

‘Viking’ Aronya Çeşidinin *In Vitro* Şartlarda Bitki Rejenerasyon Protokolünün Belirlenmesi

Zeynep NAS^{1*}, Ahmet EŞİTKEN², Lütfi PIRLAK³

¹Arş. Gör., Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Konya; ORCID: 0000-0002-7115-1987

²Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Konya; ORCID: 0000-0002-6140-7782

³Prof. Dr., Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Konya; ORCID: 0000-0003-3630-3591

Gönderilme Tarihi: 13 Ocak 2025

Kabul Tarihi: 8 Nisan 2025

ÖZ

Bu çalışmada ‘Viking’ aronya çeşidinin *in vitro* çoğaltımı araştırılmıştır. Bu amaçla çoğaltma ortamı olarak MS besin ortamında farklı sitokinin tipleri (meta-Topolin, Benzyladenine, Thidiazuron, Kinetin) ve dozları (0.5, 1.0 mg.l⁻¹) denenmiştir. Sitokininler dışında ortama GA₃ (0.25 mg.l⁻¹) ve düşük dozda IBA (0.01 mg.l⁻¹) ilave edilmiş ve tüm uygulamalarda eşit doz kullanılmıştır. Köklenme ortamı için MS ve ½MS ortamlarında, farklı dozlarda IBA (kontrol, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg.l⁻¹) ve aktif kömür (0.5, 1.0 g.l⁻¹) denenmiştir. Çalışma sonunda bitki canlılığı, explant başına sürgün sayısı (adet), sürgün uzunluğu (cm), köklenme oranı (%), kök sayısı (adet) ve kök uzunluğu (cm) ölçülmüştür. Çalışma sonunda, tüm uygulamalarda %100 canlılık tespit edilmiştir. En yüksek sürgün sayısı TDZ içeren ortamlarda tespit edilmiş; fakat mikro çelik olarak kullanılabilecek sürgünlerin çoğu BA ve mT içerikli ortamlardan elde edilmiştir. BA ve mT içerikli ortamların 1 mg.l⁻¹ dozlarında en yüksek sürgün sayısı meydana gelmiş ve sırasıyla 16.83 ve 21.76 adet sürgün/eksplant elde edilmiştir. Kontrol dahil olmak üzere tüm uygulamalarda %100 köklenme gerçekleşmiştir. En yüksek kök sayısı 1.0 mg.l⁻¹ IBA içeren ½MS ortamında (10.17 kök/eksplant) tespit edilmiştir. ½MS ortamında, MS ortamına kıyasla daha yüksek kök sayısı elde edilmiş; fakat kök sayısının artmasıyla kök uzunluğunda kısalma tespit edilmiştir. Aklimatizasyon aşaması yüksek başarı ile sonuçlanmış, ½MS ortamındaki bitkilerin %98’i, MS ortamındakilerin ise %92.4’ü hayatta kalmıştır.

Anahtar Kelimeler: Aronya, *in vitro*, köklenme, mikro çoğaltım, sitokinin

Determination of Plant Regeneration Protocol of the ‘Viking’ Aronia Cultivar under *In Vitro* Conditions

ABSTRACT

In this study, *in vitro* propagation of ‘Viking’ aronia cultivar was investigated. For this purpose, different cytokinin types (meta-Topolin, Benzyladenine, Thidiazuron, Kinetin) and concentrations (0.5, 1.0 mg.l⁻¹) were tested in MS nutrient medium for propagation medium. Except for cytokinins, GA₃ (0.25 mg.l⁻¹) and low concentration of IBA (0.01 mg.l⁻¹) were added and equal concentrations were used in all treatments. For the rooting medium, different concentrations of IBA (0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg.l⁻¹) and activated charcoal (0.5, 1.0 g.l⁻¹) were tested in MS and ½MS media. During the study, plant vitality, shoot number, shoot length, rooting rate, root number and root length were measured. At the end of the study, 100% viability was detected in all treatments. The highest number of shoots was observed in media containing TDZ; however, most of the shoots that can be used as micro cuttings were obtained from media containing BA and mT. The highest number of shoots occurred at 1.0 mg.l⁻¹ concentrations of media containing BA and mT and 16.83 and 21.76 shoots/explants were obtained, respectively. 100% rooting was achieved in all treatments, including the control. The highest root number was observed in ½MS medium (10.17 roots/explant) containing 1.0 mg.l⁻¹ IBA. Higher root number was obtained in ½MS medium compared to MS medium; However, it was determined that the root length decreased with the increase in the root number. The acclimatization phase has resulted in high success, 98% of plants in ½MS medium and 92.4% of plants in MS medium survived.

Keywords: Aronia, *in vitro*, rooting, micropropagation, cytokinin

GİRİŞ

Aronya (*Aronia melanocarpa*), *Rosaceae* familyasının *Maloideae* alt familyası, Aronia cinsi içerisinde yer alan Kuzey Amerika kökenli siyah,

küçük meyveli, çalı formunda gelişen, yaprak döken, çok yıllık üzümü bir meyve türüdür. Yeşil yaprakları sonbaharda kırmızıya dönüşür. *A.melanocarpa* bitkisi, 90-180 cm’ye kadar boylanabilen, 6-13 mm meyve çapına sahip, meyve ağırlığı 0.5-2 g arasında

*Sorumlu yazar / Corresponding author: zeynep.nas@selcuk.edu.tr

değişen bir türdür. Meyveleri salkım şeklinde ve her salkımda 8 ile 14 meyve bulunur. Olgun bitkileri, bitki başına 10-15 kg meyve vermektedir [1, 2]. Meyveleri olgunlaştığında elle veya mekanik bir hasat makinesi ile hasat edilebilir [2].

Aronya, çeşitli çevre koşullarına karşı yüksek toleransa sahip olan, çok çeşitli iklimlerde yetişebilen bir bitkidir [3]. Aronya kuraklığa dayanıklı değildir. Öte yandan, durgun dönemde -30°C'nin altındaki sıcaklıklara dayanabilmektedir [2].

Aronya meyveleri diğer meyvelere kıyasla daha yüksek antosiyanin içeriğine ve antioksidan kapasitesine sahiptir. Meyvelerinin antioksidan etkisi kıvılcık, mürver ve böğürtlenden ve hatta frenküzümünden çok daha fazladır [4]. Meyveleri vitamin, mineral ve folik asit açısından zengindir. Zengin biyoaktif bileşikleri nedeniyle metabolik hastalıklar üzerinde iyileştirici etkiye sahiptir. Uzun yıllardır yapılan çalışmalar sonucunda diyabet, kalp damar hastalıkları, idrar yolu enfeksiyonları, göz iltihabı ve hastalıkları ve çeşitli viral hastalıklar üzerindeki olumlu etkileri ortaya konmuştur. Ayrıca bazı kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etkiye sahiptir [2].

Türkiye’de nispeten yeni bir meyve türüdür, ancak meyveye yönelik artan talep, birçok çiftçiye aronya yetiştiriciliğine teşvik etmektedir. Yetiştiricilerin taleplerini karşılamak için ticari açıdan önemli aronya çeşitlerinden yeterli sayıda fidan elde etmek için hızlı ve güvenilir bir klonal çoğaltma protokolüne ihtiyaç duymaktadır.

Aronya tohumla kolayca çoğaltılabilir. Fakat genetik açılım, bitkilerin geç olgunlaşması, kuvvetli ve homojen olmayan büyüme göstermeleri ve bitkilerin mekanik hasat için uygun olmaması nedeniyle bu yöntem önerilmemektedir [4]. Bunun dışında geleneksel olarak, aronya bitkileri, yeşil çelik ve odun çeliklerinin köklendirilmesi yoluyla da çoğaltılabilir [3]. Litwińczuk [4], aronyanın koltukaltı sürgünlerini kullanarak yaptığı *in vitro* mikro çoğaltım çalışmasında, mikro çoğaltımın tohum, daldırma ve çelik gibi geleneksel çoğaltma yöntemlerinden çok daha etkili olduğunu bildirmiştir.

Siyah aronya nispeten yeni bir üründür ve sadece birkaç çeşit veya çoğalma klonları bilinmekte ve yetiştirilmektedir. Mikroçoğaltım, diğer geleneksel klonlama yöntemlerinden çok daha verimli olduğundan, aronyanın yeni, değerli türlerinin hızlı çoğaltılması gerekmektedir [3, 4].

Yetiştiricilerin aronya meyvesine yönelik artan taleplerini karşılamak için ticari öneme sahip ‘Viking’ aronya çeşidinden yeterli sayıda fidan elde etmek için hızlı ve güvenilir bir klonal çoğaltma protokolüne ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın temel

amacı, ‘Viking’ aronya çeşidi için *in vitro* klonal çoğaltım protokolünü geliştirmektir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak, Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nden temin edilen ‘Viking’ aronya çeşidi fidanları kullanılmıştır. 3 yaşındaki fidanlardan alınan yeşil çelikler üzerindeki sürmemiş koltuk altı tomurcukları eksplant olarak kullanılmıştır. Çalışma, Haziran 2023 tarihinde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakùltesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarında yürüt÷lmüştür.

Metot

Bitki materyalinin (eksplant) yüzey sterilizasyonu

Ana bitkiden alınan çelikler, her bir eksplantta bir tane göz olacak şekilde kesilmiştir. Kesilen çeliklerin yüzey sterilizasyon işlemi laboratuvar ortamında, steril kabin içerisinde gerçekleştirilmiştir. Yüzey sterilizasyon amacıyla eksplantlar ilk önce %70 etil alkol içerisinde 3 dakika süreyle, daha sonra litreye 10 damla Tween-20 içeren %15’lik ticari çamaşır suyu solüsyonu içerisinde ara-sıra karıştırılarak 20 dakika bekletildikten sonra steril saf su ile durulanmıştır [5].

Bitki materyalinin in vitro çoğaltımı

Yüzey sterilizasyon ve durulama işlemlerinden sonra eksplantlar, önceden hazırlanmış ve otoklavlanarak sterilize hale getirilmiş 20×150 mm’lik cam tüpler içerisindeki 1.0 mg.l⁻¹ Benzyl-adenine (BA) + 1.0 mg.l⁻¹ Gibberellic asit (GA₃) + 30 g.l⁻¹ sukroz ve 7.4 g.l⁻¹ agar (duchefa) içeren MS [6] besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültür ortamının pH’ı, otoklavlanmadan önce 1 N HCl veya NaOH ile 5.8’e ayarlanmıştır. Mikrobiyal kontaminasyondan âri yeterli sayıda eksplant elde etmek için eksplantlar aynı içeriğe sahip besin ortamında her üç haftada bir alt kültüre alınmıştır. Sürgün kültürünün devamını sağlamak için yeni elde edilen sürgün kümeleri tek tek sürgünlere ayrılmış ve taze sürgünler alt kültür ortamına aktarılmıştır [5] (Şekil 1 ve 2). Üç alt kültürden sonra yeterli sayıda eksplant elde edildikten sonra ve üçüncü alt kültürden alınan mikrosürgünler ile uygun konsantrasyonu belirleme aşamasına geçilmiştir.



Şekil 1. Mikrobiyal bulaşmadan âri ve sağlıklı gelişen eksplantlar



Şekil 2. Alt kültüre alınan eksplantlar

Farklı sitokinin tip ve dozlarının in vitro çoğaltım üzerindeki etkisinin belirlenmesi

MS besin ortamında kültüre alınan bitkiciklerden 1.5-2.0 cm üzerinden alınan sürgün ucu eksplantlar, farklı sitokinin (meta-Topolin (m-T), Benziladenin (BA), Tidiazuron, (TDZ) Kinetin) ve dozları (0.5, 1.0 mg.l⁻¹), 0.25 mg.l⁻¹ GA₃, 0.01 mg.l⁻¹ IBA, 30 g.l⁻¹ sukroz ve 7.4 g.l⁻¹ agar (ducheffa) içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Kültür ortamının pH'ı, otoklavlanmadan önce 1 N HCl veya NaOH ile 5.8'e ayarlanmıştır. Eksplantlar, 60 ml besiyeri ortamı içeren magentalara aktarıldıktan sonra magentaların kapakları kapatılıp iklim odasında büyümeye bırakılmıştır. İklim odasının ışık yoğunluğu 2000-3000 lüks, 16 saat ışık 8 saat karanlık, ortam sıcaklığı ise 24±1°C'ye ayarlanmıştır.

Yapılan uygulamalar (mg.l⁻¹) aşağıdaki gibidir:

1. MS (Hormonsuz) (Kontrol)
2. MS + 0.5 mT + 0.25 GA + 0.01 IBA
3. MS + 1.0 mT + 0.25 GA + 0.01 IBA
3. MS + 0.5 BA + 0.25 GA + 0.01 IBA
4. MS + 1.0 BA + 0.25 GA + 0.01 IBA

5. MS + 0.5 TDZ + 0.25 GA + 0.01 IBA
6. MS + 1.0 TDZ + 0.25 GA + 0.01 IBA
7. MS + 0.5 Kinetin + 0.25 GA + 0.01 IBA
8. MS + 1.0 Kinetin + 0.25 GA + 0.01 IBA

Farklı hormon ve konsantrasyonlarının uygulandığı denemede en iyi sürgün gelişmesini (bitki canlılığı, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu) belirlemek için deneme üç tekerrürlü ve her tekerrürde 15 bitki olacak şekilde kurulmuştur.

Kök gelişimi üzerine uygun besin ortamı yoğunluğu ile IBA ve aktif kömür konsantrasyonunun etkisi

Farklı iki besin ortamı yoğunluklarında (MS ve 1/2MS), farklı konsantrasyonlarda Indole-3-butyric acid (IBA) (kontrol, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg.l⁻¹) ve aktif kömürün (AK) (0.5, 1.0 l⁻¹) köklenme üzerine etkisini incelemek amacıyla yaklaşık 1.5-2.0 cm uzunluğuna gelmiş eksplantlar kullanılmıştır. Dördüncü alt kültürden elde edilen bitkiler eksplant olarak kullanılmıştır.

Yapılan uygulamalar (mg.l⁻¹) aşağıdaki gibidir:

1. 1/2MS+0.0 IBA(Kontrol)
2. 1/2MS+0.125 IBA
3. 1/2MS+0.25 IBA
4. 1/2MS+0.5 IBA
5. 1/2MS+1.0 IBA
6. 1/2MS+0.5 AK
7. 1/2MS+1.0 AK
8. MS+0.0 IBA(Kontrol)
9. MS+0.125 IBA
10. MS+0.25 IBA
11. MS+0.5 IBA
12. MS+1.0 IBA
13. MS+0.5 AK
14. MS+1.0 AK

Deneme 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Bir ayın sonunda eksplant başına oluşan köklenme oranları, kök sayısı ve kök uzunluğu incelenmiştir.

Köklü bitkiciklerin dış koşullara alıştırılması(Aklimatizasyon)

In vitro koşullarda çoğaltılan bitkiler açıkta yetiştirilen bitkilere göre daha hassas olduklarından doğrudan dışarıya aktarıldıklarında kuruma gösterirler. Bu yüzden köklenmiş mikro sürgünler kademeli olarak dış koşullara alıştırılmalıdır. Aklimatizasyon işlemi Nas ve Read [9]'e göre yapılmıştır. Mikro sürgünler 30 gün köklendirme ortamında kaldıktan sonra mikro sürgünlerin kökleri akan çeşme suyu altında kökler zarar görmeyecek şekilde yıkanmıştır. Kök yıkama işleminden sonra köklü sürgünler torf ve perlit karışımıyla doldurulmuş pet bardaklara aktarılmıştır. Bitkiciklerin kurumasına neden olacak ortam nispi neminin kaybolmasını engellemek için pet bardakların üzeri şeffaf pet bardağı ile kapatılmıştır. Bitkiciklerin pişkinleşmesi için iklim odasına (2000-3000 lüks, 24±1°C, 16/8 (ışık/karanlık)) konulmuş ve ikinci haftadan sonra pet bardakların üzerinde delikler açılmıştır. Bu şekilde

ortamdaki nispi nemin kademeli olarak düşmesi sağlanmış ve yaklaşık iki hafta sonra pet bardaklar tamamen kaldırılmıştır [8] (Şekil 3).



Şekil 3. Laboratuvar ortamında plastik bardaklara dikili bitkiler

Plastik bardaklara dikili bitkiler yaklaşık iki ay kadar bir süre laboratuvar ortamında bekletilmiş ve 20-25 cm uzunluğa ulaştıktan sonra seraya bırakılmıştır. 2-3 haftalık alışma sürecinden sonra bitkiler saksılara dikilip dış ortamda büyümeye bırakılmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Serada plastik bardaklara (a) ve dış ortamda saksılara (b) aktarılmış bitkiler

Verilerin istatistik analizi

İstatistiksel analizler, SPSS 23.0 İstatistik bilgisayar yazılımı yardımıyla tanımlayıcı istatistiklerle ANOVA kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar Duncan'ın çoklu aralık testi kullanılarak $p < 0,05$ düzeyinde karşılaştırılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma sırasında, bitkilerin canlılık oranları, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, köklenme oranı, kök sayısı ve kök uzunluğu ölçümleri yapılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 1 ve Çizelge 2'de verilmiştir.

Çalışmada besin ortamı olarak MS kullanılmıştır. Aronyanın *in vitro* kültürü için MS ortamının etkinliği, yayınlanan birçok raporda vurgulanmıştır [10, 11, 12, 13]. Woody Plant Medium'un (WPM) kullanımı, aronya [14, 15] dahil olmak üzere odunsu bitkilerde sık hale gelse bile, MS ortamı güvenilir sonuçlara sahip bir seçimdir ve birçok kişi tarafından desteklenmektedir. Brand ve Cullina [16] gibi yazarlar hem MS ortamının hem de WPM ortamının

A.arbutifolia ve *A.melanocarpa*'da kuvvetli sürgün çoğalmasını desteklediğini bildirmiştir.

Çalışmada yüzey sterilizasyon amacıyla eksplantlar ilk önce %70 etil alkol içerisinde yaklaşık 3 dakika süreyle, daha sonra eksplantlar litreye 10 damla Tween-20 içeren %15'lik ticari çamaşır suyu solüsyonu içerisinde ara-sıra karıştırılarak 20 dakika bekletildikten sonra üç kez saf su ile durulanması sonucunda dekontaminasyon için iyi sonuçlar vermiştir. Imrak vd. [13], yüzey sterilizasyonunda farklı dozlarda sodyum hipoklorit (%5, %10, %20) denedikleri çalışmada 10 dakika boyunca %10 sodyum hipoklorit uygulamasının dekontaminasyon için en iyi sonuçları verdiğini ileri sürmüşlerdir.

Sürgün çoğaltımında kullanılan sitokin tip ve dozları bitki türleri arasında farklılıklar göstermektedir [8]. 'Viking' çeşidinin koltukaltı tomurcuklarının *in vitro* tepkisi hem büyüme düzenleyicilerinden hem de konsantrasyonlarından önemli ölçüde etkilenmiştir. Çalışmada en fazla sürgün sayısı TDZ içeren ortamlarda tespit edilmiş; fakat mikro çelik olarak kullanılabilecek sürgünlerin çoğu BA ve mT içerikli ortamlardan elde edilmiştir. Sürgün sayısının artmasıyla sürgün uzunluklarında düşüş belirlenmiştir. Brand ve Cullina [16], farklı dozlarda BA (0.0, 0.4, 2.2, 4.4, 11.1 μM) kullandıkları çalışmada, mikroçelik olarak kullanılabilecek sürgünlerin çoğunu, 2.2 veya 4.4 μM BA içeren ortamlardan elde etmişlerdir. Pırlak ve Almokar [18], en yüksek sürgün sayısını, farklı konsantrasyonlarda büyüme düzenleyicilerin bir arada bulunduğu 2 mg.l^{-1} BA + 0.1 mg.l^{-1} GA₃ + 0.01 mg.l^{-1} IAA içeren MS bazal besiyerinden elde etmişlerdir. Polat ve Eskimez [19] eksplant başına bitki sayısı (4.56 sürgün/eksplant), sürgün uzunluğu (20.25 mm/eksplant) ve boğum sayısı (4.72 boğum/eksplant) açısından en iyi sonuçları, MS + 1 mg.l^{-1} BAP + 0.02 mg.l^{-1} IBA + 1 mg.l^{-1} GA₃ kombinasyonu içeren ortamda ölçmüşlerdir.

Tüm sitokin türevlerinde (mT, BA, TDZ, Kinetin) 1.0 mg.l^{-1} dozu, 0.5 mg.l^{-1} dozundan daha yüksek sürgün oluşturmuştur. Aksine 0.5 mg.l^{-1} dozunda sürgün uzunlukları, 1 mg.l^{-1} dozuna göre daha yüksek ölçülmüştür. Sonuç olarak en yüksek sürgün sayısı 1.0 mg.l^{-1} TDZ içeren ortamda (31.88 adet/eksplant), en düşük sürgün sayısı ise 0.5 mg.l^{-1} kinetin içeren ortamda (1.78 adet/eksplant) tespit edilmiştir. Sürgün uzunluğunda ise tam tersi bir sonuç elde edilmiş, en yüksek 0.5 mg.l^{-1} kinetin içeren ortamda (2.93 cm), en düşük ise 1.0 mg.l^{-1} TDZ içeren ortamda (0.37 cm) ölçülmüştür. Benziladenin (BA) ve meta-Topolin (mT) hem sürgün sayısında hem de sürgün uzunluğunda aynı dozlarda benzer tepkiler göstermiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çoğaltma aşamasında farklı sitokinin ve dozlarının ‘Viking’ aronya çeşidinin bitki canlılığı, sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine etkisi

Sitokinin tipi ve dozları	Bitki canlılığı (%)	Sürgün sayısı (adet/eksplant)	Sürgün uzunluğu (cm)
MS (Kontrol)	100.0 ÖD	1.13 g	2.73 ab
0.5 mg.l ⁻¹ meta-Topolin	100.0	9.67 e	2.44 b
1.0 mg.l ⁻¹ meta-Topolin	100.0	21.76 c	1.84 c
0.5 mg.l ⁻¹ Benziladenin	100.0	10.70 e	2.44 b
1.0 mg.l ⁻¹ Benziladenin	100.0	16.83 d	1.78 c
0.5 mg.l ⁻¹ Tidiazuron	100.0	28.90 b	0.40 d
1.0 mg.l ⁻¹ Tidiazuron	100.0	31.88 a	0.37 d
0.5 mg.l ⁻¹ Kinetin	100.0	1.78 fg	2.93 a
1.0 mg.l ⁻¹ Kinetin	100.0	2.65 f	2.01 c
AÖF (%5)	0	1.11	0.30

Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında %5 düzeyinde farklılık vardır (Duncan). ÖD: Önemli değil. Tüm uygulamalar 0.25 GA₃ + 0.01 IBA (mg.l⁻¹) içermektedir.

In vitro köklendirme, mikro çoğaltımda başarıya ulaşmada en önemli aşamadır. Meyve ağaçları gibi odunsu bitkilerde mikro çoğaltım başarısını en fazla olumsuz etkileyen safha köklenmenin ya hiç olmaması ya da yetersiz olmasıdır. Köklenme yeteneği, besin ortamının tuz kuvvetine ve IBA yoğunluğuna göre önemli ölçüde değişmektedir [8]. Çalışmamızda ½MS ortamındaki sürgünlerde, tam MS ortamında kültürlenenlere kıyasla daha yüksek kök sayısı belirlenmiş (1.0 g.l⁻¹ aktif kömür içeren ½MS ortamı hariç) ve IBA dozunun artmasıyla kök sayısında artış belirlenmiştir. Kwak vd. [14], en yüksek köklenme oranını 3.0 mg.l⁻¹ IBA içerikli ½WPM (8.8 kök/eksplant)’den elde etmişlerdir. Sivanesan vd. [10], en yüksek köklü sürgün oranı (%100), sürgün başına ortalama kök sayısı (10.6) ve ortalama kök uzunluğu (5.4 cm) 30 günlük kültürden sonra 1 mg.l⁻¹ IBA ile güçlendirilmiş ½MS besiyerinde elde etmişler. Imrak vd. [13], köklenme için en iyi sonucu, 2 mg.l⁻¹ IBA + 0.5 mg.l⁻¹ NAA’nın bir araya getirildiği ½MS bitki ortamından elde etmişlerdir. Polat ve Eskimez [19], en iyi köklenme ortamının da ½MS + 1 mg.l⁻¹ IBA içeren ortam olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmada kontrol dahil olmak üzere tüm uygulamalarda %100 köklenme gerçekleşmiştir. Kök sayısı bakımından IBA kullanımı aktif kömürden daha etkili bulunmuştur. Tüm IBA dozlarında kontrolden daha yüksek sayıda kök oluşmuştur. Kontrolde oluşan kök sayısı ise aktif kömür içeren ortamlardan daha yüksek bulunmuştur. IBA dozunun artmasıyla kök sayısında kademeli olarak artış tespit edilmiştir. Ayrıca sürgünde olduğu gibi kök sayısının artmasıyla da kök uzunluğunda azalma tespit edilmiştir (Çizelge 2).

En yüksek kök sayısı 1 mg.l⁻¹ IBA içeren ½MS ortamında (10.17 kök/eksplant), en düşük kök sayısı

ise 0.5 g.l⁻¹ AK içeren MS ortamında (2.47 kök/eksplant) tespit edilmiştir. Kök uzunluğunda ise kök sayısı ile ilişkili olarak MS ortamında daha yüksek değerler not edilmiştir. MS ortamında daha az sayıda kök oluşmuş, buna bağlı olarak oluşan köklerde uzama daha fazla olmuştur. En yüksek kök uzunluğu 0.5 g.l⁻¹ aktif kömür içeren MS ortamında (7.27 cm), en düşük kök uzunluğu ise 0.5 mg.l⁻¹ IBA içeren ½MS ortamında gerçekleşmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Besin ortamı yoğunluğu ile IBA ve aktif kömür konsantrasyonunun köklenme üzerine etkisi

IBA ve aktif kömür konsantrasyonu	Köklenme oranı (%)		Kök sayısı (kök/eksplant)		Kök uzunluğu (cm)	
	½MS	MS	½MS	MS	½MS	MS
0.0 mg.l ⁻¹ IBA (Kontrol)	100.0 ÖD	100.0 ÖD	4.07 d	3.97 d	3.23 b	4.18 b
0.125 mg.l ⁻¹ IBA	100.0	100.0	6.14 c	4.30 cd	2.87 bc	3.72 bc
0.25 mg.l ⁻¹ IBA	100.0	100.0	9.43 b	5.50 b	2.20 cd	3.11 bc
0.5 mg.l ⁻¹ IBA	100.0	100.0	9.50 b	4.73 c	1.73 d	3.33 bc
1.0 mg.l ⁻¹ IBA	100.0	100.0	10.17 a	7.73 a	2.15 cd	2.21 c
0.5 g.l ⁻¹ AK	100.0	100.0	3.13 e	2.47 f	5.81 a	7.27 a
1.0 g.l ⁻¹ AK	100.0	100.0	2.73 e	3.20 e	6.25 a	6.17 a
AÖF (%5)	0	0	0.66	0.53	0.75	1.41

Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen ortalamalar arasında %5 düzeyinde farklılık vardır (Duncan). ÖD: Önemli değil.

Son aşama olan aklimatizasyon aşaması yüksek başarı ile sonuçlanmış, çok az sayıda bitki ölümü gerçekleşmiştir. ½MS ortamındaki bitkilerin %98’i, MS ortamındakilerin ise %92.4’ü hayatta kalmıştır. Saksılara dikildikten sonra tüm bitkiler sağlıklı şekilde büyümeye devam etmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Serada ve dış ortamda bitkilerin gelişimi

SONUÇ

‘Viking’ aronya çeşidinin *in vitro* mikro çoğaltımının her aşaması (çoğaltma, köklendirme, aklimatizasyon) başarılı olmuştur. Çalışmada incelenen büyüme parametreleri, bitki büyüme düzenleyicilerinin tipine ve konsantrasyonuna bağlı olarak değişmiştir. Daha fazla sürgün oluşturduğu için aronyanın mikro çoğaltımı için BA veya mT

tercih edilmelidir. Köklendirme için MS besi ortamına göre daha fazla kök sayısı veren ½MS besin ortamı tercih edilmesi önerilmektedir. Ayrıca 1.0 mg.l⁻¹ IBA maksimum doz olarak kullanılabilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, 22401040 numaralı proje kapsamında Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Kokotkiewicz, A., Jaremicz, Z., Luczkiewicz, M., 2010. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food*, 13(2), 255-269.
2. Engin, S.P., 2020. ‘Nero’ ve ‘Viking’ Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott) çeşitlerinin agromorfolojik özellikleri ve farklı olgunluk seviyelerindeki meyve kalite parametrelerinin belirlenmesi. Uludağ Üniversitesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Bursa.
3. Rusea, I., Popescu, A., Isac, V., Şutan, A., Hoza, D., 2019. High efficiency shoot multiplication from *in vitro* cultured meristems of *Aronia melanocarpa* cv. Nero. *Scientific Papers. Series B. Horticulture*, 63(1), 65-74.
4. Litwińczuk, W., 2012. Micropropagation of chokeberry by *in vitro* axillary shoot proliferation, in: protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants. Eds: Springer, pp:179-186.
5. Nas, Z., Eşitken, A., Pirlak, L., 2023. The responses of ‘Viking’ aronia variety to salinity stress under *in vitro* conditions. *Erwerbs-Obstbau*, 65(6), 2547-2552.
6. Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
7. Nas, Z., Eşitken, A., 2023. Micropropagation of an apricot (*Prunus armeniaca* L.) rootstock candidate. *Erwerbs-Obstbau*, 65(6), 2357-2365.
8. Nas, Z., 2021. Anaçlık potansiyel gösteren 42-01 zerdali genotipinin *in vitro* mikroçoğaltım özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya, 51.
9. Nas, M.N., Read, P., 2004. Improved rooting and acclimatization of micropropagated hazelnut shoots.
10. Sivanesan, I., Saini, R.K., Kim, D.H., 2016. Bioactive compounds in hyperhydric and normal micropropagated shoots of *Aronia melanocarpa* (michx.) Elliott. *Industrial Crops and Products*, 83, 31-38.
11. Borsai, O., Clapa, D., Fira, A., Hârta, M., Szabo, K., Dumitraş, A., Pamfil, D., 2017. *In vitro* propagation of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. II International Symposium on Fruit Culture along Silk Road Countries 1308, 213-222.
12. Rusea, I., Popescu, A., Isac, V., Şutan, A.N., Hoza, D., 2018. Adventitious shoot regeneration from petiole explants in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Scientific Papers*, 83.
13. Imrak, B., Kafkas, E., Tufan, M., 2021. The investigation of the impact of different plant growth regulators on micropropagation of aronia (*Aronia melanocarpa* L.). *Agbiol* 2021, 265.
14. Kwak, M.-C., Choi, C.-H., Choi, Y.-E., Moon, H.-K., 2015. Micropropagation of aronia (*Aronia melanocarpa* Elliot, black chokeberry) and its 5 varieties. *Journal of Plant Biotechnology*, 42(4), 380-387.
15. Cheng, Y., 2017. Tissue culture of *Aronia melanocarpa*. *Protection Forest Science and Technology*.
16. Brand, M.H., Cullina, W.G., 1990. Micropropagation of *Aronia arbutifolia* and *A. melanocarpa*. *HortScience*, 25(9), 1096a-1096.
17. Brand, M.H., Cullina, W.G., 1992. Micropropagation of red and black chokeberry (*Aronia* spp.). *HortScience*, 27(1), 81-81.
18. Pirlak, L., Almokar, H., 2018. Propagation of aronia (*Aronia melanocarpa*) with tissue culture. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 32(3), 549-558.
19. Polat, M., Eskimez, I., 2022. The effects of different hormone combinations on *in vitro* micropropagation of aronia (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott).