

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MUZ (*Musa sp.*) KLONLARININ DOKU KÜLTÜRÜNDE FARKLI
MADDELER KULLANILARAK ÜRETİLMESİ**

Fatoş UZUNTAŞ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ŞANLI URFA
2007**

Prof. Dr. Nihat DİLSİZ ve Prof. Dr. Orhan ARSLAN danışmanlığında, Fatoş UZUNTAŞ'ın hazırladığı “Muz (Musa sp.) klonlarının doku kültüründe farklı maddeler kullanılarak üretilmesi” konulu bu çalışma 11/06/2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

- 1. Danışman:** Prof. Dr. Nihat DİLSİZ
- 2. Danışman:** Prof. Dr. Orhan ARSLAN

Üye : Prof. Dr. Vagıf HATEMOV

Üye : Doç. Dr. Khalid Mahmood Khawar

Üye: Yrd. Doç. Dr. Esat ÇETİN

Bu Tezin Biyoloji Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.

Prof. Dr. İbrahim BOLAT
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No:

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Bitki Doku Kültürü.....	9
1.2. Muz Doku Kültürünün Avantajları	10
1.3. Tezin Amacı.....	10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	12
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	24
3.1. Bitki Materyali.....	24
3.2. Doku Kültürü Metotları	24
3.2.1. Büyüme ortamları ve kültür koşulları.....	24
3.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri.....	25
3.4. <i>In Vitro</i> Çalışmaları.....	26
3.4.1. Muz bitkisinin yüzey sterilizasyonu.....	26
3.4.2. Rejenere olan sürgünlerin köklendirilmesi.....	27
3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler ve Ekonomik İncelenmeleri	27
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	28
4.1. Muz Rizomlarının <i>Invitro</i> Rejenerasyonu.....	28
4.2. Hızlı Çoğaltım Çalışması	33
4.3. Rejenere Olan Sürgünlerin Köklendirilmesi.....	36
4.4. Fiyat Kıyaslanması.....	41
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR.....	47
ÖZGEÇMİŞ.....	51
ÖZET.....	52
SUMMARY.....	53

ÖZ

Yüksek Lisans Tezi

MUZ (*Musa sp.*) KLONLARININ DOKU KÜLTÜRÜNDE FARKLI MADDELER KULLANILARAK ÜRETİLMESİ

Fatoş UZUNTAŞ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Nihat DİLSİZ
İkinci Danışman: Prof. Dr. Orhan ARSLAN

Yıl: 2007, Sayfa: 53

Bu çalışmada deneme materyali olarak ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen Dwarf Cavendish muz çeşidi kullanılmıştır. Bu araştırma, Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü ve Gazi Üniversitesinin Biyoloji Eğitim Anabilim Dalı'nın Biyoteknoloji Laboratuvarlarında muz meristemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada agar, isubgol ve pamuk lifler ile karbon kaynağı olarak sukroz ve ticari beyaz şeker kullanılmıştır. Çalışmada doku kültürü maliyetinin düşürülmesi amaçlanmıştır. Çalışmada muz rizomları, %100 çamaşır suyu ile 25 dk steril edilip, 50 mg/l askorbik asit içeren sıvıda yarım saat bekletilmiştir. Muamele edilmiş eksplantlar, değişik katılaştırıcı madde ve sukroz ile ticari beyaz şeker içeren 4.5 mg/l BAP ve 0.2 mg/l IBA içeren MS ortamına yerleştirilmiştir. Tüm katılaştırıcı maddeler, sukroz, ticari beyaz şeker, 4.5 mg/l BAP ve 0.2 mg/l IBA içeren MS ortamındaki sürgünlerin istatistiksel olarak eşit olduğu tespit edilmiştir. Gelişen sürgünler, 0.2 mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmiştir. Çalışma sonucunda, tüm bitkilerde adaptasyon görülmüştür. Çalışma sonucunda, sabit masraflar hariç, agar-sukroz içeren ortamda en pahalı, pamuk-ticari beyaz şeker içeren ortamda ise en ucuz bitki elde edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Muz, doku kültürü, agar, isubgol, pamuk lifleri, sukroz, ticari beyaz şeker

ABSTRACT

MSc Thesis

PROPAGATION OF BANANACLONES (*Musa sp.*) USING DIFFERENT GELLING AGENTS UNDER IN VITRO CONDITIONS

Fatoş UZUNTAŞ

**Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology**

**Supervisor : Prof. Dr. Nihat DİLSİZ
Co-Advisor : Prof. Dr. Orhan ARSLAN**

Year: 2007, Pages: 53

Dwarf Cavendish variety of banana, which is widely cultivated in our country was used in this experiment. The study was carried out at the biology laboratory of Harran University and Biotechnology laboratory, Biology Education, Gazi University, Ankara. This study aimed to reduce the tissue culture propagated expenditures on banana propagation using agar, Isubgol and cotton fibres with sucrose and commercial white sugar. Banana rhizomes were surface sterilized using 100% commercial bleach for 25 minutes. Sterilised rhizomes were treated with ascorbic acid for 1/h hour before culturing them on MS medium containing 4.5 mg/l BAP and 0.2 mg/L IBA supplemented with sucrose or commercial white sugar. Statistically similar results were obtained on all solidifying agents using sucrose or commercial sugar. Developing shoots were rooted on MS medium supplemented with 0.2 mg/l IBA. All plants could be acclimatized without any difficulty. The results showed that the most expensive plantlets were obtained on agar, sucrose and the cheapest plants were obtained on MS medium containing cotton fibres and commercial sugar.

KEY WORDS: Banana, tissue culture, agar, isubgol, cotton fibres, sucrose, commercial white sugar

TEŞEKKÜR

Bu çalışmada beni engin bilgileriyle yönlendiren ve çalışmamın her safhasında desteklerini benden esirgemeyen çok değerli danışmanlarım Prof. Dr. Nihat Dilsiz'e, Prof. Dr. Orhan Arslan'a, özellikle Doç. Dr. Khali Mahmood Khawar'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Yine çalışmalarımı, yürüttüğüm Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi Çiğdem Alev Özel'e, tez çalışmamın her aşamasında yardımcı olan Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü Araştırma Görevlisi Ayşe ŞAHABOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca, Prof. Dr. Vagıf HATEMOV'a, Yrd. Doç. Dr. Esat ÇETİN'e ve bütün değerli Biyoloji Bölümü öğretim elemanlarına ve değerli arkadaşlarıma çalışmalarımındaki doğrudan veya dolaylı katkılarından dolayı teşekkür ederim. Yine, tez çalışmalarım boyunca gösterdikleri anlayıştan ve her türlü desteklerinden dolayı değerli aileme teşekkür ederim.

Anneme

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1.1. Alanya ve Anamur ilçelerinin sıcaklık ve güneşlenme süreleri	2
Çizelge 1.2. Dünyada yüksek muz üretimi yapan ülkeler, 2005 yılına göre sıralamaları.....	5
Çizelge 1.3. Türkiye’de muz üretimi (dikim alanı ve verimi).....	6
Çizelge 1.4. 1994 - 2004 yılları itibariyle ülkemizdeki muz ihracatı miktarları ve değerleri...	7
Çizelge 1.5. 1998-2005 yılları itibariyle ülkemiz muz ithalatı miktarları ve değerleri	8
Çizelge 3.1. MS*ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları Macronutrients (mg/l)...	25
Çizelge 3.2. Kullanılan hormon dozları ve çözücüleri.....	26
Çizelge 4.1. Muz rizomların sterilizasyonu için kullanılan değişik ortamlarda gözlenen bulaşıklık yüzdesi.....	31
Çizelge 4.2. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarındaki sürgün rejenerasyonuna etkisine ait univariate analizi sonuçları.....	34
Çizelge 4.3. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarındaki sürgün rejenerasyonuna etkisine ait LSD testi sonuçları.....	35
Çizelge 4.4. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök oluşumuna ait univariate analizi sonuçları.....	37
Çizelge 4.5. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök oluşumuna ait Duncan Testi sonuçları.....	38
Çizelge 4.6. Agar, isubgol, pamuk, sucroz ve ticari beyaz şeker fiyatlarının kıyaslanması.....	42
Çizelge 4.7. 1 litre Agar, isubgol, pamuk, sucroz ve ticari beyaz şeker içeren ortamların hazırlanmasına yönelik için (sabit masraflar hariç) fiyatların kıyaslanması.....	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Muz bitkisinin değişik kullanım alanları, (a-b) bahçelerde süs bitkisi olarak kullanımı, (c) meyve veren muz ağacı, (d) hasat edilmiş piyasaya sunulmuş muz meyveleri.....	1
Şekil 1.2. Türkiye’de muz yetiştirilen iller ve ilçeler.....	2
Şekil 1.3. Türkiye’de muz üretimi, (a) Alanya’daki muz tarlaları, (bcd) Anamur’daki muz seraların dış ve iç görünüşü.....	3
Şekil 1.4. Dünyada muz yetiştiriciliği yapan ülkeler.....	4
Şekil 4.1. Muz rizomlarından eksplant elde edilmesi, (a) rizomun ilk hali, (b,c) rizomun dikey kesilmesi, (d.e) rizomların yatay kesilmesi (f) çalışmada kullanılan kısmın elde edilmesi.....	28
Şekil 4.2. Yüzey sterilizasyonu, (a) %100 çamaşır suyunda 25 dk sterilizasyon, (b) steril edilmiş eksplantların kültüre alınması	30
Şekil 4.3. Agar, pamuk veya isubgol ile katılaştırılan MS ortamlarında %100 çamaşır suyu muamelesi ile görülen fungus veya bakteri kontaminasyonlarının değişik görüntüleri, (abc) agar, (def) pamuk, (ghi) isubgol içeren ortamlardaki bakteri ve fungus bulaşıklarının görüntüleri.....	32
Şekil 4.4. Agar, pamuk veya isubgol ile katılaştırılan MS ortamlarında kararma görüntüleri, (abc) agar, (def) pamuk, (ghi) isubgol içeren ortamlardaki fenolik bileşikli eksplant görüntüleri.....	33
Şekil 4.5. Muz rizom eksplantlarının agar-ticari beyaz şeker içeren ortamlardaki sürgün rejenerasyonu, (a) kültüre aldıktan 2 hafta sonra, (b) 6 hafta sonraki görünüşü.....	35
Şekil 4.6. Eksplantların 0.2 mg/l IBA içeren agarlı MS ortamında agar üzerinde köklendirilmesi, (abc) karbon kaynağı olarak sukrozun köklenme ve adaptasyondaki etkisi, (def) karbon kaynağı olarak ticari beyaz şekerin köklenme ve adaptasyon üzerine etkisi	39
Şekil 4.7. Eksplantların 0.2 mg/l IBA içeren isobgollu MS ortamı üzerinde köklendirilmesi, (abc) karbon kaynağı olarak kullanılan sukrozun köklenme ve adaptasyon üzerine etkisi, (def) karbon kaynağı olarak ticari beyaz şekerin köklenme ve adaptasyon üzerine etkisi.....	40
Şekil 4.8. Eksplantların 0.2 mg/l IBA içeren pamuklu MS ortamı üzerinde köklendirilmesi, (abc) karbon kaynağı olarak kullanılan sukrozun köklenme adaptasyonun üzerine etkisi, (def) karbon kaynağı olarak ticari beyaz şekerin köklenme ve adaptasyonun üzerine etkisi.....	41
Şekil 4.9. 1 litre Agar, isubgol, pamuk, sukroz ve ticari beyaz şeker içeren ortamların (sabit masraflar hariç), fiyatları arasındaki farklılığın şematik olarak kıyaslanması.....	44

SİMGELER DİZİNİ

BAP	6 Benzylaminopurine
F	F testi
G, mg, g	gram, mili gram, mikro gram
IBA	İndol 3 butirik asit
K.O.	Kareler ortalaması
ml, µl	mili litre, mikro litre
mm	mili metre
MS	Murashige ve Skoog bazal besin ortamı
N	Normal
SD	Sapma değeri
V.K.	Varyasyon kaynakları

1. GİRİŞ

Ilıman ve tropik iklim kuşakları arasında yer alan ve Subtropik iklim kuşağında yetiştirilen meyvelerden birisi olan muzun ana vatanı Güney Çin, Hindistan ve Hindistan ile Avustralya arasında kalan adalardır. Muzu ilk kültüre alanların balıkçılar olduğu sanılmaktadır. Balıkçılar ağ yapmak için muzun yapraklarından yararlanmışlar ve bu şekilde muzun tarımına başlanmıştır (Kozak, 2006).

Muz bitkisi ülkemize ilk defa, 1750 yıllarında Mısır'la ilgisi olan zengin bir aile tarafından süs bitkisi olarak, Alanya'ya getirilmiştir. O yıllarda daha çok süs bitkisi (Şekil 1.1 a-b) olarak yetiştirilen muzun meyve verdiğinin görülmesi üzerine, 1930'lu yıllardan sonra meyvesi için ticari amaçla yetiştirilmeye başlanmıştır (Şekil 1.1 c-d).



Şekil 1.1. Muz bitkisinin değişik kullanım alanları, (a-b) bahçelerde süs bitkisi olarak kullanımı, (c) meyve veren muz ağacı, (d) hasat edilmiş piyasaya sunulmuş muz meyveleri

Muz ülkemizde, Akdeniz Bölgesi'nin kıyısında hafif don olaylarının görüldüğü Manavgat'tan Alanya, Bozyazı, Gazipaşa ile Anamur ve çevresine kadar uzanan 200 km.'lik Toros dağlarının koruduğu çok sınırlı alanlarda yetiştirilmektedir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Türkiye’de muz yetiştirilen iller ve ilçeler

Bu kıyı şeridi Türkiye de muz üretimi için doğru iklim koşullarına sahip tek yerdir. Alanya ve Anamur’un iklim koşulları Çizelge 1.1’de gösterildiği gibi hemen hemen aynıdır.

Çizelge 1.1. Alanya ve Anamur ilçelerinin sıcaklık ve güneşlenme süreleri (Devlet meteoroloji Enstitüsü, 2006)

Meteoroloji verileri	Alanya	Anamur
Ortalama sıcaklık (°C)	19.31	19.0
En yüksek sıcaklıkların ortalaması (°C)	23.87	23.91
En düşük sıcaklıkların ortalaması (°C)	15.44	14.81
Ortalama güneşlenme süresi (saat)	7.56	8

Muz, nemli bir iklim ve bol suya ihtiyaç duyan oldukça hassas bir bitkidir. Ülkemizde kış yaklaşırken hava koşulları dengesizleşmeye başladığından muz

ağacını korumak amacıyla ağaçların etrafına naylon geçirilir. Ülkemizde muz üretimi hem açık alanlarda hem de seralarda yapılmaktadır (Şekil 1.3). Açık halde senede bir kere ve seralarda senede iki kere muz ürünü elde edilmektedir. Bu alanlarda *Musa Cavendish* dediğimiz bodur muz yaygın olarak üretilmekle beraber, bazı yörelerde Grand Nain, Gross Micheal ve Williams çeşitlerinin üretimi de yapılmaktadır (Kozak, 2006). Muz yılda iki kez hasat edilebilmekte ve bir muz ağacından her hasatta ortalama 75 kilo muz alınabilmektedir.



Şekil 1.3. Türkiye’de muz üretimi, (a) Alanya’daki muz tarlaları, (b-c-d) Anamur’daki muz seralarının dış ve iç görünüşü

Muz besin değeri yüksek olan bir meyvedir. Muzun soyulup dilimlenmiş taze meyvesinin 100 gramında, 92 kkalori enerji, 1,03 g protein, 23.43 g karbonhidrat; 0,315 g yağ, 6 mg. Kalsiyum 0,31 mg. demir, 1 mg. sodyum, 396 mg. potasyum, 81 IU A vitamini, 0,045 mg. B1 vitamini (tiamin), 0,1 mg B2 vitamini (riboflavin), 0,540 mg. B3 vitamini (niacin), 9,1 mg. C vitamini bulunmaktadır (NAL, 2007). Sağlık açısından muzun içindeki potasyum beyin gıdası, B6 vitamini stres

giderici, gastrit ve ishal tedavisinde etkili karbonhidrat açısından ise yüksek enerji içeriğinden dolayı özellikle sporcular için iyi bir enerji kaynağıdır.



Dünyada muz üretimi en fazla Asya kıtası ülkelerinde yapılmakta olup bu kıtayı sırasıyla Güney Amerika, Orta Kuzey Amerika, Afrika, Okyanusya ve Avrupa ülkeleri izlemektedir (Şekil 1.4). (FAO, 2006).



Şekil 1.4. Dünyadaki muz yetiştiriciliği yapan ülkeler

Dünyada en fazla muz üretimi Hindistan, Brezilya ve Çin'de yapılmaktadır (Çizelge 1.2). Dünya sıralamasında Türkiye çok geride yer almaktadır. Türkiye'deki muz üretimi ve verimi ile kaliteyi artırabilmek, ihraç yapabilmek için ciddi çalışmalara ve çabalara gerek duyulmaktadır.

Çizelge 1.2. Dünyada yüksek muz üretimi yapan ülkelerin 2005 yılına göre sıralamaları (FAO, 2006).

Sıralama	Ülke	Üretim (Milyon ton)
1	 Hindistan	16.8
2	 Brezilya	6.7
3	 Çin	6.4
4	 Ekvador	5.9
5	 Filipin	5.8
6	 Endonezya	4.5
7	 Kosta Rika	2.2
8	 Meksika	2.0
9	 Tayland	2.0
10	 Kolombiya	1.6
Dünyada Toplam		72.5

Dünyadaki en fazla muz üreten ilk 10 ülkenin toplam üretimi, dünya muz üretiminin % 74.3'ünü temsil etmektedir. Kosta Rika, Tayland gibi ülkeler hariç diğer başlıca üretici ülkeler, zaman içinde üretimlerini arttırmışlardır. Hindistan, Brezilya, Çin ve Ekvador gibi ülkeler yalnız başlarına dünyadaki toplam muz üretiminin yarısını gerçekleştirmektedirler. Türkiye muz üretimi açısından dünya sıralamasında çok geride kalmasına rağmen 2001 yılı verilerine göre Türkiye'nin 400 kg/ha olan muz verimi, 156 kg/ha olan dünya ortalamasının çok üzerindedir. Türkiye, dünyada Kosta Rika ve İspanyadan sonra muz veriminde 3. sırada yer almaktadır.(Kozak, 2006)

Türkiye'de 1992 ve 1993 yılları hariç 2000 yılına kadar muz üretimi yaklaşık 30–35 bin ton civarındadır. 1992 ve 1993 yıllarında muz ithalatın artması nedeniyle üretimde düşüş gözlenmiştir, 1999 yılından sonra ise, muz dikim alanlarının örtü altına alınması ve kontrollü ithalatın sağlanması için uygulanan kontrol belgesinden dolayı muz üretiminde bir artış gözlenmiştir (Çizelge 1.3). Muz üretimi 1994 de 12.00 ha alanda 30.000 ton iken, 2001 yılında 1875 ha alanda 75.000 tona ulaşmıştır.

Türkiye’de her yıl ortalama 35.000-40.000 ton muz üretilmektedir. Bu miktar ülke içindeki pazar talebini dahi karşılamaya yeterli değildir.

Çizelge 1.3. Türkiye’de 1991-2001 yılları muz üretimi, miktarı(ton), dikim alanı (ha) ve verimi (kg/ha) (FAO, 2006).

Yıllar	Üretim (bin ton)	Dikim Alanı (ha)	Verim (kg/ha)	İthalat miktarı (bin ton)
1991	35	1309	267	86
1992	20	1132	177	95
1993	18	1080	166	155
1994	30	1200	250	66
1995	34	1150	300	87
1996	33	1165	283	97
1997	28	1190	235	111
1998	32	1193	268	123
1999	34	1227	278	151
2000	64	1725	371	125
2001	75	1875	400	4

FAO, 2006

Ülkemizin yıllık muz tüketimi ise 400.000 ton civarındadır (FAO, 2006). Çizelge 1.4’te görüldüğü gibi azda olsa 1998 den 2005’e kadar Almanya, Irak, Kanada, İran, Malta, Panama gibi ülkelere muz ihracı yapılmıştır. Aynı zamanda 1998-2005 yıllarında ihtiyaçlarımız Çizelge 1.5’te belirtilen Fransa, Türkmenistan, Ekvator Gine, Meksika, Kosta Rika, Panama, Kolombiya, Ekvador, Filipin ve İngiltere’den karşılanmıştır.

94 - 2005 yılları itibarıyla ülkemizdeki muz ihracatı miktarları (ton) ve değerleri (1000 \$)

Ülkeler		Almanya	Antigua- Bermuda	Fransa	Gürcistan	Irak	Iran	İtalya	Kanada	Liberiya	Malta	Norveç	Panama	Romanya	Diğerleri
1999	Ton	0.6													
	USD	2.199													
2000	Ton	20													
	USD	25.940													
2001	Ton								21						0
	USD								21.963						0
2002	Ton		0.04	0.1			0.06	0.04		0.04	0.14	0.02	0.02		51
	USD		64	16			104	52		63	234	30	32		111.509
2003	Ton														0
	USD	0.7													0
2004	Ton	2.001				58									3
	USD					105.220									1730
2005	Ton	7			0.6	0.4									0.96
	USD	18.112			1.134	108.824									1.649
2005	Ton					1.5								3	8.5
	USD					3.154								6.680	17.173

98 - 2005 yılları itibarıyla ülkemizdeki muz ithal miktarları (ton) ve değerleri (1000 \$)

Ülkeler		İngiltere	Filipino	Ekvador	Kolombiya	Panama	Kosta Rika	Meksika	Ekvador Gine	Türkmenistan	Fransa
1998	Ton			17.749			2.325	929			0.1
	USD			6.457,88			921.030	367.449			41
1999	Ton			25.266			7.647		95		
	USD			9.059.990			3.021.003		36.869		
2000	Ton			20.091		194	2.231			1.2	
	USD			7.748.794		7.000	873.081			240	
2001	Ton		657	5.828			600				
	USD		260.494	2.287.490			231.750				
2002	Ton			9.710							0.6
	USD			3.776.100							4.311
2003	Ton		320	14.377			663				
	USD		125.955	5.600.261			259.346				
2004	Ton	3	37	16.921	120	254					
	USD	40.759	15.627	6.510.269	49.926	105,3					
2005	Ton		268	682	556						
	USD		88.124	287,74	243,06						

1.2. Bitki Doku Kültürü

Çoğu bitkiler; izole edilmiş bir sürgün, kök, yaprak, çiçekler ve hatta organize olmamış kallus gibi dokulardan bütün bir organizmayı rejenerasyon edebilme kapasitesine sahiptirler (Gönülşen ve Özcan, 1987). *In vitro*'da hücre ve dokulardan sürgün rejenerasyonunu başarabilmek için uygun eksplantın seçilmesi, büyümede aktif maddeleri içeren uygun ortamın belirlenmesi ve fiziksel çevre koşullarının uygun olması gerekmektedir (Murashige, 1974; Evans ve ark., 1981).

Doku kültüründe en çok kullanılan temel ortam Murashige ve Skoog (1962)'un geliştirdiği besin ortamıdır. Bitki rejenerasyonunda kullanılan besin ortamları bitki büyümesi için gerekli olan makro ve mikro elementler ile enerji kaynağı olarak şeker içerir. Bu besin ortamları agar ilave edilerek katılaştırılır. Besin ortamına eklenen bitki büyümesi düzenleyicileri de bitki rejenerasyonunda en önemli faktörlerdir.

Doku kültürü tekniklerini kullanarak yapılan çoğaltım (mikro üretim) pahalı olmasına karşın, kısa sürede fazla sayıda bitki ekonomik olarak elde edilebilmektedir. Hızlı çoğaltımın kullanıldığı alanlar;

- Bu teknikle bitkilerin *in vitro* şartlarda kısa bir sürede, fazla sayıda çoğaltılabilmesi mümkün olmaktadır. Bu sayede ekonomik önemi olan pek çok bitkinin kısa bir zamanda ticari amaçlara uygun miktarda çoğaltılması başarılabilmektedir.
- Virüs ve diğer sistemik hastalıklar, vejetatif çoğalma yoluyla bitkiden bitkiye kolaylıkla geçmektedir. Bu tip hastalıklar, ürünün kalitesini ve miktarını olumsuz yönde etkilemektedir. Yine bu teknik sayesinde, hastalıklardan arındırılmış olan stoklardan üretim mümkün olabilmektedir.
- Bu teknikle yıl boyu üretim yapılabilmektedir.

- Kültür aşamasında olan bitkiler kolaylıkla ülkeler arasında transfer edilebilmektedir.

1.3. Muz Doku Kültürünün Avantajları

Ticari olarak üretimi yapılan bir çok triploid muz klonunun partenokarp olması nedeniyle çoğaltılmaları vejetatif olarak yapılmaktadır (Gowen, 1995). Ülkelere göre değişmekle birlikte, klasik yolla vejetatif çoğaltma tekniğinde üretim materyali olarak rizom, rizom parçaları ve yavru bitki kullanılmaktadır. Fakat bu teknik ile çoğaltımda bir yılda bir yavru bitkiden ancak 8-10 fidan elde edilebilmekte, bu sayı daha sonraki yıllarda daha da azalmaktadır (Berril, 1960). Klasik çoğaltma tekniğinde 1 hektar alandan ancak 8 hektar muz plantasyonun tesisine yetecek kadar muz fidanı üretilebilmektedir. Ayrıca klasik çoğaltımda kullanılan üretim materyalleri homojen olmamakta ve bunların hastalık ve zararlılarla bulaşık olma riskide oldukça yüksek olmaktadır. Bu nedenle son yıllarda Kosta Rika, Kolombiya, Avustralya, İsrail ve Tayvan gibi ülkelerde klasik çoğaltma tekniklerinin yerini doku kültürü ile çoğaltma tekniği almıştır. Doku kültürü ile çoğaltma tekniğinin diğer vejetatif çoğaltma tekniklerine göre birçok avantajlı yönleri bulunmaktadır. Bunları kısaca şöyle sıralayabiliriz (Arias, 1992).

- 1- Çok kısa zamanda hastalık ve zararlılardan arındırılmış çok sayıda homojen materyal üretilebilmektedir.
- 2- Doku kültürü ile çoğaltılan bitkilerde en az 5 yıl nematod bulaşmamakta ve bu durum üreticilerin girdi maliyetini azaltmaktadır.
- 3- Doku kültürü ile çoğaltılan bitkiler arazi koşullarında % 98 yaşama şansına sahiptirler. Bu bitkiler yavru bitkiler ile çoğaltılanlara göre daha kısa zamanda hevenk oluşturmakta ve hevenk oluşumundan derime kadar geçen süre daha kısa olmaktadır.
- 4- Fidan maliyeti yavru bitkilere göre daha ucuz, çoğaltılması ve taşınması daha kolaydır.
- 5- Gen kaynaklarının muhafazası ve transferi, ıslah ve biyoteknolojik çalışmalar açısından da büyük avantaj oluşturmaktadır.

1.4. Tezin Amacı

Türkiye’de ekonomik önemi yüksek olan bitki türlerine yönelik doku kültürü çalışmaları son yıllarda hız kazanmıştır. Klasik muz çoğaltımında kullanılan üretim materyalleri homojen olmamakta ve bunların hastalık ve zararlılarla bulaşık olma riski de oldukça yüksek olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı muz çoğaltımında doku kültürü ile çoğaltılmış fideler yavaş yavaş çiftçilerin büyük ilgisini çekmektedir. Ancak maliyeti yüksek olan bu fideler tüm çiftçiler tarafından kullanılmamaktadır. Bu sorunun muz doku kültürü teknolojisindeki gelişmeler ile çözülebileceği düşünülmektedir. Doku kültürü ile çoğaltılan bitkiler üreticilerin girdi maliyetini azaltmakla beraber, yavru bitkiler ile çoğaltılanlara göre daha kısa zamanda hevenk oluşturmakta ve hevenk oluşumundan derime kadar geçen süre daha kısa olmaktadır. Bu çalışmanın amacı dünya’da ve ülkemiz’de ekonomik değere sahip *Musa sp.* bitkisine ait klonların doku kültüründe farklı maddeler kullanılarak üretilmesi ve farklı maddeler kullanarak doku kültürü çalışmalarında ucuz yöntemlerin geliştirilmesidir. Bunun için ortam katılaştırıcı madde olarak kullanılan ve oldukça pahalı olan agar yerine daha ucuz olan pamuk ve isubgolun kullanılması ve karbon kaynağı olarak kullanılan ve pahalı olan sukrozun yerine ticari beyaz şekerin kullanılarak bitki üretiminin maliyetinin düşürülmesi amaçlanmaktadır. Elde edilen bulgular teknolojinin gelişmesine yardımcı olacak ve aynı zamanda yurt dışına giden döviz miktarını da azaltacaktır.

1. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Berg ve Bustamenta (1974), Dwarf Cavendish muz klonunda hıyar mozaik virüsü ile hasta olan bitkilere önce termoterapi uygulaması yapmışlar ve eksplant olarak lateral tomurcuklardan elde ettikleri sürgün uçlarını kullanmışlardır. Eksplantları önce Knudson (1946) ortamına, daha sonra sitokinin içeren çoğaltma ortamına ve en son olarak da 5.4 µM NAA içeren köklenme ortamına transfer etmişlerdir. Araştırmacılar sonuçta, meristem kültürü tekniğini kullanarak hıyar mozaik virüsünden arı bitki elde etmişlerdir.

Bower ve Fraser (1982), Williams muz klonu üzerinde yaptıkları araştırmada, birkaç yaprak primordiyumu içeren meristemleri 340 mg/l NaH₂PO₄, 160mg/l adenin sülfat, 200mg/l L-tyrosine ve 0.4 mg/l thiamin, %3 sukroz ve %0.8 agar içeren Murshige ve Skoog (MS) ortamına transfer ederek çok sayıda sürgün elde etmişlerdir. Araştırmacılar, çoğaltma ortamında bitki düzenleyici olarak 5 mg/l kinetin, köklendirme ortamında ise 2 mg/l IBA kullanmışlardır.

Dore-Swamy ve ark., (1983), Robusta muz klonu üzerinde yaptıkları çalışmada, eksplant olarak bu klona ait yavru bitkileri kullanmışlardır. Yavru bitkileri araziden söktükten sonra deterjan (Teepol) ile yıkayıp durulamışlardır. Daha sonra yaşlı yaprakları ve rizomları keskin bir bıçak yardımıyla 2.5-3.0 cm'lik bir parça kalıncaya kadar küçülterek 15-20 dakika çamaşır suyu içeren bir çözelti içerisinde yüzey sterilizasyonuna tabi tutmuşlardır. En son olarak da eksplantlar 3 defa steril saf sudan geçirdikten sonra bir kısmı 1 yaprak primordiyomu, bir kısmı ise 6-8 yaprak primordiyumu içerecek şekilde MS ortamına transfer etmişlerdir. Bu besi ortamına ayrıca % 2 sukroz, % 0.8 agar, bitki düzenleyicisi olarak ise değişik konsantrasyonlarda BA, kinetin, NAA ve IBA ilave ederek, ortamın pH'sını 5.8'e ayarlamışlardır. Büyüme odalarında sıcaklık 25 °C, ışık şiddeti ise 950-1000 lux olacak şekilde ayarlamışlardır.

Hwang ve ark., (1984), Giant Cavendish muz klonu üzerinde yaptıkları çalışmada, patojenlerden arı bitki materyali elde etmek için meristem kültürü tekniğini kullanmışlardır. Çalışmada lateral tomurcukları Smith ve Murashige (1970) kültür ortamına transfer etmişlerdir. Bu ortama ayrıca 0.4mg/l thiamin-HCl, 100 mg/l L-tyrosine, 100 mg/l myo-inositol, 0.4 mg/l IAA, 2 mg/l kinetin, 160 mg/l adenin sülfat, 30g/l sukroz ve 8 g/l Difco Bacto agar ilave etmişlerdir. Köklendirme aşamasında ise bu ortama sadece 1g/l aktif kömür ilave etmişlerdir. Kültürler 28 °C sıcaklık ve 2200 lux ışıktaki inkübe ederek ve 4 hafta aralıklarla alt kültüre almışlardır.

Jarret ve ark., (1985), Saba ve pelipita muz klonları üzerinde yaptıkları çalışmada, eksplant olarak rizom ve değişik boylardaki yavru bitkiler kullanmışlardır. Dezanfeksiyon sırasında eksplantlar çamaşır suyunun %0.5-10 ve Ca(OCl)₂'nin %0.1'lik konsantrasyonlarında 10 dk bekletmişlerdir. Daha sonra eksplantları 3 defa steril saf sudan geçirip, mikroskop altında 1-2 yaprak primordiyumu içerecek şekilde küçültmüşlerdir. Çalışmada temel MS ortamı kullanmışlar ve bu ortama farklı tip ve konsantrasyonlarda bitki düzenleyicileri ilave etmişlerdir. Birinci ortamda, temel MS ortamına 3 mg/l BA ve 1 mg/l IAA, ikinci ortamda sadece BA'nın değişik konsantrasyonlarını (0, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5 ve 10mg/l), üçüncü ortamda ise sadece %0.1 oranında aktif kömür kullanmışlardır.

Cronauer ve Krikorian (1985), Dwarf Cavendish muz klonu üzerinde yaptıkları çalışmada, eksplant olarak erkek çiçeklerin büyüme noktalarını kullanmışlardır. Eksplantlar başlangıçta % 2 çamaşır suyu çözeltisinde 5 dakika bekletmişler ve bu çözeltiliye ayrıca Tween 20 ilave etmişlerdir. Besi yeri olarak temel MS ortamının kullanıldığı çalışmada, ortama ayrıca 5.55 µM myo-inositol, 2.97 µM thiamin- HCl, 0.12 M sukroz, %10 hindistan cevizi suyu ve 22.0 µM BA ilave etmişlerdir. Kültürleri iki ay sıvı ortamda bekletmişler ve daha sonra yarı katı ortama transfer etmişlerdir. Yarı katı ortama transfer edilen eksplantları, her iki haftada bir alt kültüre almışlardır. Köklenme aşamasında, temel MS ortamına bitki büyüme düzenleyicisi olarak 5.5 µM NAA ve ayrıca % 0.025 aktif kömür ilave etmişlerdir.

Wong (1986), 22 farklı muz klonu üzerine yaptığı çalışmada, eksplant olarak bu klonlara ait 15 cm. boyundaki yavru bitkileri kullanmıştır. Yavru bitkilerin dış

yapraklarını keskin bir bıçak yardımı ile temizleyerek, 10 X 15 mm. büyüklüğünde küçültmüştür. Daha sonra eksplantları çamaşır suyu içerisinde 15 dk. bekletmiştir. Eksplantları en son olarak 1-2 yaprak primordiyumu içerecek şekilde ortadan ikiye bölerek MS ortamına transfer etmiştir. Eksplantların büyüme ve gelişme aşamasında, 5 mg/ l BAP ve 0.1 mg/l IBA kullanmıştır. Çoğaltma ve köklendirme aşamalarında ise bitki büyüme düzenleyicisi olarak BA ve kinetinin 5 farklı konsantrasyonunu denemiştir. Besi ortamına sitokinin ilave edilmediği zaman eksplantlarda çoğalma saptanmamıştır. Ayrıca çoğalma oranı, BA içeren MS ortamlarında kinetinden daha yüksek olarak gerçekleşmiştir. Klonların çoğalma oranı, çok yüksek sitokinin içeren ortamlarda (10-15mg/l) daha düşük olarak gerçekleşmiştir. BA'nın 10-15mg/l konsantrasyonları köklenme üzerinde inhibitör etkisi oluştururken, kinetinin kök oluşumu üzerine etkisinin BA'dan daha fazla olduğunu bulmuştur.

Jarret (1986), tarafından yapılan çalışmada, sürgün ucuna zarar verilmeden yavru bitkilerden alınan eksplantların dış yaprakları temizlenmiş ve kübik bir şekle getirilmiştir. Eksplantları önce 10-15 saniye %96'lık alkolde ve daha sonra 15-30 dakika %15'lik CaOCl 'de bekletmiştir. Sonra eksplantları temel besi ortamına transfer etmiştir. Temel ortama bitki düzenleyicisi olarak, 0.1 mg/l IAA ve 0.2 mg/l BA ilave etmiştir. Bu besi ortamında bir kaç hafta bekletilen eksplantlarda yeşerme ve irileşme olduğunu gözlemlemiş ve daha sonra bu kültürleri çoğaltma ya da köklendirme ortamına transfer için kullanmıştır. Kültürleri 27-30°C sıcaklık, 12-16 saat aydınlık ve 1000-3000 lux ışık şiddeti altında büyötmüştür.

Novak ve ark., (1986), muzların sürgün ucu ile çoğaltılmasında eksplant olarak yavru bitkileri kullanmışlardır. Eksplantları sterilizasyon aşamasında %2.1 çamaşır suyunda 40 dakika bekletmişlerdir. Sonra eksplantları 2-4 yaprak primordiyumu içerecek şekilde küçültmüşler ve elde edilen sürgün uçlarını gerçek gövdenin 2-3 mm'lik kısmı ile birlikte 50mg/l sitrik asit, 40mg/l askorbik asit ve %0.525 çamaşır suyu içeren çözeltide 10 dakika bekletmişlerdir. Daha sonra eksplantları steril saf sudan geçirip, 5 µM IAA ve 10 µM BA içeren temel MS ortamına transfer etmişlerdir. Kültürleri 28 °C sıcaklık, 16 saat aydınlık ve 2000 lux ışık şiddetinde büyötmüşlerdir. Kültür ortamında 21 gün bekletilen eksplantları daha

sonra ortadan ikiye bölerek 20 µM BA içeren sıvı MS ortamına transfer etmişlerdir. Kültürleri Rotary Shaker üzerine (30 devir dakika) yatay olarak yerleştirmişler ve 20 gün aralıklarla alt kültüre almışlardır. Köklendirme aşamasında temel MS (1/2) ortamına 1 µM IBA ilave etmişler ve köklenen bitkicikleri adaptasyon için seraya aktarmışlardır.

Banarjee ve ark., (1986), tarafından yapılan çalışmada, doku kültüründe kullanılacak eksplantları 20-40 mm büyüklüğünde küçültmüşler ve daha sonra 15-30 saniye alkolde tuttuktan sonra 20 dakika %1.5' lik kalsiyum hipoklorit çözeltisi içerisinde bekletmişlerdir. Ardından eksplantları 3 defa steril saf sudan geçirmişler ve sonra yaprak primordiyumu içerecek şekilde temel besi ortamına transfer etmişlerdir. Bu ortama ayrıca %3 sukroz, 2.0 mg/l glycine, 0.4 mg/l thiamin -HCl, 0.5 mg/l nikotinic asit, 0.5 mg/l pyridoxin, %0.45 agar (oxide) ve dokulardaki polifenol oksidasyonunu önlemek için 10 mg/l askorbik asit ilave etmişlerdir. Meristemlerin büyüme ve gelişme aşamasında bitki düzenleyici olarak 1 µM IAA ve 1 µM BAP kullanırlarken, çoğaltma aşamasında 10 µM BAP, köklendirme aşamasında ise 1 µM IBA kullanmışlardır. Köklendirme aşamasında ise MS ortamını yarı oranda kullanmışlar ve bu ortama 1 µM IBA ilave etmişlerdir.

Rodriguez-Enriquez ve ark., (1987), Dwarf Cavendish muz klonu üzerinde yaptıkları çalışmada, eksplantların büyüme ve gelişme aşamasında ortam olarak MS ve bu ortama ilave olarak %0.6 agar ve 10^{-7} g/ml BA kullanmışlardır. Çoğaltma aşamasında ise MS ortamına ilave olarak % 0.6 agar, $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml BA, 10^{-8} g/ml NAA kullanmışlar ve bu ortamın çoğaltım bakımından en iyi sonucu verdiğini görmüşlerdir.

Fitchet ve Winnaar (1988), Dwarf Cavendish ve Williams muz klonlarında en uygun dezenfektan madde tipi ve besi ortamlarını saptamak amacı ile yaptıkları çalışmada, 5 farklı dezenfektan madde ve 3 farklı besi ortamının eksplantların dezenfeksiyonu ve gelişme durumları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yüzey sterilizasyonu için 20'şer eksplanta, %10 Ca(OCl)₂, %2 NaOCl, %1 H₂O₂ veya %1 A_gNO₃ kullanmışlardır. Çalışma başlamadan önce eksplantları musluk suyu ile

yıkamışlar ve daha sonra %2' lik NaOCl ile 20 dakika karıştırarak yüzey sterilizasyonu yapmışlardır. Steril edilmiş eksplantları kültüre almadan önce steril saf su ile duruladıktan sonra bu explantları kültüre almışlardır. Kültür ortamına aldıkları eksplantlarda 30 gün sonra, kahverengileşmiş ve kontaminasyona uğramış eksplant sayıları ile temiz eksplant sayılarını belirlemişlerdir. En az bulaşıklığı %10 'luk Ca(OCl) muamelesi ile elde etmişlerdir. Bu çalışmada Dwarf Cavendish muz klonunda BM3 ortamını (MS, 340 mg/l NaH₂PO₄, 200 mg/l L-tyrosine, 160 mg/l adenin sülfat, 2 mg/l IBA, 2 mg/l NAA ve 5 mg K), Williams muz klonunda ise BM2 (MS, 0.1 mg/l BA, 5mg/l BA) ve BM3 ortamlarını klonal çoğaltma için en uygun besi ortamı olarak belirlemişlerdir.

Drew ve ark., (1989), Cavendish alt grubuna giren Mons Mori muz klonu üzerinde yaptıkları çalışmada, bunchy top virüsü (BBTV) ile bulaşık yavru bitkiler ve çiçeklerin büyüme noktalarından aldıkları eksplantları, 2 mg/l IAA, 2 mg/l kinetin, 30 g sukroz ve 8 g agar içeren MS ortamına transfer etmişlerdir. Kültürleri, 25 °C sıcaklık, 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık ortamda büyütmüşlerdir. Meristem kültürü ile çoğaltılan bitkileri 16 ay sonra toprağa transfer etmişlerdir. Toprağa transfer ettikleri bitkilerin bir kısmında, 1 ay sonra semptom görülmesine rağmen, daha ileri aşamada arazi koşullarında hastalık semptomlarına rastlamamışlardır.

Alvard ve ark., (1993), muz üretiminde kullanılan 4 farklı sıvı ortamı, yarı katı ortam ile kıyaslamışlardır. Araştırma sonucunda, en yüksek çoğalmayı (5 adet) ve kuru madde miktarını, yarı sıvı ortama transfer edilen eksplantlarda saptamışlardır. Araştırmada besi yeri olarak MS ortamı kullanmışlar ve bu ortama bitki düzenleyicisi olarak 8.9 µM BA ilave etmişlerdir. Kültürleri 28°C ve 12 saat aydınlık ortamda inkübe etmişlerdir.

Israeli ve ark., (1995), eksplantları önce 2.5x2.5x5.0 cm boyutunda küçültüp çamaşır suyu ile yüzey sterilizasyonuna tabi tuttuktan sonra, tekrar 5x5x5 mm küçülterek ortadan ikiye bölüp MS ortamına transfer etmişlerdir. Meristemlerin büyüme ve gelişme aşamasında bitki düzenleyicisi olarak 5 mg/l BAP, 2 mg/l IAA

kullanmışlardır. Ortamlara ayrıca 7 g/l agar ve 30 g/l sukroz ilave etmişlerdir. Kültür odalarının sıcaklığını $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2'$ ye ayarlamışlar, oransal nemi ise %60-70 civarında tutmuşlar ve kültürleri 1000-3000 lux ışık şiddeti altında 16 saat aydınlık ortamda bekletmişlerdir.

Sharma ve ark., (1996), Dwarf Cavendish muz klonunda eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından en uygun bitki düzenleyicisi konsantrasyonlarını saptamak amacıyla yaptıkları çalışmada, eksplantların büyüme ve gelişme aşamasında temel MS ortamına 8 mg/l BAP, 4 mg/l IAA ve 200 mg/l hemisülfat, çoğaltma aşamasında ise 10 mg/l BAP, 4 mg/l IAA ve 200 mg/l hemisülfat ilavesinin en iyi sonucu verdiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar köklenme aşamasında 1 mg/l IAA ve IBA kullanmışlardır. Başarılı bir köklenme için ise $\frac{1}{2}$ MS ortamına, 1 mg/l IAA veya IBA ve ayrıca %0.025 oranında aktif kömür ilavesini tavsiye etmişlerdir.

Reuveni ve Golubowicz (1996), doku kültürü ile yaptıkları çalışmada kinetin, BAP, ansimedol kullanımının muzların çoğaltılması oranı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. MS temel ortamının kullanıldığı çalışmada, 5 mg/l kinetin ve 0.1-0.2 mg/l ancymedol kullanımının eksplantların daha bodur yapıda büyümelerine neden olduğunu saptamışlardır. MS temel ortamına 5 mg/l BAP ilavesinin ise eksplantlarda çok sayıda sürgün oluşumunu sağladığını belirlemişlerdir.

Silayoi ve ark., (1997), tarafından yapılan çalışmada, klon olarak Hachuchu, Grand Nain, Dwarf Cavendish ve Gros Michel muz klonları, ortam olarak ise MS ortamı ve bu ortama ilave olarak 1.3-5 mg/l BA kullanmışlardır. Eksplantları ikiye bölerek kültüre almışlardır. Araştırmada, BA konsantrasyonlarının ve eksplantların ortadan bölünmesinin çoğalma süresi ve varyasyon üzerine etkisi araştırmışlardır.

Drew ve Smith (1990), New Guinea Cavendish muz klonu üzerinde yaptıkları çalışmada kallus ve meristem kültürü ile çoğaltılmış fidanlar ile klasik yolla çoğaltılmış (lateral tomurcuk içeren rizomlarla) fidanları, arazi koşullarında havenk oluşturmalarını kıyaslamışlardır. Araştırma sonucunda, doku kültürü ile çoğaltılan fidanların klasik yolla çoğaltılanlara göre arazi koşullarında daha hızlı büyüdükleri,

erken hevenk oluşturdukları ve kısa sürede derime geldiklerini saptamışlardır. Ayrıca doku kültürü ile çoğaltılan bitkilerde hevenk ağırlığını ve aktif yaprak sayısını daha yüksek bulmuşlardır. Doku kültürü ile çoğaltılan bitkilerde, yavru bitki oluşumunun dikimden 8 ay sonra, klasik yolla çoğaltılan bitkilerde ise derimden 8 ay sonra başladığını gözlemlemişlerdir.

Smith ve Drew (1990), doku kültürü ile çoğaltılan Yeni Gine Cavendish muz klonuna ait bitkiler üzerinde yaptıkları çalışmada, en fazla karşılaşılan somaklonal varyasyonun bodurluk olduğunu ve bu bodurluğun Cavendish alt grubuna giren klonlarda yaygın olarak karşılaşılan bir sorun olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, bodur bitkilerde hevenk üzerindeki taraklar ve tarak üzerindeki parmakların oldukça küçük olduğunu saptamışlardır.

Israeli ve ark., (1991), doku kültürü ile çoğaltılan Williams, Grand Nain, Shai, Arnon, Nathan ve Red klonları üzerinde yaptıkları çalışmada, en fazla karşılaşılan somaklonal varyantları belirlemişlerdir. Araştırmacılar bu varyantları; bodurluk, ekstra bodurluk, mozaik benzeri semptom, renk değişimi, yaprak ayasında deformasyonlar, gövde de renk oluşumu, çiçeklenmede anormallikler ve parmaklarda yarılmalar olarak belirlemişlerdir.

Smith ve Hamil (1993), Cavendish alt grubuna giren ve doku kültürü ile çoğaltılan bazı muz klonlarında, bodur tiplerin erken dönemde teşhisi için bir metot geliştirmişlerdir ve 3 haftalık bir süre zarfında bodur bitkiler ile normal bitkileri birbirlerinden ayırt etmişlerdir. Araştırmada kriter olarak, bitki yüksekliğini, petiol uzunluğunu, yaprak sayısı uzunluğunu ve yaprak arası mesafeleri dikkate almışlardır. İncelenen kriterlerden bitki yüksekliği, petiol uzunluğu, yaprak ayası uzunluğu ve petiol-yaprak oranının, bodur bitkiler ile normal bitkilerin ayırımında en önemli kriterler olduğunu bildirmişlerdir. Bu ayırımı, bitkiler homojen ve kuvvetli büyüdüğü zaman daha da kolay gözlemlemişlerdir. Araştırma sonucunda ayrıca, bodur ve ekstra bodur tiplerde bu ayırımın zor olduğunu, buna karşın daha uzun boylu olan Williams, Yeni Gine Cavendish ve Grand Nain muz klonlarında ise daha da kolay olacağını saptamışlardır.

Khalil ve ark., (2002), Dwarf Brazilian (*Musa spp.* AAB grubu), in vitro rejenerasyonu için farklı bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu çalışmada olgunlaşmamış erkek çiçek tomurcuklarından primer somatik emriyo oluşumu için 1 mg/l biyotin, 100 mg/l malt, 100 mg/l glutamin 4 mg/l 2.4D, 1 mg/l IAA, 1mg/l NAA ve 30 g/l sukroz, jelleştirmek için ise 2.6 g/l phytegel kullanmışlar ve ortamın pH'sını 5.8'e ayarlamışlardır. Bu ortama MI adı vermişlerdir. MI ortamına, 200 mg/l casein hydrolysat ve 2 mg/l prolin ekleyerek eksplantlar ilk önce bu ortama aktarmışlardır. Daha sonra bu eksplantları %10 hindistan cevizi suyu içeren MS ortamına aktardıklarında yüksek oranda embriyogenik kallus ve sekonder somatik embriyo gözlemlenmişlerdir. Oluşturulmuş embriyoları ikinci kez 5 mg/l BAP içeren ½ MS ortamına aktarmışlardır. Daha sonra bunları 5 mg/l BAP içeren ortama aktarmışlardır. Oluşturulan sekonder embriyolardan MS ortamında bitkicikler oluşturmuşlardır. Bitkicikleri %0.1 aktif kömür 1 mg/l BAP ve 1 mg/l IAA içeren MS ortamında büyütmüşlerdir. Elde edilen bitkileri morfolojik olarak normal olduğunu gözlemlenmişlerdir.

Kodym ve Javier Zapata-Arias (1999), muz doku kültürü çalışmalarında güneş ışığı kullanarak hızlı çoğaltım yapmışlardır. Bu çalışmada *Musa acuminatae*'nin Grand Nain çeşidini güneş ışığında 0.1 µM IBA, 5 µM 2-iP, 40 mg l-1 cystein, %4 sukroz ve % 0.18 gelrite ile katılaştırılmış MS ve B5 ortamında çoğaltmışlardır. Sonuçta güneş ışığında, 23-30 °C de 16 veya 12 ışık fotoperiyoduna göre daha fazla sürgün oluştuğunu gözlemlenmişlerdir.

Madhulatha ve ark., (2004), yaptıkları çalışmada muz bitkisini 50 mg/l kinetin ve 50mg/l BAP içeren sıvıda 1 dakika bekletmişler ve daha sonra sürgün rejenerasyonuna bırakmışlardır. Aynı şekilde köklendirme için bitkileri 10 mg/l NAA ve 10 mg/l IBA içeren sıvı ortamında 1 dakika bekleterek köklendirmeye almışlardır.

Madhulatha ve ark., (2006), çalışmalarında değişik karbon kaynaklarının (sukroz, glukoz, fruktoz ve maniton) ve oksinlerin (IBA, NAA) muz üretimindeki etkisini araştırmışlardır. En fazla sürgün oluşumunu glukoz içeren ortandan elde

etmişlerdir. En fazla sürgün oluşumunu elde etmek için optimal ortama 30 g sukroz ve 30 g glukoz koymuşlardır. Benzer şekilde en fazla kök oluşumunu 2 mg/l IBA ve 2 mg/l NAA içeren ortamdan elde etmişlerdir.

Kodym ve Javier Zapata-Arias (2001), çalışmalarında muz üretiminde 13 değişik şeker çeşidi ve katılaştırmak için nişasta ve gelrite karışımı ile güneş ışığı kullanarak maliyeti % 90 düşürdüklerini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada değişik ülkelerden gelen 13 şeker çeşidi kullanmışlardır. En iyi sonucu beyaz ve kahverengi şekerden elde etmişlerdir. Çalışmada hem şeker kamışı hem de şeker pancarından elde edilen şekerleri kullanmışlardır. Denemelerde doğal ışıklarda çoğaltım oranının kontrollü ışıktaki çoğaltım oranlarına eşit ya da daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir.

Navarro ve ark., (1997), yaptıkları çalışmada *Musa acuminata ssp. Malaccensis*'in diploid ve triploid Grand Nain bitkilerinin olgunlaşmamış somatik embriyolarını ve erkek çiçek tomurcuk primordiyumları kullanarak somatik embriyogenesis elde etmişlerdir. Bu çalışmada somatik embriyogenesis için; 2.4.D, zeatin ve kinetin, bitki oluşumu için BAP ve IAA kullanmışlardır.

Ganapathi ve ark., (1992), çalışmalarında açılmamış muz uç meristemleri kullanmışlardır. Uç meristemlerini, %3 sodyum alginate ile kaplayarak değişik jelleştirici maddeler üzerinde kültüre almışlardır. Kaplanmış sürgün uçlarında, *in vitro* koşullarda rejenerasyon gözlemlemişlerdir. En fazla bitki oluşumunu White ortamında bulmuşlardır. Gelişen bitkicikleri toprağa aktarmışlardır.

Gübbük (1999), muz çalışmasında, Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan Dwarf Cavendish muz klonu ile Türkiye'de yetiştirilme şansı olan Grand Nain, Petit Nain, Poyo, Williams ve Basrai muz klonlarının meristem kültürü yöntemi ile yaptığı klonal çalışmasında rizomlar üzerinden yeni çıkan gözler ile 20-30 cm boyundaki yavru bitkileri en uygun eksplant materyalleri olarak belirlemiştir. En uygun eksplant alım zamanını ise Nisan ayı olarak saptamıştır. Eksplantların sterilizasyonunda %10'luk ticari çamaşır suyu kullanımının, kontaminasyon, eksplant sayısı ve

eksplantların büyümesi ve gelişmesi bakımından en iyi sonuç verdiğini belirlemiştir. Eksplantlarda, fenolik maddelerin oksidasyonunun engellenmesinde, kültür ortamlarına aktif kömür (AK) ilavesini diğer uygulamalardan daha başarılı bulmuştur. Eksplantların kültür ortamına direk olarak ya da ortadan bölündükten sonra transferlerinin kültürlerin büyüme ve gelişmesini önemli derecede etkilemediğini saptamıştır. Çoğaltma aşamasında BAP ve thidiazuron (TDZ) kullanımını, denenen tüm muz klonlarında zeatin ve kinetinden daha başarılı bulmuştur. Çoğaltma aşamasında kinetin kullanımının eksplantlarda aşırı derecede kök oluşumuna, zeatin kullanımının ise, eksplantlarda gerçek gövde oluşumunu engelleyerek az miktarda kök oluşumuna neden olduğunu saptamıştır. Çoğaltma aşamasında, 20 µM BAP ve 1 µM IAA, 1 µM TDZ ve 1 µM IAA, 20 µM BAP ve 1µM TDZ kombinasyonlarını en uygun çoğaltma ortamları olarak belirlemiştir. Köklendirme aşamasında ise MS ortamına sadece aktif kömür veya aktif kömürün 1 µM NAA ve IBA ile birlikte kullanımını en uygun köklendirme ortam olarak belirlemiştir. Ayrıca köklenme aşamasında, kültürlerin aydınlık ortamda büyütülmesini köklenme açısından daha başarılı bulmuştur. Denemeye alınan tüm muz klonlarında, meristemlerin büyüme ve gelişme aşamasından toprağa transferine kadar geçen süreyi 9 hafta, toprağa transferinden araziye dikim aşamasına kadar geçen süreyi ise yaklaşık 4 ay olarak saptamıştır.

Khan ve ark., (2001), yaptıkları çalışmada muzun ticari amaçla *in vitro* çoğaltımında sitokinin içeren MS ortamında pamuk lifleri, tahta rendesi, kağıt parçaları, testere talaşı ve agarın etkisine bakmışlardır. İncelenmiş destekleyici maddeler arasında pamuk liflerinin en etkili destekleyici maddesi olarak bulmuşlardır. Pamuk lifleri içeren ortamlarda bitkinin, 2 hafta sonra hazır hale ve agar içeren ortamlarda 6 hafta sonra hazır hale geldiğini gözlemlemişlerdir. Muz üretiminde pamuk lifleri kullanarak ucuz bitki üretimi yapmışlardır. Çalışmada çay şekeri ve sukrozu (Sigma) kullanmışlardır ve sürgün gelişmesinde her ikisinde de istatistiksel olarak bir farklılık görmemişlerdir.

Babbar ve Jain (1998), *Syzygium cuminii* bitkisinin *in vitro* tohum çimlenmesinde, adventif sürgün rejenerasyonunda, köklendirmede ve *Datura innoxia*

bitkisinin anter kültür çalışmasında, *Plantago ovata* bitkisinden elde edilen “isubgol” kabuğunu jelleştirici madde olarak kullanmışlardır. Tohum çimlenmesinde %1 sukroz içeren Knop ortamı kullanmışlardır. Adventif sürgün rejenerasyonu için epikotil eksplantları %4 sukroz ile 1 mg/l BAP içeren MS ortamında kültüre almışlardır. Elde edilen sürgünler 1 mg/l IAA ve %2 sukroz içeren Knop ortamında köklendirmişlerdir. *D. innoxia* anterlerini %2 sukroz içeren Nitsch ortamında kültüre almışlardır. Ortamları %0.9 agar ve %3 isubgol ile katılaştırmışlardır. Isubgol ve agar içeren ortamlarda istatistiksel olarak benzer sonuç elde etmişlerdir.

Tyagi ve ark., (2007), çalışmalarında, *Curcuma longa* cv Prathibha rejenerasyonunda %73 isubgol ve çay şekeri kullanarak maliyeti %73 düşürmüşlerdir. Çalışmalarının sonucunda agar- sukroz ve isubgol -çay şekeri içeren ortamlardaki sürgün rejenersayonunda herhangi bir farklılık gözlemlenmemişlerdir. RAPD ile 12 aylık bitkilerde genetik çeşitliliği incelemişlerdir. Ana bitkiler ile isubgol-şeker ve agar-sukroz içeren ortamlarda doku kültürü ile elde edilmiş bitkiler arasında önemli farklılık görmemişlerdir.

Bhattacharya ve ark., (1994), *Dendranthema grandiflora* bitkisinin çoğaltımı için *Metroxylon sagu*'dan elde edilen sago ve *Plantago ovata*'dan elde edilen isubgol, filtre kağıtları, naylon kumaşı, polysterene köpüğü, cam yünü kullanmışlardır. Tüm jelleştirici maddelerin ve matrislerin performansını, agar ile kıyaslamak mümkün olmuştur. En iyi matris olarak cam yünü bulmuşlardır. Agar (e.g. Sigma, purified agar, No. A. 7921)'a göre, isubgol ve sago ile maliyeti 1/10 ve 1/18'e kadar düşürmüşlerdir. Benzer şekilde agara göre matris maliyetlerini de düşürmüşlerdir. Sonuçta, agar yerine değişik ucuz katılaştırıcı maddelerin ve matrislerin kullanımının ekonomik olarak uygun olduğunu saptamışlardır.

Henderson ve Kinnersley (1988)'a göre doku kültüründe ortamı katılaştırmak için en çok agar kullanılmaktadır. Agar polisakkarit olup Pasifik ve Hint okyanusu ile Japon Denizin'de bulunan kırmızı alg Rhodophyceae'den elde edilmektedir. Gelidium, Acanthopeltis, Ceramium, Pterocladia ve Gracilaria generaları agar üretim için kullanılmaktadırlar. Agar stabil, şeffaf ve toksit etki yapmayan bir madde olup kültürlerde metabolizmaya karşı dayanıklı bir maddedir.

Merck Index (1996)'a göre Sigma agar (Type A) β -1,3, ve α -1,4 linked D ve L galaktoz ile zengindir ve % 70 agaroz, %30 agaropektin içermektedir.

Babbar ve Jain (1998)'e göre Isubgol % 30 musilaj içermektedir ve polisakariddir ve enzimatik faaliyetlere karşı dayanıklı olup iyi katılaştırıcı özelliklere sahiptir.

Laidlaw ve Percival (1950)'e göre isubgol ksiloz, arabinoz, galakturonik asit ve rhamnoz ile galaktoz içermektedir.

Sigma katalogu (1996)'na göre agar D-galaktoz ve 3,6- anhydrogalaktoz içeren agaroz ile 1,3-glycosidically linked D- galaktoz içeren agaropektinden oluşmaktadır.

Jacquet ve ark., (1982), bitki büyümesinin değişik aşamalarında *Gossypium arboreum* L., *G. barbadense* L., ve *G. hirsutum* L. pamuk liflerinde de nötr şekerler (glukoz, fruktoz, ve sukroz ve şeker fosfat (glukoz 6-fosfat, glukoz, 1-fosfat ve fruktoz 6-fosfat) bulunmuştur.

3. MATERYAL ve YÖNTEM**3.1. Bitki Materyali**

Çalışmada kullanılan Cavendish (AAA) tipi muz klonları Alanya ilçesindeki muz seralarından ve tarlalarından temin edilmiştir.

3.2. *Doku Kültürü Metotları***3.2.1. Büyüme ortamları ve kültür koşulları**

Denemelerde kullanılan ortamlarda MS mineral tuz ve vitaminleri (Murashige ve Skoog 1962, Çizelge 3.1) ile karbon kaynağı olarak % 3 sukroz, % 4 ticari beyaz şeker, katılaştırıcı madde olarak % 0.7'lik agar (type A, Sigma), % 1.5'luk isubgol (Marhaba laboratories Kot Lakhpat, Lahore Pakistan) ve % 5'lik (ağırlık: hacim) ticari pamuk (Sepa Mensucat San. Ticaret A.Ş.) kullanılarak 6 farklı MS ortamı hazırlanmıştır. Ortam hazırlığında bidistile saf su kullanılmış olup, MS ortamına 4.5 mg/l BAP ilave edilmiştir. Besin ortamının pH'sı 1N NaOH ya da 1N HCl kullanılarak 5.6-5.8'e ayarlandıktan sonra 1.2 atmosfer basınç altında ve 120°C'de 20 dakika tutularak sterilizasyon sağlanmıştır. Otoklavlandıktan ve besin ortamının sıcaklığı 45°C'ye düşürüldükten sonra ortama 0.2 mg/l filtre edilmiş steril IBA ve kararmayı önlemek için 0.2-0.8 mg/l askorbik asit ilave edilmiştir. Tüm kültürler, Phillips beyaz floresans ışığı (20.000 luks) altında 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyodunda 24 °C sıcaklıkta iklim dolabında (Sanyo Versatile Chamber) tutulmuşlardır.

Çizelge 3.1. MS* ortamında bulunan maddeler ve konsantrasyonları (mg/l)

Ortamda bulunan maddeler	Konsantrasyonu (mg/l)
<i>Makro Elementler</i>	
NH ₄ NO ₃	1650.000
KNO ₃	1900.000
CaCl ₂ .H ₂ O	440.000
MgSO ₄ .7H ₂ O	370.000
KH ₂ PO ₄	170.000
<i>Mikro Elementler</i>	
KI	0.830
H ₃ BO ₃	6.200
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.300
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.600
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.250
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.850
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.250
<i>Vitaminler</i>	
Myo-Inositol	100.000
Nicotinic Acid	0.500
Pyrotinic Acid	0.500
Thiamine-HCl	0.100
Glycine	2.000

* Murashige ve Skoog (1962)

3.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma, Aldrich firmalarından temin edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyicileri (BAP-IBA) uygun çözücülerde çözüldükten sonra istenilen miktar ve oranda stok solüsyonları hazırlanmıştır (Çizelge 3.2). Bitki büyüme düzenleyicilerinden BAP, ortamlar otoklavda steril edilmeden önce, IBA ise ortamlar otoklavda steril edildikten sonra besi ortamlarına ilave edilmiştir.

Hazırlanan bitki büyüme düzenleyicilerinin stok solüsyonları, +4°C'de 3 ay saklanmıştır.

Çizelge 3.2. Kullanılan hormon dozları ve çözücüleri

Bitki büyüme düzenleyiciler	Çözücü	Saklama koşulları (°C)
Oksinler IBA	%100'lük etanol	+4
Sitokininler BAP	1N NaOH	+4

3.4. *In Vitro* Çalışmaları

3.4.1. Muz bitkisinin yüzey sterilizasyonu

Muz rizomlarının yüzey sterilizasyonu için en yüksek başarının alınacağı en düşük dezenfektan dozu (bir rizom için) belirlenmeye çalışılmıştır. Yüzey sterilizasyonu amacıyla ticari çamaşır suyunun (Ace) %100' lük dozları, rizomlara oda sıcaklığında herbiri 3 farklı sürede (15 dakika, 20 dakika, 25 dakika) uygulanmıştır. Yüzey sterilizasyonundan sonra rizomlar steril saf su ile 5'er dakika 3 kez durulanmıştır. % 3 sukroz ve % 0.7 agar içeren MSO besi ortamına otoklavlandıktan sonra 0.2 mg/l askorbik asit ilave edilmiştir. Steril edilen rizomlar bu ortama ekilerek 24 ± 2 °C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlık fotoperiyodu altında tutulmuştur.

Rizomlarda bulaşıklık yüzde olarak ifade edilmiş olup bu değer bulaşıklı rizomların tüm rizom sayısına oranlanmasıyla bulunmuştur. Sterilizasyon oranları kültüre alındıktan 20 gün sonra kaydedilmiştir. Kontaminasyon görülmeyen sağlam olan rizomlarla çalışma başlatılmıştır. Bu çalışmada eksplant olarak rizomlar ve rizom parçaları kullanılmıştır (Şekil. 4.1a-f). Bu çalışmada karbon kaynağı olarak; sukroz veya ticari şeker, katılaştırıcı madde olarak; agar, isubgol ve pamuk kullanılarak 6 çeşit ortam hazırlanmıştır. Bu ortamlarda eksplantlar kültürlere alınmışlardır. Bütün doku kültürü çalışmaları steril kabin içerisinde yapılmıştır.

3.4.2. Rejenere olmuş sürgünlerin köklendirilmesi

Rizomlardan ve rizomların dikey ekseninden kesilerek elde edilen parçalardan gelişen sürgünler 7-8 cm uzunluğa geldiklerinde kesilerek “steril magenta içinde farklı katılaştırıcı maddeler ve şekerler ile 0.2 mg/l IBA içeren MS köklendirme ortamına yerleştirilmiştir. Burada köklenen sürgünler daha sonra iklim odasında saksılar içerisinde yüksek nemde bir süre tutularak yeni bitkiciğin hem ortam şartlarına uyum sağlaması, hem de kök sisteminin gelişmesi sağlanmıştır.

3.5. İstatistiksel Değerlendirmeler ve Ekonomik İncelemeleri

Denemelerden elde edilen veriler “SPSS programı yardımıyla Varyans Analizine tabi tutulmuş, muamele ortamlarını karşılaştırmak amacıyla post hoc test ve LSD testi kullanılmıştır. Yüzde değerler, istatistik analizinden önce arcsin değerlerine çevirilmiştir (Snedecor ve Cochran, 1967). Analizi yapıldıktan sonra denemelerde kullanılan değişik ortamlardaki katılaştırıcı maddelerin (agar-Sigma type A, isubgol, pamuk) ve karbon kaynaklarının (sukroz ve ticari beyaz şeker) fiyatları çıkartılarak bir kıyaslama yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Muz Rizomlarının *In vitro* Rejenerasyonu

Her bitki materyalinin yüzeysel olarak bakteri, mantar ve benzeri organizmalardan temizlenebilmesi için gerekli dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresi farklıdır. Dolayısıyla en uygun dezenfektan dozu ve sterilizasyon süresinin belirlenmesi önemlidir (Bhatti, 2001). Bir eksplantın yüzey sterilizasyonu için en etkili ancak en düşük dezenfektan dozunun belirlenmesi gerekmektedir (Kyte, 1987). Doku kültüründe yüzey sterilizasyonlarında hidrojen peroksit, civa klorür, gümüş nitrat ve antibiyotikler kullanılabilirse de ticari çamaşır suyu yaygın olarak kullanılmaktadır. Alanya'dan gelen 50-100 cm boyundaki yavru bitkiler (Şekil 4.1) ilk önce yarım saat çeşme suyu altında çamuru uzaklaştırılıp deterjan ile yıkanmıştır. Sonra rizomlar dört tarafından dikey kesilerek fazlalıklar uzaklaştırılmıştır (Şekil 4.1bcde). Dikey kesilmiş muz rizomu bir sonraki aşamada Şekil 4.1f'te görüldüğü gibi kesilerek kare haline getirilmiştir.



Şekil 4.1. Muz rizomlarından eksplant elde edilmesi, (a) rizomun ilk hali, (b,c) rizomun dikey kesilmesi, (d,e) rizomların yatay kesilmesi, (f) çalışmada kullanılan kısmın elde edilmesi

Yüzey sterilizasyonu için eksplantlar, %100 çamaşır suyunda ve 25 dk süre ile tutulmuştur (Şekil 4.2a). Çamaşır suyu ile sterilizasyon yapıldıktan sonra

eksplantlar, steril saf su ile 5'er dk 3 kez durulanmıştır. Yüze sterilizasyonundan sonra çamaşır suyu ile zarar görmüş eksplant yüzeyleri uzaklaştırılarak ilk önce 50 mg/l askorbik asit içeren sıvıda yarım saat bekletilmiştir. Askorbik asit içinde bekletilmesinin nedeni; muz bitkisi yüksek oranda fenolik bileşik salgılamaktadır. Fenolik bileşikler eksplantlarda kararmaya yol açarak çalışmaların yavaşlamasına neden olmaktadır. Kararmayı önlemek amacıyla önce değişik oranda askorbik asit kullanılarak kararma durdurulmaya çalışılmıştır. Sonra bulaşıklığı belirlemek amacıyla eksplantlar, MS ortam içeren Magenta GA⁷ kaplarına yerleştirilmiştir (Şekil 4.2b). Ancak yapılan yöntemle yüzde yüz bulaşıklık ve kararmayı engellemek mümkün olmamıştır. Katılaştırıcı maddelerin kararmayı önlemede herhangi bir katkısı bulunmamıştır. İsubgollu ortamda, kararma 1-2 gün sonra başlayıp 10 gün içinde bitki tamamen kararmıştır ve genel olarak isubgol eksplantlar üzerinde daha fazla olumsuz etki bırakmıştır. İsubgoldan sonra sırasıyla agar ve pamuk da olumsuz etki yapmıştır ve bu ortamlarda kararma 4-5 gün sonra başlayarak 15 günde eksplantların yüzeylerini kaplamıştır. Agarlı ve pamuklu ortamda eksplantların iç kısımlarında kararma az yada hiç görülmemiştir (Şekil 4.3a-i). Genel olarak eksplantların dış kısımlarında kararma rejenerasyona engel olmuştur.



Şekil 4.2. Yüze sterilizasyonu, (a) %100 çamaşır suyunda 25 dk sterilizasyon, (b) steril edilmiş eksplantların kültüre alınması

Muz rizomları topraktan alındığı için toprakta bulunan bakteriler ve funguslarla çok yakından temasta bulunmaktadır. Bundan dolayı sterilizasyon zor olmaktadır. Alanya'dan gelen 144 adet muz rizomlarından elde edilen eksplantlar, agar içeren MS ortamında kültüre alınmışlardır. 50 adet rizomdan elde edilen eksplantlarda bir hafta sonra yüksek oranda fungus ve bakteriyel bulaşıklık gözlenmiştir. Bulaşıklık göstermeyen 94 muz rizomlarından elde edilen eksplantlar, 4,5 mg/l BAP ve 0,2 mg/l IBA içeren 6 farklı MS ortamında sürgün rejenerasyonu için kültüre alınmışlardır (Çizelg 4.1). Yaklaşık 3-4 hafta sonra 6 farklı ortamın her birinde 3-6 adet rizomda fungal, bakteriyel veya her iki bulaşıklıkta görülmüştür (Şekil 4.4 a-i). Sağlam olan 68 tane rizom eksplantıyla denemelere devam edilmiştir. Denemelerde 144 adet rizom eksplantından 76 (50 adet te bir hafta sonra görülen bulaşıklık +26 eksplantta 4 hafta sonra görülen bulaşıklık) tanesinde yüksek oranda

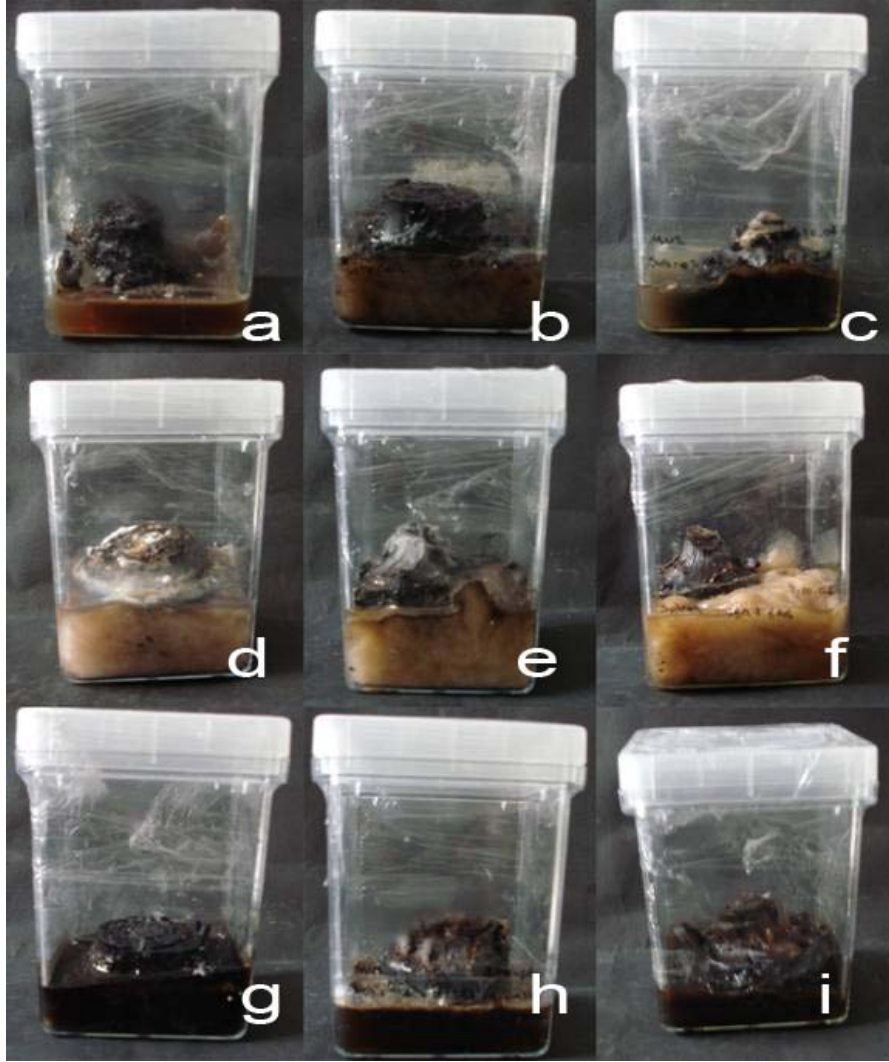
bulaşık çıktığı için varyans analizi testi yapılmamıştır. Değişik araştırmacılar tarafından çamaşır suyunun (ticari Sodyum hipoklorit) yüzey sterilizasyonu için en uygun dezenfektan olduğu, ancak yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığı zaman bitkisel materyalin canlılığını etkilediği belirtilmiştir (Allan, 1991).

Çizelge 4.1. Muz rizomların sterilizasyonu için kullanılan değişik ortamlarda gözlenen bulaşıklık yüzdesi

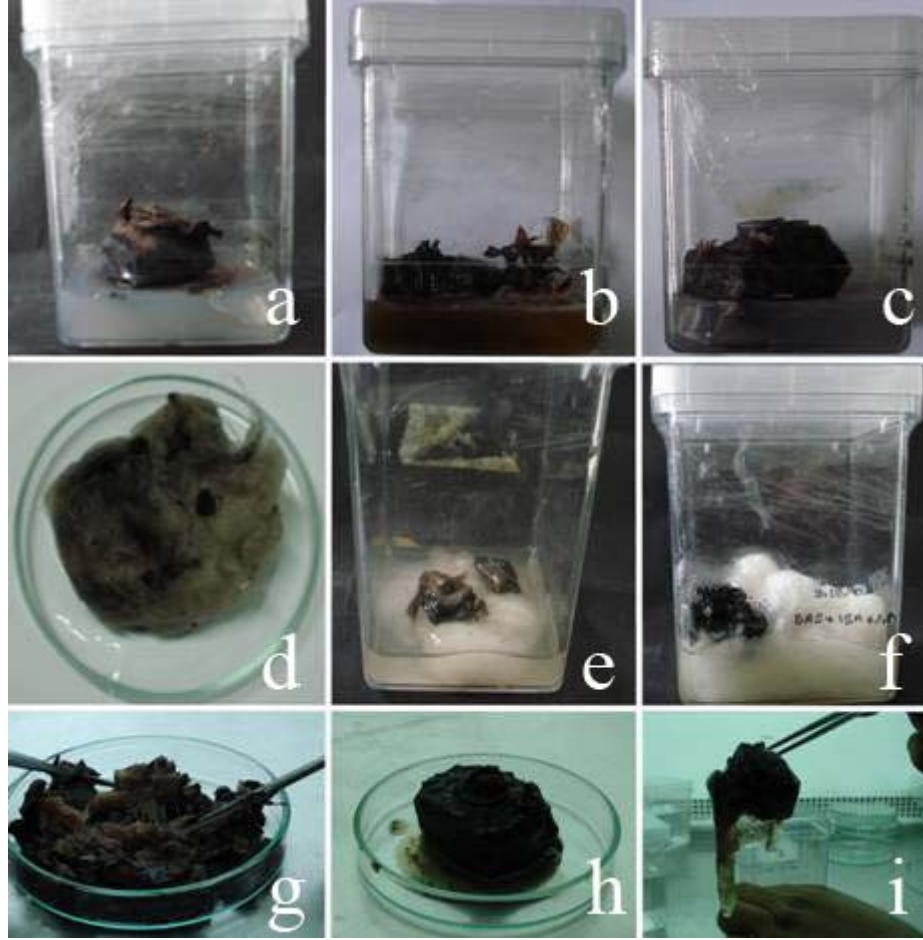
Ortam	Toplam rizom sayısı (adet)	Bulaşıklı rizom eksplantların sayısı (adet)	Bulaşık olmayan rizom eksplantların sayısı (adet)	Bulaşık yüzdesi (%)
Agar - sukroz	15	3	12	20
Agar-ticari beyaz şeker	15	3	12	20
Isubgol-sukroz	16	5	11	31.25
Isubgol-ticari beyaz şeker	15	6	9	40
Pamuk - sukroz	18	5	13	27.78
Pamuk-ticari beyaz şeker	15	4	11	26.67
Toplam	94	26	68	27.62

Dore-Swamy ve ark., (1983), Jarret (1985), Wong (1986), Novak ve ark., (1986), Banarjee ve ark., (1986), Gübbük (1999) muz sürgün rejenerasyon çalışmalarında kullanılan muz yavru bitkilerinin veya klonlarının yaşlı yapraklarını keskin bir bıçak yardımıyla uzaklaştırıp, değişik büyüklükte meristem parçaları elde etmişlerdir. Bu parçaların yüzey sterilizasyonunda değişik dezenfektanlar ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$, NaOCl , H_2O_2 veya AgNO_3) kullanmışlardır. Yüzey sterilizasyonu için muamele süresini 10-40 dk arasında uygulamışlardır. Sterilizasyon sürelerinin belirlenmesinde muz rizomlarının alındığı kaynaklar etkili olmaktadır. Eksplant elde etmek için kullanılan rizomlar toprakta yetiştiği için orada yaşayan bakteri ve funguslardan etkilenmektedirler. Toprakta bakteri ve fungus bulunuyorsa bunlar rizomlara girmekte ve rizomlarda endojen şekilde yaşamaktadırlar. Endojen bakteri ve fungusları uzaklaştırmak çok zordur. Yukarıda belirtilen çalışmalarda rizomlar, bizim çalışmamızda kullandığımız çamaşır suyu oranından daha az oranda çamaşır

suyu kullanılarak steril edilmişlerdir. Biz en yüksek oranda (%100) çamaşır suyu kullanarak muz rizomlarını steril etmemize rağmen endojen bulaşıklardan dolayı bir çoğunda bakteri ve fungus gözlenmiştir (Şekil 4.3 abcdefghi). Sonuçlardaki değişikliğin değişik kaynaklardan elde edilen muz rizomlarından ve kullanılan çeşitler arasındaki farklılıktan dolayı olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.3. Agar, pamuk veya isubgol ile katılaştırılan MS ortamlarında %100 çamaşır suyu muamelesi ile görülen fungus veya bakteri kontaminasyonlarının değişik görüntüleri, (abc) agar, (def) pamuk, (ghi) isubgol içeren ortamlardaki bakteri ve fungus bulaşıklarının görüntüleri



Şekil 4.4. Agar, pamuk ve isubgol ile katılaştırılan MS ortamlarında kararma görüntüleri, (abc) agar (def) pamuk ve (ghi) isubgol içeren ortamlardaki fenolik bileşikli eksplant görüntüleri

4.2. Hızlı Çoğaltım Çalışması

Muz ile yapılan *in vitro* sürgün rejenerasyon çalışmalarında yüzey sterilizasyonu sağlanmış muz rizom eksplantları, 4.5 mg/l BAP – 0.2 mg/l IBA içeren agar, isubgol ve pamuk lifleriyle katılaştırılan, sukroz ya da şeker içeren 6 farklı MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültüre alındıktan iki hafta sonra eksplantlar üzerinde sürgün oluşumu başlamıştır. Kültür başlangıcından 8 hafta sonra, eksplant başına düşen sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait verileri, SPSS 12.0 istatistik bilgisayar programı kullanarak univariate analizine tabii tutulmuştur.

Kültür başlangıcından 8 hafta sonra eksplant başına düşen sürgün sayısı ve sürgün uzunluğuna ait univariate analizi sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Tüm eksplantlarda sürgün oluşumu gözlemlendiği için sürgün oluşturan eksplant yüzdesi

sonuçları istatistik analizine tabii tutulmamıştır. Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından katılaştırıcı maddelerin veya şeker tiplerinin herhangi bir etkisi bulunmamıştır. Sürgün uzunluğu bakımından katılaştırıcı maddeler ve şeker tipleri arasında 0.05 düzeyinde etkileşim bulunmuştur. Bu farklılıkların önem düzeyini belirlemek için yapılan LSD testi sonuçları Çizelge 4.3 ‘de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarındaki sürgün rejenerasyonuna etkisine ait univariate analizi sonuçları

VK	SD	Eksplant başına düşen sürgün sayısı		Eksplant başına düşen ortalama sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
ortam katılaştırıcı madde	2	0.208	0.685 ^{öd}	0.238	2.212 ^{öd}
Şeker tipi	1	0.170	0.561 ^{öd}	0.393	3.650 ^{öd}
ortam katılaştırıcı madde x Şeker tipi	2	0.009	0.031 ^{öd}	0.447	4.149*
Hata	12	0.303		0.108	
Toplam	18				

*0.05 düzeyinde önemli

^{öd}Önemli değil

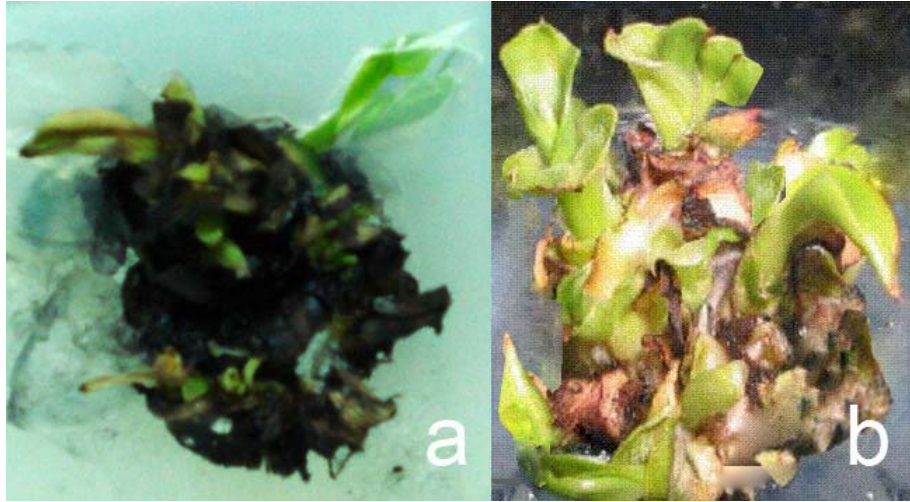
Çizelge 4.3 ‘de görüldüğü gibi sürgün oluşturan eksplant yüzdesi bakımından tüm eksplantlar üzerinde %100 sürgün oluşumu görülmüştür. Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından agar, isubgol veya pamuk ile katılaştırılan ortamlarda ve sukroz veya ticari beyaz şeker kullanılarak oluşturulan ortamlarda kültüre alınan eksplantlar arasında farklılık görülmemiştir. Agar sukroz içeren ortamda 4.58, agar - ticari beyaz şeker içeren ortamda 4,87; isubgol- sukroz içeren ortamda 5.00, isubgol-ticari beyaz şeker içeren ortamda 5,17 isubgol-sukroz içeren ortamda 4,75 ve pamuk-ticari beyaz şeker içeren ortamda 5.17 sürgün elde edilmiştir (Şekil 4.5). Ancak sayısal olarak en fazla sürgün oluşumu pamuk - ticari beyaz şeker ve isubgol - ticari beyaz şeker içeren ortamlarda kayıt edilmiştir. Sürgün uzunluğu bakımından en uzun sürgün isubgol-ticari beyaz şeker içeren ortamlarda ve en kısa sürgün isubgol-sukroz içeren ortamlarda kayıt edilmiştir.

Çizelge 4.3. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarındaki sürgün rejenerasyonuna etkisine ait LSD testi sonuçları

Ortam katılaştırıcı madde	Sürgün oluşturan eksplant yüzdesi		Eksplant başına sürgün sayısı		Ortalama sürgün uzunluğu (cm)	
	Sukroz	Ticari beyaz şeker	Sukroz	Ticari beyaz şeker	Sukroz	Ticari beyaz şeker
Agar	100.00	100.00	4.58	4.87	1.61 Aa	1.54 bA
Isubgol	100.00	100.00	5.00	5.17	1.34 abB	2.27 Aa
Pamuk	100.00	100.00	4.75	5.17	1.39 abA	1.43 bA

¹Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark LSD testi ile 0.05 düzeyinde önemli çıkmıştır

²Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark t testi ile 0.05 düzeyinde önemli çıkmıştır



Şekil 4.5. Muz rizom eksplantlarının agar-ticari beyaz şeker içeren ortamlardaki sürgün rejenerasyonu, (a) kültüre aldıktan 2 hafta sonra, (b) 6 hafta sonraki görünüşü

Berg ve Bustamenta (1974), Hwang ve ark., (1984), Jarret ve ark., (1985), Cronauer ve Krikorian (1985), Wong (1986), Jarret (1986), Novak ve ark., (1986), Banarjee ve ark., (1986), Rodriguez-Enriquez ve ark., (1987), Fitchet ve Winnaar (1988), Drew ve ark., (1989), Ganapathi ve ark., (1992), Alvard ve ark., (1993), Israeli ve ark., (1995), Reuveni ve Golubowicz (1996), Silayoi ve ark., (1997), Smith ve Drew (1990), Smith ve Hamil (1993), Gübbük (1999), Khalil ve ark., (2002), Madhulatha ve ark., (2006), muz eksplantlarını değişik sitokinin ve oksin içeren ortamlarda çoğaltmışlardır. Bu çalışmadaki sonuçlar yukarıda belirtilmiş sonuçlara uygunluk sağlamaktadır. Khan ve ark., (2001)'de benzer şekilde pamuk lifleri kullanarak muz çoğaltımında olumlu sonuçlar elde etmişlerdir.

Çalışmamızda agar, isubgol ve pamuk liflerinin bitki çoğaltımında önemli etkisi olmadığını bunun yanında bitki uzunluğuna önemli etkisi olduğu görülmüştür. Bunun her üç katılaştırıcı maddede değişik şekerlerin bulunması (Merck Index (1996)'a göre Sigma agar (Type A) β -1,3, ve α -1,4 linked D ve L galaktoz ile zengindir ve % 70 agaroz, %30 agaropektin içermektedir. Sigma katalogu (1996)'a göre agar D-galaktoz ve 3,6- anhydrogalaktoz içeren agaroz ile 1,3-glycosidically linked D-galaktoz içeren agaropektinden oluşmaktadır. Babbar ve Jain (1998)'e göre Isubgol %30 musilaj içermektedir ve polisakariddir ve enzimatik faaliyetlere karşı dayanıklı olup iyi katılaştırıcı özelliklere sahiptir. Laidlaw ve Percival (1950)'e göre isubgol ksiloz, arabinoz, galakturonik asit ve rhamnoz ile galaktoz içermektedir. Jacquet ve ark., (1982) *Gossypium arboreum* L., *G. barbadense* L., ve *G. hirsutum* L. pamuk bitkisinin değişik büyüme aşamalarda pamuk lifleri de nötr şekerler (glukoz, fruktoz, ve sukroz ile şeker fosfat (glukoz 6-fosfat, glukoz, 1-fosfat ve fruktoz 6-fosfat) içerdiklerini tespit etmişlerdir) ve onların çoğaltım üzerinde değişik etki bırakmasının nedeni olduğu düşünülmektedir.

4.3. Rejenere Olan Sürgünlerin Köklendirilmesi

Rejenerasyon çalışmaları *in vitro* şartlarda geliştirilen sürgünlerin köklendirilmesi ile tamamlanmaktadır. Bu nedenle sürgünlerin sitokinin içermeyen, fakat köklenmeyi teşvik edici oksin (NAA ile IBA, IAA gibi) bulunan ortamlara transfer edilmesi gerekmektedir (Gönülşen, 1987). Muzun rejenere olan sürgünleri 1,25-2 cm uzunluğuna geldiklerinde kesilerek, değişik katılaştırıcı maddeler ile sukroz ve ticari beyaz şeker kullanılarak oluşturulan 0.2 mg/l IBA içeren 6 farklı MS ortamlarında köklendirmeye alınmıştır. Farklı katılaştırıcı maddeler ve farklı şeker tipleri kullanılarak 0.2 mg/l IBA içeren ortamlarda 6 hafta sonra köklenen sürgünlerin, sürgün başına kök sayısına ve ortalama kök uzunluğuna (mm) etkisine ait verileri SPSS 12.0 istatistik bilgisayar programı kullanılarak univariate analizine tabii tutulmuştur. Univariate analizi sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Çizelge 4.4'te görüldüğü gibi sürgün başına düşen kök sayısı (adet) bakımından istatistiksel olarak herhangi bir farklılık bulunmamıştır. Ortalama kök uzunluğu bakımından jelleştirici maddeler arasında 0.01 düzeyinde bir farklılık bulunurken şeker tiplerinin köklenme üzerine bir etkisi bulunmamıştır. Katılaştırıcı maddelerle şeker tipleri arasında 0,05

düzeyinde etkileşim bulunmuştur. Bu farklılıkların önem düzeyini belirlemek için yapılan LSD testi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5 'te görüldüğü gibi kök oluşturan eksplant yüzdesi bakımından tüm eksplantlar üzerinde %100'lük kök oluşumu gözlenmiştir. Eksplant başına kök sayısı bakımından agar, isubgol veya pamuk ile katılaştırılan ortamlardaki ve sukroz veya ticari beyaz şeker kullanılan ortamlarda kültüre alınan eksplantlar arasında farklılık görülmemiştir (Şekil 4.6, 4.7, 4.8). Ancak sayısal olarak en fazla kök oluşumu isubgol-ticari beyaz şeker içeren ortamlarda bulunmuştur. Kök uzunluğu bakımından en uzun kök isubgol-ticari beyaz şeker içeren ortamlarda ve en kısa kök pamuk-ticari beyaz şeker içeren ortamlarda tespit edilmiştir. Berg ve Bustamenta (1974), Hwang ve ark., (1984), Jarret ve ark., (1985), Cronauer ve Krikorian (1985), Wong (1986), Jarret (1986), Novak ve ark., (1986), Banarjee ve ark., (1986), Rodriguez-Enriquez ve ark., (1987), Fitchet ve Winnaar (1988), Drew ve ark., (1989), Ganapathi ve ark., (1992), Alvard ve ark., (1993), Israeli ve ark., (1995), Reuveni ve Golubowicz (1996), Silayoi ve ark., (1997), Smith ve Drew (1990), Smith ve Hamil (1993), Gübbük (1999), Khalil ve ark., (2002), Madhulatha ve ark., (2006), muzun değişik eksplantlarından elde ettikleri sürgünlerini NAA, IBA veya IAA içeren ortamlarda köklendirmişlerdir.

Çizelge 4.4. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök oluşumuna ait univariate analizi sonuçları

VK	SD	Bitki başına kök sayısı (adet)		Ortalama kök uzunluğu (cm)	
		K.O.	F	K.O.	F
Ortam katılaştırıcı madde	2	4.847	0.806	56.499	0.000**
Şeker	1	0.125	0.021	0.019	0.936
Ortam katılaştırıcı madde x Şeker	2	4.292	0.714	1.286	0.642*
Hata	12	6.014		2.793	
Toplam	18				

* 0.05 düzeyinde önemli

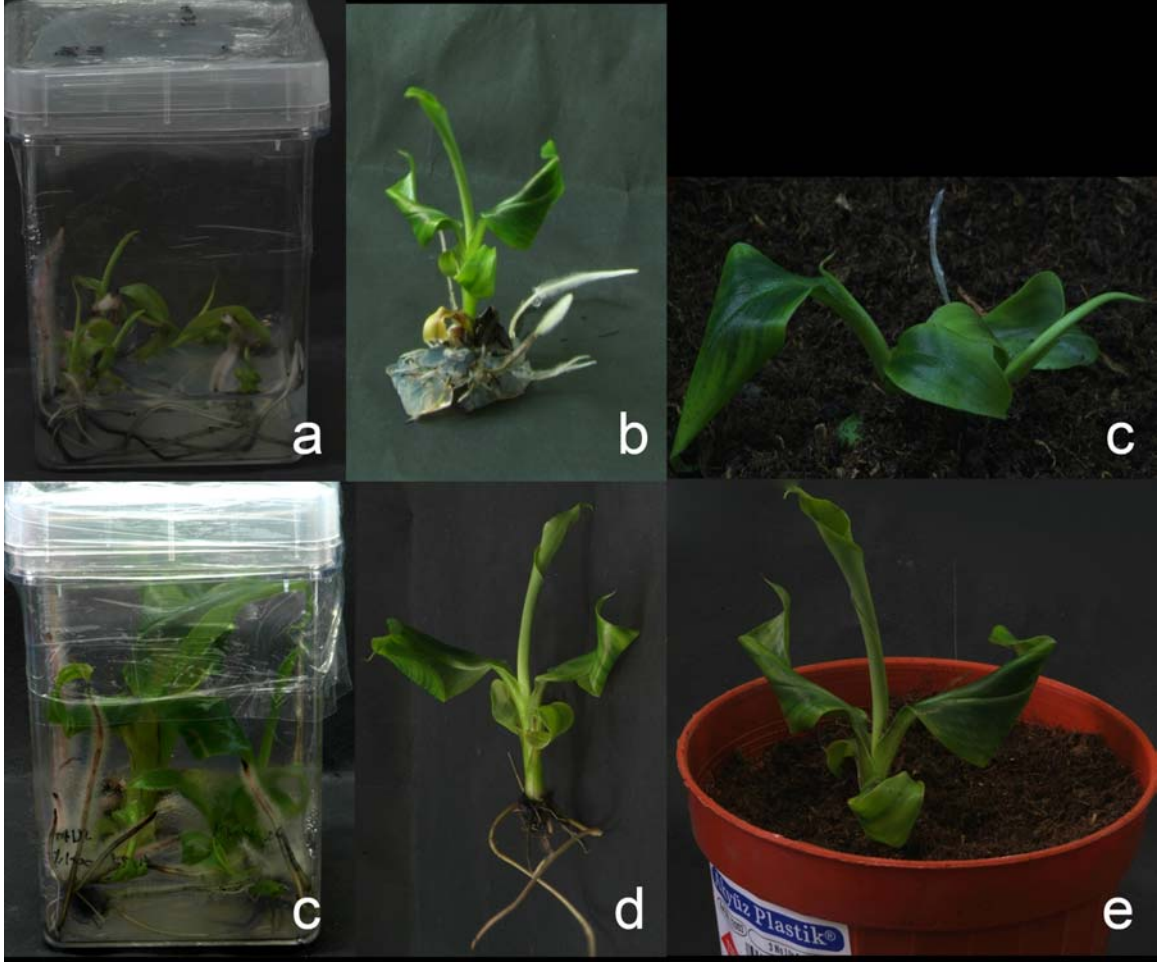
**0.01 düzeyinde önemli

Çizelge 4.5. Farklı katılaştırıcı maddelerin ve şekerlerin muz rizom eksplantlarından gelişen sürgünlerin kök oluşumuna ait LSD testi sonuçları

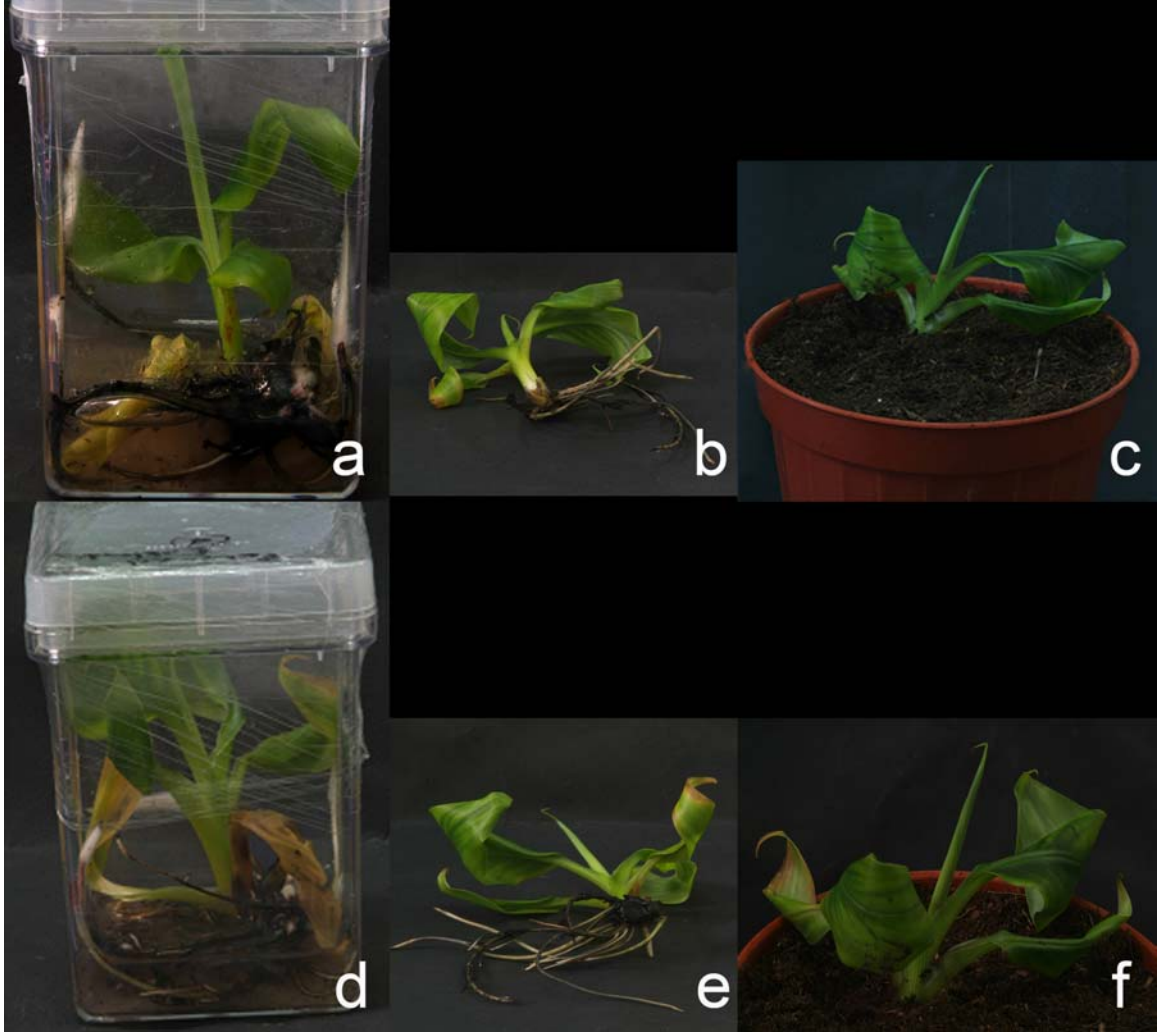
Katılaştırıcı madde	Kök oluşturan eksplant yüzdesi		Eksplant başına düşen kök sayısı (adet)		Ortalama Kök uzunluğu (cm)	
	Sukroz	Ticari beyaz şeker	Sukroz	Ticari beyaz şeker	Sukroz	Ticari beyaz şeker
Agar	100.00	100.00	6.83	6.33	4.063 bA	3.877 bB
Isubgol	100.00	100.00	6.00	7.67	8.643 aB	9.733 aA
Pamuk	100.00	100.00	6.00	4.33	4.137 bA	3.427 bB

¹Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark LSD testi ile 0.05 düzeyinde önemli çıkmıştır

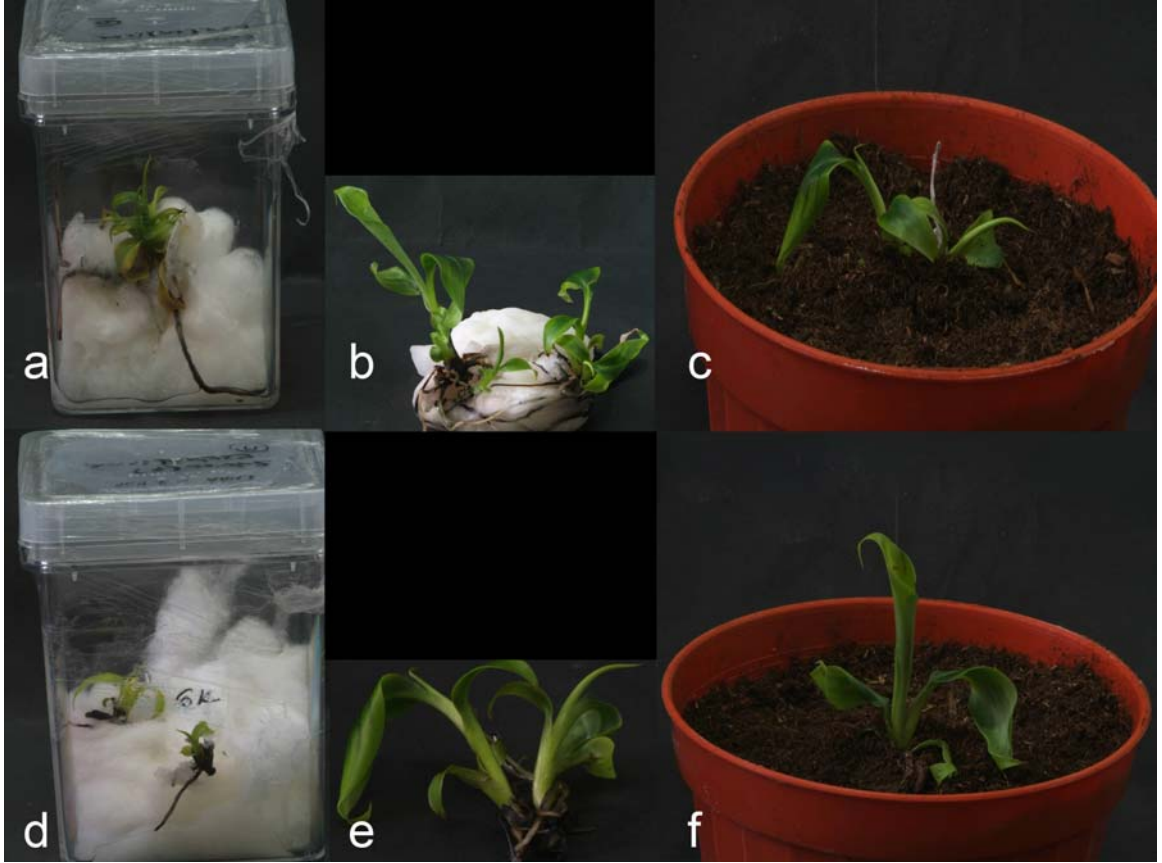
²Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark t testi ile 0.05 düzeyinde önemli çıkmıştır



Şekil 4.6. Eksplantların 0.2 mg/l IBA ve agarlı MS ortamında köklendirilmesi (abc) karbon kaynağı olarak sukrozun köklenme ve adaptasyondaki etkisi, (def) karbon kaynağı olarak ticari beyaz şekerin köklenme ve adaptasyondaki etkisi



Şekil 4.7. Eksplantların 0.2 mg/l IBA ve isubgöllü MS ortamında köklendirilmesi (abc) karbon kaynağı olarak kullanılan sukrozun köklenme ve adaptasyon üzerine etkisi (def) karbon kaynak olarak ticari beyaz şekerin köklenme ve adaptasyon üzerine etkisi



Şekil 4.8. Eksplantların 0.2 mg/l IBA ve pamuklu MS ortamında köklendirilmesi (abc) karbon kaynağı olarak sukrozun köklenme ve adaptasyondaki etkisi, (def) karbon kaynağı olarak ticari beyaz şekerin köklenme ve adaptasyondaki etkisi

4.4. Fiyat Kıyaslanması

Denemede kullanılan bitki materyalini satın almak için ve Alanya'dan muz rizomlarını getirmek için harcanan kargo masrafları ile otoklav, laminar flow kabin, magenta kutuları, MS besi ortamı, askorbik asit, elektrik, iklim dolabı, çamaşır suyu, alkol, bitki büyüme düzenleyicileri, doğal gaz, bıçak, bistüri, pens vb. nin fiyatları sabit olduğu için hesaplamalara alınmamıştır. Bitki başına düşen maliyeti kıyaslarken değişen faktörlerin yani denemede kullanılan ticari beyaz şeker ve sukroz ile agar, isubgol ve pamuğun fiyatlarının *in vitro* koşullarda muz fide üretimindeki etkisi bulunmaya çalışılmıştır. 1 litre ortamdan 50 ml'lik 20 magenta ve her magentadan 4 bitki gelişirse (20X4=80 bitki), Çizelge 4.6, 4.7 - Şekil 4.8'te görüldüğü gibi en fazla masraflar agar-sukroz içeren ortamda görülmüştür (17,76 YTL). Bu ortamdaki masraflar isubgol+sukroz, pamuk+sukroz, ve agar+ticari beyaz şeker içeren ortamlardaki (8.93-9.88 YTL arasında) masrafların hemen hemen iki katı kadardır.

İsubgol + ticari beyaz şeker, pamuk + ticari beyaz şeker içeren ortamlardaki masraflar 1,29 ve 0,34 YTL olarak hesaplanmıştır. Benzer şekilde Bhattacharya ve ark., (1994), *Dendranthema grandiflora* bitkisinin çoğaltımı için *Metroxylon sagu*'dan elde edilen sago ve *Plantago ovata*'dan elde edilen isubgol kullanmışlardır. İsubgolun performansını agar ile kıyaslırsak isobgol agara (Sigma, purified agar, No. A. 7921) göre maliyeti 1/10 kadar düşürmüştür. Sonuçta, agar yerine isubgol kullanımının ekonomik olarak uygun olduğu görülmüştür. Khan et al. (2001), bu çalışmada muzun ticari amaçla *in vitro* çoğaltımında sitokin içeren MS ortamında pamuk lifleri, tahta rendesi, kağıt parçaları, testere talaşı ve agarın etkisine bakmışlardır. İncelenmiş maddeler arasında, pamuk lifleri en etkili destekleyici madde olarak bulmuşlardır. Bitkilerin pamuk lifleri içeren ortamlarda 2 hafta sonra hazır hale gelirken agar içeren ortamlarda 6 hafta sonra hazır hale geldiğini gözlemlemişlerdir. Muz üretiminde pamuk lifleri kullanarak ucuz bitki üretimi yapmışlardır. Çalışmalarında ticari beyaz şeker ve sukroz (Sigma) kullanmışlardır ve sürgün gelişmesinde her ikisinde de istatistiksel olarak bir farklılık görmemişlerdir.

Çizelge 4.6. Agar, isubgol, pamuk, sukroz ve ticari beyaz şeker fiyatlarının kıyaslanması

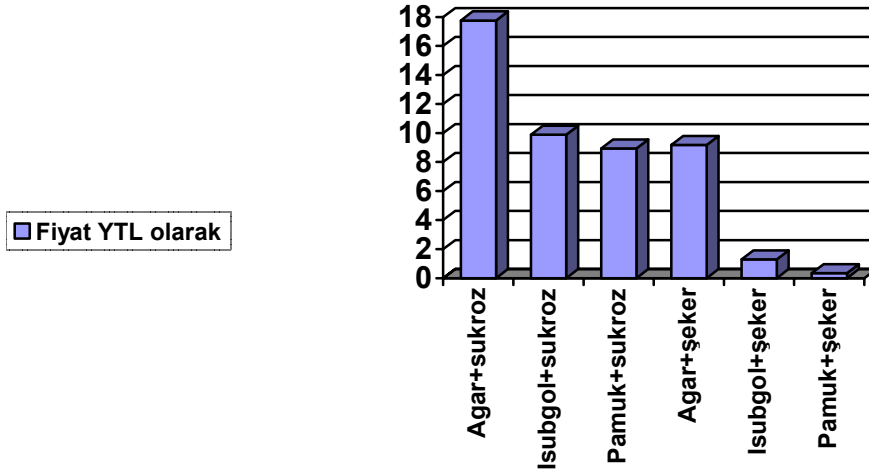
Kimyasal veya katılaştırıcı madde	Katalog Numarası	Kg Fiyatı (Euro)	1 litre ortam için kullanılan miktarı	1 litre sürgün oluşturan ortamı hazırlamak için katılaştırıcı madde ve şeker tiplerinin fiyatı (A) Euro olarak	1 litre köklendirme ortamı hazırlamak için katılaştırıcı madde ve şeker tiplerinin fiyatı (B) Euro olarak	Toplam fiyatı (A+B)	Toplam fiyatı YTL olarak (A+B)X1.8750 YTL
Agar (Sigma type A)	A4550	343	7 gram	2.401	2.401	4.802	9.00375
Isubgol (Marhaba-Isapghol husk)	-	10+10=20	15 gram	0.3	0.3	0,6	1,125
Pamuk lifleri		0.66	70 gm	0.0462	0.0462	0.0924	0.17325
Sukroz (Sigma-Grade I)	S5390	77.80 Euro	30 gram	2.334	2.334	4.668	8.7525
Ticari beyaz şeker		1.09	40 gram	0.0436	0.0436	0.0872	0.1635

*10 Euro fiyat +10 Euro fiyat gümrük

** 1 Euro = 1.8150 YTL

Çizelge 4.7. 1 litre Agar, isubgol, pamuk, sukroz ve ticari beyaz şeker içeren ortamların hazırlanmasına yönelik (sabit masraflar hariç) fiyatların kıyaslanması

Muamele	1 litre için gereken katılaştırıcı madde ve şekerin fiyatı (Euro olarak)	1 litre için gereken katılaştırıcı madde ve şekerin fiyatı (YTL olarak)	Maliyetdeki düşüş yüzdesi (%)=(değişken/agar+sukroz100)-100
Agar+ sukroz	9,47	17,76	0.00
Isubgol+ sukroz	5,27	9,88	44,37
Pamuk+ sukroz	4,76	8,93	49,72
Agar+şeker	4,89	9,17	48,37
Isubgol+şeker	0.69	1,29	92,74
Pamuk+şeker	0,18	0,34	98.09



Şekil 4.9. 1 litre Agar, isubgol, pamuk, sukroz ve ticari beyaz şeker içeren ortamların fiyatları arasındaki farklılığın şematik kıyaslanması

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Rizomlarla yapılan yüzey sterilizasyonu çalışmasında ilk önce rizomlar 30 dakika musluk suyu ile yıkanmış olup % 100 çamaşır suyunda 25 dk steril edilmiştir ve 3 kere 5'er dk steril saf su ile durulanmıştır. Çalışmada fungal ve bakteriyal bulaşıklığın ve fenolik bileşiklerin rejenerasyonda önemli etki bıraktığı tespit edilmiştir. Bu yüzden çalışmada kullanılan rizomların çevresel olarak çok temiz yerden toplanmasının çalışmada olumlu etki bırakacağı düşünülmektedir.

Laminar flow kabinde aseptik koşullar altında ve çok dikkatli çalışma yapılmasına rağmen her yüzey sterilizasyonu çalışması sonucunda değişik oranlarda fungal ve bakteriyal bulaşıklık görülmüştür. Bunun sebebinin rizomların üzerindeki fungus veya bakterilerin değişik oranlarda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bitkide yapılan rejenerasyon çalışmasında rizom eksplantlarının rejenerasyonunda kullanılan katılaştırıcı maddelerin (agar, isubgol ve pamuk lifler) herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür. Ancak bitki gelişmesi (sürgün uzunluğu) açısından en iyi gelişme, sırasıyla isubgol-ticari beyaz şeker, agar-ticari beyaz şeker ve pamuk lifler-ticari beyaz şeker içeren ortamlarda gözlenmiştir. Bu yüzden her 3 katılaştırıcı maddenin rejenerasyon kabiliyetini etkilemediği fakat sürgün gelişmesine etkilediği görülmüştür.

Bitkide yapılan rejenerasyon çalışmasında şeker kaynağı olarak sukroz ve ticari beyaz şeker arasında bir farklılık görülmemiştir.

Köklenmede, her üç katılaştırıcı maddenin ve her iki şeker kaynağının, kök sayısına herhangi bir etkisi bulunmazken kök uzunluğuna önemli derecede etkisi olduğu görülmüştür.

Bitkiler katılaştırıcı maddeler ve şeker içeren ortamlarda farklı sürgün uzunluklarda gelişmişlerdir. Bunun nedeni agar ve isubgolün değişik tip şeker içermesinden dolayısıyla fotosentezdeki klorofil üretiminin farklı olmasıdır. Pamuk liflerinde ise şeker bulunmamasından dolayı fotosentez hızını arttırmamaktadır

Her üç kaynaktan geliştirilen bitkilerin saksılarda adaptasyonu sağlanabilmiş ve herhangi bir zorluk görülmemiştir.

Sabit maliyetler hariç, bitki üretiminde en fazla masraf agar ve sukroz içeren ortamlarda, en düşük maliyet ise pamuk lifi ve ticari beyaz şeker içeren ortamlardan elde edilmiştir. Böylece *in vitro* koşullarda kaliteli bitki üretimi için farklı bir yol tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- ALVARD, D., COTE, F., and TEISSON C., 1993. Comparison of Methods of Liquid Medium Culture for Banana Micropropagation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 32:55-60.
- ARIAS, O., 1992. Commercial propagation of banana. Biotechnological applications for banana and plantain improvement. INIBAP. p.139-142.
- BABBAR, S.B., and JAIN, N. 1998. Isubgol as an alternative gelling agent for plant tissue culture media. *Plant Cell Rep.* 17:318–322.
- BANERJEE, N., VUYLSTEKE, D., and DE LANGHE, E. 1986. Meristem tip culture of *Musa* : histomorphological studies of shoot bud proliferation. In Withers LA., Alderson PG: (eds) *Plant tissue culture and its Agricultural Applications*. Butterworths, London, p.139-147.
- BERG, L.A., and BUSTAMANTE, M., 1974. Heat treatment and meristem culture for the production of virus free bananas. *Phytopathol.* 64:320-322.
- BERRIL, F.W., 1960. Plant growth and yield in Cavendish banana (*Musa cavendish* Lamb) as affected by size and planting material. *I.J. Agric. Sci.* 17:18-81.
- BHATTACHARYA, P., DEY, S., and BHATTACARYYA, B.C., 1994. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 37:15-23
- BIONDI, S. and THORPE, T.A., 1982. Requirements for a tissue culture facility. *Plant Tiss. Cult.*, Academic press, New York, p:1-20.
- BOWER, JP., and FRASER, C., 1982. Shoot tip culture of Williams bananas. *Subtropica.* 3:13-16.
- CRONAUER, S.S., and KRIKORIAN, A.D., 1985. Aseptic multiplication of bananas from excised floral apices. *Hort. Science.* 20:770-771.
- DANIELS, J., LINDSAY, S., and SMITH, M., 1995. Flower selection for tissue cultured plants. *Banana Topics*. Vol. 21, p.7.
- DORE, S.R., SRINAVASA, R.N.K., and CHACKO, E.K., 1983. Tissue culture propagation of banana. *Sci Hort.* 18:247-252.
- DREW, RA, MOISENDAR JA, and SMITH MK. 1989. The transmission of banana bunch top virus in micropropagated bananas. *Plant cell tissue and organ culture.* 16:187-193.
- EWANS, D.A., SHARP, W.R and FLICK, C.E., 1981. Growth and behaviour of all cultures. In: *Plant Tissue Culture - Methods and Applications in Agriculture* Thorpe, T. A. (Ed.), p.45-113.
- FAO, 2006. <http://www.google.com.tr>
- FITCHET, M., and WINNNAAR, W., 1988. Effects of sterilant and nutrient media on the establishment of shoot tips of the two banana cultivar in culture. *Subtropica.* 9:12-16.
- GANAPATHI, T. R., SUPRASANNA, P., BAPAT V. A., and RAO, P. S., 1992. Propagation of banana through encapsulated shoot tips. *Plant Cell Reports.* 11:571-575.
- GANAPATHI, T.R., SUPRASANNA, P., KULKARNI, V.M., BAPOIT, V.A. and RAO, P.S., 1996. Strategies for *in vitro* propagation of banana. *Musarama,* 9:4172.

- GOWEN, S.,1995. Banana and plantains. Chapman and Hall, Boundary Row, 2-6 London p612.
- GÖNÜLŞEN, N. 1987, Bitki doku kültürü yöntemleri ve uygulama alanları, T.O.K.B. Ege Tarımsal Araştırma Ens. Müd. Yayın no:78., Menemen – İzmir,140s.
- GÖNÜLŞEN, N., ve ÖZCAN, S., 1983. Asma (*Vitis sp.*)’nın doku kültürü ile üretilmesi üzerinde araştırmalar, TÜBİTAK, TOAG, VII. Bilim Kongresi, s.291-297.
- HENDERSON, W.E., and KINNERSLEY, A.M., 1988. Corn starch as an alternative gelling agent for plant tissue culture. *Plant Cell Tissue Org. Cult* 15:17–22.
- <http://www.muz.gen.tr> 2006
- HWANG, S.C.,CHEN, C.L., LIN, J.C., and LIN, H.L., 1984. Cultivation of banana using plantlets from meristem culture. *Hort. Sci.* 19:231-233.
- ISRAELI, Y., REUVENİ, O., and LAHAV, E., 1991. Qualitative aspects of somaclonal variations in banana propagated by *in vitro* techniques. *Scientia Horticulturae*, 48:71-78.
- ISRAELI, Y., and LAHAV, E., and REUVENI, O., 1995. In vitro culture of bananas In *Bananas and Plantains*, Gowen, S.(ed), Chapman and Hall, London, p.147-178.
- JARRET, R.L., 1986. *In vitro* propagation and genetic conservation of banana and plantain. In, IBPGR Advisory Committee on In Vitro Storage: Report of the Third Meeting, International Board for plant Genetic Resources, Rome, p.15-33.
- JARRET, R.L., RODRIQUEZ, W. and FERNANDEZ, R. 1985. Evaluation, tissue culture propagation and dissemination of ‘Saba’ and ‘Pelipita’ plantains in Costa Rica. *Scientia Hort.* 25:137-147.
- KHALIL, S.M., CHEAH, K.T., PEREZ, E.A., and GASKILL, D.A., HU, J.S., 2002. Regeneration of banana (*Musa spp.* AAB cv. Dwarf Brazilian) via secondary somatic embryogenesis. *Plant Cell Rep.* 20:1128–1134.
- KHAN, S., ZAFAR, Y., YASMEN, A., and BUSHRA, S., 2001. An efficient and economical method of mass multiplication of virus and disease free banana using plant tissue culture techniques. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4:562-563.
- KODYM, A., and ZAPATA-ARIAS, F.J., 2001. Low-cost alternatives for the micropropagation of banana. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 66: 67–71.
- KODYM. A., ZAPATA, and ARIAS. FJ., 1999. Natural light as an alternative light source for the *in vitro* culture of banana (*Musa acuminata* cv. ‘Grande Naine’) *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 55:141–145.
- KOZAK, B., 2006. Muz Yetiştiriciliği. Tarım İlçe Müdürlüğü. 33640 - Anamur/Mersin.
- LIDLAW, RA., and PERCIVAL, E.G.V., 1950. Studies on seed mucilages. Part V. Examination of polysaccharide extracted from the seeds of *Plantago ovata* Forsk. by hot water. *J. Chem. Soc.* p.528-527.
- MADHULATHA. P., ANBALAGAN. M., JAYACHANDRAN. S., and SAKTHIVEL. N., 2004. Influence of liquid pulse treatment with growth

- regulators on *in vitro* propagation of banana (*Musa spp.* AAA) Plant Cell, Tissue and Organ Culture 76:189–191.
- MADHULATHA, P., KIRUBAKARAN, S.I., and SAKTHIVEL, N., 2006. Effects of carbon sources and auxins on *in vitro* propagation of banana *Biologia Plantarum*. 50(4):782-784.
- Merck Index, 12th Ed., S. Budavari, Ed., 1996. p.34-182.
- MILLER, T., and SKOOG, F., 1953. *In vitro* culture of higher plants, *Am J. Bot.*, 40: 768-773.
- MURASHIGE, T., 1974. Plant propagation through tissue cultures, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 25:135-166.
- MURASHIGE, T. and SKOOG, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum.*, 15: 473-497.
- NATIONAL AGRICULTURAL LIBRARY (NAL), 2007. United States Department of Agriculture. <http://www.nal.usda.gov/>
- NAVARRO, C., ROSA, M.E., and MAYO, A., 1997. *In vitro* plant regeneration from embryogenic cultures of a diploid and a triploid, Cavendish banana. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 51:17-25.
- NITSCH., 1968. As cited by PIERIK, R.L.M. 1987. *In vitro* culture of higher plants, *Ann. Sci. Nat. Bot. Biol.*, 9:1-92.
- NOVAK, F.J., AFZA, R., PHADVIBUUYA, V., HERMEUN, T., BRUNNER, H. and DONINII, B., 1986. Micropropagation and radiation sensitivity in shoot tip cultures of banana and plantain. Nuclear techniques and *in vitro* culture for plant improvement . *Proceedings International Atomic Energy Agency*, p.167-164.
- JAQUET, J.P., BUCHALA, A.J., and MEIER, H., 1982. Changes in the non-structural carbohydrate content of cotton (*Gossypium spp.*) fibres at different stages of development. *Planta*. 156:481-486.
- PAULET-1965 as cited by PIERIK, R.L.M., 1987. *In vitro* culture of higher plants., *Rev. Gen. Bot.*, 72:697-792.
- PIERIK, R.L.M., 1987. *In vitro* culture of higher plants. Kluwer Academic Pub., p344.
- REUVENI, O., and GOLUBOWICZ, S., 1996. The use of ancmedol for growth regulation of *in vitro* banana plant. *International society for horticultural science (ISHS) Third International Symposium on in vitro culture and horticultural Breeding*. June p.16-21. Jerusalem, Israel.
- RODRIGUEZ, E.M.J., LORENZOMJR, and GARCIA, R.A., 1987. Significance of the physiological history of the explant in vegetative propagation of banana shoot tip. *Acta Horticulturae* 212:61-67.
- SHARMA. G.L., TIWORY BL, and PANDEY SD. 1996. Micropropagation of banana and changes in the total carbohydrates and proteins at various culture stages. *Musarama Vol. 9. No.3. Abstract No.4173*.
- SIGMA CHEMICAL CO. PLANT CULTURE CATALOGUE, p. 52 (1996).
- SILAYOI, B., SUVITTAVAT, K., and WANICHAKUL, K., 1997. Effects of BA on regeneration and variation in tissue culture of 5 AAA group banana group cultivars. *International symposium on banana in the subtropics, Canary islands, Spain*, p.190.

- SMITH, M.K., and DREW, R.A., 1990a. Current applications of tissue culture in plant propagation and improvement. *Australian Journal of Plant physiology*. 17:267-289.
- SMITH, M.K., and DREW, R.A., 1990b. Growth and yield characteristics of dwarf off types recovered from tissue cultured bananas. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 30:575-578.
- SMITH, M.K., and HAMILL, S.D., 1993. Early detection of dwarf off types from micropropagated Cavendish bananas. *Australia Journal of Experimental Agriculture*. 33:639-644.
- SNEDECOR, G.W., and COCHRAN, W.G., 1967. *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Iowa. USA.
- TYAGI, R.K., AGRAWAL, A., MAHALAKSHMI, C., HUSSAIN, Z., and TYAGI, H., 2007. Low-cost media for *in vitro* conservation of turmeric (*Curcuma longa L.*) and genetic stability assessment using RAPD markers. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*. 43:51-58.
- WEBROUCK, S.P.O., and DEBERGH, P.C., 1994. Applied aspects of plant regeneration (micropropagation) In: Dixon RA, Gonzales RA (eds). *Acta Hort.*, 226 (1):121-129.
- WONG, W.C., 1986. *In vitro* propagation of banana (*Musa spp*). Initiation, proliferation and development of shoot tip cultures on defined media. *Plant cell tissue and organ culture*. 6:159-166.

ÖZGEÇMİŞ

Gaziantep'in Nizip ilçesinde doğdu. İlköğrenimini Nizip'te Atatürk İlköğretim Okulunda orta öğrenimini ise G.Antep İsmetpaşa Lisesinde tamamladı. 1999 yılında Gazi Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümünü kazandı. 2004 yılı bahar döneminde lisans öğrenimini tamamladı. 2005 yılı Şubat ayında Ş.Urfa'nın Ceylanpınarı ilçesine öğretmen olarak atandı. 2005 yılı güz döneminde Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı. Halen Ş.Urfa Endüstri Meslek Lisesinde biyoloji öğretmeni olarak görev yapmaktadır.

ÖZET

Bu çalışma Harran Üniversitesi Biyoloji Bölümü ve Gazi Üniversitesinin Biyoloji Eğitim Anabilim Dalı'nın Biyoteknoloji Laboratuvarında ortak olarak yürütülmüştür. Türkiye de ekonomik önemi yüksek olan bitki türlerine yönelik doku kültürü çalışmaları son yıllarda hız kazanmıştır. Klasik muz çoğaltımda kullanılan üretim materyalleri homojen olmamakta ve bunların hastalık ve zararlılarla bulaşık olma riski de oldukça yüksek olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı muz çoğaltımında doku kültürü ile çoğaltılmış fideler yavaş yavaş çiftçiler tarafından büyük ilgi görmektedir. Ancak maliyeti yüksek olan bu fideler tüm çiftçiler tarafından kullanılamamaktadır. Bu sorunun muz doku kültürü teknolojisindeki ucuz katılaştırıcı maddeler ve karbon kaynakları kullanarak çözülebileceği düşünülmüştür. Denemelerde kullanılan *Dwarf Cavendish* muz çeşidi Alanya'dan temin edilmiştir. Eksplant olarak muz meristemi kullanılmıştır. Çalışmada karbon kaynağı olarak sukroz ve ticari beyaz şeker ve katılaştırıcı madde olarak ta agar, isubgol ve pamuk lifleri kullanılarak muz doku kültürü maliyeti düşürülmeye çalışılmıştır. Agar'a göre isubgol, pamuk lifleri ve Sukroz'a (Sigma) göre beyaz şeker oldukça ucuzdur. Çalışmada muz rizom eksplantları, steril edilip 50 mg/l askorbik asit içeren sıvıda yarım saat bekletildikten sonra, değişik katılaştırıcı madde ve sukroz ile ticari beyaz şeker içeren 4.5 mg/l BAP ve 0.2 mg/L IBA bulunduran MS ortamında kültüre alınmıştır. Tüm katılaştırıcı madde, sukroz, ticari beyaz şeker 4.5 mg/l BAP ve 0.2 mg/L IBA içeren MS ortamları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır. Tüm katılaştırıcı maddeler üzerinde gelişen sürgünler, 0.2 mg/l IBA içeren MS ortamlarında köklendirilip adaptasyon sağlanmıştır. Çalışma sonucunda sabit masraflar hariç, agar- sukroz içeren ortamda en pahalı, pamuk ticari- beyaz şeker içeren ortamda ise en ucuz bitki elde edilmiştir. Elde edilen bulgular teknolojinin gelişmesine yardımcı olacak ve aynı zamanda yurt dışına giden döviz miktarını da azaltacaktır.

SUMMARY

The study was jointly conducted at the Harran University and the biotechnology laboratory of the department of Biology education of Gazi University, Ankara. Tissue culture of economically important plants has gained considerable importance during last few years. The traditional propagation methods are not homogenous and have high risks of carrying diseases and pests. Due to this reason the plantlets produced through tissue culture are gradually becoming popular among farmers. However, due to high cost all farmers have not approach to these plantlets. To reduce the cost, the study planned to solve this problem by using different solidifying matters and carbons sources. The plant material was obtained from private farms of Alanya and banana meristem was used as explant. Agar, isubgol, and cotton fibres were used as solidifying agent and commercial white sugar and sucrose were used as carbon source in this study. Compared to agar, isubgol and cotton fibres and compared to Sigma sucrose commercial sugar are very cheap. After sterilisation, the banana rhizome exsplants were treated with 50 mg/l ascorbic acid for ½ hour and thereafter cultured on MS medium supplemented with 4.5 mg/l BAP-0.2 mg/l IBA. No statistical difference was observed in number of shoots obtained on all solidifying media and carbon sources. These were rooted on respective MS containing 0.2mg/l IBA and adapted. Excluding fixed expenditures, medium containing agar-sugar was the most expensive and the medium containing cotton-white commercial sugar was the cheapest to propagate banana plantlets. These results will help for the deveolpment of technology and at the same time will help in saving the foreign exchange that goes abroad.