

Bazı Sert Çekirdekli Meyve Anaçlarının Doku Kültürü İle Çoğaltılması

Ş. Evrim ARICI*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 32260, Çünür, ISPARTA

*Yazışma yazarı: evrima@ziraat.sdu.edu.tr

Özet: Bu çalışmada Myrobolan 29-C, MaxMa 14, MaxMa 60, GF 677 ve GN anaçlarının sürgün uçları ve yan sürgünleri kullanılarak doku kültürü çoğaltma olanakları araştırılmıştır. Eksplantlar 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, 1 mg/L BAP+ 0.2 mg/L NAA, 2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, 2 mg/L BAP+0.2 mg/LNAA, 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0,5 mg/L GA₃, 1 mg /L BAP+ 0.2 NAA+0.5 mg/L GA₃, 2 mg/L BAP+0.02 NAA+0.5 mg/L GA₃, 2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃ hormonlarını içeren MS ortamı üzerinde kültüre alınmıştır. Ortamlar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmesi de en fazla sürgün oluşumu Myrobolan için MS+1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA, MaxMa 60 için MS+2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, MaxMa 14 için MS+2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃ , GF 677 için MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, GN için MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+ 0.5 mg/L GA₃ içeren ortamlarda gözlenmiştir.

Anahtar kelimeler: GF 677, GN, Myrobolan 29-C, MaxMa 14, MaxMa 60, mikro çoğaltım, doku kültürü

In Vitro Propagation of Some Stone Fruit Rootstock by Tissue Culture

Abstract: Apical and axillary buds of rootstocks "Myrobolan 29 C, MaxMa 14, MaxMa 60, GF 77 and GN explants were cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, 1 mg/L BAP+ 0.2 mg/L NAA, 2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, 2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA, 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, 1 mg/L BAP+ 0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, 2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, 2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃. Although they were no significantly differences among medium, the best shoot regeneration was observed for Myrobolan 29 C on MS+1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA, for MaxMa 60 on MS+ 2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, for MaxMa 14 on MS+ 2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, for GF 77 on MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, and for GN on MS+1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+ 0.5 mg/L GA₃.

Key words: GF 677, GN, Myrobolan 29-C, MaxMa 14, MaxMa 60, micropropagation, tissue culture

Giriş

Ülkemizde toplam meyve üretiminin %25 gibi önemli bir payını sert çekirdekli meyveler oluşturmaktadır ve 2007 yılı itibariyle meyve üretimi 1.963.145 tondur (Anonim, 2008 a). Bu türlerin üretim miktarları dünyadaki diğer üretici ülkelerle karşılaştırıldığında Türkiye; dünya kiraz ve kayısı üretimi bakımından 1. sırada, şeftali ve nektarin üretimi bakımından 7. sırada, erik üretimi bakımından 8. sırada, vişne üretimi bakımından ise 3. sırada yer

almaktadır (Taner, 2001; Anonim, 2008 b; Ozan, 2008; Faostat, 2008).

Meyve türlerinin yetiştiriciliğinde anaç kullanımı zorunludur. Anaçlar üzerine aşılana çeşidin gelişimi, hastalık ve zararlılara dayanımını, verimini, meyve kalitesini, erkenciliğini ya da geççiliğini, kurağa, dona, kirece, tuzluluğa, taban suyuna dayanımını ve bitki besin maddelerinin topraktan alımını etkilemektedir. Sert çekirdekli meyvelerin yetiştirilmesinde, yabani kiraz (kuş kirazı)

mahlep çöğürleri, şeftali yozları, badem, kiraz, erik çöğürleri, nemaguard uzun yıllar anaç olarak kullanılmış ancak son yıllarda klon anaçlar üzerine aşılı fidanların kullanımı ve klon anaçlarına olan talep hızla artmaktadır (Hartman ve ark., 1997; Anonim, 2008 c). Çöğür anaçlar, tohumdan kaynaklanan büyüme ve diğer kalıtım farklılıkları, kuvvetli büyümeleri ve geç verime yatmaları nedeniyle zamanla terk edilmektedir. Bunun yanı sıra bazı çöğürler ağır topraklarda gelişmemekte ve özellikle *Phytophthora* Kök Çürüklüğü Hastalığına karşı oldukça duyarlılık göstermektedir (Hartman ve Kester, 1983).

Meyveciliğin temel unsurlarından olan anaç seçimi tüm dünyada gelişmeleri dikkatle takip edilen önemli konulardan birini teşkil etmektedir. Özellikle sık dikime yönelik toprak ve iklim koşullarına uygun anaç geliştirme çalışmaları yoğun bir şekilde yürütülmektedir. Ekonomik açıdan erken ürün verme ve birim alandan maksimum ürün almak için klonal anaç kullanmak gerekmektedir. Klonal anaç kullanımında, genotipin devamlılığı sağlanmakta, üniform populasyon oluşturulabilmekte, gençlik kısırılık dönemini, daha kısa sürmesinden dolayı daha erken dönemde meyveye yatmaktadır. Bu nedenlerden dolayı çeşitli yöre ve toprak koşullarına uygun klonal anaçlar kullanılmalıdır. Almanya'da Gissen Araştırma Enstitüsünde geliştirilen Gisela serisi; 5, 6, 7 ve 12 anaçları, Fransa'da geliştirilen MaxMa serisi (MaxMa 14, MaxMa 60), Weirod ve Tabel Edabriz, İtalya'da geliştirilen CAB 6P ve E-11 anaçlarının kullanımı hızla yaygınlaşmakla birlikte Mahalep SL-64, Colt, Mazzart F-12/1, Myrobolan 29-C, Hansen 2168, GF 677, GF 43, GF 657, Damask 1969 ve GN gibi sert çekirdekli meyve anaçları üzerine aşılı fidanlara olan talep sürmektedir (Hudson ve ark., 1997; Özyiğit, 2003,). Şeftalide de klon anaçlarının kullanımı son yıllarda giderek artmaktadır. Klon anaçlar özellikle kireçli topraklarda önerilmektedir. Sert çekirdekli meyveler için kullanılan klon anaçları genellikle çelikle ve bazıları da doku kültürleri yolu ile çoğaltılmaktadır. Son yıllarda doku kültürü teknikleri kullanılarak sert çekirdekli meyve

anaçlarında mikroçoğaltım yapılmaktadır (Muna ve ark., 1999, Ertürk ve ark., 2007, Anonim, 2008 d). Laboratuvar koşullarında sert çekirdekli meyve anaçlarının sürgün uçları ve yan sürgünler BAP içeren yapay besi ortamlarında kültüre alınarak çoğaltılmaya çalışılmaktadır. Bununla birlikte bazı anaçlar *in vitro*'da seri olarak çoğaltılamamaktadır. Bu nedenle hala sert çekirdekli meyve anaçlarının *in vitro* da çoğaltımı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Yapılan bu çalışmada Myrobolan 29-C, MaxMa 60, MaxMa 14, GF 677, GN sert çekirdekli meyve anaçlarının sürgün ucu kültürü ile farklı hormon konsantrasyonu ve kombinasyonu içeren ortamlarda hızlı bir şekilde çoğaltımı araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Araştırmada, seçilen Myrobolan 29-C, MaxMa 14, MaxMa 60, GF 677 ve GN anaçlarının sürgün uçları ve yan sürgünleri doğal koşullardan alınarak, steril koşullarda kültüre alınmıştır. *In vitro* koşullarda klonal çoğaltımı yapılacak anaçların, yüzeysel dezenfeksiyonunu sağlamak amacıyla, sürgünler önce 10-15 dakika su altında yıkanmış, %70'lik etanol içerisinde 2 dakika bekletilmiş, daha sonra eksplantlar 1-2 damla Tween 20 içeren %15'lik sodyum hipoklorid çözeltisi içerisinde 20 dakika süre ile çalkalandıktan sonra steril saf su ile her biri 5'er dakika olmak üzere 3 kez yıkanmıştır. Eksplantlar steril filtre kağıt üzerinde kurutulduktan sonra bazal MS (Murashige ve Skoog, 1962) ortamı içeren cam deney tüpleri içerisinde kültüre alınmıştır. Bazal MS ortamında 3-4 gün kültüre alınan ve steril olan eksplantlar çoğaltma aşamasında 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, 1 mg /L BAP+0.2 mg/L NAA, 2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, 2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA, 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, 1 mg /L BA P+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, 2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, 2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃ hormonları içeren ortam üzerinde kültüre alınmıştır. Gelişen ve çoğalan sürgünler 4-5 hafta sonra ayrılarak alt kültüre alınmıştır. Doku kültürü çalışmalarının bütün

aşamalarında temel besin ortamı olarak MS+ %3 sakkaroz+%0,7 agar kullanılmış ve pH'ları 5.7-5.8' e ayarlanmıştır. Hazırlanan besi ortamları 200 ml'lik magenta kutucuklarına 40 ml kadar dökülmüş, 121 °C sıcaklıkta, 1,2 atm'de 15 dakika otoklav edilmiştir. Doku kültürlerinin tüm aşamalarında besin ortamlarında kültüre alınan sürgün uçları sıcaklığı 25±1°C, gün uzunluğu 16 saat aydınlık/8 saat karanlık, ışık intensitesi 3000 luks olarak ayarlanmış ve kültür odalarında gelişmeye bırakılmıştır. Denemeler tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 tekerrürlü, her tekerrürde 10 eksplant olacak şekilde kurulmuş ve iki kez yapılmıştır. Uygulama sonuçlarının önemliliği "Varyans analizi" ile SPSS 12 paket programı kullanılmıştır. Araştırmadan elde edilen verilerin varyans analizleri yapılarak uygulamalar arasındaki farklılıklar Duncan Çoklu Karşılaştırma testi (P≤0,05) ile belirlenmiştir. Sürgünler 2-3 cm boyuna geldiğinde MS + 0.5 mg / L IBA içeren MS ortamları üzerinde kültüre alınmış ve köklendirilmiştir. Köklenen bitkiler torf: vermikulit karışımını (1:1) içeren viollere aktarılmıştır. Viollerin üzeri yüksek nem sağlamak için plastik naylon poşetle kapatılmış, 25±1°C ve gün uzunluğu 16 saat aydınlık/8 saat karanlık ve ışık intensitesi de 3000 lüks olarak ayarlanmış, kültür odalarında gelişmeye bırakılmıştır. Yaklaşık 10 gün sonra plastik naylon açılmaya başlamış ve 4 hafta sonra bitkinin doğal koşullara adaptasyonu sağlanarak plastik naylon uzaklaştırılmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Çizelge 1. Çoğaltım aşamasında kullanılan farklı hormon konsantrasyon ve kombinasyonlarının Myrobolan 29-C anacının sürgün sayısı üzerine olan etkileri

Hormon Konsantrasyon ve Kombinasyonları	Sürgün Sayısı (Adet)
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	4.56±0.60
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	5.38±0.56
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	4.44±0.56
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	4.75±0.98
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+ 0.5 mg/L GA ₃	4.56±0.56
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.67±0.58
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.13±0.23
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.13±0.67

Sert çekirdekli meyve anaçlarının doku kültüründe çoğaltım çalışmalarında sürgün uçlarının yüzeysel sterilizasyonu için sodyum hipo klorid kullanılmış ve doğal koşullardan getirilerek kültüre alınan eksplantlarda kontaminasyon oranı % 10'un altında tespit edilmiştir (data verilmemiştir).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada 5 sert çekirdekli meyve anacı BAP içeren kültür ortamında başarılı bir şekilde çoğalmıştır (Çizelge 1, 2, 3, 4, 5). Ortam içerisine ilave edilen BAP yan sürgünlerin oluşumunu ve gelişmesini teşvik etmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da ortam içerisindeki BAP hormonunun sürgün gelişimini başarılı bir şekilde teşvik ettiği rapor edilmiştir (Muna ve ark., 1999, Pruski ve ark., 2000; Durkovic, 2006; Kamali ve ark., 2001; Sedlak ve Paprstein, 2008).

Kültüre alınan anaçlar tüm hormon konsantrasyonlarını içeren MS ortamları üzerinde çok hızlı bir gelişim göstermiştir. Ortamlar arasında istatistiksel olarak bir fark gözlenmese de en fazla sürgün oluşumu Myrobolan 29-C için 1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA, MaxMa 60 için 2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, MaxMa 14 için 2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃, GF 677 için 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA, GN için 1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA₃ içeren ortamlarda gözlenmiştir. GA₃ içeren ortamlarda Myrobolan 29-C, MaxMa 14 ve MaxMa 60 bitkilerinin sürgün boylarının, daha uzun olduğu fakat sürgün oluşumuna hiçbir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. GF 677 ve GN sürgünleri uygulanan bütün hormon konsantrasyonlarında benzer gelişme göstermiştir.

Çizelge 2. Çoğaltım aşamasında kullanılan farklı hormon konsantrasyon ve kombinasyonlarının MaxMa 14 anacının sürgün sayısı üzerine olan etkileri

Hormon Konsantrasyon ve Kombinasyonları	Sürgün Sayısı (Adet)
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	4.22±0.32
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	4.33±0.44
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	4.77±0.79
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	4.82±0.65
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+ 0.5 mg/L GA ₃	4.00±0.65
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.44±0.52
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.44±0.53
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.84±0.99

Çizelge 3. Çoğaltım aşamasında kullanılan farklı hormon konsantrasyon ve kombinasyonlarının MaxMa 60 anacının sürgün sayısı üzerine olan etkileri

Hormon Konsantrasyon ve Kombinasyonları	Sürgün Sayısı (Adet)
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	4.22±.55
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	4.50±0.50
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	5.44±0.56
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	4.75±0.98
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+ 0.5 mg/L GA ₃	4.78±0.57
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.07±0.58
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.13±0.38
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.50±0.20

Çizelge 4. Çoğaltım aşamasında kullanılan farklı hormon konsantrasyon ve kombinasyonlarının GF 677 anacının sürgün sayısı üzerine olan etkileri

Hormon Konsantrasyon ve Kombinasyonları	Sürgün Sayısı (Adet)
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	4.77±0.64
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	4.37±0.53
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	4.00±0.64
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	4.00±0.56
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+ 0.5 mg/L GA ₃	4.44±0.70
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.14±0.29
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.05±0.46
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	4.12±0.19

Çizelge 5. Çoğaltım aşamasında kullanılan farklı hormon konsantrasyon ve kombinasyonlarının GN anacının sürgün sayısı üzerine olan etkileri

Hormon Konsantrasyon ve Kombinasyonları	Sürgün Sayısı (Adet)
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	1.50±0.16
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	1.70±0.15
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA	1.80±0.20
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA	1.66±0.62
1 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+ 0.5 mg/L GA ₃	1.88±0.11
1 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	1.55±0.17
2 mg/L BAP+0.02 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	1.62±0.18
2 mg/L BAP+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L GA ₃	1.66±0.16

Yapmış olduğumuz bu araştırmada bitkinin genetik yapısına bağlı olarak *in vitro*'da sürgün oluşumu bakımından her çeşit aynı tepkiyi göstermemiştir. Sert çekirdekli meyve anaçlarındaki sürgün oluşumunda gözlenen farklılıkların nedeni

bitkinin kendi bünyesinde bulunan farklı oksin ve sitokin hormonlarından kaynaklanmaktadır. Yapmış olduğumuz çalışmalarda 1 mg/L BAP içeren ortamlarda gelişen bitkiciklerde herhangi bir fizyolojik anormallik gözlenmezken 2 mg/L BAP

içeren ortamlarda MaxMa 14 ve MaxMa 60 da azda olsa kallus gelişimi olmuştur. Benzer sonuçlar Muna ve ark., 1999 tarafından da bildirilmiştir. NAA konsantrasyonu fazla olan ortamlarda sürgün sayısında çok az bir artış olsa da sürgün boyunun daha küçük olduğu tespit edilmiştir. NAA 0.02 mg/L içeren MS ortamında regenerasyon sonucu oluşan bitkilerin daha iyi büyüdüğü gözlenmiştir.

In vitro'da klonal olarak çoğalan bitkilerin doğal koşulla adaptasyonlarında zorluklar yaşanmış olmasına rağmen, toprağa aktarılan bitkilerde bir anormallik gözlenmemiş, oldukça sağlıklı bir gelişim göstermiştir. Dimassi-Therio, 1995 yapmış olduğu çalışmada benzer sonuçlar alındığı bildirmiştir.

Sonuç olarak ortam içerisinde bulunan 1 ve 2 mg/L BAP sert çekirdekli meyve anaçlarından sürgün oluşumunu ve gelişimini teşvik etmektedir.

Kaynaklar

- Anonim, 2008a. <http://www.sontarim.com/index.php/meyve-ureticilerine-ozel-kredi/>
- Anonim 2008b. <http://www.bahcesel.com/content/view/806/3067/>
- Anonim, 2008c. <http://www.cevizfidan.com/seftali.htm>
- Anonim, 2008d. <http://www.bahcesel.com/content/view/914/3188/>
- Dimassi-Therion, K.; 1995. *In vitro* rooting of rootstock GF-677 (*Prunus amygdalus* x *P.persica*) as influenced by mineral concentration of the nutrient medium and type of culture tube sealing material. J. Hort. Sci., 70: 105-108.
- Durkovic, J., 2006. Rapid micropropagation of mature wild cherry. Biologia Plantarum, 50 (4): 733-736.
- Faostat, 2008. (www.fao.org), [Erişim: 03.03.2008].
- Ertürk, U., Sivritepe, N., Yerlikaya, C., Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I. 2007. Responses of the cherry rootstock to salinity *in vitro*. Biologia Plantarum. 51 (3): 597-600.
- Hartman H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. and Geneve, R.L. 1997. The biology of grafting plant propagation: Principles and Practices- Hall., p:392-436.
- Hartman, H.T., and Kester, D.E., 1983. Plant propagation principles, and practices. 4th edition. Prentice-Hall Englewood Cliffs, N.J.
- Hudson, H., Katser, D:E., Davies, F.T.Jr., Greve, R.L., 1997. Plant propagation principles and practices , 6th Edition.
- Kamali, K., Majidi, E., and Zarghami, R., 2001. Micropropagation of GF 677 (*Prunus amygdalus* x *P.persica*). 11 GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds CIHEAM-IAMZ. 56 (175-177).
- Muna, A.S., Ahmad, A.K., Mahmoud , K., Abdul-Rahman, K., 1999. *In vitro* propagation of a semi-drawing cherry rootstock. Plant Cell and Tissue and Organ Culture, 59: 203-208.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15 (3): 473-497.
- Pruski, K.W, Lewis, T, Astatkie, T., Novak J., 2000. Micropropagation of chokecherry and pincherry cultivars. Plant Cell and Tissue Culture, 63: 93-100.
- Ozan, H., 2008. http://www.tarimsal.com/makaleler/Kirazda_ozemli_noktalar_ve_tavsiyeler.htm
- Özyiğit, S., 2003. 0900 Ziraat ve dölleyicileri ile bazı klonal anaçlarının uyuşma durumları. Eğirdir Bahçe Kültürü Araştırma Enstitüsü Eylül Dergisi.<http://egirdirbahce.org/arsiv/eylul2003/eylul2003.html>
- Sedlak, J., and Paprstein, F., 2008. *In vitro* shoot proliferation of sweet cultivars Karesova and Rivan. Hort Sci (Prague), 35 (3): 95-98.
- Taner, Y., 2001. Sert çekirdekli meyve ve özellikle kiraz ihracatında pazarlama politikaları ve stratejilerinin belirlenmesi. 1. Sert Çekirdekli Meyveler Sempozyumu, 29-38, 25-28 Eylül, Yalova.