MEYVECİLİK ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
FRUIT RESEARCH INSTITUTE

e-ISSN: 2148-8770
Yıl /Year**: 2023**
Cilt(Sayı)/Vol.(Issue)**: 10(3)**
Özel Sayı
Sayfa/Page**: 92-99**
Araştırma Makalesi/
Research Article

DOI: 10.51532/meyve. 1189817

Meyve Bilimi Fruit Science

Geliş Tarihi (date of arrival): 2022-10-15
Kabul Tarihi (date of acceptance): 2022-12-09

Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott)'nın Mikroçoğaltımında Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Etkileri

İlknur ESKİMEZ *[1], Mehmet POLAT[1]

[1]Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Isparta, Türkiye
*ilknureskimez01@gmail.com (Sorumlu yazar)

Özet

Bu çalışmada, aronyanın mikroçoğaltımı üzerine farklı büyüme düzenleyicilerin etkileri araştırılmış olup Nero aronya çeşidinde, Benzil amino purin (BAP), İndol butirik asit (IBA), Gibberallik asit (GA_3) bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır. Araştırmada 5 farklı çoğaltma ortamı (Birinciortam-1 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA, ikinci ortam-0.5 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3, üçüncü ortam-1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3, dördüncü ortam-1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3, beşinci ortam-2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3) denenmiştir. Araştırma sonucunda, eksplant başına düşen sürgün sayısı (4.56 adet/eksplant), sürgün boyu (20.25 mm/eksplant) ve boğum sayısı (4.72 adet/eksplant) bakımından, 1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+ 1 mg L^{-1} GA3 içerikli Murashige Skoog (MS) ortamı denenen diğer ortamlardan daha avantajlı bulunmuştur. Elde edilen veriler ışığında, aronyanın mikroçoğaltımında, tek bir büyüme düzenleyicinin değil, farklı büyüme düzenleyici kombinasyonlarının birlikte etkisinin incelenmesi gerektiği ortaya çıkmıştır.
Anahtar kelimeler: Mikroçoğaltım, alt kültür, *Aronia melanocarpa*, *in vitro*, kardeşlenme.

Effects of Plant Growth Regulators on Micropropagation of Aronia (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott)

Abstract

In this study, different growth regulator effects is examined on aronia micropropogation. In the variety of Nero is utilized from Benzyl amino purin (BAP), Indole Butirik asit (IBA), Gibberellic acid (GA_3) . In the study, 5 different growth media is tried. First medium-1 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA, second medium-0.5 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3, third medium-1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3, fourth medium-1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3, fifth medium-2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3. As a result of the research, 1 mg.L BAP+0.02 mg L^{-1} IBA in terms of shoot number per explant 4.56, shoot length 20.25 mm and number of nodes 4.72. Murashige Skoog (MS) medium containing 1 IBA+ 1 mg L^{-1} GA_3 is found to be more advantageous than other media tested. Consequently according to obtained data not only one plant growth regulator but also different plant growth regulator combinations effect should be necessary examined.
Keywords: Micropropagation, subculture, *Aronia melanocarpa*, *in vitro*, reproduction.

Giriş

Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott), Rosaceae familyasına ait, Kuzey Amerika ve Kanada'nın güney doğusunda doğal olarak yetişen, yapraklarını döken çok yıllık, çalı formunda, üzümsü meyveler grubuna ait önemli bir meyve türüdür. *Aronia arbutifolia* (Ell.) Pers. (Red chokeberry), *Aronia melanocarpa* (Black chokeberry) ve *Aronia prunifolia* (Marsh.) (Purple chokeberry) olmak üzere üç türü bulunmaktadır (Strigl vd., 1995; Slimestad vd., 2005).

Sahip olduğu zengin ve çeşitli fitokimyasallar sayesinde, aronya meyveleri son dönemde, birçok araştırmacının üzerinde durduğu, fonksiyonel bir ürün olarak ifade edilmektedir.

Sağlık üzerine olan pozitif etkileri nedeniyle, günlük diyet içerisinde bulundurulmasında fayda görülen aronyanın önemi ve ticareti giderek artmakta, bu durum ise üretime yansımaktadır. Pozitif sağlık etkileri sayesinde, günlük diyet içerisinde bulundurulmasında fayda görülen aronyanın, önemi ve ticareti giderek artmakta, bu durum ise üretime yansımaktadır. Geniş iklim kuşağı ve toprak şartlarına adapte olabilen aronyanın, son dönemde başta Amerika ve Avrupa'da olmak üzere binlerce dönüm alan üzerinde bahçe tesisi yapılmıştır. Bugün Aronya'nın en fazla üretildiği ülkeler Rusya, Polonya, Ukrayna ve Fransa olarak göze çarparken, yakın gelecekte hemen hemen her ülkede artışın olacağı öngörülmektedir (Fidancı, 2015).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, antioksidan, vitamin ve mineral içeriği bakımından üzümsü meyvelerin oldukça önemli bir yere sahip oldukları bildirilmektedir (Polat vd., 2017; Polat vd., 2020; Mertoğlu vd., 2021). Aronya meyvesinde fenoller, flavonoller, lökoantosiyaninler, klorogenik, neoklorogenik, malik, tartarik, sitrik asit gibi çeşitli organik ve fenolik asitler bulunmaktadır. Bu

maddeler serbest oksijen türevlerine karşı hücrelerde koruyucu olarak görev yapmakta ve aynı zamanda bu bileşenlerin anti bakteriyel ve anti fungal etkilerinin bulunduğu bildirilmektedir (Bolling vd., 2015). Daha önce yapılan çalışmalarda, zengin besin içeriğine sahip olan aronyanın, özellikle fenolik bileşikler bakımından oldukça önemli olduğu ortaya konmuştur. Yapılan bir çalışmada aronyanın meyvelerinde toplam fenolik madde miktarının 401.32 mg.L GA g^{-1} yapraklarında 765.63 GA g^{-1} bulunduğu, toplam antioksidan miktarının yapraklarda 1610.61-2382.03 µm TE g^{-1}, toplam flavonoid miktarını ise meyvelerde 128.39 µg mL^{-1}, yapraklarda 96.16 µg mL^{-1} olduğu bildirilmektedir (Shahin vd., 2019).

Bahçe tesisinde, yeterli ve uygun materyal temini açısından mikroçoğaltım teknikleri önemli avantajlar sağlamaktadır. Bu avantajların başında, ürünün kalitesini olumsuz etkileyen, bitkiye vejetatif çoğaltma yoluyla geçebilen virüs ve hastalıklardan arındırılmış bitki üretimi gelmektedir. Diğer yandan mikro çoğaltım yoluyla daha kısa sürede, daha fazla sayıda fidan üretimi gerçekleştirilmektedir. Bunun sonucunda da bu fidanların ülkeler ve bölgeler arasında transferi kolaylaşmaktadır. Yine diğer vejetatif yöntemlerle üretilemeyen türlerin üretimi daha kolay ve daha hızlı yapılabilmektedir (Güçlü vd., 2010). Ayrıca, iş gücü ve ihtiyaç duyulan alan miktarı çok daha düşük düzeydedir. Tüm bu sebeplere istinaden mikroçoğaltım, sürdürülebilir ve ekonomik üretimin önemli bir parçasıdır.

Mikroçoğaltım çalışmalarında başarı üzerine genotipin de önemli düzeyde etkili olması nedeniyle her klon anacı için ayrı bir protokolün geliştirilmesi önem arz etmektedir. Bu bakımdan bitkilerin mikroçoğaltım katsayılarının arttırılması amacıyla yeni büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının denenmesi gerekmektedir (Güçlü vd., 2010). In vitro çalışmalarda sitokininler, gibberellinler ve oksin grubu bitki büyüme düzenleyici maddeler tek başına ya da çeşitli kombinasyonlar halinde farklı amaçlara yönelik olarak kullanılmaktadır. Sitokininler, hücresel boyutta protein sentezini teşvik ederek hücrelerin bölünmesini ve farklılaşmasını sağlarken, giberellinlerin hücrelerin uzaması, apikal dormansiye neden olan absisik asit gibi farklı maddelerin hücrelerdeki seviyesini azaltarak, tohum çimlenmesini ve aynı zamanda sürgünlerin boğum arası uzunluklarını teşvik ettiği bilinmektedir.

Oksinler ise kök oluşumunu ve aynı zamanda sitokininlerle birlikte kullanılarak kallus gelişimine katkı sağlamaktadır (Gaba, 2005).

Bu çalışma kapsamında, Türkiye için yeni ancak hızla yayılan ve dünyada farklı kullanım amaçlarına yönelik olarak, yüksek ekonomik öneme sahip olan aronyanın, doku kültüründe çoğalması üzerine farklı büyüme düzenleyici kombinasyonlarının etkileri araştırılmıştır.

Materyal ve Metod

Bitki materyali

Araştırmada, mayıs ayı içerisinde, aktif gelişme döneminde olan, Nero çeşidine ait sürgün uçları eksplant olarak kullanılmıştır. Bitkiler Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama alanı üzümsü meyveler parselinde bulunan üç yaşındaki sağlıklı bitkilerden alınmıştır.

Sürgün uçlarının sterilizasyonu

Aronya bitkilerinden mayıs ayında alınan sürgün uçları, öncelikle musluk suyu altında temizlenerek, %5 sıvı bulaşık deterjanı-su karışımı içeren çözeltide, manyetik karıştırıcı aracılığı ile 5 dakika süreyle yıkanmıştır. Ardından materyaller %70'lik etil alkol ile 1 dakika muamele edilmiş ve daha sonra saf su ile alkolden arındırılmıştır. Son olarak %15'lik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 12 dakika bekletilerek 3 kez 5'er dakika süreyle steril saf su ile çalkalanmıştır. Steril edilen sürgün uçları steril kâğıtta kurutulduktan sonra yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır.

Kültür ortamının bileşimi

Çoğaltma ortamı

Araştırmada 5 farklı çoğaltma ortamı kullanılmıştır. Bu aşamada eksplant olarak sürgün uçları kullanılmıştır. Çoğaltma ortamı için denemede kullanılan büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonları ve ortam numaraları Çizelge 1'de verilmiştir. Besin konsantrasyonu içerisine tam kuvvetli MS (Murashige Skoog) ortamı (Duchefa Biochemie),30 g L^{-1} sakkaroz (Merck 107651) ve 6.5 gL^{-1} agar (Duchefa Biochemie, Plant Agar)eklenerek pH'ı 1 N NaOH ya da 1 N HCl kullanılarak 5.7'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan besin ortamları 100 ml-1 hacimdeki magenta kaplarına 20 ml^{-1} olarak konulmuş ve 121 °C'de 1.2 atmosfer basınçtaki otoklavda 15 dakika süreyle tutularak sterilizasyonu yapılmıştır.

Çizelge 1. Denemede kullanılan çoğaltma ortamı içeriği (mg L^{-1})

Table 1. Propagation media content used in the experiment (mg L^{-1})

Ortam	Ortam içeriği (mg L^{-1})
1	MS+1 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA
2	MS+0.5 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3
3	MS+1 mg L^{-1}BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3
4	MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3

5	MS+2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3

Araştırmada incelenen özellikler

Eksplant başına düşen sürgün sayısı (EBBS) (adet): Her eksplantta gelişen sürgünler sayılmış ve sürgün veren eksplantların ortalaması alınmıştır.

Sürgün boyu (SB) (mm): Her alt kültürden sonra sürgün boyu kumpas ile mm cinsinden ölçülmüştür.

SOES (%): Her magenta kabında sürgün oluşturan bitkiler sayılarak yüzde olarak verilmiştir.

VO (%): Her kavanozdaki vitrifikasyonlu (dokuları camsılaşmış yapıda) olan bitkiler sayılarak, yüzde olarak ifade edilmiştir.

Boğum sayısı (BS) (adet): Her sürgündeki boğum araları sayılarak ortalama olarak ifade edilmiştir.

Verilerin analizi

Deneme 5 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre yürütülmüş olup, elde edilen veriler, MİNİTAB 17.0 paket programı kullanılarak Varyans analizine ($p<0.01$-$p<0.05$) tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklılıkların tespit edilmesinde, Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Birinci alt kültürde elde edilen araştırma sonuçları

Birinci alt kültüre ait eksplant başına düşen sürgün sayısı (EBBS), sürgün oluşturan eksplant sayısı (SOES), vitrifikasyon oranı (VO), sürgün boyu (SB), ve boğum sayısı (BS) ortalamaları Çizelge 2'de verilmiştir. Çoğaltma aşamasında kullanılan farklı büyümeyi düzenleyici kombinasyonlarının eksplant başına düşen sürgün sayısı üzerine etkisi incelendiğinde, ortamlar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından en iyi ortam 4.37 adet/eksplant ile MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortam olarak belirlenmiştir. En düşük EBBS değeri ise ortalama 2.78 adet/eksplant ile MS+1 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA içerikli ortamdan elde edilmiştir. MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamın en yüksek olmasının nedeninin, içerisindeki sitokinin/oksin oranı olduğu düşünülmektedir. Kwak vd. (2015), tarafından aronya çeşitleri üzerine yapılan bir çalışmada ise bitki büyüme düzenleyicilerinin sürgün çoğalması ve köklenmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada en iyi sürgün sayısı, 1.0 mg L^{-1} Zeatin (8.3 sürgün/eksplant) ile takviye edilmiş WPM üzerinde gözlenirken, çeşit başına toplam çoğalan sürgün sayısı; Nero için 17.4, Mor ve Mackenzie için 14-15 ve hem Viking hem de Odamamachiko çeşitleri için 10 adet olarak bulunmuştur. Bu sonuçlarla çalışma sonuçlarımızın farklı olmasının nedeni kullanılan WPM ortamı ve Zeatin kullanımı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 2. Birinci alt kültürdeki ortamların, incelenen özellikler bakımından karşılaştırılması
Table 2. Comparison of the first subculture in terms of the characteristics examined

Ortam içeriği (mg L^{-1})	EBBS (adet)*	VO (%)**	SOES (%)	SB (mm)*	BS (adet)*
1 mg L^{-1} BAP 0.01 mg L^{-1} IBA	2.78±1.1^{b}	3.13±1.4^{b}	100.00±0.0	17.51±0.9^{a}	4.22±0.2^{a}
0.5 mg L^{-1}BAP 0.01 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	3.00±1.0^{ab}	18.75±4.8^{ab}	100.00±0.0	16.02±1.5^{b}	3.69±0.3^{b}
1 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	4.06±1.2^{ab}	18.75±5.3^{ab}	100.00±0.0	16.08±1.1^{b}	3.85±0.3^{b}
1 mg L^{-1} BAP 0.02.mg L^{-1} IBA 1 mg L^{-1} GA_3	4.37±2.1^{a}	20.31±2.5^{ab}	100.00±0.0	16.51±0.8^{ab}	3.97±0.2^{ab}
2 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	2.84±1.8^{ab}	34.38±2.6^{a}	100.00±0.0	16.17±1.0^{b}	3.95±0.3^{ab}

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).
** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.01$).

Araştırmamızda farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin vitrifikasyon oranı üzerine etkisi incelenmiş olup, ortamlar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$-$p<0.05$) En yüksek vitrifikasyon oranı MS+2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg.L^{-1} GA_3 içerikli ortamda gözlenmiştir (%34.38). Diğer 4 ortam arasındaki farklar ise istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. MS+2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamda, diğer ortamlara göre daha fazla vitrifikasyon olmasının nedeninin bu ortam içeriğindeki yüksek BAP konsantrasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan benzer çalışmalarda da vitrifikasyon oranının, yüksek sitokinin seviyesiyle

ilişkili olduğu bildirilmektedir. Chawla (2002), vitrifikasyonu; yapraklarda ve bazen gövdelerde görülen camsılaşma, saydamlaşma, sukkulent veya ıslak ve genellikle şiş görünümlü olan in vitro dokuların istenmeyen fiziksel bozukluğu şeklinde tanımlamaktadır. Vitrifikasyonun oluşumu ve derecesi çok sayıda kompleks faktörden etkilenebilmektedir. Mikroçoğaltımda vitrifikasyonun birçok nedeni olup, ışık şiddeti, sıcaklık, BAP konsantrasyonu ve bitkinin fizyolojik yapısı bu nedenlere örnek olarak gösterilebilmektedir (Özzambak vd., 2018)

Araştırmamızda sürgün oluşturan eksplant sayısı için uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Besin ortamlarına dikilen bütün eksplantlarda kardeşlenme gözlemlendiği için bu oran %100 olarak tespit edilmiştir. Bu durum aronyanın fizyolojik yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bitkide yüksek miktarda vitrifikasyon ya da enfeksiyon olmadığı sürece besi ortamına dikilen tüm bitkilerin sürgün oluşturduğu belirlenmiştir. Aronya üzerine yapılan farklı bir çalışmada da sürgün çoğaltma aşamasında, TDZ kullanılarak %98.9 oranında sürgün oluşturan eksplant sayısı tespit edilmiştir (Siyanesan vd., 2016).

Araştırmamızda, farklı büyüme düzenleyicilerin, sürgün boyu üzerine etkileri de incelenmiş olup, ortamlar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Sürgün boyu bakımından en yüksek değer 17.51 mm/eksplant ile MS+1 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA içerikli ortamdan elde edilmiştir. Sürgün boyu bakımından MS+1 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA ve MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamlar arasındaki fark ise istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Bir numaralı ortamda sürgün boyunun yüksek olmasının nedeninin sitokinin/oksin oranının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bazı araştırıcılar ise artan BAP konsantrasyonlarında sürgün boylarının da azaldığını bildirmektedirler (Sayılır vd., 2007). Bu durum aynı zamanda alt kültür sayısıyla da ilişkilendirilebilir. Alt kültür sayısı arttıkça, bitkinin farklı ortamlardaki adaptasyonu sayesinde farklı sonuçlar da elde edilebilmektedir.

Farklı büyüme düzenleyicilerin boğum sayısı üzerine etkileri incelenmiş olup, uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Boğum sayısı açısından en yüksek ortam 4.22 adet/eksplant ile bir numaralı ortamdır. Boğum sayısı bakımından MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3, MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3, ve MS+2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamlar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. En düşük boğum sayısı ise 3.69 adet/eksplant ile MS+0.5 mg L^{-1} BAP+0.01 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamdan elde edilmiştir. GA_3 konsantrasyonunun boğum sayısını arttırdığı bilinmekle birlikte, araştırmamızda 1. alt kültürde GA_3 bulunmayan ortamın boğum sayısının en yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumda bitkilerin 1. alt kültürde GA_3 ilavesine tepki göstermediği düşünülebilmektedir. Bazı kiraz anaçları üzerine yapılan bir araştırmada, çoğalma ve meydana gelen yeni sürgünlerin gelişmesi üzerine düşük konsantrasyonda GA_3 uygulamasının herhangi bir etkide bulunmadığı, buna karşılık konsantrasyonun arttırılması halinde çoğalmanın olumsuz yönde etkilendiği bildirilmiştir (Hepaksoy, 2004).

İkinci alt kültürde elde edilen araştırma sonuçları

İkinci alt kültüre ait incelenen bazı parametreler Çizelge 3'de verilmiştir. Araştırmada kullanılan farklı büyüme düzenleyici madde kombinasyonlarının eksplant başına düşen sürgün sayısı üzerine etkisi bu çizelge de görülmektedir. Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$- $p<0.05$). Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından en yüksek ortam bitki başına 4.78 adet eksplant ile dört numaralı (MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3) ortamdır. Üçüncü (MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3) ve dördüncü (MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3) ortamlar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamın yüksek olmasının sebebinin BAP-IBA-GA_3 kombinasyonundan kaynaklı etkileşimler olduğu düşünülmektedir. Bu konuyla ilgili literatür incelendiğinde sitokininlerin ve gibberallinlerin hücre büyümesi ve hücre bölünmesini dolayısıyla da yan sürgün oluşumunu teşvik ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Çizelge 3'de farklı büyüme düzenleyicilerin vitrifikasyon oranı üzerine etkisi incelenmiştir. Vitrifikasyon oranı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuş olup, en yüksek vitrifikasyon oranı MS+2 mg L-1 BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamda gözlemlenmiştir (%31.88). En düşük vitrifikasyon oranı MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.05 mg L^{-1} GA_3 içeren ortamda tespit edilmiştir (%11.25). En yüksek vitrifikasyon oranının 2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3 içeren ortamda olma nedeni olarak BAP konsantrasyonunun diğer ortamlara göre yüksek olmasının yanında, dikim aşamasından sonra oluşabilecek sıcaklık değişimi ve çevre şartları da gösterilebilmektedir. Bir, üç ve dört numaralı ortalamalar arasında vitrifikasyon oranı bakımından fark olmamasının sebebinin her iki ortamda da 1 mg L^{-1} BAP kullanılması olduğu düşünülmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da türlere göre değişmekle birlikte artan sitokinin

konsantrasyonunun vitrifikasyon oranını arttırdığı bildirilmektedir (Şengül, 2012; Özelci ve Yiğit, 2022). Puchooa vd. (1999), sitokinin seviyesi, düşük ışık, yüksek sıcaklık, kültür kabının tipi, alt kültürlerin sayısı ve uzunluğu iledezenfeksiyon süresince zararlanma benzeri faktörlerin de vitrifikasyona neden olduğunu belirtmektedirler.

Çizelge 3. İkinci alt kültürdeki ortamların, incelenen özellikler bakımından karşılaştırılması
Table 3. Comparison of the first subculture in terms of the characteristics examined

Ortam içeriği (mg L^{-1})	EBBS (adet)**	VO (%)**	SOES (%)	SB (mm)**	BS (adet)**
1 mg L^{-1} BAP 0.01 mg L^{-1} IBA	2.53±0.4^{b}	26.25±9.5^{ab}	100.00±0.0	16.48±2.2^{b}	3.95±0.6^{b}
0.5 mg L^{-1} BAP 0.01 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	2.56±0.4^{b}	16.88±4.7^{ab}	100.00±0.0	17.00±3.4^{b}	4.00±0.8^{b}
1 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	3.78±0.5^{a}	11.25±2.0^{b}	100.00±0.0	15.43±2.7^{b}	3.72±0.7^{b}
1 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 1 mg L^{-1} GA_3	4.78±1.7^{a}	15.00±3.9^{b}	100.00±0.0	23.55±3.8^{a}	5.39±0.9^{a}
2 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	2.68±0.6^{b}	31.88±5.5^{a}	100.00±0.0	22.52±6.1^{a}	5.46±1.1^{a}

** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($p<0.01$).

Bitki büyüme düzenleyicilerin sürgün boyu üzerine etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). En uzun sürgün boyu 1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içeren ortamda (23.55 mm/eksplant) elde edilmiştir. MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içerikli uygulamada sürgün uzunluğunun yüksek olmasının nedeni, ortam içerisindeki BAP ve GA_3 kombinasyonunun sürgün uzunluğunu artırmasıdır. Farklı büyüme düzenleyicilerinin boğum sayısı üzerine etkilerinin de incelendiği araştırmada, boğum sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Boğum sayısı açısından en yüksek ortalama 5.46 adet/eksplant ile 1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg.L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içeren beşinci ortamdan elde edilmiştir. En yüksek GA_3 konsantrasyonu 1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 ilaveli ortamda bulunduğu için en yüksek boğum sayısının da yine bu ortamdan elde edildiği düşünülmektedir. Güçlü vd. (2010), ise Maxma 14 anacında en uzun sürgün boyuna (1.61 cm) MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içeren besi ortamından elde etmiş ve besi ortamına gibberellik asit eklenmesinin sürgün boylarını uzattığını bildirmişlerdir. Yine aynı çalışmada sürgün uzunluklarını artırmak amacıyla ortamlara ilave edilen 0.5 ve 1.0 mg L^{-1} GA_3 sürgün boyunu önemli oranda arttırmıştır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızı da destekleyici niteliktedir.

Üçüncü alt kültürde elde edilen araştırma sonuçları

Çizelge 4'de üçüncü alt kültüre ait incelenen bazı parametreler verilmiştir. Çizelge 4'de de görüldüğü gibi, farklı büyüme düzenleyicilerin eksplant başına düşen sürgün sayısı üzerine etkisi incelenmiş olup, uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından en yüksek ortalama 4.53 adet/eksplant ile dört numaralı (MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3) ortamdan elde edilmiştir. Üçüncü, dördüncü ve beşinci ortamlar arasındaki farklar ise istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Bu durum önceki alt kültürlere paralel olarak ortam içerisindeki bitki büyüme düzenleyicilerin birlikte etkisiyle açıklanabilmektedir. MS+1 mg L^{-1} IBA+0.01 mg L^{-1} IBA içerikli ortamda ortamda en düşük eksplant sayısına ulaşılmıştır. Bunun sebebi olarak 0.01 mg L^{-1} IBA dozu gösterilebilir. Araştırma sonucunda BAP'ın GA_3 ile kullanımının yan sürgün sayısını arttırdığı düşünülmektedir. Bu da bir numaralı ortamın (MS+1 mg L^{-1} IBA+0.01 mg L^{-1} IBA) eksplant sayısı bakımından düşük olduğunu bize göstermiştir.

Çizelge 4. Üçüncü alt kültürdeki ortamların, incelenen özellikler bakımından karşılaştırılması
Table 4. Comparison of the first subculture in terms of the characteristics examined

Ortam içeriği (mg L^{-1})	EBBS (adet)**	VO (%)	SOES (%)	SB (mm)*	BS (adet)
1 mg L^{-1} BAP 0.01 mg L^{-1} IBA	2.68±0.6^{b}	17.50±2.9	100.00±0.0	21.30±3.2^{a}	4.93±0.7
0.5 mg L^{-1} BAP 0.01 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	3.00±1.0^{b}	27.50±4.2	100.00±0.0	19.55±2.6^{ab}	4.75±0.6
1 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	4.59±1.6^{a}	25.63±2.5	100.00±0.0	19.71±2.2^{ab}	4.62±0.7
1 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 1 mg L^{-1} GA_3	4.53±1.2^{a}	22.69±3.8	100.00±0.0	21.59±2.8^{a}	4.81±0.5
2 mg L^{-1} BAP 0.02 mg L^{-1} IBA 0.5 mg L^{-1} GA_3	3.56±1.5^{ab}	30.63±6.9	100.00±0.0	18.65±2.0^{b}	4.44±0.5

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).
** Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir ($p<0.01$).

Farklı büyüme düzenleyicilerinin vitrifikasyon oranı üzerine etkisi Çizelge 4'de verilmiş olup, uygulamalar arasında istatistiki fark belirlenmemiştir. En yüksek vitrifikasyon oranı MS+2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.5 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamdan (%30,63) elde edilmiştir. Genel olarak bitkilerde alt kültür sayısı arttıkça vitrifikasyon oranı artmaktadır. Bu durum önceki bilgilere paralel olarak yüksek BAP konsantrasyonu ve çevre şartlarıyla da ilişkilendirilebilir. Nitekim sıcaklık değişimi, ortamın nem içeriği, ışık şiddeti, alt kültür sayısı vitrifikasyonun nedenleri olarak gösterilebilmektedir (Acemi; 2011; Şengül, 2012; Polat ve Eskimez, 2022).

Araştırmamızda, farklı büyüme düzenleyicilerin sürgün uzunluğuna etkisi incelenmiş olup, uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). En yüksek sürgün boyu MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamdan (21.59 mm/eksplant) elde edilmiş olup, birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü ortalamalar arasındaki farklar istatistik olarak önemli bulunmamıştır. En kısa sürgün boyu ise MS+2 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+0.05 mg L^{-1} GA_3 içeren ortamdan elde edilmiştir (18.65 mm/eksplant). En kısa sürgün boyunun beşinci ortamdan elde edilmesinin nedeninin ortam içerisindeki yüksek BAP kullanımından kaynaklandığı düşünülmektedir. MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3 içerikli ortamın sürgün uzunluğu bakımından yüksek olmasının nedeni alt kültür sayısının artması ve ortam içerisindeki sitokinin miktarı ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu konuda literatür incelendiğinde, artan BAP konsantrasyonunda sürgün boyunun hem arttığı hem de azaldığı yönünde farklı çalışmalar bulunmaktadır (Arıcı, 2008; Demiral ve Ülger, 2008; Güçlü vd., 2010).

Araştırmamızda farklı bitki büyüme düzenleyicilerin boğum sayısı üzerine etkisi de incelenmiştir. Boğum sayısı bakımından uygulamalar arasındaki farklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Nitekim araştırmamızda alt kültür sayısının artması boğum sayısını etkilememiştir. Bu durumun nedenleri arasında bitkinin fizyolojik yapısı ve alt kültür sayısı gösterilebilmektedir (Türközü vd., 2014). Nitekim bitkilerin boğum sayısının sürekli artması beklenen bir durum değildir ve aynı zamanda alt kültür sayısı arttıkça bitki yaşlanmakta ve uygulamaların istenilen etkiyi gösterememiş olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç

Araştırma sonucunda, aronyanın farklı bitki büyüme düzenleyici konsantrasyon ve kombinasyonlarının optimizasyonlarının yapılmasıyla mikroçoğaltımının kolaylıkla gerçekleşebileceği belirlenmiştir. Nitekim çok yüksek ya da çok düşük BAP ve GA_3 kullanımının eksplant başına düşen sürgün sayısını olumsuz etkilediği; sürgün boyunun uzaması halinde boğum sayısının da arttığı görülmüştür. Tüm bu sonuçlar ışığında dört numaralı ortam (MS+1 mg L^{-1} BAP+0.02 mg L^{-1} IBA+1 mg L^{-1} GA_3) içeriğinin aronyanın in vitro çoğaltımı için araştırıcılara ve üreticilere tavsiye edilebilir nitelikte olduğu söylenebilmektedir.

Teşekkür

Çalışmamızı 2019-YL1-0014 kodlu proje ile destekleyen Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim

Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederiz. Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiştir.
Çalışmada ismi geçen doktora öğrencisi İlknur ESKİMEZ 100/2000 Sürdülebilir Tematik alanında doktora yapmaktadır. Öğrencimize maddi desteğini esirgemeyen Yükseköğretim Kuruluna teşekkür ederiz.

Kaynaklar

Acemi A 2011. Farklı Konsantrasyonlardaki Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin *Amsonia orientalis* Decne. (Apocynaceae)'in Doku Kültürü İle Çoğaltılmasına Olan Etkilerinin Araştırılması. Kocaeli Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 96s, Kocaeli.

Arıcı ŞE, 2008. Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü İle Çoğaltılması. SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi 9(1): 19-23.

Bolling BW, Taheri R, Pei R, Kranz S, Yu M, Durocher SN, Brand MH, 2015. Harvest Date Affects Aronia Juice Polyphenols, Sugars, and Antioxidant Activity, But Not Anthocyanin Stability. Food Chemistry 187: 189-196.

Chawla HS, 2002. Introduction to Plant Biotechnology. Science Publishers, Inc., Plymouth, UK, 538 P.

Demiral S, Ülger S, 2008. Gisela 5 Kiraz Anacının Doku Kültürü İle Çoğaltılması Üzerine Bir Araştırma. Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi 21(1): 117-121.

Fidancı A, 2015. Türkiye İçin Yeni Bir Minör Meyve: Aronia Bitkisi ve Yetiştirme Teknikleri.VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 25-29 Ağustos Çanakkale, 1177-1180.

Gaba, VP, 2005. Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture and Development. In Plant Development and Biotechnology (pp. 87-99). Boca Raton, FL: CRC Press.

Güçlü F, Koyuncu F, Şan B, 2010. Bazı Klon Kiraz Anaçlarının Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltılması. Süleyman Demirel Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 14(2): 144-147.

Hepaksoy S, 2004. Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar I. Gelişme ve Çoğalma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 41(3).

Kwak MC, Choi CH, Choi YE, Moon HK, 2015. Micropropagation of Aronia (*Aronia Melaocarpa* Elliot, Black Chokeberry) and Its 5 Varieties. Journal of Plant Biotechnology. 42(4): 380-387.

Mertoğlu K, Eskimez I, Polat M, Okatan V, Korkmaz N, Gülbandılar A, Bulduk I, 2021. Determination of Anti-microbial and Phyto-chemical Characteristics of Some Blackberry Cultivars.

Özelci D, Yiğit E, 2022. Micropropagation of The *Morus nigra* L. (Black Mulberry) cv. 'Eksi Kara'. Aksu Tarım Ve Doga Dergisi- Ksu Journal of Agriculture and Nature. 25(1).

Özzambak M, Zeybekoğlu E, İzzet Gün, Kılıç T, 2018. Spathiphyllum'un in Vitro Mikro Çoğaltımı Üzerine Şeker Konsantrasyonlarının Etkileri. Sakarya University Journal of Science. 22(3): 1015-1023.

Polat M, Guclu SF, Okatan V, Ercişli S, Özaydın A., Colak, AM, Askin M. A., 2017. Determinatıon Of Phenolic Compounds in Aronia Genotypes Grown In Turkey. Oxidation Communications. 40(1-I): 131-137.

Polat M, Mertoglu K, Eskimez I, Okatan V, 2020. Effects of The Fruiting Period and Growing Seasons on Market Quality in Goji Berry (L.). Folia Horticulturae. 32(2): 229-239.

Polat M, Eskimez I, 2022. The Effects of Different Hormone Combinations on in Vitro Micropropagation of Aronia (*Aronia Melanocarpa* (Mıchx.) Ellıott). Fresenius Environmental Bulletin, 31(1A): 1219-1227.

Puchooa D, Purseramen PN, Rujbally BR, 1999. Effects of Medium Support and Gelling Agent in The Tissue Culture of Tobacco (*Nicotiana tabacum*). University of Mauritius Research Journal. 3(1): 129-144.

Sayılır A, Özzambak E, Erefnur Ö, Eşiyok D, 2007. Kapari Türlerinin (*Capparis* L.) Tohumla ve Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Celal Bayar Üniversitesi. Fen Bilimleri Dergisi. 3(1): 71-80.

Sivanesan I, Saini RK, Kim DH, 2016. Bioactive Compounds in Hyperhydric and Normal Micropropagated Shoots of *Aronia melanocarpa* (michx.) Elliott. Industrial Crops and Products. 83: 31-38.

Shahin L, Phaal SS, Vaidya BN, Brown JE, Joshee N, 2019. Aronia (Chokeberry): An Underutilized, Highly Nutraceutical Plant. Journal of Medicinally Active Plants. 8(4): 46-63.

Slimestad R, Torskangerpoll K, Nateland HS, Johannessen T, Giske NH, 2005. Flavonoids From

Black Chokeberries (*Aronia melanocarpa*). Journal of Food Composition and Analysis. 18(1): 61-68.

Strigl AW, Leitner E, Pfannhauser W, 1995. Qualitative und Quantitative Analyse der Anthocyane in Schwarzen Apfelbeeren (*Aronia melanocarpa* Michx. Ell.) mittels TLC, HPLC und UV/VIS-spektrometrie. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung. 201(3): 266-268.

Şengül E, 2012. Karadutun (*Morus nigra* L.) In Vitro Çoğaltımı. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 48s, Bursa.

Türközü D, Yaşar F, Ellialtıoğlu Ş, Yıldırım B, 2014. Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Bitkisinin Doku Kültürü Yoluyla Çoğaltılması Üzerinde Çalışmalar. Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences. 24(3): 300-308.