

ROBINIA PSEUDOACACIA L. BITKILERİNİN KÖK TOMURCUKLARINDAN İTİBAREN  
GENÇLEŞTİRME ARAŞTIRMALARI

Sait YÜCEL, D.Ü. Eğitim Fakültesi, Biyoloji Bölümü DİYARBAKIR

Davut BAŞARAN, Ahmet ONAY

Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, DİYARBAKIR

ÖZET

Araştırma materyali olarak yaşlı *Robinia pseudoacacia* L. (Yalancı akasya) kökleri kullanıldı. Bu araştırmalar esnasında 24 yaşlı ağaç tahribedildi. Bunların en genci 43, en yaşlısı ise 52 yaşındaydı. İçerisinde en genç ağaç bulunduran birinci beşlik grubun kökleri tamamen gövdelerinden uzaklaştırıldı ve geriye kalan diğer ağacların yalnızca bazı kökleri zedelendi.

Netice olarak biz her iki ağaç grubunun, daha sonraki ağaçlandırmalarada kullanılacak olan, değişik sayıda gövde tomurcuklarını verdiklerini müşahade ettik. Keza biz, *R. pseudoacacia* L. ağaçları ihtiyarlasalar bile, bir yıl gibi kısa bir zaman içerisinde gençleştirilebileceğini gözledik.

RESUME

RECHERCHES DE RAJEUNISSEMENT A PARTIR DES BOURGEONS DE RACINES DES PLANTES DE ROBINIA PSEUDOACACIA L.

Les racines de vieux arbres de *Robinia pseudoacacia* L. ont étaient employées, comme matériel de recherches. Pendant ces recherches, nous avons gaspillé 24 vieux arbres. Parmis ces arbres, le plus jeunes avait 43 ans, le plus vieil arbre avait 52 ans. Les racines d'un groupe de cinq arbres qui contient le plus jeune arbre, ont été complètement séparées de leurs troncs et certaines racines des autres arbres ont été seulement blessées.

Finalement, nous avons constaté que des deux groupes d'arbre, donnaient des différents nombres de bourgeons caulinaires qui seront plutôt devenus des rejets de plantation. Aussi, nous avons vu que bien que les arbres de *R. pseudoacacia* L. vieillissent, il est possible de les rajeunir en un plus court durée, comme un an.

#### GİRİŞ

Bütün canlılarda olduğu gibi bitkiler de, belli bir yaşam devresinden sonra yaşlanırlar. Bunları gençleştirmek için bugüne kadar *in vitro* ve *in vivo* olarak birçok yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerin başında gelen vejetatif çoğalma ve organojönez çalışmalarının temeli 1970 li yılların sonlarına dayanır [1].

*In vitro* kültürler özellikle odunlu bitkilerde, seçimle ilgili çözümleri de beraberinde getirirler. Odunlu bitkilerin bir kısmı çelikleme ile çoğalırlar. Aşılanma ile oldukça nazik ve uzun süren bir işlemden sonra çoğalma mümkün olmaktadır.

Yaşlanma sorunu olmaksızın, genler ve klonlar bankası geleneksel klonlar parkında tutulur. Buradan alınan materyalin birbiri ardisıra gelen organojönez ve aktarma olaylarıyla, yeniden gençleştirilmesi mümkün olur.

Vejetatif çoğalma "klon" olarak adlandırılan ve birbirine benzer fertlerin teşkil ettiği bir canlı varlık topluluğunu ortaya çıkarma vasisasıdır. Bitkiler aleminde bu teknik (çeliklenme, aşılama v.b.) oldukça uzun yillardan bu yana kullanılagelmektedir. Bugün bütün bunların yanında *in vitro* kültürler gibi değişik metodlar da kullanılmaktadır.

*In vitro* olarak yapılan mikropropagasyonla organlaşmış bitki parçalarından itibaren vejetatif yolla bitkiler yetiştirebilir. *Eucalyptus camaldulensis* (sıtma ağacı) tohumlarını litrede 8 g jeloz bulunan katı bir besi ortamına steril olarak ekip, ekimden 7 gün sonra 3-4 cm boyundaki genç bitkileri elde eden DIALLO ve DUHOUX [2], bu genç

bitkilerin yalnızca hipokotiler bölgesini MURASHIGE ve SKOOG'un [3] mineral çözeltisinde yetiştirmiştir. Kullanılan kültür ortamı, mineral elemanlarından başka NITSCH ve NITSCH'in [4], kültür besi ortamı maddelerini de içermektedir. Kültüre alındıktan üç hafta sonra, genç tomurcukları çıplak gözle seçilmeye başlar. Çok kısa bir süre sonra ana eksen boyu ile karşılaştırılabilen iki yapraklı bir dalın çıkışını gözlenir. Nadir de olsa aynı şekilde, gövdeler üzerinde ek tomurcuklar belirir. Daha sonra üç dalın koltuk altı tomurcukları gitgide gelişerek yeni dallar verirler. Bu şekilde çok sayıda tomurcuk taşıyan genç dallardan itibaren oldukça fazla sayıda dallar elde edilir. Kültüre alındıktan 4-8 hafta sonra, bir tüp içerisinde tepe tomurcuk sayısının 100 den fazla olduğu saptanmıştır [2]. Yine aynı araştırmacılar bu metodla bir yıllık bir zaman periyodunda bir genetikten itibaren  $10^{13}$  adetten daha fazla sayıda fert elde etmişlerdir.

*Acacia albida*'nın (akasya) mikropropagasyonunda çenek yapraklarına ait tomurcukları yukarıdaki besi ortamlarını [3,4] kullanarak kültüre alan DAVIES ve DUHOUX [5] bir ay sonra, kotiledonların koltuk altlarından itibaren 5-7 dal vererek çoğaldığını gözlemişlerdir. Aynı dalların her biri daha sonraki çeliklerin orijinini teşkil eden yapraklı düğümlerin taşıyıcısı olacaktır.

Belirli bir olgunluğa erişmiş bir ağaçtan alınmış dallardan itibaren bir rejenerasyon temin edilmesi daha ilgi çekicidir. Bu durumda yaşlı ağaçlar iyi bir çeliklenme özelliğini göstermezler. Çünkü bunların köklenme yetenekleri yaşlanmaya doğru orantılı olarak azalır.

BUFFON *Platanus*'unun (çınar) apikal meristemlerini materyal olarak kullanan FRANCLET [6], ağaçın dallarını ana daldan izole edip 10-15 cm uzunlığında çelikler haline getirmiş ve bunları köklendirmek suretiyle gençleştirme sürgünlerini elde etmiştir. Fakat bunların ancak 7 yıl sonra tohumlardan elde edilenlerle karşılaştırılabilir bir vejatatif faaliyete eriştiğini gözlemiştir.

Bütün bunların yanında askılı aşılama yoluyla da gençleştirme işine

gidilmiştir. DORENBOOS [7], genç bir *Hedera helix* (duvar sarmaşığı) organı üzerine duvar sarmaşığının yaşlı bir meristemini aşılıyor, apikal meristem'in yeniden gençleştiğini görmüştür. Buna benzer olarak FRANCLET [1], 83 yaşındaki bir *Eucalyptus camaldulensis*'ten (sıtma ağacı) aldığı aşı parçalarının tohumdan üretilmiş 4-6 aylık anaçlar üzerine aşılıyorarak gençleşmesini sağlamıştır.

In vitro olarak yapılan başka bir çalışmada SOUGOUFARA ve DUHOUX [8], *Casuarina equisetifolia*'nın çiçek durumunu dezenfekte edip, uygun kültür ortamlarına [3,4] aktardıktan 3 hafta sonra, çiçek durumunun tabanından 8-12 adet yan tomurcüğün belirdiğini ve buradan da vejetatif dalların çıktığını gözlemeşlerdir. Yine in vitro şartlarda *Sequoia-adendron giganteum* cv. *pendulum* (mamut ağacı) çeliklenme yoluyla çoğalmasını sağlayan FRANCLET [9], genç sürgünleri her ay düzenli olarak yenilenen kültür ortamlarına aktarmak suretiyle, bir yıl sonra yetiştiği 1000 adet bitkinin tohumdan yetiştirilenlere benzer yapıda olduğunu gözlemiştir.

Kahve ağacının (*Coffea*) düğümelerası bölgelerinden 1 cm uzunluğundaki parçaları alıp in vitro şartlarda yetiştiren DUPLIN [10], kallusların tabanından köken alan embriyo taslakları elde etmiş ve kültür devresinden sonra açık araziye aktarmak suretiyle 100 den daha fazla saýda fidan elde etmiştir.

Gençleştirme sürgünlerini oluþtururan tomurcuklar bir morfojönez faaliyeti olup, birçok dış faktörlerden etkilenmektedir. NEGRUTI ve ark. [11], ışık miktarının hormon aktivitesini etkileyebilecek formasyon ve regenerasyona neden olduğunu saptamıştır. BONNET [12], toprak üstüne çıkan köklerde oluşan tomurcukların ışık etkisiyle büyütüp düzenlenliğini ortaya koymaktadır.

Buraya kadar incelenen literatür özetlerinden de anlaşılacağı gibi, yapılan gençleştirme çalışmaları kök üzerinde sürgün oluþturma yolu gibi gerek ekonomik ve gerekse pratik bir metoda rastlanmamıştır.

İşte bu konudaki eksikliği bir nebze olsun tamamlamak amacıyla *Robinia pseudoacacia* bitki köklerini tahrifetmek suretiyle, Diyarbakır şartlarında gençleştirme araştırmaları yapma yoluna gidilmiştir.

#### MATERIAL VE METOD

##### MATERIAL

Araştırma materyali olarak Dicle Üniversitesi kampusunda bulunan Göçmenler köyündeki yaşı *Robinia pseudoacacia* L. [13] örnekleri kullanıldı.

*Robinia pseudoacacia* L., Rosales ordoşunun Leguminosae familyasına mensuptur. 20-25 m yükseliğe varabilen bu ağaçların stipulleri diken şeklinde almıştır. Yaprakçık sayısı çoğunlukla 7-19 dur. Elips şeklinde olan yapraklarının üst yüzü taze yeşil, alt yüzü soluk gri-yeşildir. Beyaz renkli çiçeklerinin birçoğu birarada salkımlar şeklinde yaprakların koltuğundan aşağı doğru sarkarlar. Sert bir odunu olan bu ağaçlar, hızlı büyür ve yaşlılarındakiler gelişmeleri durup, yavaş yavaş kurumaya yüz tutarlar. Esas vatanı Amerika olup, Türkiye'ye sonradan getirilmiş ve her tarafa adapte olmuştur [14].

##### METOD

*In vitro* koşullarda yaptığımız bu araştırma için en genci 43 ve en yaşlısı 52 yıllık olan *R. pseudoacacia* ağaçlarından 24 adet alındı. Bu ağaçlardan 5 tanesinin kökleri tamamen kesildi ve diğer 19 tanesinin ise değişik kalınlıklardaki kökleri yüzeye çıkarılarak zedelenindi. Bu müdahaleler 20 Nisan'da gerçekleştirildi. Bu işlemlerden yaklaşık olarak 15-20 gün sonra gerek zedelenen ve gerekse kesilen köklerin bilhassa müdahale bölgelerine yakın olan alt yüzeylerinde tomurcuklar gözlandı (Resim-1).

## BULGULAR

Çalışmalarımıza *R. pseudoacacia* ağaçlarının köklerinde yaralar açmak suretiyle, köklerin ışıkla temasını sağlamakla başladık. Böylece kök üzerinde gövde tomurcuklarının oluşması için uygun bir ortam sağlamış oldu. Köklerin ışıkla temas etmesi ve kesilmesi ile hormon aktivitesi artacağından tomurcuklar oluşmaya başladı. Literatür özetlerinde de belirtildiği gibi ışık, hormon aktivitesini ve buna bağlı olarak sürgün verimini arttırır [11,12]. Şöyle ki; zedelenen kökler, ışıkla temas etmedikçe üzerinde gövde tomurcuklarının belirmediğini gözledik.

Daha önce de belirttiğimiz gibi bu çalışma için yaşlı ağaçlardan 24 adet kesildi. Bunlardan 5 tanesinin kökleri tamamen ana gövdeden uzaklaştırıldı. 19 tanesinin de irili ufaklı birkaç kökü zedelendi. Bu şekilde kesilen ve zedelenen köklerin bilhassa alt yüzeylerinde 15-20 gün içerisinde tomurcuklar oluşmaya başladı (Resim-1). Dikkati çeken başka bir husus da en fazla tomurcuğun 20 Haziran'dan sonra oluşmasıydı. Bu tomurcuklar, gelişiminin ilk haftasında çok yavaş büyümeye göstergelerine rağmen, bunu takibeden ilk birkaç hafta içerisinde yaklaşık olarak 3-4 cm'ye erişen uzamalar gösterdiler. Tomurcuklar henüz küçük bir kabartı şeklinde iken alınan anatomik kesitte 5-6 adet girdabın bulunduğu (Resim-2), neticede böyle küçük bir alanda girdap sayısı kadar sürgün oluştuğu gözlandı.

Kesilen köklerin kalınlıklarına göre oluşan tomurcuk sayısı da değişkenlik gösterdi. Çapı 1 cm'den az olan köklerden 2-3 sürgün, çapı 4-6 cm olanlardan 25-30 adet sürgün elde edildi. Zedelenen köklerden ise 4-5 adet sürgün gelişebildi. Yine aynı şekilde zedelenen kökler üzerinde oluşan sürgünler 70-80 cm'ye ulaşınca kadar normal bir gelişme gösterdiler, fakat daha sonraki aşamada bu gelişme yavaşlamaya başladı. Çünkü bu sürgünlerin büyümesi apikal tepe tomurcuğunun kontrolü altına girmiştir. Bununla ilgili olarak yaptığımız bir deney sonucunda köke bağlı olarak kalan ve ayrılan tomurcuklardan iki tanesinin iki yıl boyunca gelişimi gözleendiğinde, ana gövdeden ayrılanın boyu 5,5 m'yi geçtiği halde (Resim-3), bağlı kalanın ise aynı ortam

şartlarında 1,5 m'yi aşmadığı saptandı (Resim-4).

Yapılan gençleştirme çalışmaları esnasında, Resim-5'te görüldüğü gibi, zayıf kumlu topraklarda yetişen sıhhatsız görünümü ağaçlara rağmen, bunların gövdelerinin tamamen elimine edilmesiyle elde edilen 4-5 adet gelişen 1 yıllık sürgünlerin gayet sıhhatlı ve herbirinin şaşırılmasiyla çok daha verimli fidanlar elde edilebileceği açıklık kazanmakta ve ağaçlandırımda da ayrı bir önem arzettmektedir.

Bu çalışmalardan da anlaşılabileceği gibi, bu metodla bilhassa yaşlı ağaçları gençleştirmek çok ekonomik ve pratik olmaktadır. Çünkü büyük bir maddi külfeti olmayan bu çalışma neticesinde 2 yıl kadar bir süre sonunda yaşlı bir ağaç ölümünden kurtarıldığı gibi, 5-6 m boyunda çok sağlıklı birçok genç ağaç elde etmeye yardımcı olmakta ve aynı zamanda kesilen gövdeleri de yurt ekonomisinde önemli bir yer almaktadır.

#### BULGULARIN TARTIŞMASI

En genci 43 yaşında olan ve üzerinde yer yer kurumuş dalların bulunduğu yaşlı ağaçların toprakaltı seviyesinde gerçekleştirilen kesim operasyonlarıyla bir yılda elde edilen sürgünlerin morfolojik yapıları, aynı bitkinin tohumlarından elde edilenleriyle karşılaştırıldıklarında, tohumdan elde edilenlerin ancak 4-5 yılda, yukarıda belirtilen kök sürgünlerine eristikleri görülmektedir. Aynı şekilde DORENBOS [7], *Hedera Helix* (duvar sarmaşığı) ile ilgili gençleştirme çalışmaları esnasında yaşlı tomurcuklardan yalnızca birini genç duvar sarmaşığı tomurcukları bölgесine aşılamakla, az sayıda gençleştirme işlemi gerçekleştirilir. Halbuki *R. pseudoacacia L.* (yalancı akasya)'da bir defada yüzlerce genç sürgün elde etmek mümkün olmaktadır.

1975 yılında BUFFON *Platanus*'unun (çınar) gençleştirilmesi ile ilgili deneyler incelendiğinde, 195 yıllık bir çınarın çeliklerinden elde edilen fidanlarının, tohumdan elde edilenleriyle karşılaştırılabilir bir seviyeye erişmesi için en az 7 yıla gereksinim duyulduğu gösterilmiştir [6]. Halbuki *Robinia pseudoacacia* ile yapılan aynı işlemlerin

bir yıl gibi çok kısa bir zamanda, yukarıdaki gövde meristemlerine nazaran, kök tomurcuklarından gençleştirildiği gözlenmiştir.

#### REFERANSLAR

- [1] FRANCLET A., 1979-Rajeunissement des arbres adultes en vue de leur propagation végétative. In : Micropropagation des arbres forestiers. AFOCEL 12-18. Etudes et Recherches, 3-18.
- [2] DIALLO N. et DUHOUX E., 1984-Organogénese et multiplication in vitro chez *L'Eucalyptus camaldulensis* L.J. Plant Physiol. 115, 177-182
- [3] MURASHIGE T. et SKOOG Fb., 1962-A Nevised Medium for Rapid Growth and Bio Assay With Tabacco Cultures. Physiol. Plant., 15, 453-497
- [4] NITSCH J.P. et NITSCH C., 1965-Néoformation de fleures in vitro chez une espece de jours courts: *Plumbago indica* L. Ann. Physiol. Veg., 7, 251-256.
- [5] DAVIES A., DUHOUX E., 1985-Caulogenése a partir de bourgeons cotylédonaires d'*Acacia albida* et influence du saccharose sur la rhisogenése. J. Plant Physiol. (sous presse).
- [6] FRANCLET A., 1981-Rajeunissement et propagation végétative des ligneux Ann.AFOCEL, 11-40.
- [7] DORENBOOS J., 1953-Rejuvenation of *Hedera helix* in graft combinations prev.115.Wageningen.
- [8] SOUGOUFARA B., DUHOUX E., 1985-Organogenése et micropropagation du *Casuarina equisetifolia* L. (en presse).
- [9] FRANCLET A., 1981-Rajeunissement et micropropagation des ligneux IN: Colloque internationale sur la culture in vitro des essences forestières. AFOCEL ed.55-65.

- [10] DUPLIN P., 1980-Induction de bourgeons néoformés et embryogenése somatique. Café, Cacao, Thé, 24,2,121-130.
- [11] NEGRUTI I., JACOPS M., GASPAR Th., 1970-Leaf formation and peroxidases from *Arabidopsis* callus. Z.Pflanzen - Physiol. Bd.91. p. 119-126.
- [12] BONNET H.T., 1972-Phytochrome regulation of endogenous bud development in root cultured of *Convolvulus* Planta 106:325-330.
- [13] DAVIS P.H., 1970- Flora of Turkey and the east Aegean Islands. V.3. p.628.
- [14] KAYACIK H., 1975-Orman ve Park ağaçlarının özel sistematığı. İ.Ü. Orman Fak.Yayın.NO:219.



Resim - 1 : Zedelenen kök bölgesinde oluşan sürgünlerin çıkış yeri ve gelişimi.



Resim - 2 : Kök-gövde kaynaşma bölgesinde tomurcukların  
oluşturulacak girdapların anatomiç yapısı (x 100)



Resim - 3 : Köklerden oluşturulan tomurcukların, ana kökten  
bağımsız olarak 2 yılda gösterdikleri gelişme.



Resim - 4 : Köklerden oluşturulan tomurcukların, ana köke bağlı olarak 2 yılda gösterdikleri gelişme.



Resim - 5 : Gençleştirme amacıyla kesilen R.pseudoacacia L. ağaçlarının kök seviyelerinde oluşan bir yıllık sıhhatlı sürgünler.