T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

IN VİTRO ŞARTLARINDA BBAR UYGULAMALARININ GF-677 İLE MAXMA-14'ÜN KÖKLENMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Sevda GÜLER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

KASIM-2017
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Sevda GÜLER tarafından hazırlanan "*In vitro* Şartlarında BBAR Uygulamalarının GF-677 ile MaxMa-14'ün Köklenmesi Üzerine Etkisi" adlı tez çalışması 27/11/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	**İmza**
Başkan Prof. Dr. Lütfi PIRLAK	
Danışman Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN	
Üye Prof. Dr. Lütfi PIRLAK	
Üye Doç. Dr. Halil İbrahim OĞUZ	

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YILMAZ
FBE Müdürü

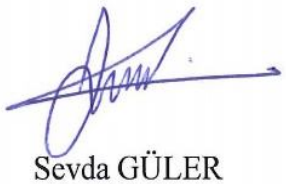
Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından 16201019 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.



Sevda GÜLER

Tarih: 27/11/2017

ÖZET

YÜKSEK LİSANS

IN VİTRO ŞARTLARINDA BBAR UYGULAMALARININ GF-677 İLE MAXMA-14'ÜN KÖKLENMESİ ÜZERİNE ETKİSİ

Sevda GÜLER

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN

2017, 35 Sayfa

Jüri
Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN
Prof. Dr. Lütfi PIRLAK
Doç. Dr. Halil İbrahim OĞUZ

Deneme *in vitro* şartlarda BBAR ırklarının ve IBA'nın GF-677 ile MaxMa-14 klon anaçlarının köklenmesi üzerine etkilerinin belirlenmesi amacıyla Selçuk Üniversitesi Bahçe Bitkileri Bölümüne ait Biyoteknoloji Laboratuvarında 2015-2016 yıllarında yürütülmüştür. *İn vitro* şartlarında çoğaltılan mikroçeliklerin köklenmesi üzerine BBAR ırklarının (*Bacillus subtilis* 13*, Bacillus lentus* 13*, Bacillus megaterium* 14 ve *Rhodotorula spp.* 15) etkisini belirlemek için mikroçeliklerin dip kısımlarına bakteri inokulasyonu yapılmış ve daha sonra IBA içermeyen MS ortamına dikilmiştir. Ayrıca, rizobakterilerin etkinliğini karşılaştırmak amacıyla IBA ilave edilmiş MS ortamı da denemede kullanılmıştır. Çalışmada yapılan uygulamaların sürgün uzunluğu, sürgün çapı, mikrosürgün başına düşen kök sayısı, kök uzunluğu, kök çapı, kök oranı (%), kök ve sürgün yaş ağırlığı, kök ve sürgün kuru ağırlığına etkisi belirlenmiştir. Uygulamalardan 1 ay sonra yapılan ölçümler sonucunda BBAR'lerin hem MaxMa-14 hem de GF-677 anaçlarında köklenmeye etkisi görülmezken, IBA konsantrasyonunda (sırasıyla %100; %88,8) ve kontrol grubunda (sırasıyla %100; %0) köklenme tespit edilmiştir. Denemede rizobakteri uygulamalarında köklenmenin olmamasının gıda ortamına triptofan ilavesi yapılmamasından kaynaklandığı ve bundan sonra yapılacak çalışmalarda gıda ortamına triptofan eklenmesinin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: BBAR, IBA, *in vitro*, köklenme, mikroçoğaltım

ABSTRACT

MS THESIS

EFFECT OF PGPR APPLICATIONS ON ROOTING OF GF-677 AND MAXMA-14 *IN VITRO* CONDITIONS

Sevda GÜLER

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCEOF SELÇUK UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN AGRICULTURAL ENGINEERING

Advisor: Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN

2017, 35 Pages

Jury
Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN
Prof. Dr. Lütfi PIRLAK
Doç. Dr. Halil İbrahim OĞUZ

The study was conducted in order to determine the effects of PGPRs and IBA on rooting of GF 677 and MaxMa 14 clonal rootstocks in Selçuk University, Department of Horticulture, Biotechnology Labin 2015-2016. The microcuttings were inoculated by bacteria for determination of the effect of PGPR strains (*Bacillus subtilis* 13*, Bacillus lentus* 13*, Bacillus megaterium* 14 ve *Rhodotorula spp.*15) on rooting of microcuttings propagated *in vitro* conditions and then they were planted in MS media not including IBA. Moreover, MS media with IBA was experienced in order to compare rhizobacteria efficiency. In the study, the effect of applications on shoot length, shoot diameter, root number per micro-shoot, root length, root diameter, root percentage (%), root and shoot fresh and dry weights was determined. The measurements of the experiment proceeded 1 month demonstrated that there were rooting in IBA concentrations (100 and 88.8%, respectively) and control (100 and 0%, respectively), while PGPRs did not affect rooting of MaxMa 14 and GF 677. We conclude that there was not any rooting in rhizobacteria applications due to the lack of tryptophane in media and tryptophane must be added to media in the future studies.

Keywords: PGPR, IBA, *in vitro*, rooting, propagation

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışması olarak hazırlanan bu çalışmada *in vitro* şartlarında BBAR uygulamalarının GF-677 ile MaxMa-14'ün köklenmesi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Çalışmanın hazırlanmasında benden yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Bahçe Bitkileri A.B.D. Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ahmet EŞİTKEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca, destek ve yardımlarını hiç esirgemeden bütün içtenliği ile sunan araştırma görevlisi hocalarım Servet ARAS ve Kevser YAZAR'a teşekkür ederim.

Yine, çalışmalarım süresince yardımlarını gördüğüm arkadaşım Heydem EKİNCİ'ye teşekkür ederim.

Son olarak, her zaman beni anlayışla karşılayan çalışmalarım süresince maddi manevi desteklerini ve katkılarını benden esirgemeyen sevgili babam Süleyman GÜLER, annem Ümran GÜLER, kız kardeşim Şöhret GÜLER ve erkek kardeşim Osman GÜLER'e şükranlarımı sunarım.

Sevda GÜLER
KONYA-2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iii**

ABSTRACT ..... **iv**

ÖNSÖZ ..... **v**

İÇİNDEKİLER ..... **vi**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **vii**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**

3. MATERYAL VE YÖNTEM **16**

3.1. Materyal 16
3.1.1. GF-677 Anaç Genotipinin Genel Özellikleri 16
3.1.2. MaxMa-14 Anaç Genotipinin Genel Özellikleri 17
3.1.3. Rizobakteri Irklarının Genel Özellikleri 17
3.1.4. MS Ortamının İçeriği 18
3.2. Yöntem 19
3.2.1. Köklenme Oranı (%) 22
3.2.2. Mikrosürgün Başına Düşen Kök Sayısı (adet) 22
3.2.3. Kök Uzunluğu (cm) 22
3.2.4. Kök Çapı (mm) 22
3.2.5. Sürgün Uzunluğu (cm) 22
3.2.6. Sürgün Çapı (mm) 23
3.2.7. Kök ve Sürgün Yaş Ağırlığı (mg) 23
3.2.8. Kök ve Sürgün Kuru Ağırlığı (mg) 23
3.2.9. İstatistiksel Analiz 23

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA **24**

4.1. SONUÇLAR 24
4.1.1. Uygulamaların Köklenme ve Kök Özelliklerine Etkisi 24
4.1.2. Uygulamaların Sürgün Gelişimine Etkisi 25
4.2. TARTIŞMA 27

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER **28**

5.1. Sonuçlar 29
5.2. Öneriler 29

KAYNAKLAR **30**

ÖZGEÇMİŞ **35**

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

µ	Mikro
^{o}C	Santigrat derece
%	Yüzde

Kısaltmalar

AP	Almehdi ve Parfitt
BA	Benzil Adenin
BAP	Benzil Amino Pürin
BBAR	Bitki Büyümesini Artıran Rizobakteriler
BBD	Bitki Büyümesini Düzenleyiciler
B&N	Bourgin ve Nitsch
cm	Santimetre
DKW	Driver ve Kuniyuki
IAA	İndol-3-Asetik Asit
IBA	İndol-3-Butirik Asit
GA_3	Giberellik Asit
g/l	Gram/Litre
LS	Linsmaier ve Skoog
mg	Miligram
mg/l	Miligram/Litre (mg L^{-1})
mm	Milimetre
MS	Murashige ve Skoog
µM	Mikro Molar
NAA	Naftalen Asetik Asit
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
NRM	Nas ve Read Medium
PG	Phloroglusinol(Floroglusinol)
ppm	Milyonda bir (mikro)
s	Saat
SA	Salisilik Asit
TDZ	Tidiazuron
WPM	Woody Plant Medium
w/v	Hacimce ağırlıkça yüzde
QL	Quoirin ve Lepoivre

1. GİRİŞ

Klonal çoğaltım olarak da bilinen mikroçoğaltım konusundaki ilk çalışma 1902 yılında, tek bir hücreden tekrar tam bir canlının oluşturulabileceğini kanıtlamaya çalışan botanikçi Haberlandt tarafından yapılmıştır. Haberlandt, izole ettiği bitki hücrelerini besin ortamına yerleştirmiştir. Besin ortamındaki canlı hücreler hacimlerini 11 kat artırmalarına karşın çoğalamamışlardır. Haberlandt'ı izleyen çalışmalar bu başarısızlığın nedenini hücre bölünmesi, gelişmesi ve farklılaşması için gerekli olan hormonların o yıllarda bilinmeyişine bağlamışlardır (Hartmann ve Kester, 1975).

Günümüzde bilindiği üzere bitkinin kendi bünyesinde sentezlediği hormonlar ya da dışarıdan bünyesine aldığı bitki büyüme düzenleyicileri sayesinde bitki gelişimini tamamlamaktadır. Bitki doku kültürü ile mikroçoğaltım, kısa süre de hastalıksız, virüsten ari, kaliteli ve sağlıklı bitki üretimiyle günümüzün ve geleceğin tarımsal üretimi için tüm dünyada önemli bir yer almaktadır.

Mikroçoğaltım, bir bitkiden alınan ve tam bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip bitki kısımlarından (embriyo, tohum, gövde, sürgün, kök, kallus, tek hücre ya da polen tanesi vb.) yapay besin ortamlarında ve aseptik koşullar altında yeni bitkilerin elde edilmesi olarak tanımlanmaktadır (Hartmann ve Kester, 1975). Bitkilerin *in vitro* üretimi, kullanılan eksplantın özelliğine göre (embriyo, meristem, anter, hücre veya protoplast kültürü ve benzeri) adlandırılmaktadır (Babaoğlu ve ark., 2001).

Mikroçoğaltımın genel olarak bitki yetiştiriciliği ve genetiği yönünden önemi ve avantajları aşağıdaki gibi sıralanabilir:

1. Hastalık ve Zararlılardan arındırılmış bitkisel materyal elde edilmesi

-virüsten arındırma ve karantina da kolaylıktır.

2. Kitlesel üretimde aşağıdaki yararların sağlanması:

-üretilen bitkilerde fenotipik ve genotipik benzerlik(homojenite),

-alışılagelen yöntemlerden daha kısa kültür süresi,

-zor üretilen türlerin daha kolay üretimi,

-üretimde daha az anaç kullanılması,

-çoğaltma katsayısının yüksek olması ve

-bitki gen kaynaklarının korunmasıdır.

3. Somaklonal varyasyondan dolayı yeni çeşitlerin/genotiplerin elde edilmesidir (Babaoğlu ve ark., 2001).

Ayrıca Mikro Çoğaltmanın Aşamaları;

1. Hazırlık Aşaması
2. Kültür Başlangıç Aşaması
3. Sürgün Çoğaltım Aşaması
4. Sürgün Gelişimi ve Köklendirme Aşaması
5. Aklimizasyon Aşamaları şeklinde 5 başlık altında toplanabilir.

Mikroçoğaltım ile çok yıllık odunsu bitkilerin köklenmesi klasik yöntemlere göre daha kolay ve daha az zaman almaktadır. Mikroçoğaltımda da köklenme tür ve çeşitlere göre farklılıklar göstermekte olup odunsu bitkilerin köklenmesinde bazı zorluklar yaşanmaktadır. Odunsu türlerin köklenmesini artırmak amacıyla farklı yöntemler kullanılabilmektedir.

Odunsu bitkilerin doku kültürü yöntemi ile çoğaltılmasında köklenme bakımından birçok sorunla karşılaşılmaktadır. Bu sorunlar bitkilerin performansının azalmasına sebep olan bazı biyokimyasal ve histolojik değişimlere yol açmaktadır (Larraburu ve ark., 2007). Köklenme sorununu çözmek için aminoasit (Pedrotti ve ark., 1994), indol asetik asit (De Klerk ve ark., 1997), bazı vitaminler (Antonopoulou ve ark., 2005) ve triptofan (Khalid ve ark., 2004; Sharma ve ark., 2014) gibi uygulamalar yapılmaktadır. Bunlardan başka son zamanlarda kullanımı yaygınlaşmaya başlamış olan Bitki Büyümesini Artıran Rizobakterilerin (BBAR) *in vitro* şartlarda mikroçeliklerin köklendirilmesinde kullanılabileceği ile ilgili görüşler bulunmaktadır. Ancak bu konuda bu zamana kadar yapılan çalışmalar oldukça kısıtlıdır.

Agrobacterium, Bacillus, Streptomyces, Pseudomonas, Alcaligenes gibi patojenik olmayan bakterilerin çeliklere uygulanması sonucunda bakterilerin doğal olarak oksin sentezlemesiyle kök oluşumunu teşvik ettiği birçok çalışma bulunmaktadır (Patena ve ark., 1988; Goto, 1990; Srinivasan ve ark., 1996; Trıpp ve Stomp, 1997; Ercişli ve ark., 2000; 2000a; Ercişli ve ark., 2003; Eşitken ve ark., 2003; Larraburu ve ark., 2007; Teixeira ve ark., 2007; Peyvandi ve ark., 2010). Kök oluşumunun mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte oksin gibi bazı fitohormonların sentezlenmesi, etilen sentezinin engellenmesi ve besin elementlerinin mineralizasyonunun sağlanmasıyla gerçekleştiği kabul edilmektedir (Goto, 1990; Steenhoudt ve Vanderleyden, 2000).

BBAR'lerin köklenme üzerine etkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada *Bacillus* RC23, *Paenibacillus polymyxa* RC05, *Bacillus subtilis* OSU142, *Bacillus* RC03, *Comamonas acidovorans* RC41, *Bacillus megaterium* RC01 ve *Bacillus simplex*

RC19 bakterileri yarı odun ve odun kivi çeliklerine uygulanmıştır. Bu bakterilerin kontrol grubuna göre %47,5 ve %42,5 arasında köklenme oranını artırdığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda bu BBAR'lerin oksine alternatif olarak organik fidan yetiştiriciliğinde kullanılabileceği belirtilmiştir (Ertürk ve ark., 2011). BBAR'lerin köklenme üzerine etkisini belirlemek üzere yapılan başka bir çalışmada, *Agrobacterium rubi* ve *Bacillus* OSU142 bakterileri M9 elma anacının çeliklerine uygulanmıştır. Çalışma sonucunda uygulamaların kontrol grubuna göre daha yüksek kallus oranına sahip olduğu ve köklenme yüzdesinin arttığı belirlenmiştir (Pırlak ve Baykal, 2009). Yabani vişne (*Prunus cerasus* L.)'nin yeşil ve yarı odunsu çeliklerinde yapılan çalışmada köklenme üzerine İndol Butirik Asit (IBA) ve *Agrobacterium rubi'*nin etkisi incelenmiştir. Sonuçta kontrol gruplarının her iki çelik tipinde de köklenme görülmezken en yüksek köklenme oranı yeşil çelikte %65 ve yarı odunsu çelikte %70 ile 250 mg l^{-1} IBA+ A16 uygulamasından elde edilmiştir (Eşitken ve ark., 2003). *In vivo* şartlarında yapılan diğer bir çalışmada ise Kütahya vişne çeşidi çeliklerinin köklenmesi amacıyla çeliklere yalnız ve kombinasyon şeklinde 2000, 4000 ve 6000 ppm IBA ile *Agrobacterium rubi'*nin 3 farklı ırkı (A1, A16 ve A18) uygulanmıştır. Sonuçta kontrol grubunda köklenme gözlenmezken, en yüksek köklenme oranı (%70) 2000 ppm IBA + A16 uygulamasından elde edilmiştir (Ercişli ve ark., 2000). *In vivo* şartlarında yapılan bir diğer çalışmada ise kuşburnu çeliklerine yalnız ve kombinasyon şeklinde olmak üzere 2000, 4000, 6000 ppm IBA ile *Agrobacterium rubi*'nin 3 farklı ırkı (A1, A16 ve A18) uygulanmıştır. Sonuç olarak en yüksek köklenme oranı (%95) 2000 ppm IBA+ A18 uygulamasından elde edilmiştir (Ercişli ve ark., 2000a).

Ilıman iklim meyve türlerinin *in vivo* koşullarda BBAR yardımıyla köklenmesini teşvik etmek üzere birçok çalışma bulunmasına rağmen *in vitro* koşullarda henüz bir çalışma bulunmamaktadır. Bu sebeple BBAR'lerin *in vitro* koşullarda köklenmeye nasıl etki edeceği üzerine yapılacak çalışmalar büyük bir önem arz etmektedir. Yaptığımız çalışmada, ülkemizde ve dünyada sert çekirdekli türlerde anaç olarak yaygın bir şekilde kullanılan GF-677 (*Prunus persica x Prunus amygladus*) ve MaxMa-14 (*Prunus mahaleb*x*Prunus avium*) anaçlarına doku kültürü şartlarında oksin sentezlediği bilinen *Bacillus subtilis* 13*, Bacillus lentus* 13*, Bacillus megaterium* 14 ve *Rhodotorulaspp.* 15 rizobakterileri uygulanarak köklenme üzerine etkileri araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

GF-677 anacının *in vitro* koşullarda geliştirilen sürgünlerin köklenmesi üzerine yapılan çalışmada en iyi köklenme yarı yoğunluktaki Murashige ve Skoog (MS) ortamına ilave edilen 3 mg/l IBA den elde edilmiştir (Ahmad ve ark., 2003).

İn vitro koşullarda yapılan çalışmada GF-677, Nonpareil, Ferragnes ve Tuano badem çeşitleri kullanılmıştır. Nonpareil ve Ferragnes badem çeşitlerinde köklenme elde edilmezken GF-677 (badem×şeftali) anacında en iyi köklenme (%64) 1 mg/l IBA içeren Nas ve Read Medium (NRM)(Nas ve Read, 2004) ortamından elde edilmiştir (Sevgin, 2010).

Yapılan çalışmada, 'MaxMa-14' kiraz anacının *in vitro* sürgün çoğaltımına etkilerinin araştırılması amacıyla MS besin ortamına Benzil Adenin (BA) veya kinetin olmak üzüre 2 sitokinin, IBA, Naftalin Asetik Asit (NAA) veya Indol Asetik Asit (IAA) olmak üzere 3 oksinile farklı konsantrasyon ve kombinasyonları eklenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre 4,44 µM BA ve 0,49 µM IBA içeren MS besin ortamının sürgün çoğaltmak amacıyla en uygun ortam olduğu belirtilmiştir. Sürgünleri köklendirmek amacıyla besin ortamına 0,5 veya 2,45 µM NAA veya IBA içeren MS ya da ½ MS kullanılmıştır. En yüksek köklenme oranı (%95) 2,45 µM IBA içeren MS besin ortamından elde edilmiştir. Köklendirme ortamına kinetin ilavesinin kök ve sürgün uzunluğunu arttırdığı belirlenmiştir. Kökler oluştuktan sonra sürgünlerin kısa süre içinde saksılara aktarılması, dış koşullara alıştırmada kolaylık sağlamıştır. Sıvı köklendirme ortamında köklendirilen sürgünlerin kök gelişimi daha iyi olduğundan bitkiciklerin canlılık oranı yüksek olmuştur (Muna ve ark., 1999).

Gisela 5 kiraz anacının *in vitro* koşullarda çoğaltılması üzerine yapılan çalışmada, yan ve tepe tomurcukları eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Eksplantlar dezenfekte edildikten sonra çoğaltım aşamasında 1 mg/l IBA + 0,75 mg/l BAP, 1 mg/l IBA + 1 mg/l BAP, 2 mg/l IBA + 0,75 mg/l BAP ve 2 mg/l + 1 mg/l BAP içeren MS besi ortamlarına alınmıştır. Köklendirme aşamasında ise MS ortamlarına 0; 1; 2; 4 ve 6 mg/l NAA ilave edilmiştir. Sonuç olarak en iyi köklendirme %92,88 ile 6 mg/l NAA uygulamasından elde edilmiştir (Demiral ve Ülger, 2008).

Farklı oksin hormonlarının *in vitro* koşullarda, elma bitkisinde kök oluşumunu etkilemesi üzerine yapılan bir çalışmada, bitkiler IAA, IBA ve NAA hormonlarına üç hafta boyunca maruz bırakılmıştır. Köklenme uygulamasının ilk beş günü boyunca kültürler karanlıkta inkübe edilmiştir. Bu periyod da kök oluşumu başlamıştır. Ardından

kültürler ışıklı ortama alınmıştır. Çalışmanın sonucunda NAA en az kök sayısına sahipken (8 kök), IAA ve IBA en yüksek kök sayısına (15 kök) sahip olmuştur. Ayrıca IAA denemede kullanılan Jork-9 elma çeşidinin sürgünlerin köklenmesi üzerine en etkili oksin hormonu olduğu bildirilmiştir (De Klerk ve ark., 1997).

Dut bitkisinin *in vitro* da köklenme etkinliği üzerine yapılan bir çalışmada farklı oksin hormonları kullanılmıştır. En yüksek köklenme %92 olup 1 mg/l IBA içeren MS ortamında elde edilmiş ve %61'lik köklenme ise 1 mg/l IAA içeren ortamda belirlenmiştir (Kakarla ve Rama, 2014).

İn vitro da kültüre alınan Hacıhaliloğlu kayısı çeşidinin çoğaltılması, köklendirilmesi ve aklimatizasyonuna etki eden faktörler üzerinde çalışılmıştır. Kültürlerin başlatılması için, eksplant alım tarihleri arasında belirgin farklılıklar gözlenerek en iyi kültüre başlama zamanının Mayıs ayı olduğu tespit edilmiştir. En iyi köklenme oranı (%60) 2 mg L^{-1} IBA ilave edilmiş MS besi ortamından alınmıştır (Yıldırım ve ark., 2011).

Badem ve şeftali melezi bir anaç olan GF-677'nin yerine alternatif anaç olarak kullanılabilen HS314 anacı için yapılan bir çalışmada mikroçoğaltım protokolü geliştirilmiştir. Yüzeyi steril edilmiş boğum sürgünleri %3 sükroz, 100 mg L^{-1}floroglusinol, %0,7 bitki agarı ve 0,5 mg L^{-1} benzil amino purin (BAP) içerip modifiye edilmiş Driver ve Kuniyuki medium (DKW) ortamına kültüre alınmıştır. Eksplantların sürgün çoğaltımını kolaylaştırmak için aynı kültür ortamına 0,5; 1 ve ya 2 mg L^{-1} BAP ve 0,1 veya 0,5 mg L^{-1}IBA ilave edilerek transfer edilmiştir. Maksimum sürgün sayısı 2mg L^{-1} BAP içeren ortamda elde edilmiştir. Mikrosürgünler köklendirmeyi başlatmak için 0,5; 1; 2 veya 4 mg L^{-1} IBA veya naftalin asetik asit (NAA) ilave edilmiş DKW ortamına transfer edilmiştir. En yüksek kök sayısı ve en yüksek kök uzunluğu 2 mg L^{-1} IBA içeren ortamdan elde edilmiştir. Köklenme yüzdesi, DKW tuz konsantrasyonunun yarı yoğunluğa kadar azaltılması ile %66'dan %85'e iyileştirilmiştir. Sonuç olarak köklenen bitkicikler *in vivo* şartlara transfer edilmiş ve başarılı bir şekilde dış ortama alıştırılmıştır (Dejampour ve ark., 2011).

Yapılan çalışmada sürgün yenileme için *in vitro* da yetişen şeftali anacı ''Nemaguard'' (*Prunus persica x P.davidiana*)'ın yapraklarından tam bir protokol geliştirilmiştir. Sürgün eksplantları 3,55 µM 6-benzil adenin (BA), 7,38 µM Indol-3-Bütirik Asit (IBA) eklenmiş MS ortamında kültür alınmıştır. *İn vitro* da 3 hafta da büyüyen sürgünlerin yalnızca yaprakları geliştirilmemiş olup yaprak saplarından da eksplantlar kullanılmıştır. Köklenme ortamı için sitokinsiz yarım yoğunlukta MS

ortamına 0,49; 2,46; 4,92 veya 7,38 µM IBA, %3 sükroz ve %0.5 agar eklenmiştir. 4,92 ve 7,38 µM eklenen IBA konsantrasyonlarından %100 köklenme elde edilmiştir (Zhou ve ark., 2010).

Nonpareil ve Texas badem çeşitleri ile yapılan *in vitro* klonal çoğaltma çalışmasında köklenme üzerine etki eden faktörler araştırılmıştır. Bu amaçla IBA, NAA ve IAA'nın farklı konsantrasyonları esas alınarak MS besin ortamının fiziksel yapı ve kuvvetinin, ön karartmanın (10 gün karartmadan sonra 16 saat aydınlık- 8 saat karanlık), aktif kömürün, mikroçelik uygulamalarının, oksinli ortamdan oksinsiz ortama transferin ve *Agrobacterium rhizogenes* inokülasyonunun köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluk düzeyi, kallus düzeyi ve kuru madde miktarları üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak Nonpareil çeşidinde en yüksek köklenme oranı (%90), tam ve yarı kuvvetinde makroelementleri içeren ortamlardan 0,5 mg/l IBA'dan ve 1000 ppm IBA solüsyonuna 2 dakika daldırma uygulamasından elde edilmiştir. Texas çeşidinde ise en yüksek köklenme oranı (%80) yarı kuvvette makro elementleri içeren besin ortamında 10 gün karartma uygulaması ile 1,5 mg/l IBA'dan elde edilmiştir (Kesmük, 1993).

''Hayward'' ve ''Matua'' kivi çeşitlerinde *in vitro* koşullarında yapılan çalışmanın başlangıç kültüründe en başarılı sonuçlar, 2 mg/L BA, 22,5 g/L sükroz ve 7 g/L difko-bactoagar ilave edilmiş $^3/_4$ yoğunluğundaki MS ortamından elde edilirken en yüksek köklenme oranları ''Hayward'' çeşidinde (%51,85) 20mg/L IBA'nın 15 sn uygulaması, ''Matua'' çeşidinde (%70,37) ise 50mg/L IBA'nın 2 saat uygulaması ile sağlanmıştır (Sivritepe ve Tuğ, 2011).

"Royal Gala" elma çeşidinin *in vitro* da köklenme yeteneğine, farklı sitokininlerin (tidiazuron, benziladenin, benziladenin-ribosid ve meta-topolin-ribosid) etkileri incelenmiştir. Hormon olmayan yetiştirme ortamında sürgünlerin altkültüre alınması köklenmeyi artırmıştır. Azalan sitokinin içeriği ve artan giberellik asit (GA_3) ile birlikte altkültüre alınması %36'ya kadar köklenmeye sebep olmuştur. En iyi köklenme oranı (%76) dört hafta boyunca benzil adenin ribozidli ortam ile sağlanmıştır (Magyar-Tábori ve ark., 2011).

Kiraz da yapılan çalışmada eksojen GA_3 uygulamasının adventif kök oluşumu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Kontrolde köklenme oranı yaklaşık olarak %37 iken GA_3 uygulamasında bu oranın %80 veya daha fazla olduğu belirlenmiştir (Ford ve ark., 2002).

Yapılan çalışmalarda, siyah kiraz *P. serotina*'nın #3 ve #4 genotipli olgun fidanları ve 3 yıllık F genotipli fidanları kullanılmıştır. Bu çalışmada, yapraklarda sürgün rejenerasyonunu sağlayabilmek için Tidiazuron (TDZ) ve NAA kullanılmıştır. F genotipinde en iyi rejenerasyon (%91,4), 9,08 µM TDZ ve 1,07 µM NAA içeren ortamlarda meydana gelmiştir. En yüksek sürgün sayısının (8,2), 9,08 µM TDZ ve 0,54 µM NAA içeren ortamlardan elde edildiği kaydedilmiştir. Oluşan eksplantların köklenmesi için, 30 saniye veya 3dakika boyunca 2,5; 5 veya 10 µM IBA içerisine daldırıldıktan sonra BBD olmaksızın %2 sükroz, %0,7 Difco-Bactoagar içeren MS ortamlara transfer edildiği belirtilmiştir. 2,5 µM IBA içerisine 3 dakika daldırmayla da genotip #3 (%82) ve genotip #4'te (%71) optimal köklenme meydana geldiği vurgulanmıştır (Liu ve Pijut, 2008).

Asetilsalisilik asidin (ASA) GF-677'nin mikro çeliklerinin köklenmesi üzerine etkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada köklenme yüzdesi, kök sayısı ve uzunluğu parametreleri incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında ASA'nın köklenme üzerine etkisinin belirsiz görüldüğü ayrıca kök sayısı ve uzunluğuna etkisinin önemli derecede bulunmadığı bildirilmiştir (Marino ve Ventura, 1997).

Köklenmesi güç olan meyve türlerinin mikro sürgünlerine, *in vitro* koşullarda putresin uygulamasının ve köklenme ortamının karartılmasının köklenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Putresin, besin ortamına sürgün çoğaltımı aşamasında ve köklendirme süresince eklenmiştir. Sürgün çoğaltımı sırasında her tür için kullanılan besin ortamı ve bitki büyümesini düzenleyicilerinin etkisi farklı olmuştur. Araştırmada kullanılan tüm türler için köklendirme ortamı olarak 5 µM NAA içeren½Bourgin ve Nitsch (Bourgin ve Nitsch, 1967) besin ortamı kullanılmıştır. Köklendirme ortamına 1 µM putresin ilave edilmesi elma ve zeytinde köklenmeyi artırırken; cevizde köklenme oranını azaltmış; armut, badem, jojoba ve kayısıda köklenme oranını etkilememiştir. Badem, ceviz ve kestane sürgünlerinin köklenmesi için, besin ortamının karartılması gerektiği belirtilmiştir (Rugini ve ark., 1993).

Sükrozun *in vitro* koşullarında çilek bitkisinde köklenmeyi artırma üzerine yapılan bir çalışmada, farklı dozlarda BAP (0,1; 0,2; 0,5 ve 1 mg/l) içeren MS ortamında bitkiler kültüre alınmıştır. Ayrıca farklı iki dozda IBA ve 4 dozda sükroz denenmiştir. 0,4 mg/l IBA köklenmeyi büyük bir derecede artırmıştır. Sükrozun etkisi incelendiğinde ise 40 g/l dozu köklenmeyi artırmada en etkili doz olmuştur (Mohasseb ve ark., 2014).

İn vitro koşullarında PR 204-84 şeftali anacının köklenmesi üzerinde yapılan çalışmalarda köklenme aşamasında 5 µM IBA ilaveli MS besi ortamı kullanılmıştır. Karbon kaynağı olarak her ikisinde de aynı miktarda kullanılan sükroz ve glikoz konsantrasyonlarından (0; 44; 88; 176 ve 352 µM) 88 µM kullanılmasıyla %100 köklenme elde edilmiştir. Deney tüplerinin kapatılmasında kullanılan parafilm, kauçuk, pamuk ve alüminyum folyonun köklenmeye etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak kültürün 24. gününde pamukta %58 köklenme elde edilirken diğer kapatma materyallerinde bu oran %100 elde edilmiştir (Fotopoulos ve Sotiropoulos, 2004).

Riboflavin (B_2) vitaminin badem x şeftali melez klonu olan GF-677'nin *in vitro* da köklenme üzerine etkisi çalışılmıştır. B_2 vitamini 5 konsantrasyon şeklinde eklenmiştir: 0 (kontrol), 0,5; 1; 1,5 ve 2 mgl^{-1}. Kültüre alındıktan dört hafta sonrasında, riboflavin eksplantların yan kök oluşumunu teşvik etmemiştir ve köklenme kontrol uygulamasına kıyasla çok düşük bulunmuştur. İki yüksek düzeyde B_2 vitaminine sahip yetiştirme ortamında sürgünlerin çoğunda kloroz ve uçlarda nekroz belirtisi göstermiştir (Antonopoulou ve ark., 2005).

İn vitro koşullarında GF-677 anacında yapılan çalışmada, apikal ve lateral tomurcuklar kültür başlatmada kullanılmıştır. BAP ve NAA'in farklı konsantrasyonları ilave edilerek yapılan denemelerde, BAP'ın 1 mgl^{-1}'den yüksek dozlarının camlaşmaya (vitrifikasyona) neden olduğu görülmüştür. Köklendirme aşamasında 0,3 mgl^{-1} NAA ve 1,6 mgl^{-1}thiamin içeren Linsmaier ve Skoog (LS) besi ortamında 7 gün boyunca karanlık uygulanması sonucunda %80'in üzerinde köklenme elde edilmiştir. Besi ortamı yoğunluğunun yarıya indirilmesi ve floroglusinol seviyesinin artırılması köklenme oranını etkilememiştir. Aklimatizasyon aşamasında kullanılan Jiffy-7 hazır fide ortamı, torf-kum karışımına göre daha başarılı olduğu görülmüştür (Kamali ve ark., 2001).

İn vitro da GF-677 anacının organik (Fe-EDTA ve Fe-EDDHA) ve inorganik ($FeCl_3$) demir maddelerinin köklenmedeki etkisi üzerinde çalışılmıştır. Tam köklenme (%100) Fe-EDDHA ile beslenen eksplantlarda gözlendiği halde daha az köklenme $FeCl_3$'un bulunması veya demirin bulunmamasına dayanmaktadır. Bunun aksine Fe-EDTA ile beslenen eksplantlarda kök gelişimi gözlenmediği ve bunda da son derece düşük klorofil ve yüksek demir içeriğinin belirlendiği bildirilmiştir (Molassiotis ve ark., 2003).

Askorbik asidin GF-677 şeftali anaçlarında *in vitro* koşullarda köklenme üzerine etkilerini araştırmak üzere yapılan bir çalışmada 4 farklı konsantrasyon (0; 0,1; 1 ve 10 mgL^{-1}) denenmiştir. Ayrıca bu çalışma Fe-EDDHA'nın da köklenme üzerine etkisi

incelenmiştir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında askorbik asidin köklenme üzerine hiçbir etkisi olmadığı görülmüştür (Antonopoulou ve ark., 2007).

Yapılan bir çalışmada, mikroelementleri ve vitaminleri tam, makroelementleri yarıya indirilmiş MS besin ortamına 0; 0,25 µM konsantrasyonlarda ilave edilen 4 farklı antioksidanın [glutathione (GSH), dithiothreitol (DTT), propylgallate (PrGl), ascorbicacid (AscA)] Kristiina kiraz çeşidinin mikro sürgünlerinin köklenmesine ve bitkiciklerin dış koşullara alışması üzerine etkileri araştırılmıştır. Besin ortamına antioksidan ilave edilmesi *in vitro* köklenmeyi teşvik etmiştir. Uygulanan antioksidanlardan köklenmeyi en çok artıran DTT olmuştur. 0,25 µM DTT içeren besin ortamında kültüre alınan sürgünlerde köklenme oranı %49'dan %76'ya çıkmış, sürgün başına düşen kök sayısı da artmıştır. Antioksidanların bitkiciklerin aklimatizasyon üzerine etkisi de farklı olmuştur. Besin ortamına ilave edilen 0,25 µM DTT veya AscA'nın, aklimatizasyon sonra canlı bitkicik sayısını 1,6-2,1 kat artırdığı belirtilmiştir (Vasar, 2004).

İn vitro koşullarda Alıç (*Crataegus* sp.) bitkisinin çoğaltılmasını geliştirmek amacıyla yapılan çalışmada, dinlenme döneminde (kışın) olan damızlık bitkilerden alınan odun çelikleri sürdürme solüsyonuna konularak elde edilen yeni sürgünler eksplant kaynağı olarak değerlendirilmiştir. En iyi çoğaltımı sağlayan 1 mg L^{-1} BA + 0,01 mg L^{-1} IBA içeren ortam üzerinde altkültüre alınmıştır. Altkültüre alınan bitkilerin yeterli köklenmesi için aynı ortam içeriğinde 18 defa altkültüre alınmıştır. Mikrosürgünlerin köklenme kabiliyetlerini (% köklenme ve sürgün başına kök sayısını) belirlemek için sürgün geliştirme aşaması 5., 9. ve 18. altkültürlere alınarak değerlendirilmiştir. Bu aşamadan yaklaşık bir ay sonra köklenme meydana gelmiştir. Ancak, hem 0,1 mg L^{-1}IBA içeren ortam üzerinde kültüre alınan mikrosürgünlerin hem de dip kısımları 1 g L^{-1}IBA solüsyonuna bandırıldıktan sonra büyüme düzenleyici içermeyen ortam üzerinde kültüre alınan mikrosürgünlerin köklenme oranı (%5' den az) ve kök sayısı çok düşük bulunmuştur. Köklenen mikrosürgünler aklimize edildikten sonra başarıyla dış ortama aktarılmıştır (Gökbunar, 2007).

Sürgün çoğaltma çalışmasında ince kabuklu badem çeşitleri (Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra) ve badem/şeftali melez anacı (Titan x Nemaguard) çeşidinin yaklaşık 0,7cm sürgün uçları ile 3-5 yaprağın uygun sürgün çoğaltma ortamında başarılı bir şekilde kültüre alma işlemi gerçekleştirilmiştir. Nonpareil 15-1 için Almehdi ve Parfitt (AP) ortamı 0,049 µM IBA, 3 µM BAP, 0,058 M sükroz ve %0,7 agar pH 5,7'de etkiliyken Ne Plus Ultra için MS ortamı ile 0,049 µM IBA, 5 µM BAP, 0,088 M sükroz

ve %0,7 agar pH 5,7'de uygundur. Anacın sürgünleri yaklaşık 2 cm uzunluğunda yarım yoğunluktaki MS ortamına 2,4 µM IBA, 0,088 M sükroz ve %0,7 agar eklenmiş pH 5,7'de 2 hafta aydınlık ve 1 hafta karanlıktan sonra %88 etkinlik ile köklenmiştir. Badem kalemleri yaklaşık 1,5 cm uzunluğunda köklenme ortamında kültüre alındı ve anaç gövdelerine mikro aşılandı, hayatta kalma oranı %50 ve %65 ile sırasıyla Nonpareil 15-1 ve Ne Plus Ultra'dan elde edilmiştir. Köklenen sürgünlerden mikro aşılanan bitkicikler başarılı bir şekilde dış ortama alıştırılmıştır (Channuntapipat ve ark., 2003).

İki farklı badem genotipi olan Supernova ve M51'in üzerinde yapılan bir çalışmada, çelikler *in vitro* ortamda kültüre alınarak, karanlığın (12 gün) ve oksinin (IAA, IBA) köklenmeye etkisi test edilmiştir. 2-2,5 cm uzunluğunda alınan sürgünler 10 µM IAA,10 µM IBA +50 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ile katılaştırılmış Bourgin ve Nitsch (B&N)'in besi ortamında kültüre alınmıştır. M51 kontrol de dahil olmak üzere, IAA ve IBA'in hem karanlık hem de ışıklı ortamında kök oluştururken Supernova çeşidinin sadece IBA'in karanlık ortamında kök oluşturulduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar, çeliklerin köklenmesinde IAA ve IBA'in etkisinin badem genotipine göre değiştiğini rapor etmişlerdir (Caboni ve Damiano, 1994).

Badem (*Amygdalus communis* L.cv. Nonpareil) sürgünlerinin köklendirilmesi üzerine yapılan bir çalışmada, $^{1}/_{4}$ -$^{1}/_{2}$ - $^{1}/_{1}$ oranında seyreltilmiş Wood Plant Medium (WPM) ve bu oranların yanı sıra $^{2}/_{1}$ WPM besi ortamı da kullanılmıştır. Besi ortamları 2 mg L^{-1}NAA, 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ilave edilerek farklı yoğunlukta ortamlar hazırlandıktan sonra magentalara sürgün ekimi yapılmıştır. Kültürün 10. gününden itibaren $^{1}/_{4}$ oranında seyreltilmiş WPM besi ortamında köklenmeye bırakılan sürgünlerin sararmaya ve solmaya başladığına tanık olunmuştur. Diğer oranlarda ($^{1}/_{1}$-$^{1}/_{2}$-$^{2}/_{1}$ WPM) ise, yeni yaprak oluşumunun yanı sıra sararma yavaş ve çok az miktarda olmuştur. 45 gün boyunca kültürde muhafaza edilen sürgünlerin hiçbirinde köklenme görülmemiştir (Işıkalan, 2003).

PR 204/84 şeftali x badem melezinde yürütülen çalışmada farklı IBA konsantrasyonları içeren $^{1}/_{2}$ MS veya MS besin ortamının *in vitro* sürgünlerdeki köklenme oranına etkileri araştırılmıştır. En yüksek köklenme oranı 2,5 µM IBA ile desteklenmiş MS besin ortamında kültüre alınan mikrosürgünlerden elde edilmiştir (Fotopoulos ve Sotiropoulos, 2005).

Yapılan çalışmada, Gisela-5, Maxma-14 ve Tabel Edabriz kiraz anaçlarının doku kültürü çalışmasında, sürgün ucu ve yan tomurcukları kullanılmıştır. Köklendirme

aşamasında MS besi ortamının tam ve $^1/_2$ yoğunlukları ile IBA ve NAA konsantrasyonları kullanılmış, MS + 1 mgl^{-1}IBA kombinasyonunda 3 hafta içinde %95-100 oranında köklenme elde edilmiştir. Köklenen bitkicikler 1:1 torf-perlit karışımına alınarak başarılı bir şekilde adaptasyon sağlanmıştır (Fidancı ve ark., 2008).

‘‘Topaz’’ elma çeşidi ile *in vitro* koşullarda yapılan bir çalışmasında, farklı yetiştirme ortamlarının köklenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırmaya göre Quoirin ve Lepoivre (QL) ortamının makro elementleri ile MS ortamının mikro elementleri esas alınarak köklenme ortamı oluşturulmuş ve bunlara farklı dozlarda farklı oksin hormonları ilave edilerek 6 adet farklı yetiştirme ortamı elde edilmiştir. Çalışma sonucunda ise en iyi köklenme etkinliği (%68,7) 2mg IBA içeren köklenme ortamından elde edilmiştir (Keresa ve ark., 2012).

GF-677 şeftali anacının mikroçoğaltımı üzerine yapılan bir çalışmasında, sürgün ucu ve tomurcuk eksplantları farklı zamanlarda alınarak eksplantın alınma zamanının köklenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Buna göre Şubat, Mart, Nisan ve Eylül aylarında beş yaşında ki GF-677 şeftali anacından alınan eksplantlar denemede kullanılmıştır. Çalışma sonucunda en iyi köklenme yüzdesi Şubat (%53,5) ve Mart (%49,7) aylarında elde edilmiştir (Spahiu ve ark., 2013).

Gisela-5 ve Gisela-6 kiraz anaçlarında *in vitro* koşullarda sürgünlerin köklendirilmesi üzerine yapılan bir çalışmada, değişik hormon konsantrasyonları içeren besin ortamları kullanılmıştır. Gisela-6 anacının sürgünlerinde köklenme oranı Gisela-5’e göre daha yüksek olmuştur. Çalışmada 0; 4 ve 8 µM IBA veya NAA ile 0; 4,96 µM BA içeren $^1/_2$ MS ortamlarında %8-33 oranlarında köklenme gerçekleşirken, aynı ortamlara 2 g L^{-1} aktif kömür eklenmesi durumunda köklenme %25-50 olmuştur (Hepaksoy ve Tanrısever, 2004).

*Morusmacroura’*nın koltuk sürgünleri ile çoğaltımı ve köklenmesi üzerine yapılan çalışmada olgun ağaçlardan boğumlar eksplant olarak kullanılmıştır. Boğum eksplantları (1,5 cm uzunluğunda) farklı seviyede BA (2; 4; 8; 10 veya 12 µM) ve NAA (2 veya 3 µM) içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. En yüksek tomurcuk patlama oranı (%100), NAA (2 veya 3 µM)’ın her iki konsantrasyonunun 10 µM BA ile kombinasyonunda 6 gün kültür sonrası elde edilmiştir. En yüksek köklenme (%85,6), 4 µM IBA ve %0,1 aktif kömür içeren yarım yoğunluktaki MS ortamında 25 günden sonra elde edilmiştir (Akram ve Aftab, 2012).

Moruslatifolia Poliet ağacından alınan boğum eksplantlarında çoğaltma ve köklendirme çalışması yapılmıştır. Yapılan çalışmada, MS ortamına %2 fruktoz + 2

mg/l BA eklenmesiyle optimum sürgün çoğalması gözlenirken; $^1/_2$ MS ortamına %2 fruktoz + 1 mg/l IBA eklenmesiyle %85 köklenme oranı elde edilmiştir. Hızlı bir üretim için ise 2 mg/l BA + %2 fruktoz + 1 mg/l IBA yeterli gelmiştir (Lu, 2002).

Mart-Ağustos aylarında 5 yaşındaki *Morusindica* L. M-5 çeşidinde yan tomurcukla birlikte boğum eksplantları alınarak yapılan bir çalışmada, sürgünlerin çoğaltılması ve köklenmesi araştırılmıştır. Bu çalışmada 0,5-4 mg/l BAP ve 0,05 mg/l GA_3 hormonlarının yalnız ya da birlikte uygulanmalarının sürgün çoğalmasına etkisi; sağlıklı sürgünlerin 1 mg/l 2,4-D, 1 mg/l IAA, 1 mg/l NAA ya da 1 mg/l IBA hormonlarının yalnız ya da %0,2 w/v aktif kömür ile birlikte kullanılarak köklenmeleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Sürgün çoğalması 0,5 mg/l BAP'tan %77,92 elde edilirken; kök oluşması en yüksek 1 mg/l 2,4-D' den %86,7 olarak bulunmuştur (Chitra ve Padmaja, 1999).

Vejetatif olarak zor üretilen '46-1 Mazzard' kiraz (*Prunus avium* L.) anacının *in vitro* da üretilmesi amacıyla 5-10 cm büyüklüğündeki bitkisel materyaller kullanılmıştır. Besin ortamı olarak pH 5,7'ye ayarlanan modifiye edilmiş MS ortamına 6,0 g l^{-1}agar ilave edilmiştir. Bu çalışmada esas olarak zor köklenen 'Mazzard' anacının, kolay köklenen 'Colt' (*P. avium x P. pseudocerasus*) anacı ile birlikte kültüre alınması sonucunda köklenme durumunda değişiklik olup, olmayacağı saptanmaya çalışılmıştır. Sonuç olarak 'Colt' ile birlikte kültüre alınması durumunda 'Mazzard' anacının köklenme ve gelişme gücünün arttığı saptanmıştır. Çalışmadan elde edilen bir diğer bulgu da GA_3'in köklenme üzerine olumsuz etkide bulunduğu, ancak sürgünlerin kuvveti üzerine olumlu etki yaparak, uzamayı ve gelişmeyi arttırmasıdır (Ranjit ve Kester, 1988).

Ne Plus Ultra ve Nonpareil badem çeşitlerinin sürgünlerinin köklenmesi üzerine floroglusinol (PG)'un etkisi araştırılan bir çalışmada kök oluşturmada en uygun oksin çeşidi ve oranını tespit etmek için IBA ve NAA kullanılmıştır. Her iki çeşitte de en iyi köklenme, sürgünlerin 1 µM IBA içeren %0,6 sıvı agarda 12 saat muamele edildikten sonra 100 µM PG içeren oksinsiz besi ortamında iki hafta bekletilmek suretiyle elde edildiği bildirilmiştir (Ainsley ve ark., 2001).

Bazı yabani kiraz klonları ile beraber Charger ve F12/1 anaçlarının mikroçoğaltım çalışmasında MS, QL ve WPM ortamları kullanılmıştır. Yabani kiraz klonlarının ve Changer anacının sürgün çoğaltımı, 0,5 mgl^{-1}BAP, 0,1 mgl^{-1}IBA ve 126 mgl^{-1}floroglusinol ile destekli MS besi ortamında, F 12/1 anacı ise 1 mgl^{-1}BAP, 0,1 mgl^{-1}IBA ve 0,1 $mgl^{-1}GA_3$ ile destekli MS besi ortamında gerçekleştirilmiştir. Köklendirme

çalışmalarında 3 mgl^{-1} IBA ile destekli MS besi ortamı temel olmak üzere 162,14 mgl^{-1}floroglusinol içeren ve içermeyen ortamlar üzerinde çalışılmıştır. Köklenme ortamlarında floroglusinol'un gerekli olduğu sonucuna varılan çalışma ile elde edilen köklü bitkiler aklimatizasyona alınmıştır (Hammatt ve Grant, 1997).

Schattenmorelle vişne çeşidinin mikroçoğaltımında, vejetasyon dönemindeki aktif sürgün uçları başlangıç eksplantı olarak kullanılmış ve floroglusinolun köklenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Kültür başlatma ve sürgün çoğaltımı için 1 mgl^{-1} BAP, 0,1 mgl^{-1} NAA ve 0,1 mgl^{-1} GA_3 ile destekli MS besi ortamında kullanılmış olup pH 5,2-5,3'e ayarlanmıştır. Uzunluğu 1,5-2 cm boyuna ulaşmış sürgünler, IBA destekli $^1/_2$ makro elementli MS besi ortamına köklenmeye alınmıştır. Ayrıca floroglusinolun 0; 50; 100; 150 mgl^{-1} ilavelerinin köklenmeye etkisi de araştırılmıştır. Köklenmeye alınan sürgünlerin hemen hemen tamamı köklenmiş olup aklimatizasyon aşamasındaki yaşama oranı %85-90 oranında bulunmuştur. Köklendirme ortamına floroglusinol ile etkileşiminin çeşitlere göre farklı olabileceği ve buna göre bu vişne çeşidinin sürgünlerinin köklenmesinde etkili bulunmamıştır (Borkowska, 1985).

"Bursa-I" ve "Chester" böğürtlen çeşitlerinde yapılan mikro çoğaltım çalışmasında koltuk tomurcukları olarak alınan eksplant kaynağının alım zamanları arasındaki farklılık incelenmiştir. Eksplantlar 20 Mayıs 2005 ve 26 Haziran 2005 tarihlerinde alınmıştır. Ayrıca 3 farklı aşamada yapılan çalışmada farklı ortam içeriklerinin etkisi de araştırılmıştır. Bu aşamalar, başlangıç (MS + 30 g/l Sakkaroz + 0,103 g toz vitamin + 7 g Agar + 0,5 ve 1 mg/l BAP), sürgün (MS + 30 g/l Sakkaroz + 0,103 g toz vitamin + 7 g Agar + 0,1; 0,5 ve 1 mg/l BAP) ve köklendirme (1/3 MS + 30 g/l Sakkaroz + 0,103 g toz vitamin + 7 g Agar + 0,2 ve 0,4 mg/l IBA) aşamalarıdır. Çalışma sonucu başlangıç ve sürgün çoğaltım aşamalarının her iki böğürtlen çeşidinde de eksplant alma tarihleri açısından önemli farklılıklar gözlenmiştir. Yani Haziran ayında alınan eksplantlar, Mayıs ayında alınan eksplantlara göre daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Köklendirme aşamasında ise her iki çeşit için köklenme oranı %88-100 arasında değişmiştir. Köklenme aşamasında eksplant alma zamanı ve ortamların önemli derecede etkisi görülmemiştir. (Yıldız ve Barut, 2006).

In vivo şartlarında kuşburnu çeliklerinde yapılan çalışmada yalnız ve kombinasyon şeklinde olmak üzere 2000; 4000; 6000 ppm IBA ile *Agrobacterium rubi*'nin solüsyon halinde 3 farklı ırkı (A1, A16 ve A18) uygulanmıştır. Uygulama sonrası çelikler serada sisleme ünitesi içerisinde perlit bulunan tavalara dikilmiştir.

Yaklaşık 3 ay sonra sökülen çeliklerde en yüksek köklenme oranı (%95) 2000 ppm IBA+ A18 uygulamasından elde edilmiştir (Ercişli ve ark., 2000a).

Bu konu üzerinde başka bir çalışmada *in vivo* şartlarında Kütahya vişne çeşiti çeliklerinin köklenmesi amacıyla çeliklere yalnız ve kombinasyon şeklinde 2000; 4000 ve 6000 ppm IBA (hızlı daldırma yöntemi) ile *Agrobacterium rubi'*nin (solüsyon halinde) 3 farklı ırkı (A1, A16 ve A18) uygulanmıştır. Uygulama sonrası çelikler serada sisleme ünitesi içerisinde perlit bulunan tavalara dikilmiştir. Yaklaşık 3 ay sonra sökülen çeliklerde kontrol grubunda köklenme gözlenmezken, en yüksek köklenme oranı (%70) 2000 ppm IBA + A16 uygulamasından elde edilmiştir (Ercişli ve ark., 2000).

M9 elma anacının çeliklerinde yapılan *in vivo* çalışmasında farklı dozda IBA konsantrasyonları (2000; 4000 ve 6000 ppm) ile *Agrobacterium rubi* (A1, A16, A18) ve *Bacillus* OSU 142 ırklarının köklenme üzerine etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak en iyi köklenme oranı (%13,33) ile 4000 ppm IBA konsantrasyonundan elde edilmiştir (Pırlak ve Baykal, 2009).

Pinusayacahuite'nin*in vitro* koşularda elde edilmiş sürgünlerinin aktarımı, kanseronolojik bir ırk olan *Agrobacterium tumefaciens* (A281x200) birlikte kültür ile başarılmıştır. Birlikte kültür esnasında bile köklenme gerçekleşmiş fakat bu köklenme konukçu hücrenin genetik aktarımı ile sağlanmamıştır. Çünkü *A. tumefaciens*' in zararsız hale getirilmiş ırkıda (EHA 101) köklenmeyi sağlamıştır. Bununla birlikte sürgünlerle bakteri hücrelerin doğrudan temas edilmesine ihtiyaç duyulmamıştır. Köklenme, agarlı yetiştirme ortamında ve topraksız yetiştirme ortamında (9:1 vermikülit; organik madde karışımı) sağlanmıştır. Sonuç olarak *A. tumafaciens* ırkları *Pinusayacahuite* de köklenmeyi konukçu hücrenin aktarımı ile değilde bazı köklenmeyi arttıran bileşikleri üreterek sağlamıştır (Saborıo ve ark., 1999).

Photinia bitkisinde *in vitro* koşullarda köklendirmeyi arttırmak için bazı BBAR' lerin etkisini incelemek için yapılan çalışmada *Azospirillum brasilense* ve *Azotobacter chroococcum* bakterileri kullanılmıştır. Bakteri ile birlikte IBA, BA, GA_3 bitki büyüme düzenleyiciler kullanılmıştır. Hem oksin hemde bakteri aşılaması köklenmede etkili olmuştur. Bakteri aşılaması photinia sürgünlerinin erken köklenmesini teşvik etmiştir. *A. brasilence* ile birlikte 49,2 µM IBA uygulamaları kök taze ağırlığında (%105), kuru ağırlığında (%137) ve kök yüzey alanında (%65) önemli derecede artışlara sebep olmuştur (Larraburu ve ark., 2007).

Acı badem bitkisinin *Agrobacterium rhizogenes* bakterisiyle birlikte kültüre alınmasının köklenme üzerine etkisini araştırmak üzere yapılan bir çalışmada WPM, MS ve B&N ortamları kullanılmıştır. En iyi köklenme (%95-99) *A. rhizogenes* 1855 ırkı ile sağlanmıştır (Rayya ve ark., 2010).

Farklı meyve ağaçlarının (zeytin, elma, badem ve antep fıstığı) *A. rhizogenes* ile birlikte kültüründe köklenmenin incelenmesi üzerine yapılan bir denemede NCPPB 1855 ırkı aynı köklenme ortamına ekilerek kullanılmıştır. Çalışma sonunda bu ırkın uygulandığı 58 eksplantın 26 tanesinde köklenmeyi teşvik edildiği bildirilmiştir (Rugini, 1992).

Arokarya (*Aroucarıa excelsa* R. BR. var. Glauca) bitkisi ile *A. rhizogenes'* in birlikte kültürüyle *in vitro* koşullarda köklenme üzerine etkisini incelemek amacıyla K599 ırkı kullanılmıştır Çalışmanın sonunda %40'a kadar köklenme artışı gerçekleşmiştir (Sarmast ve ark., 2012).

Huu Dat ve ark. (2015)'ları tarafından yapılan çalışmada triptofanın *Basillus subtilis* TIB6'nın IAA üretimini uyardığı görülmüştür. Triptofan içermeyen gıda ortamında TIB6 ırkı 28,5 ± 2,8 mg/L IAA üretebilirken, %0,1 triptofan eklenmiş kültür ortamında bulunan TIB6 76,4± 2,1 mg/L IAA üretmiştir.

Bu çalışmalara benzer şekilde, kültür ortamına 0,1 g/L triptofan ilave edildiğinde, *Pseudomonas aeruginosa* ırkları, kontrolden (triptofan içermeyen) 5 kat daha fazla IAA üretmiştir (Chaiharn ve Lumyong, 2011). Triptofan kültür ortamına eklendiğinde, birçok bakterinin IAA sentezleme yeteneğinin bulunduğu bildirilmektedir (El-Khawas ve Adachi, 1999; Ali ve ark., 2010).

İn vitro koşullarda yapılan çalışmada zeytin mikro çeliklerinin *Pseudomonas fluorescent* P19 veya P21 ırkları ile inkübe edilmiş veya edilmemiş çeliklerin kök gelişimi ve yapısı üzerine etkileri araştırılmıştır. Uygulamaların etkisi adventif ve lateral kök sayısının ölçülmesi ile değerlendirilmiştir. *İn vitro* koşulda 3-4 boğumlu sürgünlere rizobakterilerin farklı yoğunlukları (0; 10^5; 10^8 $CFUml^{-1}$) uygulanmıştır. 10^8 $CFUml^{-1}$ yoğunluğu 10^5 $CFUml^{-1}$'in aksine eksplant başına kök sayısı ve uzunluğunun yaklaşık iki kat arttığı gözlenmiştir. Bakteriyel ortamın triptofan konsantrasyonuna bağlı olarak her iki bakteri ırkı, kök gelişimini ve yapısını kuvvetli bir şekilde etkilemiştir. Ortamda 10 mgl^{-1}'e kadar triptofanın uygulanmasıyla, adventif ve lateral köklerin uzunluk ve sayıları artmıştır. Bakteriyel uygulamalar IBA'dan daha etkilidir. Ayrıca farklı inokülasyon yöntemlerinde, toprağın ve mikroçeliklerin birlikte aşılanmasıyla köklerin sayı ve uzunluklarının arttığı ortaya çıkarılmıştır (Peyvandi ve ark., 2010).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Çalışma, 2015- 2016 yıllarında S.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nda yürütülmüştür. Materyal olarak Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Araştırma ve Uygulama Parseli'nde bulunan MaxMa-14 (kiraz) ve GF-677 (badem x şeftali) anaç genotiplerine ait sürgün uçları kullanılmıştır.

3.1. Materyal

3.1.1. GF-677 Anaç Genotipinin Genel Özellikleri

Kireçli topraklara uygun, kloroz, Phytophthora ve kök kanserine dayanıklı, yüksek kalitede meyve oluşumu sağlayan 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 birçok yerinde olduğu gibi Ege, Akdeniz, Marmara ve GAP bölgesi için de önerilebilen bir anaçtır (Küden, 2000).



Şekil 3.1.GF-677 anacının genel görünümü.

3.1.2. MaxMa-14 Anaç Genotipinin Genel Özellikleri

Kuşkirazı ve idris melezi olup yarı bodur bir anaçtır.Fransa büyük popülarite kazanmıştır. F12/1 üzerine aşılı ağaçların %40–60, SL–64 üzerine aşılı ağaçların ise %60-80'i büyüklüğünde taç oluşturur. Kireçten kaynaklanan kloroza karşı dayanıklıdır (Demirtaş ve Sarısu, 2011).



Şekil 3.2. MaxMa-14 anacının genel görünümü.

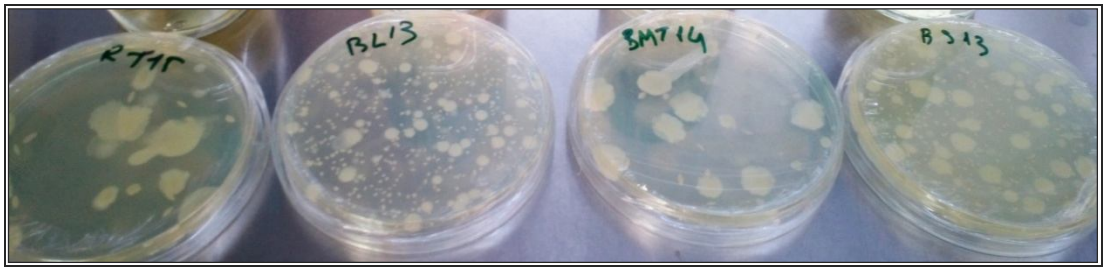
3.1.3. Rizobakteri Irklarının Genel Özellikleri

BBAR'ler bitki köklerinde kolonize olup faydalı toprak bakterileri olarak bilinmektedir ve bitki gelişimini artırmaktadır (Kloepper, 1994; Glick, 1995; Cleyet-Marcel ve ark., 2001). Bununla birlikte oksin üreterek köklenmeyi artırması, etilen sentezinin engellemesi ve mineral besin elementi alımını sağlaması gibi birçok faydalı etkileri de bulunmaktadır (Kapulnik ve ark., 1985; Lifshitz ve ark., 1987).

In vitro koşullarda yapılan çalışmalar incelendiğinde IAA ürettiği belirlenen aşağıdaki rizobakteriler köklendirme çalışmasında kullanılmıştır:

- *Bacillus subtilis* 13
- *Bacillus lentus* 13

- *Bacillus megaterium* 14
- *Rhodotorula spp.* 15



Şekil 3.3.BBAR ırklarının petride ki genel görünümü.

3.1.4. MS Ortamının İçeriği

Tablo 3.1.MS temel besi ortamı bileşenleri.

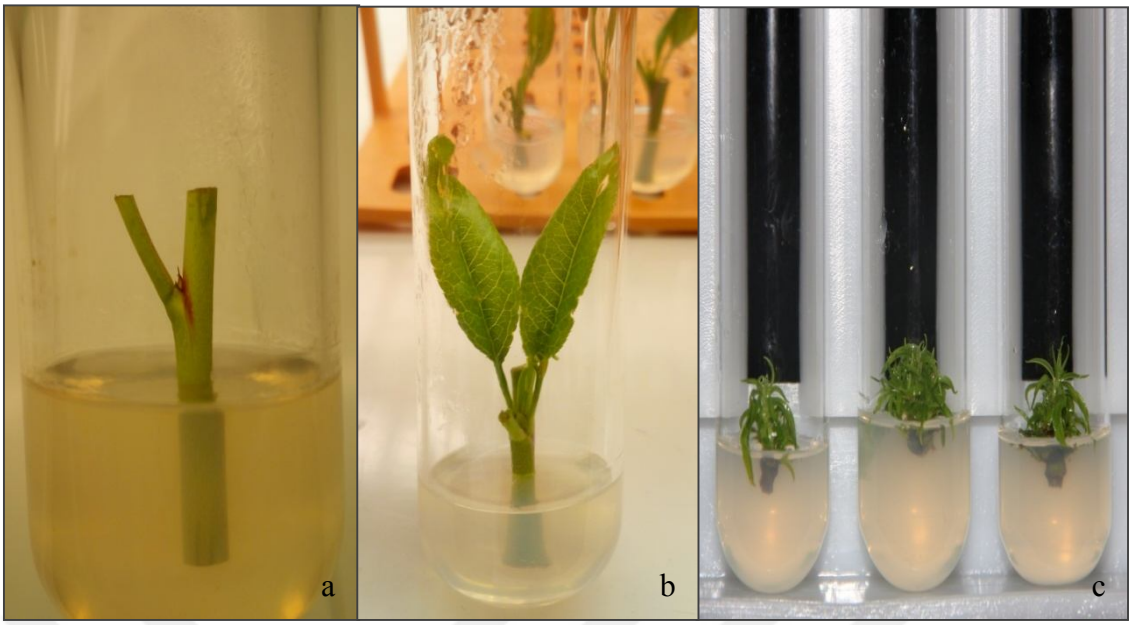
	mgl^{-1}
$CaCl_2$. $2H_2O$	332.02
KH_2PO_4	170.00
KNO_3	1900.00
$MgSO_4$.7H2O	180.54
$NH4NO_3$	1650.00
$CoCl_2$.$6H_2O$	0.025
$CuSO_4$.$5H_2O$	0.025
$FeSO_4 7H_2O$	27.80
$Na_2EDTA2H_2O$	37.30
H_3BO_3	6.20
KI	0.83
$MnSO_4$.H_2O	16.90
Na_2MoO_4.$2H_2O$	0.25
$ZnSO_4$.$7H_2O$	8.60
Glycine	2.00
Myo-İnositol	100.00
Nicotinic Acid	0.50
Thiamine Hydrochloride	0.10
Pyridoxine	0.50

3.2. Yöntem

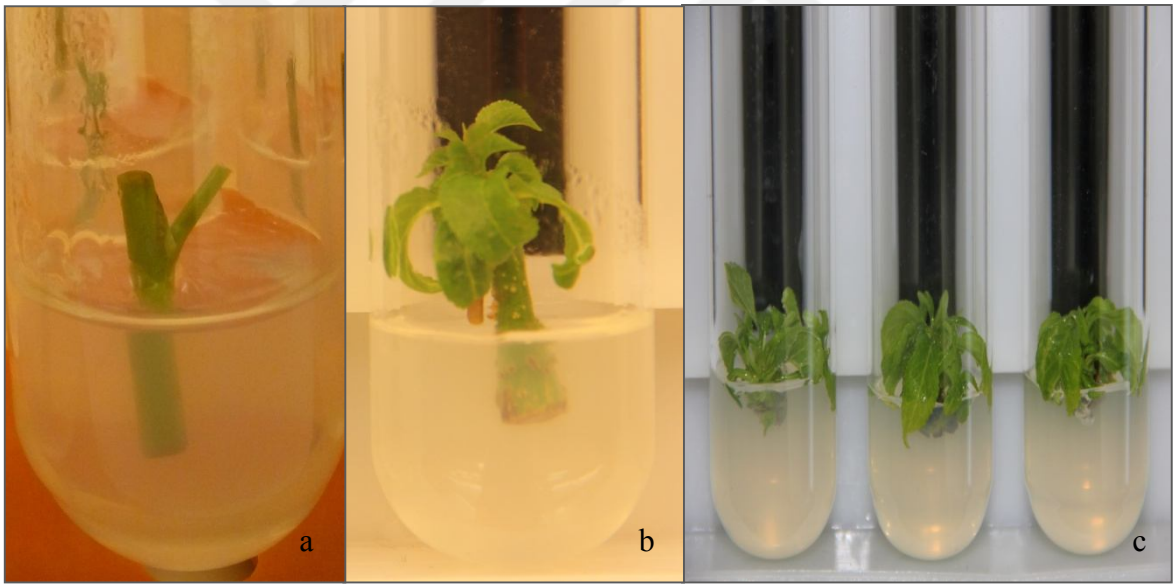
GF-677 (Şekil 3.1) ve MaxMa-14 (Şekil 3.2) klon anaçlarına ait taze sürgünlerden alınan 10-15 cm uzunluğundaki çelikler hızla doku kültürü laboratuvarına getirilmiştir. Çelik üzerindeki yaprakçıklar temizlenerek üzerinde koltuk tomurcuğu bulunan eksplantlar budama makası ile 4-5 cm boyunda kesilmiştir.Her iki anaç için ayrı ayrı 54 tane hazırlanan eksplantlar yüzey sterilizasyonu işlemlerine tabii tutulmuştur. Eksplantların yüzey sterilizasyonu için ilk olarak akan çeşme suyu altında 20 dakika bekletilmiştir. Steril kabin içerisine alınan eksplantlar, %70'lik etil alkolde 1dk bekletildikten sonra 3 kez saf su ile durulanmıştır. Devamında ise eksplantlar %20'lik çamaşır suyunda 5-7 dakika bekletilmiştir. Sterilizasyon işlemi ardından eksplantlar tekrar 3 kez steril saf su ile çalkalanarak durulanmıştır.

Sterilizasyondan sonra aseptik kabin içerisinde bulunan eksplantlar, önceden 121 °C'de 20 dk otoklavda steril edilmiş malzemeler (bistüri, pens, vb.) yardımı ile yaklaşık 1-2 cm uzunluğunda, üzerinde 1 adet koltuk tomurcuğu bulunacak şekilde kesilerek mikroçelikler dikime hazırlanmıştır. Hazırlanan mikroçelikler tüplerdeki sürgün geliştirme ortamlarına(1,5 mg/l BA; 0,1 mg/l GA_3) dikilmiştir. Dikimden sonra tüplerin kapakları kapatılarak streç film ile sarılmıştır. Yaklaşık 2-3 hafta sonra gelişen sürgünler kardeşlenme ortamını (GF-677 için 1 mg/l BA + 0,1 mg/l GA_3 + 0,1 mg/l IBA + 30 gr/l şeker + 7 gr/l agar; MaxMa-14 için 1 mg/l BA + 0,1 mg/l GA_3 + 0,05 mg/l IBA + 40 gr/l şeker + 7,5 gr/l agar) içeren 25 mm x 150 mm boyutlarındaki kültür tüplerine aktarılmıştır. BA içeren kardeşlenme ortamında 2-3 hafta bekletilip kardeşlenen bitkiler köklenmeleri için hazırlanan köklenme ortamına alınmıştır (Şekil 3.4, Şekil 3.5).

Kültürler, sıcaklığı 24±2 °C, foto-periyodu 16 saat, ışıklanması ise florasan lambaların bulunduğu büyütme odasında tutulmuştur.



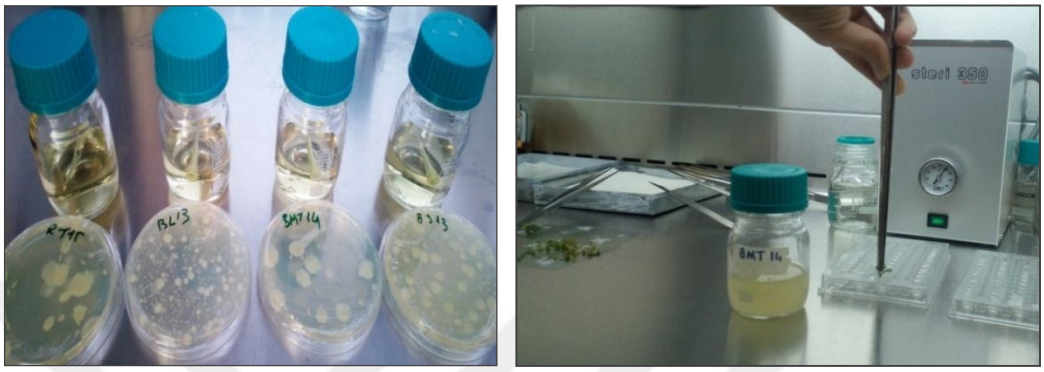
Şekil 3.4. GF-677' nin kültüre alınması (a), sürdürülmesi (b) ve kardeşlendirilmesi (c).



Şekil 3.5. MaxMa-14' ün kültüre alınması (a), sürdürülmesi (b) ve kardeşlendirilmesi (c).

Petri kaplarındaki 4 BBAR (*Bacillus subtilis* 13, *Bacillus lentus* 13, *Bacillus megaterium* 14 ve *Rhodotorula spp.* 15)'ler (Şekil 3.3) için nutrient broth bakteri geliştirme ortamları (0.65 gr/50 ml) hazırlanarak otoklavda 121°C'de 15 dk da sterilizasyonu yapılmıştır. Petri de bulunan BBAR'ler ayrı ayrı hazırlanan ve steril edilmiş geliştirme ortamlarına steril pipet ucuna belli miktarda BBAR bulaştırarak geliştirme ortamlarına ilave edilmiştir. BBAR bulaştırılan geliştirme ortamları

aliminyum folyo ile kaplanarak karanlık ortamda 24 saat, 200 rpm hızda, 27 °C'de çalkalayıcıda bekletilmiştir. Gelişen bakteriler şeffaf görüntüden mat bir görüntüye ulaşmıştır. Gelişen bakteriler steril laminar kabinde %10 saf su ile seyreltildikten sonra mikroçeliklerin dip kısımlarına uygulanmasının ardından mikroçelikler MS ortamlarına dikilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3. 6. BBAR' in nutrient besi ortamında geliştirilmesi (solda) ve mikroçeliklere aşılanması (sağda).

BBAR uygulaması haricinde GF-677 anacının ortamına 3mg/l IBA ve MaxMa-14 anacının ortamına 2mg/l IBA eklenmiştir. Kontrol grubunda ise sadece MS ortamı kullanılmıştır. Buna göre deneme deseni aşağıdaki gibi olmuştur.

GF-677	**MaxMa-14**
1. Kontrol	1. Kontrol
2. 3 mg/l IBA	2. 2 mg/l IBA
3. *Bacillus subtilis* 13	3. *Bacillus subtilis* 13
4. *Bacillus lentus* 13	4. *Bacillus lentus* 13
5. *Bacillus megaterium* 14	5. *Bacillus megaterium* 14
6. *Rhodotorula spp.* 15	6. *Rhodotorula spp.* 15

Yapılan uygulamalardan 3-4 hafta sonra köklenen bitkilerde aşağıdaki parametreler incelenmiştir.

3.2.1. Köklenme Oranı (%)

Köklenme ortamına alınan bitkiciklerde 4 hafta sonunda köklenen bitki sayısı sayılmıştır. Köklenen bitki sayısının toplam bitki sayısına oranının % hesabı (köklenme oranı) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Demirkök, 2006).

$$\text{Köklenme Oranı (\%)} = \frac{\text{Köklenen Bitki Sayısı}}{\text{Toplam Bitki Sayısı}} \times 100$$

3.2.2. Mikrosürgün Başına Düşen Kök Sayısı (adet)

Köklenen her bitkide bulunan kök sayıları tek tek sayılmıştır.Her mikrosürgün başına düşen toplam kök sayısının toplam köklenen bitki sayısına oranı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Demirkök, 2006).

$$\text{Mikrosürgün Başına Düşen Kök Sayısı} = \frac{\text{Toplam Kök Sayısı}}{\text{Toplam Köklenen Bitki Sayısı}}$$

3.2.3. Kök Uzunluğu (cm)

Köklenen mikroçelikler tüplerden pens ile çıkartılarak köklerdeki MS ortamından temizlenmiştir. Mikroçeliklerde oluşan her bir kökün uzunlukları cetvel ile ölçülmüştür.

3.2.4. Kök Çapı (mm)

Köklenmiş mikroçeliklerde bulunan her bir kökün çapı kumpas (0,01 mm hassasiyet) ile ölçülmüş ve ortalama değerleri alınmıştır.

3.2.5. Sürgün Uzunluğu (cm)

Köklenme ortamında bulunan köklenmiş ya da köklenmemiş mikroçeliklerin sürgün uzunlukları cetvel ile ölçülmüştür.

3.2.6. Sürgün Çapı (mm)

Köklenme ortamında bulunan köklenmiş ya da köklenmemiş mikroçeliklerin sürgün çapı kumpas (0,01 mm hassasiyet) ile ölçülmüştür.

3.2.7. Kök ve Sürgün Yaş Ağırlığı (mg)

Köklenme ortamında gelişen mikroçeliklerin hem sürgün hem de kökleri ayrı ayrı hassas terazi (d=0.001g) ile ağırlıkları ölçülmüştür.

3.2.8. Kök ve Sürgün Kuru Ağırlığı (mg)

Köklenme ortamında gelişen kök ve sürgünler etüvde 70^{o}C de 48 saat bekletilerek bünyelerindeki su uzaklaştırılmış ve kuru ağırlıkları ayrı ayrı hassas terazi (d=0.001g) ile tartılmıştır.

3.2.9. İstatistiksel Analiz

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrür de 3 bitkicik olacak şekilde kurulmuştur. Elde edilen veriler SPSS istatistik programı kullanılarak %5' lik Duncan Testi ile değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmada GF-677 ile MaxMa-14 klon anaçlarının köklenmesi amacı ile 4 farklı BBAR (*Bacillus subtilis* 13, *Bacillus lentus* 13, *Bacillus megaterium* 14 *ve Rhodotorula spp*. 15) ırkları ile oksin (IBA) dozu uygulanmıştır. Uygulama sonrası aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

4.1. SONUÇLAR

4.1.1. Uygulamaların Köklenme ve Kök Özelliklerine Etkisi

Yapılan IBA uygulamalarının köklenme üzerine etkili olduğu ($p<0,05$) buna karşılık BBAR uygulamalarının köklenmeyi uyarmadığı belirlenmiştir (Çizelge 4.1). MaxMa-14'de köklenme oranı, 2 mg/l IBA ve kontrol grubunda %100 olurken (Şekil 4.1) BBAR uygulamalarında köklenme belirlenememiştir. Benzer şekilde GF-677'de köklenme oranı, 3 mg/l IBA'da %88,8 olarak tespit edilirken BBAR ve kontrol uygulamalarında köklenme meydana gelmemiştir.

MaxMa-14'de 2mg/l IBA uygulamasında mikroçelik başına 6,77 adet kök oluşurken kontrolde 5,21 adet kök meydana gelmiştir. GF-677'de ise 3mg/l IBA uygulamasında mikroçelik başına 1,99 adet kök oluşmuştur. MaxMa-14'de IBA uygulamasının kök uzunluğuna etkisi istatistik olarak önemli bulunmuş ve kontrolde 3,10 cm olarak belirlenen kök uzunluğu 2 mg/l IBA uygulamasında 2,08 olarak belirlenmiştir. GF-677 anacında ise 3 mg/l IBA uygulamasında kök uzunluğu 0,51 cm olarak saptanmıştır.

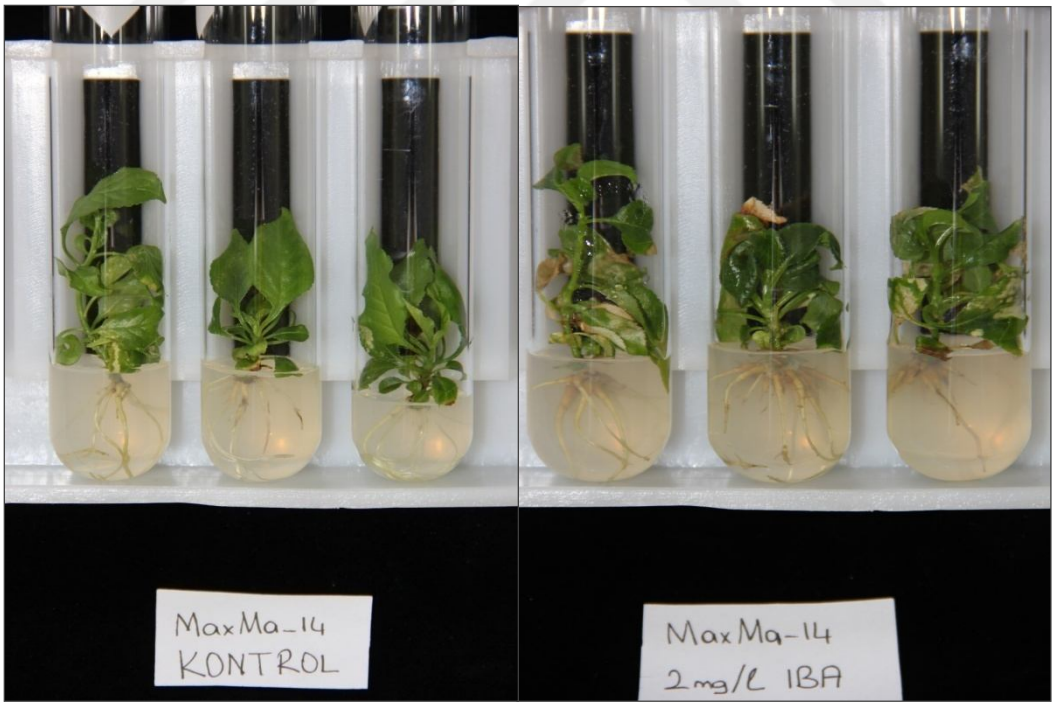
Kök uzunluğuna benzer şekilde MaxMa-14 kök çapı kontrolde 3,20 mm ile 2 mg/l IBA uygulamasından (2,50 mm) yüksek bulunmuştur. GF-677 anacında ise kök çapı 3 mg/l IBA uygulamasında 1,31 mm olarak belirlenmiştir.

Kök uzunluğu ve kök çapına paralel şekilde MaxMa-14'de kök yaş ağırlığı 140 mg ile kontrolde 2mg/l IBA uygulamasından (116 mg) daha yüksek tespit edilmiştir. Ayrıca, GF-677 anacında 3 mg/l IBA uygulamasında kök yaş ağırlığı 47 mg olarak bulunmuştur.

Kök yaş ağırlığında olduğu gibi kök kuru ağırlığı da MaxMa-14'de kontrolde 74 mg ve 2 mg/l IBA uygulamasında 59 mg olarak belirlenmiştir. GF-677'de ise 3 mg/l IBA uygulamasında 15 mg olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Uygulamaların köklenme ve kök özelliklerine etkisi.

		Kök Oranı (%)	Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (cm)	Kök Çapı (mm)	Kök Yaş Ağırlığı (mg)	Kök Kuru Ağırlığı (mg)
MaxMa-14	Kontrol	100	5,21	3,09 a	3,20 a	136	74
	2 mg/l IBA	100	6,77	2,08 b	2,50 b	116	59
	BBAR (BS13, BL13, BMT14, RT15)	-	-	-	-	-	-
$LSD_{p<0.05}$		ÖD	ÖD	0,62	0,49	ÖD	ÖD
GF-677	Kontrol	-	-	-	-	-	-
	3 mg/l IBA	88.8	1,99	0,51	1,31	47	15
	BBAR (BS13, BL13, BMT14, RT15)	-	-	-	-	-	-



Şekil 4.1. MaxMa-14 mikroçeliklerinin kökenmiş görünümü.

4.1.2. Uygulamaların Sürgün Gelişimine Etkisi

Mikroçeliklerde köklenmeyi teşvik etmek amacıyla yapılan rizobakteri ve IBA uygulamalarının sürgün gelişimine önemli etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2 ve 4.3). MaxMa-14'de 2 mg/l IBA uygulaması istatistiki olarak sürgün uzunluğunu artırırken rizobakteri uygulamaları sürgün uzunluğunu etkilememiştir. MaxMa-14 anacında en uzun sürgünler 3,09 cm ile 2 mg/l IBA'dan elde edilmiştir. GF-677'de ise uygulamalar sürgün uzunluğunu istatistiki olarak etkilememesine rağmen BS 13 uygulamasında (1,23 cm) en uzun sürgünler meydana gelmiştir.

Sürgün çapı her iki anaçta da yapılan uygulamalardan istatistiki olarak önemli seviye etkilenmiştir. MaxMa-14 (3,34 mm) ve GF-677 (2,54 mm)'de en kalın sürgünler IBA uygulamalarından elde edilirken MaxMa14 anacında rizobakteri uygulamaları sürgün kalınlığını üzerine olumlu etkisi tespit edilememiştir. Buna karşılık, GF-677 anacında BS 13 ve BMT 14 uygulamalarında IBA ilaveli ortamdaki sürgünlerin kalınlığına yakın sürgünler meydana gelmiştir.

Sürgün yaş ağırlığı MaxMa-14'de sürgün uzunluğu ve çapına benzer şekilde en yüksek 110 mg ile 2 mg/l IBA uygulamasında tespit edilmiştir. GF-677'de ise uygulamaların sürgün yaş ağırlığına etkisi önemsiz bulunmuştur.

Sürgün yaş ağırlığına paralel olarak MaxMa-14'de sürgün kuru ağırlığı en yüksek 59 mg ile 2 mg/l IBA'dan elde edilirken GF-677' de ise 22 mg ile 3 mg/l IBA'da bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Uygulamaların GF-677 anaçlarında sürgün gelişimine etkisi.

	Sürgün Uzunluğu (cm)	Sürgün Çapı (mm)	SürgünYaş Ağırlığı (mg)	Sürgün Kuru Ağırlığı (mg)
Kontrol	0,96	1,85 b	56	9 cd
3 mg/l IBA	0,91	2,54 a	84	22 a
BS 13	1,23	2,52 a	79	16 abc
BL 13	1,01	2,25 ab	75	13 bcd
BMT 14	1,08	2,41 a	88	19 ab
RT 15	0,93	2,15 ab	43	8 d
$LSD_{p<0.05}$	ÖD	0,46	ÖD	7,44

Çizelge 4.3. Uygulamaların MaxMa-14 anaçlarında sürgün gelişimine etkisi.

	Sürgün Uzunluğu (cm)	Sürgün Çapı (mm)	Sürgün Yaş Ağırlığı (mg)	Sürgün Kuru Ağırlığı (mg)
Kontrol	2,21 b	2,94 ab	75 b	30 b
2 mg/l IBA	3,09 a	3,34 a	107 a	59 a
BS 13	1,98 b	2,23 c	72 bc	18 b
BL 13	1,92 b	2,42 bc	68 bcd	16 b
BMT 14	1,99 b	2,16 c	53 d	14 b
RT 15	2,01b	2,40 bc	55 cd	17 b
$LSD_{p<0.05}$	0,68	0,54	17,34	21,18

4.2. TARTIŞMA

BBAR ve IBA'nın *in vitro* şartlarda MaxMa-14 ve GF-677 anaçlarının köklenmesine etkisinin araştırıldığı bu çalışmada, kullanılan 4 rizobakteri ırkının mikroçeliklerin köklenmesine etkisinin olmadığı buna karşılık IBA uygulamasının her iki anaçta da köklenmeyi sağladığı tespit edilmiştir. Araştırmada kullanılan anaçların doku kültürü şartlarında köklendirmesi gıda ortamına oksin tabiatındaki büyümeyi düzenleyici maddelerin (BBD) belli miktarlarda ilavesi ile yapılabilmektedir. Bu amaçla gıda ortamına IBA, IAA ve NAA gibi oksin tabiatındaki BBD ilavesi mikroçeliklerin köklenmesini sağlayabilmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda farklı IBA dozlarında farklı oranda köklenme elde edildiği gösterilmiştir (Muna ve ark., 1999; Ahmad ve ark., 2003; Nas ve Read, 2004; Özden, 2007). Bu çerçevede *in vitro* şartlarda MaxMa-14 için en uygun IBA dozunun 2 mg/l ve GF-677 için 3 mg/l IBA olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da iki anaç için kullanılan IBA dozlarında önceki çalışmalarda belirlendiği gibi yüksek oranda köklenme elde edilmiştir. Böylece, bizim elde ettiğimiz bu sonuçlar önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlara uyumlu görülmektedir.

Çalışmamızda gıda ortamına ilave edilen oksin tabiatındaki BBD yerine ikame edebilecek IAA üreten faydalı rizobakterilerin doku kültürü şartlarında mikroçeliklerin köklenmesi üzerine etkileri belirlenmektir. Oksin sentezleyen faydalı rizobakterilerin çelik köklenmesinde olumlu etkilerini gösteren pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda vişne (Ercişli ve ark., 2000; Eşitken ve ark., 2003), kuşburnu (Ercişli ve ark., 2000a), kivi (Ercişli ve ark., 2003), elma (Pırlak ve Baykal, 2009) gibi türlerde çeliklerin dip kısımlarına rizobakteri inokulasyonunun özellikle IBA gibi BBD ile

beraber köklenmeyi önemli oranda teşvik ettiği belirlenmiştir. Bununla beraber, *in vitro* şartlarda mikroçeliklerin doku kültürü şartlarında köklenmesi üzerine etkilerini gösteren çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmalarda *in vitro* şartlarda mikroçeliklerin köklenmesini teşvik ettiğini belirleyen çalışmalar (Frommel ve ark., 1991; Larraburu ve ark., 2007; Teixeira ve ark., 2007) olduğu gibi bizim çalışmamıza paralel olarak köklenmeyi teşvik etmediğini belirleyen çalışmalarda (Frommel ve ark., 1991; Noel ve ark., 1996) bulunmaktadır. Rizobakterilerin doku kültürü şartlarında mikroçeliklerin köklenmesini teşvik ettiğini belirleyen çalışmalarda genellikle gıda ortamına triptofan amino asidinin ilave edildiği görülmektedir (Srinivasan ve ark., 1996; Peyvandi ve ark., 2010). Rizobakteriler IAA üretimini triptofan yolu üzerinden yapmaktadır (Teixeira ve ark., 2007; Sharma ve ark., 2014; Huu Dat ve ark., 2015). Bundan dolayı bakterilerin bulunduğu ortamda triptofan'ın bulunması bakterilerin IAA üretimini önemli derecede teşvik etmektedir. Nitekim, rizobakterilerin IAA üretme yeteneklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda gıda ortamına triptofan amino asidi ilave edildiğinde önemli miktarlarda IAA sentezleyen rizobakteriler gıda ortamına triptofan olmadığında ya hiç IAA sentezlememekte ya da çok az IAA sentezi gerçekleştirebilmektedir.Huu Dat ve ark. (2015)'ları tarafından yapılan çalışmada triptofanın *Basillus subtilis* TIB6'nın IAA üretimini uyardığı görülmüştür. Triptofan içermeyen gıda ortamında TIB6 28,5 ± 2,8 mg/l IAA üretebilirken, %0,1 triptofan eklenmiş kültür ortamında bulunan TIB6 76,4± 2,1 mg/l IAA üretmiştir. Bu çalışmalara benzer şekilde, kültür ortamına 0,1 g/l triptofan ilave edildiğinde, *Pseudomonas aeruginosa* ırkları, kontrolden (triptofan içermeyen) 5 kat daha fazla IAA üretmiştir (Chaiharn ve Lumyong, 2011). Triptofan kültür ortamına eklendiğinde, birçok bakterinin IAA sentezleme yeteneğinin bulunduğu bildirilmektedir (El-Khawas ve Adachi, 1999; Ali ve ark., 2010).

Zeytinde *Pseudomonas fluorescent* P19 veya P21 ırkları ile inoküle edilmiş veya edilmemiş mikroçeliklerinin kök gelişimi ve yapısı üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, ortamın triptofan konsantrasyonuna bağlı olarak her iki bakteri ırkının, kök gelişimini ve yapısını kuvvetli bir şekilde etkilediği belirlenmiştir. Ortama 10 mg/l'e kadar triptofan ilavesinin, adventif ve lateral köklerin uzunluk ve sayılarını artırdığı vebakteri uygulamalarının IBA'dan daha etkili olduğu tespit edilmiştir (Peyvandi ve ark., 2010). Yapılan başka çalışmalarda besi ortamına triptofan amino asitinin ilave edilmesi sonucu köklenme oranını arttırdığı görülmüştür (El-Khawas ve Adachi, 1999; Ali ve ark., 2010).

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Dünya nüfusunun artması sonucunda, tarımsal ürünlere ihtiyaç her geçen gün artmaktadır. Bu artış, tarımsal üretimde bazı yeniliklerin getirilmesini sağlamıştır. Özellikle son yıllarda, tarımsal biyoteknolojideki gelişmeler, yüksek verimli ve kaliteli ürünler elde edilmiştir.Ülkemizde gelişmekte olan doku kültürü çalışmalarının amacı virüsten ari sağlıklı yeni bitkilerin çoğaltılmasıdır. Ayrıca hastalıklarla mücadele sırasında ortaya çıkan sorunları minimize edebilmektir. Bilindiği üzere *in vitro* koşullarda bitkinin çoğaltılabilmesi için birçok aşamadan geçirilmesi lazımdır. Bu aşamalar; hazırlık aşaması, kültür başlangıç aşaması, sürgün gelişim aşaması, sürgün çoğaltım aşaması, köklendirme aşaması ve aklimatizasyon (dış ortama alıştırma) aşamasıdır. Bu aşamalardan en önemlisi köklendirme aşamasıdır. Çünkü bitkinin hayatını devam ettirebilmesi için gerekli olan su ve bitki besin elementlerini kökleri aracılığıyla sağlamaktadır. *İn vitro* şartlardaki köklendirme aşaması sırasında çeşitli uygulamalar ile köklenme oranları yükseltilmiştir.

Yaptığımız çalışmada MaxMa-14 klon kiraz anacı ile GF-677 şeftali x badem klon anacının *in vitro* koşullarda köklenmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda MaxMa-14 ile GF-677 anaç mikroçeliklerinin dikildiği MS ortamına ilave edilen IBA dozları (sırasıyla; 2mg/l ile 3 mg/l) mikroçeliklerde köklenmeyi (sırasıyla; %100 ile %88,8) sağlamıştır. Kontrol gruplarında GF-677 anacında köklenme gözlenmezken MaxMa-14 anacında %100 köklenme görülmesine karşın BBAR uygulamasının her iki anaçda da köklenme görülmemiştir.

5.2. Öneriler

Buna göre, rizobakteri inokulasyonu yapılan mikroçeliklerde köklenmenin olmaması gıda ortamında triptofan amino asidinin olmaması olabilir. Böylece, köklenme için gerekli olan IAA rizobakteriler tarafından mikroçeliklere sağlanamadığından adventif kök oluşumu uyarılamamış görülmektedir. Sonuçta, doku kültürü çalışmalarında mikroçeliklerin köklenmesi üzerine BBAR'lerin etkisinin inceleneceği çalışmalarda gıda ortamına mutlaka triptofan amino asidinin ilave edilmesi gerektiği söylenebilir.

KAYNAKLAR

Ahmad, T., Ur-Rahman, H., Ahmed, C. M. S. ve Lagharı, M. H., 2003, Effect of culture media and growth regulators on micropropagation of peach rootstock GF 677, *Pak. J. Bot.*, 35 (3), 331-338.

Ainsley, P. J., Collins, G. G. ve Sedgley, M., 2001, Applying genetic transformation technology to almond, *Nutgrwr.*, 15 (3), 35–37.

Akram, M. ve Aftab, F., 2012, Efficient micropropagation and rooting of king white mulberry (*Morus macroura* miq.) var. laevigata from nodal explants of mature tree, *Pak. J. Bot.*, 44 (Special Issue), 285-289.

Ali, B., Sabri, A. N. ve Hasnain, S., 2010, Rhizobacterial potential to alter auxin content and growth of Vigna radiata (L.), *World J Microbiol Biotechnol*, 26, 1379-1384.

Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. ve Tsirakoglou, V., 2005, Inhibitory effect of riboflavin (Vitamin B2) 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.

Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. ve Papadakis, I., 2007, The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on *in vitro* rooting of the peach rootstock GF-677 explants, *Acta Physiologiae Plantarum*, 29 (6), 559-561.

Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S., 2001, Bitki Biyoteknolojisi 1.Doku Kültürü ve Uygulamaları,, *Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları*, p. 374.

Borkowska, B., 1985, Micropropagation of sour cherry cultivar "Schattenmorelle", *Acta Horticulturae*, 169, 329-333.

Bourgin, J. P. ve Nitsch, J. P., 1967, Obtention de Nicotiana haploides partir d' famines cuirives in vitro, *Annu. Physiol. Veg.*, 9, 377-382.

Caboni, E. ve Damiano, C., 1994, Rooting in two almond genotypes, *Plant Science*, 96, 163-165.

Chaiharn, M. ve Lumyong, S., 2011, Screening and optimization of Indole-3-Acetic Acid production and phosphate solubilization from Rhizobacteria aimed at improving plant growth, *Curr Microbiol*, 62, 173-181.

Channuntapipat, C., Sedgley, M. ve Collins, G., 2003, Micropropagation of almond cultivars Nonpareil and Ne Plus Ultra and the hybrid rootstock TitanXNemaguard, *Scientia Horticulturae*, 98, 473–484.

Chitra, D. S. V. ve Padmaja, G., 1999, Clonal propagation of mulberry (*Morus indica* L. cultivar M-5) through *in vitro* culture of nodal explants, *Scientia Horticulturae*, 80 (3), 289-298.

Cleyet-Marcel, J. C., Larcher, M., Bertrand, H., Rapior, S. ve Pinochet, X., 2001, Plant growth enhancement by rhizobacteria. In: Morot-Gaudry, J.-F. (Ed.), Nitrogen Assimilation by Plants: Physiological, Biochemical and Molecular Aspects, *Science Publishers Inc., Plymouth, UK.*, 185-197.

De Klerk, G.-J., Ter Brugge, J. ve Marinova, S., 1997, Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation *in vitro* in Malus '*Jork 9*',, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 49, 39-44.

Dejampour, J., Majidi, I., Khosravi, S., Farhadi, S. ve Shadmehr, A., 2011, *In vitro* Propagation of HS314 rootstock (*Prunus amygdalus x P. persica*), *HortScience*, 46 (6), 928–931.

Demiral, S. ve Ülger, S., 2008, Gisela-5 kiraz anacının doku kültürü ile çoğaltılması üzerine bir araştırma, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21 (1), 117-121.

Demirkök, Ş. G., 2006, GF-677, AK-1 ve AK-2 Badem x Şeftali melez anaçlarinin sürgün ucu yöntemiyle in vitro klonal mikroçoğaltimi, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana, 41

Demirtaş, İ. ve Sarısu, H. C., 2011, Kiraz Yetiştiriciliği, *Meyvecilik Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Yayın No: 11*

El-Khawas, H. ve Adachi, K., 1999, Identification and quantification of auxins in culture media of Azospirillum and Klebsiella and their effect on rice roots, *Biol Fertil Soils*, 28, 377-381.

Ercişli, S., Eşitken, A. ve Şahin, F., 2000, IBA ve bakteri (*Agrobacterium rubi*) uygulamalarının Kütahya vişne çeşidi çeliklerinin köklenmesi üzerine etkisi. , *Bahçe*, 29 (1-2), 75-80.

Ercişli, S., Eşitken, A. ve Şahin, F., 2000a, IBA ve bakteri (*Agrobacterium rubi*) uygulamalarının kuşburnu çeliklerinin köklenmesi üzerine etkisi, *II. Ulusal Fidancılık Kongresi, 25-29 Eylül 2000*.

Ercişli, S., Eşitken, A., Cangi, R. ve Şahin, F., 2003, Adventitious root formation of kiwifruit in relation to sampling date, IBA and Agrobacterium rubi inoculation, *Plant growth Regulation*, 41, 133-137.

Ertürk, Y., Çakmakçi, R., Duyar, Ö. ve Turan, M., 2011, The effects of plant growth promotion rhizobacteria on vegetative growth and leaf nutrient contents of hazelnut seedlings (Turkish hazelnut cv, Tombul and Sivri). *International Journal of Soil Science*, 6 (3), 188.

Eşitken, A., Ercişli, S., Şevik, I. ve Şahin, F., 2003, Effect of indole-3-butyric acid and different strains of Agrobacterium rubi on adventive root formation from softwood and semi-hardwood wild sour cherry cuttings, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 27, 37-42.

Fidancı, A., Burak, M., Erenoğlu, B. ve Akçay, M. E., 2008, Determination of *in vitro* propagation techniques of some clonal sweet and sour cherry rootstocks, *Acta Horticulturae*, 795, 409-412.

Ford, Y. Y., Taylor, J. M., Blake, P. S. ve Marks, T. R., 2002, Gibberellin A3 stimulates adventitious rooting of cuttings from cherry (*Prunus avium*), *Plant growth Regulation*, 37 (2), 127-133.

Fotopoulos, S. ve Sotiropoulos, T. E., 2004, *In vitro* propagation of the peach rootstock: The effect of different carbon sources and types of sealing material on rooting, *Biologia Plantarum*, 48 (4), 629-631.

Fotopoulos, S. ve Sotiropoulos, T. E., 2005, *In vitro* Propagation of the PR 204/84 (*Prunus persica x P. amygdalus*) Rootstock: Axillary shoot production and rhizogenesis, *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 33, 75-79.

Frommel, M., Nowak, J. ve Lazarovits, G., 1991, Growth enhancement and developmental modifications of in vitro grown Potato (Solanum tuberosum ssp. tuberosum) as affected by a Nonfluorescent Pseudomonas sp., *Plant Physiol.*, 96, 928-936.

Glick, B. R., 1995, The enhancement of plant growth by free-living bacteria, *Can. J. Microbiol.*, 41, 109-117.

Goto, M., 1990, Fundamentals of Bacterial Plant Pathology, *Academic Press. Inc. San Diego*, 339.

Gökbunar, L., 2007, Alıç (*Crataegus Sp.*)'ın *in vitro* mikroçoğaltımı, Yüksek Lisans Tezi, *Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kahramanmaraş, 42.

Hammatt, N. ve Grant, N. J., 1997, Micropropagation of mature british wild cherry, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 47, 103-110.

Hartmann, H. T. ve Kester, D. E., 1975, Plant propagation: principles and practices. , *Prentice-Hall.*, 662.

Hepaksoy, S. ve Tanrısever, A., 2004, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, Bazı kiraz anaçlarının mikroçoğaltımı üzerinde araştırmalar II. köklenme ve dış koşullara alıştırma 23-24.

Huu Dat, T. T., Kim Cuc, N. T. ve Viet Cuong, P., 2015, Optimization of Indole-3-Acetic Acid production by *Bacillus subtilis* TIP6 using response surface methodology, *International Journal of Development Research*, 5 (4), 4036-4042.

Işıkalan, Ç., 2003, Bademin (*Amygdalus Communis* L.Cv. Nonpareil) biyoteknolojik yöntemlerle *in vitro* koşullarda mikropropagasyon yollarının araştırılması, Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Diyarbakır, 107.

Kakarla, L. ve Rama, C., 2014, *In vitro* rooting efficiency in Morus indica cultivars (S34, S54, M5 and Mysore-local) from *in vitro* shoot cultures, *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 8 (3), 288-293.

Kamali, K., Majidi, E. ve Zarghami, R., 2001, Micropropagation of GF-677 rootstocks (*Prunus amygdalus x P. persica*), *11 GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds, CIHEAMIAMZ*, 56, 175-177.

Kapulnik, Y., Okon, Y. ve Henis, Y., 1985, Changes in root morphology of wheat caused by Azospirillum inoculation, *Canadian Journal of Microbiology*, 31, 881-887.

Keresa, S., Mıhovılovıć Bošnjak, A., Barıć, M., Habuš Jerčıć, I., Hrvoje Šarčevıć, H. ve Bıško, A., 2012, Efficient axillary shoot proliferation and *in vitro* rooting of Apple cv. 'Topaz', *Not Bot Horti Agrobo*, 40 (1), 113-118.

Kesmük, H., 1993, Texas ve Nonpareil badem (*Prunus amygdalus* Batsch.) çeşitlerinin vegatatif çoğaltımında *in vitro* köklenme, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 105.

Khalid, A., Arshad, M. ve Zahir, Z. A., 2004, Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat, *Journal of Applied Microbiology*, 96, 473-480.

Kloepper, J. W., 1994, Plant growth-promoting rhizobacteria. In: Okon, Y. (Ed.), Azospirillum/Plant Associations. , *CRC Press, Boca Raton, FL.*, 137-166.

Küden, A. B., 2000, Şeftali Yetiştiriciliği, *TÜBİTAK-TARP Yayınları*, 20

Larraburu, E. E., Carletti, S. M., Rodríguez Cáceres, E. A. ve Llorente, B. E., 2007, Micropropagation of photinia employing rhizobacteria to promote root development, *Plant Cell Reports*, 26 (6), 711-717.

Lifshitz, R., Kloepper, J. W., Kozlowski, M., Simonson, C., Carlson, J., Tipping, E. M. ve Zaleska, I., 1987, Growth promotion of canola (rapeseed) seedlings by a strain of *Pseudomonas putida* under gnotobiotic conditions, *Canadian Journal of Microbiology*, 33, 390-395.

Liu, X. ve Pijut, P. M., 2008, Plant Regeneration from *in vitro* leaves of Mature Black Cherry (*Prunus serotina*), *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 94, 113-123.

Lu, M.-C., 2002, Micropropagation of Morus latifolia poliet using axillary buds from mature trees, *Scientia Horticulturae*, 96, 329-341.

Magyar-Tábori, K., Dobránszki, J. ve Hudák, I., 2011, Effect of cytokinin content of the egeneration media on *in vitro* rooting ability of adventitious apple shoots, *Scientia Horticulturae*, 129 (4), 910-913.

Marino, G. ve Ventura, M., 1997, The influence of ethylene on *in vitro* rooting of GF-677 (*Prunus persica x Prunus amygdalus*) hybrıd peach rootstock, *İn vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 33, 26-29.

Mohasseb, H. A. A., Solliman, M. E., Al-Khateeb, A. A. ve Shehata, W. F. H., 2014, Effect of different concentrations of sucrose in culture media of strawberry, *International Journal of Academic Research Part A*, 6 (4), 262-270.

Molassiotis, A. N., Dimassi, K., Therios, I. ve Diamantidis, G., 2003, Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF 677 (*Prunus amygdalus x P. persica*) explants *in vitro*, *Biol. Plant.*, 47, 141-144.

Muna, A. S., Ahmad, A. K., Mahmoud, K. ve Abdul-Rahman, K., 1999, *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock, *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 59 (3), 203-208.

Nas, M. N. ve Read, P. E., 2004, Improved rooting and acclimatization of micropropagated hazelnut shoots, *Hortscience*, 39, 1688-1690.

Noel, T. C., Sheng, C., Yost, C. K., Pharis, R. P. ve Hynes, M. F., 1996, Rhizobium leguminosarum as a plant growth promoting rhizobacterium: direct growth promotion of canola and lettuce, *Can. J. Microbiol.*, 42, 279-283.

Özden, A. N., 2007, GF-677 Hibrit (*Prunus amygdalus x P.persica*) anacının *in vitro* rejenerasyonu ve mikroçoğaltımı, Yüksek Lisans Tezi, *Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Şanlıurfa, 50.

Patena, L., Sutter, E. G. ve Dandekar, A. M., 1988, Root induction by Agrobacterium rhizogenes in a difficult-to-root woody species, *Acta Horticulturae*, 227, 324-329.

Pedrotti, E. L., Jay-Allemand, C., Doumas, P. ve Cornu, D., 1994, Effect of autoclaving amino acids on *in vitro* rooting response of wild cherry shoot, *Scientia Horticulturae*, 57 (1), 89-98.

Peyvandi, M., Farahani, F., Hosseini Mazinani, M., Noormohamadi, Z., Ataii, S. ve Asgharzade, A., 2010, Pseudomonas fluorescent and its ability to promote root formation of olive microshoots, *International Journal of Plant Production January*, 4 (1), 63-66.

Pırlak, L. ve Baykal, Y., 2009, Effect of IBA and Bacteria (*Agrobacterium rubi ve Bacillus osu 142*) on the rooting of M9 apple rootstock cuttings. 1st International Syposium on Sustainable Development Sarajevo**:** 131-134.

Ranjit, M. ve Kester, D. E., 1988, Micropropagation of cherry rootstocks ii. invigoration and enhanced rooting of 46-1 mazzard by co-culture with colt, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 113 (1), 150-154.

Rayya, M. S. A., Kasem, N. E. ve Ali, E. A. M., 2010, Rooting ınduction of soft wood and almond micro-cutting using *Agrobacterium rhizogenes*, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6 (1), 40-44.

Rugini, E., 1992, Involvement of polyamides in auxin and *Agrobacterium rhizogenes* - induced rooting of fruit trees *in vitro*, *J. Amer. Soc. Hort. Scı.*, 117 (3), 532-536.

Rugini, E., Jacoboni, A. ve Luppino, M., 1993, Role of basal shoot darkening and exogenous putrescine treatments on *in vitro* rooting and an endogenous polyamine changes in difficult-to-root woody species, *Scientia Horticulturae*, 53, 63-72.

Saborıo, F., Moloney, M. M., Tung, P. ve Thorpe, T. A., 1999, Root induction in pinus ayacahuite by co-culture with *Agrobacterium tumefaciens* strains, *Tree Physiology*, 19, 383-389.

Sarmast, M. K., Salehi, H. ve Khosh-Khui, M., 2012, *In vitro* rooting of *Araucarıa excelsa* R. BR. var. Glauca using *Agrobacterium rhizogenes*, *Journal of Central European Agriculture*, 13 (1), 123-130.

Sevgin, N., 2010, Badem (*Prunus dulcis* (mill.) d.A weeb)'in *in vitro* mikroçoğaltılması ve mikrosürgünlerin köklenmesini etkileyen bazı faktörlerin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*Kahramanmaraş.

Sharma, V., Kamal, B., Srivastava, N., Negi, Y., Dobriyal, A. K. ve S., J. V., 2014, Enhancement of in vitro growth of Swertia chirayita Roxb. Ex Fleming co-cultured with plant growth promoting rhizobacteria, *Plant Cell Tiss Organ Cult*.

Sivritepe, N. ve Tuğ, Y., 2011, Hayward ve Matua kivi çeşitlerinde mikroçoğaltım, *Uludag Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25 (1), 97-108.

Spahiu, E., Hodaj, H. ve Rama, P., 2013, The influence of season collection of explants on micropropagation of peach rootstock GF-677, *Albanian j. agric. sci.*, 12 (1), 15-18.

Srinivasan, M., Holl, F. B. ve Petersen, D. J., 1996, Influence of indoleacetic-acid-producing Bacillus isolates on the nodulation of Phaseolus vulgaris by Rhizobium etli under gnotobiotic conditions, *Canadian Journal of Microbiology*, 42 (10), 1006-1014.

Steenhoudt, O. ve Vanderleyden, J., 2000, Azospirillum, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspect, *FEMS Microbiology Reviews*, 24, 487-506.

Teixeira, D. A., Alfenas, A. C., Mafia, R. G., Ferreira, E. M., De Siqueira, L., Maffia, L. A. ve Mounteer, A. H., 2007, Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth, *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 118-123.

Trıpp, K. E. ve Stomp, A. M., 1997, Horticultural applications of *Agrobacterium rhizogenes* (hairy-root): enhanced rooting of difficult-to-root woody plants, *Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society*, 47, 527-535.

Vasar, V., 2004, Application of antioxidants in rooting of *Prunus avium* L. microshoots, *Acta Universitatis Latviensis, Biology*, 676, 251-256.

Yıldırım, H., Onay, A., Tilkat, E. ve Aktürk, Z., 2011, Micropropagation of the apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. Hacıhaliloğlu by means of single node culture, *Turk J. Agric. For.*, 35, 55-64.

Yıldız, D. ve Barut, E., 2006, Böğürtlende Mikro Çoğaltım Çalışmaları, *Uludag Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (1), 25-31.

Zhou, H., Li, M. ve Zhao, X., 2010, Plant regeneration from *in vitro* leaves of the peach rootstock 'Nemaguard' (*Prunus persica x P. davidiana*), *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 101, 79-87.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

AdıSoyadı : Sevda GÜLER
Uyruğu : T.C.
DoğumYeriveTarihi : Dinar/30.04.1988
Telefon : 05553504656
Faks : -
e-mail : sevda.guler2020@gmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	BitirmeYılı
Lise :	**FevziÇakmakLisesi, Beykoz, İSTANBUL**	**2006**
ÖnLisans :	**S.Ü. KarapınarAydoğanlar MYO, Karapınar, KONYA**	**2008**
Üniversite :	**SelçukÜniversitesi, Selçuklu, KONYA**	**2013**
YüksekLisans :	**SelçukÜniversitesi, Selçuklu, KONYA**	

UZMANLIK ALANI

-MeyveYetiştiriciliğiveIslahı
-Biyoteknoloji (DokuKültürü)

YABANCI DİLLER

-İngilizce

YAYINLAR

Güler, S., Eşitken, A., 2017,*Invitro*şartlarda BBAR uygulamalarının GF-677 ile MaxMa-14'ün köklenmesi üzerine etkisi, *Selcuk J AgrFoodSci*, 31 (3), 10-16, ISSN: 2458-8377. (Yüksek Lisans tezinden yapılmıştır.)