T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAXMA-14 KİRAZ ANACININ FARKLI BESİ ORTAMLARI VE IŞIK ŞİDDETLERİNDE MİKROÇOĞALTIMI

Filiz AKBABA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANA BİLİM DALI

DİYARBAKIR
Temmuz – 2019

T.C

DİCLE UNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Filiz AKBABA tarafından yapılan **"Maxma-14 Kiraz Anacının Farklı Besi Ortamları ve Işık Şiddetlerinde Mikroçoğaltımı"** konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Bahçe Bitkileri Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin; Unvanı Adı Soyadı

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Zafer AKTÜRK

Üye : Prof. Dr. Bekir Erol AK

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Vedat PİRİNÇ

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 08/07/2019

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.... /.... /2019

Prof. Dr. Sevtap SÜMER EKER

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bana yön veren, maddi manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Zafer AKTÜRK'e, yüksek lisansımın başlangıç aşamasında kısa bir süre danışmanlığımı yapan Doç. Dr. Hakan YILDIRIM'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam süresince her daim yanımda olan ve destek veren arkadaşlarım Adalet KARADAŞLI, Dilek GÜLER, Hazal AKKURT, Songül ARAZ YILMAZ, Suna ÇAKMAK ve Yelda YAŞAR ÇAKIR'a; laboratuvar çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Vedat PİRİNÇ, Doç. Dr. Özlem TONÇER, Öğr. Gör. Dr. Medet KORKUNÇ, Savaş TUZAK ve Engin DEMİRCİ'ye; veri analizlerimin değerlendirilmesinde yardım eden Adil TONĞA'ya teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans tezim ve eğitim hayatım süresince her anlamda yanımda olan, bana katlanan canım ailemin tüm bireylerine, biricik yeğenim Muhammet Miraç AKBABA'ya, desteğini hep hissettiğim ve hissedeceğim ablam Nevin AKBABA'ya sonsuz teşekkür ederim.

Filiz AKBABA

Temmuz 2019 - Diyarbakır

İÇİNDEKİLER

		Sayfa
TEŞEKKÜR		I
İÇİNDEKİLER		II
ÖZET		III
ABSTRACT		IV
ÇİZELGE LİSTESİ		V
ŞEKİL LİSTESİ		VI
1.	**GİRİŞ**	1
2.	**KAYNAK ÖZETLERİ**	5
3.	**MATERYAL VE METOT**	21
3.1.	Materyal	21
3.1.1.	Maxma-14 Kiraz Anacı	21
3.2.	Metot	21
3.2.1.	Alet-Ekipmanların ve Transfer Odasının Sterilizasyonu	21
3.2.2.	Eksplantların Yüzey Sterilizasyonu	22
3.2.3.	Besi Ortamı Hazırlığı ve Kültür Şartları	22
3.2.4.	Sürgün Çoğaltım Çalışmaları	24
3.2.4.1.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	25
3.2.4.2.	Farklı BAP ve GA_3 Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	25
3.2.4.3.	Farklı Yoğunluklardaki Işık Şiddetinin Sürgün Çoğaltımına Etkisi	25
3.2.4.4	Farklı Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	25
3.2.4.5.	MS ve WPM Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	26
3.2.4.6.	Sürgün Çoğaltım Çalışmalarında Alınan Gözlemler	26
3.2.5.	Köklendirme Çalışması ve Alınan Gözlemler	26
3.2.6.	Dış Ortama Alıştırma (Aklimatizasyon)	27
3.2.7.	Verilerin Analizi	27
4.	**BULGULAR VE TARTIŞMA**	29
4.1.	Maxma-14 Kiraz Anacında Sürgün Çoğaltım Çalışmaları	29
4.1.1.	Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	29
4.1.2.	Farklı BAP ve GA_3 Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	31
4.1.3.	Farklı Yoğunluklardaki Işık Şiddetinin Sürgün Çoğaltımına Etkisi	33
4.1.4.	Farklı Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	34
4.1.5.	MS ve WPM Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi	36
4.2.	Maxma-14 Kiraz Anacında Köklendirme Çalışmaları	38
4.3.	Dış Ortama Alıştırma (Aklimatizasyon)	41
5.	**SONUÇ VE ÖNERİLER**	43
6.	**KAYNAKLAR**	45
	ÖZGEÇMİŞ	51

ÖZET

MAXMA-14 KİRAZ ANACININ FARKLI BESİ ORTAMLARI VE IŞIK ŞİDDETLERİNDE MİKROÇOĞALTIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Filiz AKBABA

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

2019

Bu çalışmada *Prunus avium* L. *x Prunus mahaleb* L. melezi olan Maxma klonlarından Maxma-14 kiraz anacının sürgün uçlarını kullanarak *in vitro* çoğaltma metotlarının araştırılması ve geliştirilmesi amaçlanmıştır. Mikroçoğaltım çalışmalarında BAP'ın farklı konsantrasyonlarının (0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mgl^{-1}), BAP+GA_3'in değişik kombinasyonlarının, kültür sırasında 4500, 6000 ve 7500 lux yoğunluklardaki ışık şiddetinin ve WPM, MS, QL, NRM besi ortamlarının sürgün çoğaltımına etkileri incelenmiştir.

Sürgün çoğaltımında en yüksek sürgün sayısı 1.0 mgl^{-1} BAP konsantrasyonunda görülmüş, BAP ve GA_3 kombinasyonlarında üç uygulama öne çıkmıştır. Farklı yoğunluklardaki ışık şiddeti arasında en yüksek sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu 6000 lux ile elde edilmiştir. Besi ortamları ile yürütülen çalışmada MS ve WPM ortamlarında gelişen sürgünlerin daha canlı olduğu ve daha iyi geliştiği tespit edilmiştir.

Çalışmanın köklendirme aşamasında, MS ve WPM besi ortamlarına ilave edilen oksin tiplerinin (NAA, IBA) sürgün köklenmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. En yüksek köklenme oranı %81 ± 10.1 ve kök sayısı 9.31 ± 1.44 adet olarak 1.0 mgl^{-1} NAA + WPM ortamında elde edilirken, MS besi ortamlarında gelişen köklerin daha uzun ve kalın olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Maxma-14, *in vitro*, sürgün çoğaltımı

ABSTRACT

MICROPROPAGATION OF MAXMA-14 SWEET CHERRY ROOTSTOCK ON DIFFERENT MEDIUM AND LIGHT INTENSITIES

MASTER'S THESIS

Filiz AKBABA

DICLE UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTICULTURE

2019

In this study, it was aimed to investigate and develop *in vitro* propagation methods using Maxma-14 cherry rootstock shoot tips of Maxma clones with *Prunus avium* L. *x Prunus mahaleb* L. hybrid. Effects of different concentrations of BAP (0.5, 1.0, 2.0 and 4.0 mgl^{-1}), different BAP + GA_3 combinations, light intensity at 4500, 6000 and 7500 lux during culture and shoot growth of WPM, MS, QL, NRM media it was investigated.

The highest number of shoots in shoot growth was observed at a concentration of 1.0 mgl^{-1} BAP and three applications stand out in the combination of BAP and GA_3. It was obtained with 6000 lux the highest number of shoots and shoot length beetwen the light intensities at different concentrations. In the study carried out with different media, it was found that shoots developed in MS and WPM media were more vivid and developed better.

At the rooting stage of the study, it examines the shoot rooting of auxin types (NAA, IBA) added to MS and WPM media. The highest rooting rate (81 ± 10.1%) and number of roots (9.31 ± 1.44) were obtained in 1.0 mgl-1 NAA + WPM medium. it was observed that the roots growing in MS media were longer and thicker.

Key Words: Maxma-14, *in vitro,* shoot regeneration

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 1.1.	Dünyada kiraz üreticisi başlıca ülkeler (x1000 ton)	1
Çizelge 1.2.	Türkiye'de kiraz üreticisi başlıca iller (2017)	2
Çizelge 3.1.	Murashige and Skoog (1962) (MS) besi ortamı bileşenleri	23
Çizelge 4.1.	Maxma-14 klon anacında farklı BAP konsantrasyonlarının sürgün gelişimine etkileri	29
Çizelge 4.2.	Maxma-14 klon anacında BAP+GA_3 kombinasyonlarının sürgün gelişimine etkileri	32
Çizelge 4.3.	Maxma-14 klon anacında farklı yoğunluklardaki ışık şiddetinin sürgün gelişimine etkileri	34
Çizelge 4.4.	Maxma-14 klon anacında besi ortamlarının sürgün gelişimine etkileri	34
Çizelge 4.5.	Maxma-14 klon anacında MS ve WPM besi ortamlarının sürgün gelişimine etkileri	37
Çizelge 4.6.	Maxma-14 klon anacında NAA ve IBA'nın sürgün köklenmesi üzerine etkileri	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 3.1.	Kültür başlatmak için kullanılan lateral tomurcuklar ve tomurcuk pulları temizlenerek kültüre alınan eksplantlar	24
Şekil 4.1.	Farklı BAP konsantrasyonlarında 8. haftada sürgün gelişimi	30
Şekil 4.2.	BAP + GA_3 kombinasyonları deneyinde 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 bulunan besi ortamında sürgün gelişimi	33
Şekil 4.3.	Farklı besi ortamlarında sürgün gelişimi	35
Şekil 4.4.	Farklı besi ortamı ve oksin uygulamalarında kök gelişimi	39
Şekil 4.5.	Maxma-14 anacında *in vitro* çoğaltım aşamaları	42

1. GİRİŞ

Anavatanı Güney Kafkasya, Kuzey Anadolu ve Hazar Denizi olan kirazın (*P.avium* L.) *Rosales* takımı *Rosaceae* (Gülgüller) familyası *Prunoideae* alt familyasında yer aldığı bilinmektedir (Özbek 1978). Kiraz tohumlarının kuşlar ve hayvanlar tarafından taşınmalarıyla Avrupa kıtasına yayılması sağlanmış, Amerika'ya yayılımı ise kolonistler tarafından gerçekleşmiştir (Anonim 2019a).

Kirazın kültür meyvesi olarak ne zaman yetiştirildiği net bilinmemekle beraber; kültürüyle ilgili ilk kayıtlara Yunanistan'da rastlanmıştır. Eski dönemlere ait belgelere dayanarak, kirazın kültürü milattan önceki çağlarda İtalya ve Yunanistan'da yapılmıştır denilebilir (Özçağıran ve ark. 2003). Ülkemizde ise yabani kiraz Toroslarda, Doğu Toroslarda ve Kuzey Anadolu Dağlarında görülmektedir (Özbek 1978; Özçağıran ve ark. 2003).

Kiraz; gösterişli, albenisi yüksek olan, insanlar tarafından sevilerek tüketilen bir meyve türü olup, üretimi son yıllarda giderek artmaktadır. Çizelge 1.1'e göre dünya kiraz üretiminde Türkiye uzun yıllardır ilk sıradaki yerini korurken, bunu sırasıyla ABD ve İran izlemektedir.

Çizelge 1.1. Dünyada kiraz üreticisi başlıca ülkeler (x1000 ton) (Anonim 2019b)

Ülkeler	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Türkiye	438	470	494	445	535	599	627
ABD	303	384	301	329	306	315	398
İran	244	253	279	133	133	196	140
Özbekistan	56	62	70	80	90	108	136
Şili	85	68	81	84	103	123	126
İtalya	112	104	131	110	111	94	118
İspanya	101	96	97	118	94	100	114
DÜNYA	2.155	2.187	2.276	2.154	2.230	2.359	2.443

Ülkemiz coğrafi konumu ve iklim özellikleri sayesinde kiraz yetiştiriciliğinde büyük paya sahiptir. Önemli üretici illerimizin belirtildiği Çizelge 1.2'ye göre, en fazla üretim sırasıyla İzmir, Konya ve Manisa illerinde yapılmaktadır.

Çizelge 1.2. Türkiye'de kiraz üreticisi başlıca iller (2017) (Anonim 2019c)

İller	Ağaç Sayısı (adet)			Üretim (ton)
	Meyve Veren Yaşta	Meyve Vermeyen Yaşta	Toplam	
İzmir	3.032.060	841.940	3.874.000	**68.509**
Konya	1.680.157	348.588	2.028.745	**56.294**
Manisa	2.337.280	1.004.300	3.341.580	**43.638**
Amasya	829.929	320.514	1.150.443	**39.694**
Afyon	661.495	78.964	740.459	**35.818**
Bursa	1.413.355	223.688	1.637.043	**34.524**
Isparta	1.200.035	365.918	1.565.953	**33.353**
TÜRKİYE	21.587.185	6.332.426	27.919.611	**627.132**

Ülkemizde kiraz üretimi, Ege Bölgesi illerinde İzmir, Manisa, Afyon, Isparta illerinde yoğunlaşmakta, İç Anadolu Bölgesinde Konya, Karadeniz Bölgesinde Amasya, Marmara Bölgesinde Bursa illeri kiraz üretiminde öne çıkmaktadır.

Yabani kiraz dikine gelişen, yüksek boylu, bazen yayvan taçlı ağaçlar meydana getiren, dalları kalın ve kırmızımsı gri renktedir. Yapraklar vişneye nazaran daha iri, oval şekilli, yaprak ayası buruşuk, üst yüz koyu yeşil, alt yüz tüylü, ucu sivri ve kenarları testere gibi dişli olup, kök oluşumu mahlepten daha ince olan yabani kiraz nispeten yüzeysel kökler meydana getiren bir meyve türüdür. Gövde yapısı çoğunlukla düzgün, dik, boz vişne veya kurşunimsi vişne rengindedir. Kiraz bitkisi genellikle seyrek dallanma gösterip; dallar tacın orta bölümünde dik açılı, dış bölümünde ise dar açılı gelişir. Dalların uç kısımlarında uzamasını sağlayan tepe tomurcukları (apikal); yan kısımların yaprak koltukaltlarında ise yaprak, sürgün veya çiçekleri oluşturan yan tomurcuklar (lateral) meydana gelir. Çiçekler tek tek değil buketler halinde, pembe-beyaz renktedir. Kirazın meyve rengi kırmızı, sarı, siyah ya da beyazımsı olup, şekli yuvarlak, etli, sulu, az lifli ve hoş kokuludur. Meyveler tek tohumlu sert yapıdadır.

Meyveciliği geliştirmek ve kaliteyi artırmak amacıyla yapılan ıslah çalışmalarında değişik özellikleri bakımından üstünlükleri olan klonal anaçlar elde edilmiştir. Uzun yıllardan beri meyvecilik açısından gelişen ülkelerde farklı toprak ve iklim koşullarına uygun, hastalıklara-zararlılara karşı dayanıklı, çoğaltması kolay olan, sık dikimlere uygun, meyve bahçelerinin kurulmasıyla beraber ikinci yıldan sonra kaliteli ve bol ürün veren, kültürel işlemlerin (budama, ilaçlama, hasat v.b) kolayca yapılmasına imkan sağlayabilen bodur klon anaçlar ile fidan üretimi yapılmaktadır (Hepaksoy 2004).

Günümüzde kiraz yetiştiriciliğinde, *P. avium, P. mahaleb* ve *P. cerasus* türlerinden olan birçok klonal ve çöğür anaçlarıyla beraber, tür içi veya türler arası melezleme yöntemiyle elde edilmiş hibrit klonal anaçlar kullanılmaktadır. *Prunus avium* çöğür anaçlarına KW 101, Hüttner 170×53, Alkavo, OCR-1, Mazzard örnek verilirken; aynı tür içinde bulunan klon anaçlarına örnek olarak ise; F12/1, Cristimar I.A.I. ve Charger anaçlarını vermek mümkündür. Türler arası melezleme yöntemiyle elde edilen hibrit klonları arasında M×M (Ma×Ma) klonları, Gisela klonları, Damil (GM 61/1), Camil (GM 79), Colt, Inmil (GM 9), Piku 1, Tabel/Edabriz, Weiroot 58, Cap 6P klonları bulunmaktadır (Lezzoni ve ark. 1991).

Klonal anaçların çoğaltılması daldırma ve çelik gibi yöntemlerle yapılmakla beraber, çoğaltma esnasında oluşan biotik ve abiyotik sorunlar kayıpları büyük boyutlara ulaştırabilmektedir. Bunun yanı sıra iklime bağlı olması ve yeterli miktarda anaç bitki bulunmaması klasik vejetatif çoğaltım metotlarının kullanımını kısıtlayan problemler arasında bulunmaktadır. Bu amaçla doku kültürüyle çoğaltma yöntemi sayesinde mevsimlere bağlı kalmaksızın, kısa sürede, küçük alanlarda, çok sayıda klon anaç elde edilmesi mümkündür (Hepaksoy 2004).

Mikroçoğaltım yöntemi, fenotipik ve genotipik olarak birbirinin tamamen aynı milyonlarca bitkinin çok küçük alanlarda üretilmesine ve çoğaltılmasına olanak sağlamaktadır (George ve ark. 2008). Islah çalışmaları sonucunda seçilen klon anaçlarının mikroçoğaltım ile çoğaltılarak elde edilen klon anaçlarının kiraz yetiştiriciliğinde kullanılması ürün ve verim standardizasyonu açısından önem arz etmektedir (Eroğul 2012).

Bu tez çalışmasında, *P. avium x P. mahaleb* melezi olan MaxMa kiraz klonlarından Maxma-14 anacında sürgünlerin uçlarını kullanarak farklı ortam ve ışık şiddetlerinde *in vitro* çoğaltım metotlarının araştırılma ve geliştirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kiraz fidanları, çöğür (generatif) ve klon (vejetatif) anaçları üzerine aşılanarak yetiştirilmektedir. (Hepaksoy 2004). *P.mahaleb* ve *P.avium* dünyada kiraz üretiminde yaygın olarak kullanılan çöğür anaçlarının başında gelmektedir. Çöğür anaçları, geç meyveye yatma, hasat budama gibi çeşitli kültürel işlemlerde zorluklara sebep olmalarından dolayı bu gibi olumsuzlukları ortadan kaldırmak amacıyla alternatif ıslah çalışmaları yapılmakta bunlardan biri olan klonal anaç mikroçoğaltım çalışmaları, ürün ve verim standardizasyonu açısından kiraz yetiştiriciliğinde büyük önem taşımaktadır. Bu amaçla bu kısımda kiraz çeşit ve anaçları ile ilgili yapılan mikroçoğaltım çalışmaları incelenecektir.

Sauer (1985), *in vitro* çoğaltım yönteminde çeşitli problemleri olan Mazzard anacında çalışmış, araştırmada genç sürgünlerin uç tomurcuklarının meristemini MS besi ortamına eklenen 2.0 mgl^{-1} BAP ve 0.1 mgl^{-1} NAA 2 mgl^{-1} BAP ve 0.1 mgl^{-1} NAA bulunan ortamda kültüre alınarak yan sürgünlerin gelişimini teşvik etmiştir. Tüm kültürler 25 ± 1°C'de 16 saatlik ışık ve 8 saatlik karanlık uygulamada, 900 Lux ışık yoğunluğunda tutulmuşlardır. Elde edilen sürgünler üçte bir oranında seyreltilmiş, 2.0 mgl-1 IAA ile desteklenen katı ve sıvı MS besi ortamında köklendirmeye alınmıştır. Çalışmanın köklendirme safhasında aynı sıcaklık ve fotoperiyot uygulanmış, fakat ışık şiddeti 500-600 Lux'e indirgenmiştir.

Colt (*Prunus pseudocerasus x Prunus* avium) ve F12/1 (*Prunus avium*) kiraz klonal anaçlarını sürgün ucu yöntemiyle üretmek amacıyla Hammantt ve Grant (1993) çalışmalarında, besi ortamı pH'sının 5.0'a indirgenmesinin, agar yoğunluğunun 5.5 veya 6.5 gl^{-1} olması ve 0.5 mgl^{-1} BA konsantrasyonu ile desteklenen besi ortamına 126 mgl^{-1} Floroglukinol eklenmesi durumunda sürgün çoğalmasının arttığını tespit etmişlerdir.

Yabani kirazın (*Prunus avium* L.) *in vitro* çoğaltımı üzerinde çalışan Pevalek-Kozlina ve Jelaska (1987), başlangıç eksplantı olarak uç ve koltukaltı tomurcuklarını kullanmışlardır. Çalışmada modifiye edilmiş WPM besi yeri kullanılarak; kültürün başlatılması, sürgünlerin çoğaltımı ve gelişimi safhalarında 0.5 mgl^{-1} BAP, 0.5 mgl^{-1} IBA ve 0.1 mgl^{-1} GA_3 eklenen besi yerinden faydalanılmıştır. Köklendirme aşamasında

sürgünler 50 mgl^{-1} IBA solüsyonuna batırılarak veya 1 mgl^{-1} IBA ile desteklenen besi ortamına bırakılarak köklendirme işlemi başarılı şekilde gerçekleşmiştir.

Kirazın yan sürgünlerinden yararlanarak *in vitro* çoğaltımı üzerine çalışma yapan Han ve ark. (1998), seradan alınan eksplantlar ile kültüre başladıklarında; kültürlerde bulaşmanın % 76.6 ile çok yüksek miktarda olduğunu ve % 70.6-83.9 oranındaki bulaşmanın bakterilerden, % 21.7 oranındaki bulaşmanın ise fungustan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Sürgün çoğaltımında Kinetinin BA'ninden daha az etkili olduğunu saptamışlardır.

İngiliz ormanlık alanlarından seçilen bazı yabani kiraz anaçlarıyla yabani kiraz anaçları ile birlikte Charger ve F12/1 klon anaçlarında sürgün çoğaltımı ve köklenmesi üzerine çalışmalar yapan Hammatt ve Grant (1997), başlangıç materyali olarak sürgün ucu kullanmışlardır. Modifiye edilmiş MS, WPM ve QL besi ortamlarının kombinasyonundan faydalanarak, bütün aşamalarda besi ortamlarına 6 gl^{-1} agar ve 30 gl^{-1} sukroz eklenmiştir. Eksplantlar için 1.0 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} GA_3, 0.1 mgl^{-1} IBA ve 126 mgl^{-1} Floroglukinolle desteklenen MS besi yeri kullanılarak kültür başlatma sağlanmıştır. MS besi ortamına ilave edilen 0.5 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} IBA ve 126 mgl^{-1} Floroglukinolle yabani kiraz anaçlarının ve Charger klon anacının sürgün çoğaltımı gerçekleşmiştir. F12/1 klon anacı için ise sürgün çoğaltımında 1.0 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} IBA + 0.1 mgl^{-1} GA_3 eklenen MS besi yerinden faydalanılmıştır. Köklendirme sürecinde 3 mgl^{-1} IBA ilave edilen MS besi yeri baz alınarak 162.14 mgl^{-1} Floroglukinol bulunan ve bulunmayan ortamlar karşılaştırılmış, Floroglukinol'ün köklendirme ortamlarında ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Maxma-14 kiraz anacının *in vitro* çoğaltımı üzerine yürütülen çalışmalarında Muna ve ark. (1999), sürgün uçlarını ve yan tomurcukları kullanarak denemeyi başlatmışlar. Eksplantların yüzey sterilizasyonunda ev tipi deterjan kullanılmış ve akan musluk suyu ile 20 dakika ön yıkama yapıldıktan sonra %0.01 $HgCl_2$ + %0.01 Tween 20 ilaveli çözeltide 8 dk bekletilip sterilize edilmiş saf suyla çalkalanma işlemleri yapılmasına rağmen, $HgCl_2$'ün sebep olduğu toksik etki oranının % 50'den yüksek bulunduğu belirtilmiştir. Bulaşma sorunlarını asgari tutmak amacıyla eksplantlar öncelikle 15 veya 18x2.4 cm'lik deney tüplerine yerleştirilmiş, daha sonra steril eksplantlar asıl ortamlarına bırakılmıştır. Sürgün çoğaltımında Kinetin ve BAP'ın

etkileri incelenmiş, BAP'ın başarı oranının Kinetine göre daha yüksek olduğu ve en iyi çoğaltım miktarının 1 mgl^{-1} BAP ve 0.1 mgl^{-1} IBA ilaveli besi yerinde gerçekleştiği saptanmıştır. Köklendirme çalışmalarında yarı ve tam yoğunlukta MS besin ortamının sıvı ve katı durumları ile çeşitli bitki büyüme düzenleyici birleşimleri denenmiştir. 0.5 mgl^{-1} IBA ilaveli yarı yoğunluktaki MS besi yerinin sıvı ortamlarında gelişen sürgünlerin kök uzunluğu 6.3 cm, kök sayısı 4.9 adet ve köklendirme oranı %95 olacak saptanmıştır. Köklenme sürecinde eklenen oksin grubundan IBA'ın düşük miktarda, NAA'ın yüksek miktarda kallus meydana getirdiği, IAA kullanımında ise hiç kallus oluşmadığı ve köklenmede de etkili olmadığı belirtilmiştir. Köklenen bitkiler arasında sıvı ortamda köklendirilenlerin alıştırma çalışmalarının katı ortamdakilere nazaran daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir.

Goudarzi ve ark. (1997), NAA ve BA tuzlarını içeren besi ortamı ile LS besi ortamının vitaminlerini kullanarak F12/1 kiraz klon anacının sürgün ucu ile çoğaltılması üzerine çalışma yapmışlardır. *İn vitro* bitkiciklerinin köklenmesinde en iyi sonuç 1.0 mgl^{-1} IBA bulunan modifiye edilmiş LS besi ortamında sağlanırken, sürgün uzaması 0.25 mgl^{-1} NAA ile 1.0 mgl^{-1} BA ile desteklenen besi ortamında elde edilmiştir.

F12/1 kiraz klon anacı ile M9 elma klon anacında, sürgün ucuyla üretiminde 28-42 gün aralıklarla yapılan alt kültür sayısının sürgün ve kök gelişimine etkisini belirlemek için Grant ve Hammatt (1999) yaptıkları çalışmada; sürgün çoğaltımı için 1.0 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} IBA, 0.1 mgl^{-1} GA_3 ve 126 mgl^{-1} Floroglukinol eklenen modifiye edilmiş MS besi yerini kullanmışlardır. Köklendirme aşamasında ise 3.0 mgl^{-1} IBA bulunan MS besi ortamından yararlanmışlardır. 24°C'de tutulan kiraz ve elma anaçlarında sürgün ve kök oluşumunda beklenenin üzerinde bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Araştırmada alt kültür sürelerinin sürgünlerin çoğaltımını ve köklerin gelişimini etkilediğini, alt kültür sayılarının ise etkilemediğini belirlemişlerdir.

Ružić ve Cerović (1998), Gisela-5 klon anacının *in vitro* çoğaltma aşamalarında kullanılan agar çeşit ve dozlarının sürgün gelişimine etkilerini araştırmışlardır. Eksplantlar, 1 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} GA_3, 0.1 mgl^{-1} NAA ve 20 gl^{-1} sukroz bulunan MS besi yerinde kültüre alınmış ve besi yerine altı değişik agar tipi (Kalys 500, Kalys 575, Sigma, Torlak, Difco- Bacto ve yerel agar), 3 değişik dozda (6.0, 6.5 ve 7.0 gl^{-1}) eklenmiştir. En uygun çoğalma oranının Kalys 500, Kalys 575 ve Sigma agar tipleri ile

6.0 gl^{-1} veya 6.5 gl^{-1} konsantrasyonlarında olduğu belirlenmiş, bu besi ortamındaki bitkilerde herhangi bir problem görülmemiştir. Diğer agar çeşitlerinin kullanıldığı çalışmalarda ise ortaya çıkan problemler agarın 7 gl^{-1} olması durumunda azalmıştır.

Gisela-5 klon anacının *in vitro* üretiminde besi yeri yoğunluklarının etkilerini araştırdıkları bir diğer çalışmalarında Ružić ve ark. (2000); 2, 1, ½ ve ¼ yoğunluktaki MS temel besi ortamına 1.0 mgl-1. BAP, 0.1 mgl-1 GA3 ve 0.09 mgl-1 NAA ilave etmişlerdir. Çalışmanın başlangıç aşamasından 0, 20, ve 40 gün sonra yaptıkları değerlendirmede alt kültürlerdeki eksplantların taze ve kuru ağırlıklarında artış olurken besi ortamının taze ve kuru ağırlıklarında bir azalma olduğunu kaydetmişlerdir. Alt kültürler süresince besi ortamı pH'sında azalma görülürken ½ ve ¼ yoğunluğundaki MS besi ortamlarında yavaş bir artış olduğu, Gisela-5'in en iyi gelişmeyi normal ve iki katı kuvvetteki yüksek azot ve fosfor seviyelerine sahip MS ortamlarında gösterdiği saptanmıştır.

Maxma, Gisela 5, Damil ve Edabriz kiraz anaçlarının *in vitro* çoğaltılması üzerine yürüttükleri çalışmalarında Aka- Kaçar ve ark. (2001), temel MS besi yerine (1.0 mgl^{-1} BAP ile desteklenen) eklenen 3 farklı katılaştırıcı maddenin (agar (7g/l), agarjel (5g/l) ve phytajel (3g/l)) sürgün çoğalmasına, sürgün uzunluk ve ağırlığına etkilerini incelemişler. 5.0, 5.7 ve 6.2 düzeylerinde uygulanan pH seviyelerinin sürgün çoğaltımı üzerine etkisi farklı şekillerde olup, en başarılı sonuç pH 6.2'de (3.6 sürgün) elde edilmiştir. Araştırmacılar en uygun sürgün çoğalmasının agarjel içeren besi ortamında (5.8 sürgün) görüldüğünü, sürgün uzunluğunda ise en başarılı sonucun phytagel'den (2.5 cm) elde edildiğini saptamışlardır.

Hepaksoy (2004) tarafından, Maxma-14 klon anacının mikroçoğaltımı üzerine araştırma yürütülmüştür. Çalışmada MS besi yeri; gelişme, çoğaltma ve köklendirme olmak üzere değişik aşamalarda 18 farklı hormon tipi ve konsantrasyonlarında denenmiş, oksin grubundan IBA ve NAA, sitokinin grubundan BAP, giberellin grubundan ise GA_3 kullanılarak, ortamın pH'sı 5.3'e ayarlanmıştır. Bitkide vejetatif gelişmenin devam ettiği sürede alınan sürgün uçları, laboratuvara getirildikten sonra çeşme suyu altında yıkanarak sabunlu suda 20 dakika bekletilmiş daha sonra tekrardan çeşme suyuyla yıkanmıştır. Steril kabinde 1-2 damla Tween-20 eklenerek %4 NaCIO bulunan, ½ oranında seyreltilmiş çamaşır suyunda 20 dakika bekletilerek sterilizasyon

işlemi yapılmıştır. Son olarak örnekler 3 tekerrürlü beşer dakika olacak şekilde steril saf suda tutulup dikim için hazır hale getirilmiştir. Genel olarak GA_3'ün düşük konsantrasyonlarının, sürgün gelişimine ve çoğaltılmasına herhangi bir etkide bulunmadığı bununla beraber dozun 0.25 mgl^{-1} olması halinde çoğalmanın azalmasına sebep olduğu görülmüştür. Oksinlerden IBA ve NAA arasında ise önemli bir farklılık olmaz iken en yüksek çoğalmanın 0.1 mgl^{-1} konsantrasyonunda elde edildiği belirtilmiştir. Köklenme oranı en yüksek 4 µM IBA/NAA ile desteklenen MS besi yerinde gerçekleşirken, *in vitro* sürgünlerin NAA çözeltisine batırıldıktan sonra besi ortamlarına dikilmesiyle köklenmenin arttığı saptanmıştır.

Günal (2006) tarafından yürütülen çalışmada Maxma-14 ve Gisele-5 kiraz anaçlarının *in vitro* besi ortamında kullanılan farklı BAP ve 2.4 –D düzeylerinin sürgün çoğaltımına etkileri incelenmiştir. Araştırmada eksplant olarak tepe ve yan sürgün uçları ile temel besi ortamı MS kullanmıştır. Çalışmalarda 0.25 mgl^{-1} GA_3 sabit tutularak 0.1, 0.5 ve 1.0 mgl^{-1} BAP dozları ile 0.01, 0.1 ve 0.5 mgl^{-1} 2,4-D'nin dozları tekli ve BAP ile 2,4-D'nin kombinasyonları şeklinde uygulanmıştır. Büyüme düzenleyicilerin farklı dozlarının sürgün çoğaltılması, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine etkilerinin araştırıldığı denemede, yan sürgün çoğaltımı üzerine BAP'ın tekli kullanılan konsantrasyonları (0.1 ve 0.5 mgl^{-1}) ve düşük konsantrasyondakiyle (2,4- D (0.01 mgl^{-1}) beraber kombinasyonlarının öteki doz ve kombinasyonlara nazaran daha başarılı olduğu belirlenmiştir. Son olarak sürgün çoğaltımı aşamasında alt kültür sayısının arttıkça yan sürgün sayılarının artmasıyla, 3. alt kültür safhasında sürgünlerin tümünden ortalama 3.3 adet yan sürgün elde edilebileceği tespit edilmiştir.

Karešova ve Rivan kiraz çeşitlerinde sürgün çoğaltımında araştırma yapan Sedlák ve Paprštein (2008), başlangıç materyali olarak sürgün uçlarını kullanmışlardır. 1, 2 ve 4 mgl^{-1} BAP ile 0.5 ve 1.0 mgl^{-1} TDZ bulunan altı farklı MS besi ortamına 10 mgl^{-1} 2iP ilave edilerek deneme yapılmış, Rivan çeşidi için en yüksek proliferasyon (sürgün çoğaltılması) oranı (3.0 ± 0.1) 2 mgl^{-1} BAP içeren ortamda elde edilirken, Karešova çeşidinde tatmin edici bir çoğalma görülmemiştir.

Sedlak ve ark. (2008) tarafından, vişne x kiraz melezlemesiyle elde P-HL serisi bodur kiraz (P-HL A, P-HL B ve P-HL C) *in vitro* çoğaltımı üzerine yapılan çalışmada MS besi ortamı olarak BAP'ın 5 farklı konsantrasyonu (0.2, 0.75, 1.0, 1.5 ve 2.0 mgl^{-1})

kullanılmıştır. Araştırmada en yüksek çoğalma üç anaç içinde 1.5 mgl^{-1} BAP konsantrasyonunda görülürken (7.7-10.9 sürgün), 2.0 mgl^{-1}' lik BAP dozunun sürgün çoğalması ve gelişmesine negatif yönde etki ettiği saptanmıştır. Elde edilen sürgünlerin besi ortamına 2.5 mgl^{-1} IBA ilavesinin köklenmeyi teşvik ettiği belirtilmiştir (sürgün başına 2 ile 5 kaliteli kök). Çalışmada kontrol kültürlerinde ilk olarak bulanık bölgeler halinde ortaya çıkan bakteriyel semptomlara karşı antibiyotik olarak 200 mgl^{-1} Cefotaxime kullanımının bulaşmayı yok ettiği bildirilmiştir.

Güçlü ve ark. (2010), SL-64, Maxma-60, Maxma-14 ve Gisela-5 kiraz klon anaçlarında doku kültürü yöntemiyle çoğaltım metotlarını araştırdıkları çalışmalarında eksplant olarak sürgün uçlarını kullanmışlardır. Bu amaçla eksplantlar, bitki büyüme düzenleyicilerden BAP, IBA ve GA_3 kombinasyonlarının MS besi ortamına değişik oranlarda eklendiği ortamda kültüre alınmışlardır. Denemede uygulamalara göre elde edilen sürgün sayıları; Maxma-14'te 3.83-5.00 adet, Maxma-60'ta 2.33-5.08 adet, Gisela-5'te 2.16- 5.08 adet ve son olarak SL-64'te 3.58-4.16 adet arasında değişiklik göstermiştir. Sürgün uzunluğunda elde edilen en başarılı sonuçlar, 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} IBA + 0.5 mgl^{-1} GA_3 (1.44-1.50 cm) ve 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} IBA + 1 mgl^{-1} GA_3 (1.43-1.61 cm) ile desteklenen ortamlarda görülmüştür.

P-HL serisi bodur kiraz klonal anaçlarında ticari anlamda *in vitro* çoğaltılmasında çalışan Erbenová ve ark. (2001), araştırmalarında MS besi ortamına farklı dozlarda BAP ekleyerek sürgün çoğaltımında en uygun BAP konsantrasyonunu 1.5 mgl^{-1} olarak saptamışlardır. Sürgün çoğaltım miktarının kontrol uygulamasına nazaran %50 daha çok olduğunu ve köklenme aşamasında eklenen Floroglukinol'ün sürgünlerin gelişimini arttırdığını tespit etmişlerdir.

Ružić ve ark. (2005) tarafından yürütülen çalışmada farklı karbon kaynaklarının Lapins kiraz çeşidinde ve Tabel/Edabriz kiraz anacı üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla karbon ihtiyacının karşılanması için fruktoz, sukroz, glikoz, mannitol ve sorbitol farklı dozlarda denenmiştir. Temel besi ortamı olarak 1.0 mgl^{-1} BAP, 1.0 mgl^{-1} IBA ve 0.1 mgl^{-1} GA_3 eklenen MS besi yerinden faydalanılmıştır. Sürgünlerin çoğaltımında, fruktoz, sukroz ve sorbitol ile geliştirilmiş, genotiplerde sorbitol, fruktoz ve glikozun sukrozdan daha verimli olduğu belirtilmiştir. Ayrıca köklü bitkiler bakımından en iyi bitki kalitesi, sukroz (Lapins için 20gl^{-1}) ve fruktoz (Tabel Edabriz için 20 gl^{-1}) içeren

ortamda elde edildiği tespit edilmiş, köklenme oranı %85-100 arasında değişiklik göstermiştir.

Ružić ve ark. (2003/4) tarafından yürütülen bir diğer çalışmada, Camil (GM 79) kiraz klonal anacında *in vitro* çoğaltımı için besi yeri yoğunluklarının etkisi incelenmiştir. Denemede ½, 1 ve 2 yoğunluğundaki MS besi yerlerine 1 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} GA_3, 0.1 mgl^{-1} NAA ve 20 gl^{-1} sukroz eklenerek; kallus, gövde ve yapraklardaki analizler 0 ile 40. günlerde izlenmiştir. Sürgünlerde en yüksek yaş ve kuru ağırlık ½ yoğunluktaki ortamda görülmüştür.

Hepaksoy (2004), Gisela-6 ve Gisela-5 kiraz klonal anaçlarının *in vitro* çoğaltım imkanlarını incelemek üzere haziranda alınan sürgün uçlarını kullanmıştır. Çalışmada çeşitli besi ortamları denenerek BAP ile beraber 0.1, 0.25 ve 0.5 mgl^{-1} dozlarındaki IBA ve NAA'ın, değişik dozlardaki (0, 0.1 ve 0.25 mgl^{-1}) GA_3'ün sürgün gelişimi ve çoğalması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Anaçlardan her ikisininde *in vitro* çoğaltımına uygun oldukları saptanmış bununla beraber Gisela-6 anacındaki çoğaltım miktarının dahaca iyi olduğu görülmüştür. 1 mgl^{-1} BAP ile beraber değişik hormon tip ve konsantrasyonları denenerek, oksin grubundan IBA ve NAA'ın kullanılmasıyla iki hormon arasındaki fark önemli görülmemiştir. Fakat 0.5 mgl^{-1} oksin dozunun 0.25 veya 0.1 mgl^{-1}'e nazaran iyi sonuçlandığı tespit edilmiştir. Genellikle düşük dozdaki GA_3'ün oluşan yeni sürgünlerin gelişmesinde ve çoğalmasında herhangi bir etkide bulunmadığı bununla beraber dozların artması durumunda çoğalmanın olumsuz yönde etkilendiği görülmüştür. Araştırmada 1 mgl^{-1} BAP ve 0.5 mgl^{-1} IBA / NAA eklenen besi yeri en uygun ortam olarak belirlenmiştir.

Fidancı ve ark. (2008) tarafından yürütülen çalışmada, Maxma-14, Gisela-5 ve Tabel Edabriz anaçlarının *in vitro* çoğaltımında sürgün ucu ve yan tomurcuklar kullanılarak kültür başlatılmıştır. Eksplantların erken alınması bulaşmaya sebep olurken, geç dönem alınan eksplantlar ile başlatılan kültürlerde ise sürgün gelişiminin ve çoğalmasının azaldığı görülmüş, bu amaçla en uygun zamanın Nisan sonu Haziran başının arası olduğu belirtilmiştir. Araştırmada sterilizasyon, kültür başlatma, çoğaltma, köklendirme ve ortama alıştırma çalışmaları incelenmiş, eksplantların yüzey sterilisazyonu %10 NaOCl çözeltisinde 20 dakika bırakılarak yapılmıştır. Kültür başlatmak için, MS besi ortamında 0.1 mgl^{-1} GA_3, 0.1 mgl^{-1} NAA veya IBA, 0.5 mgl^{-1}

BAP, 30 gr sükroz, 7 gl^{-1} agar kullanılıp pH 5.8'e ayarlanmıştır. Ortama eklenen 0, 0.25, 0.50, 0.75 ve 1 mgl^{-1} BAP'ın farklı dozlarının sürgün çoğaltımına etkisi araştırılmış, üç anaç için de BAP dozu yükseldikçe yeni sürgünlerin oluşumunun teşvik edildiği fakat sürgünlerde vitrifikasyonun meydana geldiği belirtilmiştir. Anaçlar arasında çoğaltım oranı en yüksek Tabel Edabriz anacında 9.4 adet sürgün olarak görülmüştür. Köklenme safhasında IBA ve NAA dozları ile desteklenen MS besi ortamının yarı ve tam yoğunlukları kullanılmıştır, 3 haftada MS + 1 mgl^{-1} IBA birleşiminde % 95-100 oranında kök oluşumu gerçekleşmiştir. Köklenen bitkicikleri alıştırma ortamına aktarmak için 3-4 gün önce hazırlanan plastik film ile kaplanmış delik tüpler içindeki 1:1 torf-perlit karışımı kullanılarak adaptasyonu sağlanmıştır.

Maxma-14 ve Gisela-5 klonal kiraz anaçlarının *in vitro* çoğaltımı üzerine yürüttüğü çalışmasında Büyükdemirci (2008), besi bileşimi ve konsantrasyonlarının tiamin, sukroz ve büyüme düzenleyicilerinin etkilerini araştırmıştır. Bitki büyüme düzenleyici olarak, Gisela-5'te 0.5 mgl^{-1} BAP + 0.01 mgl^{-1} IBA + 0.1 mgl^{-1} GA_3; Maxma-14'te 0.5 mgl^{-1} BAP + 0.1 mgl^{-1} IBA + 0.1 mgl^{-1} GA_3 uygulamaları başarılı bulunmuş, anaçların çoğaltımında tam yoğunluktaki MS besi yerinin (30 mgl-1 sukroz, 6gl-1 agar ve 25 mgl-1 thiamin ile desteklenen) ideal olduğu belirlenmiştir. Ayrıca besi ortamında nitrat oranının azaltılması durumunda Gisela-5 anacında daha fazla kök oluşurken, Maxma-14 anacında ise büyüme düzenleyici bulunmayan ortamlarda gerçekleştiği saptanmıştır.

Grant ve Hammatt (2000), 8 yabani kiraz genotipiyle (1904, 1905, 1906, 1908, 1909, 1912, 1919 ve 2474) Charger ve F12/1 kiraz anaçlarının yapraklarından adventif sürgün gelişimini sağlamak amacıyla çalışma yürütmüşlerdir. Araştırmanın kültür başlatma safhasında 1 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} IBA + 0.1 mgl^{-1} GA_3 ve 126 mgl^{-1} Floroglukinolle desteklenen modifiye edilmiş MS besi yerini (Hammatt ve Grant 1997) kullanmışlardır. Diğer aşamalarda 0.1 mgl^{-1} NAA + 1 mgl^{-1} TDZ eklenen WPM besi yerlerini kullanmış, ortamın katılaşmasını sağlamak için 6 gl^{-1} agardan yararlanılmıştır. Anaçlar arasında rejenerasyon oranı en yüksek Charger anacından elde edilirken, yaprakların başına ortalama 0.95 sayısınca sürgün alınmış, Genotipin, kirazın yaprak rejenerasyonunda başarısını etkilemede önem arz ettiği belirlenmiştir.

Demiral ve Ülger (2008) tarafından, Gisela-5 kiraz klonal anacında *in vitro* çoğaltma yöntemleri araştırılmış; denemede eksplant olarak yıllık sürgünlerin tepe ve yan sürgünleri kullanılmıştır. Temel besi ortamına çoğaltma aşamasında 1 mgl^{-1} IBA + 0.75 mgl^{-1} BAP; 1 mgl^{-1} IBA + 1 mgl^{-1} BAP; 2 mgl^{-1} IBA + 0.75 mgl^{-1} BAP; 2 mgl^{-1} IBA + 1 mgl^{-1} BAP birleşimleri; köklendirme safhasında 0, 1, 2, 4 ve 6 mgl^{-1} NAA eklenmiştir. Eksplantlar çoğalma ve köklenme safhalarında 16 saatlik aydınlık ve 8 saatlik karanlık uygulaması ile, 24 ± 2°C'lik sıcaklık ve 2500 lux ışık şiddeti bulunan büyüme odasına bırakılmıştır. Çoğaltım safhasında en iyi sürgün sayısı 1 mgl^{-1} IBA + 0.75 mgl^{-1} BAP (2.93 sürgün) ve en iyi sürgün boyu 2 mgl^{-1} IBA + 1 mgl^{-1} BAP (1.68 cm) uygulamaları ile elde edilirken, köklenme oranının en yüksek sonucu ise %92.88 ile 6 mgl^{-1} NAA içeren besi ortamında görülmüştür.

Canlı ve Tian (2008) tarafından yürütülen çalışmada beş kiraz çeşidine ait kotiledonlardan sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. QL besi ortamına ilave edilen 0.5 mgl^{-1} IBA, 25 gl^{-1} sükroz ve vitaminlerden temel besi içeriği olarak yararlanılmış, ortama eklenen BAP ve TDZ'nin farklı oranları filtre sterilizasyonundan geçirilerek denenmiştir. Çalışmada en başarılı rejenerasyon oranı, TDZ'nin 0.8-1.5 mgl^{-1} konsantrasyonlarıyla 10 gün karanlık uygulamalı kombinasyonunda görülmüştür. Sürgünler köklendirme için 1 mgl^{-1} NAA veya 3 mgl^{-1} IBA ile 25 gl^{-1} sükroz bulunan yarı yoğunluktaki MS besi yerine alınarak, bir hafta süreyle karanlık uygulamasında bekletilmiştir. Çeşitlerde köklenme oranı %22 ile %40 arasında gerçekleşirken sadece birinde kök oluşumu hiç görülmemiştir. Denemede üç kiraz çeşidi için de 1 mgl^{-1} NAA içeren ortamın, 3 mgl^{-1} IBA ile desteklenen ortama nazaran daha iyi köklenme sağladığı tespit edilmiştir.

Ruzić ve Vujovıć (2008) tarafınca yürütülen çalışmada Lapins kiraz çeşidinde *in vitro* kültür çoğaltım çalışmasında, sitokinin çeşit ve dozlarının etkileri incelenmiş, sitokininlerden BAP, Kinetin, 2iP, ve TDZ'nin 5 değişik dozu (1, 2, 5, 10, ve 15 µM) tek başına veya IBA'nın 3 dozu (0.1, 0.5 ve 1 mgl^{-1}) ile birlikte denenmiş tüm kombinasyonlarda temel besi ortamı olarak MS kullanılmıştır. Çalışmada çoğaltma indeksi, uç ve yan sürgünlerin uzunluğu, yaş ve kuru ağırlık gibi parametreler incelenmiş, BAP bulunan besi ortamlarında çoğaltma oranı ve sürgünlerin uzunlukları yönünden en iyi sonuçların görüldüğü saptanmıştır. Çoğaltım oranı en iyi (2.8), 1.1 mgl^{-1} BAP + 0.1 mgl^{-1} IBA ortamından elde edilirken, en yüksek sürgün uzunluğunun ise

(1.9 cm), 1.1 mgl^{-1} BAP + 0.5 mgl^{-1} IBA bulunan ortamda sağlandığı tespit edilmiştir. Uygulamalarda kullanılan diğer besi ortamlarında çok düşük çoğaltım oranları elde edilmesiyle beraber uzun sürgünlerin ve büyük yaprakların oluştuğu görülmüştür. Bazı 2İP kombinasyonlarıyla tüm kinetin kombinasyonlarında köklenmenin gerçekleştiği saptanmıştır. Çalışmada, kiraz sürgünlerinin çoğaltma safhasında BAP hormonunun en uygun sitokinin olduğu; 2iP ve kinetinin ise sürgün uzamasında ve köklendirme aşamasının öncesinde kuvvetli sürgün oluşumunun teşviki için kullanılabileceği belirtilmiştir.

Bouzari ve ark. (2009) yürüttükleri araştırmalarında, kiraz ve vişnenin melezlenmesiyle elde edilen bodur kiraz anacı P-HL A üzerine doku kültürü çalışmaları yapmışlardır. Eksplantlar olarak *in vitro* serada yetiştirilen bir yaşındaki ağaçlardan elde edilen lateral tomurcukları ve sürgün uçları kullanılmıştır. Farklı besi ortamlarıyla bitki büyüme düzenleyicilerinin sürgün çoğaltımına etkisinin incelendiği araştırmada, uygulamalar arasındaki en iyi çoğaltma miktarı 5.4 sürgün ile 0.5 mgl^{-1} BAP destekli MS besi yerinde elde edilirken, sıralamayı 5.3 sürgün ile 0.5 mgl^{-1} BAP destekli Driver ve Kuniyuki (1984) (DKW) ve 4.5 sürgün ile 1 mgl^{-1} BAP destekli MS besi ortamları takip etmiştir. En iyi kök oluşumu; bitki büyüme düzenleyici içermeyen DKW ortamında %100'e varan maksimum köklenme gösterirken, 0.5 mgl^{-1} IBA eklenen MS ortamında %85, büyüme düzenleyici bulundurmayan MS ortamında ise %75 oranında görülmüştür. Yaprak gelişimi ve bitki gelişimi üzerinde modifiye edilmiş QL besi ortamının diğer besi ortamlarına kıyasla iyi etkilere sahip olduğu saptanmıştır. Bitkilerin iyi köklenmiş olmasının, saksılara aktarılması aşamasında hayatta kalma oranını yükselttiği bildirilmiştir.

Arıcı (2002) tarafından yürütülen çalışmada sert çekirdekli meyve anaçlarının (Maxma-60, Maxma-14, Myrobolan 29-C, GN ve GF-677) sürgün uçlarını ve yan sürgünlerini kullanarak doku kültürüyle çoğaltımı üzerine araştırma yapmıştır. Doğal koşullardan alınarak *in vitro* çoğaltımı yapılacak olan anaçların yüzey sterilizasyonu için sürgünler öncelikle 10-15 dk suda yıkanarak, % 70'lik etanol içerisinde 2 dk bekletilmiştir. 1-2 damla Tween 20 bulunan % 15'lik NaCIO çözeltisiyle çalkalanarak steril saf su ile (beşer dk olmak üzere) 3 defa yıkanmıştır. Temel MS besi yerinde bir süre kültüre alınmış ve sterilize edilmiş eksplantlar, çoğaltım safhasında 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} NAA; 1 mgl^{-1} BAP + 0.2 mgl^{-1} NAA; 2 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} NAA; 2

mgl^{-1} BAP + 0.2 mgl^{-1} NAA; 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} NAA + 0.5 mgl^{-1} $GA_{3;}$ 1 mgl^{-1} BAP + 0.2 mgl^{-1} NAA + 0.5 mgl^{-1} $GA_{3;}$ 2 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} NAA + 0.5 mgl^{-1} $GA_{3;}$ 2 mgl^{-1} BAP + 0.2 mgl^{-1} NAA + 0.5 mgl^{-1} GA_3 hormonlarını içeren ortamlarda kültüre alınmıştır. Kültüre alınan anaçlar bütün hormon dozlarını bulunduran ortamlarda başarılı gelişim gösterirken ortamlar arasında istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Anaçlar arasında en fazla sürgün oluşumu Maxma-14 için 2 mgl^{-1} BAP + 0.2 mgl^{-1} NAA + 0.5 mgl^{-1} $GA_{3,}$ Maxma-60 için 2 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} NAA, Myrobolan 29-C için 1 mgl^{-1} BAP + 0.2 mgl^{-1} NAA, GF-677 için 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} NAA, GN için 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} NAA + 0.5 mgl^{-1} GA_3 içeren ortamlarda olduğu görülmüştür.

Demir (2013), Maxma-14 ve Mazzard F12-1 kiraz anaçlarının *in vitro* çoğaltımı ve rejenerasyonu üzerine yaptığı çalışmada, çoğaltma denemelerinde BA ve TDZ bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı dozlarının sürgün çoğaltılması üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Maxma-14 anacında en iyi kardeşlenme oranları 2 mgl^{-1} TDZ (1.2 sürgün/eksplant), 1.5 mgl^{-1} TDZ (1.03 sürgün/eksplant), 1 mgl^{-1} TDZ (0.96 sürgün/eksplant) ve 20 mgl^{-1} BA dozunda (1.26 sürgün/eksplant), 10 mgl^{-1} BA (1.10 sürgün/eksplant) dozlarından elde edilirken; Mazzard F12-1 anacında ise 0.125 mgl^{-1} TDZ (1.03 sürgün/eksplant), 0.25 mgl^{-1} TDZ (1.52 sürgün/eksplant), 0.5 mgl^{-1} TDZ (1.16 sürgün/eksplant) ve 20 mgl^{-1} BA (1.40 sürgün/eksplant), 10 mgl^{-1} BA (1.20 sürgün/eksplant), 5 mgl^{-1} BA (1.36 sürgün/eksplant), 2.5 mgl^{-1} BA (1.08 sürgün/eksplant) şeklinde olmuştur.

Torun ve ark. (2009) tarafından yürütülen çalışmada in vitro doku ve su kültürü şartlarında, artan miktarlarda uygulanan kadmiyum (Cd) dozlarının Maxma-14 klonal kiraz anacında kadmiyum toksisitesi simptonlarının şiddeti, yeşil aksamdaki kadmiyum konsantrasyonu ve kuru madde verimi gibi parametrelere göre kadmiyum zehir etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmalarda elde edilen bitkilerden dört ayrı kültür meydana getirilmiş ve bitkilere artan miktarlarda 11 farklı kadmiyum konsantrasyonu (0, 2.5, 5, 10, 50, 75, 100, 200, 300, 500 ve 1000 μM) uygulanmış, su kültürü şartlarında sürdürülen çalışmalarda ise bitkilere 6 farklı kadmiyum konsantrasyonu (0, 10, 50, 100, 150 ve 200 μM) uygulanarak yetiştirilmesi sağlanmıştır. Araştırmada elde edilen sonuçlara göre artan kadmiyum dozlarına bağımlı büyüme ortamlarında yetişen Maxma-14'te kuru madde oranının azaldığı görülmüş ve kuru madde üretiminde

meydana gelen azalmanın toksisite simptomları ile paralelik gösterdiği saptanmıştır. 10 µM'dan fazla olan kadmiyum konsantrasyonları hem simptomolojik olarak hem de verimin azalması bakımından kiraz bitkisinde zehirli dozlar olarak tespit edilmiştir. Maxma-14 kiraz anacının kadmiyum toksisitesine karşı dayanıklı olmasında belirleyici etkenlerin kadmiyum toksisitesi simptomlarının şiddeti ve kadmiyum toksisitesinden kaynaklanan bitkide verim kayıpları olarak görülmüştür. Sonuç olarak Maxma-14 anacında kadmiyum dozunun köklerde birikimi yeşil aksamlarda birikiminden fazla oluşmuş ve genel değerlendirmeye alındığında ise kadmiyum dozunun ortalama %94-96'sı köklerde birikmiş ancak %4-6'sının yeşil aksama geçtiği belirlenmiştir.

Takashina ve ark. (2003) 4 kiraz çeşidinin (Benisyuhou, Benitemari, Benisayaka, Satonishiki) *in vitro* koşullarında yaprak eksplantlarından çoğaltımı üzerine yürüttükleri çalışmada başlangıç materyali olarak kullanılan sürgün uçlarını 126 mgl^{-1} Floroglukinol, 0.5 mgl^{-1} BAP ve 0.1 mgl^{-1} IBA ilaveli modifiye MS temel besi ortamında kültüre almışlar. Birkaç kez sadece orta yerinden kesilen yapraklar, 5 mgl^{-1} 2,4-D bulunan sıvı WPM besi yerinde bir gün boyunca bekletilip daha sonra rejenerasyon çalışması için 5 mgl-1 TDZ ile desteklenen katı WPM besi ortamına yerleştirilmiştir. Denemede dört çeşit arasında Benisyuhou ve Benitemari'nin, Benisayaka ve Satonishiki'den (%20-30) daha yüksek rejenerasyon oranlarına (yaklaşık %80) sahip olduğu saptanmıştır. Ayrıca Benisyuhou çeşidinde geniş yapraklardan sürgün rejenerasyonu (%26) kıvrık yapraklara (%77) göre daha düşük bulunmuş ve yaşlı yaprakların rejenerasyona cevabının da genç yapraklara nazaran daha düşük olduğu belirtilmiştir.

Zilkah ve ark. (1992), *P.mahalep* ve *P.avium* melezi olan üç kiraz anacının *in vitro* üretimi üzerine çalışma yapmışlardır. Kültür başlatma aşamasında kullanılan tomurcukların, MxM 2 ve MxM 60 klon anaçları için Boxus ortamında; MxM 46 klon anacı için Tabachnik ve Kester ortamında en ideal sonuca ulaştığı saptanmıştır. Sürgünlerin çoğalışında ise, MxM 2 klonunda Almehdi ve Parfitt besi yerine 0.2 mgl^{-1} BAP ve 0.01 mgl^{-1} IBA ilavesi; MxM 46 klon anacında 6 mgl^{-1} BAP ve 0.01 mgl^{-1} IBA ilavesi; MxM 60 klon anacında 0.5 mgl^{-1} BAP, 0.2 mgl^{-1} GA_3 ve 0.01 mgl^{-1} IBA ilavesiyle hazırlanan besi ortamlarında en iyi sonuçlar alındığı belirtilmiştir. Yarı yoğunlukta hazırlanan MS besi ortamına ilave edilen 0.5 mgl^{-1} NAA ortamında

köklendirme yapılmış, köklenen bitkiciklerin dış ortama alıştırma aşaması başarılı bir şekilde sağlanmıştır.

Buzkan ve ark. (1997), dört kiraz anacından Tabel, Damil, Gisela-1 ve *P.mahaleb* L. üzerine meristem kültürü yöntemiyle hastalıklardan ari çoğaltma yapmak amacıyla yürüttükleri çalışmada, ilkbahar ve sonbahar dönemlerinde alınan uç ve yan tomurcukları kullanarak kültür başlatmışlardır. Araştırmada genotipler arasında büyük farklılıklar görülmüş, Gisela 1 anacında çoğalma olmayıp ikinci ve üçüncü alt kültürden sonra vitrifikasyon ile kallus meydana gelirken, mahlep anacının meristemlerinde %92 oranında canlılık elde edilmiş, Damil anacındaki sürgünlerin ise birçoğu kültür başlangıç aşamasından 2-3 hafta sonra canlılığını yitirmiştir. Mahlep sürgünlerinin köklendirilmesi 0.5-1.0 mgl^{-1} IBA ile desteklenen ortamda başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Köklendirme aşamasında eksplantların, 0.5 mgl^{-1} IBA bulunan ortamlarda %50'si, 1.0 mgl^{-1} IBA bulunan ortamlarda ise %75-85'i iyi bir köklendirme kapasitesi ile her iki durumda da kuvvetli kök oluşturmuştur.

Fidancı ve ark. (2001) tarafından, Maxma-14, Tabel ve Gisela-5 kiraz klonal anaçlarının *in vitro* çoğaltım yöntemleriyle yürütülen denemede, kültürün başlatılması için sürgün ucu ve lateral tomurcuklardan yararlanılmıştır. Başlangıç aşamasında, 0.5-1.0 mgl^{-1} BAP, 0.1 mgl^{-1} IBA veya NAA, 0.1 mgl^{-1} GA_3 ilave edilen MS besi ortamı kullanılmış, sürgün çoğaltımında en iyi sonuç 1 mgl^{-1} BAP'dan (9 sürgün) görülürken; Köklendirme safhasında 1 mgl^{-1} IBA bulunan ½ MS besi yerinde %100 oranında köklenme sağlanmış ve ortalama kök uzunluğu 3.8 cm, kök sayısı 12 adet olarak saptanmıştır. Çalışmada alt kültürler esnasında Maxma-14 ve Gisela-5 klon anaçlarında vitrifikasyon oluştuğundan dolayı bu anaçlar ile çalışmalar sürdürülememiştir.

Ďurkovič (2006), olgun kuvvetli yabani kiraz ağacından (*Prunus mahaleb* L.) alınan eksplantların mikroçoğaltımla güvenilir ve etkili bir yöntem geliştirilmesi için yürüttüğü çalışmasında, başlangıç materyali olarak hafif patlamış aksillar tomurcuklarından yararlanarak kültürün başlatılmasını sağlamıştır. Temel besi ortamı olarak WPM kullanılmış; BAP ve TDZ'nin tek kullanımı ve kombinasyonları ile BAP'a IBA ve NAA eklenerek desteklenen ortamın pH'sı 5.6-5.8'e ayarlanmış, agar (6 g/l) ile katılaşma sağlanmıştır. Çalışmada 16 farklı uygulamadan en yüksek çoğaltma oranı (6.3 sürgün) 0.5 mgl^{-1} BAP ve 0.05 mgl^{-1} TDZ kombinasyonunda elde edilmiş,

araştırmacı BAP, BAP+NAA veya BAP+IBA ile desteklenmiş ortamlar arasında çoğalma oranları arasında fark bulunmadığını saptamıştır. Sürgün uzamasının ortama oksin eklenmesinden bağımsız olarak BAP konsantrasyonunda önemli ölçüde etkilendiği belirtilmiş, BAP dozunun arttırılmasıyla sürgünlerin sayısının arttığı fakat 3.0 mgl^{-1}'in üzerinde olan konsantrasyonlarda sürgünlerin uzamadığı, yaprakların kıvrılıp ve küçülmenin olduğu bildirilmiştir. Köklenme aşamasında yarım yoğunluktaki WPM besi yerinden faydalanılmış, değişik IBA konsantrasyonlarıyla IBA ve 2.4-D kombinasyonları denenmiştir. Köklenme oranının en yüksek olduğu ortam, 0.3 mgl^{-1} IBA eklenen ortam (%73) olarak belirlenmiştir. Köklenen bitkiciklerin dış şartlara alıştırma aşaması başarılı bir şekilde gerçekleşmiş ve herhangi bir morfolojik anormallik görülmediği bildirilmiştir.

Xilogiannis ve ark. (2008) tarafından, *in vitro* olarak çoğaltılan SL-64 (*P.mahaleb*) ve CAB 6P (*P.cerasus*) klonal anaçların bahçe ve fidanlık koşullarındaki performansları test edilmiştir. Yan tomurcuklar %2'lik NaOCl çözeltisinde 20 dakika sterilize edildikten sonra WPM besi yerinde kültüre alınmıştır. Sürgünlerin çoğaltım çalışmalarında MS besi yerine eklenen 0.6 mgl^{-1} BAP + 0.01 mgl^{-1} NAA kombinasyonu CAB 6P anacı için; 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.01 mgl^{-1} NAA kombinasyonu SL-64 anacı için kullanılmıştır. Çoğaltma oranları SL-64 anacında 4.0-5.0, CAB 6P anacında ise 2.5-3.0 olarak saptanmıştır. Sürgünlerin geliştirilmesinde BAP dozlarının azaltılarak, SL-64 anacı için 0.5 mgl^{-1}, CAB 6P anacı için ise 0.3 mgl^{-1} oranında kullanılmıştır. Köklendirme aşamasında yarı yoğunluktaki MS besi ortamına SL-64 anacı için 2 mgl^{-1} IBA, CAB 6P anacı için 1 mgl^{-1} IBA eklenmiştir. Köklenme yüzdeleri CAB 6P'de %80-85, SL-64'de %90-95'e ulaşmış, köklenen bitkicikler başarılı bir şekilde sera ortamına bırakılmıştır. Farklı kiraz çeşitleriyle aşılanan anaçların, bahçe ve fidanlık performanslarının oldukça başarılı olduğu saptanmıştır.

Aktürk ve ark. (2019) tarafından, kirazın lateral tomurcukları kullanılarak MS besi ortamına BAP, TDZ ve farklı konsantrasyonlarda kinetin (0.1, 0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mgl^{-1}) ilave edilerek, alt kültür başarısı, rozet bitki oluşumu ve yaprak gelişimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada 0900-Ziraat çeşidine ait 5 yaşındaki ağaçların dormant halde olduğu aralık ayında bir yaşlı dallarından alınan tomurcuklar kullanılmış, yüzey sterilizasyon için, çeşme suyu altında 30 dakika yıkanan tomurcuklar saf suda 30 dakika bırakılıp %70'lik alkolde 30 sn bekletilerek 1-2 damla Tween 20 ilaveli %15'lik

NAOCI çözeltisinde 25 dakika çalkalanarak 5 defa beşer dakika saf suda durulama işleminden sonra son olarak çalkalayıcıda 1 saat süreyle 150 rpm hızla steril saf suda bekletilip sterilizasyon tamamlanmıştır. Kiraz tomurcuklarından kültür başlatmak için kinetinin 4 mgl^{-1} konsantrasyona kadar besi ortamına ilavesinin olumlu bir etkisinin olmadığı anlaşılmış, kullanılan sitokinin tip ve konsantrasyonları içinde en başarılı sonuçların 2 mgl^{-1} BAP ve 2 mgl^{-1} TDZ eklenen besi ortamlarından elde edildiği belirtilmiştir. Ancak TDZ bulunan besi ortamlarında gelişen rozet bitkilerin canlılığının kültür süresinin sonuna doğru azaldığı, BAP içeren besi ortamlarındaki kültürlerin ise daha sağlıklı ve canlı olduğu tespit edilmiştir. Besi ortamında 2 mgl^{-1} BAP içeren kültürlerde, %80.0 ± 9.2 oranında eksplantın alt kültüre alınabildiği, %43.8 ± 12.8 oranında rozet sürgün elde edildiği tespit edilmiş ve ortalama yaprak sayısı 1.71 ± 3.6 adet olarak belirlendiği saptanmıştır.

Ranjit ve Kester (1988), vejetatif çoğaltımı zor olan Mazzard kiraz anacının *in vitro* çoğaltılması üzerine çalışmış, 50-100 mm büyüklüğünde olan materyalleri Tween 20 eklenen %20'lik klorak içerisinde steril duruma getirmişlerdir. Araştırmada modifiye edilmiş MS besi ortamından faydalanılmış, ortamın pH'sı 5.7'ye ayarlanarak, katılaşması için 6.0 gl-1 oranında agar ilave edilmiştir. Köklenmesi oldukça zor olan Mazzard kiraz anacının kolaylıkla köklenen Colt anacıyla beraber dikilmesi halinde, iki anaç arasında farklılık esas alınarak çalışma devam etmiştir. Colt anacı ile beraber kültüre alınan Mazzard anacının gelişme ve köklenme gücünün arttığı belirlenmiştir. Besi ortamlarında GA_3 kullanımının sürgünlerin gelişimi üzerine olumlu etki yaptığı bildirilirken, köklenme üzerine negatif yönde etkide bulunduğu saptanmıştır.

Dunstan (1981), F12/1 (*Prunus avium*) anacının 8 µM NAA bulunan ortamda köklenmesinin gerçekleştiğini ancak sürgünlerin kallus oluşturduklarını, oluşan köklerin birbirlerine yapışmış ve ince olduğunu saptamıştır. Ayrıca bu ortamda köklenen bitkiler toprağa aktarıldıkları zaman canlılıklarını yitirmişlerdir. 4.0 µM dozunda NAA ve 4.96 µM BA eklenen MS besi yerinde ise bitkilerin köklendirilmesinin iyi olduğunu gözlemlemiştir.

Prunus avium sürgünlerinin köklendirilmesi üzerinde çalışmalar yapan Riffaud ve Cornu (1981), sürgünlerin dikimden önce 0.5 mgl^{-1} IBA solüsyonuna batırılmasıyla 0.5 mgl^{-1} IBA bulunan besi ortamına dikimi arasında herhangi bir farklılık olmadığını saptamıştır.

Yabani kirazın mikro sürgünlerinin köklendirilmesinde farklı aminoasitlerin ve otoklavlanmasının etkisini araştıran Pedrotti ve ark. (1994), sürgün köklenmesini uyarmak amacıyla 1.1 mgl^{-1} IBA ile desteklenen MS besi yerinde beş gün süreyle sürgünleri bırakıp, otoklavdan önce ya da otoklavdan sonra eklenen farklı aminoasitleri bulunduran ortamlarda kültüre almışlardır. Çalışmada kök sayıları bakımından uygulamalar arasında birbirine yakın sonuçlar (9-10 adet) görülürken, kök uzunlukları farklılık göstermiştir. Ortama eklenen 200 mgl^{-1} glutamin, otoklavlandığında 9 mm uzunluğa ulaşırken, filtre sterilizasyonundan geçirilip eklendiğinde ise 48 mm'ye ulaşan köklerin elde edildiği belirtilmiştir.

Hepaksoy ve Tanrısever (2004) tarafından yürütülen çalışmada, Gisela-6 ve Gisela-5 kira klonal anaçlarında, sürgünlerinin *in vitro* şartlarda köklendirmesi ve dış şartlara alıştırılması için denemeler yapılmıştır. Köklendirme aşamalarında öncelikle Jones ve Hopgood (1979)'a göre bir, Snir (1982)'e göre ise iki olacak şekilde üç değişik besi yeri kullanılmış, bu ortamlarda beklenilen oranda köklenme sağlanmadığı için sonraki aşamalarda %50 seyreltilmiş MS besi yerine IBA ve NAA'nın farklı dozları ilave edilerek çalışılmıştır. Araştırmada kullanılan 9 farklı köklendirme ortamlarında %8.33-33.33 gibi düşük köklenme oranı sağlanmış, ortama 2.0 gl^{-1} aktif kömür eklenmesiyle deneme tekrarlanmış ve köklenmenin %25-50 oranına yükseldiği tespit edilmiştir. Gisela-6 klon anacının köklenme oranının (56.67), Gisela-5 klon anacına nazaran (53.33) daha yüksek olduğu belirtilmiş, ayrıca köklenmeyi artırmak amacıyla sürgünlerin dikime geçmeden önce 666 mgl^{-1} NAA solüsyonuna bir saniye batırılmasıyla köklenmenin %33.33-83.33 arasında değiştiği saptanmıştır. Köklenen bitkilerin farklı ortamlarda (torf, perlit, curuf ve harç) 6 haftadaki gelişmeleri incelenmiş; torf ve harcın öteki ortamlara nazaran gelişimi teşvik edici yönde ve torfun *in vitro* bitkilerin aklimatizasyonunda kullanılabilecek en iyi ortam olduğu saptanmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Çalışmada eksplant olarak, 02.03.2018 tarihinde Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Koleksiyon Bahçesindeki Maxma-14 kiraz anaçlarının bir yaşlı dip sürgünlerinden alınan lateral tomurcuklar kullanılmıştır. Araştırma Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknoloji laboratuvarında yürütülmüştür.

3.1.1. Maxma-14 Kiraz Anacı

Prunus avium L. (Mazzard) ve *Prunus mahaleb* L. (Mahlep) melezi klon anaçlarından olan Maxma-14 (Brokforest Maxma delbart 14), serideki diğer anaçların pek çoğundan daha bodur yapıdadır (Lezzoni ve ark. 1991). Amerika ve Fransa'da kullanılmakta olup, son yıllarda Türkiye'de de önemli ölçüde yaygınlaşmaya başlamıştır. Yarı bodur olan Maxma-14 anacı, ağır bünyeli drenajı iyi olmayan topraklara uygun olmamakla beraber *Pseudomonas* hastalığına ve soğuklara karşı oldukça dayanıklıdır. Mazzard (kuş kirazı) anacının %70-75'i oranında taç hacmi oluşturarak üzerine aşılanan çeşidi erken meyveye yatırdığı bilinmektedir (Eroğul 2012).

3.2. Metot

Doku kültürü çalışmalarının gereği olan aseptik şartları sağlamak üzere laboratuvar alet ve malzemelerinin sterilizasyonu ve bitkisel materyalin yüzey sterilizasyonu için gerekli tüm işlemler yapılmıştır.

3.2.1. Alet-Ekipmanların ve Transfer Odasının Sterilizasyonu

Kültüre alma esnasında kullanılacak olan pens ve bisturiler etil alkol ile temizlendikten sonra alüminyum folyolara bırakılmıştır. Steril kabinde kullanılacak filtre kağıtları ve kağıt havlular ise ambalaj kağıtlarına sarılmıştır. Her iki malzeme etüvde 180ºC'de 2 saat süreyle sterilizasyona tabi tutulmuşlardır.

Cam malzemeler yıkama işleminden sonra üç tekerrürlü olacak şekilde saf sudan geçirilerek kuru hava sterilizatöründe 180ºC'de 2 saat süre ile sterilize edilmiştir. Plastik

kültür kaplarının sterilizasyonu ise 121ºC'de 1 atm basıncında 30 dk süreyle otoklavda gerçekleştirilmiştir.

Transfer odasındaki ultraviyole lambası kültür yapılmadan birkaç saat önce çalıştırılarak ortamın sterilizasyonu sağlanmıştır. Kültüre başlamadan 24 saat önce steril kabinin yüzeyleri saf alkol ile; transfer odası ise seyreltilmiş sodyum hipoklorit (NaOCl) ile silinmiştir. Steril kabinde bulunan incineratör, ihtiyaç duyuldukça pens ve bistüri sterilizasyonunda kullanılmıştır.

3.2.2. Eksplantların Yüzey Sterilizasyonu

Maxma-14 anacına ait lateral tomurcuklar, bitki dinlenme döneminde iken alınmış, alınan bir yaşlı dallar laboratuvara getirilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Yüzey sterilizasyon işlemleri, Aktürk (2009) tarafından kirazın *in vitro* mikroçoğaltım çalışmasında uygulanan prosedürlere göre gerçekleştirilmiştir.

Dallar akan musluk suyunda 30 dakika yıkanmış, budama makasıyla 2-3 cm uzunluğunda olacak şekilde tekli nodlara ayrılarak saf suda 30 dakika bırakılmıştır. Ardından %70'lik etil alkolde 30 sn bekletilip daha sonra 1-2 damla Tween 20 ilaveli %15'lik NaOCl çözeltisinde 20 dakika çalkalanarak sterilizasyon yapılmıştır. Son olarak sterilantın etkisinin giderilmesi amacıyla her tekerrürde 5 dakika olmak üzere 5 kez steril saf suyla durulama işleminden geçirilmiştir.

3.2.3. Besi Ortamı Hazırlığı ve Kültür Şartları

Araştırmanın başlangıç aşamasında modifiye edilmiş MS (Murashige and Skoog, 1962) besi yeri kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Besi ortamlarına 30 gl^{-1} sukroz eklenmiş, büyüme düzenleyicilerden sitokinin grubundan benzil amino pürin (BAP), gibberellin grubundan gibberellik asit (GA_3), oksin gruplarından ise indol butirik asit (IBA) ve naftalen asetik asit (NAA) deneyin amacına göre ilave edilmiştir. Daha sonra ortamın pH'sı, pH metre yardımıyla 1 N NaOH ve 1 N HCl kullanılıp 5.75-5.85 olacak şekilde ayarlanmış ve jel yapıcı olarak 7.0 gl^{-1} agar eklenmiştir. Besi ortamları 121ºC'de 1 atm basıncında 30 dk süreyle otoklavda steril edilmiş ve steril kabinde kültür kaplarına (Magenta Vessel GA-7; polikarbonat gövde-polipropilen kapak, 77x77x97 mm) herbirine yaklaşık 50 ml olacak şekilde aktarılıp katılaşması sağlandıktan sonra ağzı kapatılarak kullanılıncaya kadar oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Araştırmanın konusu olan sürgün çoğaltma deneylerinde kullanılmak üzere ihtiyaç duyulan sürgünler, lateral tomurcuklardan başlatılan kültürlerden sağlanmıştır. Kültür başlatma aşamasında 2 mgl^{-1} BAP ilave edilen MS besi ortamı kullanılmıştır. Tomurcuklar, pulları ve odun dokusu temizlenerek besi ortamlarına yerleştirilmiş ve kültür kapları kültür odasına bırakılmıştır (Şekil 3.1). Çalışma sonunda canlılığını yitirmeyen ve rozet sürgün oluşturan bitkiler ile sürgün çoğaltım aşamasına geçilmiştir.

Çizelge 3.1. Murashige and Skoog (1962) (MS) besi ortamı bileşenleri

MS Besi Ortamı Bileşenleri	**mg/l**
Amonyum nitrat	1650.0
Potasyum nitrat	1900.0
Kalsiyum klorür dihidrat	440.0
Magnezyum sülfat heptahidrat	370.0
Potasyum fosfat monobazik	170.0
Borik asit	6.2
Manganez sülfat monohidrat	16.9
Çinko sülfat heptahidrat	8.6
Potasyum iyot	0.83
Molibik asit sodyum salt dihidrat	0.25
Bakır sülfat pentahidrat	0.025
Kobalt klorür hekzahidrat	0.025
Demir sülfat heptahidrat	27.8
Sodyum EDTA	37.26
Glisin	2.0
Nikotinik asit	0.5
Pridoksin HCl	0.5
Thiamin HCl	0.1
Myo-inositol	100.0

Kültür odası 4500 lux yoğunlukta ışık şiddetinde ayarlanmış, ortamın sıcaklığının 25±2ºC'de tutulmasını sağlayan sıcaklık kontrol sistemi (termostat ve klima) yer almaktadır. Materyale uygulanacak fotoperyot zaman ayarlayıcıyla 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık olarak ayarlanmış, bu şekilde hazırlanmış ortamda kültürlerin gelişmesi için gerekli optimum koşullar sağlanmıştır.

Kültürün başlatılması, sürgün çoğaltımı, sürgün geliştirme ve köklendirme aşamalarında büyüme düzenleyicilerinin farklı tip ve konsantrasyonları, farklı yoğunluklardaki ışık şiddeti ile besi ortamları kullanılarak çalışma yürütülmüştür.



Şekil 3.1. Kültür başlatmak için dinlenme döneminde alınan lateral tomurcuklar ve tomurcuk pulları temizlenerek besi ortamına aktarılan eksplantlar

3.2.4. Sürgün Çoğaltım Çalışmaları

Kültür başlatma aşamasında elde edilen sürgünler ile sürgün çoğaltım çalışmalarına geçilmiş ve BAP'ın farklı konsantrasyonlarının, BAP + GA_3'ün farklı konsantrasyonlarının, ışık şiddetinin ve farklı besi ortamlarının etkileri incelenmiştir.

3.2.4.1. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Bu deneyde sitokininlerden BAP'ın dört farklı konsantrasyonunun sürgün çoğaltımına etkisi incelenmiştir. BAP'ın 0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mgl^{-1} konsantrasyonları MS besi ortamına ilave edilmiş ve her uygulama için 6 kültür kabında 24 eksplant kullanılmıştır. Kültüre alınan eksplantlar, gelişimlerini daha iyi değerlendirmek için 4 hafta sonra herhangi bir uygulama yapılmadan aynı içerikte hazırlanan yeni besi ortamlarına aktarılmış ve 4 hafta da bu ortamda geliştikten sonra deney bitirilerek gözlem ve ölçümler alınmıştır.

3.2.4.2. Farklı BAP ve GA_3 Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Sürgün çoğaltım protokolünü geliştirmek amacıyla yapılan ikinci deneyde MS besi ortamına ilave edilen sitokinin ve giberellin grubu hormon kombinasyonlarının etkisi araştırılmıştır. Çalışmada her uygulama için 5 kültür kabında 20 eksplant kullanılmış, önceki deneyde olduğu gibi seriler arasındaki farklılıkların daha net belirlenmesi için 4 hafta sonra eksplantlar işlem yapılmadan aynı içerikte hazırlanan yeni besi ortamlarına aktarılarak alt kültüre alınmıştır. Yeni besi ortamında 4 hafta daha gelişimini devam ettiren eksplantların gözlem ve sonuçları alınarak deney bitirilmiştir.

MS besi ortamına ilave edilen BAP ve GA_3 kombinasyonları:

- 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3
- 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.5 mgl^{-1} GA_3
- 1.0 mgl^{-1} BAP + 1.0 mgl^{-1} GA_3
- 2.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3
- 2.0 mgl^{-1} BAP + 0.5 mgl^{-1} GA_3
- 2.0 mgl^{-1} BAP + 1.0 mgl^{-1} GA_3

3.2.4.3. Farklı Yoğunluklardaki Işık Şiddetinin Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Bu deneyde üç farklı ışık yoğunluklarının (4500, 6000 ve 7500 lux) sürgün çoğaltımına etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma 1.0 mgl^{-1} BAP ve 0.3 mgl^{-1} GA_3 eklenen MS besi ortamında yürütülmüştür. Her uygulama için 5 kültür kabında 20 eksplant kullanılmış, gözlem ve sonuçlar 6 hafta sonra alınmıştır.

3.2.4.4. Farklı Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Çalışmanın bu aşamasında MS (Murashige and Skoog 1962), WPM (Woody Plant Medium) (Lloyd and McCown 1981), QL (Quoirin and Lepoivre 1977) ve NRM

(Nas and Read 2004) besi ortamları kullanılarak Maxma-14 anacının *in vitro* sürgün çoğaltımına etkileri incelenmiştir. Besi ortamlarının tümüne 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 eklenmiş, her seride 4 kültür kabında 16 eksplant kullanılmıştır. Gözlem ve sonuçlar 4 haftanın sonunda alınmıştır.

3.2.4.5. MS ve WPM Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Dört besi ortamının incelendiği önceki deneyde MS ve WPM besi ortamlarının diğer iki ortamdan daha başarılı olduğu görülmüş ve ikisi arasında daha iyi bir kıyaslama yapmak üzere bu iki ortamın kullanıldığı yeni bir çalışma yapılmıştır. Her iki besi ortamına 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 eklenmiş ve 4 kültür kabında 16 eksplant kullanılmıştır. Gözlem ve sonuçlar 4 haftanın sonunda alınmıştır.

Tüm çalışmalarda rozet sürgünler, üzerindeki tomurcuk pulları ve yaşlı yapraklar ile varsa eksplantların taban kısımlarındaki ölü dokulardan temizlenerek kültüre alınmıştır.

3.2.4.6. Sürgün Çoğaltım Çalışmalarında Alınan Gözlemler

Sürgün çoğaltım çalışmalarında kültüre alınan eksplantların gelişme durumları, metotta belirtilen 4, 6 veya 8 hafta sonunda tespit edilmiştir. Bütün sürgün çoğaltma deneylerinde; canlılığını yitirmeden gelişimini devam ettiren eksplantların oranını ifade eden “alt kültüre alınan eksplant oranı (%)”; ana ve yan sürgünlerin miktarının belirlendiği “sürgün sayısı (adet)”; eksplant tabanından sürgün ucuna kadar ölçülerek tespit edilen “ana sürgün uzunluğu (mm)” ve yaprak koltuklarında oluşan sürgünlerden ölçülen “yan sürgün uzunluğu (mm)” parametreleri incelenmiştir. Uzunluk ölçümleri dijital kumpas ile yapılmıştır.

3.2.5. Köklendirme Çalışması ve Alınan Gözlemler

Köklendirme aşamasında, sürgün çoğaltımında alt kültürlerden elde edilen yaklaşık 1-2 cm uzunluğundaki sürgünler kullanılmış, her uygulamada 4 kültür kabına 16 eksplant bırakılmıştır. Bu köklendirme deneyi için sürgün çoğaltımındakine göre besi ortamı miktarı artırılarak kültür kaplarına yaklaşık 65 ml besi ortamı eklenmiştir. Deneyde MS ve WPM besi ortamları ile bu ortamlara ilave edilen 1.0 mgl^{-1} NAA ve 1.0 mgl^{-1} IBA hormonlarının köklenme üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Dört hafta süren köklendirme çalışmasının bitiminde; kültüre alınan sürgünlerde "köklenme oranı (%)"; kökler sayılarak belirlenen "kök sayısı (adet)" ve bütün köklerin uzunluğu ölçülerek tespit edilen "kök uzunluğu (mm) " gözlemleri alınmıştır. Uzunluk ölçümleri dijital kumpas ile yapılmıştır.

3.2.6. Dış Ortama Alıştırma (Aklimatizasyon)

Köklendirme çalışmasında elde edilen materyali değerlendirmek ve alıştırma aşamasını gözlemlemek üzere, köklenmiş bitkiler ex vitro şartlara aktarılmıştır. Yeteri kadar bitki bulunmadığından bu aşama bir deneme olarak ele alınmamıştır.

Köklenmiş bitkiler kültür kaplarından çıkarılarak, besi ortamından temizlenmesi amacıyla 10-15 dakika suda bekletilmiş, daha sonra musluk suyu altında yıkanmıştır. Dikime hazırlanan Maxma-14 anaçları siyah plastik poşetlere (10x12 cm) konulan torf ortamına dikilmiş ve nem kontrolünü sağlamak amacıyla üzeri şeffaf plastik bardaklar ile kapatarak büyüme odasına bırakılmıştır. Kapatılan plastik bardaklara her gün birer delik açılarak havalanma oranı kademeli olarak artırılmış ve 2 hafta sonra tamamen kaldırılmıştır.

3.2.7. Verilerin Analizi

Çalışmalarda elde edilen tüm veriler tesadüf parselleri deneme desenine göre en az üç tekerrürlü yürütülmüş; analizler SPSS 22 programında değerlendirmeye alınarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Uygulamaların etkisinin istatistiki açıdan önemli bulunması halinde ($P<0.05$), çoklu karşılaştırma testlerinde Tukey ve Duncan ile gruplandırmalara tabi tutulmuştur. Transforme edilmemiş gerçek değerler çizelgelerde kullanılmış, iki uygulamalı çalışmalarda, uygulamalar bağımsız iki örnek için t-testiyle karşılaştırmaya alınmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Maxma-14 Kiraz Anacında Sürgün Çoğaltım Çalışmaları

4.1.1. Farklı BAP Konsantrasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Maxma-14 kiraz anacının sürgün çoğaltım çalışmalarında ilk olarak besi ortamına ilave edilen dört farklı BAP konsantrasyonunun etkileri incelenmiştir. Kültür başlatma çalışmalarında lateral tomurcuklardan elde edilen rozet sürgünler MS besi ortamında kültüre alınmıştır. Çizelge 4.1'de dört haftalık kültür sonunda eksplantların, aynı içerikli yeni besi ortamına aktarılıp ve tekrardan dört haftalık gelişme sonunda alınan sonuçları verilmiştir.

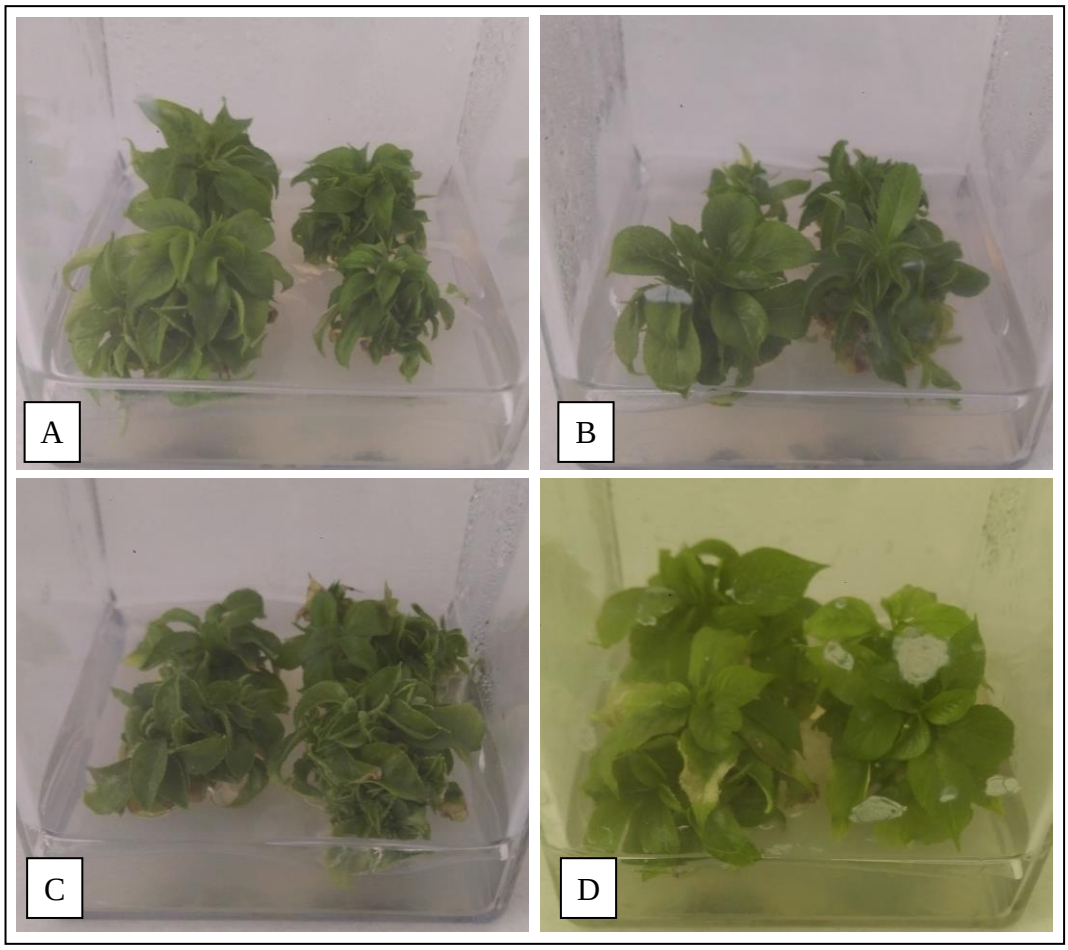
Çizelge 4.1. Maxma-14 klon anacında farklı BAP konsantrasyonlarının sürgün gelişimine etkileri*

BAP Konsantrasyonu	Alt Kültüre Alınan Eksplant (%)	Sürgün Sayısı (adet)	Ana Sürgün Uzunluğu (mm)	Yan Sürgün Uzunluğu (mm)
0.5 mgl^{-1} BAP	92.0 ± 5.8 a	5.73 ± 0.77 a	13.27 ± 1.38	9.00 ± 0.58 a
1.0 mgl^{-1} BAP	96.0 ± 4.2 a	5.78 ± 0.76 a	12.10 ± 1.12	8.41 ± 0.45 a
2.0 mgl^{-1} BAP	96.0 ± 4.2 a	4.26 ± 0.87 a	10.62 ± 1.54	7.86 ± 0.52 a
4.0 mgl^{-1} BAP	63.0 ± 10.1 b	2.60 ± 0.38 b	10.39 ± 1.37	4.48 ± 0.57 b
	F= 6.099 sd= 3, 92 P= 0.001	F= 9.011 sd= 3, 92 P= 0.000	F= 1.462 sd= 3, 79 P>0.05	F= 6.988 sd= 3, 309 P= 0.000

* : Serilerde 24 eksplant kullanılmış, sonuçlar 8 haftanın sonunda alınmıştır.

Alt kültüre alınan eksplant oranıyla sürgün sayıları ve yan sürgün uzunlukları açısından uygulamalar istatistiki olarak önemli bulunmuş; alt kültüre alınan eksplant oranında en yüksek değerler (%96.0 ± 4.2) 1.0 mgl^{-1} BAP ve 2.0 mgl^{-1} BAP konsantrasyonlarında elde edilirken, 4.0 mgl^{-1} BAP konsantrasyonu en düşük oranı (%63.0 ± 10.1) vermiştir. Sürgün sayısında en yüksek değer 1.0 mgl^{-1} BAP (5.78 ± 0.76) ve 0.5 mgl^{-1} BAP (5.73 ± 0.77) uygulamalarından alınmış, yan sürgün uzunluğunda ise en başarılı sonuç 0.5 mgl^{-1} BAP konsantrasyonundan (9.00 ± 0.58 mm) elde edilmiştir. Ana sürgün uzunlukları 10.39 ± 1.37 mm ile 13.27 ± 1.38 mm arasında

değişmiş fakat uygulamalar arasında istatistik öneme sahip bir farklılık görülmemiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Farklı BAP konsantrasyonlarında 8. haftada sürgün gelişimi (A: 0.5 mgl^{-1} BAP, B: 1.0 mgl^{-1} BAP, C: 2.0 mgl^{-1} BAP, D: 4.0 mgl^{-1} BAP)

Kiraz anaç ve çeşitlerinin *in vitro* sürgün çoğalışında en uygun BAP konsantrasyonunu bulmak amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Fidancı ve ark. (2008), Tabel/Edabriz, Maxma-14 ve Gisela-5 kiraz klon anaçlarında *in vitro* sürgün çoğaltımında yaptıkları çalışmada 0, 0.25, 0.50, 0.75 ve 1 mgl^{-1} BAP konsantrasyonlarının etkilerini incelemiş, her üç anaç için BAP dozu yükseldikçe yeni sürgün oluşumunun arttığını fakat vitrifikasyonun görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Muna ve ark. (1999), Maxma-14 klon anacının *in vitro* çoğaltımında yaptıkları çalışmada, BAP ve kinetinin etkisini incelemiş; BAP'ın başarı oranının kinetinden daha

iyi olduğunu, çoğaltım miktarının en yüksek 1 mgl^{-1} BAP ve 0.1 mgl^{-1} IBA (5.42 ± 0.51 sürgün) içerikli ortamda gerçekleştiğini belirtmişlerdir.

Sedlak ve ark. (2008), P-HL serisindeki üç kiraz anacının *in vitro* çoğaltılmasıyla ilgili çalışma yapmış MS besi ortamında BAP'ın 5 farklı konsantrasyonunu (0.2, 0.75, 1.0, 1.5 ve 2.0 mgl^{-1}) kullanmıştır. Araştırmada en yüksek çoğaltma katsayısı her üç anaçta 1.5 mgl^{-1} BAP konsatrasyonunda görülürken (7.7-10.9 sürgün), 2.0 mgl^{-1}'lik BAP dozunun sürgün çoğalması ve gelişmesine negatif yönde etki ettiği saptanmıştır.

Aktürk (2009), 0900-Ziraat çeşidine ait lateral tomurcukları kullanarak başlattığı kültürlerde MS besi ortamına ilave edilen BAP konsantrasyonlarının (0.5, 1.0, 2.0 ve 4.0 mgl^{-1}) etkisini incelemiş, en başarılı sonucun 2.0 mgl^{-1} BAP (4.9 ± 0.8 sürgün) ve 4.0 mgl^{-1} (5.4 ± 0.7 sürgün) ortamlarında elde edildiğini belirmiştir.

Yapılan çalışmalarda BAP konsantrasyonlarının besi ortamına artırılarak eklenmesinin sürgün uzunluğunu azalttığı sürgün çoğaltımını ise artırdığı bildirilmiştir. Çalışmamızda BAP'ın yüksek konsantrasyonunun sürgün çoğaltımı üzerine negatif yönde etki ettiği belirlenmiştir. Kullanılan BAP konsantrasyonlarında vitrifikasyon görülmemiştir. Uygulamalar arasında en başarılı sonuçların 0.5 mgl^{-1} BAP ve 1.0 mgl^{-1} BAP bulunan ortamlarda elde edildiği saptanmıştır.

4.1.2. Farklı BAP ve GA_3 Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Çalışmanın bu aşamasında 1.0 mgl^{-1} ve 2.0 mgl^{-1} BAP ile birlikte GA_3'in üç farklı konsantrasyonu (0.3, 0.5 ve 1.0 mgl^{-1}) kullanılarak hazırlanan kombinasyonların sürgün çoğaltımı üzerine etkileri incelenmiştir. Dört haftalık kültür sonunda eksplantlar aynı içerikli yeni besi ortamına aktarılmış ve tekrar dört haftalık gelişme sonunda sonuçlar alınarak Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Deneyde 2.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 birleşiminde alt kültüre alınan eksplant oranı yüksek bulunmuş (%100) ancak istatistiki öneme sahip bir farklılık görülmemiştir. Ana sürgün uzunlukları istatistiki bakımdan önemli bulunmuş, en başarılı sonuç 2 mgl^{-1} BAP ve 1.0 mgl^{-1} GA_3 (14.40 ± 1.26 mm) kombinasyonundan elde edilmiş, bunu sırasıyla 2.0 mgl^{-1} BAP ve 0.5 mgl^{-1} GA_3 (13.93 ± 1.42 mm) ile 1.0 mgl^{-1} BAP ve 0.3 mgl^{-1} GA_3 (13.93 ± 1.42 mm) uygulamaları izlemiştir. Sürgün sayıları ve yan sürgün

uzunlukları açısından yapılan uygulamalar arasında istatistiki farklılık önemli bulunmamış, sürgün sayısında en yüksek değerler 2 mgl^{-1} BAP ve 0.5 mgl^{-1} GA_3 (2.06 ± 0.26) ile 1.0 mgl^{-1} BAP ve 0.3 mgl^{-1} GA_3 (2.00 ± 0.30) kombinasyonlarında görülürken sürgün uzunluğunda en başarılı sonuç 2.0 mgl^{-1} BAP + 1.0 mgl^{-1} GA_3 (4.27 ± 0.23 mm) kombinasyonundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.2. Maxma-14 klon anacında BAP+GA_3 kombinasyonlarının sürgün gelişimine etkileri*

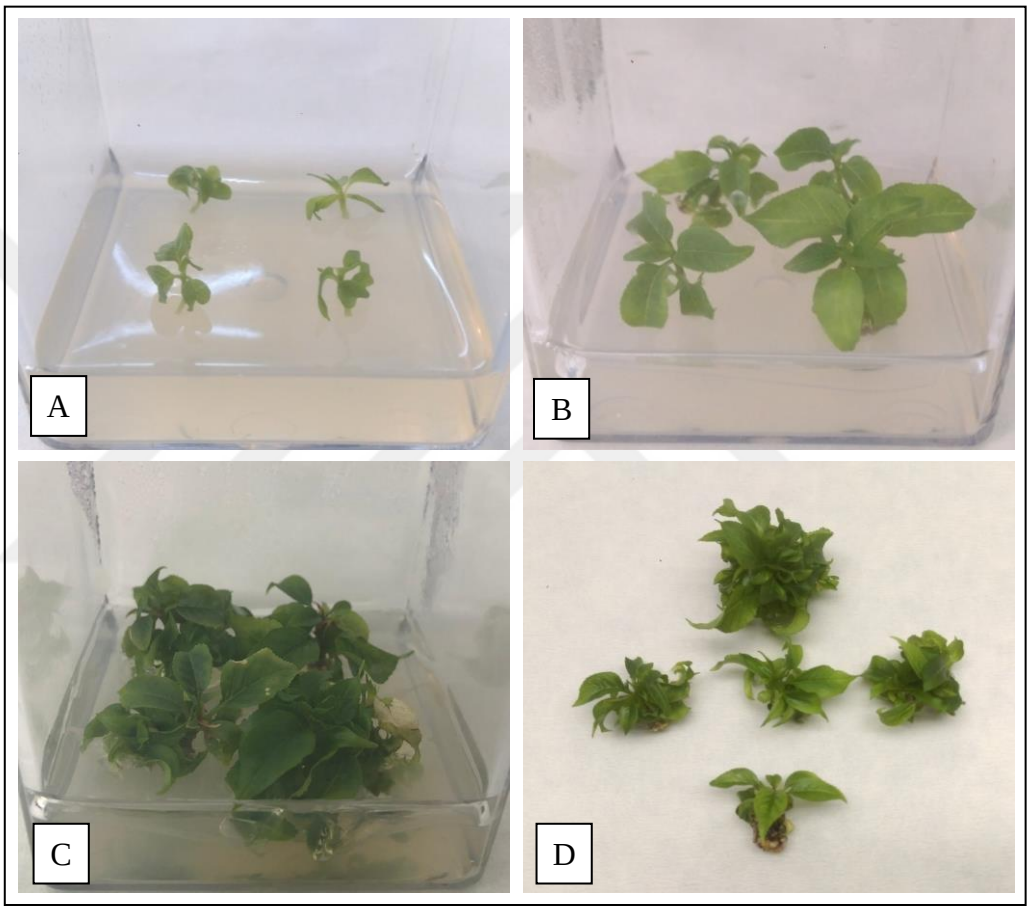
BAP-GA_3 Kombinasyonları (mgl^{-1})	**Alt Kültüre Alınan Eksplant (%)**	**Sürgün Sayısı (adet)**	**Ana Sürgün Uzunluğu (mm)**	**Yan Sürgün Uzunluğu (mm)**
1.0 BAP + 0.3 GA_3	80.0 ± 9.2	2.00 ± 0.30	12.36 ± 1.00 ab	3.44 ± 0.29
1.0 BAP + 0.5 GA_3	75.0 ± 9.9	1.53 ± 0.19	10.79 ± 0.78 ab	3.31 ± 0.24
1.0 BAP + 1.0 GA_3	80.0 ± 9.2	1.75 ± 0.17	10.51 ± 1.01 bc	3.63 ± 0.33
2.0 BAP + 0.3 GA_3	100.0 ± 0.0	1.60 ± 0.20	8.20 ± 0.66 c	3.61 ± 0.28
2.0 BAP + 0.5 GA_3	85.0 ± 8.2	2.06 ± 0.26	13.93 ± 1.42 ab	3.73 ± 0.35
2.0 BAP + 1.0 GA_3	90.0 ± 6.9	1.83 ± 0.15	14.40 ± 1.26 a	4.27 ± 0.23
	F= 1.258 sd= 5, 114 P>0.05	F= 0.943 sd= 5, 114 P>0.05	F= 5.306 sd= 5, 96 P= 0.000	F= 1.409 sd= 5, 74 P>0.05

* : Serilerde 20 eksplant kullanılmış, sonuçlar 8 haftanın sonunda alınmıştır.

Güçlü ve ark. (2010), SL-64, Maxma-60, Maxma-14 ve Gisela-5 kiraz klon anaçlarının doku kültürü yolu ile çoğaltım olanaklarını araştırdıkları denemede, farklı büyüme düzenleyici kombinasyonlarını kullanmışlar, sürgün uzunlukları bakımından en iyi sonuçların 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} IBA + 0.5 mgl^{-1} GA_3 (1.44-1.50 cm) ve 1 mgl^{-1} BAP + 0.02 mgl^{-1} IBA + 1 mgl^{-1} GA_3 (1.43-1.61 cm) bulunan ortamlarda elde edildiğini bildirmişlerdir.

Maxma-14 ve Gisela-5 kiraz anaçlarının *in vitro* sürgün çoğaltımı üzerine çalışan Büyükdemirci (2008), kullandığı farklı büyüme düzenleyicileri içerisinde, Gisela anacı için 0.5 mgl^{-1} BAP + 0.01 mgl^{-1} IBA + 0.1 mgl^{-1} GA_3 kombinasyonunun; Maxma-14 anacı için 0.5 mgl^{-1} BAP + 0.1 mgl^{-1} IBA + 0.1 mgl^{-1} GA_3 kombinasyonunun başarılı bulunduğunu bildirmiştir.

Maxma-14 kiraz anacının *in vitro* çoğaltımında BAP + GA_3 kombinasyonlarının sürgün gelişimi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmamızda birbirine yakın değerler elde edilmiş; alt kültüre alınan eksplant oranı, sürgün sayıları ve yan sürgün uzunlukları açısından uygulamalar arasında istatistiki fark önemli bulunmamıştır. Sürgün sayısında en yüksek değer 2.0 mgl^{-1} BAP + 0.5 mgl^{-1} GA_3 (2.06 ± 0.26) ve 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 (2.00 ± 0.30) kombinasyonlarında görülmüştür (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. BAP + GA3 kombinasyonları deneyinde 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 içeren besi ortamında sürgün gelişimi (A: Kültür başlangıcı. B: Dördüncü hafta. C: Sekizinci hafta. D: Gelişen sürgünler)

4.1.3. Farklı Yoğunluklardaki Işık Şiddetinin Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Bu deneyde sürgünlerin gelişimi üzerine farklı yoğunluklarda ışık şiddetinin (4500, 6000 ve 7500 lux) etkileri araştırılmış, çalışma için 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 eklenen MS besi ortamından yararlanılmıştır. Çizelge 4.3'te araştırmanın altı hafta sonunda alınan sonuçları verilmiştir.

Farklı yoğunluklardaki ışık şiddetinin denendiği bu çalışmada uygulamalar arasında istatistiki farklılıklar önemli bulunmamış, alt kültüre alınan eksplant oranında 4500 lux ve 6000 lux ışık şiddetinde benzer değerler görülmüştür. En yüksek sürgün sayısı (1.47 ± 0.16) ve yan sürgün uzunluğu (2.90 ± 0.27 mm) 6000 lux ile elde edilirken, ana sürgün uzunluğunda en başarılı büyüme (11.12 ± 0.62 mm) 7500 lux ışık şiddetinde görülmüştür.

Çizelge 4.3. Maxma-14 klon anacında farklı yoğunluklardaki ışık şiddetinin sürgün gelişimine etkileri*

Işık Şiddeti	Alt Kültüre Alınan Eksplant (%)	Sürgün Sayısı (adet)	Ana Sürgün Uzunluğu (mm)	Yan Sürgün Uzunluğu (mm)
4500 lux	95.0 ± 5.0	1.42 ± 0.14	10.39 ± 0.58	2.83 ± 0.25
6000 lux	95.0 ± 5.0	1.47 ± 0.16	10.55 ± 0.55	2.90 ± 0.27
7500 lux	85.0 ± 8.2	1.29 ± 0.11	11.12 ± 0.62	2.70 ± 0.22
	F= 0.854 sd= 2, 57 P>0.05	F= 1.140 sd= 2, 57 P>0.05	F= 0.432 sd= 2, 52 P>0.05	F= 0.085 sd= 2, 19 P>0.05

* : Serilerde 20 eksplant kullanılmış, sonuçlar 6 haftanın sonunda alınmıştır.

4.1.4. Farklı Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

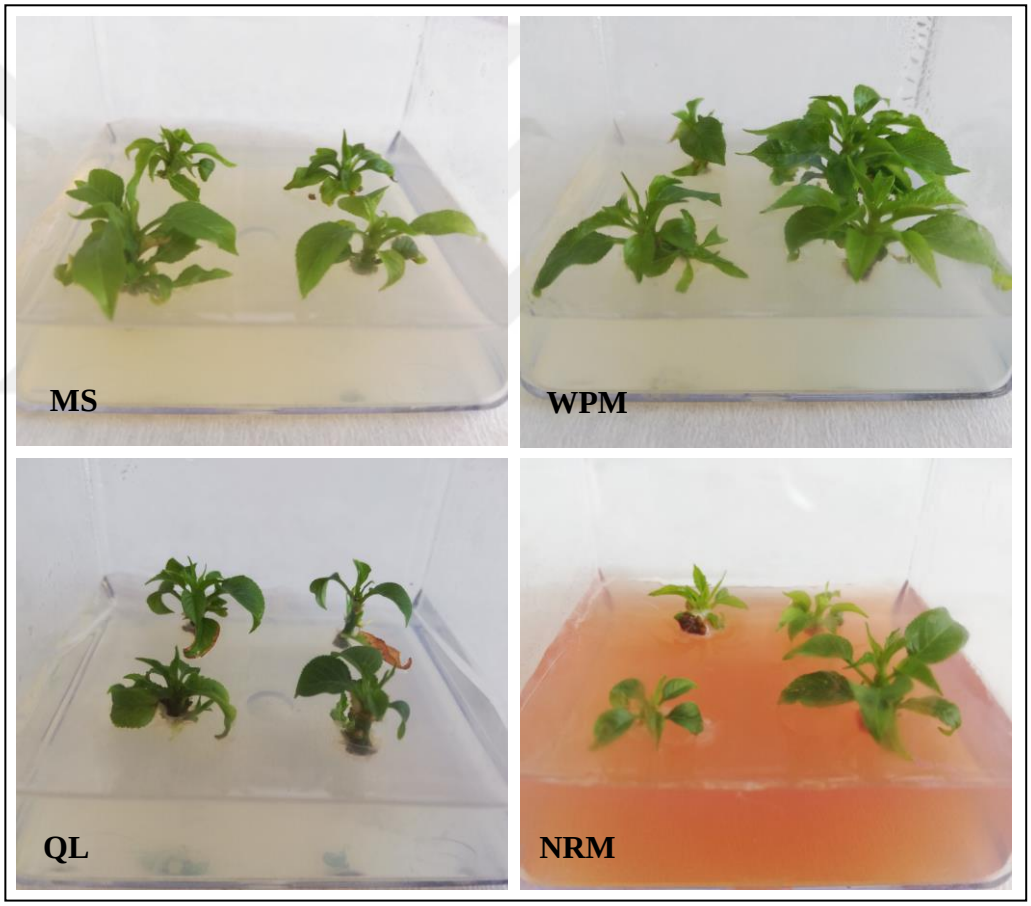
Bu deneyde önceki çalışmalarda elde edilen sürgünler 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3 destekli MS, WPM, QL ve NRM besi ortamlarında kültüre alınarak sürgün çoğaltımı üzerine etkileri incelenmiştir. Çizelge 4.4'te dört haftanın sonunda alınan kültürlerin gözlem ve ölçüm sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.4. Maxma-14 klon anacında besi ortamlarının sürgün gelişimine etkileri*

Besi Ortamları	Alt Kültüre Alınan Eksplant (%)	Sürgün Sayısı (adet)	Ana Sürgün Uzunluğu (mm)	Yan Sürgün Uzunluğu (mm)
MS	63.0 ± 12.5	2.10 ± 0.23	10.09 ± 0.35 a	3.32 ± 0.20
WPM	69.0 ± 12.0	2.00 ± 0.19	10.89 ± 0.55 a	3.28 ± 0.40
QL	50.0 ± 12.9	1.87 ± 0.30	10.10 ± 0.68 a	3.29 ± 0.31
NRM	37.0 ± 12.5	2.00 ± 0.37	7.16 ± 1.02 b	2.82 ± 0.30
	F= 1.234 sd= 3, 60 P>0.05	F= 1.278 sd= 3, 60 P>0.05	F= 6.616 sd= 3, 31 P=0.001	F= 0.509 sd= 3, 31 P>0.05

* : Serilerde 16 eksplant kullanılmış, sonuçlar 4 haftanın sonunda alınmıştır.

Çalışmada alt kültüre alınan eksplant oranı, sürgün sayıları ve yan sürgün uzunlukları açısından yapılan uygulamalar arasında istatistiki fark önemli bulunmamış, alt kültüre alınan eksplant oranında en yüksek değer WPM ortamında %69'a ulaşmıştır. Ana sürgün uzunluğu açısından uygulamalar arasındaki farklılık önemli bulunmuş, WPM, QL ve MS besi ortamlarında (sırasıyla 10.89 ± 0.55, 10.10 ± 0.68 ve 10.09 ± 0.35 mm) birbirine benzer değerler tespit edilmiş, NRM besi ortamında (7.16 ± 1.02 mm) en düşük ana sürgün uzunluğu görülmüştür. MS besi ortamında sürgün sayısı 2.10 ± 0.23'e ulaşmış ve yan sürgün uzunluğunda 3.32 ± 0.20 mm ile en başarılı sonuç elde edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Farklı besi ortamlarında sürgün gelişimi

Araştırmacılar tarafından bildirilen birçok sayıdaki besi ortamının arasında birkaçının kullanımı oldukça yaygındır. Bunlar arasında tütün bitkisi için geliştirilen ancak çok sayıda bitki tür ve çeşidi için kullanılan, yüksek tuz içeriğine sahip olan MS besi ortamı, *Prunus* türlerinde yapılan *in vitro* çalışmaların sürgün çoğaltım aşamasında en yangın olan ortamdır (Sauer 1985; Erbenova ve ark. 2001; Aka Kaçar ve ark. 2001; Tang ve ark. 2002; Hepaksoy 2004; Günal 2006; Demiral ve Ülger 2008; Büyükdemirci 2008; Ruzıć ve Vujovıć 2008; Fidancı ve ark. 2008; Sedlak ve ark. 2008). Bunun yanında odunsu bitkiler için geliştirilen WPM (Pevalek-Kozlina ve Jelaska 1987; Grant ve Hammatt 2000; Takashina ve ark. 2003; Ďurkovič 2006) ile *Prunus* türleri için geliştirilen QL (Pérez-Tornero ve ark. 2000a; Canlı ve Tian 2008) yaygın olarak kullanılan diğer ortamlardır. Ayrıca Almehdi ve Parfitt (1986) tarafından geliştirilen AP, Pérez-Tornero ve ark. (2000b)'nın yeni geliştirdikleri "M3", Nas ve Read (2004) tarafından geliştirilen NRM besi ortamları mikroçoğaltım çalışmalarında kullanılan ortamlar arasında yer alır.

P-HL A kiraz anacının mikroçoğaltımında farklı besi ortamları ile bitki büyüme düzenleyicilerinin sürgün çoğaltımı üzerine etkisini inceledikleri araştırmalarında, en yüksek çoğaltma oranının 5.4 sürgün sayısı ile 0.5 mgl^{-1} BAP destekli MS besi yerinden elde edildiğini, 5.3 sürgün ile 0.5 mgl^{-1} BAP içeren DKW ve 4.5 sürgün ile 1 mgl^{-1} BAP içeren MS besi ortamlarının takip ettiğini bildirmişlerdir.

Aktürk (2009), sürgün çoğaltımı üzerine değişik besi ortamlarının etkilerini araştırmak amacıyla WPM, MS, SH ve QL besi ortamlarını kullanmış, çalışmada WPM besi ortamında gelişen eksplantların dahasağlıklı ve canlı görüldüğünü ama MS besi ortamını alt kültüre alınan eksplant oranı (%96 ± 5) ve sürgün sayıları (3.0 ± 0.6) bakımından değerlendirmeye alarak en ideal besi yeri olarak belirlemiştir.

Kiraz sürgün çoğaltımında WPM, QL, MS ve NRM besi ortamlarını kullanarak yürüttüğümüz çalışmada, MS ve WPM besi ortamlarında gelişen sürgünlerin daha canlı ve ölçülen parametrelere göre benzer sonuçlara sahip olduğu tespit edilmiştir.

4.1.5. MS ve WPM Besi Ortamlarının Sürgün Çoğaltımına Etkisi

Önceki çalışma sonunda yakın sonuçlar veren MS ve WPM besi ortamları arasında daha iyi bir kıyaslama yapmak amacıyla deneye devam edilmiştir. Besi

ortamlarına ilave edilen 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 GA_3 ile çalışma sürdürülmüş, dört hafta sonra alınan sonuçlar Çizelge 4.5'de verilmiştir.

MS ve WPM besi ortamlarını kullanarak yürütülen bu deneyde birbirine benzer sonuçlar elde edilmiş ve tüm parametrelerde istatistiki farklılık önemli bulunmamıştır. Alt kültüre alınan eksplant oranında (%75.0 ± 11.2), ana sürgün (11.80 ± 0.66 mm) ve yan sürgün uzunluğunda (3.92 ± 0.39 mm) en iyi sonuçlar MS besi ortamında görülmüş, WPM besi ortamında sürgün sayısı 2.82 ± 0.38'e ulaşmıştır.

Çizelge 4.5. Maxma-14 klon anacında MS ve WPM besi ortamlarının sürgün gelişimine etkileri*

Besi Ortamları	Alt Kültüre Alınan Eksplant (%)	Sürgün Sayısı (adet)	Ana Sürgün Uzunluğu (mm)	Yan Sürgün Uzunluğu (mm)
WPM	75.0 ± 11.2	2.17 ± 0.30	11.80 ± 0.66	3.92 ± 0.39
MS	69.0 ± 12.0	2.82 ± 0.38	11.46 ± 0.44	3.60 ± 0.35
	F= 0.146 sd= 1, 30 P>0.05	F= 0.096 sd= 1, 30 P>0.05	F= 0.074 sd= 1, 21 P>0.05	F= 0.629 sd= 1, 32 P>0.05

* : Serilerde 16 eksplant kullanılmış, sonuçlar 4 haftanın sonunda alınmıştır.

Prunus türlerinde sürgün çoğaltımında en ideal besi ortamını belirlemek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Harada ve Murai (1996) tarafından *P.nume* ile sürgün çoğaltımında yapılan araştırmada MS ve WPM besi ortamlarının etkileri incelenmiş, *P.nume* için en ideal besi ortamının WPM olduğu bildirilmiştir. Channuntapipat ve ark. (2003), Ne Plus Ultra ve Nonpariel badem çeşitlerinde en ideal besi yerlerini belirlemek amacıyla MS, AP, WPM, QL ve TK besi yerlerini kullanmış; Nonpariel çeşidi için AP, Ne Plus Ultra çeşidi için ise MS besi yerinin ideal olduğunu tespit etmişlerdir. Adesoto 101 (*Prunus insititia* L.) anacında sürgün çoğaltımı üzerine *in vitro* araştırma yapan Andreu ve Marín (2005), MS, WPM ve QL besi ortamlarını denedikten sonra, MS ve WPM besi ortamlarında QL besi ortamına göre daha çok sürgün elde edildiğini bildirmişlerdir.

4.2. Maxma-14 Kiraz Anacında Köklendirme Çalışmaları

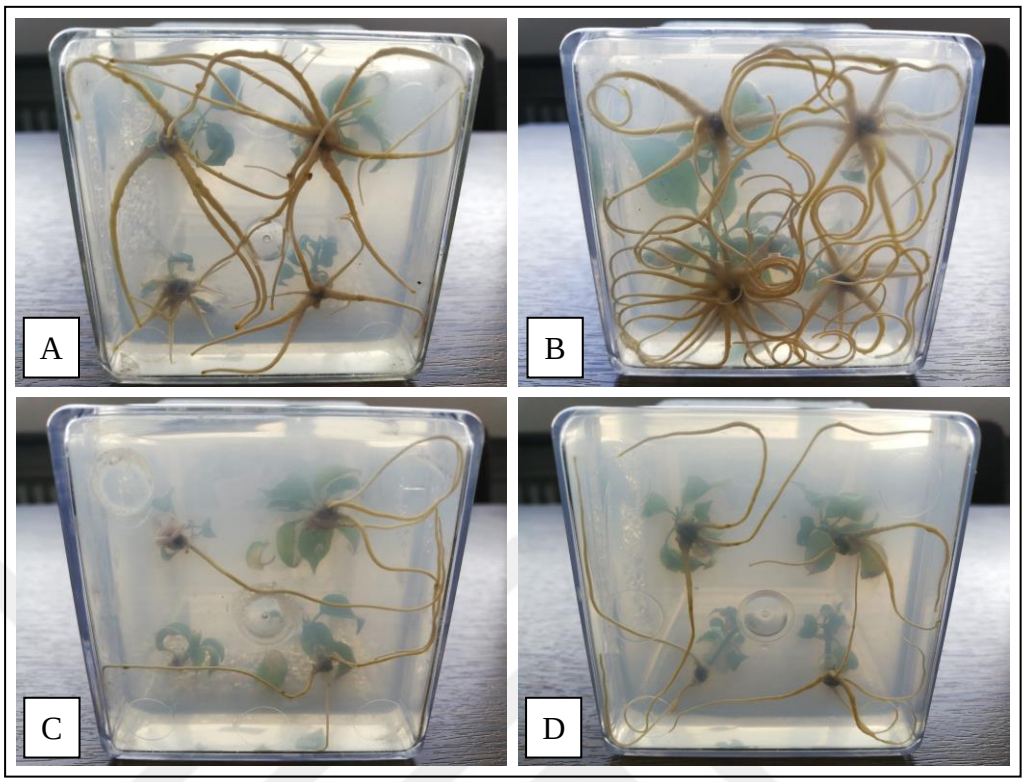
Köklendirme aşamasında farklı iki besi ortamı olarak MS ve WPM besi ortamları kullanılmıştır. Besi ortamlarına ilave edilen 1.0 mgl^{-1} NAA ve 1.0 mgl^{-1} IBA hormonlarının sürgünlerin köklenmesi üzerine etkileri araştırılmış ve çizelge 4.6'da dört hafta sonunda alınan sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 4.6. Maxma-14 klon anacında NAA ve IBA'nın sürgün köklenmesi üzerine etkileri*

Büyüme Düzenleyici ve Besi Ortamı	Köklenme Oranı (%)	Kök Sayısı (adet)	Kök Uzunluğu (mm)
1.0 mgl^{-1} NAA + WPM	81.0 ± 10.1 a	9.31 ± 1.44 a	20.23 ± 1.06
1.0 mgl^{-1} NAA + MS	63.0 ± 12.5 ab	8.90 ± 2.21 ab	28.66 ± 1.72
1.0 mgl^{-1} IBA + WPM	37.0 ± 12.5 b	3.33 ± 0.62 c	28.22 ± 4.73
1.0 mgl^{-1} IBA +MS	63.0 ± 12.5 ab	3.00 ± 0.42 bc	28.18 ± 3.35
	F= 2.260 sd= 3,60 P>0.05	F= 5.910 sd= 3, 60 P= 0.001	F= 2.573 sd= 3, 217 P>0.05

* : Serilerde 16 eksplant kullanılmış, sonuçlar 4 haftanın sonunda alınmıştır.

Köklenme oranı ve kök sayısında yapılan uygulamalarda istatistiki farklılık önemli bulunmuştur. En yüksek köklenme oranı %81 ± 10.1 ile 1.0 mgl^{-1} NAA ilaveli WPM besi ortamında elde edilmiştir. Kök sayısında en başarılı sonuç 1.0 mgl^{-1} NAA + WPM besi ortamında (9.31 ± 1.44) görülmüş, bunu 1.0 mgl^{-1} NAA ilaveli MS besi ortamı (8.90 ± 2.21) takip etmiştir. Ortalama kök uzunlukları arasındaki fark önemli bulunmamış, değerler 20.23 ± 1.06 mm ile 28.66 ± 1.72 mm arasında değişiklik göstermiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Farklı besi ortamı ve oksin uygulamalarında kök gelişimi
A: 1.0 mgl-1 NAA + WPM. **B**: 1.0 mgl-1 NAA + MS.
C: 1.0 mgl-1 IBA + WPM. **D**: 1.0 mgl-1 IBA + MS

Mikroçoğaltım çalışmalarında bitki türlerinde genellikle köklendirmenin teşviki için 0.1 mgl^{-1} ile 1.0 mgl^{-1} dozlarında IBA ya da NAA'ya ihtiyaç olduğu bilinmektedir (Mansuroğlu ve Gürel 2002). *Prunus* türlerinin *in vitro* köklendirilmesinde çoğunlukla kullanılan oksin IBA'dır. Muna ve ark. (1999), Maxma-14'ün *in vitro* çoğaltımı üzerine yaptıkları çalışmada köklendirme safhasında yarı ve tam yoğunluktaki MS besi yerinin sıvı ve katı formlarıyla değişik büyüme düzenleyici birleşimlerini denemiş, 0.5 mgl^{-1} IBA ile desteklenen yarı yoğunluktaki MS'in sıvı ortamında gelişen kök uzunluğunu 6.3 cm, kök sayısını 4.9 adet ve köklenme oranını %95 olarak saptamışlardır. Ďurkovič (2006), yabani kirazın köklendirme aşamasında yarım yoğunlukta WPM besi yerini kullanarak değişik IBA konsantrasyonlarıyla IBA ve 2.4-D birleşimlerini denemiş, köklenme oranının en iyi %73 ile 0.3 mgl^{-1} IBA eklenen ortamda olduğunu belirlemişlerdir. Buzkan ve ark. (1997), dört farklı kiraz anacının mikroçoğaltım çalışmalarının köklendirme aşamasında eksplantların 0.5 mgl^{-1} IBA bulunan ortamda

%50'sinin, 1.0 mgl^{-1} IBA bulunan ortamda ise %75-85'inin iyi bir köklenme kapasitesi ile her iki durumda da kuvvetli kök oluşturduğunu ve mahlep sürgünlerinin 0.5-1.0 mgl^{-1} IBA bulunan ortamda başarılı bir şekilde köklendirildiğini belirtmişlerdir. Fidancı ve ark. (2001), Maxma -14, Tabel Edabriz Gisela-5 kiraz anaçlarının köklendirme aşamasında, 1 mgl^{-1} IBA ile destekli yarı yoğunluktaki MS besi yerinde %100 oranında köklenmenin sağlandığını belirtmiş, ortalama kök sayısını 12 adet ve kök uzunluğunu 3.8 cm olarak saptamışlardır. Sülüşoğlu ve Çelik (2007) yürüttükleri çalışmalarında, sarı ve kara idris (*P.mahaleb*) anaçlarının köklendirilmesinde MS besi yerini kullanarak, farklı IBA dozlarını (0, 0.1, 0.5, 1.0 ve 2.0 mgl^{-1}) denemişlerdir. Kara idriste köklenme oranı en iyi birinci yıl 2.0 mgl^{-1} IBA ilaveli ortamda, ikinci yıl 0.5 mgl^{-1} IBA bulunan ortamda (iki yıl da %79) görülürken; sarı idriste en başarılı köklenme oranı iki yıl için de 2.0 mgl^{-1} IBA dozunda (%81, %92) elde edilmiştir.

Bazı araştırmacılar köklendirme çalışmalarında NAA kullanmış, bazıları ise IBA ve NAA'yı karşılaştırarak çalışmalarını yürütmüşlerdir. Zilkah ve ark. (1992) tarafından yürütülen çalışmada, *P.avium* ve *P.mahaleb* melezi olan üç klonal anacın köklendirilmesinde 0.5 mgl^{-1} NAA bulunan yarı yoğunlukta MS besi yeri kullanılmıştır. Bhagwat ve Lane (2004), Sweetheart ve Lapins kiraz çeşitlerinin köklendirilmesinde 0.5 mgl^{-1} NAA dozunu ilave etmiş, Sweetheart kiraz çeşidinde %20, Lapins çeşidinde ise %85 oranında köklenme olduğunu belirtmişlerdir. Demiral ve Ülger (2008) tarafından, Gisela-5 kiraz anacının köklendirme aşamasında temel besi ortamında farklı konsantrasyonlarda NAA (0, 1, 2, 4 ve 6 mgl^{-1}) kullanılmış, en yüksek köklenme oranının %92.88 ile 6 mgl^{-1} NAA içeren besi ortamında görüldüğü tespit edilmiştir.

Kiraz ve vişne çeşitlerinde rejenerasyon çalışmaları üzerine yürütülen çalışmalarında Tang ve ark. (2002), köklendirme aşaması için 2.0 mgl^{-1} IBA veya NAA ile desteklenen MS besi yerinden faydalanmışlar ve yarı yoğunluktaki MS besi ortamında iki oksinin de eklenmesiyle yeterli oranda köklendirmenin sağlandığını belirtmişlerdir. Canlı ve Tian (2008), beş kiraz çeşidinde olgun kotiledonlardan sürgün rejenerasyonunu sağlayarak, sürgünlerin köklenmesinde 3 mgl^{-1} IBA veya 1 mgl^{-1} NAA bulunan ½ MS besi ortamını kullanmışlardır. Araştırmada üç kiraz çeşidininde 1 mgl^{-1} NAA bulunan ortamda, 3 mgl^{-1} IBA bulunan ortama nazaran daha iyi köklenme sağladığını, bir çeşitte köklerin oluşumu hiç görülmezken diğer çeşitlerde ise köklenme oranının %22-40 gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Fidancı ve ark. (2008) tarafından

yürütülen çalışmada; Maxma-14, Tabel Edabriz ve Gisela-5 klonal kiraz anaçlarının köklenme safhasında MS besi yerinin yarı ve tam yoğunluklarıyla NAA ve IBA dozlarını kullanarak, 1.0 mgl^{-1} IBA destekli MS ortamında 3 haftada %95-100 oranında köklenme olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda MS ve WPM besi ortamlarına eklenen oksin grubundan NAA ve IBA'nın sürgün köklenmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Her iki bitki büyüme düzenleyicisi dikkate alındığında en yüksek köklenme oranının (%81 ± 10.1) ve kök sayısının (9.31 ± 1.44) 1.0 mgl^{-1} NAA + WPM kombinasyonu ile hazırlanan besi ortamında elde edilmiş, ortalama kök uzunluğunda ise zıt olarak en düşük (20.23 ± 1.06 mm) uzunluk görülmüştür.

4.3. Dış Ortama Alıştırma (Aklimatizasyon)

Köklenme ortamında dört hafta kalarak köklenen bitkiler, dış koşullara alıştırma amacıyla, siyah poşetlere (10x12 cm) konulan torf ortamına dikilmiş ve üzeri şeffaf plastik bardaklar ile kapatılarak nem kontrolü sağlanmış, büyüme odasına bırakılmıştır.

Dikimden dört gün sonra plastik bardaklara her gün yaklaşık 3-4 mm çapında delik açılarak giderek artan bir havalanma sağlanmıştır. İki hafta devam eden bu işlemin ardından plastik bardaklar tamamen kaldırılmıştır (Şekil 4.5).

Yeteri kadar köklenmiş bitki elde edilemediğinden alıştırma aşaması için deney planlanmamış olup, az sayıdaki bitki gelişimleri izlenmek üzere muhafaza edilmiştir.



Şekil 4.5. Maxma-14 anacında *in vitro* çoğaltım aşamaları

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Maxma-14 kiraz anacında yapılan ilk deneyde, sitokininlerden BAP'ın dört farklı konsantrasyonunun MS besi ortamına ilavesiyle çalışma yürütülmüştür. Alt kültüre alınan eksplant oranında ve sürgün sayısında en yüksek değerler 1 mgl^{-1} BAP hormon konsantrasyonunda görülmüştür. Yüksek BAP konsantrasyonunun sürgün çoğaltımına negatif yönde etki ettiği tespit edilmiştir.

BAP ve GA_3 kombinasyonlarının MS besi ortamına eklenerek yürütüldüğü denemede, uygulamalar arasında birbirine yakın değerler elde edilmiştir. Çalışmada üç kombinasyon (1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 mgl^{-1} GA_3, 2.0 mgl^{-1} BAP + 0.5 mgl^{-1} GA_3, ve 2.0 mgl^{-1} BAP + 1.0 mgl^{-1} GA_3) öne çıkmış, *in vitro* çalışmalar için diğer araştırmalarda 1.0 mgl^{-1} BAP + 0.3 GA_3 kombinasyonu ile desteklenen besi ortamı kullanılmıştır.

Farklı yoğunluklardaki ışık şiddeti (4500, 6000 ve 7500 lux) içerisinde sürgün gelişimine en uygun ışık yoğunluğu 6000 lux olarak belirlenmiş, yüksek ışık şiddetinin (7500 lux) sürgünlerin canlılığını olumsuz etkilediği saptanmıştır.

MS, WPM, QL ve NRM besi ortamları ile yürütülen çalışmada, MS ve WPM ortamlarında gelişen eksplantlarda gelişme daha iyi ve sürgünlerin daha canlı olduğu görülmüştür.

Köklendirme aşamasında MS ve WPM besi ortamlarına ilave edilen NAA ve IBA ile yürütülen çalışmada, en yüksek köklendirme oranı %81 ± 10.1 ve kök sayısı 9.31 ± 1.44 adet olarak 1.0 mgl^{-1} NAA + WPM besi ortamında elde edilirken, MS besi ortamlarında gelişen köklerin daha uzun ve kalın olduğu tespit edilmiştir. Dört haftalık köklendirme aşaması sonunda oluşan kökler uzun ve kırılgan olduğu için bu safhanın daha kısa tutularak köklerin ilk oluştuğu dönemde *in vivo* aşamaya geçilmesi uygundur.

Araştırmanın devamında, mikroçoğaltım çalışmalarının son aşaması olan alıştırma (aklimatizasyon) çalışmalarının yapılmasında ve mikroçoğaltım protokolünün belirlenmesinde yarar vardır.

6. KAYNAKLAR

Aka Kaçar, Y., Yalçın Mendi, Y., Yılmaz, N., Küden, A., Çetiner, S. 2001. *In vitro* Besi Ortamında Kullanılan Değişik Katılaştırıcıları Maddelerinin ve Farklı pH Düzeylerinin Bazı Kiraz (*Prunus avium* L.) Anaçlarının Çoğaltılması Üzerine Etkileri. I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu, 25-28 Eylül 2001, 161-166, Yalova.

Aktürk, Z. 2009. Kirazın (*Prunus avium* L.) *in vitro* mikroçoğaltımı. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, 173s.

Aktürk, Z., Onay, A., Yıldırım, H. 2019. Kiraz Tomurcuklarında Kültür Başlatılmasına Bazı Sitokininlerin Etkisi. Iğdır Üniversitesi, ***Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi***, 9(1): 150-157.

Alkan Torun, A., Aka Kaçar, Y., Çakmak, Ö., Şimşek, Ö., Erdem, H., Yardım, P., Tolay, İ. 2009. *İn vitro* Doku Kültürü ve Su Kültürü Koşullarında Maxma-14 Kiraz Anacına Artan Dozlarda Uygulanan Kadmiyum'un Bitki Büyümesi ve Kadmiyum Alımına Etkisi. ***HR.Ü.Z.F.Dergisi***, 13(4): 1-11.

Almehdi, A. A., Parfitt, D. E. 1986. *In vitro* Propagation of Peach: I. Propagation of "Lovell" and "Nemaguard" Peach Rootstocks. ***Fruit Varieties Journal***, 40(1): 12-17.

Andreu, P., Marin, J. A. 2005. *In vitro* Culture Establishment and multiplication of the *Prunus* Rootstock "Adesoto 101" (*P. insititia* L.) as Affected by Type of Propagation of the Donor Plant and by the Culture Medium Composition. ***Scientia Horticulturae***, 106: 258-267.

Anonim, 2019a. http://www.bademlikoop.org.tr/kiraz-visne-yetistiriciligi/.

Anonim, 2019b. Food and Agrıculture Organization of the United Nations Production Statistics, http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC. 12.04.2019

Anonim, 2019c. Türkiye İstatistik Kurumu. Bitkisel Üretim İstatistikleri, http://www.tuik.gov.tr/Start.do. 12.04.2019

Arıcı, Ş. E. 2008. Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü ile Çoğaltılması. Süleyman Demirel Üniversitesi, ***Ziraat Fakültesi Dergisi***, 3(1): 19-23.

Bhagwat, B., Lane, W. D. 2004. *In vitro* Shoot Regeneration from Leaves of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) "Lapins" and "Sweetheart". ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture***, 78(2): 173-181.

Bouzari, N., Abdollahi, H., Mahdavian, M. 2009. Micropropagation of a Dwarfing Cherry Rootstock. http://www.belsad.by/conference2/files/1/1.pdf

Buzkan, N., Yalçın-Mendi, Y., Çetiner S., Di Terlizzi B. 1997. Clonal Propagation of Disease-Free Rootstocks for Sour and Sweet Cherry by Meristem Culture. ***Acta Hort.***, 441: 329-331.

Büyükdemirci, H. 2008. The Effects of Medium Ingredients on Shoot Propagation and Rooting of Cherry Rootstocks *in vitro*. ***Acta Hort.***, 795: 419-422.

Canlı, F. A., Tian, L. 2008. *In vitro* Shoot Regeneration from Stored Mature Cotyledons of Sweet Cherry (*Prunus avium* L.) Cultivars. ***Scientia Hort.***, 116: 34-40.

Channuntapipat, C., Sedgley, M., Collins, G. 2003. Micropropagation of Almond Cultivars Nonpareil and Ne Plus Ultra and the Hybrid Rootstock Titan x Nemaguard. ***Scientia Horticulturae***, 98: 473-484.

Demir, F., 2013. Maxma-14 (*Prunus mahaleb* L. *x Prunus avium* L.) ve Mazzard F12-1 (*P.avium* L.) Kiraz Anaçlarının *in vitro* Çoğaltımı ve Rejenerasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı Isparta, 62s.

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

Driver, J. A., Kuniyuki, A. H. 1984. *In vitro* Propagation of Paradox Walnut Rootstock. ***HortScience***, 18(4): 506-509.

Dunstan, A. I. 1981. Transplantation and post-transplantation of micropropagated tree-fruit rootstocks. Intern. ***Plant prop. Soc. Combined Proc***., 31: 39-45.

Ďurkovič, J. 2006. Rapid Mikropropagation of Mature Wild Cherry. ***Biologia Plantarum***, 50(4): 733-736.

Erbenová, M., Paprstein, F., Sedlák, J. 2001. *In vitro* Propagation of Dwarfed Rootstocks for Sweet Cherry. ***Acta Horticulturae***, 560: 477-480.

Eroğul, D. 2012. Kiraz Yetiştiriciliğinde Anaçların Kullanımı**.** Adnan Menderes Üniversitesi, ***Ziraat Fakültesi Dergisi***; 9(2) : 19 – 24.

Fidancı, A., Burak, M., Erenoğlu, B. 2001. Bazı Klonal Kiraz ve Vişne Anaçlarının *in vitro*'da Hızlı Çoğaltım Tekniklerinin Belirlenmesi (I. Aşama). I. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu, 25-28 Eylül, 181-186, Yalova.

Fidancı, A., Burak, M., Erenoğlu, B., Akçay, M. E. 2008. Determination of *in vitro* Propagation Techniques of Some Clonal Sweet and Sour Cherry Rootstocks. ***Acta Hort.***, 795: 409-412.

George, E. F., Hall, M. A., Klerk, G., 2008, Plant Propagation By Tissue Culture, Springer, 504p.

Grant, N. J., Hammatt, N. 1999. Increased Root and Shoot Production During Micropropagation of Cherry and Apple Rootstocks: Effect of Subculture Frequency. ***Tree Physiology***, 19(13): 899-903.

Grant, N. J., Hammatt, N. 2000. Adventitious Shoot Development from Wild Cherry (*Prunus avium* L.) Leaves. ***New Forest***, 20(3): 287-295.

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

Günal, F. 2006. Gisela-5 (*P. cerasus x P. canescens*) ve Maxma-14 (*P. mahaleb*) Anaçlarından *in vitro*'da Sürgün Elde Edilmesi Üzerine Değişik BAP ve 2,4- D Düzeylerinin Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Isparta, 67s.

Hammatt, N., Grant, N. J. 1993. Apparent Rejuvenation of Mature Wild Cherry (*Prunus avium* L.) During Micropropagation. ***Journal of Plant Physiology***, 141(3): 341-346.

Hammatt, N., Grant, N. J. 1997. Micropropagation of Mature British Wild Cherry. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture***, 47(2): 103-110.

Han, B.H., Choi, S.L. and Joung, H.Y., 1998. In vitro propagation of Veriesea cv. Christiane, and Guzmania cv. Beteroniana and cherry by axillary shoot culture. ***RDA J. of Horticulturae Science***, 40(1): 66-70.

Harada, H., Murai, Y. 1996. Micropropagation of *Prunus mume*. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture,*** 46(3): 265-267.

Hepaksoy, S. 2004. Maxma-14 Kiraz Anacının *in vitro* Üretimi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, ***Anadolu J. of AARI***, 14(2): 67-80.

Hepaksoy, S. 2004. Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar I. Gelişme ve Çoğalma. Ege Üniversitesi, ***Ziraat Fakültesi Dergisi***, 41(3): 11-22

Hepaksoy, S., Tanrısever, A. 2004. Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar II. Köklenme ve Dış Koşullara Alıştırma. Ege Üniversitesi, ***Ziraat Fakültesi Dergisi,*** 41(3): 23-34.

Lezzoni, A., Schmid, H., Albertini, A. 1991. Cherries (*Prunus*) in: Genetic resources of temperate fruits and nuts. ***Acta Horticulturae***. 290:111-176.

Mansuroğlu, S., Gürel, E. 2002. Mikroçoğaltım. (Edt.) M. Babaoğlu, E.Gürel, S. Özcan. Bitki Biyoteknolojisi I – Doku Kültürü ve Uygulamaları. Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 374 s. Murashige, T., Skoog, F. A. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. ***Physiologia Plantarum***, 15: 473-497.

Muna, A. S., Ahmad, A. K., Mahmoud, K., Abdul-Rahman, K. 1999. *In vitro* Propagation of a Semi-Dwarfing Cherry Rootstock. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture***, 59: 203-208.

Özbek, S. 1978. Özel Meyvecilik. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 128, Ders Kitabı: 11, Adana, 486 s.

Özçağıran, R., Ünal, A., Özeker, E., İsfendiyaroğlu, M. 2003. Ilıman İklim Meyve Türleri (Sert Çekirdekli Meyveler) Cilt-1. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 553, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 229 s.

Pedrotti, E. L., Allemand, C. J., Doumas, P., Cornu, D. 1994. Effect of Autoclaving Aminoacids on *in vitro* Rooting Response of Wild Cherry Shoot. ***Scientia Hort.***, 57(1-2): 89-98.

Pérez-Tornero, O., Egea, J., Vanoostende; A., Burgos L. 2000a. Assesment of Factors Affecting Adventitious Shoot Regeneration from *in vitro* Cultured Leaves of Apricot. ***Plant Science***, 158: 61-70.

Pérez-Tornero, O., Lopez, J. M., Egea, J., Burgos, L. 2000b. Effect of Basal Media and Growth Regulators on the *in vitro* Propagation of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. Canino. ***Journal of Horticultural Science & Biotechnology***, 75(3): 283-286.

Pevalek-Kozlina, B., Jelaska, S. 1987. Microclonal Propagation of *Prunus avium* L. ***Acta Horticulturae***, 212: 599-602.

Ranjit, M., Kester, D. E. 1988. Micropropagation of cherry roktstocks. II. Invigoration and enhanced rooting of 46-1. Mazzard by co-culture with colt.. ***J. Amer. Soc. Hort. Sci.*** 113(1): 150-154.

Riffaud, J.L., Cornu, D., 1981. Utilisation de la culture in vitro pour multiplication de meristem adult (P. avium) selectionnés en forêt. ***Agronomie,*** 1(8): 633 - 640.

Ružić, Đ., Cerović, R. 1998. Influence of Agar Brands and Concentration on *in vitro* Shoot Multiplication of the Cherry Rootstock Gisela-5. ***Acta Hort.***, 468: 209-216.

Ružić, Đ., Sarić, M., Cerović, R., Ćulafić, L. 2000. Relationship Between the Concentration of Macroelements, Their Uptake and Multiplication of Cherry Rootstock Gisela-5 *in vitro*. ***Plant Cell, Tissue and Organ Culture****,* 63: 9-14.

Ružić, Đ., Sarić, M., Cerović, R., Ćulafić, L. 2003/4. Contents of Macroelements and Growth of Cherry Rootstock *in vitro*. ***Biologia Plantarum****,* 47(3): 463-465.

Ružić, D. J., Lazić, T. I., Cerović, R. M. 2005. Micropagation of Some *Prunus* and *Pyrus* Genotypes *in vitro* as Affected by Different Carbon Sources. ***Acta Hort.****,* 795: 409-412.

Ružıć D., Vujovıć, T. I. 2008. The Effects of Cytokinin Types and Their Concentration on *in vitro* Multiplication of Sweet Cherry cv. Lapins (*Prunus avium* L.). ***Hort. Sci. (Praque)****,* 35(1): 12–21

Sauer, A. 1985. *In vitro* Propagation of *Prunus avium* L. and Storage of *in vitro* Derived Plantlets. ***Acta Hort.****,* 169:351.

Sedlák, J., Paprštein F. 2008. *In vitro S*hoot Proliferation of Sweet Cherry Cultivars Karešova and Rivan. ***Horticulturae Science (Prague),*** 35(3): 95–98

Sedlák, J., Paprštein, F., Erbenova, M. 2008. *In Vitro* Propagation of the P-HL Dwarfing Sweet Cherry Rootstocks. ***Acta Hort.****,* 795: 395-399.

Sülüşoğlu, M., Çelik M. 2007. Kara ve Sarı İdris Anaçlarının Mikro Sürgünlerinin Köklendirilmesi ve Adaptasyonu Üzerinde Araştırmalar. Türkiye 5. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, 04-07 Eylül 2007, Erzurum.

Takashina T., Nakano, H., Kato, R. 2003. Efficient Plant Regeneration Culture from Leaf Explants of *in vitro* Grown Sweet Cherry. ***Acta Horticulturae****,* 622:168-173.

Tang, H., Ren, Z., Reustle, G., Krczal, G. 2002. Plant Regeneration from Leaves of Sweet and Sour Cherry Cultivars. ***Scientia Horticulturae****,* 93: 235-244.

Tricoli, D. M., Maynard C. A., Drew A. P. 1985. Tissue Culture of Propagation of Mature Trees of *Prunus serotina* Ehrh. I. Establishment, Multiplication, and Rooting *in vitro*. ***Forest Science****,* 31(1): 201-208.

Xilogiannis, C., Xilogiannis, A., Mpalas, E. 2008. Micropropagation of Two Cherry Rootstocks and Their Behaviour in the Nursery and in the Orchard. ***Acta Hort.****,* 795(1): 429-434

Zilkah, S., Faingersh, E., Rotbaum, A. 1992. *In vitro* Propagation of Three MxM (*Prunus avium* x *P. mahaleb*) Cherry Rootstocks. ***Acta Hort.****,* 314: 201-208.

ÖZGEÇMİŞ

Diyarbakır'da 1988 yılında doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise öğrenimimi Diyarbakır'da tamamladı. 2008 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümünü kazanıp üç dönem devam etti ve 2010 yılında Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ziraat Mühendisliği Bölümüne geçiş yaptı. Ziraat Mühendisi unvanını alarak 2012 yılında 'Fakülte Birinciliği' ile mezun oldu. Siverek Tarım ve Orman İlçe Müdürlüğü'nde 2016 yılında Ziraat Mühendisi unvanıyla göreve başlayıp halen bu görevine devam etmektedir.

Filiz AKBABA

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ İNTİHAL FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Filiz AKBABA
ÖĞRENCİ NO	16809001
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2018-2019
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI	Bahçe Bitkileri
PROGRAM	Yüksek Lisans
TEZ KONUSU	Maxma-14 Kiraz Anacının Farklı Besi Ortamları ve Işık Şiddetlerinde Mikroçoğaltımı
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	58
BENZERLİK ORANI	%24
RAPORLAMA TARİHİ	10/07/ 2019

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 58 sayfalık kısmına ilişkin, 10/07/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 24'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

☐ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☐ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Filiz AKBABA
10.07.2019

Dr. Öğr. Üyesi Zafer AKTÜRK
Tez Danışmanı
10.07.2019

Prof. Dr. Mikdat ŞİMŞEK
Anabilim Dalı Başkanı
2.6./07./2019

Formdaki bilgiler bilgisayar ortamında doldurulmalıdır. El yazısı ile doldurulan formlar geçersiz sayılmaktadır.