



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi (Research Article)

**Bazı Turunçgil Melezlerinin *in vitro* Koşullarda Mikroçoğaltım ve Köklenme Performanslarının Araştırılması\*\***

**Oğuzcan KURTULUŞ<sup>1</sup>, Dicle DÖNMEZ<sup>2</sup>, Belgin BİÇEN<sup>3</sup>, Özhan ŞİMŞEK<sup>4</sup>, Berken ÇİMEN<sup>5</sup>, Turgut YEŞİLOĞLU<sup>6</sup>, Ayzin KÜDEN<sup>7</sup>, Yıldız AKA KAÇAR<sup>\*8</sup>**

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 01330, Adana, Türkiye

<sup>2,3,7</sup>Çukurova Üniversitesi, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, 01330, Adana, Türkiye

<sup>4</sup>Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 38280, Kayseri, Türkiye

<sup>5,6,7,8</sup>Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 01330, Adana, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-9183-610X> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-7446-9405> <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0001-8931-4759>

<sup>4</sup><https://orcid.org/0000-0001-5552-095X> <sup>5</sup><https://orcid.org/0000-0002-9376-1823> <sup>6</sup><https://orcid.org/0000-0001-5820-838X>

<sup>7</sup><https://orcid.org/0000-0002-0811-6695> <sup>8</sup><https://orcid.org/0000-0001-5314-7952>

\*Sorumlu yazar: [ykacar@cu.edu.tr](mailto:ykacar@cu.edu.tr)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 14.10.2020

Kabul: 28.01.2021

Online Yayınlanma 30.03.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.810784

**Anahtar kelimeler**

Bitki doku kültürü,  
Köklenme,  
Mikroçoğaltım.

**Öz:** Turunçgiller yetiştiriciliği yapılan en önemli ve yüksek tür çeşitliliğine sahip meyve gruplarından biridir. Taze olarak tüketilmesi ve farklı endüstrilerde ham madde olarak kullanılması turunçgillerin önemini artırmaktadır. Bu nedenle turunçgillerde yeni çeşit ve anaç geliştirme çalışmaları oldukça önemlidir. Melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen değerli bitkilerin çoğaltılması için bitki doku kültürü çalışmaları güçlü bir alternatiftir. Bu çalışmada, Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melezlerinin *in vitro* koşullarda mikroçoğaltımında genotip ve farklı besin ortamlarının (Murashige and Skoog Medium -MS, Woody Plant Medium -WPM, Rugini Olive Medium -ROM) etkisi incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin köklendirilmesi üzerine genotip ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerin (indol bütirik asit - IBA ve naftalen asetik asit - NAA) etkisi araştırılmıştır. Elde edilen köklü bitkiler dış koşullara alıştırmıştır. Çalışmada kullanılan genotiplerden mikroçoğaltım aşamasında en başarılı genotipler SR-60 ve SR-75 olurken, köklenme aşamasında en başarılı genotipler SR-41, SR-47 ve SR-60 olmuştur. Besin ortamlarının mikroçoğaltım üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Köklenme denemelerinde bitki boyu ve kök uzunluğu için en başarılı bitki büyüme düzenleyici IBA, kök sayısı için en başarılı bitki büyüme düzenleyici ise NAA olarak belirlenmiştir.

**Investigation of Micropropagation and Rooting Performances of Some Citrus Hybrids in *in vitro* Conditions**

**Article Info**

Received: 14.10.2020

Accepted: 28.01.2021

Online Published 30.03.2021

DOI: 10.29133/yyutbd.810784

**Keywords**

Plant tissue culture,

**Abstract:** Citrus is one of the most important fruit species that is cultivated and has a high species diversity. Consuming fresh and using as a raw material in different industries increases the importance of citrus fruits. Therefore, development of new varieties and rootstocks in citrus fruits is very important. Plant tissue culture studies are a powerful alternative to reproduce valuable plants obtained as a result of crossbreeding studies. In this study, the effect of genotype and media on micropropagation performances of Sunki mandarin X Rubidoux trifoliolate hybrids (Murashige and Skoog Medium -MS, Woody Plant Medium -WPM, Rugini Olive Medium -ROM) were investigated. In addition, the effect of genotype and different plant growth regulators (indole butyric acid

Rooting,  
Micropropagation.

- IBA and naphthalene acetic acid - NAA) on rooting of plants was investigated. Rooted plants acclimatized to greenhouse conditions. Among the genotypes, the most successful genotypes were SR-60 and SR-75 in the micropropagation stage, while the most successful genotypes were SR-41, SR-47 and SR-60 in the rooting stage. The effect of nutrient media on micropropagation was found statistically insignificant ( $P < 0.05$ ). In rooting assay, the most successful plant growth regulator for plant height and root length was determined as IBA, and the most successful plant growth regulator for root number was determined as NAA.

\*\* Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

## 1. Giriş

Turunçgiller yüksek besin değeri ve yüksek üretim potansiyeli ile yetiştiriciliği yapılan en önemli meyve gruplarından biridir. Turunçgillerin sahip olduğu tür ve çeşit zenginliği, meyvelerinin olgunlaşmasının uzun bir döneme yayılması ve olgunlaşan meyvelerin ağaç üzerinde bekletilebilmesi turunçgillerin önemini artırmakta ve dünyada yetiştiriciliği yapılan önemli meyve gruplarından biri olmasını sağlamaktadır (Şimşek ve ark., 2018). Turunçgiller, ticari önemini sağlık açısından büyük değeri olan, taze tüketilen veya meyve suyu elde etmek için preslenmiş meyvelerinden almaktadır. Ayrıca, kabuklarından şekerleme yapılabilen, canlı hayvan yemi olarak, parfümerilerde, fırınlarda ve sabun endüstrisinde kullanılmaktadır (Iqbal ve ark., 2019).

Turunçgiller, yaygın coğrafi dağılımları ve bu nedenle değişken toprak-iklim koşulları altında yetiştirilmeleri nedeniyle, nihai üretime zarar veren ve meyve kalitesini düşüren abiyotik ve biyotik streslerle karşı karşıyadır (Ayadi ve ark., 2016). Buna ek olarak, Türkiye’de mevcut turunçgil çeşitlerinde meyve hasat zamanı, meyve irilik ve kaliteyle ilgili problemler vardır. Özellikle iri ve çekirdeksiz çeşitlerin dünya pazarlarında kolay ve iyi fiyatlarla ihraç edilebildiği bilinen bir gerçektir. Bu nedenle yeni çeşit geliştirme programlarının yapılarak erkenci; orta-geçci ve verimi yüksek çeşitlerin turunçgil sektörüne kazandırılması ihtiyacı doğmuştur. Turunçgil endüstrisi gelişmiş ülkelerde, turunçgil çeşit/anaç ıslahına yönelik çalışmalar uzun yıllardan beri sürdürülmektedir (Yeşiloğlu ve ark., 2013). Ülkemizde de melezleme çalışmaları ile yeni turunçgil çeşit/anaçlarının elde edilmesine yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

Bitki ıslahında daha iyi kazanımlar elde edebilmek için bitki doku kültürü çalışmalarının da yer aldığı modern biyoteknolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bitki doku kültürü teknikleri ıslah yoluyla yeni çeşitlerin geliştirilmesi için temel bir araç olarak karşımıza çıkmaktadır (Dönmez ve ark., 2016). Bitki doku kültürü teknikleri içerisinde yer alan mikroçoğaltım, çeşitli ekonomik bitkilerin hızlı klonal çoğaltılması, germplazmın korunması için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Ayrıca, melezleme çalışmaları sonrasında elde edilen değerli materyallerin çoğaltılmasında mikroçoğaltım güçlü bir araçtır.

Bu çalışmada, Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine genotip ve farklı besin ortamlarının (MS, WPM ve ROM) etkisi incelenmiştir. Ayrıca, köklenme üzerine genotip ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin (IBA ve NAA) etkisi araştırılmıştır.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak Sunki mandarin (*Citrus sunki*) X Rubidoux üç yapraklı (*Poncirus trifoliata* var. Rubidoux) melezlerinden 22 genotip kullanılmıştır.

### 2.2. Yöntem

#### 2.2.1. Sürgün uçlarının sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan melez bireylere ait sürgün uçları aktif sürgün döneminde alınarak laboratuvara getirilmiştir. Bitkisel materyale ait sürgün uçları kültüre alınmadan önce yüzey

sterilizasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla laboratuvara getirilen sürgün uçları çeşme suyu altında 10 dk yıkanmış, ardından %70'lik etil alkolde 3 dk, daha sonra %20'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dk bekletilmiştir. Son olarak sterilant maddelerin uzaklaştırılması amacıyla steril kabin içerisinde 3 defa steril saf su ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir.

### 2.2.2. Besin ortamı ve kültür koşulları

Yüzey sterilizasyonu tamamlanan sürgün uçları 1mg/l BAP (6-benzilaminopurin) içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Besin ortamına 30 g/l sukroz, 0.5 g/l malt ekstraktı ve 7 g/l agar eklenerek pH 5.7'ye ayarlanmıştır. Besin ortamları kültür kaplarına dökülerek 121 °C'de ve 1.05 atm basınçta otoklavda steril edilmiştir. Steril edilen besin ortamlarında sürgün uçları kültüre alınmıştır. Sürgün uçları, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 25±2 °C koşullarında kültüre alınmıştır. Mikroçoğaltım ve köklenme denemelerinde de bitkiler bu koşullarda kültüre alınmıştır.

Farklı besin ortamlarının ve genotipin melez turunçgil bireylerinin mikroçoğaltımı üzerine etkisini belirlemek amacıyla kurulan denemelerde ilk olarak başlangıç materyalleri MS besin ortamında çoğaltılmıştır ve elde edilen bitkiler ile mikroçoğaltım denemeleri yürütülmüştür.

### 2.2.3. Mikroçoğaltım denemelerinin kurulması

#### 2.2.3.1. Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine genotipin etkisi

Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine genotipin etkisini belirlemek amacıyla 22 farklı Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melezi 1 mg/l BA içeren MS besin ortamında çoğaltılmıştır. Bitkicikler dört haftada bir olmak üzere toplamda 3 defa altkültüre alınmıştır. Denemede kullanılan genotipler Çizelge 1'de sunulmuştur.

Çizelge 1. Mikroçoğaltım üzerine genotip etkisinin belirlenmesinde kullanılan bitkiler

No	Genotip kodu	No	Genotip kodu	No	Genotip kodu
1	SR-2	9	SR-61	16	SR-86
2	SR-5	10	SR-63	17	SR-87
3	SR-34	11	SR-69	18	SR-91
4	SR-41	12	SR-72	19	SR-92
5	SR-47	13	SR-75	20	SR-94
6	SR-49	14	SR-82	21	SR-98
7	SR-56	15	SR-83	22	SR-99
8	SR-60				

#### 2.2.3.2. Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine farklı besin ortamlarının ve genotipin etkisi

Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine farklı besin ortamlarının ve genotipin etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen denemelerde kullanılan genotipler, kültüre alınan 22 genotip arasından çoğalma performansı yüksek ve denemeler için yeterli sayıda bitki elde edilen genotiplerden seçilmiştir. Denemede, 4 farklı Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melezi MS, WPM ve ROM besin ortamlarında çoğaltılmıştır (Çizelge 2). Bitkicikler dört haftada bir olmak üzere toplamda 3 defa altkültüre alınmıştır.

Çizelge 2. MS, WPM ve ROM ortamlarında çoğaltılan genotipler

No	Genotip kodu
1	SR-60
2	SR-69
3	SR-75
4	SR-86

## 2.2.4. Köklenme denemelerinin kurulması

Turunçgil melezlerinin köklendirilmesi üzerine genotip ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkisini belirlemek amacıyla MS besin ortamlarına 1 mg/l IBA veya 1 mg/l NAA ilave edilmiştir. Mikroçoğaltım denemeleri sonucunda köklendirme denemesi için yeterli sayıda bitki elde edilen genotipler ile köklendirme denemeleri kurulmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicileri ve genotip etkisinin belirlenmesinde kullanılan genotipler

No	Genotip kodu	No	Genotip kodu
1	SR-41	6	SR-69
2	SR-47	7	SR-75
3	SR-49	8	SR-82
4	SR-60	9	SR-86
5	SR-63		

## 2.2.5. Bitkilerin dış koşullara alıştırılması

Köklenen bitkiler dış koşullara aktarılmadan önce bitkilerin bulunduğu kültür kaplarının kapakları kademeli olarak açılmış, laboratuvarında ön alıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bitkiler su ile agardan tamamen uzaklaştırıldıktan sonra serada 1:1 oranda steril torf:perlit karışımı içeren viyollere aktarılmıştır. Her besin ortamından gelen bitkiler ayrı ayrı viyollerde gözlenmiştir

## 2.2.6. Deneme planı, incelenen kriterler ve istatistik analizleri

Çalışmada, melez turunçgil bireylerinin *in vitro* koşullarda çoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine farklı genotip ve besin ortamlarının etkisi karşılaştırılmıştır. Bu amaçla, denemelerin tamamı 3 tekerrürlü olacak şekilde, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Mikroçoğaltım denemelerinde 4 haftada bir olmak üzere 3 altkültür yapılmıştır. Her altkültür sonunda 20'şer bitki incelenmiştir. İstatistik analizlerde altkültürlerin ortalamaları alınmıştır.

Mikroçoğaltım denemelerinde her altkültür sonunda;

- Mikroçoğaltım oranı (bitkicik/bitki)
- Bitki boyu (cm)
- Köklenme denemelerinde, bitkiler kültüre alındıktan 6 hafta sonra;
- Bitki uzunluğu (cm),
- Kök sayısı (adet),
- Kök uzunluğu (cm) parametreleri incelenmiştir.

Çalışmada elde edilen veriler ile varyans analizleri gerçekleştirilmiştir. Önemli çıkan ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD testi ile belirlenmiştir. İstatistik analizlerinde JMP 8.01 programı kullanılmıştır.

## 3. Bulgular

### 3.1. Mikroçoğaltım denemelerine ait bulgular

#### 3.1.1. Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine genotipin etkisinin belirlenmesine ait bulgular

Genotipin mikroçoğaltıma etkisini belirlemek amacıyla 1 mg/l BA içeren MS besin ortamında 22 farklı melez bireyin çoğalma performansları araştırılmıştır. Deneme sonunda mikroçoğaltım oranı ve bitki boyuna ait veriler incelenmiştir. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında gelişimlerine ait veriler Çizelge 4'te sunulmuştur. Bitkilere ait görüntü Şekil 1'de sunulmuştur.

Çizelge 4. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında gelişimlerine ait veriler

Genotip	Mikroçoğaltım oranı (bitkicik/ bitki)	Bitki boyu (cm)
SR-2	1.11f	0.54de
SR-5	1.77def	0.62bcde
SR-34	1.22f	0.58bcde
SR-41	1.33f	0.75bcd
SR-47	2.44cde	0.82b
SR-49	1.66def	0.66bcde
SR-56	2.55cd	0.75bcd
SR-60	5.00b	2.11a
SR-61	1.33f	0.45e
SR-63	1.55def	0.52de
SR-69	1.55def	0.71bcd
SR-72	3.33c	0.60bcde
SR-75	6.33a	1.88a
SR-82	2.11def	0.80bc
SR-83	1.77def	0.60bcde
SR-86	1.44ef	0.63bcde
SR-87	1.77def	0.52de
SR-91	1.44ef	0.56cde
SR-92	1.55def	0.54de
SR-94	1.33f	0.52de
SR-98	1.22f	0.72bcd
SR-99	1.44ef	0.71bcd

LSDçoğalma oranı:1.009

LSDbitki boyu:0.244

Mikroçoğaltım denemelerinde kullanılan 22 genotip için, mikroçoğaltım oranı, bitki boyu, yaprak sayısının istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Çizelge 4 incelendiğinde, en iyi çoğalma performansı gösteren genotipin SR-75 (6.33 bitkicik/bitki) olduğu gözlemlenirken, çoğalma oranı en düşük genotip SR-2 (1.11 bitkicik/bitki) olarak saptanmıştır. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında bitki boyları incelendiğinde, en yüksek bitki boyu SR-60 genotipinde (2.11 cm) gözlemlenirken, en kısa bitki boyu SR-61 genotipinde (0.45 cm) tespit edilmiştir. Tüm veriler değerlendirildiğinde, mikroçoğaltım performansı en iyi genotipler SR-75 ve SR-60 olarak belirlenmiştir.



Şekil 1. SR-82 genotipinin çoğalmasına ait görüntü.

### 3.1.2. Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine farklı besin ortamları ve genotip etkisinin belirlenmesine ait bulgular

MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltım oranı üzerine etkisi incelendiğinde, genotip ve genotip\*besin ortamı interaksiyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken, yalnızca besin ortamlarının etkisi arasında istatistiksel fark gözlemlenmemiştir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 5).

Çizelge 5. Farklı besin ortamlarının mikroçoğaltım oranına etkisine ait veriler

	Genotip				Besin ortamı ortalama
	SR-60	SR-69	SR-75	SR-86	
MS	4.00bc	7.55a	5.66abc	5.33abc	5.63
WPM	3.66c	3.55c	4.22bc	6.55ab	4.5
ROM	4.22bc	4.22bc	6.88a	7.55a	5.72
Genotip ortalama	3.96B	5.11AB	5.59A	6.48A	

LSDgenotip: 1.492

LSDbesin ortamı: ÖD

LSDgenotip\*besin ortamı: 2.584

Çizelge 5 incelendiğinde, en iyi çoğalma performansı gösteren genotiplerin SR-69 MS (7.55 bitkicik/bitki) ve SR-86 ROM (7.55 bitkicik/bitki) olduğu gözlemlenirken, çoğalma oranı en düşük genotip ise SR-69 WPM (3.55 bitkicik/bitki) olarak belirlenmiştir. MS besin ortamında en iyi çoğalım gösteren genotip SR-69 (7.55 bitkicik/bitki), WPM ortamında en iyi çoğalım gösteren genotip SR-86 (6.55 bitkicik/bitki) ve ROM ortamında en iyi çoğalım gösteren genotip SR-86 (7.55 bitkicik/bitki) olarak saptanmıştır.

MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisi incelendiğinde, genotip, besin ortamı ve genotip\*besin ortamı interaksiyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). En yüksek bitki boyu SR-60 genotipinde MS (3.33 cm) besin ortamında gözlemlenirken, bitki boyu en kısa olan genotip ise SR-75 WPM (1.22 cm) olarak belirlenmiştir. MS besin ortamında en yüksek bitki boyu gösteren genotip SR-69 (2.44 cm), WPM ortamında en yüksek bitki boyu gösteren genotip SR-60 (1.88 cm) ve ROM ortamında en yüksek bitki boyu gösteren genotip SR-60 (3.33 cm) olarak belirlenmiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. Farklı besin ortamlarının bitki boyuna etkisine ait veriler

	Genotip				Besin ortamı ortalama
	SR-60	SR-69	SR-75	SR-86	
MS	2.11bcd	2.44b	2.00bcd	2.22bc	2.19A
WPM	1.88cde	1.33fg	1.22g	1.44efg	1.47B
ROM	3.33a	2.27bc	2.00bcd	1.72def	2.33A
Genotip ortalama	2.44A	2.01B	1.74B	1.79B	

LSDgenotip:0.278

LSDbesin ortamı:0.240

LSDgenotip\*besin ortamı:0.481

### 3.2. Köklenme denemelerine ait bulgular

Dokuz turunçgil melezinin köklenmesi üzerine genotip ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkisini belirlemek amacıyla, IBA ve NAA'nın 1 mg/l konsantrasyonu kullanılmıştır. Çalışmada, bitki boyuna ait veriler incelendiğinde, genotip ve bitki büyüme düzenleyiciler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). En uzun bitki boyu SR-69 genotipinde (5.00 cm-IBA ve 4.66 cm-NAA) tespit edilmiştir. En kısa bitki boyu ise SR-63 genotipinde (1.05 cm-IBA ve 1.08 cm-NAA) ölçülmüştür. Bitki büyüme düzenleyici ayırt etmeden, gelişen genotip her iki ortamda da iyi gelişim gösterirken, kısa kalan genotip her iki ortamda fazla gelişim gösterememiştir (Çizelge 7).

Çizelge 7. Genotip ve farklı büyüme düzenleyicilerin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler

Genotip	IBA	NAA	Genotip Ortalama
SR-41	2.77cd	2.00efg	2.38C
SR-47	2.66cde	2.11def	2.38C
SR-49	1.83fg	1.38gh	1.61D
SR-60	3.55b	2.62cde	3.09B
SR-63	1.05h	1.08h	1.07E
SR-69	5.00a	4.66a	4.83A
SR-75	1.55fgh	1.50fgh	1.52DE
SR-82	3.16bc	2.88bc	3.02B
SR-86	1.38gh	1.72fgh	1.55D
BBD Ort.	2.55A	2.22B	

LSDgenotip: 0.472

LSDbbd: 0.223

LSDbbd\*genotip: Ö.D.

IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait veriler incelendiğinde, yalnızca genotipin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). En fazla kök uzunluğu SR-47 genotipinde (4.83 cm-NAA) tespit edilmiştir. En düşük kök uzunluğu ise SR-75 genotipinde (1.00 cm-NAA) ölçülmüştür (Çizelge 8).

Çizelge 8. Genotip ve farklı büyüme düzenleyicilerin turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait veriler

Genotip	IBA	NAA	Genotip Ortalama
SR-41	3.00cde	3.77bc	3.38BC
SR-47	3.33cd	4.83a	4.08AB
SR-49	4.50ab	3.83abc	4.16A
SR-60	2.05efg	1.43gh	1.74D
SR-63	1.35gh	1.41gh	1.38D
SR-69	3.00cde	2.66def	2.33C
SR-75	1.61gh	1.00h	1.30D
SR-82	1.93fgh	1.93fgh	1.93D
SR-86	1.38gh	1.55gh	1.47D
BBD Ort.	2.46A	2.49A	

LSDgenotip: 0.717

LSDbbd: Ö.D.

LSDbbd\*genotip: Ö.D.

IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait veriler incelendiğinde, genotip, bitki büyüme düzenleyici ve BBD\*genotip etkileşimleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). En fazla kök sayısı NAA içeren MS ortamında köklenen SR-47 genotipinde (2.22 cm) tespit edilmiştir (Çizelge 9). Köklenen bitkilere ait görüntü Şekil 2’de sunulmuştur.

Çizelge 9. Genotip ve farklı büyüme düzenleyicilerin turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait veriler

Genotip	IBA	NAA	Genotip Ortalama
SR-41	1.11b	2.00a	1.55A
SR-47	1.22b	2.22a	1.72A
SR-49	1.00b	1.00b	1.05B
SR-60	1.11b	1.25b	1.18B
SR-63	1.00b	1.22b	1.11B
SR-69	1.00b	1.33b	1.16B
SR-75	1.00b	2.00a	1.50A
SR-82	1.00b	1.22b	1.11B
SR-86	1.00b	1.00b	1.00B
BBD Ortalama	1.04B	1.48A	

LSDgenotip: 0.283

LSDbbd: 0.133

LSDbbd\*genotip:0.400



Şekil 2. SR-49 genotipinde 1 mg/l IBA içeren MS besin ortamında köklenen bitkiler.

### 3.3. Bitkilerin dış koşullara alıştırılmasına ait veriler

Köklenme denemeleri sonucunda elde edilen köklü bitkiler dış koşullara alıştırılmıştır. Dış koşullara alıştırılan bitkilerin yaşama oranları %30-90 arasında değişmiştir (Çizelge 10). SR-82 ve SR-86 genotiplerinde kök gelişimi gözlenmemiştir. Dış koşullara alıştırılan bitkilere ait görüntü Şekil 3'te sunulmuştur.

Çizelge 10. Dış koşullara alıştırılan bitkilere ait veriler

Genotip	Bitkilerin dış koşullarda yaşama oranları (%)
SR-41	90
SR-47	80
SR-49	55
SR-60	80
SR-63	45
SR-69	30
SR-75	45



Şekil 3. SR-60 genotipinin dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonraki görüntüsü.

## 4. Tartışma ve Sonuç

Küresel iklim değişikliği ve değişen çevre şartlarına uygun bitkilerin ıslahı son derece önemlidir. Bitki doku kültürlerinin de içerisinde yer aldığı biyoteknolojik tekniklerin bitki ıslahında kullanımı önemli faydalar sağlamaktadır (Simsek, 2018). Günümüzde, abiyotik ve biyotik stres



koşullarına dayanıklı turunçgil anaç ve çeşit geliştirme çalışmaları gerçekleştirilmektedir. Anaç ve çeşit geliştirme çalışmalarında yürütülen melezlemeler sonucunda elde edilen melez bitkilerin, anaç/çeşit olma potansiyellerinin değerlendirilebilmesi için öncelikle bu materyallerin çoğaltılması gerekmektedir. *In vitro* mikroçoğaltım, melezleme çalışmaları sonrasında elde edilen değerli materyallerin çoğaltılması için güçlü bir araçtır. Turunçgillerde farklı melezleme kombinasyonlarından elde edilen bitkiler *in vitro* koşullarda çoğaltılmıştır. Bitkiler 0.5 g/l malt ekstraktı ve 1 mg/l BA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Çalışma sonunda *in vitro* koşullarda çoğalma ve köklenme performansı en iyi olan bireyler Çin turuncu X Rubidoux üç yapraklı ve Volkameriana X Rubidoux üç yapraklı melezlemesi sonucunda elde edilen bireyler olmuştur (Yeşiloğlu ve ark., 2017). Yürütülen bu çalışmada ise, Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melezlerinin *in vitro* koşullarda çoğaltım ve köklendirilmesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda her bireyin farklı gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışma kapsamında kullanılan genotiplerden mikroçoğaltım aşamasında en başarılı genotipler SR-60 ve SR-75 olurken, kök aşamasında en başarılı genotipler SR-41, SR-47 ve SR-60 olmuştur.

Mikroçoğaltım teknikleri az sayıdaki değerli materyallerin klonal ve hızlı çoğaltılmasında yaygın olarak kullanılmasına rağmen her bitki türünün verdiği cevap farklı olmaktadır. Turunçgiller bitki doku kültürüne zor cevap veren rekalsitran bitki türleri arasındadır. Bu nedenle, melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen bireylerin de çoğalma performansları başka bitki grupları ile karşılaştırıldığında düşük olmaktadır. Çalışmada kullanılan Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melezlerinin *in vitro* koşullarda mikroçoğaltım ve köklenme performansları birbirinden farklılık göstermiştir. Çalışmada, öncelikle 22 melez MS besin ortamında çoğaltılmıştır. Genotipler arasındaki bu çoğalma performansları arasındaki farklılıktan dolayı, çalışmada kullanılan tüm genotiplerin farklı besin ortamlarındaki performansları incelenememiştir. Ancak, çoğalma performansı iyi olan 4 bireyin MS, WPM ve ROM besin ortamlarında çoğaltımı gerçekleştirilebilmiştir. Elde edilen bu bulgu, bitkilerin *in vitro* kültürlerindeki başarının genotipe göre farklılık gösterdiğini doğrular niteliktedir.

Birçok bitki türünde olduğu gibi, turunçgilde de, herhangi bir *in vitro* rejenerasyon sisteminin başarısı, kültür koşulları, büyüme düzenleyicilerinin uygulanması ve konsantrasyonları ve eksplant tipi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Genotip ayrıca doku kültürü sonuçları üzerinde çok güçlü bir etkiye sahiptir (Santiago ve ark., 2019). Literatür incelendiğinde, doku kültürü süresince elde edilen cevapların bitki türüne göre değiştiğine dair çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bazı örneklerde, bitki doku kültürü çalışmaları süresince gözlenen cevapların nükleer genler, sitoplazmik genler ve gen interaksiyonları gibi genetik faktörler ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Genotipik farklılıklardan dolayı optimum besin ortamı ve kültür şartları türden türe farklılık göstermektedir. Bitki doku kültürü için genel bir protokol kullanılabilmesine rağmen, yakın akraba bitki çeşitleri bile birbirinden farklı besin ortamına ve kültür koşullarına ihtiyaç duyabilmektedir. Bu nedenle mikroçoğaltım ve köklendirme çalışmalarında en iyi metot denemelerle belirlenmelidir. Bitki büyüme düzenleyicileri kullanılarak *in vitro* çoğaltım ve köklendirme teşvik edilmektedir, ancak birbirine yakın genotiplerin bile eğilimleri farklı olabilmektedir (George ve ark., 2007). Santiago ve ark. (2019), 10 farklı turunçgil anacının ('Indio', 'Riverside' ve 'San Diego' citrandarinleri, 'Sunki Tropical' mandarin, ve RL × TR-001, FRL × (RL × TR)-005, CSM × (RL × TR)-059, TRH-051, TRH-069 ve CSM × TRBK-Colombia melezleri) *in vitro* koşullarda WPM ortamında çoğaltımını araştırmışlardır. Çalışma sonunda, en yüksek bitki sayısı Indio citrandarin anacından elde edilmiştir. Çalışmada, 4 bireyin MS, WPM ve ROM besin ortamlarında mikroçoğaltımında besin ortamları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır (P<0.05).

Bitki büyüme düzenleyicileri oksinler, absisik asit, sitokininler, etilen ve gibberellinler olmak üzere beş ana sınıfa ayrılır. Oksinler ve sitokininler bitki doku kültürü çalışmalarında büyümeyi ve organize gelişimi düzenlemek için kullanılan en önemli bitki büyüme düzenleyicileridir. Bitki doku kültürü çalışmalarında etkin sonuç alabilmek için aynı anda ya da ardışık olarak farklı sınıflardaki iki veya daha fazla bitki büyüme düzenleyicinin kombine edilmesi gerekebilir (Gaspar ve ark. 1996). Amgai ve ark. (2016), MS ortamında 10 farklı hormon (BAP ve IAA) düzeyinin ve 3 farklı kültür süresinin (4, 8, 12 hafta) mandarin (*C. reticulata* Blanco)'in *in vitro* koşullarda çoğaltımını üzerine etkilerini araştırmışlardır. En yüksek sürgün oluşumu 0.5 mg/l BAP ve 0.2 mg/l IAA içeren besin ortamında elde edilmiştir. İnçoğlu (2018), dört farklı turunçgil anacının (Carrizo sitranjı, Tuzcu 31-31 turuncu, Gou Tou turuncu) *in vitro* koşullarda kök eksplantlarından bitki rejenerasyonunu optimize etmişlerdir. Bu amaçla BAP ve NAA'nın 21 farklı konsantrasyonunu içeren MS besin ortamı

kullanmışlardır. Çalışma sonucunda, sürgün oluşum oranlarına bakıldığında Carrizo sitranjı en başarılı genotip olarak belirlenmiştir (%60.95). Carrizo sitranjında 0.5 mg/l BA, 1.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA ve 2.0 mg/l BAP içeren MS ortamlarında %100 başarı elde edilmiştir. Tallon ve ark (2012), Alemow (*C. macrophylla*) ve turunç (*C. aurantium*) bitkilerinden alınan nodal eksplantlarla *in vitro* organogenesis çalışmışlardır. Çalışmada farklı besin ortamlarının (MS, WPM ve DKW (Driver and Kuniyuki Walnut Medium) optimum koşullarda farklı konsantrasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicilerle kombinasyonu denenmiştir. En iyi sonuçlar Alemow için 3 mg/l BA, turunç için 2 mg/l BA içeren ortamlarda elde edilmiştir. Anaçlarda 3 farklı temel ortamdan Alemow için WPM ya da DKW en iyi sonuçları verirken, turunç için DKW en iyi ortam olarak belirlenmiştir. Chamandoosti (2017), *C. latifolia* Tan bitkisinde *in vitro* sürgün oluşumunu araştırmıştır. Çalışmada sürgün gelişiminin en iyi 4.44 µM BA ve 0.053 µM NAA içeren besin ortamında olduğu tespit edilmiştir. Bitki boyu için en başarılı ortam ise 4.44 µM BA ve 0.049 µM IBA içeren besin ortamı olarak belirlenmiştir. Çalışmada, 9 genotipin köklendirmesi üzerine 1 mg/l IBA ve 1 mg/l NAA'nın etkisi incelenmiştir. Köklendirme denemelerinde bitki boyu, kök uzunluğu ve kök sayısına ait veriler incelenmiştir. Köklenme denemelerinde bitki boyu ve kök uzunluğu için en başarılı bitki büyüme düzenleyici IBA, kök sayısı için en başarılı bitki büyüme düzenleyici ise NAA olarak belirlenmiştir. Turunçgillerde yürütülen mikroçoğaltım çalışmaları incelendiğinde genotipi etkisinin oldukça yüksek olduğu gözlenmektedir. Yürütülen bu çalışmada da genotip etkisinin oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Her melez bireyin aynı ortamlarda farklı tepkiler verdiği ortaya konulmuştur.

Turunçgil ıslah programlarının en kritik aşamalarından biri melez bitkilerin çoğaltılmasıdır. Melez bitkilerin çoğaltılmasında bitki doku kültürü yöntemleri güçlü bir alternatiftir. Bitki doku kültürü çalışmalarında başarı genotip ile doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle kültüre alınan genotiplerin mikroçoğaltım ve köklenme performansları birbirinden farklılık göstermiştir. Genotipler arasındaki farklılığa rağmen mikroçoğaltımda kullanılan 3 farklı besin ortamı benzer tepkiler göstermiştir. Melez bitkilerin köklenme çalışmalarında ise IBA bitki ve kök boyunda daha etkili olmuş, NAA ise kök sayısını arttırmıştır. Ancak her iki bitki büyüme düzenleyicisi içerisinde köklenen bitkiler başarılı bir şekilde dış koşullara aktarılmıştır. Sonuç olarak genotip etkisi gözlenmekle beraber mikroçoğaltım çalışmalarında 1 mg/l BAP içeren MS, WPM ve ROM ortamlarının, köklenme çalışmalarında ise yine 1 mg/l IBA ve NAA içeren MS ortamının kullanılabilirliği ortaya konulmuştur.

## Teşekkür

Bu çalışmada, TÜBİTAK-KAMAG 112G025 no'lu projede elde edilmiş olan melez bitkilerin materyal olarak kullanıldığı 'Akdeniz Bölgesindeki Bazı Meyve Türlerinin İklim Değişikliğine Adaptasyonları' başlıklı TÜBİTAK-PRIMA projesi (Proje No: 118O055) kapsamında yürütülen çalışmalarda materyallerden yararlanılmıştır. Çalışmanın finansal desteği Çukurova Üniversitesi Yüksek Lisans Tez Projesi (Proje No: FYL-2019-11735)'den sağlanmıştır.

## Kaynakça

- Amgai, R. B., Prasai, H. K., & Pandey, Y. R. (2016). Hormonal effect on mandarin orange (*Citrus reticulata* Blanco) micropropagation. *Nepal Journal of Biotechnology*, 4(1), 33-36.
- Ayadi, M., Hanana, M., Kharrat, N., Merchaoui, H., Marzoug, R. B., Lauvergeat, V., Rebai, A. & Mzid, R. (2016). The WRKY transcription factor family in Citrus: Valuable and useful candidate genes for citrus breeding. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 180(3), 516-543.
- Chamandoosti, F. (2017) Effect of interaction between different plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication of *Citrus latifolia* Tan. (persian lime). *International Journal of Environmental and Agriculture Research*, 3(7), 51-54.
- Dönmez, D., Şimşek, Ö. & Kaçar, Y. A. (2016). Genetic engineering techniques in fruit science. *International Journal of Environmental and Agriculture Research*, 2(12), 115-128.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M., & Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 32(4), 272-289.

- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2007). *Plant propagation by tissue culture: volume 1. the background (Vol. 1)*. Springer Science & Business Media.
- Iqbal, M., Wali, V. K., Bakshi, P., Kour, K., Razdan, V. K., Sinha, B. K., & Sood, K. K. (2019). In vitro propagation of Citrus species through callus induction and regeneration: A review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(10), 2282-2295.
- İnceoğlu, Ü., Dönmez, D., Şimşek, Ö., Yeşiloğlu, T., & Kaçar, Y. A. (2018). Carrizo sitranjı (*Citrus sinensis* Osb. X *Poncirus trifoliata* Raf. Var "Carrizo")'nın kök eksplantlarından bitki rejenerasyonunun optimizasyonu. *Alatarım*, 17(1), 18-26.
- Santiago, R. T., dos Santos, K. C. F., Ledo, C. D. S., Gesteira, A. D. S., Soares Filho, W. D. S., & Souza, A. D. S. (2019). Micropropagation of different citrus rootstocks using WPM medium culture. *Journal of Agricultural Science*, 11(4), 1-6.
- Simsek, O. (2018). Effect of Drought stress in *in vitro* and drought related gene expression in Carrizo citrange. *Fresenius Environmental Bulletin*, 7(12 A), 9167-9171.
- Şimşek, Ö., Dönmez, D., & Kaçar, Y. A. (2018). Bazı turunçgil anaçlarının *in vitro* kuraklık stresi koşullarında performanslarının araştırılması. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 28(3), 305-310.
- Tallón, C. I., Porras, I., & Pérez-Tornero, O. (2012). High efficiency in vitro organogenesis from mature tissue explants of *Citrus macrophylla* and *C. aurantium*. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 49(2), 145-155.
- Yeşiloğlu, T. (2017). Turunçgil anaçlarının tarihçesi ve yeni anaçların geliştirilmesi. *TÜRKTOB Dergisi*, 22, 12-14.
- Yeşiloğlu, T., Çimen, B., İncesu, M., Yılmaz, B., Kaçar, Y. A., & Şimşek, Ö. (2013). Turunçgil sektörünün gereksinim duyduğu yeni çeşitlerin geliştirilmesi. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 6(2), 127-132.