T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GF677 ANACININ MİKRO ÇOĞALTILMASINDA FARKLI EKSPLANTLAR VE BÜYÜMEYİ DÜZENLEYİCİLERİN ETKİLERİ

Akgül TAŞ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ŞANLIURFA
2016

Prof. Dr. Bekir Erol AK danışmanlığında Akgül TAŞ' in hazırladığı **"GF677 Anacının Mikro Çoğaltılmasında Farklı Eksplantlar ve Büyümeyi Düzenleyicilerin Etkileri"** konulu bu çalışma 25/04/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

İmza

Danışman : Prof. Dr. Bekir Erol AK …….

Üye :Yrd.Doç.Dr.Ebru SAKAR ……..…

Üye : Yrd.Doç.Dr.Yusuf NİKPEYMA ……

Bu Tezin Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım

Prof. Dr. Recep GÜNDOĞAN
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No:15021

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZET…… i
ABSTRACT…… ii
TEŞEKKÜR…… iii
ŞEKİLLER DİZİNİ…… iv
ÇİZELGELER DİZİNİ…… v
SİMGELER DİZİNİ…… vi
1. GİRİŞ…… 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR…… 5
3. MATERYAL ve YÖNTEM…… 11
3.1. Materyal…… 11
3.2. Yöntem…… 11
3.2.1. Bitki materyalinin (eksplant) yüzeysel sterilizasyonu…… 11
3.2.2. Besin ortamı,alet ve ekipmanların sterilizasyonu …… 12
3.2.3. Kültür şartları…… 12
3.3. Sürgün Ucu ve Lateral Eksplantlarının Başlangıç Ortamında Kültüre Alınması…… 13
3.4. İn Vitro Sürgün Çoğaltımı ve Çevre Koşulları…… 14
3.5. Sürgün Gelişimi(mikro sürgünlerin boylarının uzatılması)…… 15
3.6. Köklendirme…… 16
3.7. Dış Ortama Alıştırma…… 17
3.8. İstatiksel Değerlendirme…… 18
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA…… 20
4.1. Bitki Materyalinin Yüzeysel Sterilizasyonu…… 20
4.2. Eksplantların Sürgün Gelişimi ve Kardeşlenme…… 21
4.2.1. Sürgün ucu…… 22
4.2.2. Lateral tomurcuk…… 22
4.3. Mikro Sürgünlerin Köklendirilmesi…… 24
4.4. Köklü Bitkiciklerin Dış Koşullara Alıştırılması…… 26
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER…… 28
KAYNAKLAR…… 30
ÖZGEÇMİŞ…… 33

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GF677 ANACININ MİKRO ÇOĞALTILMASINDA FARKLI EKSPLANTLAR VE BÜYÜMEYİ DÜZENLEYİCİLERİN ETKİLERİ

Akgül TAŞ

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bekir Erol AK
Yıl: 2016, Sayfa: 42

Yapılan bu çalışmada, badem anacı olarak kullanılan GF-677 melez (*P. amygdalus x P. persica*) anacında farklı eksplantların ve büyümeyi düzenleyicilerin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla sürgün ucu ve lateral tomurcuklar kullanılmıştır. Bu eksplantlar, değişik konsantrasyonlarda (0.5-2.0 mg/l) BA (benziladenin) içeren MS besin ortamında kültüre alınmışlardır. Daha sonra 1 mg/l BA içeren MS besin ortamında kültüre alınan boğum eksplantlarında büyük oranda sürgün oluşumu ve kardeşlenme sağlandığı görülmüştür. Sürgün boyunun uzamasında en etkili kültür ortamının 0.5 mg/l BA, 30 g/l sukroz ve 5.5 g/l agar içeren MS besin ortamı olduğu saptanmıştır. Boyları uzayan sürgünler köklendirilmek amacıyla 0.05-2.0 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamında olan yeni bir kültüre aktarılmıştır.

Elde edilen bulgulara göre; hem sürgün ucu hem de lateral tomurcukların 1 mg/l BA içeren konsantrasyonunda en yüksek alt kültüre alınabilecek eksplantlar elde edilmiştir. Bununla birlikte, 1 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamında %85.6 oranında köklenme elde edilirken, köklü bitkiciklerin %67.3'ü dış koşullara alıştırılabilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: GF-677, anaç, rejenerasyon, *in vitro*, BA

ABSTRACT

MSc Thesis

IN VITRO REGENERATION and MICROPROPAGATION of GF-677 HYBRID (*Prunusamygdalus* X *P. persica*) ROOTSTOCK

Akgül TAŞ

Harran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Bekir Erol AK
Year: 2016, Page: 42

In this study effects of different explants and plants growth regulators were investigated *in vitro* regeneration of the rootstock GF-677 hybrid (*P. amygdalus x P.persica*) using as a rootstock of the almond.Shoot tip and lateral nodes were used for this purpose These explants were taken a culture in the medium of a MS nutrient including BA (benziladenin) at different concentrations. After, it was seen to provide tillering and a formation of a exile in the medium of a MS nutrient including 1 mg/l BA. It was determined to be the medium of a MS nutrient including 5.5 g/l agar and 30 g/l sucrose, 0.5 mg/l BA of culture medium of the most effective in the length of the shoot elongation. The shoots which extending their lengths to rooted were transferred to a new culture in the medium of ½ MS nutrient including 0.05-2.0 mg/l IBA.
According to obtained results; 1 mg/l BA was effective on the highest subcultural explants were obtained either shoot tip or lateral nodes. However, while it was obtained a rooting in the rate of % 85.6 in the medium of ½ MS nutrient including 1 mg/l IBA, it could acclimate to conditions of the outer to % 67.3 of rooted plantlets.

KEY WORDS: GF-677, rootstock, regeneration, *in vitro*, BA

TEŞEKKÜR

"GF-677 Hibrit (*Prunus amygdalus* x *P. persica*) Anacının *in vitro* Rejenerasyonu ve Mikro Çoğaltımı" adlı çalışmamda bana araştırma imkanı veren ve her aşamada desteğini esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Bekir Erol AK'açok teşekkür ederim. Çalışmalarım sırasında bana daima yardımcı olan Doç.Dr. Mustafa ÖZDEN'e ve Yrd. Doç. Dr. Ebru SAKAR'a teşekkür ederim. Yine çalışmam süresince gerek maddi gerek manevi destekleriyle ve yüksek lisans öğrenimim süresince benimle birlikte her türlü sıkıntıya katlanarak, bana manevi yönden itici bir güç olan beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. Dünya Badem Üretimi (ton) (FAO, 2013)……...……...… 1
Şekil 3.1. Steril kabinde kültüre alma çalışmaları……...…… 12
Şekil 3.2. Kültüre alınmış eksplantlar ……..……...……... 13
Şekil 3.3. Başlangıç kültür ortamı içeren magenta kabı……... 14
Şekil 3.4. Steril kabinde alt kültüre alma çalışmaları…….. 15
Şekil 3.5. Alt kültüre alınmış eksplantlar…… 15
Şekil 3.6. Kardeşlenmiş eksplantlar…… 16
Şekil 3.7. Köklenmiş eksplantlar…… 16
Şekil 3.8. Köklenmiş eksplantların bir görünümü..…… 17
Şekil 3.9. Dış ortama alıştırma çalışması…… 17
Şekil 3.10. Dış ortama alıştırma çalışmasından bir görünüm..…….. 18
Şekil 3.11. Dış ortama alıştırmaya alınan bitkicikler…….. 18
Şekil 3.12. Kültür ortamı hazırlama çalışması……...……. 18
Şekil 4.1. Boğum eksplantlarından sürgün gelişimi……..... 23
Şekil 4.2. Boğum eksplantlarından sürgün gelişimi ve kardeşlenme…….. 23
Şekil 4.3. Mikro sürgünlerin Köklenmesi……... 26
Şekil 4.4. Köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması……. 27
Şekil 4.5. Köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması……. 27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

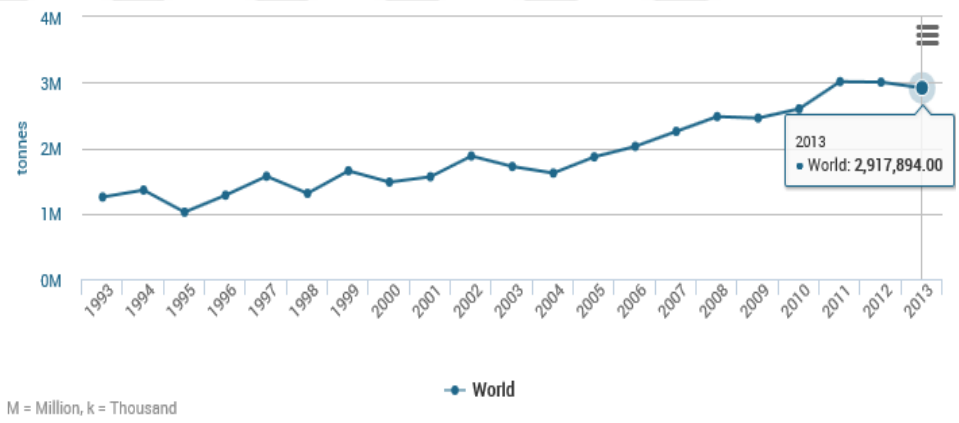
Çizelge 1.1. Yıllar Bazında Türkiye Badem Üretimi (TÜİK, 2015)…… 2
Çizelge 4.1. Sürgün ucu eksplantlarından sürgün gelişimi…….…….. 22
Çzielge 4.2. Lateral (boğum) eksplantlarından sürgün gelişimi……... 22
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan BA'nın boğum eksplantlarından elde edilen kardeşlenme sayısı üzerine etkisi…...……...…….. 24
Çizelge 4.3. İn vitro sürgünlerin köklendirilmesi…….…… 24
Çizelge 4.4. Köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması…….…..… 26

SİMGELER DİZİNİ

2-ip	6(γ,γ- Dimethyl allyl amino)purine
2,4-D	2,4-dichlorophenoxyaceticasid
AP	Almehdi ve Parfitt besinortamı
Atm	Atmosfer
BA	Benziladenin
BAP	6-Benzilaminopurin
BBD	Bitki büyümedüzenleyicileri
CH	Kazeinhidrolizat
dk	Dakika
GA_3	Giberellikasid
HCl	Hidroklorikasid
$HgCl_2$	Civaklorür
IBA	İndol butirikasid
Kn	Kinetin
mM	Milimol
MS	Murashige ve Skoog besinortamı
MSMO	Murashige ve Skoog Minimum Organik besinortamı
NAA	Naftalen asetikasid
NaOCl	Sodyumhipoklorit
NaOH	Sodyumhidroksit
PG	Floroglusinol
PVP	Polivinilpyrolidon
TDZ	Thidiazuron

1. GİRİŞ

Badem (*Amygdalus communis* L.) anavatanı Orta ve Batı Asya olan bir bitkidir. Buradan Çin, Hindistan, İran, Suriye ve Akdeniz ülkelerine yayılmıştır. Anadolu'da bodur acıbadem (*Amygdalus nana* L.) zengin varyasyonlar göstererek yetişmektedir. *Amygdalus nana* ülkemizde kıraç bölgelerin tipik bir bitkisidir. Badem, kuzey yarı kürede 30-44, güney yarı kürede ise, 20-40 enlem dereceleri arasında yayılmıştır. Dünyada badem üretimi 2,917,894 ton olup, Türkiye bu üretim içerisinde 75.055 ton ile ABD, İspanya, Avusturalya, Fas, İran, İtalya, Suriye'den sonra 8. sırada yer almaktadır (FAO, 2014).



Şekil 1.1. Dünya Badem Üretimi (FAO, 2014)

Badem, verimsiz, çorak, taşlı, atıl arazilerde, son derece düşük su ihtiyacıyla rahatlıkla yetişebiliyor. Badem alanları 10 yılda 3,5 katına çıktı. Üretim 2004'de 37 bin tondu. 2013'de 82 bin 850 tona yükseldikten sonra, geçen yıl 73 bin 230 tona indi 2010-2014 döneminde 311,9 milyon dolarlık badem ihraç ederken, ithalat 399,2 milyon doları buldu. Anadolu, bademin gen kaynağı olmasına karşın Türkiye bu üretim içerisinde ABD, İspanya, Avusturalya, Fas, İran, İtalya, Suriye'den sonra 8. sırada yer almaktadır (FAO, 2014).

Çizelge 1.2. Yıllar Bazında Türkiye Badem Üretimi

Yıl	Yetiştirme Alanı(da)	Üretim(Ton)	Ort. Verim (kg/ağaç)
2004	78.000	37.000	11
2005	82.000	45.000	13
2006	83.100	43.285	13
2007	99.505	50.753	14
2008	109.130	52.774	15
2009	131.207	54.844	16
2010	171.478	55.398	15
2011	205.039	69.838	17
2012	235.547	80.260	17
2013	254.570	82.850	16
2014	270.203	73.230	13

Kaynak: TÜİK, 2014

Badem (*Amygdalus communis*, L.), *Rosales* takımının, *Rosaceae* familyasının *Prunoideae* alt familyasının, *Amygdalus* cinsinin bir türüdür. Botanikçilerin bir kısmı bademi *Prunus* cinsinin bir türü olarak tanımlamışlardır (*Prunus amygdalus*, Batsch.) (Özbek, 1978). Bazı botanikçiler de bademi farklı türlerde ifade etmişlerdir (*P. dulcis* Miller). Bademin botanik olarak sınıflandırılması sert çekirdekli meyve şeklinde olmasına rağmen, tüketicilere sert kabuğu ile sunulur ve tohum kısmı tüketildiği için ticari açıdan sert kabuklu meyve olarak tanımlanır. Pomolojik olarak tatlı ve acı bademler olarak 2 gruba ayrılır. Acı bademler yüksek oranda siyanidrik asit bulundurduklarından acı ve zehirli olmakla beraber, ayrıca bu çeşitlerden badem yağı elde edilebilir. Tatlı bademler kabuğunun kırılabilirlik düzeyleri açısından el, diş, sert kabuklu ve taş bademler olarak 4 grupta toplanırlar (Özbek, 1978). Toplumumuzda severek tüketilen ve oldukça geniş bir kullanım alanına sahip olan badem, tüketiciler açısından çağla halinde iken taze meyve olarak tercih de edilir. Üreticiler açısından pazara çıkan ilk turfanda meyveler arasında olması sayesinde ekonomik yönden avantaj sağlar. Olgunlaşan badem kabuklu, kabuksuz, kavrulmuş veya çiğ çerezlik şeklinde tüketilmesinin yanı sıra, pasta ve şekerleme sanayisinde olmak üzere birçok üründe geniş yelpazede kullanılmaktadır. Bütün bu kullanım şekillerine ilave olarak, yağının cildi yumuşatıcı özelliği aracılığıyla kozmetik sanayinde ve çeşitli kremlerin yapımında kullanılmaktadır.

Yabancı tozlanan meyve türlerinin birçoğu yabancı tozlanır ve yeni generasyon açılım gösterir bu nedenle klonal çoğaltım için vegetatif çoğaltım şekillerinden biri

olan aşı ile çoğaltılırlar. Ancak aşı uygulamalarında anaç kullanılmalıdır. Çöğür (generatif) ve klon (vegetatif) meyve yetiştiriciliğinde kullanılan iki anaç şeklidir. Klon anaçlar çöğür anaçlara kıyasla daha üstün özelliklere sahiptir. Kalıtsal yapısı aynı olan klon anaçlar birbirinin aynı bireyler meydana getirirler. Bu anaçlar üzerine aşılı olan çeşitlerin büyüme kuvvetleri, soğuğa, kurağa, hastalık ve zararlılara karşı gösterdiği mukavemet aynıdır. Yetiştirilmek istenen çeşidin verime daha erken yatması için uygun klon anaçların seçilmesi sağlanabilir ayrıca meyve verim ve kalitesi de artırılabilir. Anaçların bodurlaştırıcı özelliği kültürel işlemlerin daha kolay yapılabilir olmasını sağlar (Ağaoğlu ve ark.,1995).

Badem çeşitleri için kullanılan anaçlardan bazıları, badem çöğürleri, erik anacı, şeftali anacı ve melez anaçlarıdır. Bu anaçlardan geçmiş yıllarda en çok kullanılanı çöğür anaçlardır. Kurak alanlarda yetiştiricilik yapılmak istendiğinde tohumlar doğrudan ağaç dikim yerlerine atılır ve aşılaması da burada yapılır. Bu işlemi yapmadaki amaç kuvvetli ve derin bir kök oluşumunu sağlamaktır. Erik anaçları, ağır, su tutan arazilerde uyuşan badem çeşitlerine anaç olarak kullanılır. Kumlu ve nematodla bulaşık topraklara anaç olarak şeftali-nemaguard anacı kullanılabilir. Son yıllarda, şeftali x badem melezi olan GF-677, şeftali ve bademe anaç olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Sulanabilen arazilerde kapama badem bahçeleri oluşturmak için GF-677 melez anacı son derece uygun bir anaçtır. Ayrıca bu anaç %12-13 kireç ihtiva eden topraklarda dahi yetiştirilebilir ve çöğür anaçlara nazaran daha büyük taç yapar ve daha kuvvetli büyür. Bu topraklarda görülen kloroza dayanıklığı fazladır. Kuru, kireçli ve özellikle yamaç araziler için oldukça uygun bir anaçtır. Bu anaca aşılı çeşitlerin verime yatma süresi kısadır. Toprak kökenli *Verticillum*, *Phypthora* gibi bazı hastalıklara dayanımı iyidir. Melez anaçlardan olan GF- 677 anacının çoğaltılmasında en uygun yöntem yeşil çelik ve doku kültürüdür, odun çelikleri ile çoğaltılması zordur. (Gür, 2003; Ak ve Özden, 2007).

Sert kabuklu meyve türlerinden bir çoğunun genetik olarak geliştirilebilmesi için öncelikli koşul, o meyve tür veya çeşidinin regenerasyon sisteminin tamamlanmış olmasıdır (Litz ve Gray, 1992). Bademde olduğu gibi birçok sert kabuklu meyve tür ve çeşidinin regenerasyon sistemi üzerinde çalışmalar yapılmıştır

ve bu konuda yapılan çalışmalar günümüze kadar devam etmiştir. (Miguel ve ark., 1996). Bu araştırmada kullanılmış olan GF-677 melez anacının *in vitro* regenerasyonu üzerinde yeteri kadar çalışma yapılmamış olması, bu anacın ülkemizin iklim ve toprak koşullarında güçlü adaptasyon yeteneğine sahip anaç olması ve genetik olarak üstün özellikler taşıması çalışmanın önemini bir kez daha artırmaktadır.

Bu çalışmada ülkemiz genelinde ve özellikle kireç oranı yüksek Güneydoğu Anadolu bölgemizin topraklarına uyum sağlamış olan GF-677 melez anacının *in vitro* koşullarında yetiştirilen yaprak ve boğum arası eksplantlarının regenerasyon güçleri araştırılmıştır. Farklı eksplantlardan adventif sürgün elde edilmesi üzerine değişik fitohormon ve konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Böylece GF-677 hibrit anacının *in vitro* regenerasyonu için etkin bir protokol geliştirilmiştir. Özellikle GF-677 hibrit anacının genetik transformasyonuiçin gerekli olan ilk adım sonuçlandırılmıştır. Bu anaçla ilgili olarak gelecekte yapılacak *in vitro* ve biyoteknolojik çalışmalara referans kaynak olabilecektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Kamali ve ark. (1999), tarafından GF-677 (*Prunus amygdalus x P. persica*) melez anacının mikroçoğaltımı üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu araştırmayı yapmak için Nisan ayında melez anacın apical ve lateral tomurcukları taşıyan sürgünler alınıp, 6 dakika, %0.1 lik HgCl2 içersinde sterilize edildikten sonra, lateral ve apical tomurcuklar MS, Knob ve LS temel besin ortamları üzerine aktarılmışlardır. Hazırlanan bu besin ortamlarına çeşitli derişimlerde NAA (0.0, 0.1, 0.2, 0.3 mg/l) ve BA (0.0, 0.1, 0.4, 0.7, 1.0, 2.0 mg/l) ilave edilerek sürgün çoğaltımı ve köklendirme için en uygun hormon kombinasyonu tanımlanmıştır. Knob temel besin ortamına 1mg/l BA ilave edildiğinde sürgün çoğaltımı için gerekli olan en uygun ortam olduğu belirlenmiş. LS besin ortamına 0.3mg/l NAA ve 1.6mg/l Thiamin ilave edilerek köklenme için en uygun ortam bulunmuş ve bu ortamda eksplantların 7 gün karanlıkta tutulması en iyi köklenme kültüre olarak belirlenmiştir.

Ne Plus Ultra, Nonpareil, Carmel ve Parkinson çeşitlerinin olgunlaşmamış meyvelerinin kotiledonlarından regenerasyon yolları Ainsley ve ark. (2001) tarafından araştırılmıştır. Bu araştırma için doğal yolla tozlanan ağaçlardan, çiçeklenmeden 100-115 gün sonra oluşan küçük meyveler toplanmış. Embriyoya yakın olan kotiledonların ucu kesilmiş ve embiryoya ait olan dokuların hepsi kesilip atılmış. Çalışmada TDZ nin ve IBA in farklı konsantrasyonları ve kültürün ilk 7 gün karanlıkta tutulmasının regenerasyona olan etkileri araştırılmış. Explantların 8 hafta boyunca, içinde 10.0uM TDZ olan MS temel besin ortamında tutulup daha sonra içinde bitki büyümeyi düzenleyici maddelerini içermeyen ortama aktarılarak burada 4 hafta tutulması ile en iyi sürgün regenerasyonu belirlenmiş. Kotiledonlardan alınan eksplantlarının 7 gün karanlıkta kültüre alınmaları regenerasyonu olumlu etkilemiş. Kültür besin ortamına 0.5 uM konsantrasyonunda IBA ilave edilmesi adventif sürgün gelişimini etkili biçimde azaltmış. Belirlenen en uygun kültür şartlarında Ne Plus Ultra, Nonpareil, Carmel ve Parkinson çeşitlerinden elde edilen adventif sürgün regenerasyon oranları sırasıyla %80.0, %73.3, %100.0, %86.7 olmuş.

Andreu ve Marin (2005), *Prunus* türlerinin anaçlarından olan Adesoto 101 (*P. insititia*)'nın farklı eksplant kaynaklarının farklı kültür ortamlarında regenerasyon olanaklarını araştırmışlar. Mikroçoğaltım ve çelikle çoğaltılarak elde edilen bitkilerden eksplantlar alınmış. Bu bitkilerden alınan eksplantlar farklı besin ortamlarında kültüre alınmış ve kültür besin ortamı olarak MS, WP ve QL kullanılmış. Yapılan bu çalışmada mikroçoğaltım ile elde edilen bitkilerden alınan eksplantların daha iyi sonuç verdiği gözlenmiş. Kültür besin ortamının bileşenleri çoğaltım oranını etkilemiş. 9 alt kültürden sonra QL besin ortamında elde edilen sürgün sayısının MS ve WP besin ortamlarına oranla fark edilir şekilde düşük olduğu bulunmuş.

Escalettes ve Dosba (1993), tarafından yapılan çalışmada *Prunus* spp. türlerinden yüksek oranda adventif sürgün regenerasyonu elde edilmiştir. Türlerin regenerasyon uygulamalarına karşı gösterdikleri reaksiyonlar farklı olmuştur. H.152 kayısı klonuna yapılan uygulamada Quoirin makro elementleri kullanılmış, ayrıca H.146 kayısı ve P.1869 hibrit erik klonunun regenerasyon çalışmasında ½ MS kullanılması regenerasyonu teşvik etmiştir. Adventif sürgün oluşumuna en etkili faktör TDZ nin tek başına veya NAA ile kombinasyonlarıile yapılan uygulamalar olmuş, en iyi konsantrasyonlar genotipe bağlı olarak değişmiştir. Besin ortamına AgNO3 (gümüş nitrat) ilave edilmesi regenerasyonu % 10-40 oranında artırmıştır. Besin ortamına AgNO3 eklenmesiyle, *P. marianna, P. domestica* ve P. insititia çeşitlerine ait erik klonlarının da regenerasyonu sağlanmıştır.

Badem (*Amygdalus communis* L.) çeşitlerinden Texas ve Nonpareil *in vitro* çoğaltma şekillerinden sürgün ucu kültürü ile vegetatif çoğaltma olanakları Gürel ve Gülşen (1998a) tarafından araştırılmıştır. İlk dikim, şaşırtma ve çoğaltma aşamalarında IBA ve BAP'ın farklı konsantrasyonlarda etkileri araştırılmış ve bu çalışmanın sonucunda sürgün büyümesi için hormon içermeyen veya düşük düzeyde IBA (0.1mg/l) içeren ortamlardan daha iyi sonuçlar alındığı görülmüştür. BAP'ın ilk iki aşamada da gerekli olduğu belirlenmiştir fakat yüksek konsantrasyonlar (2-3mg/l) sürgünlerin canlılığının azalmasına ve camlaşmaya neden olmuştur.

İn vitro çoğaltma yöntemlerinden olan sürgün ile çoğaltma şekli Gürel ve Gülşen (1998b) tarafından Texas ve Nonpareil badem (*Amygdalus communis* L.) çeşitlerinde araştırılmıştır. Bu amaçla sakkaroz, agar ve pH'ın farklı konsantrasyonları bitkinin ilk dikim, şaşırtma ve çoğaltma aşamalarında sürgün proliferasyonu, sürgün gelişmesi ve büyümesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda genel olarak çoğaltmanın değişik aşamalarında %5-6 sakkoroz, % 0.7 agar ve 5.5 pH ın optimum düzeyler olduğu belirlenmiş olup, yüksek sakkaroz ve agar dozlarının sürgünlerin dip kısımlarında kallus oluşumunu artırdığı gözlenmiştir. Araştırmada kullanılan iki çeşidin sürgün gelişiminin 1.0 mg/l BA ve 0.1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında en iyi olduğu belirtilmiştir.

Ainsley ve ark. (2000), badem çeşitleri olan Nonpareil ve Ne Plus Ultra'dan alınan yaprak eksplantlarından regenerasyon sağlamak için bir yöntem geliştirmiştir. Bu iki çeşidin *in vitro* çoğaltım ile elde edilen bitkiciklerinden eksplantlar alınmıştır. AP temel besin ortamına eklenen 3 farklı oksin (2,4-D, NAA, IBA), 2 farklı sitokinin (BA, TDZ) ve CH (casein hydrolysate) kombinasyonlarından sürgün oluşumu için optimum olanını bulunmaya çalışılmıştır. Eksplantların uygulamalara olan tepkisi genotipe göre farklılık göstermektedir. Denenilen 3 adet oksinden NAA ve IBA, Ne Plus Ultra eksplantlarında adventif sürgün oluşumunu teşvik etmiştir. Nonpareil çeşidinde ise yalnızca IBA etkisini göstermiştir. Temel besin ortamında CH olmadığı durumda, TDZ yalnız başına Nonpareil'den sürgün gelişimine etkili olmuştur. Ancak Ne Plus Ultra'da sürgün gelişimi için ortama TDZ'ye ilave olarak BA eklenmesi gerekmiştir. Ortama %0.1 w/v CH eklenmesi her iki çeşitte de kallus oluşumunu etkilemiş ve regenerasyonu arttırmıştır. AP temel besin ortamına CH, 9.8 uM IBA ve 22.7 uM TDZ eklendiğinde Ne Plus Ultra çeşidinde regenerasyon oranı %44.4 olmuştur. Yine AP temel besin ortamına CH, 9.8 uM IBA ve 6.8 uM TDZ eklendiğinde Nonpareil çeşidinde regenerasyon oranı en fazla %5.5 olmuştur.

Ekonomik öneme sahip olan kiraz çeşitlerinden (Schneiders, Sweetheart, Starking Hardy Giant, Kordia ve Regina (*Prunus avium* L.) bu beş çeşit üzerine Matt ve Jehle (2005), tarafından yapılan araştırmada alınan yaprak ve boğum arası eksplantlarından *in vitro* adventif sürgün elde edilmesine yönelik çalışmalar

yapmışlar ve yapılan bu çalışmada değişik ortamlar (MS, WPM, QL, DKW), farklı karbon kaynakları, farklı fitohormonlar ve hormon konsantrasyon kombinaslarının etkileşimi, karanlık uygulaması ve etilen inhibitörü olarak kullanılan gümüş thiosülfatın etkileri değerlendirilmiştir. Bu çalışmada karanlık uygulamas yapılan explantlardan düşük veya sıfıra yakın düzeyde regenerasyon oranı elde edilmiştir. TDZ+IBA nın fitohormon kombinasyonunu Regenerasyon üzerine oldukça etkili olduğu, bu kombinasyona gümüş thiosülfat eklemenin regenerasyon üzerine olumlu bir etkisinin görülmediği, regenerasyon oranı üzerine bitkinin genetiksel özelliğinin ve eksplant kaynağının önemi vurgulanmış olup, yaprak eksplantların %11 i ve boğum arası ekplantlarının %50 sinden adventif sürgün elde edilmiştir. Sonuç olarak bu kiraz çeşitleri üzerine yapılan araştırmada *in vitro* sürgün regenerasyonu için eksplant kaynağı olarak boğum arası eksplantı önerilmektedir.

Bhagwat ve Lane (2004) tarafından Lapins ve Sweetheart kiraz çeşitlerinin yapraklarından alınan eksplantlardan *in vitro* adventif sürgün gelişimi üzerine araştırma yapmışlardır. Yapılan bu araştırmada ortam olarak WPM kullanılmış ve bu ortam TDZ, NAA ve BA fitohormonlarla takviye edilmiştir. Bitki regerasyonu, kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerine ve hormonal düzeylerine, eksplant kaynağına, ekplantın ortam üzerindeki oriyantasyonuna (abaxial, adaxial) bağlı olduğu saptanmıştır. En iyi adventif sürgün regenerasyonunda, bütün bir yaprağın orta damarına dik açı yapacak şekilde eşit aralıklarla yaprak üzerinde kesikler oluşturulup, yaprağın alt yüzeyinin ortamla temas etmesi, TDZ nin (2.27 ve 4.54 µM) NAA (0.27µM) ile birleşimi etkili olmuştur.

Şeftali çeşitlerinden olan P16C15, Babygold 6, 842 Standard, San Giorgio ve Yumyeong Gentile ve ark. (2002) tarafından yürütmüş oldukları çalışmada, yaprak eksplantlarından adventif sürgün elde edilebilme imkanları araştırılmıştır. Bu çeşitlere ait eksplant kaynakları olarak sürgün uçları kullanılmış ve bu eksplantlar, içinde BA ve NAA ilave edilmiş olan besin ortamında 21 gün karanlıkta tutulduktan sonra oksin içermeyen besin ortamına alınmıştır. MS mikro elementleri ve LP makro elementlerinden oluşturulmuş kültür ortamında 3 haftada yeterli sürgün sayısı elde edilmiştir. 21 günlük bitkiciklerin üstten 4 yaprağı alınarak ana damara dik kesikler

yapılmış ve üst yüzü besin ortamına temas edecek şekilde kültüre alınmıştır. Yaprak eksplantlarına 3 haftalık karanlık uygulaması yapılmış ve bu süre içinde eksplantlar üzerinde kallus oluşumu gözlenmiştir. Bundan sonra yaprak eksplantları oksin bulunmayan besin ortamına aktarılıp, ardından aydınlık koşullarda tutulunca kallus üzerinden adventif sürgün oluşumu gözlenmiştir. Daha sonra kallusların birkaç ay sürgün oluşturma yeteneğini koruduğu görülmüştür. Çeşitlerin regenerasyon oranları genotipe bağlı olarak çeşitlilik göstermiştir. P16C15, Babygold 6, 842 Standard, San Giorgio ve Yumyeong çeşitlerindeki regenerasyon oranı sırasıyla %17, %13, %13, %17 ve %23 olarak tespit edilmiştir.

PR 204/84 (şeftali x badem) anacı,GF-677 klon anacına alternatif olarak Yunanistan Pomoloji Enstitüsünde selekte edilen anaçtır. MS ortamının mineral madde konsantrasyonunun indirgenmesi ve IBA konsantrasyonlarının 2,5 ve 5 µM olması durumunda PR 204/84 eksplantlarının ana kök sayısında ve bu eksplantların köklenme oranlarında önemli bir artış olmuştur. ½ MS ve MS ortamlarında, IBA konsantrasyonlarının tümünde kök uzaması teşvik edilmiştir. Yine bu iki (½MS veMS) ortamda, IBA miktarının 0'dan 10 µM' a doğru artışıyla sürgün başına düşenana kök sayısında artış olduğu gözlenmiştir. Kültür ortamının mineral madde konsantrasyonu ve IBA kök uzunluğunda önemli bir etkide bulunmamıştır. Sürgünleroksinsiz tanık ortamında köklenmemiştir. 2.5, 5.0 ve 10 µM IBA içeren ½ MS ortamıile 5 ve 10 µM IBA içeren MS ortamında sürgün köklenmesinin %100 olduğu gözlenmiştir (Fotopoulos ve Sotiropoulos, 2005).

GF-677 anacının *in vitro* ortamında köklenmesi, besin ortamına eklenen mineral madde konsantrasyonlarından ve tüp kapaklarının parafilm veya lastik olmasından etkilenmiştir. WPM ortamında mineral madde konsantrasyonunun yarım dozdan (0.5x) iki katına (2x) çıkarılması; köklenme oranı, köklenen bitki sayısı, ortalama kök uzunluğu ve taze kök ağırlığını önemli derecede arttırmıştır. Kök sayısıve ortalama kök uzunluğu MS ortamı kullanıldığında 1x ve 0.5x mineral madde konsantrasyonlarında daha iyi olmuştur. Her iki ortamda mineral madde konsantrasyonu arttıkça kök taze ağırlığı artmıştır. MS ortamı düşük mineral madde konsantrasyonunda WPM ortamına göre daha iyi sonuç vermiştir. Lastik kapak

kullanımı, köklenme oranı, kök sayısı ve kök taze ağırlığı bakımından parafilm kapağa göre daha iyi sonuç vermiş, ancak kök uzunluğu azalmıştır (Dimassi ve Theriou, 1995).

GF-677 anacının *in vitro* köklendirilmesi üzerine, organik (Fe-EDTA ve Fe-EDDHA) ve inorganik (FeCl3) demir ilavesinin etkileri incelenmiştir. Fe-EDDHA eklenmiş eksplantlarda % 100 köklenme elde edilmiş, demir noksanlığında yada FeCl3 kullanıldığında daha az köklenme olmuştur. Fe-EDTA ilave edilen ortamda kök elde edilememiş ve Fe-EDTA uygulaması sonucunda bitkicikler oldukça düşük klorofil ve yüksek Fe içeriği göstermiştir (Molassiotis ve ark., 2003).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu çalışma Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü doku kültürü laboratuvarında yürütülmüştür. Materyal olarak GF-677 *(Prunus amygdalus x P. persica)* anacı kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitki materyalinin (eksplant) yüzeysel sterilizasyonu

Bu çalışmada bitki materyali olarak GF-677 *(Prunus amygdalus x P. persica)* anacının bir yıllık sürgünleri kullanılmıştır. Dinlenmeden çıkarak sürmek için optimum fizyolojik durumda olan GF-677 anacından *(Prunus amygdalus x P. persica)* alınan sürgünler laboratuvara getirilmiştir. Yeşil sürgünlerin, yaprakları çıkarıldıktan sonra üzerinde bir tomurcuk bulunduracak şekilde 20 mm'lik yeşil çelikler şeklinde kesilmiştir. Bu yeşil çelikler su kaybına uğramamaları için; içinde su bulunan bir kapla laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarda musluk suyu altında 30 dakika (dk.) tutulan çelikler, %70'lik etil alkol içinde 1 dakika tutulduktan sonra steril saf su ile durulanmıştır. Bu aşamadan sonra, bitkisel materyalin yüzeysel sterilizasyonu için en uygun sodyum hipoklorit (NaOCl) konsantrasyonunu belirlemek amacı ile yeşil çelikler bir-iki damla Tween 20 içeren %8' lik ticari çamaşır suyu (%0.525 NaOCl) içerisinde 15 dakika yüzey temizliğine tabii tutulduktan sonra 5'er dk. 3 kez steril distile su ile yıkanarak yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır. Sterilizasyon tamamlandıktan sonra eksplantlar 1 mg/l BA, 30 g/l sukroz ve 5.5 g/l agar içeren, pH'sı 5.8'e 1 N NaOH veya HCl ile ayarlanmış MS kültür ortamına aktarılmışlardır. Daha sonra kültür başlangıcından 3 hafta sonra, kültür ortamındaki kontamine olan ve sağlıklı olan eksplant oranları % olarak belirlenmiştir.

3.2.2. Besin ortamı, alet ve ekipmanların sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan magenta kapları, pensler, bistüriler ve kurutma kağıtları alüminyum folyoya sarılarak 121^{0}C'de, 1 atm. basınç altında, 20 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir. Çalışma süresince kullanılan pens ve bistüriler %96'lık etil alkole batırıldıktan sonra sterilizatör sık sık sterilize edilmiştir. Çalışmaya başlamadan en az 15 dakika önce steril kabin çalıştırıldıktan sonra içi %70'lik etil alkol ile temizlenmiş buna ilave olarak 15 dakika süre ile UV lambası açık tutulmak suretiyle kabinin sterilizasyonu tamamlandıktan sonra kabinde çalışmaya başlanılmıştır. Hazırlanan besin ortamları 121^{0}C'de, 1 atm. basınç altında, 20 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmiştir.



Şekil 3.1. Steril kabinde kültüre alma çalışmaları

3.2.3.Kültür şartları

Bu çalışmada kullanılan iklim kabininin ışık yoğunluğu 2 500-3 000 lüks'e ayarlanmış olup, 16 saat (16 saat aydınlık/8 saat karanlık) fotoperiyot uygulanacak şekilde programlanmıştır. Ortam sıcaklığı 24 ± 1^{O}C'de tutulmuştur. İklim odası 2 500-10 000 lüks ışık şiddetine sahip olup, zaman ayarlayıcı ile 16 saat fotoperiyot

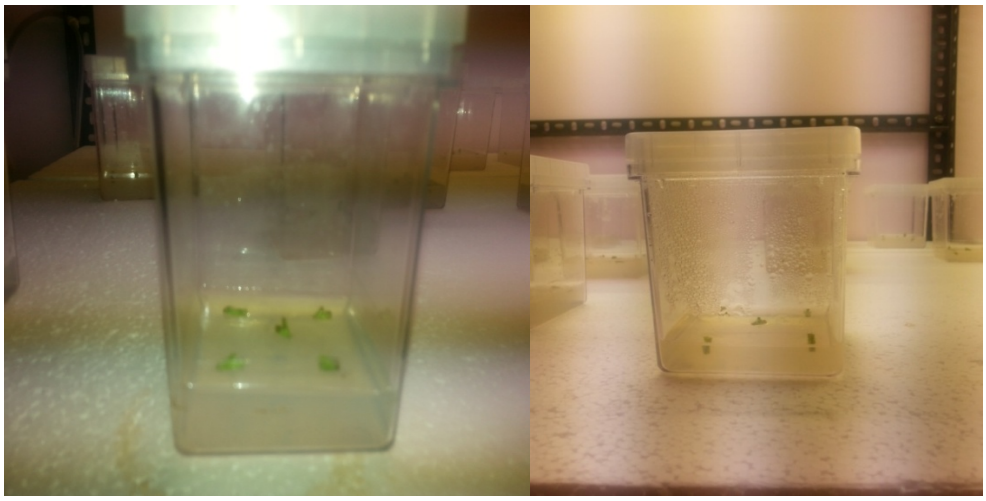
uygulaması gerçekleştirilmiştir. İklim odasının sıcaklığı klima ile, nemi nemlendirici ile sağlanmıştır.



Şekil 3.2. Kültüre alınmış eksplantlar

3.3. Sürgün Ucu ve Lateral Eksplantlarının Başlangıç Ortamında Kültüre Alınması

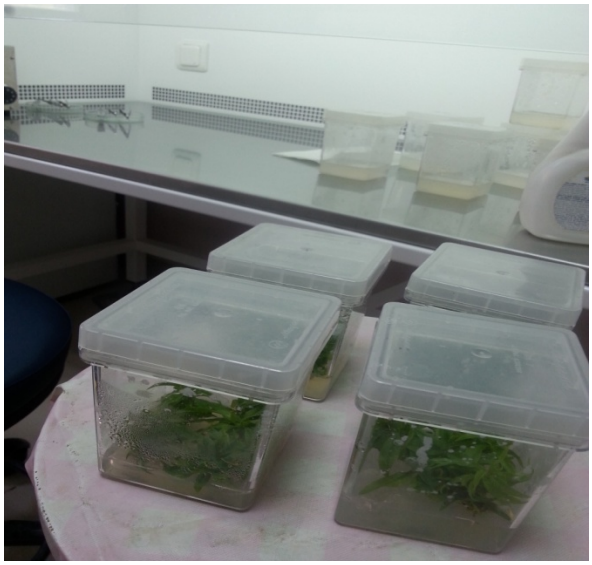
Yüzeysel sterilizasyonu tamamlanan yeşil çelikler üzerinde bulunan tomurcuklar, odun dokusundan ayrıldıktan sonra, 50 ml başlangıç kültür ortamı içeren magenta kaplarına dikilmiştir. Magenta kaplarına 5'er adet, boğum yerleştirilmiştir. Boğum eksplantları, başlangıç kültür ortamında rejenerasyon denemelerinde kullanılabilecek şekil ve sayıda yaprak ve sürgün elde edilinceye kadar 3'er haftalık aralıklarla altkültüre alınmıştır. Sürgün çoğaltımının sağlanması için, yeni elde edilen sürgün kümecikleri bireysel sürgünler şeklinde ayrılarak kardeşlenme sayıları belirlenmiş ve taze kültür ortamı üzerine transfer edilmiştir. Başlangıç kültür ortamı olarak kullanılan, 0.5, 1.0 veya 2.0 mg/l benziladenin (BA), 30 g/l sukroz, 5.5 g/l agar, mineral ve vitaminleri içeren MS (Murashige ve Skoog, 1962) kültür ortamının pH'sı, otoklavlanmadan hemen önce 5.6'ya 1 N HCl veya 1 N NaOH ile ayarlanmıştır. Daha sonra hazırlanan kültür ortamı 121^{O}C de 20 dakika sterilize edilmiştir.



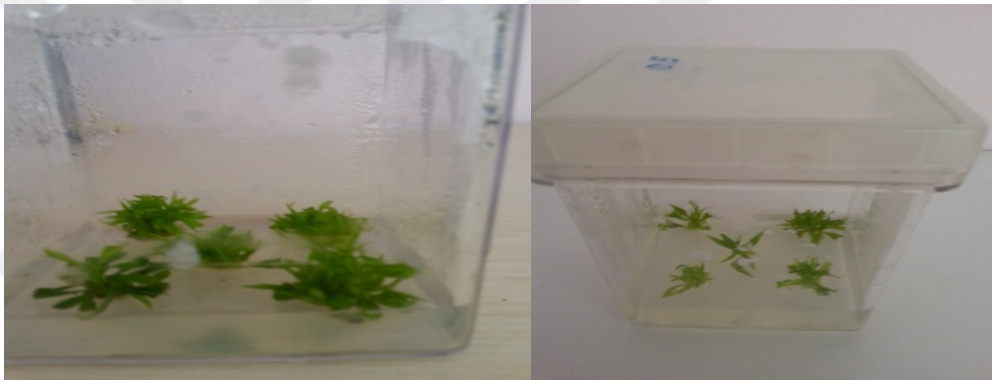
Şekil 3.3. Başlangıç kültür ortamı içeren magenta kabı

3.4. In Vitro Sürgün Çoğaltımı ve Çevre Koşulları

Steril edilmiş sürgünler üzerinde bulunan tomurcuklar, odun dokusundan ve dış pullarından ayrıldıktan sonra yaklaşık 2-4 mm'lik sürgün ucu (eksplant) alınarak *in vitro* sürgün kültür ortamı üzerine transfer edilmiştir. Eksplantlar, sürgün kültür ortamında regenerasyon denemelerinde kullanılabilecek şekil ve sayıda yaprak ve sürgün elde edilinceye kadar 3 er haftalık aralıklarla aynı sürgün kültür ortamında alt kültüre alınmıştır. Sürgün kültürünün devamının sağlanması için, yeni elde edilen sürgün kümecikleri bireysel sürgünler şeklinde ayrılarak taze sürgün kültür ortamı üzerine transfer edilmiştir. Sürgün kültür ortamı, mineral ve vitaminleri içeren Murashige ve Skoog (1962) (MS), 1 mg/l benziladenin (BA), 30 g/l sukroz ve 6 g/l agar dan oluşmuştur. Kültür ortamının pH sı, sterilizasyondan önce 5.6 ya 1 N HCl veya NaOH ile ayarlanmıştır. Daha sonra hazırlanan kültür ortamı 121 ^{o}C de 20 dk sterilize edilmiştir. Bu çalışmada kullanılacak iklim odasının ışık intensitesi 2500-3000 lüx, 16 hr fotoperiyod uygulanmıştır. Ortam sıcaklığı ve nem oranı sırasıyla 24±1^{o}C, ve %45 e ayarlanmıştır.



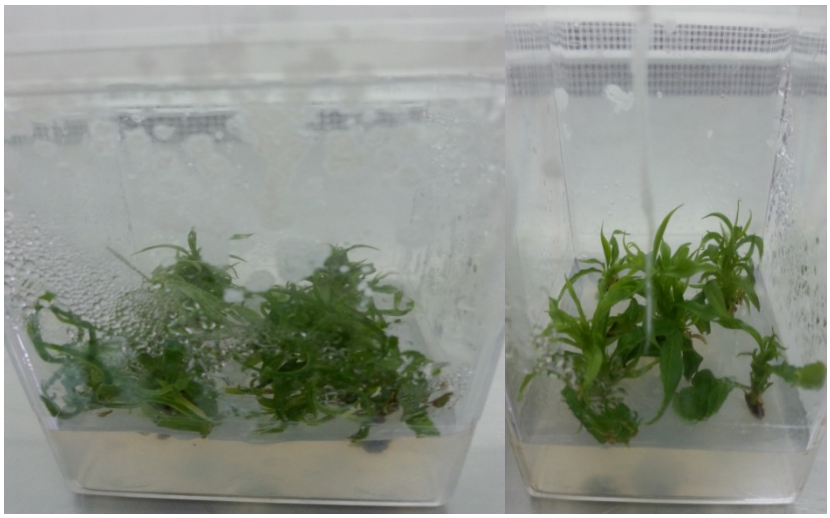
Şekil 3.4. Steril kabinde alt kültüre alma çalışmaları



Şekil 3.5. Alt kültüre alınmış eksplantlar

3.5. Sürgün Gelişimi (mikro sürgünlerin boylarının uzatılması)

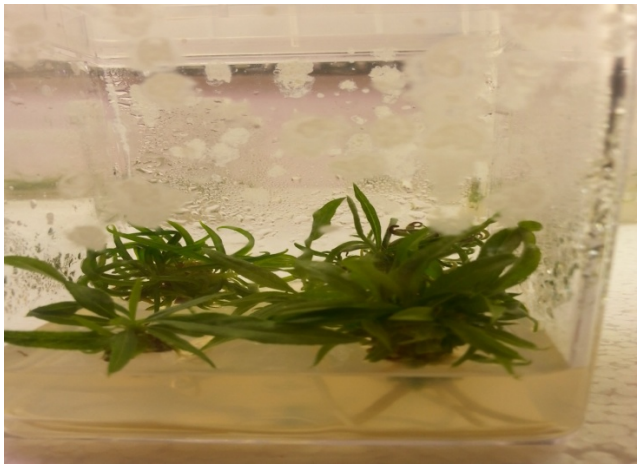
Adventif sürgün için en uygun eksplant ve bitki büyüme düzenleyicilerin kombinasyonlarından elde edilen sürgünlerin her birisi hormonsuz, 0.1 mg/l BA veya 0.1mg/l indol-3-bütirik asit (IBA) ilave edilmiştir. Sürgün uzatma besin ortamlarının içeriği, BBD konsantrasyonları dışında başlangıç ortamı ile aynı hazırlanmıştır. Bu deneyde sürgün gelişmesi için en uygun hormon türü belirlenmiştir.



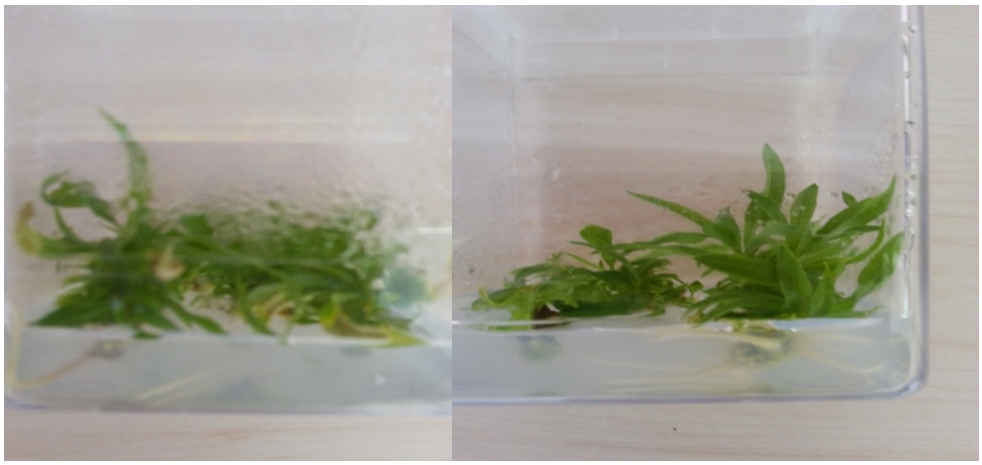
Şekil 3.6. Kardeşlenmiş eksplantlar

3.6. Köklendirme

Farklı eksplantlardan elde edilen 2-3 cm boyundaki her bir sürgün ayrılarak magenta kapları içerisine transfer edilmiştir. Sürgünlerin köklendirme ortamı ½ MS, 1 ve 2 mg/l indole-3-bütirik asit (IBA) den oluşturulmuştur. Sürgün köklendirme besin ortamı 0.05, 0.5, 1.0 veya 2.0 mg/l IBA (indole-3-bütirik asit), 30 g/l sukroz, 5.5 g/l agar içeren ½ MS'den oluşmuştur. Köklendirme besin ortamının pH'ı, sterilizasyondan önce 5.6'ya 1 N HCl veya 1 N NaOH ile ayarlanmıştır. Köklendirme ortamının çevre şartları önceki denemelerin çevresel şartları ile aynı şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 3.7. Köklenmiş eksplantlar



Şekil 3.8. Köklenmiş eksplantların bir görünümü

3.7. Dış Ortama Alıştırma

Yaklaşık 4-5 hafta sonra *İn vitro* koşullarında yeterli kök oluşturan bitkiciklerin kökleri yıkanarak agardan temizlendikten sonra steril 1:1 oranında torf, perlit içeren plastik kaplara şaşırtılmıştır. Nemli bir dış ortam sağlamak amacıyla bitkiciklerin üzeri saydam kaplarla kapatılmıştır. Dış koşullara alıştırma işleminin başlangıcından 3 hafta sonra kaplar her gün artan sürelerle (5-10 dk) açılarak, bitkicikler dış koşullara alıştırılmaya çalışılmıştır.



Şekil 3.9. Dış ortama alıştırma çalışması



Şekil 3.10. Dış ortama alıştırma çalışmasından bir görünüm



Şekil 3.11. Dış ortama alıştırmaya alınan bitkicikler



Şekil 3.12.Kültür ortamı hazırlama çalışması

3.8. İstatistiksel Değerlendirme

İn vitro rejenerasyonu çalışmasında araştırma sonuçlarının GF-677 melez anacı açısından istatistiksel olarak değerlendirilmesi tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılmış olup, araştırma birbirinden bağımsız olarak 3 defa tekrarlanmış ve her bir bağımsız deneme 12 sürgünden oluşacak şekilde

düzenlenmiştir. İstatistiki olarak önemli görülen işlemler belirlendiğinde ortalama veriler arasındaki farklılıklar $P<0.05$ düzeyinde LSD testine tabi tutulmuşlardır. Sayılarak elde edilen oransal (%) verilere ise açı transformasyonu uygulanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Bitki Materyalinin Yüzeysel Sterilizasyonu

İn vitro çalışmalarda başarıyı etkileyen etmenlerin başında gelmesi gereken şey, bitki materyallerinin etkili bir şekilde sterilizasyonunun yapılmasıdır. Bu nedenle, çalışmada yapılacak ilk ve en önemli aşama kullanılacak olan bitkisel materyalin yüzeysel sterilizasyonun yapılmasıdır ve bunun için en uygun sterilizasyon metoduna karar verilmesidir. Daha sonra sterilizasyon yöntemleri anaç bitkinin yetiştiği ortamın özelliklerine ve eksplantın alındığı organa göre farklılık göstermektedir. Eksplantların yüzeysel sterilizasyonunda en yaygın kullanılan dezenfektanlar; etanol, kalsiyum, sodyum hipoklorit, gümüş nitrat, hidrojen peroksit ve civa klorürdür (Babaoğlu ve ark., 2002).

Genel olarak *in vitro* çalışmalarının başlangıcındaki eksplantların sterilizasyonu, eksplantların yüzey direncini kırmak için kullanılan bir iki damla Tween-20 içeren %0.5-15'lik NaOCl, CaOCl veya $HgCl_2$ solüsyonunda 6- 20 dakika süre ile çalkalandıktan sonra 5'er dk. 3 kez steril saf su ile çalkalanarak tamamlanmıştır (Ainsley ve ark., 2001a; Channuntapipat ve ark., 2003). Buna karşılık sterilizasyonu birkaç aşamada gerçekleştiren araştırıcılar vardır.Bazı araştırıcılar (Gürel ve Gülşen, 1998b; Ainsley ve ark., 2000; Ainsley ve ark., 2001b; Pruski ve ark., 2005) eksplant yüzeysel sterilizasyonuna geçmeden önce eksplant kaynaklarını musluk suyunun altında farklı sürelerde (5 dk.-2 saat) tutarak kaba temizliğini yapmıştır. Muna ve ark. (1999) eksplant kaynaklarını sadece musluk suyunun altında tutmayı kaba temizlik için yeterli görmeyerek bir iki damla Tween-20 ile 10-15 dakika yıkadıktan sonra asıl yüzeysel sterilizasyonuna geçmişlerdir. Jain ve Babbar (2003)'da aynı şekilde kullanacakları sürgünleri önce %10 (v/v) Teepol ile yıkayıp 30 dakika musluksuyu altında tuttuktan sonra asıl yüzeysel sterilizasyonuna başlamışlardır. Espinosa ve ark. (2006); Jain ve Babbar (2000), eksplantları kısa bir süre (30 sn.-5 dak.) etanolde (%50-70) beklettikten sonra ticari çamaşır suyu kullanılarak bitkisel materyalin yüzeysel sterilizasyonunu

tamamlamışlardır. Matt ve Jehle (2005), 5 kiraz çeşidine ait 1 yaşlı dallardan aldıkları tomurcukları önce %1.5 (w/v) Benomyl içinde 10 dakika beklettikten sonra, %10 (w/v) CaOCl içinde 20 dakika bekleterek daha detaylı bir sterilizasyon gerçekleştirmişlerdir. Jain ve Babbar (2003)'ın yürüttüğü çalışmada, *Syzygium cuminii* türüne ait 30 yaşlı ağaçlardan alınan o yılın sürgünleri laboratuvara 50 mg/l askorbik asit ve 100 mg/l sitrik asit karışımı içeren bir kap içinde getirildikten sonra sürgünler %10 (v/v) Teepol ile yıkanıp, 30 dakika musluk suyu altında durulanmıştır. %50 (v/v) etanol içinde 5 dakika tutulduktan sonra, %0.2 (w/v) merkürik klorit ile 25 dakika, %0.2 (w/v) Bavistin (fungusit) ile 20 dakika muamele edilmiştir. Son olarak 10 dakika %0.1 (w/v) NaOCl içinde tutulduktan sonra birkaç defa steril saf su ile durulanarak eksplantın yüzeysel sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır.

Bu çalışmada, yüzeysel sterilizasyonu %8'lik NaOCl dezenfektant solüsyonu içinde yapılan boğum eksplantlarıyla başlatılan kültürlerde herhangi bir kontaminasyon meydana gelmemiş olup, *in vitro* sürgünlerde herhangi bir morfolojik değişim görülmeden, gelişimlerine devam etmişlerdir. Bundan dolayı yukarıda verilen araştırmalarda kullanılan farklı sterilizasyon yöntemlerinin yürütülmüş olan bu araştırmada kullanılan eksplantın yüzeysel sterilizasyonunda uygulanmasına gerek olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada kullanılan eksplantın yüzeysel sterilizasyonu için %8'lik NaOCl dezenfektan solüsyonu en uygun konsantrasyon olarak bulunmuş ve araştırma sürecinde eksplantların yüzeysel sterilizasyonunda bu konsantrasyon kullanılmıştır.

4.2. Eksplantların Sürgün Gelişimi ve Kardeşlenme

Bu çalışmada materyalin hem sürgün ucu hem de lateral (boğum) tomurcuklar eksplant olarak kullanılmıştır.

4.2.1. Sürgün ucu

'GF-677' hibrit anacından alınan sürgün ucu eksplantlarının sürgün gelişimi için hazırlanan besin ortamında 30 g/l sukroz, 5.5 g/l agar içeren MS besin ortamı bulunmaktadır. Bu kombinasyona 0.5, 1.0 veya 2.0 mg/l BA ilave edilmek suretiyle 'GF-677' hibrit anacından alınan boğum eksplantlarının sürgün gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Kültür başlangıcından 3 hafta sonra, altkültüre alınabilecek eksplant ve gelişmemiş eksplant oranları belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Sürgün ucu eksplantlarından sürgün gelişimi

Bitki Büyüme Düzenleyici BA (mg/l)	Altkültüre Alınabilecek Eksplant (%)	Gelişmemiş Eksplant (%)
0.5	61.5 b	23.4
1.0	79.2 a	1.00
2.0	33.8 c	33.9

Aynı sütun üzerinde farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (P<0.05)

Elde edilen bulgulara göre BA uygulama dozlarından 1.0 mg/l ötekilere göre daha uygun olduğu belirlenmiştir.

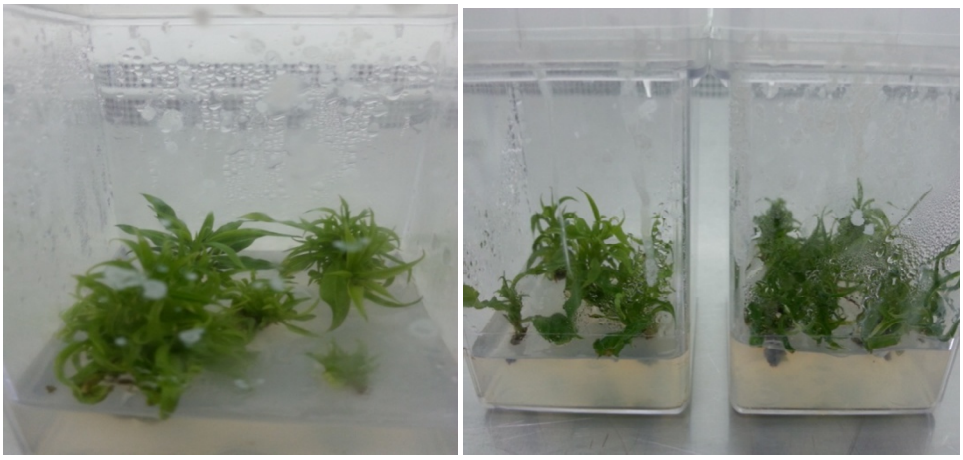
4.2.2. Lateral tomurcuk

Sürgün ucu eksplantlarında olduğu gibi bitkilerin yan tomurcuklarından yani lateral tomurcuklardan alınan eksplanlar da aynı ortamda yetiştirilmişlerdir. Yine aynı kombinasyonda 0.5, 1.0 veya 2.0 mg/l BA ilave edilmek suretiyle 'GF-677' hibrit anacından alınan boğum eksplantlarının sürgün gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Kültür başlangıcından 3 hafta sonra, altkültüre alınabilecek eksplant, gelişmemiş eksplant oranı (%) belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Lateral (boğum) eksplantlarından sürgün gelişimi

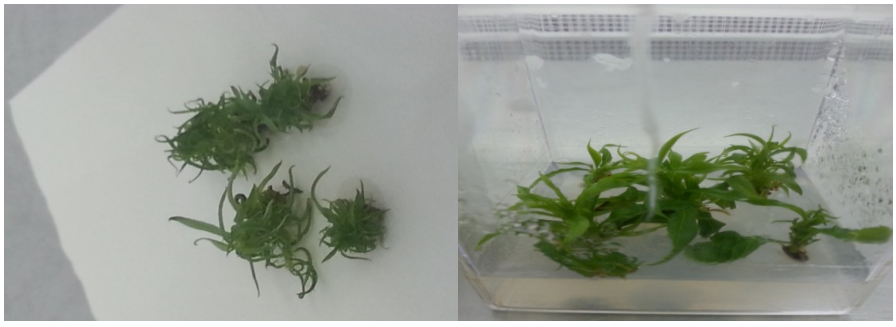
Bitki Büyüme Düzenleyici BA (mg/l)	Altkültüre AlınabilecekEksplant (%)	Gelişmemiş Eksplant (%)
0.5	62.4 b	22.3
1.0	76.9 a	2.00
2.0	38.8 c	30.5

Aynı sütun üzerinde farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (P<0.05)



Şekil 4.1. Boğum eksplantlarından sürgün gelişimi

Kültüre alınan hem sürgün ucu ve hem de boğum eksplantlarının 1.0 mg/l BA içeren besin ortamında 4. günden itibaren sürmeye başlamıştır, 3. haftanın sonunda eksplantların %76.9'u altkültüre alınabilecek büyüklüğe ulaşmıştır. 0.5 ve 2.0 mg/l BA içeren besin ortamında kültüre alınan boğum eksplantları ise ancak 7-10. günden itibaren sürmeye başlamıştır ve 3. haftanın sonunda 0.5 mg/l BA içeren besin ortamında kültüre alınan eksplantların %62.4'ü, 2.0 mg/l BA içeren besin ortamında kültüre alınan eksplantların %38.8'i altkültür yapılabilecek büyüklüğe ulaşmıştır. Birbirinden bağımsız olarak yürütülen 3 ayrı denemenin sonuçlarından elde edilen veriler değerlendirilerek 0.5 ve 1.0 mg/l BA kültür ortamında elde edilen sürgünler aynı BBD konsantrasyonu içeren besin ortamında altkültüre alınırken, 2.0 mg/l BA uygulamasına son verilmiştir.



Şekil 4.2. Boğum eksplantlarından sürgün gelişimi ve kardeşlenme

Üç haftalık gelişme periyodu sonunda, altkültüre alınan eksplantlarda kardeşlenme sayıları belirlenmiştir. 0.5 ve 1.0 mg/l BA içeren MS besin ortamında

kültüre alınan *in vitro* sürgünlerin kardeşlenme sayıları farklı bulunarak, 0.5 ve 1.0 mg/l BA'nın kardeşlenme üzerine etkisi ortaya konmuştur (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan BA'nın boğum eksplantlarından elde edilen kardeşlenme sayısı üzerine etkisi

Bitki Büyüme Düzenleyicisi	Kardeşlenme Sayısı (adet)						
BA (mg/l)	1.altk.	2.altk.	3.altk.	4.altk.	5.altk.	6.altk.	Ort.
0.5	2.9	3.0	5.3	3.1	-	-	3.57 b
1.0	3.0	5.5	8.5	12.5	8.6	8.4	7.75 a

Aynı sütun üzerinde farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (P<0.05)

4.3. Mikro Sürgünlerin Köklendirilmesi

Araştırmanın bu aşamasında sürgün ucu ve lateral (boğum) eksplantlarından alınan *in vitro* sürgünlerin köklendirilmesinde farklı düzeyde IBA'nın etkisi araştırılmış olup, *in vitro* sürgünler, 0.05-2.0 mg/l IBA içeren ½ MS ortamında kültüre alınmıştır. Araştırmada IBA'nın farklı düzeylerinin *in vitro* sürgünlerin köklenme oranları üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4.).

Çizelge 4.4. İn vitro sürgünlerin köklendirilmesi

Bitki Büyüme Düzenleyici IBA (mg/l)	Köklenme oranı (%)	Kök Sayısı (adet)
0.05	45.1 c	2.1 b
0.50	71.9 b	4.0 ab
1.00	85.6 a	4.9 a
2.00	38.2 d	1.7 b

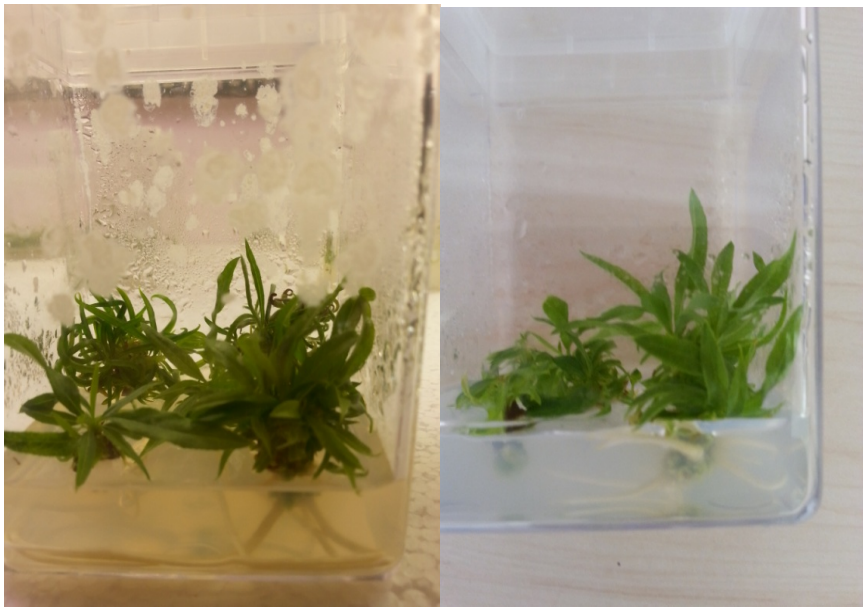
Aynı sütun üzerinde farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (P<0.05)

Çizelge 4.4.'de görüldüğü gibi, 1.0 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamında kültüre alınan mikro sürgünlerdeki köklenme oranı %85.6, 0.5 mg/l IBA içeren besinortamında kültüre alınan mikro sürgünlerdeki köklenme oranı ise %71.9 olarak belirlenmiştir. IBA'nın en düşük ve en yüksek konsantrasyonlarını içeren besin ortamlarında köklendirilen sürgünlerde köklenme oranı %38.2-45.1'e kadar düşmüştür. Yapılan bu araştırmada köklendirme ortamına eklenen 0.05, 0.50 ve 2.00 mg/l düzeylerindeki IBA'nın mikro sürgünlerin kök uzunluğu üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmazken, 1.00 mg/l düzeyindeki IBA

konsantrasyonunun kök uzunluğuna etkisi, diğer konsantrasyonların kök uzunluğuna etkileriyle karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel açıdan önemli belirlenmiştir. Köklendirme ortamına ilave edilen 1.00 mg/l düzeyindeki IBA'nın mikro sürgünlerdeki kök sayısı üzerine etkisi istatistiksel açıdan diğer konsantrasyonların etkileriyle karşılaştırıldığında 0.05 düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur. Bu bulgular Özden ve ark. (2011)'nın bulgularıyla uyum içerisindedir.

Doku kültürü çalışmalarında laboratuvar çalışmalarıyla elde edilen köklendirme aşamasından sonra başarılı bir sürgün rejenerasyon protokolünden söz edebilmek için elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi ve başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırılması gerekir. Dolayısıyla bu çalışmada *in vitro* sürgünlerinden oluşan kök sayısı, kök uzunluğu ve köklenen sürgün sayıları birlikte değerlendirildiği zaman en uygun oksin konsantrasyonu 1.00 mg/l IBA düzeyi olarak belirlenmiştir.

Antonopoulou ve ark. (2005) tarafından *Prunus* cinsine ait çeşitlerin *in vitro* sürgünlerinin köklendirilmesinde genellikle MS besin ortamı ve farklı oksin konsantrasyonları kullanıldığı belirtilmiştir.Bu çalışmada GF-677 badem anacında yürüttülen araştırmada *in vitro* sürgünler 1 mg/l IBA içeren besin ortamında kültüre alındıklarında %100 köklenme elde etmişlerdir. Fotopoulos ve Sotiropoulos (2005), PR 204/84 şeftali badem melezinde yürüttükleri çalışmada farklı IBA konsantrasyonları içeren ½ MS veya MS besin ortamının *in vitro* sürgünlerdeki köklenme oranına etkilerini belirlemişlerdir. 1.0 mg/l IBA içeren MS kültür ortamında veya 0.5 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamında kültüre alınan mikro sürgünlerde %100 köklenme elde edilmiştir. Durkovic (2006), yaptığı çalışmada kirazda boğum eksplantlarından elde ettiği *in vitro* sürgünleri 0.3 mg/dm^3 IBA içeren ½ MS besin ortamında kültüre alarak %73.3 köklenme elde etmiştir. Osterc ve ark. (2004)'nın kirazda yaptığı çalışmada *in vitro* sürgünler 1 mg/l IBA içeren ½ MS besin ortamında kültüre alındığında %75-100 köklenme oranı elde edilmiştir.



Şekil 4.3. Mikro sürgünlerin köklenmesi

4.4. Köklü Bitkiciklerin Dış Koşullara Alıştırılması

İn vitro koşullarda elde edilen köklü bitkicikler dış koşullara alıştırılmak için içerisinde 3 farklı ortam bulanan plastik kaplara transfer edilmiştir. 8. hafta sonunda bitkiciklerin canlılık oranları belirlenmiştir. 1:1 oranında torf:perlit içeren ortama transfer edilen bitkiciklerdeki canlılık oranı %67.3 bulunurken, yalnızca perlit içeren ortamdaki bitkiciklerin canlılık oranı %59.9, sadece torf içeren ortamdaki bitkiciklerin canlılık oranı %25.2 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması

Canlılık oranları (%)	**Ortamlar**		
	Perlit	**Torf**	**Torf:Perlit (1:1)**
	59.9 b	25.2 c	67.3 a

Aynı sütun üzerinde farklı harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (P<0.05)

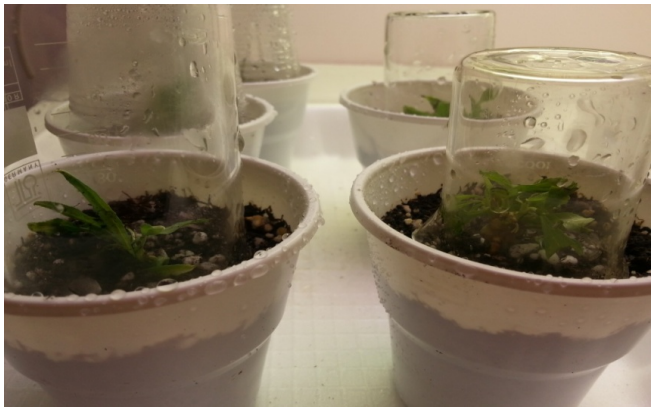
8. haftanın sonunda daha büyük saksılara aktarıldığında, torf:perlit içeren ortamda yetiştirilen bitkiciklerin adaptasyonu daha hızlı olmuş, bitkicikler kısa sürede büyüme ve gelişmelerine devam etmiştir (Şekil 4.4; Şekil 4.5). Sadece perlit ortamına transfer edilen bitkiciklerin yaprak renklerinde açılma gözlenmişti Torf ortamına aktarılan bitkiciklerin canlılık oranının düşük olmasının sebeplerinden birisi, köklerin dikim sırasında zararlanmış olabileceğindendir. Bundan dolayıdır ki

dikim sırasında köklerin zararlanmasını önlemek için bitkiciklerin kökleri ortalama olarak 15 mm'yi geçmeden alıştırma ortamına aktarılmalıdır. Yine bu araştırma çıktısına paralel olarak Muna ve ark. (1999)'nın Maxma-14 kiraz çeşidinde yürüttükleri çalışmada bitkiciklerin köklendikten kısa bir süre sonra saksılara aktarıldığında, dış koşullara daha kolay alıştıkları vurgulanmıştır.

İn vitro çalışmalarda elde edilen köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması aşamasında en önemli nokta su kaybını önlemektir. Perlit ortamına aktarılan bitkiciklerin canlılık oranlarındaki düşüklüğün başlıca sebebi olarak su ve besin maddesi yetersizliğinin olduğu varsayılmaktadır. *İn vitro* bitkicikler dış koşullara alıştırılırken nem oranı yüksek olan iklim odalarında tutulup aşamalı olarak nem oranının azaltılması da gerekmektedir.



Şekil 4.4. Köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması



Şekil 4.5. Köklü bitkiciklerin torf:perlit ortamında bir görünümü

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

GF-677 anacı kireçli topraklara uygun, kloroz, Phytopthora ve kök kanserine dayanıklı, yüksek kalitede meyve oluşumu sağlayan kuvvetli bir anaçtır. Diğer meyve türleri gibi GF-677 anacı meyveye yatma sorunu olmayan bir anaçtır.Kuvvetli gelişim gösteren güçlü ağaçlardır. Toprakta gelişimi iyidir. Kuraklığa toleransı yüksektir ve yüksek verim sağlar. Ağır, orta ve hafif topraklar için uygun olan GF-677 bugün dünyanın birçok yerinde olduğu gibi Ege, Akdeniz, Marmara ve GAP bölgesi için de önerilebilen bir anaçtır (Küden, 2000).

Bu çalışma, GF-677 melez anacı kireç oranı yüksek olan ülkemiz topraklarının geneline uyum sağlamış badem ve şeftalinin anacının hibriti olan ve özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nin topraklarına iyi adapte olmuş GF-677 hibrit anacının adventif sürgün rejenerasyonu elde edilmesi üzerine değişik BBD ve bunların konsantrasyonlarının etkileri araştırılmıştır. Yapılan bu çalışma 5 ana başlık altında toplanabilir:

1. Bitki materyalinin yüzeysel sterilizasyonu,
2. Boğum eksplantlarının başlangıç ortamında kültüre alınması ve sürgünçoğaltımı,
3. Sürgünlerin boylarının uzamasının sağlanması,
4. Sürgünlerin köklendirilmesi,
5. Köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması.

GF-677 hibrit anacının başlangıç materyali olarak yeşil sürgünlerinin boğum eksplantları kullanılmıştır. Boğum eksplantlarının yüzeysel sterilizasyonu %8'lik NaOCl ile yapıldıktan sonra eksplantlar, 1 mg/l BA içeren MS besin ortamında 3 haftalık periyotlarla altkültüre alınarak, araştırma için gerekli olan *in vitro* sürgünler elde edilmiştir. *İn vitro* sürgünlerden adventif sürgün rejenerasyonu elde etmek amacıyla, değişik BBD ve bunların konsantrasyonlarını içeren MS besin ortamında kültüre alınmış ve sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır.

Bu araştırmada sürgün ucu ve lateral (boğum) eksplantlarından elde edilen bitkiler karşılaştırıldığında alt kültüre alınacak eksplantların oranının sürgün ucu eksplantlarının daha iyi olduğu belirlenmiştir.

Bitki doku kültürü çalışmalarında başarı elde edebilmek için öncelikle eksplant seçimi, BBD konsantrasyon ve kombinasyonlarının belirlenmesine dikkat edilmelidir. Besin ortamlarının seçim doku kültürü çalışmalarında çok önemlidir. Yapılan çalışmalar sonucunda, her tür ve çeşidin doku kültürü tekniklerine gösterdiği tepkilerin farklı olduğu tespit edilmiştir. Eksplantın yaşı, donör bitkinin fizyolojik durumu, eksplant kaynağı gibi faktörler rejenerasyon oranını etkilemektedir ve ciddi farklılıklar gösterebilmektedir. Kültür besin ortamının türü, bileşenleri, en uygun kültür şartları her bir genotip için farklılık göstermektedir.

KAYNAKLAR

AĞAOĞLU, Y.S., ÇELİK, H., ÇELİK, M., FİDAN, Y., GÜLŞEN, Y., GÜNAY, A., HALLORAN, N., KÖKSAL, A. İ. ve YANMAZ, R., 1995. Genel Bahçe Bitkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Geliştirme Vakfı Yayınları No:4, 369 s., Ankara.

AK, B.E. ve ÖZDEN, A.N., 2007. Meyve yetiştiriciliğinde Doku kültürü Yoluyla Çoğaltma Yöntemleri ve Önemi. GAP V. Tarım Kongresi, 17-19 Ekim 2007, Şanlıurfa, s. 507-519.

AINSLEY P.J., COLLINS G.G. and SEDGLEY, M., 2000. Adventitious Shoot Regeneration from Leaf Explants of Almond (*Prunus dulcis* Mill.), *In vitro* Cellular and Development Biology-Plant, 36(6): 470-474.

AINSLEY, P.J., HAMMERSCHLAG, F.A., BERTOZZI, T., COLLINS, G.G. and SEDGLEY, M., 2001a. Regeneration of Almond from Immature Seed Cotyledons. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 67: 221-226.

AINSLEY, P.J., COLLINS, G.G. and SEDGLEY, M., 2001b. *In Vitro* Rooting of Almond (*Prunus dulcis* Mill.). In vitro Cellular and Development Biology-Plant, 37:778-785.

ANDREU, P., and MARIN, J.A., 2005. *In vitro* Culture Establishment and Multiplication of The *Prunus* rootstock "Adesoto 101" (*P. institia* L.) as Affected by The Type of Propagation of the Donor Plant and by the Culture Medium Composition. Scientia Horticulturae, 106(2):258-267.

ANONİM, 2014. FAOSTAT http://faostat3.fao.org (Erişim tarihi: 10/11/2014).

ANTONOPOULOU, C., DIMASSI, K., THERIOS, I., CHATZISSAVVIDIS, C. and TSIRAKOGLOU, V., 2005. Inhibitory Effects of Riboflavin (Vitamin B) on the *in vitro* Rooting and Nutrient Concentration of Explants of Peach Rootstock GF 677 (*Prunus amygdalus* x *P. persica*). Scientia Horticulturae, 106:268-272.

BABAOĞLU, M., GÜREL, E. ve ÖZCAN, S., 2002. Bitki Biyoteknolojisi. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, 374 s., Konya.

BHAGWAT, B. and LANE, D., 2004. *In vitro* Shoot Regeneration from Leaves of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) 'Lapins' and 'Sweetheart'. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,78:173-181.

CHANNUNTAPIPAT, 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.

DIMASSITHERIOU, K., 1995. *In vitro* Rooting of Rootstock GF-677 (*P. amygdalus* x *P. persica*) as Influenced by Mineral Concentration of theNutrient Medium and Type of Culture-tube Sealing Material. Journal of Horticultural Science, 70 (1): 105-108.

DURKOVIC, J., 2006. Rapid Micropropagation of Mature Wild Cherry. Biologia Plantarum, 50(4):733-736.

ESCALETTES V. and DOSBA F., 1993. *In vitro* Adventitious Shoot Regeneration from Leaves of *Prunus* spp. Plant Science, 90(2):201-209.

ESPINOSA, A. C., PIJUT, P.M. and MICHLER, C. H., (2006). Adventitious Shoot Regeneration and Rooting of *Prunus serotina in vitro* Cultures. Hortscience, 41(1):193-201.

FOTOPOULOS, S. and SOTIROPOULOS, T.E., 2005. *In Vitro* Rooting of 204/84 Rootstock (*Prunus persica* x *P. amygdalus*) as Influenced by Mineral Concentration of The Culture Medium and Exposure to Darkness for a Period. Agronomy Research,3(1):3-8.

GENTILE, A., MONTICELLI, C. and DAMIANO, C., 2002. Adventif Shoot Regeneration in Peach [*Prunuspersica* (L.) Batsch]. Plant Cell Rep., 20: 1011-1016

GÖNÜLŞEN, N. 1987. Bitki Doku Kültürleri Yöntemleri ve Uygulama Alanları. T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. Yayın No: 78 s: 139.

GÜR, İ., 2003. GF-677 Anacı. EğirdirBahçe, Eğirdir Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Online Tarımsal Bilgi-Magazin Dergisi, Sayı:3, Ekim.

GÜREL, S. ve GÜLŞEN, Y., 1998a. The Effects of IBA and BAP on *in vitro* Shoot Production of Almond (*Amygdalus communis* L.). Tr. J. of Botany, 22:375-379.

GÜREL, S. ve GÜLŞEN, Y., 1998b. The Effects of Different Sucrose, Agar, and pH levels on *in vitro* Shoot Production of Almond (*Amygdalus communis* L.). Tr. J. of Botany, 22:363-373.

JAIN, N., and BABBAR, S.B., 2000. Recurrent Production of Plants of Black Plum *Syzygium cuminii* (L.) Skeels, a Myrtaceous Fruit Tree, From In Vitro Cultured Seedling Explants. Plant Cell Reports, 19:519-524.

JAIN, N. and BABBAR, S.B., 2003. Regeneration of "Juvenile" Plants of Black Plum, *Syzygium cuminii* Skeels, From Nodal Exp of Mature Trees. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 73:257-263.

KAMALI, K., MAJIDI, E. and ZARGHAMI, R., 1999. Micropropagation of GF-677 Rootstocks (*Prunus amygdalus* x *P. persica*). Proceedings of the XI GREMPA Seminar, 1-4 September, 1999, Sanliurfa, (Turkey) Cahiers Options Mediterraneennes, Vol: 56,175-177.

KÜDEN, A.B., 2000. Şeftali Yetiştiriciliği. TÜBİTAK-TARP Yayınları, 20 s.

LITZ, R.E. and GRAY, D.J., 1992. Organogenesis and Somatic embryogenesis. In: Hammershlag FH, Litz RE (eds) Biotechnology of Perennial Fruit Crops. CAB Int, Wallingford, p. 3-34

MATT, A. and JEHLE, J.A., 2005. *In vitro* Plant Regeneration From Leaves and Internode Sections of Sweet Cherry Cultivars (*Prunus avium* L.) Plant Cell Rep., 24: 468-476.

MIGUEL, C.M., DRUART, P.H. and OLIVEIRA, M.M., 1996. Shoot Regeneration from Adventitious Buds Induced on Juvenile and Adult Almond (*Prunus dulcis* Mill.) Explants. In vitro Cell Dev Biol Plant, 32:148- 153.

MOLASSIOTIS, A.N., DIMASSI, K., DIAMANTIDIS, G. and THERIOS, I., 2003. Fe- EDDHA Promotes Rooting of Rootstock GF-677 (*P. amygdalus* x *P. persica*) Explants *In vitro* Biologia Plantarum 47 (1): 141-144.

MUNA, A., AHMAD, A., MAHMOUD, K. and ABDUL-RAHMAN, K., 1999. In Vitro Propagation of Semi-dwarfing Cherry Rootstock. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 59:203-208.

MURASHIGE, T. and SKOOG, F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. Physiol. Plant., 15: 473-497.

OSTERC, G., LUTHAR, Z. and STAMPAR, F., 2004. The Importance of the Sterilization Procedure for Producing Vigorous Cherry Plants (*Prunus* sp.) *In Vitro*. Acta Agriculturae Slovenica, 83:45-51.

OZDEN, A.N., AK, B.E. and OZDEN, M., 2011. In Vitro Regeneration and micropropagation of GF-677 Hybrid (Prunus amygdalus X P. persica) Rootstock. Acta Horticulturae, 912, (Vol:2): 653-656.

ÖZBEK, S., 1978. Özel Meyvecilik (Kışın yaprağını döken meyve türleri). Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 128, Ders Kitabı No: 11, 485s.

PRUSKI, K., ASTATKIE, T. and NOWAK, J., 2005. Tissue Culture Propagation of Mongolian Cherry (*Prunus fruticosa*) and Nanking Cherry (*Prunus tomentosa*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 82:207-211.

TÜİK, 2014. Bitkisel Üretim İstatistikleri, www.tuik.gov.tr, (Erişim tarihi: 18.10.2014)

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Akgül TAŞ
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : KAYSERİ– 20.04.1985
Telefon : 0505 341 6951
Faks : -
e-mail : akgultas38@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise:	Behice Yazgan Kız Lisesi /KAYSERİ	2003
Üniversite:	Yüzüncü Yıl Üniv., Ziraat Fakt., Bahçe Bitk. Bölümü /VAN	2011
Yüksek Lisans:	Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı/ŞANLIURFA	2016

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2014-2016	Harran Üniv. Bahçe Bitkileri Böl.	Araştırma Görevlisi