ₄ NO ₃)	400
Kalsiyum klorür dihidrat (CaCl ₂ 2 H ₂ O)	96
Magnezyum sülfat heptahidrat (MgSO ₄ 7 H ₂ O)	370
Potasyum sülfat (K ₂ SO ₄)	990
Kalsiyum nitrat tetrahidrat Ca(NO ₃) ₂ 4 H ₂ O	556
Demir sülfat heptahidrat (FeSO ₄) 7 H ₂ O	27.8
(B) MİKRO ELEMENTLER	Konsantrasyon (mg/l)
Mangan sülfat monohidrat (MnSO ₄ H ₂ O)	22.3
Çinko sülfat heptahidrat (ZnSO ₄ 7 H ₂ O)	8.6
Borik asit (H ₃ BO ₃)	6.2
Sodyum molibdat dihidrat (Na ₂ MoO ₄ 2 H ₂ O)	0.25
Bakır sülfat pentahidrat (CuSO ₄ 5 H ₂ O)	0.25
Sodyum – EDTA dihidrat (Na ₂ EDTA 2 H ₂ O)	37.3
(C) VİTAMİNLER	Konsantrasyon (mg/l)
Myo – inositol (C ₆ H ₁₂ O ₆)	100
Thiamin klorid hidroklorid (C ₁₂ H ₁₈ Cl ₂ N ₄ OS x H ₂ O)	1
Nikotinik asit (C ₆ H ₅ NO ₂)	0.5
Pridoksil hidroklorid (C ₈ H ₁₂ ClNO ₃)	0.5
Glisin (C ₂ H ₅ NO ₂)	2

2.2.4. Sterilizasyon aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları

Sterilizasyon çalışmasında sürgün uçları hormon içermeyen MS ve WPM besin ortamlarında (Tablo 2.3) 160x15 mm boyutlarındaki deney tüplerinde kültüre alınmıştır.

2.2.5. Kuruluş aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları

Kuruluş aşamasında 0,0 mg/l, 1,0 mg/l, 2,0 mg/l veya 4,0 mg/l BAP dozları+0,1 mg/l GA₃ içeren MS besin ortamına, 160 x 15 mm boyutlarındaki cam deney tüplerine, her tüpte bir sürgün ucu olacak şekilde sürgün uçları dikilmiştir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3. Kuruluş, alt kültür ve çoğaltma aşamalarında kullanılan besin ortamları ve hormon kombinasyonları

Kültür Aşaması	Temel Besin Ortamı	Hormon Kombinasyonu
Dezenfeksiyon Çalışması	MS	Hormon yok
Kuruluş aşaması	MS veya WPM	0, 1, 2 veya 4 mg/l BAP+0.1 mg/l GA ₃
Alt Kültür Aşaması	MS	0, 0,5, 1, 2, 4 veya 6 mg/l BAP mg/l BAP+0,1 mg/l GA ₃
Birinci çoğaltma Aşaması	MS	0, 0,1, 0,5, 1, 2, 4 veya 6 mg/l BAP+0, 0,1 veya 0,5 mg/l IBA+0,1 mg/l GA ₃
İkinci çoğaltma Aşaması	MS	4 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA+0,1 mg/l GA ₃

2.2.6. Alt kültür aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları

Alt kültür aşamasında dikimler 250 ml'lik erlenlere, her erlende 4 sürgün olacak şekilde yapılmıştır. Besin ortamlarına 0 mg/l, 0,5 mg/l, 1 mg/l 2 mg/l, 4 mg/l veya 6 mg/l BAP dozlarından biri + 0,1 mg/l GA₃ ilave edilmiştir (Tablo 2.3.)

2.2.7. Çoğaltma aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları

Sürgünlerin çoğaltma aşamasında kültürler 250 ml'lik erlenlerde devam edilmiştir. İlk çoğaltma aşamasında BAP (0, 0,1, 0,5, 1, 2, 4 veya 6 mg/l) ve IBA (0, 0,1 veya 0,5 mg/l) hormonlarının kombinasyonlarından biri besin ortamlarına eklenmiştir. Her ortama sürgün boylanmasını sağlamak için 0,1 mg/l GA₃ eklenmiştir (Tablo 2.3.). Erlenlere üçer adet sürgün dikilmiştir.

İkinci çoğaltma aşamasında, ilk aşamada en iyi sonuçları veren 4 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA+0.1 mg/l GA₃ eklenen MS besin ortamında (Tablo 2.3.) sürgünlerin kültürüne devam edilmiş, erlenlere üçer adet sürgün dikilmiştir. Köklenme çalışmaları için sürgünler çoğaltılmıştır.

Çalışmalar sırasında tüm ortamların pH'sı 1 M NaOH (Sodyum Hidroksit) ve 1 M HCl (Hidroklorik Asit) kullanılarak 5,7 olarak ayarlanmıştır. Besin ortamının ısıtılmasında elektrikli analog balon ısıtıcı kullanılmıştır. Ortam sıcaklık derecesi 50° C' ye ulaştığında, ortama 30 g/l sakkaroz (Merck) ve 7 g/l agar (Merck) ilave edilerek karıştırılmış, ortam kaynamaya başlayıp berraklaşma görülünce ortam ısıtıcıdan cam tüplere borucam otomatik pipet başlığı vasıtasıyla dağıtılmıştır. Tüplere 10 ml besin ortamı, erlenlere 50 ml besin ortamı olacak şekilde eşit olarak dağıtılma işlemi tamamlandıktan sonra tüplerin ve erlenlerin ağız kısmı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Ortamlar 121° C sıcaklıkta 1 atmosfer basınç altında 20 dakika süresince otoklavlanmış, besin ortamı sterilize edilmiştir.

2.2.8. Köklendirme aşamasında kullanılan besin ortamlarının içeriği ve kültür kapları

Köklendirme aşamasında 160 x 15 mm boyutlarındaki cam deney tüplerine dikim yapılmıştır. Besin ortamı olarak MS kullanılmış, ortamlara 2, 4 veya 6 mg/l NAA veya 2, 4 veya 6 mg/l IBA dozlarından birisi ilave edilmiştir. Ortam pH'sı 5,7 olarak ayarlandıktan sonra 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ilave edilerek karıştırılmış, ortam kaynamaya başlayıp berraklaşma görülünce ortam ısıtıcıdan cam tüplere borucam otomatik pipet başlığı vasıtasıyla dağıtılmıştır. Her tüpte 10 ml besin ortamı olacak şekilde eşit olarak dağıtılma işlemi tamamlandıktan sonra tüplerin ağız kısmı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Tüpler 121° C sıcaklıkta 1 atmosfer basınç altında 20 dakika süresince otoklavlanarak sterilize edilmiştir.

Köklenme aşamasında sürgünler NAA veya IBA hormonlarından birini içeren MS besin ortamına dikilmiş, sürgünlerin yarısı (7 adet/uygulama) 10 gün süresince karanlık koşullarda tutulmuş, diğer yarısı (7 adet) sürekli olarak 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık inkübasyon koşullarında bırakılmıştır. Kültürler iki kat alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra karanlık uygulaması için iklim dolabında, köklenmedeki

diğer sürgünlerle aynı iklim koşullarında tutulmuştur. On gün sonrasında alüminyum folyo açılmış, kültürler gelişimine devam etmiştir.

Araştırmada hormon uygulaması (NAA ve IBA) ile birlikte ışıklandırmanın bitki gelişim özelliklerine olan etkileri de incelenmeye çalışılmıştır. Işık uygulanan ve uygulanmayan grup şeklinde iki seviye oluşturularak, bu iki farklı hormonun üç farklı dozunda (2, 4 ve 6 mg/l) bitkilerin kök oranı, kök sayısı, kallus oranı ve kallus çapı özelliklerinden ölçüm değerleri elde edilmiştir.

2.2.9. Kültür koşulları

Tüm çalışmalar 25 ± 1 °C sıcaklıkta, aydınlatma süresi 16 saat ve ışık şiddeti 2200 lüks olan iklim dolabında yürütülmüştür. Eşme ayva mikro sürgünlerinin köklenmesine karanlık etkisinin belirlenebilmesi için kültürlerin yarısı 10 gün karanlık ortamda tutulmuştur. Ardından denemedeki kültür koşullarına alınmıştır.

2.2.10. Adaptasyon aşaması

Köklendirme çalışmalarında köklenen mikro bitkicikler, torf+perlit (1:1) içeren plastik bardaklara dikilmiştir. Kullanılan torf ve perlit 121 °C sıcaklıkta, iki saat süresince otoklavda steril edilmiştir. Bitkicikler tüplerden çıkarılarak, kökleri dikkatlice steril saf su ile yıkanmış ve agardan arındırılmıştır. Dikim sonrasında steril saf su ile sulama yapılmış, nem kaybını engellemek için üstlerine plastik torbalar geçirilerek, bandaj lastiği ile tutturulmuştur. Plastik kap içine yerleştirilen bitkiler, floresan lamba altında, oda sıcaklığında gelişmeye bırakılmıştır. Dış ortama alınmalarından itibaren üçüncü günde plastik torbalarda minik delikler açılarak, bitkilerin dış koşullara alıştırmaya çalışılmıştır. Her iki günde bir delik sayısı artırılmıştır.

2.2.11. İncelenen özellikler ve değerlendirmede izlenen yöntemler

2.2.11.1. Sterilizasyon denemesi

Sterilizasyon sürelerinin değerlendirilebilmesi için kültüre alınan eksplantlar dikimden 10 gün sonra incelenmiş, yaşama oranları (%) ve enfeksiyon oranları (%) belirlenmiştir.

2.2.11.2. Sürgün ucu kültürleri

Yaşama oranı (%);

Sterilizasyon çalışmasında ve kuruluş kültürleri sırasında görülen kararma ve enfeksiyon sonucu ölen ve canlı kalan eksplantların oranları belirlenmiş ve yaşama oranları yüzde (%) olarak verilmiştir.

Enfeksiyon oranı (%);

Kültürler sırasında oluşan enfeksiyon oranı yüzde (%) olarak verilmiştir.

Uzama görülen ana eksplant oranı (%);

Kültür ortamına dikilen eksplantlardan her deneme aşamasında uzayanların sayıları belirlenmiş, canlı kalan eksplant sayısı dikkate alınarak uzama görülen ana eksplant oranı yüzde (%) olarak hesaplanmıştır.

Ana eksplantlarda uzama miktarı (cm);

Ana eksplantların ilk dikim anındaki boyları 0,5 cm civarındadır. 30 günlük kültür periyodu sonunda boyları ölçülmüş, cm olarak verilmiştir.

Proliferasyon oranı (%);

Kuruluş kültürleri, alt kültür ve çoğaltma aşamalarında, proliferasyon gösteren eksplantların oranları canlı kalan eksplant sayısı esas alınarak yüzde (%) olarak belirlenmiştir.

Sürgün verimi (adet/eksplant);

Kuruluş kültürleri, alt kültür ve çoğaltma aşamalarında her bir eksplanttan yeni oluşan sürgünlerin ortalama sayıları adet olarak belirlenmiştir.

Sürgün gelişme düzeyi (cm);

Kuruluş kültürleri, alt kültür ve çoğaltma aşamalarında oluşan yeni sürgünler ölçülerek, sürgün sayısına bölünmüş, ortalama sürgün uzunluğu belirlenmiştir.

Kallus oluşumu (%);

Kültürler sırasında kallus oluşturan sürgünlerin oranı, canlı eksplant sayısı esas alınarak yüzde (%) olarak belirlenmiştir. Büyüklüğü ölçülerek cm olarak verilmiştir.

Vitrifikasyon (%);

Kültürler sırasında sürgünlerden vitrifike olanların miktarı canlı eksplant sayısına göre hesaplanarak yüzde (%) olarak verilmiştir.

2.2.11.3. Köklenme kültürleri

Köklenme oranı (%);

Köklendirme ortamlarına dikilen sürgünlerde 45 gün sonra köklenen sürgünler sayılarak oranları yüzde (%) olarak hesaplanmıştır.

Kök sayısı (adet/eksplant);

Köklenen her sürgündeki kökler sayılarak, ortalama kök sayısı bulunmuştur.

Kök uzunluğu (cm);

Köklenen her sürgündeki köklerin uzunluğu ölçülmüş, ortalama kök uzunluğu hesaplanmıştır.

Köklendirme ortamında kallus oluşumu;

Köklenme ortamına dikilen sürgünlerden kallus gelişimi olanların oranları (%) olarak hesaplanmış, kallus büyüklükleri (cm) ölçülmüştür.

2.2.11.4. Adaptasyon denemesi

Köklenme ortamından dış koşullara alınan bitkilerden canlı kalanların oranı (%) olarak belirlenmiştir.

2.2.12. Verilerin değerlendirilmesi

Kuruluş kültürleri, alt kültürler, çoğaltma aşamaları ve köklendirme çalışmaları tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüştür. Kuruluş kültürlerinde her

tekerrürde beş sürgün ucu, alt kültürde dört sürgün, çoğaltma aşamalarında ise üçer sürgün yer almıştır. Köklendirme aşamasında her tekerrürde yedişer adet mikro sürgün dikilmiştir.

Çalışma sonuçları değerlendirildikten sonra, istatistiksel değerlendirmelerde Minitab istatistik paket programı kullanılmıştır. F testine (Varyans Analizine) göre kontroller gerçekleştirilmiş, tespit edilen önemli farklılıklar ANOVA' nın çok yönlü testlerinde Tukey testi ile ($P \leq 0,05$) hata sınırı baz alınarak yapılmıştır. İstatistiksel analizlerde yüzde (%) değerleri için açılı transformasyonu uygulanmıştır. Sonuçlar gerçek değerler üzerinden verilmiştir.

3. BULGULAR

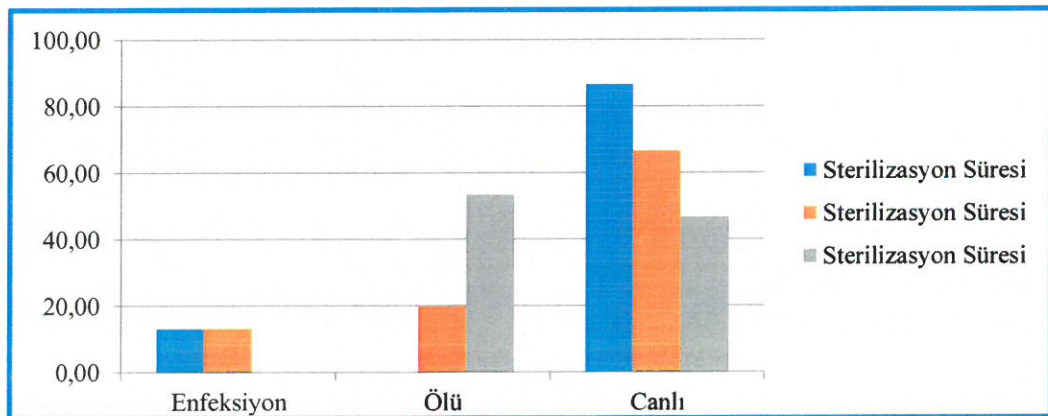
3.1. Sterilizasyon Çalışmasından Elde Edilen Sonuçlar

Sterilizasyon için % 70 Etil Alkol (1 dakika)+ % 20 NaOCl kullanılmış, dezenfektanın etkisini artırmak için 1-2 damla Tween 20 eklenmiştir. Çalışmada üç farklı sterilizasyon süresi denenmiştir. Sürelerin enfeksiyon oluşumu bakımından etkileri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Tablo 3.1.). 20 dakika süre ile sterilize edilen sürgünlerde hiç enfeksiyon oluşmamış ancak, sürgünlerin % 53,33'ü canlılığını yitirmiştir. 15 dakika süre ile sterilize edilen sürgün uçlarından % 20,0'sinde ölüm gerçekleşmiştir. Sürgünlerin ölümü ve yaşaması bakımından sterilizasyon sürelerinin etkisi istatistik olarak $P \leq 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Sonuçlara göre, en yüksek yaşama oranı 12 dakika süresince sterilize edilen sürgünlerde olmuştur (Tablo 3.1 ve Şekil 3.1).

Tablo 3.1. Sterilizasyon sürelerinin sürgün uçlarının yaşama oranına etkileri ve enfeksiyon durumu

	12 dakika	15 dakika	20 dakika
Enfeksiyon oranı (%)	13,33	13,33	0,00
Ölüm oranı (%)	0,00 c *	20,00 b	53,33 a

*Aynı satırda farklı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P \leq 0,05$)



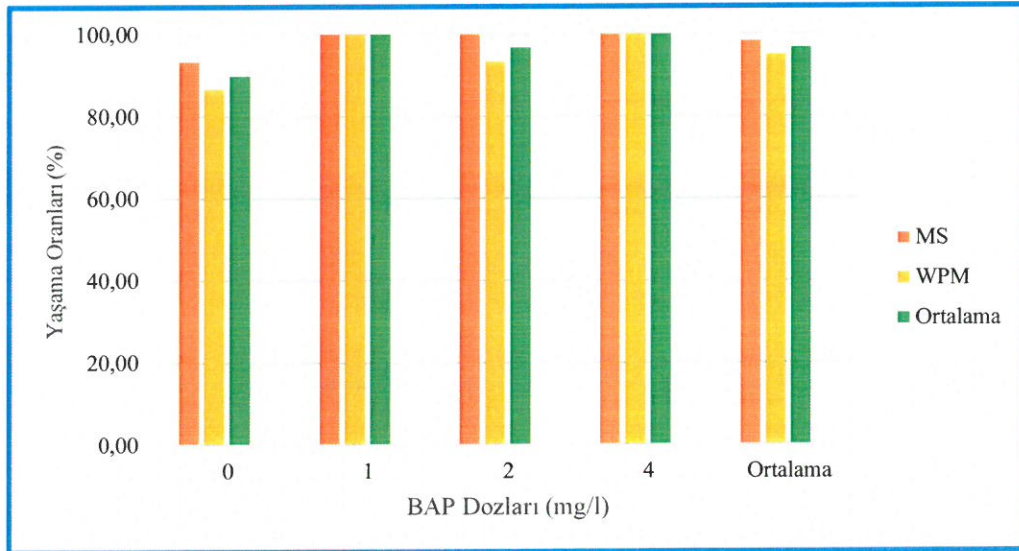
Şekil 3.1. Sterilizasyon sürelerinin sürgün uçlarının yaşama oranına etkileri ve enfeksiyon durumu

3.2. Kuruluş Kùltürlerinin Sonuçları

Kuruluş aşamasında WPM ve MS besin ortamları kullanılmıştır. Sürgünlerin yaşama oranı üzerine ortam, hormon ve ortamxhormon interaksiyonunun etkileri istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Her iki ortamda da yaşama oranı yüksek olmuş, hormon içermeyen ortamlarda çok düşük oranlarda (MS'te % 6,67 ve WPM'de % 13,33) sürgün ucu ölümü olurken, enfeksiyon görülmemiştir. 1 ve 4 mg/l BAP içeren MS ve WPM ortamında tüm sürgünler (% 100) canlı kalmıştır (Tablo 3.2 ve Şekil 3.2).

Tablo 3.2. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaşama oranı üzerine etkileri (%)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	93,33	100,00	100,00	100,00	98,33
WPM	86,67	100,00	93,33	100,00	95,00
Ortalama	90,00	100,00	96,67	100,00	96,67



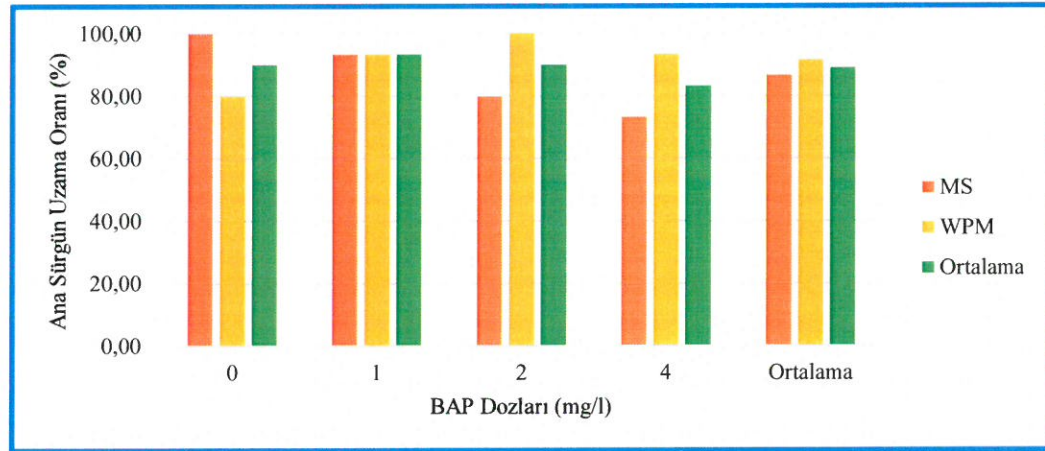
Şekil 3.2. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaşama oranı üzerine etkileri (%)

Kuruluş aşamasında ana eksplantın gelişme durumu ele alındığında, yine ortam, hormon ve ortamxhormon interaksiyonunun etkilerinin istatistiki olarak önemli

olmadığı görülmektedir. Hormon içermeyen ortamlarda hormonlu ortamlar düzeyinde ana eksplant uzaması olduğu, ortamlarda hormon dozunun artmasının sürgün gelişimini olumsuz etkilediği görülmektedir (Tablo 3.3 ve Şekil 3.3).

Tablo 3.3. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzama oranı üzerine etkileri (%)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	100,00	93,33	80,00	73,33	86,67
WPM	80,00	93,33	100,00	93,33	91,67
Ortalama	90,00	93,33	90,00	83,33	89,17



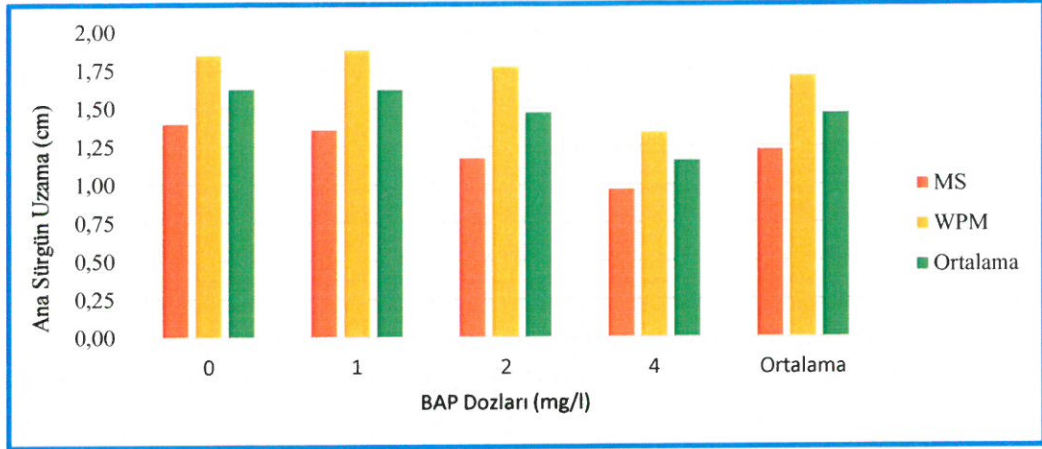
Şekil 3.3. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzama oranı üzerine etkileri (%)

Dikilen eksplantların uzama miktarına bakıldığında, WPM ortamında MS besin ortamına göre daha fazla uzama görülmektedir. Bu etki bakımından ortamların etkileri arasındaki farklılık ($P \leq 0.05$) düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 3.4 ve Şekil 3.4). Ortamlarda BAP miktarının artması, uzamayı engellemiştir. BAP hormonunun etkisi istatistiki bakımdan önemli bulunmamıştır (Tablo 3.4 ve Şekil 3.4).

Tablo 3.4. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzaması üzerine etkileri (cm)

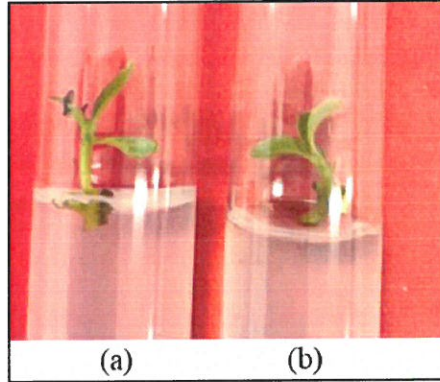
	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	1,40	1,36	1,17	0,97	1,23 b*
WPM	1,85	1,88	1,77	1,34	1,71 a
Ortalama	1,63	1,62	1,47	1,16	

*Farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).



Şekil 3.4. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının ana sürgün uzaması üzerine etkileri (cm)

Kuruluş kültürlerinde MS ve WPM besin ortamlarında kullanılan BAP dozlarının eksplant uzama miktarına etkileri Şekil 3.4.'de gösterilmiştir. Şekil 3.5.'de kuruluş kültürlerindeki sürgünler görülmektedir.



Şekil 3.5. Kuruluş kültürlerinde MS (a) ve WPM (b) besin ortamlarına dikilen sürgün ucu eksplantları

Kuruluş kültürlerinde BAP hormonu ve temel besin ortamı etkilerinin interaksyonu dikilen eksplantların proliferasyonu üzerine etkilerinin istatistiki olarak ($P \leq 0.05$) düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir.

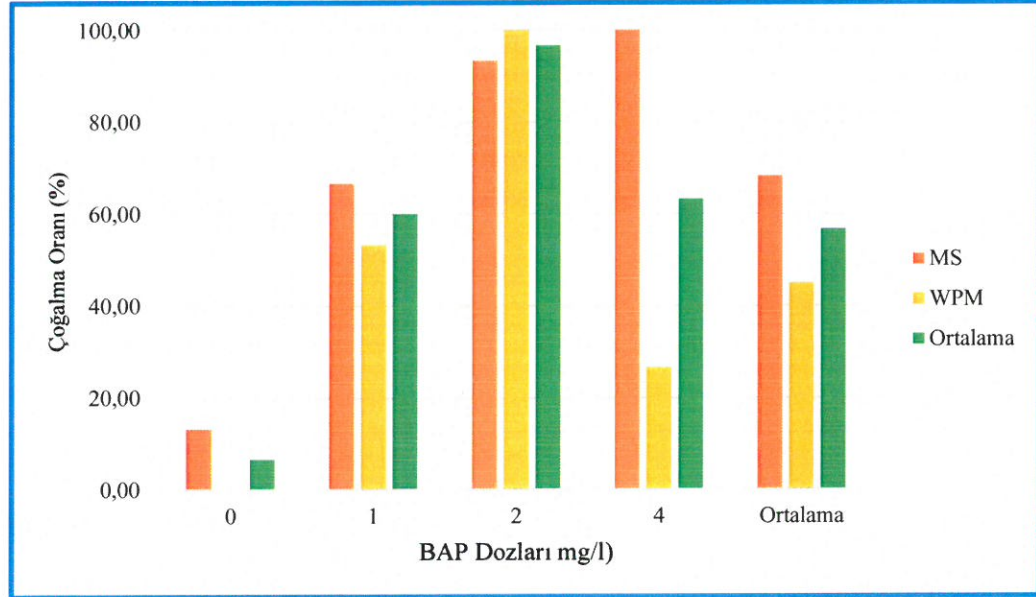
MS besin ortamında 4 mg/l BAP içeren ortamda, WPM besin ortamında ise 2 mg/l BAP dozunda tüm eksplantlarda proliferasyon oluşmuştur. WPM besin ortamında BAP dozunun artması proliferasyonu engellemiştir. Proliferasyon bakımından MS besin ortamının WPM ortamına göre daha etkili olduğu görülmektedir (Tablo 3.5).

BAP dozlarının hepsi istatistiksel olarak aynı etkiyi göstermekle birlikte, en fazla çoğalma oranı 2 mg/l BAP dozunda (% 96,67) olarak gerçekleşmiştir. Şekil 3.6'da BAP dozlarında sürgün çoğalma oranları görülmektedir.

Tablo 3.5. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının çoğalma oranı üzerine etkileri (%)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	13,33 cd*	66,67abc	93,33 ab	100,00 a	68,33
WPM	0,00 d	53,33abcd	100,00 a	26,67bcd	45,00
Ortalama	6,67	60,00	96,67	63,34	

*Farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).



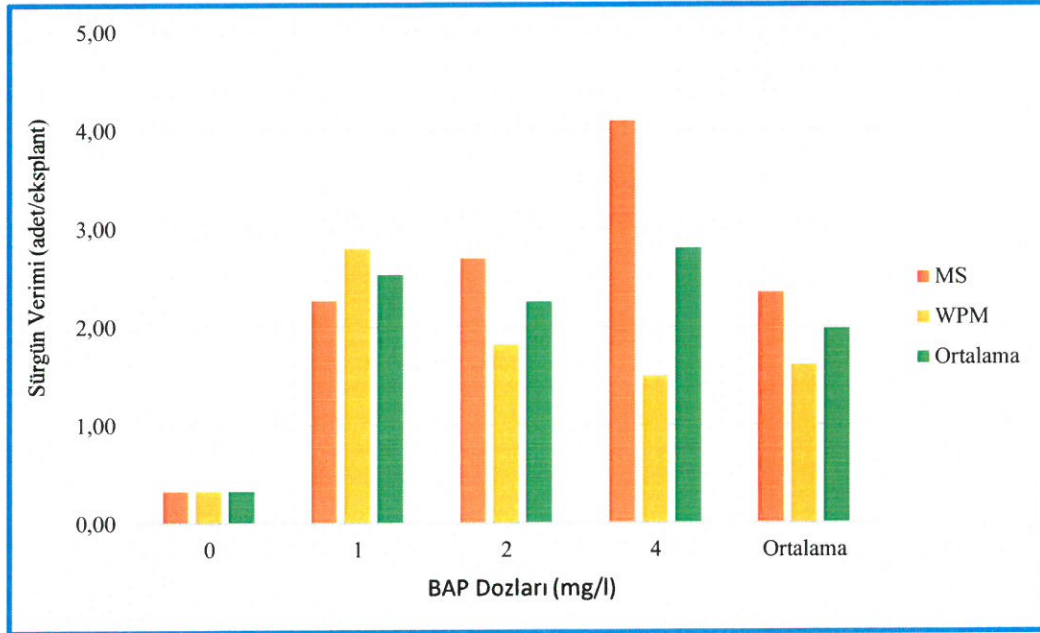
Şekil 3.6. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının çoğalma oranı üzerine etkileri (%)

Kültürlerin kuruluş aşamasında kültür ortamına BAP eklenmesi sürgün oluşumunu istatistiki olarak önemli miktarda artırmıştır. Sürgün verimi bakımından besin ortamı ve BAP dozu interaksyonunun etkileri ($P \leq 0.05$) düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 3.6.). Sürgün verimi 4 mg/l BAP içeren MS besin ortamında en yüksek olmuş, farklılık aynı dozda BAP içeren WPM besin ortamına ve hormonsuz ortamlara göre ($P \leq 0.05$) düzeyinde önemli olmuştur. BAP eklendiğinde MS besin ortamlarında sürgün verimi WPM ortamına göre daha fazla olmuştur (Şekil 3.7.).

Tablo 3.6. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün verimi üzerine etkileri (adet/eksplant)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	0,33 b	2,27 ab	2,70 ab	4,10 a	2,35
WPM	0,33 b	2,80 ab	1,82 ab	1,50 b	1,61
Ortalama	0,33	2,54	2,26	2,80	

*Farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).



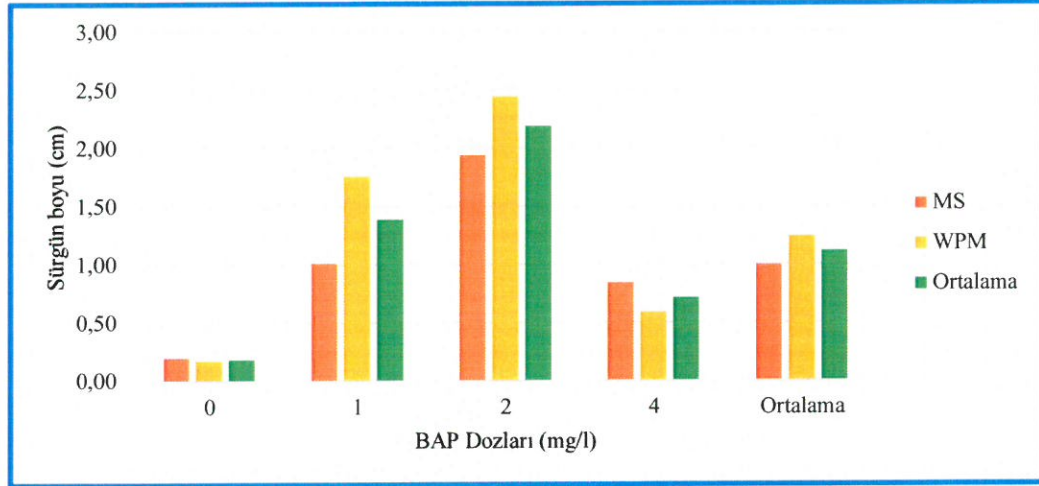
Şekil 3.7. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün verimi üzerine etkileri (adet/eksplant)

Kuruluş aşamasının istatistik analizininin sonuçlarına göre, besin ortamıxBAP interaksyonu önemli bulunmamıştır. BAP içermeyen ortamlarda oluşan sürgünlerde uzama sınırlı olmuş, (MS'de 0,20 cm, WPM'de 0,17 cm), BAP'ın 4 mg/l gibi yüksek dozda kullanılması da sürgünlerin uzamasını engellemiştir (Tablo 3.7 ve Şekil 3.8.). Sürgün boyu bakımından BAP hormonunun dozları arasındaki fark ($P \leq 0.05$) düzeyinde önemli olmuş, en boylu sürgünler her iki besin ortamında da 2 mg/l BAP içeren ortamlardan (MS'de 1,94 cm, WPM'de 2,44 cm) elde edilmiştir.

Tablo 3.7. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün boyu üzerine etkileri (cm)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	0,20	1,01	1,94	0,84	1,00
WPM	0,17	1,76	2,44	0,59	1,24
*Ortalama	0,19 c	1,39 b	2,19 a	0,72 bc	

*Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).



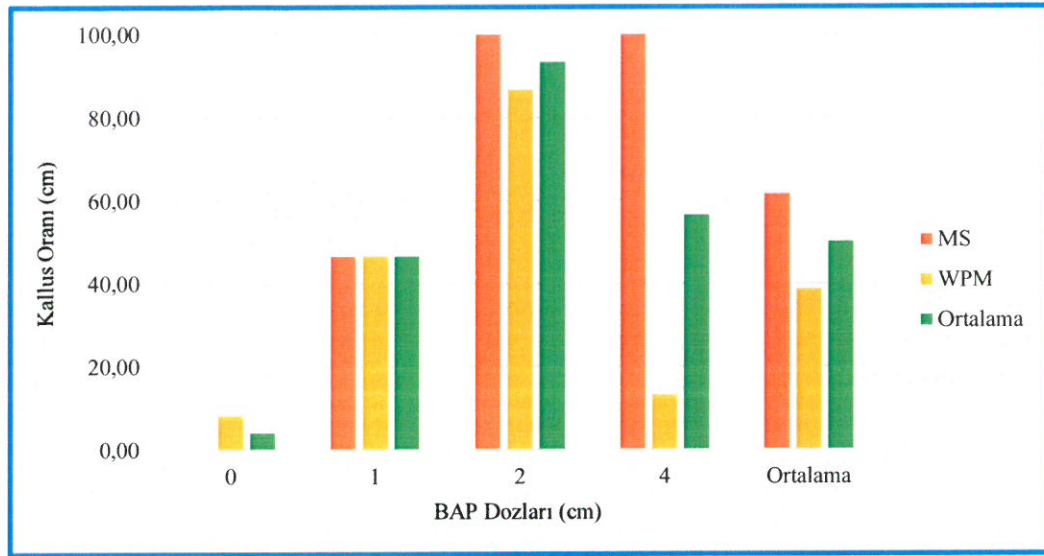
Şekil 3.8. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgün boyu (cm) üzerine etkileri

Kuruluş aşamasında MS ortamında kallus oluşumu (% 61,67) artmış, farklılık istatistiksel olarak önemli olmuştur. 2 ve 4 mg/l BAP içeren MS ortamında tüm sürgünlerde kallus oluşmuştur. WPM besin ortamında ise 2 mg/ BAP dozunda kallus oranı % 86,66 olmuş, ortamda BAP dozunun 4 mg/l'olması ile kallus oluşum oranı (% 13,33) azalmıştır. BAP dozlarının etkileri arasında istatistiksel farklılık belirlenmiştir. Tablo 3.8 ve Şekil 3.9'da kuruluş aşasında sürgünlerin kallus oluşturma oranları verilmiştir.

Tablo 3.8. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus oluşum oranı üzerine etkileri (%)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	0,00	46,66	100,00	100,00	61,67 a
WPM	8,33	46,66	86,66	13,33	38,75 b
BAP Ort.	4,17 c*	46,66bc	93,33 a	56,67 ab	

*Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen BAP ortalamaları arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).



Şekil 3.9. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus oluşum oranı üzerine etkileri (%)

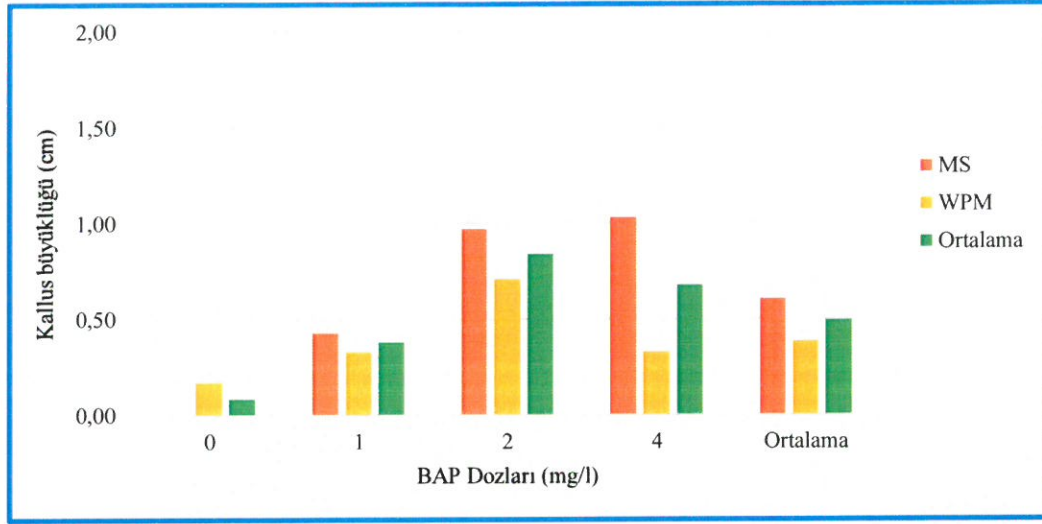
Kuruluş kültürlerinde kallus büyüklüğü en fazla 1,03 cm olarak 4 mg/l BAP içeren MS besin ortamında ölçülmüştür. Hormonsuz MS besin ortamında kallus oluşmamış, BAP dozlarının artması kallus büyüklüğünü artırmış ve dozlar arasında fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo 3.9). Besin ortamları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmamakla birlikte, MS ortamında kallus büyüklüğünün arttığı görülmektedir. (Şekil 3.10.)

Tablo 3.9. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus büyüklüğüne etkileri (cm)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	0,00	0,43	0,97	1,03	0,61
WPM	0,17	0,33	0,71	0,33	0,39
Ortalama	0,09 b	0,38 ab	0,84 a	0,68 a	

*Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).

Kuruluş kültürlerinde ortamda BAP dozunu artırması sürgünlerde vitrifikasyona neden olmuş, dozların etkileri arasındaki fark ($P \leq 0.05$) düzeyinde önemli bulunmuştur. En fazla vitrifikasyon oluşumu ise 4 mg/l BAP içeren ortamda kaydedilmiştir. Farklılık önemli değildir. MS'de BAP dozlarının artmasının vitrifikasyonu artırdığı görülmüştür (Tablo 3.10 ve Şekil 3.11).

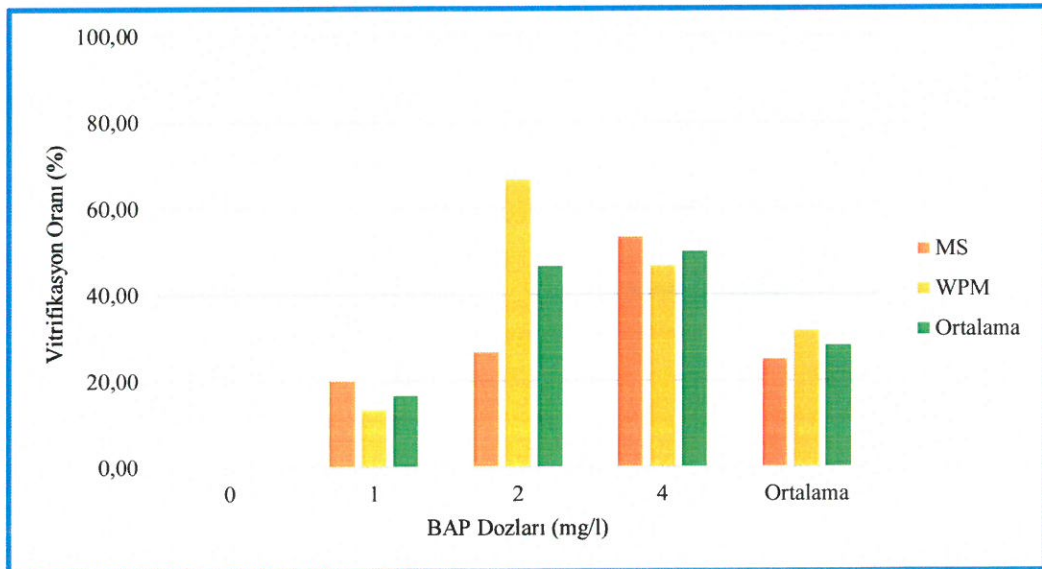


Şekil 3.10. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının kallus büyüklüğüne etkileri (cm)

Tablo 3.10. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının vitrifikasyon oluşumuna etkileri (%)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	0,00	20,00	26,67	53,33	25,00
WPM	0,00	13,33	66,67	46,67	31,67
Ortalama	0,00 b	16,67 ab	46,67 a	50,00 a	28,33

*Aynı satırda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($P \leq 0.05$).



Şekil 3.11. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının vitrifikasyon oluşumuna etkileri (%)

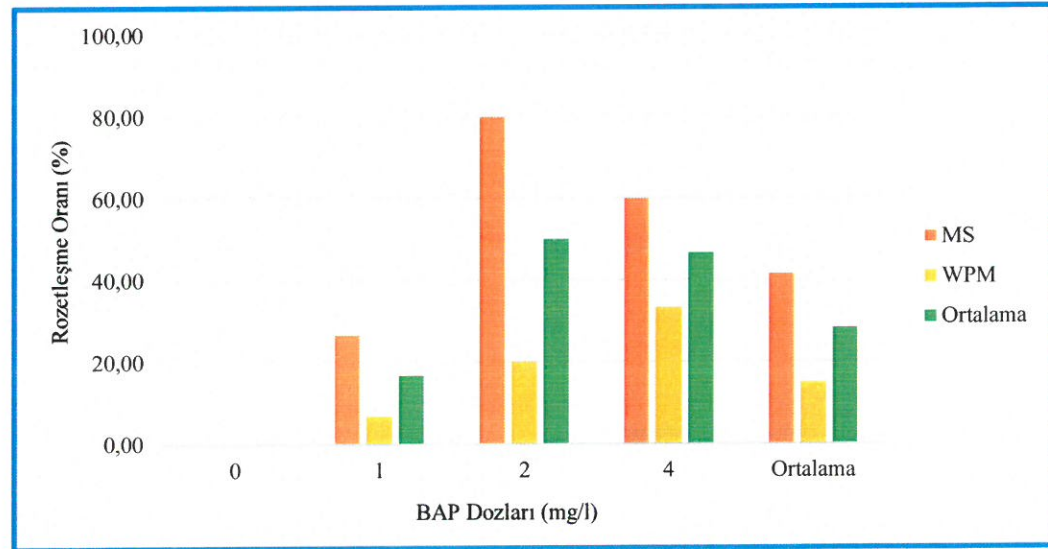
Kuruluş aşamasında sürgünlerde karşılaşılan diğer bir sorun, yaprakların irileşmesi, kıvrılması ve boğum arasının kısalarak rozet form alması olarak karşılaşılmıştır. MS ortamında 2 mg/l ve 4 mg/l BAP içeren ortamlarda sürgünlerde rozetleşme artmıştır (sırasıyla %80,00 ve 60,00). Rozet sürgün gelişimi bakımından BAP dozlarının ve besin ortamlarının etkileri istatistiksel olarak $P \leq 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. BAP dozlarından 2 mg/l ve besin ortamları arasından MS rozetleşmede öne çıkan faktörlerdir (Tablo 3.11 ve Şekil 3.12).

Tablo 3.11. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgünlerde rozetleşme oranına etkileri (%)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	* Ortalama
MS	0,00	26,67	80,00	60,00	41,67 a
WPM	0,00	6,67	20,00	33,33	15,00 b
* Ortalama	0,00 b	16,67 ab	50,00 a	46,67 a	

*Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0,05$).

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemlidir ($P \leq 0,05$).



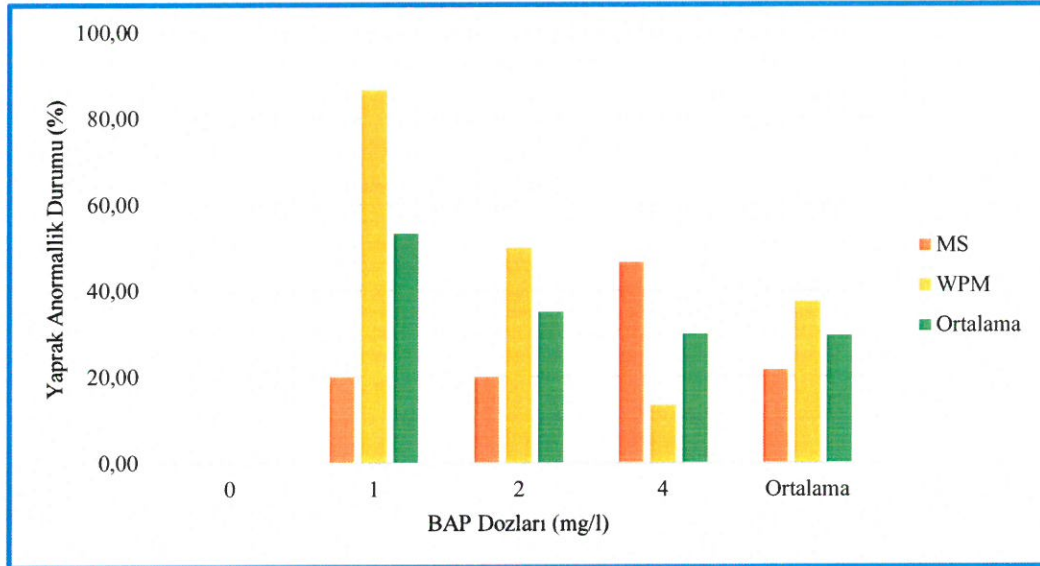
Şekil 3.12. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının sürgünlerde rozetleşme oranına etkileri (%)

Kuruluş aşamasında WPM besin ortamında sürgünler MS besin ortamındaki sürgünlere göre daha yavaş gelişme göstermiş, sürgünlerin yaprakları irileşerek kıvrılmıştır. Alt kültüre alınırken, sürgün yaprakları kopmuş, sürgünler sağlıklı

şekilde transfer edilememiştir. MS besin ortamında da benzer yapı oluşmuş, ancak sürgünler daha sağlıklı kalmıştır. Besin ortamı ve BAP hormonu interaksyonu önemli bulunmuş, 1 mg/l BAP içeren WPM besin ortamında en fazla sürgün bozulmaları olmuştur (Tablo 3.12 ve Şekil 3.13).

Tablo 3.12. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaprakların anormal gelişimine etkileri (%)

	0 mg/l BAP	1 mg/l BAP	2 mg/l BAP	4 mg/l BAP	Ortalama
MS	0,00 c	20,00bc	20,00bc	46,67 ab	21,67
WPM	0,00 c	86,67 a	50,00 ab	13,33bc	37,50
Ortalama	0,00	53,34	35,00	30,00	



Şekil 3.13. MS ve WPM besin ortamlarında BAP dozlarının yaprakların anormal gelişimine etkileri (%)

3.3. Alt Kültür Sonuçları

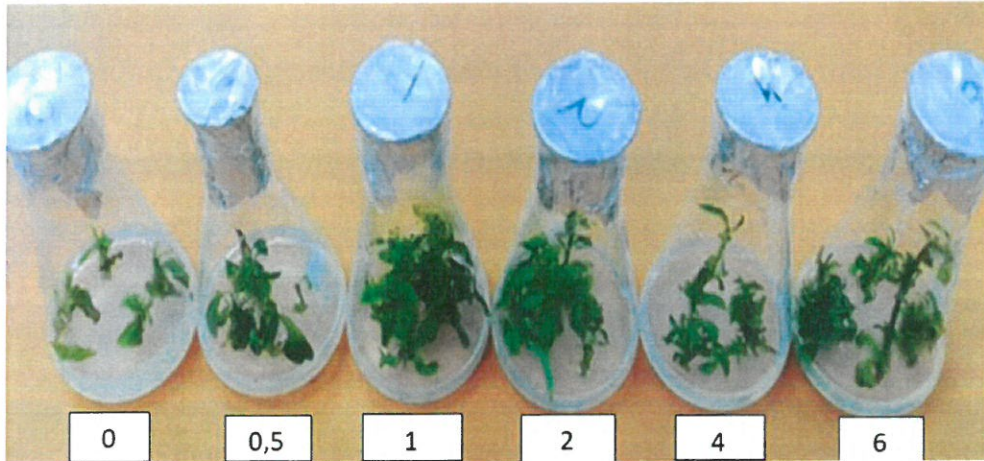
Alt kültüre alınan ana sürgünlerin %91,66'sında BAP içermeyen kontrol ortamında uzama olmuş, BAP içeren ortamlarda ise dikilen sürgünlerin tamamında uzama oluşmuştur (Şekil 3.14). Ortalama uzamanın 1,13 cm olduğu, en fazla boylanmanın ise 1,38 cm olarak 2.0 mg/l BAP dozunda olduğu kaydedilmiştir (Tablo 3.13). Ana sürgünlerin gelişme oranı ve uzama miktarı üzerine BAP dozlarının etkileri istatistiki olarak önemli bulunmamıştır.

Tablo 3.13. Alt kültür aşamasında BAP dozlarında sürgünlerdeki gelişme durumu

	BAP (mg/l)						
	0	0,5	1	2	4	6	Ortalama
Uzama oluşturan ana eksplant oranı (%)	91,66	100	100	100	100	100	98,61
Ana eksplant uzaması (cm)	0,87	1,0	1,12	1,38	1,15	1,25	1,13
Çoğalma (%)	91,66	91,66	100	100	100	100	97,22
Sürgün verimi(adet/eksplant)	1,11	1,08	2,83	2,5	2,5	2,16	1,98
Sürgün boyu (cm)	2,24	2,64	2,14	2,0	2,61	2,24	2,31
Kallus (%)	91,66	100	100	100	100	100	98,61
Kallus büyüklüğü (cm)	0,20	0,82	1,27	0,47	0,34	0,35	0,58
Vitrifikasyon (%)	0,00	41,66	0,00	0,00	0,00	0,00	6,94

Alt kültürde 1, 2, 4 ve 6 mg/l BAP içeren ortama dikilen sürgünlerin tamamında proliferasyon oluşmuş, ortalama çoğalma oranı %97,22 olarak kaydedilmiştir (Tablo 3.13). Yeni sürgün oluşumu 1 mg/l BAP içeren ortamda en fazla (2,83 adet/eksplant) olurken, 4 mg/l dozundan (2,5 adet) sonra sürgün oluşumunda bir azalma (6 mg/l BAP'da 2,16 adet) görülmüştür (Tablo 3.13)

Kültürlerde yeni oluşan sürgünlerin boylarına bakıldığında 0,5 mg/l BAP dozunda en uzun sürgünlerin (2,64 cm) olduğu, bu dozu 4 mg/l BAP dozunun (2,61 cm) takip ettiği görülmektedir (Tablo 3.13). Sürgün proliferasyonu, sürgün verimi ve sürgünlerin boyu üzerine BAP dozlarının etkilerinin istatistiki olarak önemli olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 3.14. Alt kültür aşamasında BAP dozlarında (0, 0,5, 1, 2, 4 ve 6 mg/l) sürgün gelişimi

Alt kültürlerde BAP dozu ortalamasına göre % 98,61 oranında kallus gelişimi olmuş (Tablo 3.13), kallus çapı 1 mg/l BAP içeren ortamda en fazla (1,27 cm) ölçülmüştür (Tablo 3.13). 0 mg/l BAP içeren ortamda sürgünlerin % 41,66'sında vitrifikasyon oluşmuştur (Tablo 3.13). Şekil 3.14 'de alt kültür BAP dozlarında (0, 0,5, 1, 2, 4 ve 6 mg/l) sürgün gelişimi görülmektedir.

3.4. Çoğaltma Aşamasının Sonuçları

BAP dozlarında alt kültüre alınan sürgünlerde karşılaşılan sorunların giderilmesi amacıyla, sonraki çoğaltma aşamalarında BAP+IBA kombinasyonları denenmiştir. Kültürlerde enfeksiyon oluşmamış, kuruma veya kararma gibi sorunlar nedeniyle sürgün ölümü görülmemiştir.

Kültüre alınan sürgünlerin çoğalmasında BAP ve IBA doz seviyelerinin birlikte etkisine ait çalışmalarda ortalamaların en yüksek değerlerine % 100 ve % 100' lük başarı yüzdeleri ile sırasıyla BAP'ın 4,0 mg/l' lik dozu+0,0 mg/l IBA ile yine 4,0 mg/l BAP dozu +0,5 mg/l IBA doz seviyelerinde ulaşılmıştır (Tablo 3.14). IBA'nın 0,1' lik dozunun birlikte denendiği BAP'ın 2,0, 4,0 ve 6,0 dozlarında ise hiçbir sürgün çoğalma başarısı gözlenmemiştir. Araştırmada elde edilen sürgün çoğalma yüzdeleri dönüştürülerek, varyans analizi yöntemi ile test edilmiştir. Varyans analizi sonucunda BAP ile IBA interaksyonu önemli ($P \leq 0,05$) bulunmuştur. Her iki uygulamanın doz seviyeleri arasındaki farklılıkların önemlilik test sonuçları Tablo 3.14 da verilmiştir. Buna göre, en yüksek sürgün çoğalma yüzdesinin elde edildiği BAP'ın 4,0 ve IBA'nın 0,0 ve 0,5' lik dozlarından elde edilen % 100'lük değerleri diğer kombinasyonlardan elde edilen değerlerden (% 66,67- 33,33) farklı olmasa da, % 22,22'lik değerler ve daha düşük değerlere sahip gruptan farklılaşmıştır.

Araştırmada ele alınan diğer bir özellik olan yeni sürgün sayısı oluşumuna ait en yüksek interaksyon ortalamaları, sürgün çoğalma özelliğinde olduğu gibi BAP'ın 4,0 mg/l doz seviyesi ile IBA'nın 0,0 ve 0,5 mg/l uygulamalarından elde edilmiştir. Bu değerler sırasıyla, 8,11 ve 8,33 adet/eksplanttır (Tablo 3.14). Diğer taraftan yeni sürgün sayısı verilerine uygulanan varyans analizi sonuçlarına göre BAP ve IBA doz seviyeleri interaksyonu istatistiksel olarak önemli ($P \leq 0,05$) bulunmuştur. Hangi interaksyon kombinasyonlarının farklılaştığının belirlenmesi amacı ile yapılan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Tablo 3.14'da sunulmuştur. Buna göre, BAP'ın 4,0

(mg/l) doz seviyesi ile IBA'nın uygulanmadığı (0,0) ve 0,5 mg/L doz seviyelerinden elde edilen 8,11 ve 8,33 adet/ eksplant ortalama değerleri, diğer tüm kombinasyonlarından önemli ($P \leq 0,05$) ölçüde yüksektir.

Çalışmada üzerinde durulan bir diğer özellik sürgün boyudur. Bu özellik bakımından en yüksek BAP ve IBA doz interaksyonuna ait ortalama değerler 2.17 cm ile BAP faktörünün 0,1 mg/l doz seviyesi ile IBA'nın uygulanmadığı (0,0 mg/l) gruptan elde edilmiştir. Ancak yapılan varyans analizinde bu değerlerin diğer kombinasyonlardan önemli ($p > 0,05$) bir farklılığı belirlenmemiştir. Hatta bu değer sürgün boyu elde edilmemiş gruplardan da farklı bulunmamıştır. Her ne kadar BAP ve IBA doz interaksyonu önemli bulunmasa da, faktörler ve faktör seviyeleri bakımından farklılıklar incelendiğinde IBA faktörü sürgün boyuna önemli ölçüde ($P \leq 0,05$) etki eden bir faktördür (Tablo 3.14). IBA'nın uygulanmadığı (0,0 mg/l) gruptan elde edilen ortalama değer olan 1.46 cm sürgün boy uzunluğu 0,5 mg/l'lik uygulamadan elde edilen 1.15 cm'lik ortalamadan farklı değilken, 0,1 mg/l dozunun uygulandığı gruptan elde edilen sürgün boy uzunluğundan (0,35 cm) önemli ölçüde ($P \leq 0,05$) yüksek bulunmuştur (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. BAP ve IBA dozlarının çoğaltma aşamasında sürgün çoğalması ve sürgün gelişimine etkileri

BAP (mg/l)	Sürgün çoğalması (%)				Yeni sürgün sayısı (adet/ eksplant)				Sürgün boyu (cm)			
	IBA (mg/l)			Ort.	IBA (mg/l)			Ort.	IBA (mg/l)			Ort.
	0,0	0,1	0,5		0,0	0,1	0,5		0,0	0,1	0,5	
0,0	11,11 ^b	0,00 ^b	22,22 ^b	11,11	0,33 ^b	0,00 ^b	0,33 ^b	0,22	0,20	0,00	0,58	0,26
0,1	33,33 ^{ab}	22,22 ^b	11,11 ^b	22,22	1,00 ^b	0,33 ^b	0,33 ^b	0,56	2,17	0,67	0,17	1,00
0,5	66,67 ^{ab}	11,11 ^b	33,33 ^{ab}	37,04	2,06 ^b	0,33 ^b	0,67 ^b	1,02	1,99	0,67	1,58	1,41
1,0	22,22 ^b	22,22 ^b	33,33 ^{ab}	25,92	0,67 ^b	0,33 ^b	0,67 ^b	0,56	1,67	1,08	0,67	1,14
2,0	44,44 ^{ab}	0,00 ^b	11,11 ^b	18,52	2,67 ^b	0,00 ^b	0,33 ^b	1,00	1,71	0,00	2,00	1,24
4,0	100 ^a	0,00 ^b	100 ^a	66,67	8,11 ^a	0,00 ^b	8,33 ^a	5,48	1,43	0,00	1,49	0,97
6,0	33,33 ^{ab}	0,00 ^b	44,44 ^{ab}	25,92	0,67 ^b	0,00 ^b	1,00 ^b	0,56	1,08	0,00	1,58	0,89
Ort.	44,44	7,94	36,51		2,21	0,14	1,67		1,46 ^a	0,35 ^b	1,15 ^{ab}	

*İncelenen farklı parametreler için farklı harflerle gösterilen ortalama değerleri arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P \leq 0,05$)

Araştırmada çoğaltma aşamasında ana sürgünlerin gelişimleri de incelenmiştir. Bu amaçla ana sürgün boyu bir özellik olarak alınmıştır. Bu özelliğin yanı sıra ana sürgünlerden elde edilen kallus oranı ve oluşan kallusların çapı ölçülerek birer özellik olarak incelenmiştir. Elde edilen ortalama değerlerin faktör ve faktör kombinasyonlarına dağılımları Tablo 3.15' de verilmiştir. Buna göre, en yüksek ana

sürgün boyu gelişimi 2,39 cm ile BAP'ın tek başına kullanıldığı, IBA'nın(0,0mg/l) uygulanmadığı 4,0 mg/l dozundan elde edilmiştir. En düşük boy uzunluk değeri (0,83 cm) ise yine 1,0 mg/l BAP+0,0 mg/l IBA'nın uygulandığı kombinasyondan elde edilmiştir. Ancak yapılan varyans analizi sonucunda gerek BAP ve gerekse de IBA faktörlerinin bireysel ve birlikte etkilerinin ana sürgün boyu üzerine önemli bir etkisi belirlenmemiştir (Tablo 3.15).

Ana sürgünlerin gelişiminin ortaya konması amacı ile ele alınan diğer bir özellik olan kallus oranı özelliği için BAP ve IBA interaksyonundan elde edilen en yüksek ortalama değerler BAP'ın 4,0 mg/l seviyesinde IBA'nın uygulanmadığı(0,0 mg/l) veya 0,5 mg/l olarak eklendiği ortamdan elde edilen % 88,89'luk değerdir (Tablo 3.15). Ancak kallus oranlarına ait değerlerin dönüştürülerek yapılan varyans analizi sonucunda BAP ve IBA interaksyonunun önemli ($P>0.05$) bir etkisi belirlenmemiştir. Diğer taraftan BAP faktörü ve bu faktörün seviyeleri arasında kallus oranları bakımından önemli ($P\leq 0,05$) farklılık vardır. Buna göre BAP'ın 4,0 mg/l seviyesinden elde edilen % 70,37'lik değer her ne kadar 0,5 ve 4,0 mg/l BAP doz seviyelerinden farklı olmasa da, 6,0, 1,0 , 0,1 ve 0,0 doz seviyelerinden elde edilen sırasıyla 22,22, 11,11, 11,11 ve 3,70' lik yüzde değerlerinden önemli ölçüde ($P\leq 0.05$) farklıdır (Tablo 3.15).

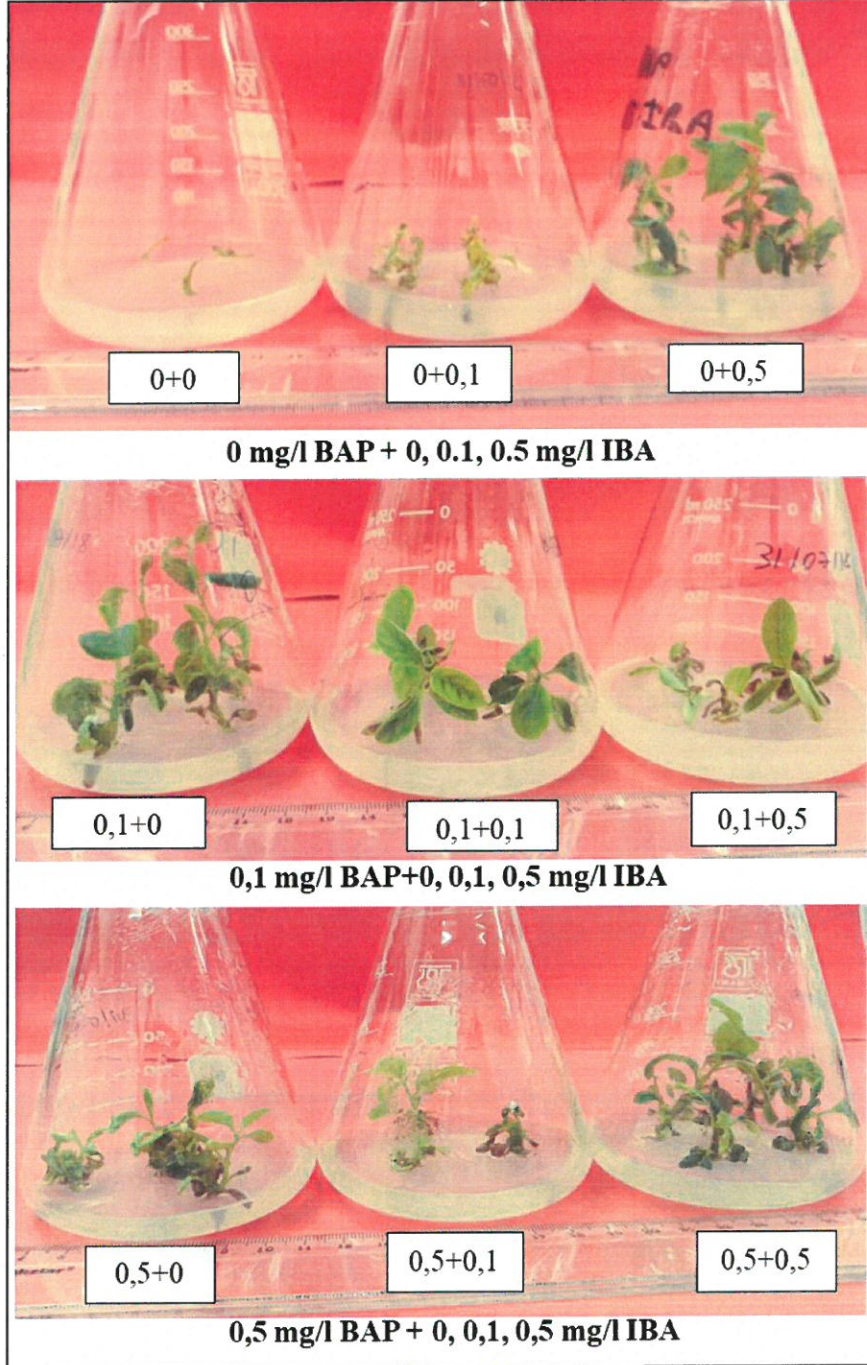
Tablo 3.15. BAP ve IBA dozlarının çoğaltma aşamasında ana sürgün gelişimine ve kallus oluşumuna etkileri

BAP (mg/L)	Ana sürgün boyu (cm)				Kallus oranı (%)				Kallus çapı (cm)			
	IBA (mg/L)			Ort.	IBA (mg/L)			Ort.*	IBA (mg/L)			Ort.
	0,0	0,1	0,5		0,0	0,1	0,5		0,0	0,1	0,5	
0,0	1,07	1,55	1,72	1,45	0,00	0,00	11,11	3,70b	0,00b	0,00b	0,10ab	0,03
0,1	2,11	1,61	1,67	1,79	0,00	11,11	22,22	11,11b	0,00a	0,17ab	0,07	0,08
0,5	1,05	1,27	1,55	1,29	22,22	33,33	33,33	29,63ab	0,13ab	0,13ab	0,07b	0,11
1,0	0,83	1,37	1,28	1,16	22,22	0,00	11,11	11,11b	0,08b	0,00b	0,07b	0,05
2,0	1,22	1,27	2,28	1,59	55,55	33,33	33,33	40,74ab	0,32ab	0,13ab	0,05b	0,17
4,0	2,39	1,16	2,16	1,90	88,89	33,33	88,89	70,37a	0,29ab	0,20ab	0,44a	0,31
6,0	1,11	1,28	1,27	1,22	33,33	11,11	22,22	22,22b	0,04b	0,00b	0,17ab	0,07
Ort.	1,40	1,36	1,70		31,74	17,46	31,74		0,13	0,09	0,14	

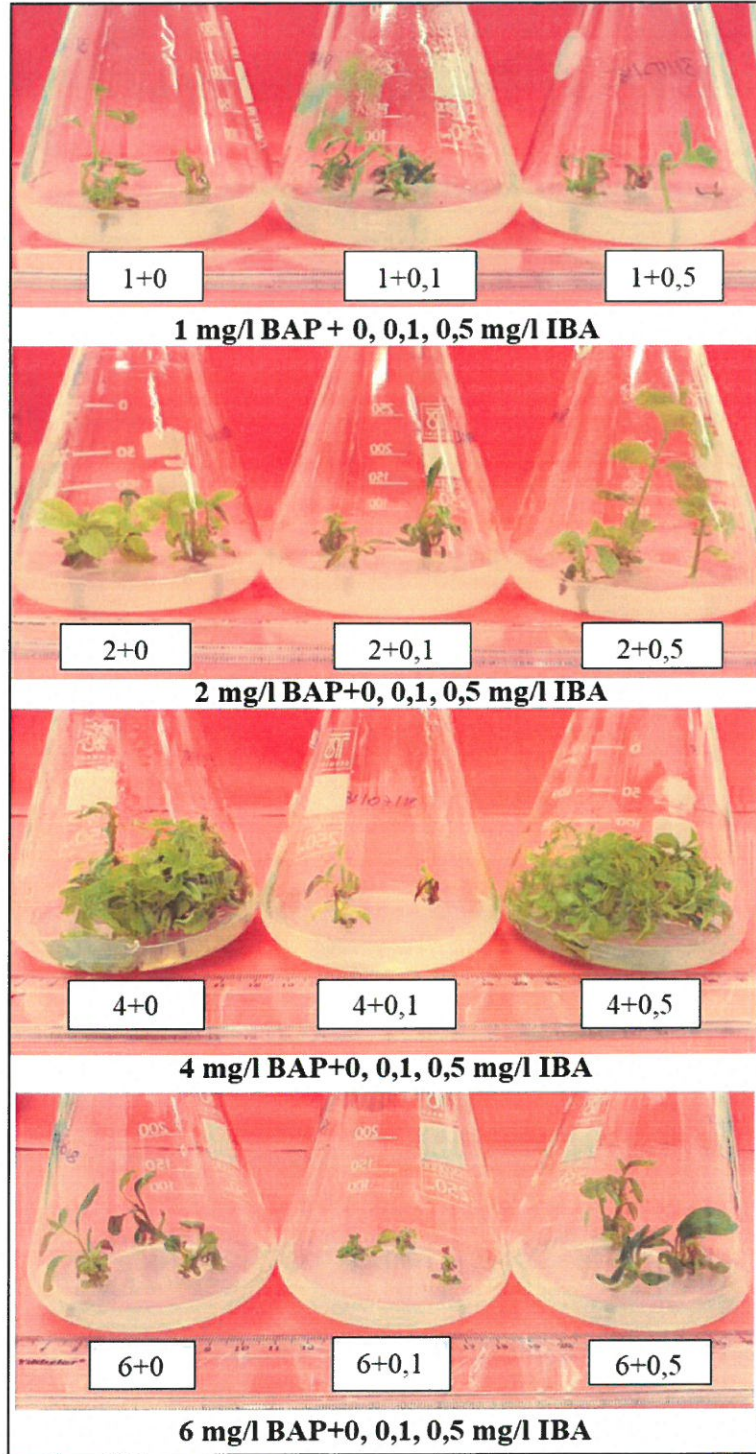
*İncelenen farklı parametreler için farklı harflerle gösterilen ortalama değerleri arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir ($P\leq 0.05$)

Araştırmada ele alınan bir diğer özellik olan kallus çapına ait en yüksek ortalama değer BAP'ın 4 mg/l doz seviyesi ile IBA'nın 0,5 mg/l doz seviyesinden elde edilmiştir. Kombinasyonlara uygulanan varyans analizi sonucunda BAP – IBA interaksyonu önemli ($P\leq 0.05$) bulunmuştur. Kombinasyon gruplarında elde edilen

ortalamalar bakımından 0,44 ile 0,10 cm' e kadar olan aralıktaki değerler bakımından bir farklılık yok iken bu grup 0,08 cm ve daha düşük ortalamaya sahip kombinasyonlardan farklılaşmaktadır (Tablo 3.15). Şekil. 3.15 ve Şekil 3.16'da çoğaltma aşamasında BAP+IBA kombinasyonlarında sürgün gelişimi görülmektedir.



Şekil 3.15. Çoğaltma aşamasında BAP+IBA kombinasyonlarında sürgün gelişimi



Şekil 3.16. Çoğaltma aşamasında BAP+IBA kombinasyonlarında sürgün gelişimi (devam)

Çoğaltma aşamasında iki kültür sonrasında öne çıkan kombinasyon olan 4.0 mg/l BAP+0.5 mg/l IBA hormon kombinasyonu en uygun sürgün çoğaltma ortamı olarak seçilmiş, sürgünler bu ortamda çoğaltılmaya devam edilmiştir. Bu aşamada çoğaltma

ortamında tüm dikilen sürgünlerde proliferasyon oluşmuş (%), ana sürgün uzaması 2,10 cm, sürgün verimi 6.00 adet/eksplant, sürgün boyu 1,83 cm olmuştur. Kültürlerde tüm sürgünlerin kallus oluşumu görülürken, sürgünlerin tabanında 0.5 cm'yi geçmeyen kallus dokusu oluşmuştur (Şekil 3.17).



Şekil 3.17. İkinci çoğaltma aşamasındaki sürgün gelişimi

3.5. Köklenme Aşamasının Sonuçları

Köklenme aşamasında sürgünler NAA veya IBA hormonlarının 2.0, 4.0 veya 6.0 mg/l dozlarından birini içeren MS besin ortamına dikilmiştir. Sürgünlerin yarısı (7 adet/uygulama) 10 gün süresince karanlık koşullarda tutulmuş, diğer yarısı (7 adet) sürekli olarak 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık inkübasyon koşullarında bırakılmıştır. Kültürler iki kat alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra karanlık uygulaması için iklim dolabında, köklenmedeki diğer sürgünlerle aynı iklim koşullarında tutulmuştur. 10 gün sonrasında alüminyum folyo açılmış, kültürler gelişimine devam etmiştir.

Araştırmada hormon uygulaması (NAA ve IBA) ile birlikte ışıklandırmanın bitki gelişim özelliklerine olan etkileri de incelenmeye çalışılmıştır. Işık uygulanan ve uygulanmayan grup şeklinde iki seviye oluşturularak, NAA ve IBA hormonlarının üç farklı dozunda (2,0, 4.0 ve 6.0 mg/l) bitkilerin kök oranı, kök sayısı, kallus oranı ve kallus çapı özelliklerinden ölçüm değerleri elde edilmiştir. Elde edilen bu ölçüm değerlerine ait ortalamalar Tablo 3.16'da verilmiştir.

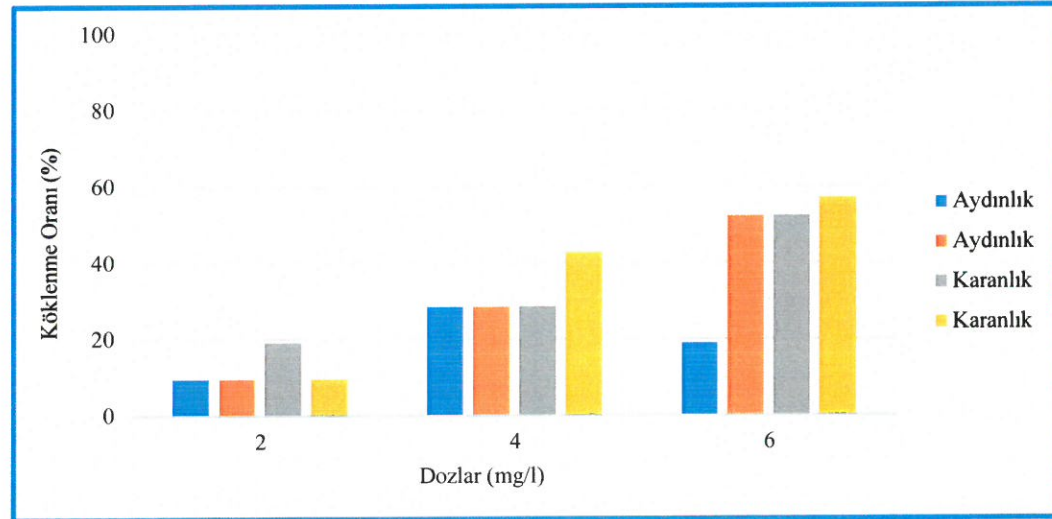
Araştırmada etkisi incelen ışıklandırma* hormon*doz üçlü interaksyonuna ait kök oranlarının yüzdeler değeri 9,52 ile 57,14 değişim aralığında (Tablo 3.16) bulunmuştur. Ancak kök oranlarının dönüştürülmüş verilerine uygulanan varyans analizi sonucunda kombinasyon ortalamaları arasında her hangi bir önemli farklılık ($P>0.05$) belirlenmemiştir. Varyans analizi sonucunda yalnızca her iki hormondan

elde edilen doz ortalamaları (2,0, 4,0 ve 6,0 mg/l için sırasıyla 11,90^b, 32,14^a ve 45,42^a) arasında önemli ($p \leq 0,05$) bir farkın olduğu ortaya çıkmıştır (Tablo 3.16). Buna göre her iki hormon uygulaması ortalamalarından 4,0 ve 6,0 mg/L doz ortalamaları birbirinden farksız, ancak 2,0 mg/L uygulamasından önemli ölçüde ($P \leq 0,05$) yüksek kök oranı elde edilmektedir Tablo 3.16 ve Şekil 3.18).

Tablo 3.16. Işık-karanlık uygulaması, hormon ve hormon dozlarının köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğuna etkileri

İnkübasyon ortamı	Hormon	Doz (mg/L)	Köklenme oranı (%)	Doz Ortalaması	Kök Sayısı (adet)	Kök uzunluğu (cm)	Doz Ortalaması
Aydınlık	NAA	2,0	9,52	2,0 mg/l 11,90 ^b	5,00	0,32	2,0 mg/ 0,2 ^b
		4,0	28,57		1,83	0,27	
		6,0	18,98		2,27	0,38	
	IBA	2,0	9,52	4,0 mg/l 32,14 ^a	1,33	0,21	4,0 mg/l 0,4 ^{ab}
		4,0	28,57		5,67	0,60	
		6,0	52,38		3,94	0,50	
Karanlık	NAA	2,0	19,05	6,0 mg/l 45,42 ^a	1,00	0,18	6,0 mg/l 0,5 ^a
		4,0	28,57		2,33	0,37	
		6,0	52,38		3,06	0,44	
	IBA	2,0	9,52	45,42 ^a	2,00	0,18	6,0 mg/l 0,5 ^a
		4,0	42,86		2,00	0,51	
		6,0	57,14		3,78	0,65	

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalama değerleri arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($P \leq 0,05$)

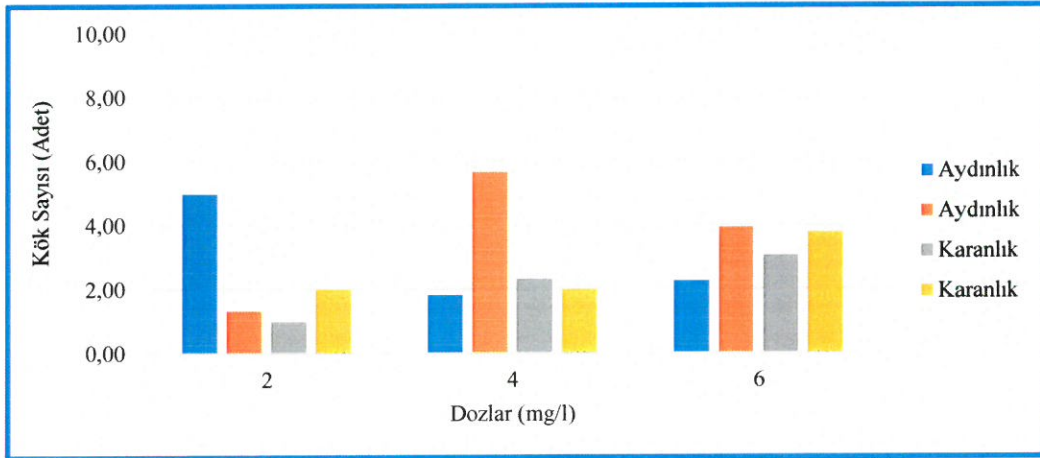


Şekil 3.18. Işık-karanlık uygulaması ve hormonların köklenme oranına etkileri (%)

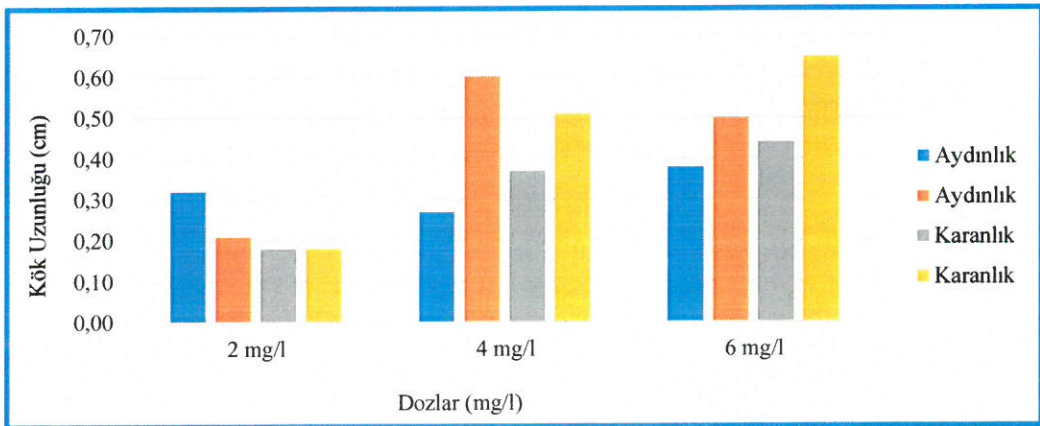
Araştırmada üç uygulamanın birlikte kök sayısı özelliği üzerine en yüksek etkisi aydınlık*IBA*4,0 mg/l doz uygulamasından elde edilmiştir. En az kök oluşumu karanlık+NAA+2,0 mg/l dozunda oluşmuştur (Tablo 3.16 ve Şekil 3.19). Ancak

yapılan varyans analizi sonucunda elde edilen bu 5,67 adet'lik ortalama değerin diğer kombinasyonlardan elde edilen değerlerden herhangi önemli ($P>0.05$) bir farklılığı belirlenmemiştir. İnteraksiyon etkisi, uygulamaların tek tek etkileri önemsizdir.

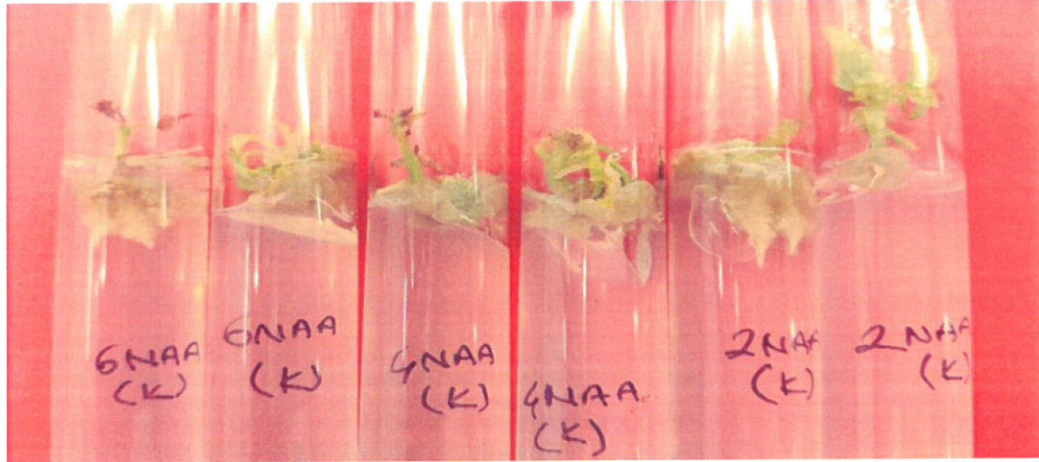
Çalışmada ele alınan diğer bir özellik olan kök uzunluğu üzerine en yüksek tesiri, karanlık*IBA*6,0 mg/l (0,65 cm) interaksiyonu yapmıştır. Ancak yapılan analiz sonucu elde edilen 0,65 cm'lik bu ortalama değerin, diğer kombinasyonlardan elde edilen değerlerden herhangi önemli ($P>0.05$) bir farkı yoktur. Bu özellik üzerine yalnızca doz faktörünün etkisi önemli ($P<0.05$) bulunmuştur. Elde edilen her iki hormona ait 2,0, 4,0 ve 6,0 mg/L dozlara ait sırasıyla; 0,2^b, 0,4^{ab} ve 0,5^a cm ortalama değerlerden 2,0 doz uygulaması, en yüksek kök uzunluğu (0,5 cm) elde edilen 6,0 mg/l dozundan önemli ölçüde düşük kök uzunluğu değerine sahiptir (Tablo 3.16 ve Şekil 3.20). Çalışmada köklenen bitkiler Şekil 3.21 ve Şekil 3.22'de verilmiştir.



Şekil 3.19. Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kök sayısına etkileri (adet)



Şekil 3.20. Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kök uzunluğuna etkileri (cm)



Şekil 3.21. Köklenme aşamasında karanlık ortamda tutulan sürgünlerdeki kök gelişimi



Şekil 3.22. Köklenme aşamasında ışıklı ortamda tutulan sürgünlerdeki kök gelişimi

Kallus oranı incelendiğinde, dönüştürülmüş verilerin analizinden elde edilen sonuçlara göre bu özellik için elde edilen 64,5 ile 90,1 aralığındaki ortalama değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ($P>0.05$) bulunmamıştır (Tablo 3.17).

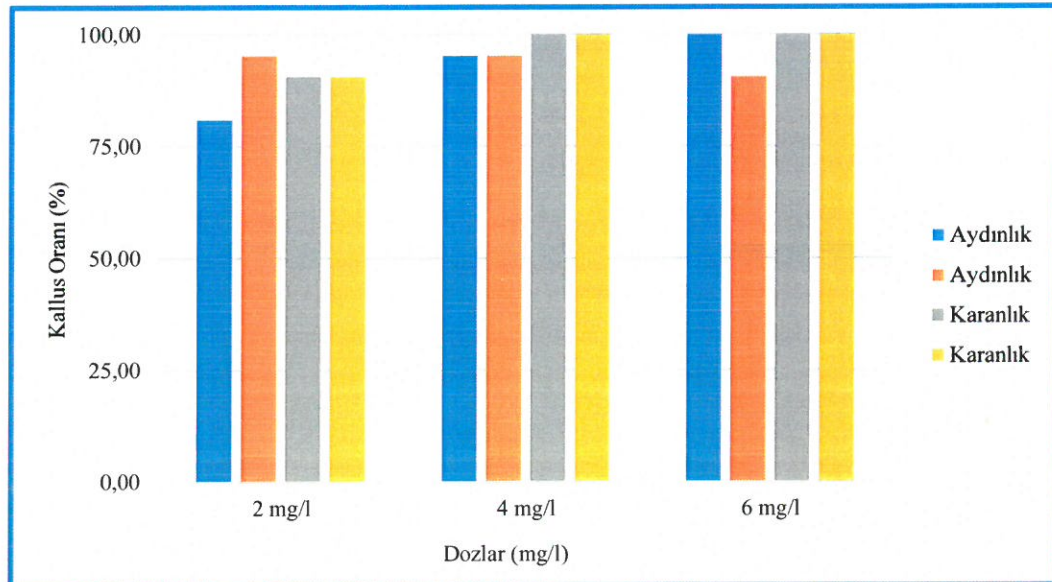
Araştırmada incelenen bir diğer özellik olarak kallus çapı büyüklüğü bakımından en yüksek ortalama değer karanlık*IBA* 6.0 mg/l doz uygulamasından elde edilen 0,72 cm'lik değerdir. Ancak bu ortalama değer diğer kombinasyonlardan bulunan ve 0,36 ile 0.69 cm aralığında değişim gösteren ortalama değerlerden önemli derecede farklı değildir ($P>0.05$). Fakat yapılan varyans analiz sonucunda yalnızca hormon*doz interaksiyonunun etkisinin önemli olduğu ortaya çıkmıştır. Elde edilen bu ortalama değerler ve önemlilik kontrolleri Tablo 3.17'de verilmiştir.

Tablo 3.17. Işık-karanlık uygulaması, hormon ve hormon dozlarının köklenme aşamasında kallus oluşumuna etkileri

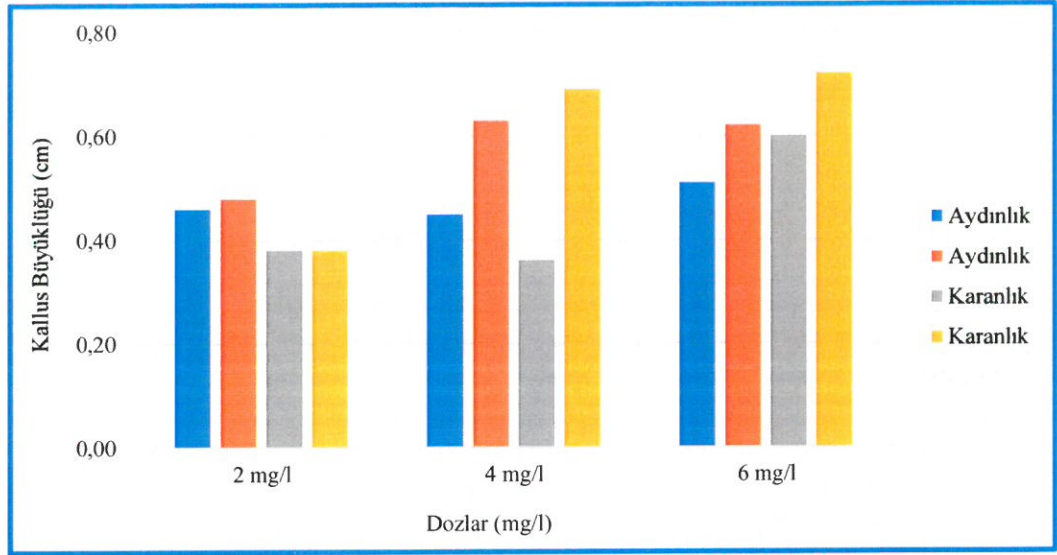
İnkübasyon ortamı	Hormon	Doz (mg/l)	Kallus oranı (%)	Kallus çapı (cm)	HormonxDoz İteraksiyonu Ortalaması	Kallus çapı (cm)
Aydınlık	NAA	2,0	80,95	0,46	2,0 mg/l	0,42b
		4,0	95,24	0,45		
		6,0	100	0,51	4,0 mg/l	0,41b
	IBA	2,0	95,24	0,48	6,0 mg/l	0,56ab
		4,0	95,24	0,63		
		6,0	90,48	0,62		
Karanlık	NAA	2,0	90,48	0,38	2,0 mg/l	0,43b
		4,0	100	0,36		
		6,0	100	0,60	4,0 mg/l	0,66a
	IBA	2,0	90,48	0,38	6,0 mg/l	0,67a
		4,0	100	0,69		
		6,0	100	0,72		

* Farklı harflerle gösterilen ortalama değerleri arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir ($P \leq 0.05$)

Hormon*doz interaksiyonundan elde edilen en yüksek kallus çapı ortalama değeri olan 0.67 cm'lik değer, IBA'ın 6.0 mg/L (aydınlık ve karanlık koşullarda) dozunda ve bulunmuştur. Bu değer yine IBA'ın 4,0 mg/l dozundan (karanlık) elde edilen 0,66 cm'lik değerden farklıdır. Ancak her iki değer 0.43 ve daha düşük kallus çapı elde edilen kombinasyonlardan önemli ölçüde ($P > 0.05$) farklıdır (Tablo 3.17). Şekil 3.23 ve Şekil 3.24'de ışık-karanlık uygulaması, hormon ve hormon dozlarının köklenme aşamasında kallus oluşumuna etkileri gösterilmiştir.



Şekil 3.23. Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kallus oranına etkileri (%)



Şekil 3.24. Işık-karanlık uygulaması ve hormonların kallus büyüklüğüne etkileri (cm)

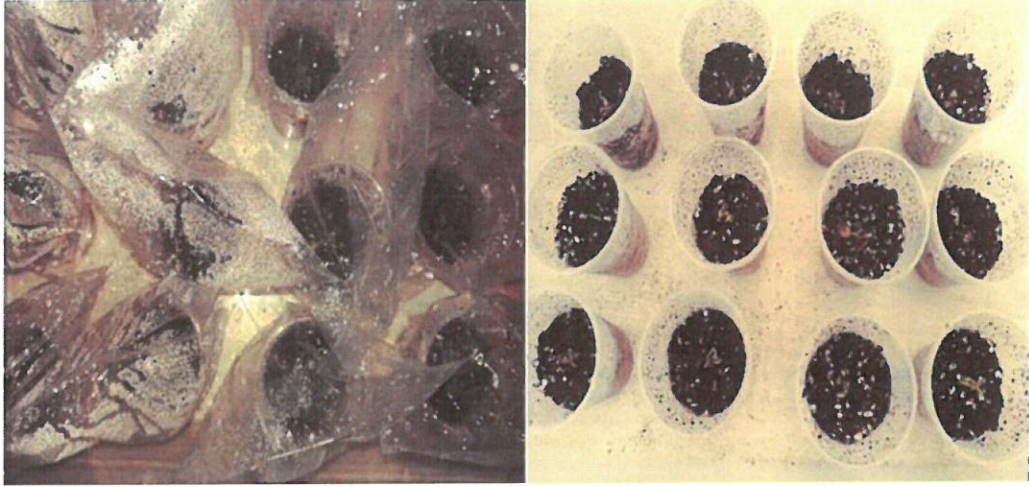
3.6. Adaptasyon Aşamasının Sonuçları

Köklenme aşamasının sonunda NAA hormonunda köklenen bitkiciklerden 4 adet, IBA ortamında köklenen bitkiciklerden 8 adet bitki dış koşullara adaptasyon için alınmıştır (Tablo 3.18). Mikro bitkiler torf:perlit karışımına alınmış (1:1), 8 saat aydınlık, 16 saat karanlık koşullarda üzerleri kapatılarak adaptasyona bırakılmıştır (Şekil 3.25).

Tablo 3.18. Adaptasyon aşamasının sonuçları

Köklenme ortamı	Adaptasyona alınan bitki sayısı	Canlı kalan bitki sayısı
Işık+NAA+2.0 mg/l	1	0
Karanlık+NAA+6.0 mg/l	3	0
Işık+IBA+4.0 mg/l	2	0
Karanlık+IBA+4.0 mg/l	3	1
Karanlık+IBA+6.0 mg/l	3	1

Sürgünlerde kalluslu ve kırılğan yapıda kök oluşmuştur. Bu nedenle dış koşullara alınan bitkilerin çoğu iki hafta içinde ölmüş, 2 adet bitki yaşayabilmiştir (Tablo 3.18).



Şekil 3.25. Dış ortama alınan mikro bitkilerin adaptasyonu

4. TARTIŞMA

Doku kültüründe başarının ilk adımı bitkisel materyalin etkili sterilizasyonudur. Doku kültürü çalışmalarında kontaminasyonun önlenmesi kaynaklarının iyi anlaşılmasına ve iyi bir aseptik teknik izlenerek görülme sıklığı ve yoğunluğunun azaltılmasına bağlıdır. Kullanılan sterilantın dozu ve bitkisel materyale uygulanma süresi arasındaki denge çok önemlidir. Doku kültüründe karşılaşılan enfeksiyonların çoğu endofitik bakterilerden ya da yüzey sterilizasyonuna dayanıklı olan mikroorganizmalarla bulaşık olan başlangıç materyallerinden kaynaklanmaktadır (Cassells, 2001). Bitki türüne ve kullanılan bitkisel materyale bağlı olarak sterilizasyon reçetesi değişmektedir. Bazı bitki türlerinde eksplantların sterilizasyonunun sağlanması bir çok aşamayı gerektirmekte (Babu, 2019, Babei ve diğ., 2014, Abbasi ve diğ., 2013), bazı bitki türlerinde ise sterilizasyon bir-iki işlem ile gerçekleştirilebilmektedir (Boudabous ve diğ., 2010, Ainsley ve diğ., 2001, Ersalı ve diğ., 2017, Nas ve diğ., 2013). Bu çalışmada eşme ayvasının sürgün uçlarında sodyum hipokloritin %20'lik konsantrasyonu üç farklı sürede denenmiş, 12 dakikanın sterilizasyon için yeterli olduğu görülmüş, sterilizasyon kolay bir şekilde tamamlanmıştır. Sterilizasyon işlemi sonunda sürgün uçlarının canlılık oranı %86,66 olarak belirlenmiştir ve bu oran benzer bir çok çalışmadaki sonuçlardan yüksektir (Abbasi ve diğ., 2013, Nas ve diğ., 2013, Babu, 2019).

Kuruluş kültürlerinde MS ve WPM temel besin ortamlarına dikim yapılmıştır. Sürgün proliferasyonu MS besin ortamında daha yüksek olmuştur. Sürgün verimi MS ortamında artmış, ancak sürgün boyları WPM ortamında oluşan sürgünlerden daha kısa kalmıştır. WPM besin ortamına dikilen ana eksplantlar ve yeni oluşan sürgünler daha iyi boylanmıştır. WPM besin ortamı odunlu bitkilerin doku kültüründe kullanılmaktadır. WPM ortamında Tetra anacında sürgün sayısının ve sürgün boyunun azaldığı (Sadeghi ve diğ., 2014) görülürken, *Arbutus unedo* sürgün ucu kültürlerinde WPM ortamında yeterli gelişmenin sağlandığı görülmektedir (Memiş, 2018). Badem de yapılan çalışmalarda farklı temel besin ortamlarının etkileri denenmiş, sürgün sayısı ve boyu bakımından WPM ortamı en düşük değerleri

vermiştir (Nas ve diğ., 2013). *Clerodendrum serratum* L. bitkisinin doku kültürlerinde de MS besin ortamı aralarında WPM besin ortamının da yer aldığı ortamlarla karşılaştırıldığında en iyi sürgün gelişmesini sağlamıştır (Ubadhyay ve Koche, 2015). Bu durum ortamların sonuçlarının bitki türü ile doğrudan ilgili olduğunu ortaya koymaktadır. Eşme ayvasında kuruluş kültürlerinde WPM ortamındaki sürgünlerin yapraklarında irileşme ve vitrifikasyon oluşumu karşılaşılan diğer bir sorundur. BAP'ın diğer sitokininlere göre vitrifikasyonu artırıcı etkisi bilinmektedir (Leshem ve diğ., 1988, Gürel ve Gülşen, 1998, Sharma ve Mohan, 2006). Bu sürgünlerde alt kültüre alınırken dokular parçalanmış, yapraklar gövdeden kopmuştur. Bu da başarıyı düşürmüştür. Proliferasyon ve sürgün gelişimine olumsuz etkilerinden dolayı WPM besin ortamı kuruluş aşamasından sonraki kültürlerde denemeye alınmamış, çalışmalara MS besin ortamında devam edilmiştir. Elma doku kültürlerinde de MS besin ortamının daha sıklıkla kullanıldığı görülmektedir (Teixeira da Silva ve diğ., 2019).

Denemelerde kuruluş kültürlerinde proliferasyon oranı BAP dozunun artması ile artmış, eksplantlardan daha fazla sürgün oluşmuştur. BAP'ın hücre bölünmesini teşvik ederek sürgün çoğalmasında etkili olduğu bilinmektedir (Silva ve diğ., 2003, Sutter,1996).

Kültür ortamında BAP hormonu sürgün proliferasyonunu artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Ancak uygun dozun seçilmesi sürgün boylanmasını doğrudan etkilemektedir. Eşme ayvasında ilk kültür aşamasında MS ve WPM besin ortamlarının her ikisinde de BAP dozunun artmasının sürgünlerde kısılmaya neden olduğu, en boylu sürgünlerin 2 mg/l BAP içeren ortamda oluşan sürgünler olduğu kaydedilmiştir. 4 mg/l BAP dozu sürgün sayısını artıran doz olarak, sürgün boylanması bakımından yüksek gelmiş, sürgünler uzamamıştır. Upadhyay ve Koche (2015) *Clerodendrum serratum* L. bitkisinde BAP dozunun artmasının sürgün boyunda kısılmaya neden olduğunu, Sadeghi ve diğ., (2015) Tetra anacında artan BAP dozlarında sürgün veriminin azaldığını ve kısa sürgünlerin oluştuğunu bildirmektedir. Elmanın mikro çoğaltımında da artan BAP dozunun sürgün çoğalma oranını, sürgün sayısı ve sürgünlerde boylanmayı azalttığı bildirilmiştir (Boudabous ve diğ., 2010). Çalışma sonuçlarımız bu çalışmadaki sonuçlarca desteklenmektedir.

Alt kültürlerde BAP hormonunun doz aralığı artırılmış ve 0, 0,5, 1, 2, 4 ve 6 mg/l dozları denenmiştir. Alt kültürlerde de BAP dozlarının etkileri arasında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Sürgün çoğalması bütün dozlarda birbirine yakın değerlerde olmuş, sürgün verimi 1 mg/l BAP dozunda artmış, sürgün boyları kontrol dahil tüm ortamlarda 2 cm'den uzun olmuştur.

BAP dozlarının proliferasyona etkileri çoğaltma aşamasında da önemli bulunmuş, düşük ve yüksek BAP dozlarında proliferasyon azalmıştır. Düşük dozlarda IBA'nın sitokinin ile etkileşiminin, 6 mg/l dozunda ise sitokininin engelleyici etkisinin proliferasyonu ve sürgün sayısını azalttığı düşünülmektedir.

Kültürlerde uygun sürgün proliferasyonunu teşvik edebilecek uygun sitokinin dozunun kullanılması çok önemlidir. BAP'a karşı oluşacak tepkiler bitki dokusunun BAP'ı alabilmesi ile alakalıdır. BAP'ın yüksek dozları sürgün sayısında azalmaya neden olabilmektedir. Bizim çalışmamızda da yüksek BAP dozlarında sürgün proliferasyonu azalmış, aynı etki IBA etkileşiminin olumsuz sonuçlar verdiği BAP+IBA kombinasyonlarında da oluşmuştur.

Alt kültür aşamasında istenen düzeyde sürgün çoğalması elde edilemediğinden çoğaltma aşamasında BAP+IBA kombinasyonları denenmiştir. BAP+IBA kombinasyonlarının mikro sürgünlerinin gelişimi üzerine etkileri her iki hormonun dozlarına bağlı olarak değişmiştir. Genel olarak 4 mg/l BAP dozunun sürgün çoğalmasında diğer BAP dozlarına göre önemli bir fark yarattığı görülmektedir. Yüksek BAP dozu kuruluş aşamasında olduğu gibi sürgün proliferasyonunda ve sürgün veriminde düşük değerler vermiştir. 0, 4 ve 6 mg/l BAP dozlarının 0,1 mg/l IBA ile kombinasyonlarında dikilen sürgünlerde proliferasyon olmamış veya çok düşük oranlarda kalmıştır. 4 mg/l BAP+0,0 mg/l IBA ve 4 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA kombinasyonlarında sürgünlerin tamamında proliferasyon oluşmuştur. Cos ve diğ. (2004) en etkili sürgün proliferasyonunu 0,8 mg/l BAP+0,1 mg/l IBA kombinasyonunda sağlamışlardır. Buradaki çalışmada ise her iki hormonun da daha yüksek dozları etkili olmuş, 0,1 mg/l IBA en düşük sonuçları vermiştir. Elma kültürlerinde 1,0 mg/l BAP+0,1 mg/l IBA kombinasyonunun 1 mg/l BAP+0,5 mg/l IBA ile kombinasyonuna göre sürgün gelişiminde daha başarılı olduğu ifade edilmektedir (Boudabous ve ark., 2010). Yine benzer olarak, oksin dozunun

kültürlerin çoğalma başarısını doğrudan etkilediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Matt ve Jehle, 2005, Büyükdemirci, 2008, Sadeghi ve diğ., 2015, Aygün ve Dumanoglu, 2015). Genellikle sürgün çoğaltma aşamasında kültür ortamında sitokininlere tek olarak yer verilmektedir. BAP'ın kuvvetli bir sitokinin olduğu, sürgün sayısını artırırken, sürgün boyunu kısalttığı önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Baig ve diğ., 2011). Sitokinin+oksin kombinasyonlarının başarılı olduğu çalışmalar da vardır (Ferdous ve diğ. (2015). Önemli olan uygun dozun belirlenmesidir. Akın ve diğ., (2018) BAP+NAA kombinasyonlarının *Lythrum salicaria* L. bitkisinde BAP+NAA kombinasyonlarında sürgün veriminin dozlara bağlı olarak değiştiğini, ancak BAP dozunun artmasıyla etkileşimin düzenli olmadığını ve BAP hormonunun tek başına daha etkili olduğunu bulmuştur. Bizim çalışmamızda da BAP+ IBA kombinasyonları birbirlerini farklı etkilemiş, doz artışına paralel bir sürgün artışı ya da azalması olmamıştır. Ancak, BAP+IBA kombinasyonunun etkili sonuç verdiği açıktır. Gelecek çalışmalarda kombinasyon aralığının artırılarak farklı dozların denenmesi başarıyı artırabilecektir.

İkinci çoğaltma aşamasında sürgünler 4 mg/l BAP + 0,5 mg/l IBA kombinasyonunda çoğaltılmıştır. 3 defa aynı ortamda kültüre alınan sürgünlerin tamamında proliferasyon olmuş, sürgün verimi ortalama 6 adet, sürgün boyu ise 1,83 cm olmuştur. Kültür yaşının artması eşme ayvasında sürgün gelişiminde ve kalitesinde olumsuzluklara neden olmuş, sürgün verimi düşmüştür. Sürgünlerde sararma ve boylanmada azalma olmuştur. Benzer bir durum Aygün ve Dumanoglu (2015)'nin çalışmalarında da dikkati çekmektedir. Alt kültürlerde proliferasyon oranı azalmıştır. Köklenmeye bu ortamdan elde edilen mikro sürgünler alınmıştır.

Yüksek BAP dozlarında sürgünlerde renk açılması ve sarımsı yeşil renk oluşumu görülmüştür. Bitkisel materyalde alındığı zamandaki sitokinin seviyesi çok değişken olabilmektedir (Panjaitan ve diğ., 2007). Bitkisel materyalin alındığı dönemdeki içsel sitokinin seviyesinin yüksek olması durumunda, dışarıdan uygulanan sitokinine bir tepki oluşabilmektedir. Sürgün uçları gelişimin çok başında alındığından, sitokinin zengin olabilecekleri düşünülmüştür.

Ortamda BAP dozunun artması kültürlerde MS ve WPM besin ortamlarının her ikisinde de kallus oluşumunu artırmıştır. MS besin ortamında WPM besin ortamında

rozetleşmiş sürgün gelişiminin artan BAP dozuna bağlı olarak artış gösterdiği görülmüştür.

Köklenmede iki farklı oksin, NAA ve IBA'nın dozları denenmiştir. Eşme ayvasının mikro sürgünlerinde köklenme oranı beklenenin altında gerçekleşmiş, en yüksek köklenme oranı (%57,14) 6 mg/l IBA ortamına dikilen ve 10 gün süre ile karanlıkta bırakılan sürgünlerde olmuştur. IBA oksinler arasında en güçlü, bitki için toksik etkisi olmayan, köklenmede etkili hormon olarak bilinmektedir (Hartmann ve diğ., 2007). Bitkide protein sentezini etkilemekte, hızlı hücre bölünmesi sonucunda kök sayısının artışına neden olmaktadır (Husen ve Pal, 2007). Oksinler düşük konsantrasyonlarda kök gelişimini teşvik ederken, yüksek konsantrasyonlarda ise engellemektedir (Caspar ve diğ., 2002). IBA'nın yüksek dozlarda kullanılması metabolik yapıyı bozarak, köklenmeyi engellemekte, kök sayısı azalmaktadır (Baker ve Wetzstein, 1994). Bu çalışmada böyle bir durumla karşılaşılmamış, doz artışı köklenmeyi engellememiştir. Her iki oksinin de dozlarının artması köklenmeyi artırmıştır.

NAA köklenme aşamasında en çok kullanılan diğer bir hormondur. Bu çalışmada, etkileri arasındaki fark önemli olmamakla birlikte, IBA'dan daha az etkili olduğu görülmektedir. *In vitro* köklenmede IBA, NAA'dan daha etkili bir hormon olarak kabul edilmektedir (Bodabous ve diğ., 2010). Malus ve Pyrus'larda köklenme aşamasında IBA önem taşımakta, ortamda konsantrasyonunun artması kök sayısı ve uzunluğunu artırmaktadır (Shibli ve diğ., 1997). *L.salicari*' türünün *in vitro* sürgünlerinde ise NAA ve IBA hormonlarında köklenme oranı birbirine yakın değerler vermiştir (Akın ve diğ.,2018). Bazı çalışmalarda IBA+NAA+PBZ gibi farklı hormonların bir arada kullanılmasının köklenmeyi artırdığı bildirilmiştir (Abbasi ve diğ., 2013). Bu nedenle sonraki çalışmalarda oksin kombinasyonlarının birlikte değerlendirilmesi denenebilir. Bir diğer çalışmada IBA içeren tam kuvvetinde MS, NAA'ya göre köklenme oranı daha yüksek olmuş, ancak zayıf, fazla uzamayan kökler oluşmuştur. Oysaki yarı kuvvetinde MS'te IBA varlığında kuvvetli kökler gelişmiş, kök uzunluğu da artmıştır (Bodabous ve diğ., 2010). Buradan besin ortamının hormon tipi ve hormon dozu ile etkileşiminin önemi anlaşılmaktadır.

Bitkide kök gelişimi iç ve dış faktörlerce etkilenmektedir. Uygun hormonun, uygun dozda kullanılması ile başarı sağlanabilmektedir. Köklenmeye alınan sürgünlerin 4 mg/l gibi yüksek dozlarda BAP kullanılan ortamda çoğaltılmış olmasının köklenme aşamasında sürgünlerde BAP'ın etkisini sürdürmesine yol açmış olabileceği, dolayısıyla köklenmede beklenen sonuçlarının alınamamasının nedeni olabileceği düşünülmektedir. Bundan sonra yürütülecek olan çalışmalarda, sürgünlerin bir süre hormonsuz ortama alındıktan sonra, köklenme ortamına dikilmesinin oksinden daha iyi yararlanmayı sağlayabileceği öngörülmektedir.

IBA içermeyen ortamlarda köklenmenin daha hızlı başladığı, yüksek dozlarında köklenme oranının azaldığı, kök sayısının ve kök uzunluğunun düştüğü belirlenmiştir (Babaei ve diğ., 2014). Bazı bitki türlerinde birkaç saat süre ile oksin uygulanması kök gelişimini uyarmakta, ancak sürekli olarak oksinli ortamda tutulmaları uyarılmış olan kök primordiyumunun gelişmesini engellemektedir. Oksin uyarısı alındıktan sonra sürgünlerin daha düşük dozda oksin içeren ortama ya da oksinsiz ortama alınmaları köklenmedeki engeli kaldırabilmektedir (Collett, 1988, George, 1996).

Eşme sürgünlerinde karanlıkta bekletme köklenme oranını artırmış, kök sayısı ise azalmıştır. Karanlık uygulamalarının köklenmeye olumlu etkilerinden bahseden çalışmalar (Zimmerman ve Fordhan, 1985, Rugini ve diğ., 1993) olduğu kadar, önem arz etmediğini belirten çalışmalar da (Caboni ve diğ., 1992) bulunmaktadır. Sürgünlerin karanlıkta kalma süresi önemlidir, 10-14 gün gibi uzun süreler karanlıkta bırakılan sürgünlerde etiyolleşme, erken yaşlanma, yaprakların sararması gibi sorunlarla karşılaşmıştır (Rugini ve diğ. 1988). Bizim çalışmamızda da 10 gün karanlıkta bekletilen sürgünlerde yaprakların sararması ve sürgün gelişmesinin gerilemesi karanlık süresinin fazla gelmiş olabileceğini düşündürmüştür. Üstelik karanlıkta bekletme köklenmeye belirgin bir etki yapmamıştır. Benzer şekilde Ainsley ve diğ., (2001) badem kültürlerinde karanlıkta bırakmanın köklenmede etkili olmadığını ortaya koymuşlardır.

Köklenmeyi uyarmak için sadece kök bölgesini karanlıkta bırakan aktif kömür uygulamaları da mevcuttur. Besin ortamına aktif kömür eklenmesi, bitki dokusu içindeki sitokinini absorbe ederek, oksinlerin daha aktif rol oynamasına yardımcı olmaktadır (Auge, 1989). Bitki dokusunda oksin birikmesi adventif kök oluşumunu

uyarmaktadır (Laskowski ve diğ., 1995). Yarı kuvvetinde MS ortamında aktif kömür+2 mg/l IBA muzda köklenmeyi artırmıştır (Babu, 2019). Sitokininlerin oksinlerle antagonist etkili çalışmaları bilinmektedir (George ve diğ., 2008). Nakhooda ve diğ. (2011) uygun oksinin ve konsantrasyonunun seçilmesinin köklenmedeki aşamaları, sonrasında dış koşullara alıştırma aşamasında kök gelişimini etkilediğini ortaya koymuşlardır. Aktif kömür uygulamaları da köklenmeyi uyarmak için eşme sürgünlerinde sonraki çalışmalarda ele alınabilecektir.

Köklenme aşamasında sürekli aydınlıkta tutulan ve ilk 10 gün karanlıkta tutulan sürgünlerin bazal kısmında, kökleri saran yapıda, yumuşak, kolayca dağılabilen kallus dokusu oluşmuştur. Literatürlerde ışık varlığında köklendirilen sürgünlerde kallus oluşumunun arttığı, nedeninin riboflavin varlığında IBA'nın ışık etkisi ile parçalanması olduğu belirtilmektedir (Krieken ve diğ., 1992). Ancak bizim çalışmamızda ışıklı veya karanlık ortamda köklendirilen bitkiler arasında kallus oluşumu bakımından bir fark ortaya çıkmamıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde kültürlerde kök uzamasının yeterli olmadığı, kallus oluşumu ile birlikte kırılğan kök oluştuğu, dış koşullara aktarım aşamasında köklerin koptuğu görülmüştür. Bu da adaptasyonda başarı şansını düşürmüştür.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yüksek lisans çalışmasında Eşme ayvası sürgünlerinin *in vitro* çoğaltma olanakları incelenmiştir. Çalışmanın tasarlanması aşamasında bitki doku kültürü teknikleri ve yapılan çalışmalarla ilgili literatür araştırmalarında ulaşılabilen literatür bilgilerinde Eşme ayvası çeşidinde yürütülmüş doku kültürü çalışmasına rastlanmamıştır. Bu nedenle tez sonuçları literatüre ve bu türün çoğalmasına katkı sağlamaktadır.

İlk aşamada sterilizasyon çalışmalarında yüksek oranda başarı sürgünlerin %70 Etil alkol ile 1 dakika + %20 NaOCl ile 12 dakika muamele edildiği yöntemden elde edilmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda benzer materyaller için önerilebilecek bir sterilizasyon uygulaması olarak ortaya konmuştur. Enfeksiyon oranı %13,33 ölçülürken; yaşama oranı %100 olmuştur.

Kültürlerde kuruluş aşamasında yer verilen temel besin ortamları MS ve WPM ortamlarından MS besin ortamı daha yüksek proliferasyon ve sürgün kalitesi sağlamıştır. Bu bakımdan sürgün çoğaltma aşamasında ayva sürgün uçları için uygundur. Ancak WPM besin ortamının farklı kuvvetleri denenebilir. Çalışmalarda sürgün çoğalması bakımından sorun oluşmamış, ancak sürgünlerde az de olsa vitrifikasyon oluşması sürgün kalitesini etkilemiştir. Gerek vitrifikasyonun giderilebilmesi, gerekse sürgünlerde çoğaltma aşamasında boyun uzaması için farklı hormon kombinasyonlarının denenmesi bundan sonraki çalışmalarda ele alınabilecektir.

Köklenme aşamasında MS besin ortamında birbirinden bağımsız olarak farklı NAA dozları ile farklı IBA dozları kullanılmış, ayrıca karanlık ve aydınlık koşullarda tutulan mikro sürgünlerin köklenmesinde ışık varlığının etkisi ortaya konmaya çalışılmıştır. Sürekli aydınlık koşullarda kalan sürgünlerde karanlık koşullarda kalan sürgünlere göre kök sayısının arttığı, IBA'nın daha etkili olduğu kaydedilmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde kültürlerde kök uzamasının yeterli olmadığı, kallus oluşunu ile birlikte kırılđan kök oluştuğu, dış koşullara aktarım aşamasında köklerin koptuğu görülmüştür. Bu da adaptasyonda başarı şansını düşürmüştür.

Çalışma sonuçları denenebilecek birçok uygulama olduğunu işaret etmektedir. Ticari değeri yüksek, kendine verimli bir ayva türü olan eşme ayvasının doku kültürlerinin geliştirilmesi, protokollerin oluşturulabilmesi için çalışmalara devam edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Ainsley P.J., Collins G.G., Sedgley M., *In vitro* Rooting of Almond (*Prunus dulcis* Mill). *In Vitro Cellular&Developmental Biology-Plant*, 2001, **37** (6), 778-785.

Abbasi N.A., Pervaiz T., Hafız I.A., Yaseen M., Hussain Y., Assensing the Response of Indigenous Loguati Cultivar Mardan to Phytohormones for *In Vitro* Shoot Proliferation and Rooting, *J. Zhejiang University-Science B.*, 2013, **14**(9), 774-784.

Abdollahi H., One Decade Challenges for Selection and Breeding of Superior Pear (*Pyrus communis*) and Quince (*Cydonia oblonga*) Cultivars in Iran, *In:Proceeding of the 8th Iraian Horticultural Science Congress*, Hamadan, Iran, 1-7 September 2013.

Adak N., *In vitro* Şartlarda Değişik Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Çileklerde Kallus ve Sürgün Gelişimi Üzerine Etkileri, *BAHÇE*, 2016, **45**, 859-863.

Adler M., Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and Its Growing and Economic Descriptions. *In:Proceedings 9th international conference of horticulture*, Lednice, Czech Republic, 3-6 September 2001.

Akın B., Çetin B., Bingöl N.A., *In Vitro* Propagation of Wetland Medicinal Plant *Lythrum salicaria* L., *Celal Bayar University Journal of Science*, 2018, **14**(4),369-372.

Alizadeh S., Polat G., Dumanoğlu H., Old Home x Farmingdale 333 Armut Anacının *In Vitro* Köklenmesi Üzerine Oksin ve Polivinil Alkol Uygulamalarının Etkileri, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2018, **35**, 47-53.

Alvarenga A.A., Abrahao E., Pio R., Francinely A.A., Nilton C.O., Comparison Among Marmalades Produced from Different Fruit Quince Species (*Cydonia oblonga* Miller and *Chaenomeles sinensis* Koehne) and Cultivar, *Cienc Agrotecnol*, 2008, **32**, 302-307.

Anonymus, Encyclopedia of Life. *Cydonia oblonga* Mill. Quince., EOL, <http://www.eol.org/pages/245489/names> (Ziyaret tarihi:1 Aralık 2019).

Atay E., Gargın S., Çalhan Ö., Atay A.N., Butar S., Ege-2, Ege-22 ve Eşme Ayva Çeşitlerinin Odun Çelikleriyle Çoğaltılması. *Uluslararası Katılımlı I. Ali Numan Kıraç Tarım Kongresi ve Fuarı Bildirileri*, Eskişehir, Türkiye, 27-30 Nisan 2011.

Auge R., Physiological Events in Relation with The Establishment of *In Vitro* Culture, Editors: Vidalie H., *In vitro culture and Its Horticultural Applications*, 3rd ed., Laballary, France, 1-5, 1989.

- Aygün A., Dumanoğlu H., Bazı Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotiplerinde Yaprak Disklerinden Sürgün Organogenesisi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 2006, **13**(1), 54-61.
- Aygün A., Dumanoglu H., *In Vitro* Shoot Proliferation and *In Vitro* and *Ex Vitro* Root Formation of *Pyrus elaeagrifolia* Pallas, *Frontiers in Plant Science*, 2015, **6**, 225.
- Babaoğlu M., Yorgancılar M., Akbudak M.A., *Bitki Biyoteknolojisi Doku Kültürü: Temel Laboratuvar Teknikleri, Doku Kültürü ve Uygulamaları*, 1. Baskı, Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 2001.
- Babaei N., Abdullah A.A., Saleh G., Abdullah T.L., An Efficient *In Vitro* Plantlet Regeneration from Shoot Tip Cultures of *Curculigo latifolia* A Medicinal Plant, *Scientific World Journal*, 2014, **2014**, 1-9.
- Babu P., An Efficient Protocol for *In Vitro* Regeneration of Banana var, *Nanjangudu rasabale* (*Musa* spp. AAB), *Int.J.Curr.Microbiol. App. Sci.*, 2019, **8**(6), 3392-3402.
- Baig M.M.Q., Hafiz I.A., Hussain A., Ahmad T., Abbasi N.A., An Efficient Protocol for *In Vitro* Propagation of *Rosa gruss* An Teplitz and *Rosa centifolia*, *African Journal of Biotechnology*, 2011, **10**(22), 4564-4573.
- Bak T., Şenyurt M., Karadeniz T., Ordu Ulubey İlçesinde Yetişen Ayva (*Cydonia oblonga*) Genotiplerinde Meyve Özelliklerinin Belirlenmesi, *VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri*, Çanakkale, Türkiye, 25-29 Ağustos 2015.
- Baker C.M., Wetzstein H.Y., Influence of Auxin Type and Concentration on peanut somatic embryogenesis, *Plant Cell Tissue Org. Cult.*, 1994, **36**(3), 361-368.
- Basu A.B., Mir M.A., Bhatt K.M., Mir B.A., *In Vitro* Propagation of *Cydonia oblonga* cv. SKAU-016, *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 2017, **6**(9), 1865-1873.
- Bayazıt S., Imrak B., Küden A., Güngör M. K., RAPD Analysis of Genetic Relatedness Among Selected Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Accessions from Different Parts of Turkey, *Hort.Sci.(Prague)*, 2011, **38**(4), 134-141.
- Bell R. L., Leita J. *Cydonia* in: Kole, C., *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*, 1st ed, Springer-Verlag., Berlin, Germany, 2011.
- Boudabous M., Mars M., Marzougui N., Ferchichi A., Micropropagation of Apple(*Malus domestica* L. Douce de Djerba) Through *in vitro* Culture of Axillary Buds., *Acta Bot. Gallica*, 2010, **157**(3), 513-524.
- Büyükdemirci H., The Effects of Medium Ingredients on Shoot Propagation and Rooting of Cherry Rootstocks *In Vitro*, *Acta Hort.*, 2008, **795**, 419-422.
- Caspar T., Faivre-Rampant O., Kevers C., Dommens J., Hausman J.F., Auxin in The Biology of Roots, Editors: Wasiel Y., Eshel A., Kafkafi U., *Plant Roots: The Hidden Half*, 3rd ed., Marcel Dekker Inc., New York, 576-608, 2002.

Cassells A.C., Contamination and Ist Impact in Tissue Culture, *Acta Hort.*, 2001, **560**, 117-121.

Caboni E., Boumis G., Damiano C., Effect of Phenols, Gibberellic Acid An Carbonhydrates on The Rooting of The Apple M9 Jork, *Agronomie.*, 1992, **12**,789-794.

Collet G.F., Improvement to Induce Rooting of Fruit Trees *In Vitro*, *Acta Hort.*, 1988, **227**, 318-323.

Cos J., Frutos D., Sanchez M.A., Rodriquez J., Carrillo A., Determiation of The Optimal Culture Medium and Growth Regulator Concentration for The *In Vitro* Proliferation Stage of The Peach-Almond Hybrid Mayor, *Acta Hort.*, 2004, **658**, 617-621.

Çalhan Ö., Koyuncu M.A., Eşme Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Çeşidinde Optimum Derim Tarihini Belirlemek İçin Uygun Kriterlerin Seçimi, *YYÜ Tar.Bil. Dergisi*, 2018, **28**(2), 215-225.

Dumanoğlu H., Aygün A., Erdoğan V., Elma Genotiplerinin Mikroçoğaltımında Farklı Ammonyum Nitrat Düzeylerinin Sürgün ve Kök Oluşumu Üzerine Etkileri, *Tarım Bilgileri Araştırma Dergisi*, 2009, **2**(1), 177-182.

Elivar D.E., Dumanoğlu H., Ayaş(Ankara)Koşullarında Elma, Armut ve Ayvada Bir Yaşlı Fidan Üretiminde İlkbahar Sürgün ve Sonbahar Durgun Göz Aşılmanın Karşılaştırılması, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 1999, **5**(2), 58-64.

Ercan N., Özkarakaş İ., Ege Bölgesi'nden Toplanan Bazı Ayva (*Cydonia vulgaris* Pers.) Materyalinin Adaptasyonu ve Değerlendirilmesi, *Anadolu Dergisi*, 2005, **15**(2), 27-42.

Ercan N., Özvardar S., Gönülşen N., Baldıran E., Önal K., Karabıyık N., Ege Bölgesi'ne Uygun Ayva Çeşitlerinin Saptanması. *1.Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi*, İzmir, Türkiye, 13-16 Ekim 1992.

Ersalı Y., Tilkat E., Özen H.Ç., Onay H., Olgun Dişi Buttum (*Pistacia khinjuk* Stocks) Ağaçlarından *In Vitro* Kültürlerin Başlatılması, *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 2017, **7**(1/2), 1-8.

FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO, <http://www.fao.org/statistics/en/> (Ziyaret Tarihi: 18 Ekim 2019).

Ferdous M.H., Billah A.A., Mehraj H., Taufique T., Uddin A.F., BAP and IBA Pulsing for *In Vitro* Multiplication of Banana Cultivars Through Shoot-Tip Culture, *Journal Binet*, 2015, **3**(2), 87-95.

George E.F., *Plant Propagation by Tissue Culture*, Exegetica, London, 1996.

George E.F., Hall M.A., De Klerk G.J., *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd ed., Springer, Dordrecht, Netherlands, 2008.

Gerçekçiöğlü R., Gencer S., Atasever Ö., Tokat Ekolojisinde Yetiştirilen “Eşme” ve “Limon” Ayva (*Cydonia vulgaris* L.) Çeşitlerinin Bitkisel ve Pomolojik Özellikleri, *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2014, 7(1), 01-05.

Ghanbari A., Impacts of Plant Growth Regulators and Culture Media on *In Vitro* Propagation of Three Apple (*Malus domestica* Borkh.) Rootstocks. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 2014, 3(1), 11-20.

Gharangani A., Solhjoo S., Oraguzie N., A Review of Genetic Resources of Pome Fruits in Iran, *Genet Res Crop Evol*, 2016, 63, 151-172.

Giorgota A., Preda S., Isac M., Tulvinschi M., Development of a Micropropagation Protocol for the Romanian Quince (*Cydonia oblonga*) Cultivar “Aurii” and Rootstocks “BN70” and “A Type”, *Acta Hortic*, 2009, 839, 105-110.

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

Hartmann H.T., Kester D.E., Davies Jr. F.T., Geneve R.L., *Plant Propagation: Principles and Practices*, 6th Ed., Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA, 1997.

Hartmann H.T., Kester D.E., Davies Jr. F.T., Geneve R.L., *Plant Hormones. In: Plant Propagation: Principles and Practices*, 7th ed., Prentice-Hall, 2007.

Hegedus A., Papp N., Stefanovits-Banyai E., A Review of Nutritional Value and Putative Health-Effect of Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Fruit, *Int J Hortic Sci.*, 2013, 19(3-4), 29-32.

Husen A., Pal M., Metabolic Changes During Adventitious Root Primordium Development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) Cuttings as Effected by Age of Donor Plants and Auxin (IBA and NAA) Treatment, *New Forests*, 2007, 33, 309-323.

Kafkas S., Imrak B., Kafkas N.E., Sarier A., Kuden A., Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Breeding, *Advances in Plant Breeding Strategies: Fruit*, 2018, 3, 277-304.

Kalkışım Ö., Turan A., Azeri F.N., Özdeş D., Kara Dut (*Morus nigra* L.) Bitkisinin *In Vitro* Çoğaltımı, *GÜFBED*, 2013, 3(2), 77-84.

Kauppinen S., Kviklyš D., Rumpunen K., Stanys V., Svensson M., Propagation of Japanese Quince (*Chaenomeles japonica*) Plants, Editors: Rumpunen K., *Japanese Quince – Potential Fruit Crop for Northern Europe*, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden, 81–92, 2003.

Khan M., Ahmad R., Micropropagation of Horticultural Crops. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 1994, 15(1): 202-205.

Koçak M., Bazı Sorbus L. (Üvez) Türleri Tohumlarının Çimlenme ve Fidecik Gelişimi Üzerine Hormonal İşlemin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2006, 184877.

- Kozma P, Nyeki J, Soltesz M and Szabo Z., Floral Biology, Pollination and Fertilisation in Temperate Zone Fruit Species and Grape, *Annals of Botany*, 2004, **94**(5), 763.
- Krieken Van der W.M., Breteler H., Visser M.H.M., The Effect of the Conversion of Indole-butyric Acid into Indole-Acetic-Acid on Root Formation on Microcuttings of Malus. *Plant Cell Reports*, 1992, **33**(6), 709-713.
- Laskowski M.J., Williams M.E., Nusbaum H.C., Sussex I.M., Formation of Lateral Root Meristems is a Two-Stage Process, *Development*, 1995, **121**, 3303– 3331.
- Leshem B., Werker E., Shalev D.P., The Effect of Cytokinin on Vitrification in Melon and Carnation, *Annals of Botany*, 1988, **62**, 271.
- Lloyd G.B., McCown B.H., Commercially-feasible Micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by Use of Sohhot-tip Culture, *Proc. Int. Plant Prop. Soc.*, 1981, **30**, 421-427.
- Maarri K.A., Arnaud Y., Miginiac E., *In Vitro* Micropropagation of Quince (*Cydonia oblonga* Mill.), *Scientia Horticulturae*, 1986, **28**(4), 315-321.
- Matt A., Jehle J.A., *Plant Cell Rep.*, 2005, **24**, 468-476.
- Memiş S., Kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) Genotiplerinin *In Vitro* Çoğaltımı, Yüksek Lisans Tezi. Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2018, 10209049.
- Mingozzi M., Morini S., Lucchesini M., Mensuali-Sodi A., Effects of Leaf Soluble Sugars Content and Net Photosynthetic Rate of Quince Donor Shoots on Subsequent Morphogenesis in Leaf Explant, *Biologia Plantarum*, 2011, **55**(2), 237-242.
- Muleo R., Cinelli F., Viti R., Application of Tissue Culture on Quince Rootstock in Iron-Limiting Conditions, *Journal of Plant Nutrition*, 1995, **18**(1), 91-103.
- Murashige T., Skoog F., A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Cultures, *Physiol. Plant*, 1962, **15**, 473-497.
- Nabors H.W., Gibbs S.E., Bernstein C.S., Meis M.E.I., NaOCl Tolerant Tobacco Plants from Cultured Cells, *Z.Pflanzenphysiol*, 1980, **97**, 13-17.
- Nakhooda M., Watt M.P., Mycock D.I, Auxin Stability and Accumulation During *In Vitro* Shoot Morphogenesis Influences Subsequent Root Induction and Development in *Eucalyptus grandis*, *Plant Growth Regul*, 2011, **65**, 263-271.
- Normah, M.N., Nor-Azza, A.B., Aliudin, R., Factors Affecting *In Vitro* Shoot Proliferation and *Ex Vitro* Establishment of Mangosteen. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1995, **43**, 291-294.
- Nas M.N., Bölek Y., Sevgin N., Shortcut to Long-distance Developing of a Tissue Culture Medium: Micropropagation of Mature Almond Cultivars as a Case Study, *Turkish Journal of Botany*, 2013, **37**, 1134-1144.

Özbek S., *Özel Meyvecilik*, 1. Baskı, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Adana, 1978.

Özçağırın R., Ünal A., Özeker E., İsfendiyaroğlu, M., *Ilıman İklim Meyve Türleri, Yumuşak Çekirdekli Meyveler Cilt 2.*, 1. Baskı, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Bornova, İzmir, 2005.

Özçağırın, R., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyaroğlu, M., *Ilıman İklim Meyve Türleri, Yumuşak Çekirdekli Meyveler Cilt 2.*, 1. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 2011.

Palaz E., Uğur R., SP-2 (*Prunus spinosa*) Klonal Anaç Adayının *In Vitro* Rejenerasyonu Üzerine Farklı Büyüme Düzenleyici Konsantrasyonlarının Etkileri, *YYÜ Tar.Bil.Derg.*, 2018, **28**(1), 36-41.

Panjaitan S.B., Aziz M.A., Rashid A.A., Saleh N.M., *In Vitro* Plantlet Regeneration from Shoot Tip of Field Grown Hermaphrodite Papaya (*Carica papaya* L.cv Eksotica), *Int.J.Agric.Biol.*, 2007, **9**(6), 827-832.

Rodriguez- Guisado I., Hernandez F., Melgarejo P., Legua P., Martinez, R., Chemical, Morphological and Organoleptical Characterisation of Five Spanish Quince Tree Clones (*Cydonia oblonga* Mill.), *Sci Horti*, 2009, **122**, 491-496.

Rugini E., Bazzoffia A., Jacobani A.A., Simple *In Vitro* Method to Avoid the Initial Dark Period and to Increase Rooting in Fruit Trees, *Acto Hort.*, 1988, **227**, 438-440.

Rugini E., Jacobani A., Luppino M., Role of Basal Shoot Darkening and Exogenous Putrescine Treatments on *In Vitro* Rooting and Endogenous Polyamin Changes in Difficult –to-root Woody Species, *Sci.Hort.*, 1993, **53**, 63-72.

Sadeghi F., Yadollahi A., Kermani M.J., Eftekhari M., Optimizing Culture Media for *In Vitro* Proliferation and Rooting of Tetra (*Prunus empyream* 3) Rootstock, *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2015, **13**, 19-23.

Silva A.L., Rogalski M., Guerra M.P., Effects of Different Cytokinins on *In Vitro* Multiplication of *Prunus* ‘Capdeboscq’ Rootstock, *Crop Breed. Appl. Biotechnol.*, 2003, **3**(2), 149-156.

Sharma U., Mohan J.S.S., Reduction of Vitrification in *In Vitro* Raised Shoots of *Chlorophytum borivilianum* Sant & Fernand., a Rare Potent Medicinal Herb, *Indian Journal of Experimental Biology.*, 2006, **44**, 499-505.

Shibli R.A., Ajlouni M., Jaradat A., Aljanabi S., Shatnawi M., Micropropagation of Wild Pear (*Pyrus syriaca*), *Horticultural Science*, 1997, **972**, 1-6.

Staniene G., Stany V., Plant Regeneration from Leaves of *Cydonia oblonga* Cultivars, *Acta Universitatis Latviensis, Biology*, 2004, **676**, 231-233.

Sulusoglu M., Effect of Agar Types on Rooting Performance in Tissue Culture. Sample of Quince A Rootstocks Cultures, *Turkish Journal of Agricultural and Nature Science*, **1**, 2014.

Sutter E.G., General Laboratory Requirements, Media and Sterilization Methods. In: Trigiano RN, Editors: Gray D.J., *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises*, 1st ed., CRC Press, New York, 11-25, 1996.

Şahin M., Mısırlı A., Ülkemizde ve Dünyada Ayva Islahı Çalışmaları, *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2016, **1**, 286-294.

Tal M., Selection for Stress Tolerance, Editors: Evans W.R., Sharp P.V., Yamada Y., *Handbook of Plant Cell Culture*, 1st ed., Mac Millan Publishing Co., London, 468-488, 1983.

Teixeria da Silva J.A., Gulyas A., Magyar-Tabori K., Wang M.R., Wang Q.C., Dobranszki J., *In Vitro* Tissue Culture of Apple and Other Malus Species: Recent Advances and Applications, *Planta*, 2019, **249**, 975-1006.

Tsipouridis C., Thomidis T., Michailides Z., Influence of Some External Factors on The Rooting of GF677, Peach and Nectarine Shoot Hardwood Cutting, *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2005, **45**(1), 107-113.

TUIK, Bitkisel Üretim İstatistikleri, Türkiye İstatistik Kurumu, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001 (Ziyaret Tarihi: 18 Ekim 2019).

Upadhyay S., KocheV., Comparison of Different Medium and Establishment of an Efficient Micropropagation Technique of *Clerodendrum serratum* L. an Endangered Medicinal Plant, *Journal of Environmental Science*, 2015, **1**(2), 27-35.

URL-1: <https://acikders.ankara.edu.tr/mod/resource> (Ziyaret Tarihi: 14.10.2019).

USDA, U.S Department of Agriculture. Agricultural Research Service. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/query=Quince> (Ziyaret Tarihi:18 Ekim 2019).

Ünal A., Bahçe Tarımı-II. 1.Ünite, Editör; Doç. Dr. Veli Erdoğan., *Yumuşak Çekirdekli Meyve Türleri ve Nar Yetiştiriciliği*, 1. Baskı, T.C. Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Yayını, 14, 2011.

Vitagliano C., Mensuali-Sodi A., Blando, F., Effect of NaOCl on Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Tissue Culture, *Acta Horticulturae*, 1991, **300**, 51.

Werbrouck S.P.O., Debergh P.C., Applied Aspects of Plant Regeneration (Micropropagation), Editors: Dixon R.A., Gonzalez R.A., *Plant Cell Culture-A Pratical Approach*, Oxford Uni.Press., New York, 127-135, 1994.

Westwood M.N., Temperate-Zone Pomology: *Physiology and Culture*, Timber Press, Portland, Oregon, USA, 523, 1993.

Yezhov V.N., Smykov A.V., Smykov V.K., Khokhlov S.Y., Genetic Resources of Temperate and Subtropical Fruits and Nut Species at The Nikita Botanical Garden, *Hort.Sci*, 2005, **40**, 59.

Yüzbaşıoğlu E., Dalyan E., Büyüme Hormonları ve Aktif Kömürün *In Vitro* Koşullarda Kardelen (*Galanthus woronowii* Losinsk) Soğancık Oluşumuna Etkisi, *Mediterranean Agricultural Sciences*, 2017, **30**(3), 239-243.

Zimmerman R.H., Fordham I., Simplified Method for Rooting Apple Cultivars *In Vitro*, *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1985, **110**, 34-38.

KİŞİSEL YAYIN VE ESERLER

Korana Aktaş T., Sülüőöđlu Durul M., Doku Kültürüne Enfeksiyon Kaynakları ve Sterilizasyon, *Uluslararası Marmara Fen ve Sosyal Bilimler Kongresi (Bahar) 2019 Bildiriler*, Kocaeli Türkiye, 26-28 Nisan 2019.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Yozgat'ın Yerköy ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Yozgat'ta tamamladı. 2006 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü'nden Ziraat Mühendisi olarak mezun oldu. 2007-2008 yıllarında Yozgat ili Saraykent ilçesine bağlı İzibüyük İlköğretim Okulu'nda ücretli öğretmenlik yaptı. 2010 yılında Kocaeli, Körfez İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'ne Ziraat Mühendisi olarak atandı. Görevine halen burada devam etmektedir. Evli ve 2 çocuk annesidir.