



Bazı Ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotiplerinde Yaprak Disklerinden Sürgün Organogenesisi*

Ahmet AYGÜN¹

Hatice DUMANOĞLU²

Geliş Tarihi: 06.11.2006

Öz: Bu çalışmanın amacı, bazı ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) genotiplerinde yaprak disklerinden *in vitro* sürgün organogenesisini uyarmaktır. Çalışmada bitkisel materyal olarak, Quince A (bodur), S.Ö. (Sabahattin Özbek) 39-200 (bodur), S.Ö. 18-82 (orta kuvvetli) ve S.Ö. 58-315 (kuvvetli) klon anaçları ile Eşme, Limon ve Çukurgöbek çeşitleri kullanılmıştır. Organogenesis için iki denemede TDZ + NAA kombinasyonları ya da BA + NAA, AgNO₃ ve putrasin uygulamalarının etkileri araştırılmıştır. Sürgün organogenesisi sadece 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ içeren MS (Murashige ve Skoog) temel besin ortamında önemli düzeyde uyarılmıştır. Bu uygulama ile sürgün oluşturma oranı Quince A'da %80.0, S.Ö. 39-200'de %56.7, S.Ö. 18-82'de %17.5, S.Ö. 58-315'de %37.5, Eşme'de %36.7, Limon'da %40.0 ve Çukurgöbek'de %43.3 olarak belirlenmiştir. Ortalama sürgün sayısı ise genotiplere göre 0.4-2.7 adet/disk arasında değişmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ayva, *Cydonia oblonga* Mill., *in vitro*, organogenesis, yaprak diski, sürgün

Shoot Organogenesis From Leaf Discs in Some Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) Genotypes

Abstract: The objective of this study was to stimulate organogenesis of *in vitro* shoots from leaf discs in some quince (*Cydonia oblonga* Mill.) genotypes. Quince A (dwarf), S.Ö. (Sabahattin Özbek) 39-200 (dwarf), S.Ö. 18-82 (semi dwarf) and S.Ö. 58-315 (vigorous) clonal rootstocks, and Eşme, Limon, and Çukurgöbek cultivars were used as plant materials. Effects of TDZ + NAA combinations or BA + NAA, AgNO₃ and putrescine treatments were investigated in two experiments for organogenesis. Shoot organogenesis was significantly induced on MS (Murashige and Skoog) basal medium containing 0.33 mg/l TDZ + 0.5mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃. The rate of shoot formation was 80.0% in Quince A, 56.7% in S.Ö. 39-200, 17.5% in S.Ö. 18-82, 37.5% in S.Ö. 58-315, 36.7% in Eşme, 40.0% in Limon, and 43.3% in Çukurgöbek. The average shoot number per leaf disc was changed between 0.4 and 2.7 among genotypes.

Key Words: Quince, *Cydonia oblonga* Mill., *in vitro*, organogenesis, leaf disc, shoot

Giriş

Yakın ve uzak akraba türler arasında ve içinde doğal ve yapay melezlemeler, çeşit ve klonlarda doğal ya da yapay mutasyonlar sonucu ortaya çıkan genetik değişimlerin seleksiyonlar ile değerlendirilmesi meyve ıslahında yüz yıllardır uygulanmaktadır. Bununla birlikte uyumsuzluk, kısırılık, genetik açılım, uzun gençlik kısırlığı periyodu, çoğaltım ve özel kültürel uygulamalar gibi meyve türlerine özgü birçok biyolojik, fizyolojik ve yetiştiricilik sorunları geleneksel yöntemler ile ıslahta süreyi uzatmakta ya da çoğu zaman başarıyı olanaksız kılmaktadır. Buna karşılık özellikle 20. yüzyılın sonlarından itibaren biyoteknoloji alanında kaydedilen hızlı gelişmeler klasik ıslah kapsamında ele alınan bu yöntemlerin etkinliğini

arttırmanın yanında başarıyı engelleyen sorunlara karşı çözümler sunmaktadır. Böylece meyve türlerinin karakterizasyonu genom analizleri ile yapılabilmekte, kalıtsal yapıları gen aktarımı, somaklonal varyasyon ve somatik hibridizasyon gibi *in vitro* teknikler ile taksonomik bir sınırlama olmaksızın hızlı ve etkili bir şekilde değiştirilebilmekte, hızlı, yoğun ve virüslerden arı çoğaltım, gen kaynaklarının korunması, homozigotinin çok kısa sürede sağlanması, melezlerin embriyo kültürü ile yaşatılması ve birçok etkene karşı genotiplerin reaksiyonlarının kısa sürede test edilmesi sağlanabilmektedir (Litz ve Gray 1992, Schuerman ve Dandekar 1993, Hatipoğlu 1999, Jain 2001, Heslop-Harrison 2005).

* Doktora Tezi'nden hazırlanmıştır.

¹ Ordu Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü-Ordu

² Ankara Üniv. Ziraat Fak. Bahçe Bitkileri Bölümü-Ankara

Belirtilen biyoteknolojik yöntemlerin birçoğunun bitki genotiplerinde uygulanabilmesinin ön koşulu *in vitro* koşullarda organogenesis için gerekli protokollerin oluşturulmasıdır. Kültür tipi, besin ortamlarının bileşimi ve inkübasyon koşullarının değiştirilmesi ile hücre ve dokuların sürgün ve kök taslağı meydana getirmesi yönünde uyarılması olarak tanımlanabilen *in vitro* organogenesis, eksplanttan doğrudan ya da kallus gelişiminden sonra dolaylı olarak meydana gelebilmektedir. Meyve genotiplerinde 1980'li yıllardan sonra başlayan, hem tohum (Korban ve Skirvin 1985, Hiratsuka ve Katagiri 1988, Pieterse 1989, Mante ve ark. 1989) ve hem de somatik dokuların (Swartz ve ark. 1990, Dolcet-Sanjuan ve ark. 1991, Welander ve Maheswaran 1992, Chevreau ve Leblay 1993, Baker ve Bhatia 1993, Yancheva 1994, Sarwar ve Skirvin 1997, Tornero ve ark. 2000, Gamage ve Nakanishi 2000, Sun ve ark. 2003, Chevreau ve Bell 2005) esas alındığı *in vitro* organogenesis çalışmaları, genellikle gen transferi öncesinde rejenerasyon koşullarının belirlenmesi amacıyla planlanmıştır.

Bu çalışma, bazı ayva (*Cydonia oblonga* Mill.) çeşit ve anaçlarında gen transferi başta olmak üzere *in vitro* tekniklere temel oluşturmak üzere yaprak disklerinden sürgün organogenesisi üzerine farklı ortam bileşimlerinin etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bitkisel materyal: Denemelerde East Malling serisinden Quince A (bodur), Sabahattin Özbek serisinden S.Ö. 39-200 (bodur), S.Ö. 18-82 (orta kuvvetli) ve S.Ö. 58-315 (kuvvetli) ayva anaçları ile Eşme, Limon, Çukurgöbek kültür ayva çeşitleri esas alınmıştır. Bu çalışmaya Sabahattin Özbek serisinden alınan üç anaç Williams armudu ile uyuşur (Çelik 1988) ve çoğalma gücü yüksek (Dumanoğlu ve Aygün 1999, Aygün ve ark. 2006) olan klon anaçlardır. Organogenesis çalışmalarında eksplant kaynağı olarak sürgün ucu kültürü ile elde edilmiş *in vitro* mikro çeliklerden alınan yaprak diskleri kullanılmıştır.

Sürgün ucu kültürleri: İlk dikim aşaması için ilkbahar gelişme döneminde taze sürgünlerden toplanan yaklaşık 2-3 cm uzunluktaki sürgün uçları dezenfeksiyon amacıyla önce 5 dakika çeşme suyu ve ardından 1 damla tween 20 ilave edilmiş %20'lik ticari sodyum hipoklorit solüsyonu içerisinde 15 dakika süreyle yıkanmış ve steril saf su ile 5'er dakika süreyle 3 kez çalkalanmıştır. Laminar hava akışlı kabinde steril koşullarda yaklaşık 0.7-1.0 cm uzunlukta hazırlanan sürgün uçları, 10 ml besin ortamı içeren 25 x 120 mm boyutlarındaki cam tüplere dikilmiştir. İlk dikimden 4 hafta sonra gelişen sağlıklı sürgünlerin tamamı çoğaltım amacıyla 4'er hafta ara ile 3 kez alt kültüre alınmıştır. Alt kültürler tamamlandıktan sonra yaprak

sayısını ve iriliğini arttırmak ve boğum aralarını uzatmak amacıyla sürgünler 3-4 hafta için son bir kez daha kültüre alınmıştır. Alt kültürler için yaklaşık 2 cm uzunluğunda hazırlanan mikro çelikler, 50 ml çoğaltma ortamı bulunan 250 ml'lik erlenmayerlere dikilmiştir.

Sürgün ucu kültürlerinde temel besin ortamı olarak modifiye edilmiş MS ortamının (Murashige ve Skoog 1962, Dodds ve Roberts 1993) kullanıldığı çalışmada, bu ortama ilk dikim aşamasında 2.0 mg/l BA (benziladenin), 0.1 mg/l IBA (indolbütirik asit) ve 0.5 mg/l GA₃ (gibberellik asit), çoğaltma aşamasında 2.0 mg/l BA, 0.1 mg/l IAA (indolasetik asit) ve 0.1 mg/l GA₃ (Gülşen ve Dumanoğlu 1992), yaprak sayısını ve iriliğini artırma ve boğum aralarını uzatma aşamasında ise sadece 0.3 mg/l GA₃ ilave edilmiş, tüm ortamlara 30 g/l sakaroz ve 7 g/l agar katılmıştır. Ortamların pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır. Kültürler floresans ışık ile 16 saat aydınlatılan (35 µmol·m⁻²·s⁻¹) 25±1°C sıcaklıktaki iklim odasında gelişmeye bırakılmıştır.

Organogenesis denemeleri: Bu amaçla *in vitro* sürgünlerin yaprak ayaları steril koşullarda bir yaprak delici ile 0.5 cm çapında disklere ayrılmış ve 35 ml besin ortamı bulunan 80 mm çapındaki cam petrilere yaprağın alt yüzeyi ortama bakacak şekilde hafifçe bastırılarak dikilmiştir. Kültürler 25±1°C sıcaklıkta 3 hafta süreyle önce tamamen karanlık ve daha sonra 3 hafta süreyle 16 saat aydınlık (35 µmol·m⁻²·s⁻¹) koşullardaki iklim odasında toplam 6 hafta süreyle inkübe edilmiştir.

Organogenesis için iki deneme yapılmıştır.

I. deneme: Temel besin ortamı olarak modifiye edilmiş MS temel besin ortamı esas alınmış ve TDZ'nin (thidiazuron) (0.0, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0 ve 9.0 mg/l), NAA (naftalenasetik asit) (0.0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3 ve 0.5 mg/l) ile oluşturduğu 36 kombinasyon denenmiştir.

II. deneme: Welander (1988) ve Fasolo ve ark. (1989) tarafından elmada iyi sonuç verdiği bildirilmiş olan uygulamaların sadece esas alındığı II. denemede temel besin ortamı olarak makro element bileşimi tam ya da ½ kuvvetinde olan modifiye edilmiş MS, LS (Linsmaier ve Skoog) ya da N6 (Chu ve ark.'nın pirinç anter ortamı), mikro element ve vitaminleri tam ya da ½ kuvvetinde olan modifiye edilmiş MS ortamları seçilmiş ve bu ortamlara TDZ veya BA, NAA ve/veya AgNO₃ ya da putrasin ilave edilmiştir. Böylece 6 farklı kombinasyon denenmiştir (Çizelge 1).

Deneme planı ve verilerin değerlendirilmesi: I. deneme, her birisinde 7 eksplant (yaprak disk) olmak üzere 3 tekerrürlü, II. deneme her birisinde 10 eksplant olmak üzere 4 tekerrürlü olarak Tesadüf Parselleri Deneme Deseni'ne göre kurulmuş ve her iki deneme de iki kez yinelenmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda yaprak disklerinde sürgün oluşturma oranı (%) ve ortalama sürgün sayısı (adet/disk) belirlenmiştir.

Her bir deneme kapsamında elde edilen veriler, yinelemelerin ortalaması olarak varyans analizi yöntemi ile Minitab Paket Programı (MINITAB Inc.814-238-3280 WS 112102553) ile *F*-testine ($P = 0.05$) göre kontrol edilmiş, ortaya çıkan önemli farklılıklar Duncan testi ile ($P \leq 0.05$) saptanmış ve farklılıklar harfler yardımıyla belirlenmiştir. İstatistik analizlerde yüzde bulguların açığı değeri karşılıkları esas alınmıştır.

Bulgular

Sürgün organogenesi I. deneme: Çizelge 2'de görüldüğü gibi bu deneme kapsamında Quince A ayva anacında yaprak disklerinde sürgün oluşumu sadece 1.0 mg/l TDZ'nin 0.01, 0.05, 0.1, 0.3 ve 0.5 mg/l NAA, 3.0 mg/l TDZ'nin 0.05, 0.1 ve 0.5 mg/l NAA ve 5.0 mg/l TDZ'nin 0.3 mg/l NAA ile oluşturduğu kombinasyonlarda meydana gelmiştir. İstatistiksel olarak önemli bir farklılıkla en yüksek sürgün oluşturma oranları ise 1.0 mg/l TDZ'nin 0.3 ve 0.5 mg/l NAA ile oluşturduğu iki kombinasyonda sırasıyla %20 ve %16.7 oranlarında elde edilmiştir. Ortalama sürgün sayısı sadece 1.0 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA kombinasyonunda 1.0 adet/disk ile diğerlerinden önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 2).

S.Ö. 39-200 ayva anacında da 1.0 ve 3.0 mg/l TDZ dozları etkili olmuş ve istatistiksel olarak en yüksek oranlar 1.0 mg/l TDZ'nin 0.05 mg/l (%12.5), 0.1mg/l (%16.7) ve 0.3 mg/l (%8.3) NAA; 3.0 mg/l TDZ'nin 0.5 mg/l NAA (%16.7) ile oluşturduğu kombinasyonlardan alınmıştır. Bunlarda ortalama sürgün sayısı 0.1 ve 0.3 adet/disk arasında değişmiştir.

S.Ö. 18-82 anacında ise istatistiksel olarak en yüksek oran 3.0 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA'dan (%16.79) elde edilmiş ve bunu 1.0 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA (%8.3) izlemiştir. En yüksek ortalama sürgün sayısı (0.6 adet/disk) önemli bir farklılıkla 1.0 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA kombinasyonundan elde edilmiştir.

I. denemede organogenesi oranı ve ortalama sürgün sayısı bakımlarından S.Ö. 58-315 anacı (%0-10; 0-0.5 adet/disk) ve Eşme çeşidinde (%0-9.5; 0.0-0.3 adet/disk) TDZ + NAA kombinasyonları arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

Limon çeşidinde sadece 1.0 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA, 1.0 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA ve 3.0 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA kombinasyonlarında sürgün oluşumu gözlenmiştir. Sürgün oluşturma oranı sırasıyla %20.8 ve %16.7 ile önemli düzeyde en yüksek 3.0 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA ve 1.0 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA kombinasyonlarında belirlenmiştir. Ortalama sürgün sayısı 3.0 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA'de 0.5 adet/disk ile diğerlerinden önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 1. Organogenesi II. denemede esas alınan ortamlar ve kombinasyonlar

Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar
MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA
MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO ₃
½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA
½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO ₃
LS	MS	MS	2.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA + 16 mg/l putrasin
N6	MS	MS	5.0 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA

Çizelge 2. Quince A ayva anacında yaprak disklerinden organogenesi (I. deneme)

No	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1	0 mg/l TDZ + 0.0 mg/l NAA	0.0 (0.0) d**	0.0 b
2	0 mg/l TDZ + 0.01 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
3	0 mg/l TDZ + 0.05 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
4	0 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
5	0 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
6	0 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
7	1 mg/l TDZ + 0.0 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
8	1 mg/l TDZ + 0.01 mg/l NAA	6.7 (10.0) bcd	0.4 b
9	1 mg/l TDZ + 0.05 mg/l NAA	6.7 (10.0) bcd	0.2 b
10	1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA	10.0 (16.9) bc	0.2 b
11	1 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA	20.0 (29.5) a	1.0 a
12	1 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA	16.7 (21.9) ab	0.5 b
13	3 mg/l TDZ + 0.0 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
14	3 mg/l TDZ + 0.01 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
15	3 mg/l TDZ + 0.05 mg/l NAA	3.3 (6.9) cd	0.04 b
16	3 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA	3.3 (6.9) cd	0.1 b
17	3 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
18	3 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA	10.0 (16.9) bc	0.4 b
19	5 mg/l TDZ + 0.0 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
20	5 mg/l TDZ + 0.01 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
21	5 mg/l TDZ + 0.05 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
22	5 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
23	5 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA	3.3 (6.9) cd	0.04 b
24	5 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
25	7 mg/l TDZ + 0.0 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
26	7 mg/l TDZ + 0.01 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
27	7 mg/l TDZ + 0.05 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
28	7 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
29	7 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
30	7 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
31	9 mg/l TDZ + 0.0 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
32	9 mg/l TDZ + 0.01 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
33	9 mg/l TDZ + 0.05 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
34	9 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
35	9 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
36	9 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA	0.0 (0.0) d	0.0 b
		$P \leq 0.05$	(12.4)
			0.4

*Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açığı değeri karşılığıdır.

** Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

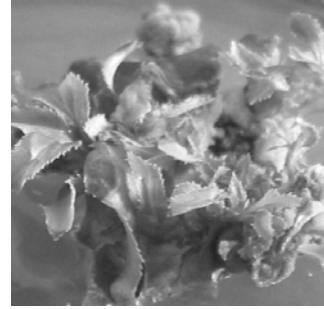
Çukurgöbek çeşidinde ise organogenesis sadece 3.0 mg/l TDZ + 0.3 mg/l NAA (%4.8; 0.1 adet/disk) ile 5.0 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA (%9.5; 0.1 adet/disk) kombinasyonlarında görülmüş, ancak bu denemede hiçbir kombinasyonun organogenesis üzerine etkisi istatistiksel bakımdan önemli bulunmamıştır.

Sürgün organogenesi II. deneme: Genel olarak tüm ayva genotiplerinde putrasinin kullanıldığı kombinasyonlar dışında II. denemede yaprak disklerinden sürgün oluşumu meydana gelmiştir.

Quince A ayva anacında 1/2 ve 1/1 kuvvetlerindeki MS temel besin ortamlarına ilave edilmiş 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ kombinasyonu en iyi sonuçları vermiştir (Çizelge 3, Şekil 1). Bu uygulama ile sürgün oluşturma oranı özellikle 1/2 MS temel besin ortamı ile %80'e ulaşmıştır. Bununla birlikte farklı kuvvetlerdeki MS'in kullanıldığı iki uygulama arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bu uygulamaları temel besin ortamında N6 makro, MS mikro ve vitaminlerinin esas alındığı 5.0 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA kombinasyonu %50 oranı ile izlemiştir. Ancak ortalama sürgün sayısı bakımından bu üç uygulama da iyi sonuç

vermiş ve sürgün sayısını ortalama 2.0 adet/disk'in (2.0-2.7 adet/disk) üzerine çıkarmıştır (Çizelge 3).

S.Ö. 39-200 ayva anacında da 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ kombinasyonu iyi sonuç vermiştir (%56.7). Ortalama sürgün sayısı 1/1 MS'de (2 nolu kombinasyon) 1.9 ve 1/2 MS'de (4 nolu kombinasyon) 1.5 adet/disk olmuştur (Çizelge 4).



Şekil 1. Quince A ayva anacında 0.33 mg/l TDZ+0.5mg/l NAA+2.0 mg/l AgNO₃ katılmış 1/2 MS ortamı üzerinde yaprak diskinden sürgün organogenesi

Çizelge 3. Quince A ayva anacında yaprak disklerinden organogenesis (II. deneme)

No	Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	7.5 (8.3) c	0.5 b
2-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	55.0 (48.7) ab	2.7 a
3-	1/2 MS	1/2 MS	1/2 MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	7.5 (13.8) c	0.2 b
4-	1/2 MS	1/2 MS	1/2 MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	80.0 (63.8) a	2.0 a
5-	LS	MS	MS	2.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA+ 16 mg/l putrasin	0.0 (0.0) c	0.0 b
6-	N6	MS	MS	5.0 mg/l BA+0.2 mg/l NAA	50.0 (44.9) b	2.0 a
<i>P</i> <0.05					(16.4)	1.1

*Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açılış değeri karşılığıdır.

** Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

Çizelge 4. S.Ö. 39-200 (bodur) ayva anacında yaprak disklerinden organogenesis (II. deneme)

No	Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	26.7 (31.0) b**	0.6 bc
2-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	56.7 (48.8) a	1.9 a
3-	1/2 MS	1/2 MS	1/2 MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	10.0 (15.0) c	0.2 c
4-	1/2 MS	1/2 MS	1/2 MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	56.7 (48.8) a	1.5 ab
5-	LS	MS	MS	2.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA+ 16 mg/l putrasin	0.0 (0.0) c	0.0 c
6-	N6	MS	MS	5.0 mg/l BA+0.2 mg/l NAA	30.0 (33.2) b	0.8 abc
<i>P</i> <0.05					(13.6)	1.1

*Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açılış değeri karşılığıdır.

** Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

S.Ö. 18-82 anacında organogenesi yine 1/2 ve 1/1 MS temel besin ortamlarına ilave edilmiş 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ kombinasyonu arttırmış ise de sürgün oluşturma oranı en fazla %17.5 ve ortalama sürgün sayısı 0.4 adet/disk olarak kaydedilmiştir (Çizelge 5).

S.Ö. 58-315 ayva anacında ½ MS temel besin ortamına ilave edilen 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ kombinasyonu sürgün oluşturma oranını (%37.5) ve ortalama sürgün sayısını (1.0 adet/disk) önemli düzeyde arttırmıştır. Bu değerler S.Ö. 58-315 anacında ulaşılan en yüksek değerler olarak belirlenmiştir (Çizelge 6).

Eşme çeşidinde de sürgün oluşumu II. deneme ile önemli düzeyde artmıştır. Sürgün oluşturma oranı ve ortalama sürgün sayısı birlikte düşünüldüğünde bu çeşitte de 1/2 ve 1/1 kuvvetlerindeki MS temel besin ortamlarına ilave edilmiş 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l

NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ kombinasyonu diğerlerinden istatistiksel olarak önemli düzeyde bir farklılıkla daha iyi sonuç vermiştir. Bu kombinasyonlarda sürgün oluşturma oranı %33.3-36.7 ve ortalama sürgün sayısı 0.6 adet/disk olarak belirlenmiştir (Çizelge 7).

Limon çeşidinde sürgün oluşturma oranı özellikle 1/2 MS temel besin ortamına ilave edilmiş 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ kombinasyonunda I. denemenin en yüksek değerine göre yaklaşık iki kat artarak %40'a, ortalama sürgün sayısı da 0.8 adet/disk'e ulaşmıştır (Çizelge 8).

Çukurgöbek çeşidinde de 1/2 MS temel besin ortamına ilave edilmiş 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ kombinasyonu önemli düzeyde farklılıkla en iyi sonucu vermiştir. Bu kombinasyonun kullanıldığı yaprak disklerinin %43.3'ü sürgün oluşturmuş ve ortalama sürgün sayısı da 1.4 adet/disk olarak belirlenmiştir (Çizelge 9).

Çizelge 5. S.Ö. 18-82 (orta kuvvetli) ayva anacında yaprak disklerinden organogenesis (II. deneme)

No	Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	0.0 (0.0) b ^{**}	0.0 b
2-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	7.5 (11.1) ab	0.2 ab
3-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	0.0 (0.0) b	0.0 b
4-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	17.5 (28.8) a	0.4 a
5-	LS	MS	MS	2.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA+ 16 mg/l putrasin	0.0 (0.0) b	0.0 b
6-	N6	MS	MS	5.0 mg/l BA+0.2 mg/l NAA	5.0 (8.9) b	0.1 b
<i>P</i> ≤0.05					18.05	0.3

^{**}Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açılış değeri karşılığıdır.

^{**}Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

Çizelge 6. S.Ö. 58-315 (kuvvetli) ayva anacında yaprak disklerinden organogenesis (II. deneme)

No	Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	2.5 (6.1) c ^{**}	0.03 b
2-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	7.5 (15.0) bc	0.2 b
3-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	2.5 (6.1) c	0.03 b
4-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	37.5 (45.0) a	1.0 a
5-	LS	MS	MS	2.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA+ 16 mg/l putrasin	0.0 (0.0) c	0.0 b
6-	N6	MS	MS	5.0 mg/l BA+0.2 mg/l NAA	15.0 (23.9) b	0.2 b
<i>P</i> ≤0.05					(15.7)	0.3

^{**}Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açılış değeri karşılığıdır.

^{**}Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

Çizelge 7. Eşme ayva çeşidinde yaprak disklerinden organogenesis (II. deneme)

No	Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	10.0 (11.1) b**	0.2 b
2-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	33.3 (35.0) a	0.6 a
3-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	0.0 (0.0) b	0.0 b
4-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	36.7 (37.2) a	0.6 a
5-	LS	MS	MS	2.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA+ 16 mg/l putrasin	0.0 (0.0) b	0.0 b
6-	N6	MS	MS	5.0 mg/l BA+0.2 mg/l NAA	13.3 (17.7) ab	0.2 b
<i>P</i> < 0.05					(18.7)	0.3

*Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açığı değeri karşılığıdır.

** Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

Çizelge 8. Limon ayva çeşidinde yaprak disklerinden organogenesis (II. deneme)

No	Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	10.0 (15.0) bc**	0.1 b
2-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	23.3 (24.1) ab	0.4 ab
3-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	13.3 (21.1) ab	0.3 b
4-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	40.0 (39.1) a	0.8 a
5-	LS	MS	MS	2.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA+ 16 mg/l putrasin	0.0 (0.0) c	0.0 b
6-	N6	MS	MS	5.0 mg/l BA+0.2 mg/l NAA	16.7 (23.9) ab	0.2 b
<i>P</i> < 0.05					(19.4)	0.4

*Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açığı değeri karşılığıdır.

** Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

Çizelge 9. Çukurgöbek ayva çeşidinde yaprak disklerinden organogenesis (II. deneme)

No	Makro Element	Mikro Element	Vitamin	Kombinasyonlar	Sürgün Oluşturma Oranı (%)	Ortalama Sürgün Sayısı (adet/disk)
1-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	6.8 (8.9) b**	0.1 cd
2-	MS	MS	MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	33.3 (35.0) a	0.9 b
3-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA	20.0 (26.2) a	0.7 b
4-	½ MS	½ MS	½ MS	0.33 mg/l TDZ+0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l AgNO ₃	43.3 (41.1) a	1.4 a
5-	LS	MS	MS	2.0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA+ 16 mg/l putrasin	0.0 (0.0) b	0.0 d
6-	N6	MS	MS	5.0 mg/l BA+0.2 mg/l NAA	20.0 (26.5) a	0.5 bc
<i>P</i> < 0.05					(14.9)	0.5

*Parantez içerisindeki rakamlar % oranların açığı değeri karşılığıdır.

** Farklı harfler sütun içindeki değerler arasındaki farklılığı göstermektedir.

Tartışma ve Sonuç

Ayvada (*C. oblonga* Mill.) yaprak diski eksplantlarından *in vitro* sürgün organogenesi amacıyla yapılan bu çalışmada TDZ'nin (0.0, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0 ve 9.0 mg/l), NAA (0.0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.3 ve 0.5 mg/l) ile oluşturduğu kombinasyonlar ayva

genotiplerinin hiç birisinde sürgün oluşturma oranını %20'nin, ortalama sürgün sayısını da 1.0 adet/disk'in üzerine çıkaramamıştır. Genotiplere göre değişen bu değerler genel olarak TDZ'nin 1.0 ve 3.0 mg/l, NAA'nın 0.05, 0.1, 0.3 ve 0.5 mg/l dozlarının kullanıldığı kombinasyonlardan elde edilmiştir. Oysa, yaprak eksplantlarında sürgün oluşturma oranı elmada

2.2 mg/l TDZ'nin, 0.2-1.0 mg/l NAA ile oluşturduğu kombinasyonlarda %99 (Fasolo ve ark. 1989); ahudududa 1.1 ve 2.2 mg/l TDZ dozlarında %100 (Swartz ve ark. 1990); Quince A ayva anacında 7.0 mg/l TDZ ve 0.05 mg/l NAA kombinasyonunda %78 (Dolcet-Sanjuan ve ark. 1991); yine ayvada 0.33 mg/l TDZ ve 0.5 mg/l NAA kombinasyonunda %85 (Baker ve Bhatia 1993); McIntosh elmasında 0.44, 0.66, 0.88 ve 1.1 mg/l TDZ uygulamalarında %61-80 (Sarwar ve Skirvin 1997) oranlarında kaydedilmiştir.

Ayvada yaprak başına ortalama sürgün sayısı ise 7.0 mg/l TDZ + 0.05 mg/l NAA ile 3.2 adet/eksplant (Dolcet-Sanjuan ve ark. 1991) ve 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA ile 8 adet/disk (Baker ve Bhatia 1993), McIntosh elmasında 0.44, 0.66, 0.88 ve 1.1 mg/l TDZ uygulamaları ile 0.5-10 adet/eksplant (Sarwar ve Skirvin 1997) olarak bildirilmiştir. Ayva ve diğer bazı meyve türlerinde yapılan bu çalışmalarda TDZ ve NAA, bulgularımızın aksine yaprak eksplantlarında sürgün oluşumunu önemli düzeyde arttırmıştır. Bununla birlikte Tornero ve ark. (2000), Helena kayısı (*P. armeniaca* L.) çeşidinde yaprak eksplantlarında 2.0 mg/l TDZ'nin NAA (0.1, 0.3, 0.5, 0.8 ve 1.0 mg/l) ile oluşturduğu kombinasyonlarda en yüksek sürgün oluşturma oranını %24.3 olarak belirlemiştir. Kayısıda kaydedilen bu değer ayva genotiplerinde elde ettiğimiz bulgular ile benzerlik göstermektedir.

Ayvada yaprak eksplantlarından sürgün oluşumu amacıyla Dolcet-Sanjuan ve ark. (1991) ve Baker ve Bhatia (1993) tarafından yapılan iki farklı çalışmada en uygun TDZ dozu sırasıyla 7.0 mg/l gibi çok yüksek ya da 0.33 mg/l gibi çok düşük olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda, organogenesis I. deneme kapsamında, her ne kadar 7.0 mg/l TDZ dozu, 5.0 mg/l ve 9.0 mg/l TDZ dozları ile birlikte tüm ayva genotiplerinde denenmiş ve hiçbir sonuç alınamamış ise de bu denemede 1.0 mg/l TDZ en düşük düzey olduğundan 0.33 mg/l TDZ dozunun etkisi II. deneme kapsamında ele alınmıştır. Bununla birlikte 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA uygulaması ayva genotiplerinin yaprak disklerinde sürgün oluşturma oranını en fazla %26.7'ye (S.Ö. 39-200) yükseltmiştir. Bu kombinasyonda en yüksek ortalama sürgün sayısı ise I. denemede kaydedilen en iyi düzeyin altında (0.6 adet/disk) kalmıştır. İki denemeden elde ettiğimiz bulgular AgNO₃'süz TDZ + NAA kombinasyonlarının ayva genotiplerinde sürgün organogenesisi üzerinde yeterli etkiyi yapmadığını göstermiştir. II. denemede TDZ dışında BA, 5.0 mg/l BA + 0.2 mg/l NAA kombinasyonu ile sürgün oluşturma oranını Quince A'da %50 ve S.Ö. 39-200'de %30'a yükseltmiş, ancak diğer genotiplerde bu oran %20 ve altında belirlenmiştir. Ortalama sürgün sayısı bu uygulamada en yüksek 2.0±0.9 adet/disk ile Quince A'da ortaya çıkmış, diğer genotiplerde 0.8 adet/disk'in altında kalmıştır. Oysa Greensleeves elma çeşidinde 2.0 mg/l BA + 0.5

mg/l NAA kombinasyonunda bu değerler sırasıyla %90 ve 4-7 sürgün/eksplant (James ve ark. 1988); M26 elma anacında 1.0 mg/l BA + 0.09 mg/l NAA kombinasyonunda %100 (Predieri ve Malvasi 1989); bazı elma çeşitlerinde 5.0 mg/l BA'nın 0.2-1.0 mg/l NAA dozlarında %96-99 ve 6.1-6.5 adet/yaprak (Fasolo ve ark. 1989) ve McIntosh elmasında 1.8, 2.7, 3.6 ve 4.5 mg/l BA uygulamalarında %59-70 ve 0.6-4.9 adet (Sarwar ve Skirvin 1997) olarak bulgularımızın çok üzerinde kaydedilmiştir. Bu sitokinin ile ilgili olarak Quince A ve S.Ö. 39-200 anaçlarındaki bulgularımız, Comice ve Passe Crassane armut çeşitlerinde düşük BA (0.5 mg/l) dozunda elde edilen sürgün oluşturma oranı (%30-47) ve ortalama sürgün sayısı (1-2.2 adet/eksplant) (Chevreau ve Leblay 1993) ile benzerlik göstermiştir.

Çalışmamızda ayvada yaprak disklerinde sürgün organogenesisi sadece 0.33 mg/l TDZ + 0.5 mg/l NAA + 2.0 mg/l AgNO₃ ile önemli düzeyde uyarılabiliştir. Nitekim bu uygulama ile sürgün oluşturma oranı, Quince A'da %80.0, S.Ö. 39-200'de %56.7, güç bir genotip olan S.Ö. 18-82'de %17.5, S.Ö. 58-315 %37.5, Eşme'de %36.7, Limon'da %40.0 ve Çukurgöbek'de %43.3 oranlarına çıkarılabiliştir. Ortalama sürgün sayısı ise genotiplere göre 0.4-2.7 adet/disk arasında değişmiştir. Bu sonuçta AgNO₃'ün organogenesis üzerine olan olumlu etkisinin payı büyüktür. Bais ve ark. (2000) bir yabani hindiba genotipinde (*Cichorium intybus* L. cv. Lucknow Local) 40 µM (1.7 mg/l) AgNO₃'ün *in vitro* sürgün sayısını 36.8 adede çıkardığını bildirmiştir. Araştırmacılar AgNO₃'ün bu etkisini bitki bünyesinde etilen biyosentezini engellemesine ve böylece içsel poliaminlerin sentezini artırmasına bağlamışlardır. Poliaminler, prokaryot ve ökaryotlarda hücre bölünmesi ve gelişmesinde önemli rol oynamaktadırlar (Evans ve Malmberg 1989). Buna bağlı olarak bir poliamin olan putrasinin ayvada sürgün organogenesisi üzerine etkilerini belirlemek üzere çalışmamızda bu maddelerin 16 mg/l'lik dozu 2.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA ile birlikte uygulanmış, ancak hiçbir genotipte sonuç alınamamıştır. Oysa, James ve ark. (1988), elmada *in vitro* sürgünlerin yapraklarından hazırladıkları disk ve şeritlerde sürgün oluşturma oranını, 2.0 mg/l BA + 0.5 mg/l NAA + 0.1 mM (1.6 mg/l) veya 1 mM (16 mg/l) putrasin ile %90 düzeyine çıkarmışlardır. Yine Bais ve ark. (2000) *Cichorium intybus* L. cv. Lucknow genotipinde 40 mM (6.44 g/l) putrasinin *in vitro* sürgün sayısını 34.6 adede yükselttiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacıların esas aldığı putrasin dozu bizim ayvada, James ve ark.'nın (1988) elmada kullandıkları dozun yaklaşık 400 katıdır. Putrasinin sürgün çoğalmasına etkisini Bais ve ark. (2000), bir poliamin olan putrasinin kendisine ve diğer poliaminler, spermidine ve spermine'in sentezlenmesindeki görevine bağlamışlardır.

Sonuç olarak, ayva yaprak diski eksplantlarından sürgün organogenesi üzerinde planlanacak yeni çalışmalar için AgNO₃ içeren Murashige ve Skoog temel besin ortamında farklı büyümeyi düzenleyici madde kombinasyonlarının etkilerinin belirlenmesi ve özellikle düşük TDZ dozları üzerinde durulması önerilmektedir.

Kaynaklar

- Aygun, A., B. San, H. Dumanoglu and M. Celik. 2006. Propagation by mound layering of some selected "SO" quince genotypes (*Cydonia oblonga*) as compatible rootstocks for pears (*Pyrus communis*). New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science 34: 191-193.
- Bais, H. P., G. S. Sudha and G. A. Ravishankar. 2000. Putrescine and silver nitrate influences shoot multiplication, *in vitro* flowering and endogenous titers of polyamines in *Cichorium intybus* L. cv. Lucknow Local. J. Plant Growth Regul. 19: 238-248.
- Baker, B. S. and S. K. Bhatia. 1993. Factors effecting adventitious shoot regeneration from leaf explants of quince (*Cydonia oblonga*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 35: 273-277.
- Chevreau, E. and C. Leblay. 1993. The effect of mother plant pretreatment and explant choice on regeneration from *in vitro* pear leaves. Acta Horticulturae 336 : 263-268.
- Chevreau, E. and R. Bell. 2005. *Pyrus* spp. Pear and *Cydonia* spp. Quince. P. 543-565. In: R. E. Litz (ed.). Biotechnology of Fruit and Nut Crops. CABI Publishing, Trowbridge.
- Çelik, M. 1988. Ankara Koşullarında Williams, Ankara, Akça ve Şeker Armut Çeşitleri İçin En Uygun S.Ö. Ayva Anaçlarının Seçimi Üzerinde Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1075, Ankara.
- Dodds, J. H. and L. W. Roberts. 1993. Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge University Press, New York.
- Dolcet-Sanjuan, R., D. W. S. Mok and M. C. Mok. 1991. Plantlet regeneration from cultured leaves of *Cydonia oblonga* L. (quince). Plant Cell Reports 10: 240-242.
- Dumanoğlu H. ve A. Aygün. 1999. Seçilmiş bazı S.Ö. ayva anaçlarında mikroçeliklerin *in vitro* köklenmesi üzerine IBA, NAA ve karanlık uygulamalarının etkileri. Türkiye III. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Bildiriler: 233-237. 14-17 Eylül 1999, Ankara.
- Evans, P. T. and R. L. Malmberg. 1989. Do polyamines have a role in plant development? Ann. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol. 40: 235-269.
- Fasolo, F., R. H. Zimmerman and I. Fordham. 1989. Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* grown shoots of apple cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 16: 75-87.
- Gamage, N. and T. Nakanishi. 2000. *In vitro* shoot regeneration from leaf tissue of apple (cultivar "Orine"): High shoot proliferation using carry over effect of TDZ. Acta Hort. 520: 291-298.
- Gülşen, Y. ve H. Dumanoğlu. 1992. Quince-A'nın *in vitro* çoğaltımında bazı oksinlerin ve BAP'nin sürgün verimi ve kalitesine etkileri. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi. Bildiriler (I): 291-294. 13-16 Ekim 1992, İzmir.
- Hatipoğlu, R. 1999. Bitki Biyoteknolojisi. Çukurova Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları: 190, Ders Kitabı: A-58, Adana.
- Heslop-Harrison, J. 2005. Introduction. P. XIX-XXIV. In: R. E. Litz (ed.). Biotechnology of Fruit and Nut Crops. CABI Publishing, Trowbridge.
- Hiratsuka, S. and M. Katagiri. 1988. Shoot and callus formation in explants from immature seeds of Japanese pear. Scientia Horticulturae 34 (3-4): 193-199.
- Jain, S. M. 2001. Tissue culture-derived variation in crop improvement. Euphytica 118: 153-166.
- James, D. J., A. J. Passey and E. Rugini. 1988. Factors affecting high frequency plant regeneration from apple leaf tissues cultured *in vitro*. J. Plant Physiol. 132: 148-154.
- Korban, S. S. and R. M. Skirvin. 1985. *In vitro* shoot regeneration from an intact and a sectioned embryo-axis of apple seeds. Plant Science 39 (1): 61-66.
- Litz, R. E. and D. J. Gray. 1992. Organogenesis and Somatic Embriyogenesis. P. 3-34. In: F. A. Hammerschlag and R. E. Litz (eds). Biotechnology of Perennial Fruit Crops. CABI, University Press, Cambridge.
- Mante, S., R. Scorza and J. M. Cordts. 1989. Plant regeneration from cotyledons of *Prunus persica*, *Prunus domestica*, and *Prunus cerasus*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 19: 1-11.
- Murashige, T. and F. Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Pieterse, R. E. 1989. Regeneration of plants from callus and embryos of 'Royal' apricot. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 19: 175-179.
- Predieri, S. and F. F. Malavasi. 1989. High-frequency shoot regeneration from leaves of the apple rootstock M26 (*Malus pumila* Mill.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 17: 133-142.
- Sarwar, M. and R. M. Skirvin. 1997. Effect of thidiazuron and 6-benzylaminopurine on adventitious shoot regeneration from leaves of three strains of 'McIntosh' apple (*Malus x domestica* Borkh.) *in vitro*. Scientia Hort. 68: 95-100.
- Schuerman, P. L. and A. M. Dandekar. 1993. Transformation of temperate woody crops: Progress and potentials. Scientia Hort. 55: 101-124.
- Sun, Q. R., Q. Z. Liu and R. H. Zhao. 2003. Somatic embryogenesis from *in vitro* leaves of pear. Acta Hort. Sinica 30 (1): 85-86.
- Swartz, H. J., R. Bors, F. Mohamed and K. Naess. 1990. The effect of *in vitro* pretreatments on subsequent shoot organogenesis from excised *Rubus* and *Malus* leaves. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 21: 179-184.
- Tornero, O. P., J. Egea, A. Vanoostende and L. Burgos. 2000. Assessment of factors affecting adventitious shoot regeneration from *in vitro* cultured leaves of apricot. Plant Science 158: 61-70.
- Welander, M. 1988. Plant regeneration from leaf and stem segments of shoot raised *in vitro* from mature apple trees. J. Plant Physiol. 132: 738-744.
- Welander, M. and G. Maheswaran. 1992. Shoot regeneration from leaf explants of dwarfing apple rootstocks. J. Plant Physiol. 140: 223-228.
- Yancheva, S.D. 1994. Preliminary studies on regeneration and transformation of plum (*Prunus domestica* L.). Acta Horticulturae 359: 159-163.

İletişim Adresi:

Hatice DUMANOĞLU
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Bölümü – Ankara
Tel: 0312 596 1299
E-mail: dmanoglu@agri.ankara.edu.tr

