

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Taylan ÇELİK

**KLONAL ANAÇ GENOTİPLERİNİN *IN VITRO* KOŞULLARDA BAZI
PRUNUS TÜRLERİYLE AŞI TUTMA ORANLARININ SAPTANMASI**

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2008

İÇİNDEKİLER	SAYFA
ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM	12
3.1. Materyal	12
3.1.1 GF-677 Anaç Genotipinin Genel Özellikleri.....	12
3.1.2 AK-1 ve AK-2 Anaç Genotiplerinin Genel Özellikleri.....	12
3.1.3 Ninfa Kaysı Çeşidinin Genel Özellikleri.....	15
3.1.4 Ferragnes Badem Çeşidinin Genel Özellikleri.....	15
3.1.5 Francoise Şeftali Çeşidinin Genel Özellikleri.....	15
3.2.Yöntem.....	16
3.2.1. Sürgün Ucu Kültürü Denemelerinin Kurulması.....	16
3.2.1.1. Besi Ortamları ve Hazırlanması.....	16
3.2.1.2. Dokuların Hazırlanması.....	16
3.2.1.3. Sürgün Uçlarının Kültüre Alınması ve Kültür Koşulları.....	18
3.2.1.4. Alt Kültüre Alma	18
3.2.1.5. <i>In vitro</i> Sürgün Ucu Aşılamanın Yapılması.....	18
3.2.2. Deneme Değişkenleri.....	19
3.2.3. Çalışmada Yapılan Sayım ve Gözlemler.....	19
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	20
4.1. Sürgün Gelişmesi Aşamasına Ait Deneme Sonuçları.....	20
4.1.1. Sürgünlerin Canlılık Oranları.....	22

4.1.2. Sürgünlerin Kardeşlenme Sayıları.....	25
4.2. Aşı Tutma Oranları.....	26
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	30
KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	36

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KLONAL ANAÇ GENOTİPLERİNİN *IN VITRO* KOŞULLARDA BAZI PRUNUS TÜRLERİYLE AŞI TUTMA ORANLARININ SAPTANMASI

Taylan ÇELİK

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Ayzin KÜDEN

Yıl : 2008, Sayfa : 36

Jüri : Prof. Dr. Ayzin KÜDEN

Prof. Dr. N. KEMAL KOÇ

Doç. Dr. Yıldız AKA KAÇAR

Bu çalışma, 2006-2007 yılları arasında Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Çalışmada Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama parselinde bulunan AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotipleri ile Ferragnes badem, Françoise şeftali ve Ninfa kaysı çeşitlerine ait sürgün uçları kullanılmıştır. Alınan sürgün uçlarının canlılık, sürgün oluşturma ve aşı tutma oranları incelenmiştir.

Araştırmada MS makro ve mikro besin elementleri, vitaminleri ve Fe-NaEDTA kompozisyonu kullanılmıştır. Sürgün geliştirme ve çoğaltma aşamasında 1.0 mg/l BAP ve 0.1 mg/l GA₃ konsantrasyonları kullanılmıştır.

Çalışmada, canlılık oranı AK-1 genotipinde % 50, AK-2 genotipinde % 25, GF-677 genotipinde % 37.5, Ferragnes % 85, Françoise %1, Ninfa % 1; kardeşlenme sayısı AK-1 genotipinde 3 sürgün/eksplant, GF-677 genotipinde 2 sürgün/eksplant, AK-2 genotipinde 8 sürgün/eksplant, Ferragnes de 3 sürgün/eksplant; aşı tutma oranları AK-1 genotipinde % 25.1, AK-2 genotipinde % 34.4 ve GF-677 genotipinde % 25.0 olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: GF-677, AK-1, AK-2 badem x şeftali melez anaçları, mikro çoğaltma, mikro aşılama.

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF *IN VITRO* GRAFTING SUCCESSES BETWEEN ROOTSTOCK CLONAL GENOTYPES AND SOME *PRUNUS* SPECIES

Taylan ÇELİK

**DEPARTMENT OF HORTICULTURE
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF CUKUROVA**

**Supervisor : Prof. Dr. Ayzin KÜDEN
Year : 2008, Pages: 36
Jury : Prof. Dr. Ayzin KÜDEN
Prof. Dr. N. KEMAL KOÇ
Doç. Dr. Yıldız AKA KAÇAR**

This study was carried out in Biotechnology Laboratory of C.U. Faculty of Agriculture, Department of Horticulture during 2004-2006. The shoot tips of AK-1 (Nonpareil x Peach), AK-2 (Nonpareil x Peach) and GF-677 almond x peach hybrid genotypes and Ferragnes, Francoise and Ninfa genotypes taken from the orchards of C.U. Faculty of Agriculture, Department of Horticulture were used. As the experimental material the viability, shoot elongation and micrografting of the shoot tips were investigated .

In the experiment, MS macro and micro nutrients, vitamins and Fe-Na EDTA composition was used. During shoot elongation and multiplication stage 1 mg/l BAP and 0.1 mg/l GA₃ plant growth regulator concentrations were used.

In this work, viability rate was found to be 50 % in AK-1, 25 % in AK-2 and 37.5 % in GF-677, 85 % Ferragnes, 1 % Ninfa, 1 % Francoise; multiplication rate was 3 shoot/explant in AK-1 genotype, 2 shoot/explant in GF-677 and 8 shoot/explant in AK-2 genotype, 3 shoot/explant in Ferragnes genotype; micrografting rate was 25.1 % in AK-1 genotype, 25 % in GF-677 and 34.4 % in AK-2 genotype.

Key Words: GF-677, AK-1, AK-2 almond x peach hybrid rootstocks, micro propagation, micrografting

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve yazım aşamasında yönlendirici katkılarıyla her zaman destek olan Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Ayzin B. KÜDEN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yürütülmesi sırasında bölümümüzün tüm olanaklarını kullanmama izin veren Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU'na, laboratuvar ve arazi çalışmalarında her türlü desteğini gördüğüm Prof. Dr. Ali KÜDEN, Doç. Dr. Yıldız AKA KAÇAR ve Doç. Dr. Yeşim YALÇIN MENDİ'ye teşekkürlerimi sunarım.

Denememin kurulması ve yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen Ar. Gör. Songül ÇÖMLEKÇİOĞLU, Ar. Gör. Hatice BİLİR EKBİÇ, Ar. Gör. Safder BAYAZİT ve değerli arkadaşlarım Biyolog Şahin CENKSEVEN, Biyolog Tolga İZGÜ, Biyolog Özhan ŞİMŞEK, Biyolog Ertan GENEYİKLİ, Biyolog Selay ELDOĞAN, Biyolog Ceren ÜNEK ve tüm biyoteknoloji laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

En son olarak fakat kesinlikle en az olmayarak her konuda olduğu gibi tezimin hazırlanması sırasında da sonsuz desteklerini gördüğüm tüm aile fertlerime şükranlarımı sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

BA	:	Benzyladenin
NAA	:	Naphtalene Asetic Acid
IAA	:	Indole Asetic Acid
BAP	:	Benzylaminopurin
FAO	:	Food and Agriculture Organization
GA ₃	:	Giberellic acid
IBA	:	Indole-3-Butyric Acid
M	:	Molar
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
µl	:	Mikrolitre
µM	:	Mikromolar
MS	:	Murashige and Skoog (1962)
WPM:		Lloyd and McCown (1980)
DKW:		Driver and Kuniyuki (1984)
AP	:	Almehdi and Parfitt (1986)
LS	:	Linsmaier and Skoog (1965)

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1.	Ülkeler Bazında Şeftali Üretimi.....	1
Çizelge 1.2.	Ülkeler Bazında Dünya Badem Üretimi.....	2
Çizelge 1.3.	Ülkeler Bazında Dünya Kayısı Üretimi.....	2
Çizelge 3.1.	GF-677, AK-1 ve AK-2 melez anaçlarının odun çeliklerine 1000 ppm IBA uygulamasının köklenme ve kallus oluşumu üzerine etkileri.....	14
Çizelge 3.2.	Sürgün geliştirme ve kardeşlenme aşamasında kullanılan kültür ortamının bileşimi.....	17
Çizelge 4.1.	Denemede kullanılan sürgün geliştirme ortamının GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaç genotipleri ile Ferragnes badem, Françoise şeftali ve Ninfa kaysı çeşitlerinde canlılık oranları (%) üzerine etkileri.....	24
Çizelge 4.2.	Denemede kullanılan sürgün geliştirme ortamının GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaç genotipleri ile Ferragnes badem çeşidinde kardeşlenme sayıları üzerine etkileri.....	26
Çizelge 4.3.	Denemede kullanılan GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaç genotipleri ile Ferragnes badem çeşitleri arasındaki aşı tutma oranları (%)......	27

ŞEKİLLER DİZİNİ	SAYFA
Şekil 3.1. AK-2 badem x şeftali melez yaprağının GF-677, badem ve şeftali yaprağı ile karşılaştırılması.....	13
Şekil 3.2. AK-1 badem x şeftali melez yaprağının GF-677, badem ve şeftali yaprağı ile karşılaştırılması.....	13
Şekil 3.3. AK-1 ile AK-2 genotiplerinin bitki ve meyvelerinden genel bir görüntü.....	14
Şekil 4.1. Büyütme odasındaki denemeden genel bir görüntü.....	20
Şekil 4.2. Bitkilerin yeni ortama aktarılmalarından genel bir görüntü..	21
Şekil 4.3. Ferragnes badem çeşidinin sürgün geliştirme ortamındaki durumu.....	23
Şekil 4.4. Francoise şeftali çeşidinin sürgün geliştirme ortamındaki durumu.....	23
Şekil 4.5. Ninfa kaysı çeşidinin sürgün geliştirme ortamındaki durumu.....	24
Şekil 4.6. Tepeye yerleştirme yöntemiyle mikro aşılanmış GF-677 klon anacı.....	28
Şekil 4.7. Tepeye yerleştirme yöntemiyle mikro aşılanmış AK-1 genotipi.....	28
Şekil 4.8. Tepeye yerleştirme yöntemiyle mikro aşılanmış AK-2 genotipi.....	29

1. GİRİŞ

Dünya şeftali (*Prunus persica L.*) üretim miktarı 2006 yılında 17.188.840 ton olmuştur (**Çizelge 1.1**). Türkiye’de 2005 yılında üretim 485.000 ton iken 2006 yılında bu değer 552.775 tona yükselmiştir. Dünya badem (*Prunus amygdalus L.*) üretim miktarı 2006 yılında 1.776.127 ton olmuştur (**Çizelge 1.2**). Türkiye’de 2005 yılında 39.000 olan üretim miktarı 2006 yılında 43.285 tona yükselmiştir. Dünya kayısı (*Prunus armeniaca L.*) üretimi 2006 yılında 3.251.254 ton olmuştur (**Çizelge 1.3**). Türkiye kayısı üretimi 2005 yılında 390.000 ton iken 2006 yılında bu değer 460.182 tona yükselmiştir (**Anonymous, 2006**)(b). Şeftali, kayısı ve badem yetiştiriciliği bakımından uygun iklim şartlarına sahip olan ülkemizin dünya pazarındaki yerini yükseltme olanağı bulunmaktadır. Buna karşın bahçe tesisinin kurulmasından pazarlamaya kadar birçok sorunun çözümlenmesi gerekmektedir. Ülkemizde badem ve şeftali fidanları çöğür anaçlarına aşılı olarak üretilmektedir. Birçok ülkede klonal anaçlar çöğür anaçlara göre kuvvetli gelişme, kolay köklenme ve hastalıklara dayanıklılık gibi bazı üstünlükleri bilindiğinden dolayı daha çok kullanılmaktadır.

Çizelge 1.1. Ülkeler Bazında Dünya Şeftali Üretimi (2006)

ÜLKELER	ÜRETİM (ton)
Çin	7.510.000
İtalya	1.664.776
İspanya	1.255.600
ABD	916.370
Yunanistan	864.380
Türkiye	552.775
Fransa	400.855
Dünya	17.188.840

Çizelge 1.2. Ülkeler Bazında Dünya Badem Üretimi (2006)

ÜLKELER	ÜRETİM (ton)
ABD	715.623
İspanya	220.000
Suriye	119.648
İtalya	112.796
İran	108.677
Fas	83.000
Yunanistan	47.088
Türkiye	43.285
Dünya	1.776.127

Çizelge 1.3. Ülkeler Bazında Dünya Kayısı Üretimi (2006)

ÜLKELER	ÜRETİM (ton)
Türkiye	460.000
İran	275.578
Özbekistan	235.637
Pakistan	189.533
Fransa	179.568
Cezayir	167.017
İspanya	141.400
Dünya	3.251.254

Klonal anaçlar, tohumdan üretilen anaçlara göre bir örnek materyal vermesi bakımından daha üstündürler (**Yılmaz, 1992**).

Meyve yetiştiriciliği yapılan ülkelerde genellikle özellikleri bilinen ve bu özellikleri mutasyonlar dışında değişmeyen anaçlar kullanılmaktadır. Klonal anaçların kullanılmasıyla verim ve kalite artırılabilmekte ve bahçe kurulması aşamasından başlayarak diğer teknik ve kültürel bakım işlemlerinde büyük kolaylıklar sağlanabilmektedir (**Çelik, 1983**).

Meyve ağaçlarında kullanılacak anaçlarda bulunması gereken bazı özellikler şu şekilde sıralanmaktadır: Anaçlar aşılandıkları çeşitlerle uyumlu kombinasyonlar vermeli, erken ve düzenli verim vermeli, düşük sıcaklıklara özellikle donlara karşı dayanıklı olmalı, hastalık taşımamalı ve kuvvetli kök sistemine sahip olmalıdır (**Trefois, 1985**).

Klonal anaçlar hızla ilerleyen teknolojiyle birlikte *in vivo* veya *in vitro* yöntemlerle çoğaltılmaktadır.

Doku kültürü teknikleri, bitki materyalinin elde edilmesinde birçok avantajlara sahiptir. Doku kültürü ile daha sağlıklı ve ana olarak seçilen materyalin aynısı bitkiler elde edilebileceği gibi bitkiler büyük ölçüde homojen olacağından özellikle bazı türler için bu yöntem daha fazla tercih edilmektedir.

Doku kültürü tekniklerinden biri olan *in vitro* mikro aşılama; bitki türlerine göre büyüklüğü. 0.1-0.8 mm arasında değişen sürgün ucu parçasının, binoküler mikroskop altında, tohumdan ya da *in vitro* mikro çoğaltma yoluyla elde edilmiş ve tepesi vurularak değişik biçimlerde kesit açılmış anaçlar üzerine steril koşullarda yerleştirilmesi işlemidir.

In vitro mikro aşılama yöntemi birçok amaçlara yönelik olarak yapılır. **Baydar ve ark. (1998)** bu amaçlar şöyle sıralanmaktadır: Virüsten arındırılmış bitki elde etmek, anaç kalem ilişkisinin incelenmesi, Hastalık etmenlerinin ayrımı ve hastalık etmenlerinin taşınması ve yayılmasının önlenmesi.

Sürgün uçlarının izole edilmesi, aşılama ve aşıllı bitkilerin bakımı aşamalarından oluşan *in vitro* mikro aşılama çalışmaları başta turuncgiller olmak

üzere şeftali, kayısı ve badem gibi birçok meyve türlerinde uygulama alanı bulmaktadır.

Nonpareil badem çeşidinin tohumlarından tesadüf çöğürü olarak bulunan AK-1 ve AK-2 badem x şeftali melezleri şeftali meyvesi görünümünde, yüksek taçlı ve kuvvetli ağaçlar meydana getirmişlerdir. 1995 yılında ekilen tohumlardan elde edilen ve bugüne kadar *in vivo* ve *in vitro* koşullarda yapılan köklendirme denemelerinde bu anaçlar GF-677 ile benzer veya daha iyi performans göstermiş olan, ümit vaat eden anaç adaylarıdır.

Bu çalışmanın amacı, Nonpareil badem çeşidinin şeftali çiçek tozları ile serbest tozlanması sonucu meydana gelmiş olan AK-1 ve AK-2 badem x şeftali melezleri ile GF-677 anacının *in vitro* koşullarda diğer sert çekirdekli ve sert kabuklu meyve türleri ile aşı tutma durumunun saptanmasıdır. Bu amaçla, bu anaçlarla Ninfa kayısı çeşidi, Ferragnes badem çeşidi ve Francoise şeftali çeşitlerinin aşı tutma oranları saptanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Nonpareil 15-1, Ne Plus Ultra ve Titan x Nemaguard (badem x şeftali melezi) anaçlarından 3-5 yapraklı 0.7 cm uzunluğunda sürgün uçları kültür ortamına alınmış ve başarılı bir şekilde çoğaltılmıştır. Nonpareil 15-1 genotipi için 0.049 μ M IBA, 3 μ M BAP, 0.058 M sakkaroz ve % 0.7 agar içeren AP ortamı, Ne Plus Ultra genotipi için ise 0.049 μ M IBA, 5 μ M BAP, 0.088M sakkaroz ve %0.7 agar içeren MS ortamı uygun bulunmuştur. Titan x Nemaguard melezi için 10 μ M BAP, 0.088 M sakkaroz ve % 0.7 agar içeren MS ortamı en iyi sürgün gelişimi vermiştir. Yaklaşık 2 cm uzunluğundaki sürgünler, 2.4 μ M IBA, 0.088 M sakkaroz ve %0.7 agar içeren MS ortamında 1 hafta karanlıkta ve 2 hafta ışıktaki bekletildikten sonra % 88 oranında köklenmiş ve her kök yaklaşık 2cm uzunluğunda olmuştur (**Channuntapitat ve ark., 2003**)

Battistini Nursery fidancılık şirketi mikro çoğaltma ile tüm şeftali anaçlarını çoğaltmaktadır. Ancak bu çoğaltma tekniklerini geliştirmek için her bir klona özel denemelere gereksinim duymaktadırlar. Mikro çoğaltılan şeftali anaçları şunlardır: Ishtara, GF-677, Penta, Tetra, Mr 2/5, Fire, Cadaman, Barrier 1, Adara, Genisa ve Julior. Şeftali anaçları mikro çoğaltım çalışmalarında önemli farklılıklar göstermişlerdir. Bazı anaçların mikro çoğaltımı çok kolay olurken, bazılarının oldukça zor olmuştur. Ayrıca bazı klonların farklı iklim koşullarına adaptasyonu da farklı olmuştur (**Battistini ve Paoli, 2002**).

Kirazda sürgün ucu aşılama yöntemi kullanılarak virüsten arındırılmış bitkiler elde edilmesi incelenmiştir. Prunus ringspot virus (PRSV), prune dwarf virus (PDV) ve chlorotic leaf spot virus (CLSV) virüsleri ile infekte kirazlar *in vitro* ortamda kültüre alınmışlar ve sonuçta chlorotic leaf spot virüsünün (CLSV) elimine edilmesinin diğer iki virüsten daha kolay olduğu bildirilmiştir (**Deogratias ve ark., 1986**).

Navarro ve ark., (1980), bitki patojenlerinin eliminasyonunda bitkilerin yetiştiği ortamlardaki sıcaklık koşullarının etkilerini incelemişlerdir. Bahçe koşullarında 18°-25 C°'de yetişen ağaçlardan alınan sürgün uçlarından %7-10

oranında virüsten arınmış bitkiler elde edilirken, sürgün uçları 27°-32 C°'deki bir seradan yetiştirilen bitkilerden sağlandığında bu oran %69'a ulaşmıştır.

Navarro ve ark., (1982), şeftalide virüsten arındırılmış bitkiler elde etmek amacı ile sürgün ucu aşılama tekniğini kullanarak, *chlorotic leaf spot virüs (CLSV)*, *prunus ringspot virus (PRSV)*, *prune dwarf virüs (PDV)* ve *plum pox virüs (PPV)* virüslerinden arınmış bitkiler elde etmeye çalışmışlardır. CLSV ve PPV için %70-100, PRSV ve PDV'ün % 0-92 oranında elimine edildiğini saptamışlardır.

Peach latent mosaic viroidi (PLMVd) beş farklı şeftali türünde (Armking, Stark Red, Tirebrite, Maygrand ve GF-677) biyolojik, elektroforetik ve moleküler hibridizasyon denemeleri ile saptanmış ve ana bitkiden alınan apikal meristemler *in vitro* kültürde sağlıklı bitkilere aşılanmıştır. Sonuçlar *in vitro* mikro aşılama tekniklerinin PLMVd ile infekteli şeftali bitkilerinde eliminasyon için uygun olduğunu göstermiştir (**Barba ve ark., 1995**).

Juárez ve ark., (1992) bademde *in vitro* sürgün ucu aşılama yöntemini kullanarak virüsten arındırılmış bitkiler elde etmeye çalışmışlardır. Sera koşullarına aktarılan 4-5 haftalık aşılanmış bitkilerde % 40-50 oranında aşı başarısı ve % 75-85 hayatta kalma oranı sağlanmışlardır. Araştırmada mikroaşılama elde edilen başarının tür ve çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir. Sonuçta tüm bitkilerde *Apple mosaic virusünde (ApMV)* %100, *Prunus necrotic ringspot virusünde (PNRSV)* %80 ve *Prune dwarf virusünde (PDV)* %46 eliminasyon sağlanmıştır.

Navarro ve ark. (1976), turunçgillerde sürgün ucu aşılama tekniğini kullanarak psorosis virüsü ve exocortis viroidinin elimine edilmesi amacıyla, sürgün ucu kaynağının ve ölçüsünün etkilerini araştırmak üzere çalışmışlardır. En iyi sürgün ucu kaynağının serada yetiştirilen fidan veya bahçede mevcut ağaçların yapraklarının koparılması sonucu oluşan yeni sürgünlerden olduğunu bildirmişlerdir.

Tamer (1988), Navel portakalında virüsten arınmış bitkiler elde etmek amacıyla *in vitro* sürgün ucu aşılama ve termoterapi tekniklerini kombinasyon halinde kullanmış ve sonuçta tüm patojenlerden arınmış bitkiler elde etmiştir.

İspanya'da yurt dışından gelen turunçgil türleri öncelikle indeksleme için karantina seralarına alınmıştır. Burada gelişen sürgünler mikro aşılama yapmak için

kullanılmış ve böylece ülkeye giren materyalin, hastalık ve zararlılardan arınmış 0,1-0,2 mm uzunluğundaki bitki materyali olduğu belirlenmiştir. Bu metod farklı ülkelerden gelen 40 kadar çeşit için de uygulanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (**Navarro ve ark., 1986**).

Navarro ve ark. (1975), turuncgillerde sürgün ucu aşılamalarına uygun anaç ve sürgün kaynağını belirlemek için çalışmalar yapmışlardır. En iyi sürgün kaynağının, sera koşullarında yetişen fidanlar veya bahçe koşullarında yetişen ağaçların sürgünleri olduğunu bildirmişlerdir. Anaç olarak, portakal için Troyer citrange, limon ve laym için ise kaba limon tercih etmişler ve *in vitro* sürgün ucu aşılama işleminde %30-50 oranında aşılama başarısı sağlamışlardır. Elde edilen bitkilerin arazide yaşama oranları %95 olmuştur.

Aşı kalem uyuşmasındaki problemlerin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada kayısı/erik (*P. cerasifera*), kayısı/şeftali ve erik/şeftali kombinasyonları denenmiş ve sürgün ucu aşılama sonrasında sürgün uçlarının yavaş bir gelişme gösterdiği, 14 gün sonra aşı yerinde nekrozların gözlemlendiği ve 60 gün sonrada aşılı bitkilerin öldüğü bildirilmiştir (**Martinez ve ark., 1981**).

De Lange ve ark., (1981), Troyer sitranj/portakal kombinasyonunda aşılama dört gün sonra aşı birleşme yerinde hücre aktivitesinin başladığı bildirilmişlerdir.

Yapılan çeşitli mikro aşılama çalışmalarında ilk hücre aktivitesinin aşılama iki gün sonra başladığı ve 15 gün sonra anaç ile kalem arasında kambiyum bağlantısının kurulmuş olduğu bildirilmiştir (**Jonard, 1986**).

Antepfıstığında yapılan mikro aşılama, aşılama 3 gün sonra hücre aktivitesinin, 21 gün sonrada anaç kalem arasında iletimin başladığı saptanmıştır (**Aboussalim ve Mantell., 1992**).

Şeftalide yapılan sürgün ucu aşılama çalışmalarında ortama NAA ile IAA ilave edilmesi veya sürgün uçlarının zeatin ile ön muamele edilmesinin aşı başarı oranını arttırdığı belirtilmiştir (**Martinez ve ark., 1979**).

Turuncgil türlerinde besin ortamında anacın kesilen tepe kısmına, sürgün ucunu yerleştirmeden önce indol-3-asetik asit (IAA), Benziladenin (BA) veya, IBA uygulamasının aşı başarısını etkilediği saptanmıştır (**Navarro ve ark., 1975**).

Turunçgillerde yapılan sürgün ucu çalışmalarında mikro aşılama yapılmadan önce anacın ve kalemin kesim yüzeylerinin 2,4-D veya kinetin içine daldırmanın aşı başarı oranını arttırdığı bildirilmiştir (**Edriss ve Burger., 1984**).

Deogratias ve ark. (1986), sürgün ucunun alındığı bitkinin fizyolojik yaşının sürgün ucu aşılama tekniğinde çok önemli bir faktör olduğu bildirilmişlerdir. Kiraz ve şeftalide yaptıkları çalışmalarda olgun materyallerle mikro aşılama %15-20, genç sürgün uçları ile mikro aşılama %50 başarı sağlandığını belirtmişlerdir.

In vitro sürgün ucu aşılama tekniğinde dört değişik turunçgil türünde (portakal, altıntop, limon ve mandarin) kesim yöntemlerinin (ters-T, ters-T' den parça alma, gövdeye üçgen kesim ve tepeyi kesme) başarı oranları belirlenmeye çalışılmıştır. Atwood Navel portakal çeşidinde ters-T, Star Ruby altıntop çeşidinde ters-T ve ters-T' den parça alma, Kara limon çeşidinde tepeye koyma, Klemantin mandarin çeşidinde ise gövdeye üçgen kesim şekli daha başarılı bulunmuştur (**Göçmen, 1992**).

Martinez-Gomez ve ark. (2000), mikro aşılama tekniklerinin virüsten arındırılmış bitki elde etmek, seçilen genotiplerin çoğaltılması, zayıf materyallerin güçlendirilmesi ve bitki materyallerinin çoğaltılması için kullanılan çok yararlı bir teknik olduğunu kanıtlanmıştır. Farklı koşullar altında Nonpareil badem tohumlarının *in vivo* mikro aşılama başarısı araştırılmıştır. Anaç olarak 'Hanson' (Şeftali x Badem) melezi, Nemared ve Nemaguard şeftali melezi kullanılmıştır. Dokular odunsu özellik kazandığında anaçlar aşılansın ve işlemler arasındaki farklılıklar gözlenmiştir.

Pistacia vera L. var. Siirt'in sürgün uçlarının *in vitro* mikro aşılansın üzerine çalışılmıştır. *In vitro*'da geliştirilen *P. mutica*, *P. terebinthus* ve *P. khinjuk* bitkileri anaç olarak kullanılmıştır. Farklı sterilizasyon yöntemleri ve embriyo kültürü denenmiştir. *P. vera cv Siirt*'in *in vivo*'da gelişen sürgün uçlarının, *P. mutica*, *P. terebinthus*, *P.khinjuk* ve *P. atlantica* anaçları üzerindeki uyumluluk ve gelişmesi araştırılmıştır. Verim yaşındaki antep fıstığı ağaçlarından alınan sürgün uçlarının *in vitro*'da geliştirilen anaçlar üzerine mikro aşılansında sürgün gelişimi ve uyumluluğu meydana gelmemiştir (**Can ve ark., 2006**)

Ma ve ark., (1996) *Morus alba*'da *in vitro* sürgün ucu aşılama için başarılı bir protokol açıklamışlardır. Tohumlar günlük 16 saat fotoperiyotta 2 hafta ve Murashige ve Skoog (MS) ortamında 26 C°'de karanlıkta 10 gün inkübasyona alınmıştır. Sürgünler kesilmiş ve sürgün dip kısımları 500 µm IBA'da 30 dakika ıslanmıştır. Sürgünler yarı katı MS ortamında 10-12 gün karanlıkta inkübasyona alınmıştır. Gövdelerin 8 mm çapında olanları anaç olarak kullanılmış ve *Morus alba*'nın ticari çeşitlerinden seçilen 1-2 mm uzunluğundaki sürgün uçları da kalem olarak kullanılmıştır. *In vitro* sürgün ucu aşılama başarısı %75-80 olarak bulunmuştur.

Obeidy ve Smith (1991), anaçlarda farklı aşılama başarı oranını artırmak amacıyla çift katmanlı bir aşı bandı geliştirmişlerdir. Dışı alüminyum folye, içi emici bir kağıt katmandan oluşan, silindirik, iki adet sarma koluna sahip bu bant ile birlikte büyüme düzenleyicilerinin de kullanılabildiğini ve bantın kalem ile anaçın bağlantı yerini desteklediğini bildirmişlerdir. Bu bantın elma, vişne ve turunçgillerde sürgün ucu aşılama tekniğinde kullanıldığını ve aşı başarı oranını artırdığını bildirmişlerdir.

Asmada, sürgün ucu kaynağının *in vitro* mikro aşılama başarı üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bitkisel materyal olarak Kalecik karası, Emir, Uslu, Hafızali ve Razaki üzüm çeşitlerine ait sürgün ucu meristemleriyle 5 BB anaçına ait çöğürler kullanılmıştır. Sürgün ucu meristemleri hem *in vivo*, hemde *in vitro* kaynaklardan alınmıştır. Bu sürgün uçları ile tepeye yerleştirme yöntemiyle aşılama bitkicikler, katı MS ortamında iki ay süreyle kültüre alınmışlardır. Sonuçta aşı tutma oranlarının sürgün ucu kaynağına göre değiştiği ve en yüksek aşı tutma oranlarının (%40,9-68,2) *in vitro* sürgün ucu ile aşılama bitkilerden elde edildiği belirlenmiştir. Aşı tutma oranlarındaki bu farklılığa rağmen, sürgün ucu kaynağının mikro aşılarda sürgün ve kök gelişmesini fazla etkilemediğini saptanmışlardır. Ayrıca, mikro aşılarda başarının asma çeşitleri arasında farklılıklar gösterdiğini de tespit edilmişlerdir (**Göktürk-Baydar ve ark., 1998**).

Antepfıstığının farklı yaş grubu ağaçlarından (1.5, 10, 30 yıllık) alınan mikro çeliklerin *in vivo* ve *in vitro* ortamda aşı tutma oranları araştırılmıştır. *In vitro* mikro aşılamada, MS besi ortamında çimlendirilen 10-12 günlük fideler anaç olarak kullanılmıştır. *In vivo* aşılamada; kalem ile anaç arasındaki destek ve kaynaşmayı sağlamak için parafilm bant kullanılmıştır. *In vivo* mikro aşı fidelerde daha fazla sürgün oluştuğu ve daha iyi büyüme gözlemlendiği, arazi koşullarına aktarıldıktan sonrada gelişmelerine devam ettikleri bildirilmiştir. Yumuşak dokulu genç anaçlarda mikro sürgünlerin gelişmesi değerlendirildiğinde, antepfıstığının klonal çoğaltımı için yararlı bir teknik olacağı belirtilmiştir (**Onay ve ark., 2002**).

In vivo koşullarda AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotipleri ile yapılan köklenme denemelerinde kasım ayında alınan çeliklere IBA'nın farklı dozları uygulanarak sisleme ünitesine alınmış ve AK-1 ile GF-677 genotipleri benzer oranlarda (% 40), AK-2 her ikisinden daha üstün oranlarda (%90) köklenme sağlamıştır (**Gangal, 2004**).

Bazı uyuşur ve uyuşmaz şeftali/erik aşı kombinasyonlarında aşıdan 1, 4 ve 12 ay sonra aşı yerinin durumu incelenmiştir. Uyuşur kombinasyonlarda kallus, kambiyum oluşumu ve vasküler farklılaşmanın aşıdan sonraki dört ay içerisinde gerçekleştiği görülmüştür. Yine uyuşur kombinasyonlarda aşılamadan bir yıl sonra alınan örneklerde aşı yerinde ve kalemde nişasta birikmediği saptanmıştır. Uyuşmaz kombinasyonlarda ise kallus hücrelerinin önemli bir kısmının farklılaşmadığı, aşıdan sonraki bir ay içerisinde bazı bölgelerde kambiyumun kısmen oluştuğu, aşıdan sonraki 4 ay içerisinde ise vasküler farklılaşmanın tam olarak meydana gelmediği ve nekrotik tabakaların arttığı gözlenmiştir. Denemede anaç ve kalem arasındaki kallusun genelde anaç kabuğunun kaldırılmasıyla oluşan boşlukta anacın kambiyum ve ksilem dokularından yan ceplerde ve aşı gözünün zarar görmemiş kambiyum ve floem dokusundan gözün hemen altında oluştuğu görülmüştür (**Demirsoy ve ark., 2006**).

Texas ve Nonpareil badem (*Amygdalus communis L.*) çeşitlerinin sürgün ucu kültürü ile *in vitro* vejetatif çoğaltma olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla farklı IBA ve BAP düzeyleri, takip eden üç farklı kültür aşamasında (ilk dikim, şaşırtma ve çoğaltma) ayrı ayrı test edilmiş ve sonuçlar sürgün gelişmesi için hormon içermeyen

veya sadece düşük düzeyde IBA (0.1 mg/l) içeren ortamların daha uygun olduğu belirlenmiştir. Hem şaşırtma hem de çoğaltma aşamasında ise, 0.1 mg/l IBA ile 1.0 mg/l BAP kombinasyonu sürgün verimi ve gelişmesi bakımından en iyi sonuçları vermiştir. Yüksek dozlarda (2.0 veya 3.0 mg/l) BAP kullanıldığı zaman camlaşmaya ve kallus oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir (**Gürel ve Gülşen, 1998**).

Demirkök (2006), AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotiplerinin sürgün ucu yöntemiyle *in vitro* mikroçoğaltım olanaklarını araştırmıştır. Çalışmada AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez genotiplerine ait sürgün uçları kullanılmış ve alınan sürgün uçlarının canlılık, sürgün oluşturma ve köklenme oranları incelenmiştir. Canlılık oranları AK-2 genotipinde % 91.25, AK-1 genotipinde %88.75 ve GF-677 genotipinde %85; kardeşlenme sayısı ise AK-1 genotipinde 2.43 sürgün/eksplant, GF-677 genotipinde 0.88 sürgün/eksplant ve AK-2 genotipinde 0.5 sürgün/eksplant; köklenme oranı AK-1 genotipinde %24.06, GF-677 genotipinde % 22.25, Ak-2 genotipinde % 6.19 bulunmuştur.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarında yürütülmüştür. Anaç materyali olarak Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama parselinde bulunan AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez anaçları, aşı materyali olarak da Francoise şeftali, Ferragnes badem ve Ninfa kaysı çeşitleri kullanılmıştır.

3.1. Materyal

3.1.1. GF-677:

Kireçli topraklara uygun, *Phytophthora*, kloroz ve kök kanserine dayanıklı, yüksek kalitede meyve oluşumuna neden olan kuvvetli bir anaçtır. Diğer meyve türleri gibi meyveye yatma sorunu olmayıp, ağaçları hemen ikinci yılda meyve vermeye başlayan şeftaliler için kısa sürede büyük taçlı ağaçlar oluşturması bakımından GF-677 bugün dünyanın bir çok yerinde olduğu gibi Ege, Akdeniz, Marmara ve GAP bölgesi için de önerilebilen bir anaçtır (Küden, 2000).

3.1.2. AK-1 ve AK-2 :

Nonpareil badem tohumlarından elde edilmiş olan badem (*Prunus dulcis* L.) x şeftali (*Prunus persicae* L.) melezleridir. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Ayzin KÜDEN ve Prof. Dr. Ali KÜDEN tarafından tesadüf melezi olarak bulunmuştur. *In vivo* koşullarda yapılan köklendirme denemelerinde üstün oranlarda köklenme yeteneğine sahip anaçlardır (Gangal, 2004). Çizelge 3.1'de AK-1, AK-2 ve GF-677 klonal anaçlarında 1000 ppm IBA uygulamasının köklenme ve kallus oluşumu üzerine etkileri verilmiştir. Şekil 3.1. ve 3.2. de AK-2 ve AK-1 genotiplerinin yapraklarının GF-677, badem ve şeftali yaprağı ile karşılaştırılması yer almaktadır. Şekil 3.3.'te AK-1 ve AK-2 genotiplerinin bitki ve meyvelerinden genel bir görüntü verilmiştir.



Şekil 3.1. AK-2 badem x şeftali melez yaprağının GF-677, badem ve şeftali yaprağı ile karşılaştırılması.



Şekil 3.2. AK-1 badem x şeftali melez yaprağının GF-677, badem ve şeftali yaprağı ile karşılaştırılması.



Şekil 3.3. A- AK-1 genotipinin bitki ve meyvelerinden genel bir görüntü.

B- AK-2 genotipinin bitki ve meyvelerinden genel bir görüntü.

Çizelge 3.1. GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaçlarının odun çeliklerine 1000 ppm IBA uygulamasının köklenme ve kallus oluşumu üzerine etkileri (Gangal, 2004).

Anaçlar	Köklenme oranı (%)	Kallus oluşumu (%)	Ort.Kök Sayısı (%)
GF-677	40	30	5.75
AK-1	40	50	3.50
AK-2	90	10	5.77

3.1.3. Ninfa Kaysı Çeşidi:

Bu çeşit Bologna Üniversitesi (İtalya) tarafından elde edilmiştir. Ağaçları az güçlü, geniş yapılı ve meyve verimi yüksektir. Kendine verimlidir. Meyveleri orta büyüklükte, yuvarlak şekillidir; üzerinde belli belirsiz kırmızı renk görülen açık sarı renklidir. Açık sarı meyve etlidir, oldukça dayanıklı ve yarmadır. Lezzet özellikleri ise orta düzeydedir. Denenmiş çeşitler arasında bilinen en erkenci çeşittir. (Çukurova bölgesinde Nisan sonu Mayıs başında olgunlaşır). San Castrese çeşidinden 16 gün, Tyrinthos çeşidinden ise 12 gün önce olgunlaşır (Anonymous, 2006)(a).

3.1. 4. Ferragnes Badem Çeşidi :

Cristomorto ile Ai badem çeşitlerinin melezidir. Çok geç çiçek açar ve orta zamanda meyvelerini olgunlaştırır. Güçlü, verimli ağaçlara sahiptir. Kabuk sert, iç randımanı %30-43 arasında değişmektedir. İç badem geniş ve uzun yapıda, genişlik/uzunluk oranı % 42 dir (Kester ve ark., 1990).

3.1.5. Francoise Şeftali Çeşidi:

Springcrest şeftali çeşidinden mutasyon ile elde edilmiştir. Ağaçları çok güçlü ve kısmi olarak yarı dik gelişir. Erken olgunlaşan bir çeşittir. Meyve; iri, geniş, yuvarlak, uç kısmı yassılaştırmıştır. Meyve zemini sarı, yoğunluk ise kırmızıdır. Sarı, turuncu bir zemin üzerinde % 80-90 oranında kırmızı yada kırmızı turuncu bir epidermise sahiptir. Meyve eti sarı ve meyve içeriği zengindir (Zanzi, 2003).

3.2. Yöntem

3.2.1. Sürgün Ucu Kültürü Denemelerinin Kurulması

3.2.1.1. Besi Ortamları ve Hazırlanması

Araştırmada **Murashige ve Skoog'un (1962)** makro ve mikro elementleri, vitaminleri ve Fe-Na EDTA kompozisyonu sırasıyla sürgün geliştirme, çoğaltma aşamalarında değiştirilmeden kullanılmıştır.

Büyüme düzenleyicilerden, sürgün geliştirme ve kardeşlenme aşamasında 1mg/l BA ve 0.1 mg/l GA₃ kullanılmıştır.

Bütün kimyasallar eritildikten sonra hacim tamamlanmış ve 1 N'lik HCl ve 1 N'lik KOH kullanılarak pH 5.8'e ayarlanmıştır. Katılaştırıcı olarak agar (sigma) kullanılmıştır. Hazırlanan ortamlar, ısıtıcı üzerinde kaynamaya başlayınca kadar tutulmuş ve 2.5 cm çapında ve 25 cm uzunluğundaki deney tüplerinde 10 ml/tüp olacak şekilde dağıtılarak 121°C sıcaklık ve 1.05 kg/cm² basınç altındaki otoklavda 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir.

3.2.1.2. Dokuların Hazırlanması

Çalışmada kullanılmış olan AK-1, AK-2 ve GF-677 badem x şeftali melez tipleri ile Ferragnes badem, Françoise şeftali ve Ninfa kaysı çeşitleri aktif oldukları Mayıs dönemindeki sürgünleri laboratuvara getirilmiş, musluk altında yıkandıktan sonra, 4 dakika %70'lik etil alkol çözeltisinde, daha sonra %20'lik sodyum-hipoklorit ve bir iki damla Tween-20 içeren solüsyonda 5 dakika bekletilmiş ve steril kabin içerisinde 3-4 kez steril saf su ile çalkalanarak yıkanmıştır.

Çizelge 3.2. Sürgün geliştirme ve kardeşlenme aşamasında kullanılan besi ortamının bileşimi

Makro Elementler	(MURASHIGE ve SKOOG, 1962) (mg/l)
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂	332.2
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	(MURASHIGE ve SKOOG, 1962) (mg/l)
KI	0.83
H ₃ BO ₃	6.20
MnSO ₄ .H ₂ O	16.9
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
FeNaEDTA	36.72
Vitaminler	(MURASHIGE ve SKOOG, 1962) (mg/l)
Myo-inostol	100
Thiamine-HCl	0.4
Pyridoxin-HCL	0.5
Nikotik asit	0.5
Büyüme Düzenleyiciler (mg/l)	
6-Benzyladenin	1
Gibberellic Acid	0.1
Karbonhidratlar(g/l)	
Sakaroz	30
Katılaştırıcı Maddeler	
Agar	8 g/l
pH	5.8

3.2.1.3. Sürgün Uçlarının Alınması ve Kültür Koşulları

Sterilizasyonu yapılan bitki materyallerinden 0,5–1,0 mm büyüklüğündeki sürgün uçları alınarak **Çizelge 3.2**'de kimyasal bileşimi verilen sürgün geliştirme ortamına alınmışlardır. Dikim işleminden sonra tüplerin kapakları kapatılmış ve kapakların alt kısımları hava almayacak biçimde şeffaf folyo ile sarılarak, tüp içindeki sürgün uçlarının dış ortamla ilişkisi kesilmiştir. Daha sonra tüpler 25–26°C ve 3000–4000 lüks ışık koşullarına sahip iklim odalarında kültüre alınmışlardır.

3.2.1.4. Alt Kültüre Alma

Sürgün uçları, steril kabin içerisinde 2.5x15 cm'lik tüplere dağıtılan ortamlar üzerinde kültüre alınmışlardır. Sürgün uçlarının alınmasından 4 hafta sonra kalem olarak kullanılacak bitkicikler (Ferragnes, Francoise ve Ninfa) ile anaç olarak kullanılacak bitkicikler (GF-677, AK-1 ve AK-2) yeniden **Çizelge 3.2.**'de kimyasal bileşimi verilen sürgün geliştirme ve kardeşlenme ortamına aktarılmışlardır. Bitkicikler bu ortamlar üzerinde 4 hafta süre ile tutulmuşlardır.

3.2.1.5. *In vitro* Sürgün Ucu Aşılamanın Yapılması

Mikroaşılama tekniğinde seçilen şeftali, kayısı ve badem çeşitleri için aşılama yöntemi olarak "Tepeye yerleştirme" yöntemi kullanılmıştır. Bu aşılama yönteminde sürgün ucu meristeminin kesilmesi ile açıkta kalan iletim halkası üzerine iyice temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Yerleştirilmeden önce aşı tutma oranını artırmak amacıyla kalemin ve anacın kesim yüzeyleri 0.5 mg/l BA içerisine batırılmıştır. Bu şekilde mikroaşılama bitkiler, köklenme ortamına dikilmişlerdir. İki aylık gelişmelerinin ardından tüplerden çıkartılan mikroaşılı bitkiler aşı tutma oranları ile gelişme özellikleri bakımından incelenmişlerdir.

3.2.2 Deneme Değişkenleri

Araştırmada aktif dönemde (Mayıs ayında) alınan sürgün uçlarının yaşama, kardeşlenme ve aşı tutma oranları incelenmiştir.

3.2.3. Çalışmada Yapılacak Sayım ve Gözlemler

$$\text{Canlılık Oranı (\%)} = \frac{\text{Canlı Sürgün Ucu Sayısı}}{\text{Toplam Sürgün Ucu Sayısı}} \times 100$$

$$\text{Kardeşlenme Oranı (\%)} = \frac{\text{Kardeşlenen Sürgün Sayısı}}{\text{Toplam Sürgün Sayısı}} \times 100$$

$$\text{Aşı tutma oranları (\%)} = \frac{\text{Aşılanan bitki sayısı}}{\text{Tutan aşı sayısı}} \times 100$$

In vitro çoğaltmada aşı uygulaması tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 yinelemeli ve her yinelemede 8 bitki olacak şekilde düzenlenmiş ve gruplandırmada Tukey testi kullanılmıştır.

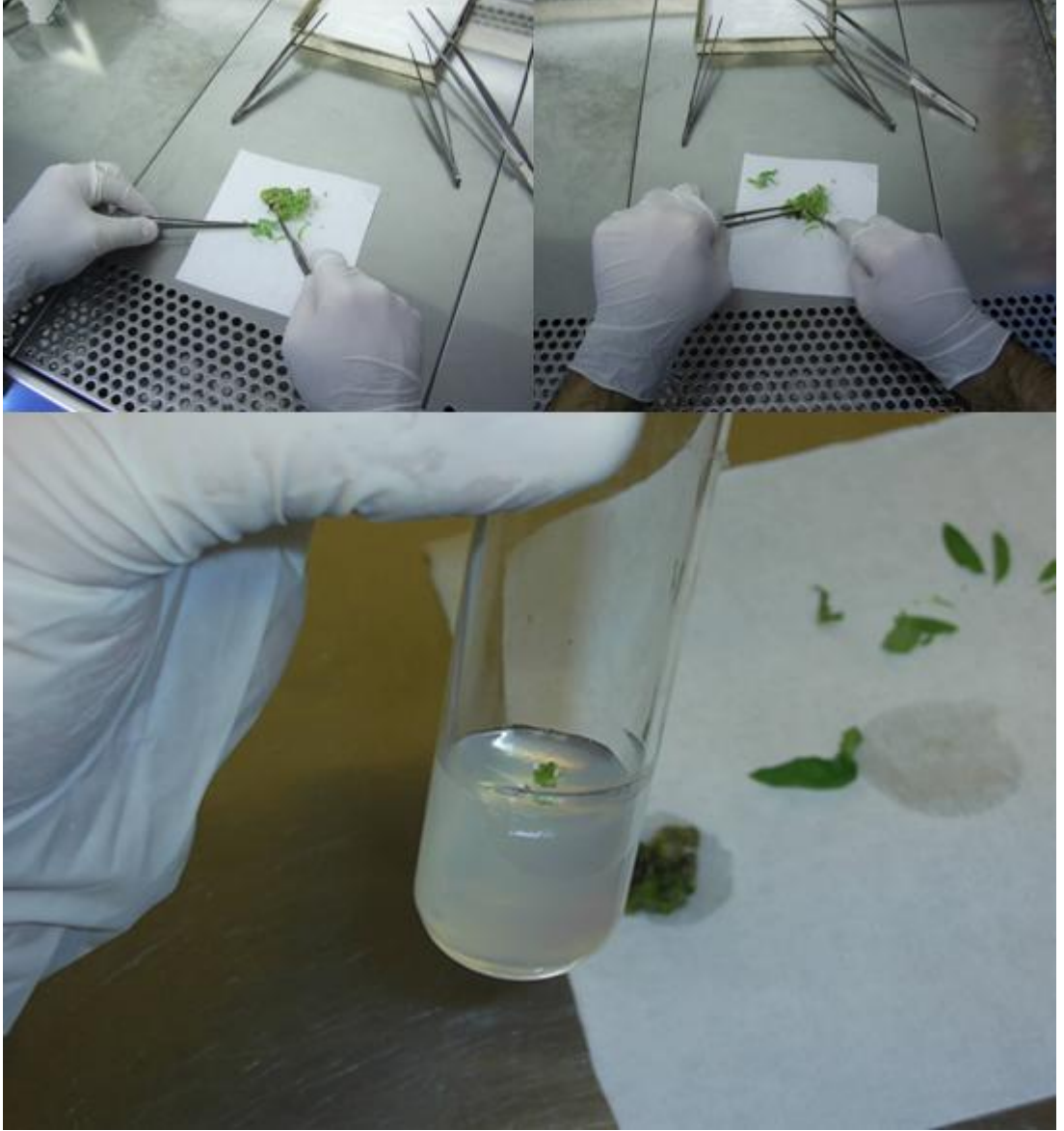
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sürgün Gelişmesi Aşamasına Ait Deneme Sonuçları

Sürgün gelişmesi aşamasında kültür ortamının GF-677, AK-1 ve AK-2, klon anaç genotipleri ile Ferragnes badem, Francoise ve Ninfa kaysı çeşitlerinde sürgün canlılığı, gelişimi ve kardeşlenme üzerine olan etkileri incelenmiştir. **Şekil 4.1**'de sürgünlerin bulunduğu büyütme odasından genel bir görüntü verilmiştir. **Şekil 4.2**'de bitkilerin yeni ortama aktarılmalarından genel bir görüntü verilmiştir.



Şekil 4.1. Büyütme odasındaki denemeden genel bir görünüm.



Şekil 4.2. Bitkilerin Yeni Ortama Aktarılmalarından Genel Bir Görüntü

4.1.1. Sürgünlerin Canlılık Oranları

Sürgün gelişmesi aşamasında kültür ortamının GF-677, AK-1 ve AK-2, klonal anaç genotipleri ile Ferragnes badem, Francoise şeftali ve Ninfa kaysı çeşitlerinde sürgün canlılık oranları üzerine etkileri **Çizelge 4.1**'de verilmiştir. Anaç olarak kullanılan genotipler kıyaslandığında AK-1 (% 50) genotipi, AK-2 (% 25) ve GF-677 (%37.5) genotiplerine oranla daha yüksek canlılık oranına sahip olmuştur. Ferragnes badem (% 85) çeşidi, Francoise şeftali (% 1) ve Ninfa kaysı (% 1) çeşidine göre daha yüksek canlılık oranına sahip olmuştur. Francoise şeftali ve Ninfa kaysı çeşitleri mikro çoğaltım aşamasında karşılaşılan enfeksiyon ve kuruma nedeniyle aşılama kullanılamamıştır. Ninfa kaysı çeşidi fenolik bileşikler nedeniyle düşük bir yaşama oranına sahip olmuştur. Bu bileşiklerin salgılanmasını önlemek amacıyla kültüre alınan sürgün uçları bir hafta karanlık ortamda tutulmuş, daha sonra büyütme odası koşullarına alınmışlardır. Ancak yine de canlılık oranları artırılmamıştır. **Battistini ve Paoli**'nin (2002) çalışmalarında belirttikleri gibi genotiplerin sürgün canlılık oranları ve kullanılan ortama gösterdikleri tepkiler arasındaki farklılıklar klonların farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Araştırmacılar şeftali anaçlarında yaptıkları çalışmada, önemli farklılıklar tespit etmiş ve bunların genotipten ve genotiplerin adaptasyon kabiliyetinin ayrı olmasından kaynaklandığını, bu nedenle klona özel çalışmaların yapılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Şekil 4.3'de Ferragnes badem çeşidinin, **Şekil 4.4**'te Francoise şeftali çeşidinin, **Şekil 4.5**. Ninfa kaysı çeşidinin sürgün geliştirme ortamındaki durumları verilmiştir.



Şekil 4.3. Ferragnes Badem Çeşidinin Sürgün Geliştirme Ortamındaki Durumu



Şekil 4.4. Francoise Şeftali Çeşidinin Sürgün Geliştirme Ortamındaki Durumu



Şekil 4.5. Ninf Kaysı Çeşidinin Sürgün Geliştirme Ortamındaki Durumu

Çizelge 4.1. Denemede kullanılan sürgün geliştirme ortamının GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaç genotipleri ile Ferragnes badem, Francoise şeftali ve Ninf kaysı çeşitlerinde canlılık oranları (%) üzerine etkileri.

ÇEŞİT	Canlılık oranı (%)
GF-677	37.5
AK-1	50
AK-2	25
Ferragnes	85
Francoise	1
Ninfa	1

4.1.2. Sürgünlerin Kardeşlenme Sayıları

Denemede kullanılan sürgün geliştirme ortamının GF-677, AK-1 ve AK-2 klon anaç genotipleri ile Ferragnes badem çeşidinde kardeşlenme üzerine etkileri **Çizelge 4.2'**de verilmiştir.

AK-1 (3 sürgün/eksplant), AK-2 (8 sürgün/eksplant) ve GF-677 (2 sürgün/eksplant), kalem olarak kullanılan Ferragnes (3 sürgün/eksplant) kardeşlenme sayısı vermişlerdir. Genotipler arasında istatistiksel açıdan farklılıklar olmuştur. En yüksek kardeşlenme (8 sürgün/eksplant) AK-2 genotipinden elde edilmiş ve bunu AK-1 (3 sürgün/eksplant) ve Ferragnes (3 sürgün/eksplant) genotipleri izlemiştir.

Elde edilen bulgular, **Demirkök'ün (2006)** yaptığı çalışmayla paralellik göstermiştir. Kardeşlenme oranları açısından AK-1 genotipi, GF-677 klon anacından daha iyi sonuçlar verirken, AK-2 genotipi her iki klonal anactan daha yüksek değerler vermiştir. **Gürel ve Gülşen. (1998)**, Bademde (*Amygdalus communis* L.) yaptıkları çalışmada çoğaltma aşamasında 1.0 mg/l BA kullanılmasının sürgün verimi ve gelişmesini olumlu yönde etkilediğini belirtmişlerdir. 1 mg/l BA içeren ortamda GF-677 genotipinin çoğaltılması en iyi sonucu verdiği saptanmıştır (**Kamali ve ark., 2001**).

Çizelge 4.2. Denemede kullanılan sürgün geliştirme ortamının GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaç genotipleri ile Ferragnes badem çeşidinde kardeşlenme sayıları üzerine etkileri.

ÇEŞİT	Kardeşlenme (bitki/eksplant)
AK-2	8 a
AK-1	3 b
Ferragnes	3 b
GF-677	2 b
LSD % 5 (1.58)	

4.2. Aşı Tutma Oranları

Aşı kalemi olarak kullanılan Ferragnes badem çeşidine ait sürgün ucu meristemleri mikro aşılama tekniği için en uygun aşılama yöntemi olarak belirlenen “Tepeye yerleştirme” yöntemi ile anaç olarak kullanılan GF-677, AK-1 ve AK-2 klon anaç genotipleri üzerine aşılanmışlardır.

Anacın tepe kısmı kesilip, bu kısma 2-3 mm uzunluğundaki sürgün ucunun yerleştirilmesi şeklinde aşılama yapılmıştır.

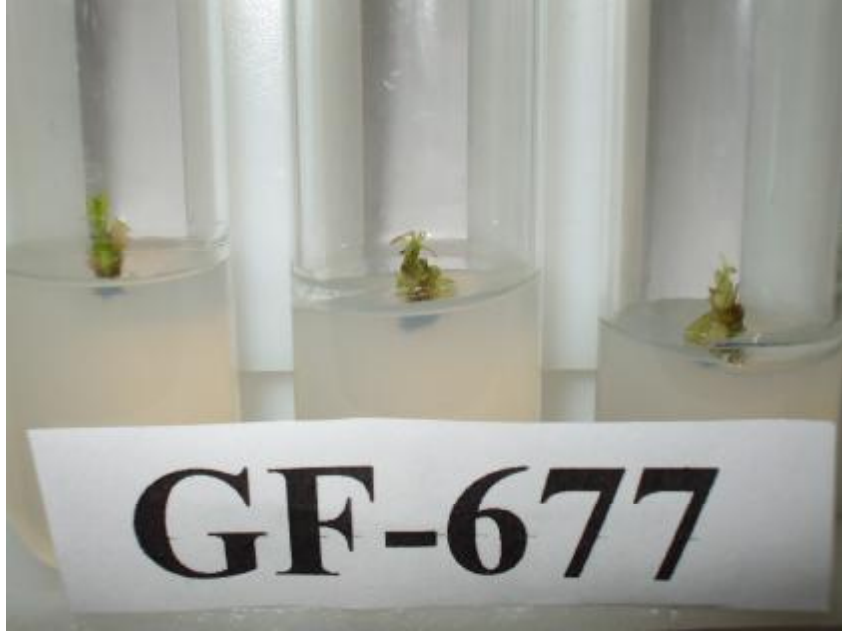
Aşı kalemi olarak kullanılan Ferragnes badem çeşidine ait sürgün ucu meristemleri, anaç olarak kullanılan GF-677, AK-1 ve AK-2 klon anaç genotipleri üzerine aşılanmış ve aşı tutma oranları tespit edilmiştir.

Francoise şeftali ve Ninfa kaysı çeşitleri mikro çoğaltım aşamasında enfeksiyon ve kuruma nedeniyle kaybedildiğinden aşılama kullanılamamıştır. Çalışmaya yüksek kardeşlenme oranı veren Ferragnes badem çeşidi ile devam

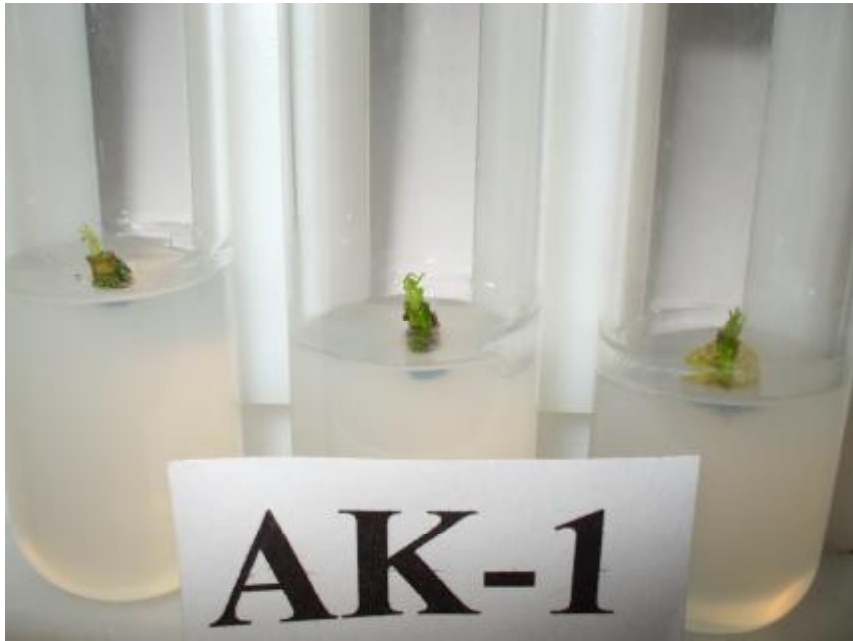
edilmiştir. **Çizelge 4.3'**de Ferragnes badem çeşidi ile GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaç genotipleri arasındaki aşı tutma oranları verilmiştir. Aşılamadan 4 hafta sonra yapılan gözlemlerde AK-2 anacı üzerine aşılamanın Ferragnes badem çeşitleri arasında aşı tutma oranları en yüksek bulunmuştur. Anaç genotipleri arasında aşı tutma oranları bakımından istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır. **Şekil 4.6'**te tepeye yerleştirme yöntemiyle mikro aşılama yapılmış GF-677 klon anacının, **Şekil 4.7'**de tepeye yerleştirme yöntemiyle mikro aşılama yapılmış AK-1 genotipinin, **Şekil 4.8'**de tepeye yerleştirme yöntemiyle mikro aşılama yapılmış AK-2 genotipinin bir aylık gelişimleri görülmektedir. Aşılama sonrasında tüpe konan bazı aşı kalemlerinin düştüğü gözlenmiştir ve bu aşılama da başarısız olarak nitelendirilmiştir. **Juarez ve ark. (1992)** bademde yaptıkları çalışmada mikro aşılama elde edilen başarının tür ve çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde badem, kiraz, antepfıstığı ve turunçgillerde yapılan araştırmalarda da mikro aşılama elde edilen başarının tür ve çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Denemede kullanılan GF-677, AK-1 ve AK-2 klonal anaç genotipleri ile Ferragnes badem çeşitleri arasındaki aşı tutma oranları (%).

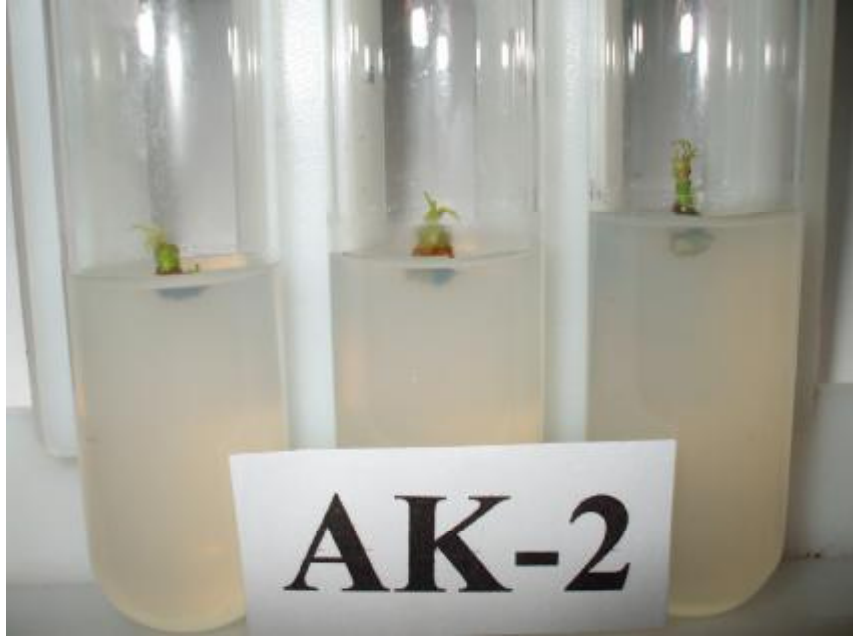
Anaçlar	Aşı Tutma Oranları (%)
AK-1	25.1
AK-2	34.4
GF-677	25.0
D %5 Ö.D.	



Şekil 4.6 Tepeye Yerleştirme Yöntemiyle Mikro Aşılanmış GF-677 Klon Anacı



Şekil 4.7 Tepeye Yerleştirme Yöntemiyle Mikro Aşılanmış AK-1 Genotipi



Şekil 4.8 Tepeye Yerleştirme Yöntemiyle Mikro Aşılantmış AK-2 Genotipi

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı, Nonpareil badem çeşidinin şeftali ile serbest tozlanması sonucu elde edilmiş olan AK-1 ve AK-2 (badem x şeftali) anaç genotipleri ile GF-677 klon anacının *in vitro* koşullarda diğer sert çekirdekli ve sert kabuklu meyve türleri ile aşı uyuşma durumunun karşılaştırılmasıdır. Bu yöntemle elde edilen bitkiler daha sonra incelenmek üzere başka çalışmalarda kullanılacaktır.

Araştırmada **Murashige ve Skoog'un (1962)** makro ve mikro besin elementleri, vitaminler ve Fe-Na EDTA kompozisyonu sürgün geliştirme, çoğaltma ve köklendirme aşamalarında değiştirilmeden kullanılmıştır. Büyüme düzenleyici maddelerden, sürgün geliştirme ve çoğaltma aşamasında 1mg/l BAP konsantrasyonları 0.1 mg/l GA₃ konsantrasyonları kullanılmıştır.

Canlılık oranları bakımından anaç olarak kullanılan genotipler değerlendirildiğinde AK-1 (% 50) klonal anaç genotipi, AK-2 (%25) ve GF-677 (%37.5) klonal anacına göre daha yüksek canlılık oranına sahip olmuştur. Aşı kalemi olarak kullanılan Ferragnes (%85) badem çeşidi, Francoise (%1) şeftali çeşidi ve Ninfa (%1) kaysı çeşidine göre daha yüksek canlılık oranına sahip olmuştur.

Kardeşlenme bakımından en iyi sonuç 1 mg/l BA içeren ortamda AK-2 (8 sürgün/eksplant) genotipinden elde edilmiştir. Bu genotipi Ferragnes (3 sürgün /eksplant) ve AK-1 (3 sürgün/eksplant) genotipleri izlemiştir.

Aşı tutma oranları bakımından en iyi sonuç AK-2 klonal anacında (%34.4) elde edilmiştir. Bu klonal anacı AK-1 (%25.1) ve GF-677 (%25) izlemiştir.

In vitro mikro aşılama başarıyı etkileyen en önemli faktörler sürgün ucu kaynağı ve aşılama kullanılan tür ve çeşittir. **Juarez ve ark. (1992)** yaptıkları araştırmalarında mikro aşılamanın tür ve çeşitlere göre önemli ölçüde değiştiğini bildirmişlerdir. *In vitro* mikro aşılama başarıyı etkileyen bir diğer faktör ise sürgün uçlarının kuruyarak canlılıklarını yitmesidir. Sürgün uçlarının anaç üzerine tam olarak yerleştirememesinden dolayı bir kısmı açıkta kalan sürgün uçları kısa sürede kuruyarak canlılıklarını yitmişlerdir. **Deogratias ve ark. (1991)**'na göre *in vivo* sürgün uçlarının alındıktan hemen sonra dezenfeksiyona ihtiyaç duymaları ve ayrıca sürgün uçlarının alındığı dönemde mikro aşılama başarısını etkilediğini

bildirilmişlerdir. Bitkilerin bünyelerinde bulunan fenolik bileşikler ile hormon içerikleri arasındaki dengenin de mikro aşılama başarısını büyük ölçüde etkilediği bilinmektedir. **Jonard ve ark. (1986)**, şeftalide yaptıkları bir araştırmada farklı dönemlerde alınan *in vivo* sürgün uçları ile yapılan mikro aşılama çalışmalarında mikro aşılama başarısının peroksidaz aktivitesine bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir. Peroksidaz aktivitesinin yüksek dönemde alınan sürgün uçları ile yapılan mikro aşılamada aşı yerinde kahverengileşme görülmekte ve aşı kalemi kısa bir sürede kurumaktadır.

Deneme genel olarak değerlendirildiğinde mikro aşılamada aşı tutma oranları sürgün ucu kaynağına, sürgün ucunun alındığı döneme ve bitki bünyesinde bulunan fenolik bileşikler ile hormon dengesine göre değiştiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma, daha önce köklenme denemeleri yapılmış olan AK-1 ve AK-2 badem x şeftali melez genotiplerinin, badem, şeftali ve kaysı gibi sert çekirdekli meyvelerle aşı tutma durumunu ortaya koymak amacıyla yapılmış, ancak yalnız bademde olumlu bir sonuç alınabilmiştir. Ancak bu çalışmanın yinelenmesi, sürgün uçlarının farklı dönemlerde alınması, farklı aşılama tekniklerinin denenmesi ve ayrıca özellikle Ninfa kaysı çeşidinde olduğu gibi fenolik bileşiklerin salgılanmasının engellenmesi için aktif karbon ve çok sık alt kültüre alma gibi farklı yöntemlerin uygulanması gerekmektedir. Bu çalışma, ileride yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- ABOUSSALIM, MANTELL, S.H., 1992.** Micrografting of Pistachio (*Pistacia vera* L. Cv. Mateur) Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 29 : 231-234.
- ANONYMOUS, 2006.(a)** Food and Agriculture Organization of the United Nations
[http://apps.fao.org/page/collections?subset = agriculture](http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture)
- ANONYMOUS, 2006.(b)** <http://www.tarim.gen.tr/bodurmeyve/kayisi.htm>
- BARBA M., CUPIDI A., LORETI S., FAGGIOLI F. AND MARTINO L., 1995**
In vitro micrografting: a technique to eliminate peach latent mosaic viroid from peach. Acta Horticulture, 386, 531-535
- BATTISTINI, A., DE PAOLI, G., 2002.** Large Scale Micropropagation of Several Peach Rootstocks. ISHS Acta Horticulturae 592: V. International Peach Symposium. <http://www.ishs.org>
- CAN, C., ÖZASLAN, M., TÖREMEN, H., SARP KAYA, K., İSKENDER, E., 2006.** In vitro Micrografting of Pistachio, *Pistacia vera* L. Var. Siirt, on wild Pistachio Rootstock. Journal of Cell and Molecular Biology 5: 25-31.
- CHANNUNTAPITAT, C., SEDGLEY, M. and COLLINS, G., 2003.**
Micropropagation of Almond Cultivars Nonpareil and Ne Plus Ultra and The Hybrid Rootstock Titan x Nemaguard. Scientia Horticulturae 98: 473-484.
- ÇELİK, M., 1983.** Meyve Yetiştiriciliğinde Anacın Önemi ve Türkiye Meyveciliğinde Anaç sorunu. Ankara Üniv. Zir. Fak. Yay. 886, Derleme: 47.
- DE LANGE, J.H., VAN VUUREN, S.P., BREDELL, G.S. 1981.** Groeipuntenting Suiwer Sitrusklone Vir Die Superplantskema van Virusse. Subt. 2: 11-16.
- DEMİRKÖK, Ş., 2006.** GF-677, AK-1 ve AK-2 badem x şeftali melez anaçlarının sürgün ucu yöntemiyle *in vitro* klonal mikroçoğaltımı. Ç.Ü. Fen bilimleri Enstitüsü Y.L Tezi Adana.41 s.
- DEMİR SOY, H., BİLGENER, Ş. 2006.** Bazı Uyuşur ve Uyuşmaz Şeftali/Erik Aşı Kombinasyonlarında Aşı Yerinin Anatomik Olarak İncelenmesi. OMÜ Zir.Fak.Dergisi, 21(1):89-94

- DEOGRATIAS, J.M., LUTZ, A., DOSBA, F. 1986.** *In vitro* Shoot-tip Mikrografting From Juveline and Adult *Prunus avium* L. Batsch to produce Virus-free Plants. Acta Horticulturae 193: 139-145.
- DEOGRATIAS, J.M., LUTZ, A., DOSBA, F. 1986.** Micrograffage d'apex de cerisiers (*Prunus avium* L.) Multiplies *In Vitro* En Vue de L'elimination de Trois Types de Particules Virales. Fruits 41: 675-680.
- DEOGRATIAS, J.M., CASTELLONI, V., DOSBA, F., JUAREZ, J., ARREGUI J.M., ORTEGA, C., ORTEGA, V., LLACER, G., NAVARRO, L. 1991.** Study of Growth Parameters on Apricot Shoot Tip Grafting *In Vitro*. Acta Horticulturae, 293,363-371
- EDRISS, M.H., BURGER, D.W., 1984.** Mikrografting Shoot-tip Culture of Citrus on Three Trifoliolate Rootstocks Scientia Horticulturae 23: 255-259.
- GANGAL, G., 2004.** Farklı IBA Dozlarının GF-677, AK-1 ve AK-2 Anaçlarına Ait Odun Çeliklerinin Köklenmeleri Üzerine Etkileri. Ç.Ü.Z.F. Bahçe Bitkileri Bölümü. Mezuniyet Tezi, 15 s. (Yayınlanmamış)
- GÖÇMEN, M.T., 1992.** Turunçgillerde *in vitro* Sürgün Ucu Aşılama Tekniğinde ve Bu Yolla Elde Edilen Bitkilerin Yetiştirilmesinde Yapılan Modifikasyonların Aşılama Başarısına ve Bitki Gelişimine Etkileri. Y.L. Tezi. Adana. s 1-70.
- GÖKTÜRK-BAYDAR, N., ÇELİK, H., 1998.** Asmada (*Vitis vinifera* L.) Sürgün Ucu Kaynağının *In Vitro* Mikroaşılama Başarı Üzerine Etkileri Tr. J. of Agriculture and Forestry 23 (1999) Ek sayı 3, 741-747.
- GÜREL, S., GÜLŞEN, Y. 1998.** The Effect of IBA and BAP on *In Vitro* Shoot Production of Almond (*Amygdalus communis* L.) Tr.J.of Botany. 22: 375-379
- JONARD, R., 1986.** Micrografting and Its Applications to Tree Improvement. Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 1, p. 31-48. Springer-Verlag, Berlin.
- JUAREZ, J., CAMARASA, E., ORTEGA, V., ARREGUI, J.M., CAMBRA, N., LLACER, G., NAVARRO, L., 1992.** Recovery of Virus-Free Almonds Plants by Shoot Tip Grafting *In Vitro*. Acta Horticulture 309:393-400.

- KAMALI, K., MAJIDI, E. And ZARGHAMI, R., 2001.** Micropropagation of GF-677 Rootstocks (*P. amygdalus* x *P. Persica*). 11 GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds CIHEAM-IAMZ. 56 (175-177)
- KESTER, D.E., THOMAS, M., GRADZIEL, AND GRASSELLY., 1990.** Almonds (*Prunus*). *Acta Horticulturae* 190:699-758.
- KÜDEN, A.B., 2000.** Şeftali Yetiştiriciliği. Türkiye Tarımsal Araştırma Projesi Yayınları.
- M.BARBA, A.CUPIDI, S.CORETI, F.FAGGIOLI, L.MARTINO. 1995.** *In Vitro* Mikrografting: A Tecnique to Eliminate Peach Latent Mosaic Viroid From Peach. *Acta Horticulturae* 386
- MA, F., GUO, C., LIU, Y., LI, M., MA, T., MEI, L., 1996.** *In Vitro* Shoot-apex Grafting of Mulberry (*Morus alba* L.). Published in *HortScience* 31: 312-475.
- MARTINEZ-GOMEZ, P., ANN THORPE, M., AND M GRADZIEL, T., 2000.** *In Vivo* Micrografts in Almond (*Prunus dulcis*). Published in *HortScience* 35: 387-519.
- MARTINEZ, J., HUGARD, J., JONARD, R., 1979.** Sur Differentes Combinations De Greffages Des Apex Realises *In vitro* Entre le Pecher (*Prunus persica* Batsch), Abricotier (*Prunus armeniaca* L.) et Murobolan (*Prunus cesarifera* Ehrh). *C.R. Acad. Sc. Paris* 288: 759-762.
- MARTINEZ, J., POESSEL, J.L., HUGARD, J., JONARD, R., 1981.** L'utilisation du Mikrogreffage *In vitro* Pour L'etude des Greffes Incompatibles. *C.R. Acad. Sc.Paris*, 294-964.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F. 1962.** A revised mediumfor rapid growth and bioassays with tobacco tissuecultures. *Physiologia Plantatarium* 15:473-497.
- NAVARRO, L., LIACER, G., CAMBRA, M., ARREGUI, J.M., JUAREZ, J., 1982.** Shoot-tip Grafting *In vitro* For Elimination of Viruses in Peach Plants (*Prunus Persica Batsch*). *Acta Horticulturae* 130: 185-192.
- NAVARRO, L., ROISTACHER, C.N., MURASHIGE, T., 1976.** Effect of Size and Source of Shoot Tips on Psorosis-A and Exocortis Content of Navel Orange Plants Obtained by Shoot-tip Grafting *in vitro*, pp. 194-197. In Proc. 7th. Conf. IOCV. IOCV, Riverside.

- NAVARRO, L., JUAREZ, J., PINA, J.A., BALLESTER, J.F., ARREGUI, J.M., 1986.** The Citrus Variety Improvement Program in Spain (CVIPS) After Eleven Years. In. L. W. Timer, S.M. Garnsey and L. Navarro (eds.) Proc. 10 th Conference Intern. Organization Citrus Virol.
- NAVARRO, L., JUAREZ, J., BALLESTER, J.F., PINA, J.A., 1980.** Elimination of Some Citrus Pathogens Producing Psorosis-like Leaf Symptoms by Shoot-Tip Grafting *in vitro* In Proc. 8th. Cont. Intern. Organization Citrus Virol. IOCV.
- NAVARRO, L., ROISTACHER, C.N., MURASHIGE, T., 1975.** Improvement of Shoot-tip Grafting *In Vitro* for Virus-free Citrus. J.Amer. Soc. Hort. Sci. 100: 471-479.
- OBEIDY, A.A., SMITH, M.A.L., 1991.** A Versatile New Tactic for Fruit Tree Micrografting American Soc. For Horticultural Science. Oct./Dec. 91-95.
- ONAY, A., PİRİNÇ, V., ADIYAMAN, F., İŞİKALAN, Ç., TİLKAT, E., BAŞARAN, B., 2002.** *In vivo and In vitro* Micrografting of Pistachio, *Pistacia vera* L. Cv. "Siirt".
- TAMER, Ş., 1988.** Virüs ve Virüs Benzeri Hastalık Etmenlerinin Navel Portakallarından Arındırılması.Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Adana. pp. 1-96.
- TREFOIS, R., 1985.** Dwarfing Rootstocks for Sweet Cherries. Acta Hort., 169: 147-155.
- YILMAZ, M., 1992.** Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği Ders Kitabı, Ç.Ü. Basımevi, 151.
- ZANZI, C., 2003.** Vivai F.lli Zanzi Kataloğu. 232 p.

ÖZGEÇMİŞ

1979 Ankara doğumluyum. İlk ve orta öğrenimimi Ankara'da, lise öğrenimimi Batman'da tamamladım. 1998 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdim ve 2002 yılında mezun oldum. 2003 yılında Ç. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans programına başladım. Halen aynı bölümde Yüksek Lisans eğitimimi sürdürmekteyim.