

KİVİNİN DOKU KÜLTÜRÜ YÖNTEMİYLE ÜRETİLMESİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

Esin ATASEVEN

H.İbrahim UZUN

Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Bölümü-Antalya / TÜRKİYE

Özet: Hayward çeşidinin tohumlarından gelişen bitkilerden alınan parçalar (yaprak kenarı, yaprak ortası, sürgün ucu) in vitroda BAP, NAA ve IAA içeren Murashige ve Skoog besi ortamında kültüre alınmışlardır. Tohumlar yüzey sterilizasyonunu takiben, üç kez beşer dakika steril saf suyla yıkanmışlardır. Ortalama sıcaklık 22 ± 1 °C ve oransal nem 70 ± 5 olacak şekilde ayarlanmıştır. Yaprak ortası eksplantları sürgün ve yaprak sayısı bakımından en iyi sonucu vermiştir. Köklenme aşamasında büyüme düzenleyicisi içermeyen MS ortamı, büyüme düzenleyicisi içeren (0.5 ve 1.0 mg/l IBA) ortama göre köklenme açısından daha iyi sonuç vermiştir. 1.0 mg/l IBA içeren ortamda köklenmenin yerine kallus oluşumu gerçekleşmiştir. 0.5 mg/l IBA içeren ortamda ise kök sayısı fazla olmuş fakat gerçek kökler meydana gelmemiştir.

Studies on the Propagation of Kiwifruit Through Tissue Culture Methods.

Abstract: Leaf margins, middle of blades and shoot tips obtained from seeds of cv. Hayward were cultured in Murashige and Skoog medium including BAP, NAA and IBA in vitro. After the surface sterilization, the seeds were rinsed with sterile distilled water for three times. Average temperature was 22 ± 1 °C and relative humidity was 70 ± 5 . Middle of blades gave the best result when shoot and leaf number were concerned. In rooting stage, growth regulator free medium gave better result than the medium including 0.5 and 1.0 mg/l IBA in respects of rooting. Callus formation was seen instead of rooting in the medium with 1.0 mg/l IBA. Number of roots were greater in the medium with 0.5 mg/l IBA but real roots were not observed.

Giriş

Kivi, son yıllarda adı çok duyulan ve üretimi hızlı gelişen meyve türlerinden birisidir. Yeni Zelanda'da 1960 yıllarında başlayan kivi üretimi, 20 yıl gibi kısa bir zaman diliminde

artarak 15.000 hektarı aşmıştır. Üretimde görülen bu hızlı artışa Kaliforniya, Şili ve Akdeniz'in kuzey ülkeleri gibi yetiştirici ülkelerde de rastlanmıştır. Türkiye'de ise öncelikle yetiştiriciliğin düşünülebileceği ekolojiler belirlenerek buralarda adaptasyon denemeleri kurulmuş; sonuçta Karadeniz ve Marmara sahil bölgelerinde kış soğuklarının -15°C 'nin altına düşmediği ekolojilerde, Ege ve Akdeniz bölgelerinde aşırı sıcak ve düşük hava neminin etkisinin azaldığı vadi içlerinde yetiştiricilik yapılabileceği belirlenmiştir (1).

Kivi yurdumuz için yeni bir meyve türü olmasına rağmen birim alandan getirisi ve yurt dışına satış potansiyeli nedeniyle oldukça yüksek bir fidan talebi vardır. Bu talebin yurt dışından karşılanması ise oldukça pahalı olmaktadır. Bu nedenle, ayrıca doku kültürüyle vegetatif çoğaltım ve üretim, klasik yöntemlere göre daha avantajlı olması nedeniyle kivi üretiminde doku kültürü yöntemine başvurulmaktadır.

Doku kültürüyle üretilen bitkilerde kısa zamanda sağlıklı ve çok sayıda bitki materyali elde edilmesi, üretimin yıl boyu yapılabilmesi, protoplazma füzyonu ile yeni melezlerin elde edilebilmesi, anter ve polen kültürüyle haploid bitkilerin üretilmesi, seleksiyon kolaylığı ve ıslah çalışmaları süresinin kısaltılması, yeni melezlerin hızlı bir şekilde çoğaltılabilmesi, mutasyon çalışmalarının hızlandırılması, genetik materyalin depolanabilmesi, üretimde daha az alanın kullanımı, anaç bitki sayısının azaltılması ve taşıma kolaylığı sağlanması yine bu yöntemin en önemli tercih nedenleri arasındadır (2).

İlk doku kültürü çalışması 1902 yılında Haberlandt tarafından yapılmıştır. 1957 yılında ise Skoog ve Miller tütünde büyümenin tipini ve organogenesi oksin/sitokinin dengesinin yönlendirdiğini saptamışlardır. Bu araştırma tepe sürgünü baskınlığı ve kök oluşumu gibi diğer bazı önemli fizyolojik çalışmalara da öncülük etmiştir (2).

Canhoto ve Cruz (3) *Actinidia chinensis Planch*'ın erkek ve dişi bitkilerinin yaprak eksplantlarını değişik konsantrasyonlarda NAA ve BA içeren MS ortamına almışlardır. Bu yolla yaprakları ve sürgünleri oluşturacak tomurcuklar meydana gelmiştir. Tomurcukların çoğu yaprak kenarlarındaki şişkinliklerden ve yaprak damarlarına yakın yerlerden çıkmışlardır. Tomurcuk oluşumu sadece NAA'nin varlığında gerçekleşmiş, fakat ortama BA eklenmesiyle bu sayı daha da artmıştır. En iyi tomurcuk oluşumu 0.1 veya 0.5 mg/l NAA+ 2.0 mg/l BA içeren ortamdan elde edilmiştir. Hormonal ve besin maddeleri faktörlerinin *Actinidia chinensis Planch*'ın gövdesinden alınan parçalarda kallus oluşumu ve sürgün gelişimi üzerine etkileri incelendiğinde 4 PU içeren ortamın, 2 İP, BA veya kinetin içeren ortamlara göre daha fazla kallus oluşumu ve sürgün regenerasyonu sağladığı bulunmuştur. Kallus oluşumu MS veya B5 ortamlarında en iyi şekilde ortaya çıkarken sürgün regenerasyonu sırasıyla WPM, B5, Lepoivre ve MS ortamlarında meydana gelmiştir (4)

Marino ve Bertazza (5), Hayward çeşidinin doku kültüründe sürgün oluşturma yeteneğini incelemişler ve Tomuri çeşidi ile karşılaştırmışlardır. Hayward ve Tomuri'de sürgün ve boğum oluşumunda en iyi sonucu BA vermiştir. Test edilen ortamların çoğunda Tomuri Hayward'dan daha fazla sürgün oluşturmuş ve sürgün ağırlığı fazla çıkmıştır. Tomuri ve Hayward'ın gelişmelerinin farklı olması kültür ortamı ve değişik içsel hormonlar arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Tomuri'de sitokin/oksin oranı Hayward'dan daha yüksek bulunmuştur. Shen ve ark. (6), kivi klonlarının boğumlarından elde edilen eksplantları 2µM BA veya 5µM zeatin içeren ortamda kültüre almışlardır. Aksiller sürgünlerin oluşumu klonal özdeşlik, sitokin tipi ve konsantrasyonuyla fotoperiyoda bağlanmıştır. Wiyaporn ve ark. (7), 1-7 mg/l 2IP ve BA eklenmiş MS ortamını Bruno çeşidinin gövde parçalarının, boğumlarının veya yaprak saplarının kültüre alınmasında kullanmışlardır. BA önemli derecede kallus oluşumu sağlamış fakat boğumlardan alınan parçalar anormal gelişme gösteren az sayıda sürgün oluşturmuştur. Xiao ve ark. (8), kivi bitkisinin yaprak disklerini mikro üretim için kullanmışlardır. İlk kültürde farklı şekilde organ ve kallus oluşumu belirtilmiştir. İki tip kallus tanımlanmıştır; birincisi morfogenez yetenekten yoksun büyük kallus, ikincisi ise daha küçük fakat fazla yoğunlaşmamış kallus. İkinci tipte olanların yüksek organ oluşturma kapasitesine sahip olduğu ve bol sürgün verdiği belirtilmiştir. Sürgün gelişimi için 1.0 mg/l zeatinle birlikte 0.5 mg/l IAA, 2.0 mg/l BAP'la birlikte 0.5 mg/l IAA, 2.0 mg/l BAP'la birlikte 0.5 mg/l NAA'nin uygun olduğu gözlenmiştir. Pedroso ve ark. (9), Hayward çeşidinin boğum parçalarını ve sürgün uçlarını 1.0 mg/l zeatin ve 0.05 mg/l IAA içeren MS ortamında ve büyüme düzenleyicisi içermeyen MS ortamında kültüre almışlardır. Büyüme düzenleyicisi içermeyen ortamda kültüre alınanlar normal bitkicikler olarak gelişirken, diğer ortamdakiler sürgün oluşturmuş fakat %18'i anormal formda olmuştur. Diğer taraftan Jordan ve ark. (10), Hayward çeşidinin boğum araları, yaprak sapları ve tomurcuklarından alınan eksplantları değişik konsantrasyonlarda ve kombinasyonlarda NAA, IAA, BA ve GA içeren Anderson, Murashige ve Skoog veya Jordan ortamında kullanmışlardır. 1.0 mg/l BA ve 1.0 mg/l NAA içeren Jordan ortamında kültüre alınan yaprak saplarından 30 gün içinde kallus oluşmuş ve sürgünler gelişmiştir.

Kivi bitkisinin sürgün uçları, boğum ve yaprak parçalarının kullanıldığı araştırmalarda yeterli köklenme bitkilerin kesilen yüzeylerinin 24 saat 20 mg/l IBA solüsyonuna batırılıp hemen sonra saksılara dikilmesiyle sağlanmıştır (9,11). Buna karşılık Canhoto ve Cruz (3)'ün çalışmalarında ise 1-2 cm uzunluğundaki sürgünler 1mg/l IBA içeren MS ortamında köklendirilmişler ve topraklı saksılara transfer edilmişlerdir. Kamenicka ve Rypak (12), sürgünlerin köklenmesi için 5 dakika 10 mg/l IBA veya 20 mg/l benzolinanda tutulmasını uygun bulmuşlardır. Messina ve Costa (13), in vitroda geliştirilen kivi sürgün eksplantlarını paklobutrazol, IBA ve GA₃'in değişik kombinasyonlarını içeren ortamlarda köklendirmişlerdir. Paklobutrazol ve IBA'nin birlikte kullanılması eksplantların

kök oluşturmasını teşvik etmiş fakat yalnızca paklobutrazolun uygulandığı bitkilerde köklenme işlemi birkaç hafta gecikmiştir. Diğer taraftan 20mm'den büyük bitkiciklerin %60-90'ı IAA veya IBA içeren MS ortamında 3-4 haftada köklenmişlerdir (6). Wiyaporn ve ark. (7), doku költüründe elde ettikleri Bruno eşidinin sürgünlerini 0.5 mg/l BA, 0.5 mg/l NAA ve 3.0 g/l aktif kömür içeren 1/2'lik MS ortamında köklendirmişlerdir. Xiao ve ark. (8), sürgünleri 2 saat süreyle 50 mg/l IBA solüsyonuna batırarak %80'inin köklenmesini sağlamışlardır.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırma 1995 yılında Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Költürü Laboratuvarında yürütölmüştür. Ocak-şubat aylarında olgun meyvelerden alınan tohumlardan elde edilen bitkilere ait yaprak kenarı, yaprak ortası ve sürgün uçları bitki materyali olarak kullanılmıştır. Araştırmada besi ortamı olarak Murashige ve Skoog (MS) ortamının makro elementleri, mikro elementleri ve vitaminleri kullanılmıştır.

Metot

Tohumlar ilk aşamada büyüme düzenleyicisi içermeyen MS ortamında költüre alınmış, gelişen sürgün uçları ve yaprak parçalarının 0.5 mg/l NAA ve 2.0 mg/l BAP içeren MS ortamında büyümeleri sağlanmıştır. Köklenme ortamı olarak ise büyüme düzenleyicisi içermeyen ve 0.5-1.0 mg/l IBA içeren MS ortamı kullanılmıştır. MS ortamına ilk aşamada (büyüme ve gelişme) 30 g/l sukroz, 8 g/l agar; ikinci aşamada (oğaltma) 25 g/l sukroz, 8g/l agar, üçüncü aşamada (köklenme) ise 10 g/l sukroz, 8 g/l agar eklenmiştir.

Költür kabı olarak birinci ve ikinci aşamada 10 cm çapında cam petriiler kullanılmıştır. Her bir petri kabına 25 ml besi ortamı konulmuştur. Petriiler otoklavda 1.06 kg/cm² basınçta, 121 °C'de 20 dakika tutularak sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Köklenme aşamasında ise 5 cm çapında 9 cm yüksekliğinde 100 ml'lik cam kavanozların içine 25 ml'lik besi ortamı konulmuştur.

Bitki parçaları 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık ve ışık şiddeti 3500 lüks olan költür odası koşullarında tutulmuşlardır. Aydınlatma beyaz floresans lambalarla üstten yapılmıştır.

Olgun meyvelerden alınan kivi tohumları 24 saat su içinde bekletilmişler ve sterilizasyon amacıyla steril kabine alınmuşlardır. Tohumlar önce deterjanlı su içinde 10

dakika bekletilmiş ve saf suyla durulanmışlardır. Daha sonraki aşamada %70'lik etil alkolde 60 saniye, %2'lik sodyum hipoklorid çözeltisinde ise 10 dakika karıştırılarak bekletildikten sonra 5'er dakika arayla 3 kez steril saf sudan geçirilmişlerdir.

Araştırmada çoğaltma ve köklenme aşamalarına ilişkin veriler 3 yinelemeli ve her yinelemede 4 petri, her petride de 3 bitki olacak şekilde tesadüf parselleri ve tesadüf parsellerinde faktöriyel düzen adlı deneme desenine göre planlanmıştır. Ortamların karşılaştırılmasında Tukey Testi kullanılmıştır (15).

Bulgular

Büyüme ve Gelişme Aşaması

Kültüre alınan tohumlarda yaklaşık iki hafta sonra şişkinleşme başlamış, üç hafta sonra ise eksplantlardan üç gerçek yapraklı bitkiler oluşmuştur. Çoğaltma ortamında kullanılacak yaprak parçaları ve sürgün uçları bu bitkilerden alınmıştır. Tarla koşullarında yetişen bitkilerden elde edilen eksplantlardan tam bir başarı sağlanamadığı için tohumdan elde edilen bitkicikler eksplant olarak kullanılmıştır.

Çoğaltma Aşaması

Kültüre alınan sürgün ucu ve yaprak ortası eksplantlarında kallus oluşumu bir hafta sonra başlarken, yaprak kenarından alınan eksplantlarda ise iki hafta sonra başlamıştır. Çoğaltma aşamasının sonlarına doğru (ikinci alt kültürün sonlarına doğru) elde edilen bulguların sonucunda eksplant tipinin gerek sürgün sayısı, gerek sürgün uzunluğu ve gerekse yaprak sayısı üzerine istatistiksel olarak farklılık görülecek biçimde etki ettiği belirlenmiştir. En fazla sürgün sayısı 5,75 adetle yaprak ortasından alınan eksplantlarda saptanırken, bunu 3.33 adetle yaprak kenarı ve 2.08 adetle sürgün ucundan alınan eksplantlar izlemiştir. Sürgün uzunluğu bakımından ise sürgün ucundan alınan eksplantlar 11.73 mm ile en iyi sonucu verirken, bunu 10.46 mm ile yaprak ortasından alınan eksplantlar izlemiş, yaprak kenarından alınan eksplantlar ise en düşük değere (7.36 mm) sahip olmuştur. Yaprak sayısı da sürgün sayısı ve sürgün uzunluğunda olduğu gibi eksplant tipine bağlı olarak farklılık göstermiştir. Nitekim 23.33 adet yaprak sayısı ile yaprak ortasından alınan eksplantlar diğer eksplant tiplerine göre daha olumlu sonuç vermişlerdir. Bunu, yaprak kenarı (13.41 adet) ve sürgün uçlarından (11.42 adet) alınan eksplantlar izlemiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Eksplant Tiplerine Bağlı Olarak Eksplant Başına Saptanan Sürgün Sayısı, Ortalama Sürgün Uzunluğu ve Toplam Yaprak Sayısı.

| Eksplant tipi | Ort. sürgün sayısı (adet/eksplant) | Ort. sürgün uzunluğu (mm/eksplant) | Toplam yaprak sayısı (adet/eksplant) |
|---------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|
| Yaprak kenarı | 3.33 b* | 7.36 b | 13.41 b |
| Yaprak ortası | 5.75 a | 10.46 a | 23.33 a |
| Sürgün ucu | 2.08 b | 11.73 a | 11.42 b |

*: Aynı sütunda değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre %5 düzeyinde önemlidir.

Köklendirme Aşaması

Köklendirme ortamında bulunan bitkilerdeki kök sayıları ve kök uzunlukları eksplant tipi ve hormon konsantrasyonuna bağlı olarak saptanmıştır. Sonuçta gerek eksplant tipi ve hormon konsantrasyonu arasındaki ilişkinin, gerek eksplant tipi ve gerekse hormon konsantrasyonlarının kök sayısı üzerine istatistiksel olarak farklılık yaratacak biçimde etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2 ve Çizelge 3).

Çizelge 2. Eksplant Tipi ve Hormon Konsantrasyonu Arasındaki İlişkinin Ortalama Kök Sayısı Üzerine Etkisi

| Eksplant tipi | IBA konsantrasyonu (mg/l) | Ortalama kök sayısı (adet/bitki) | Eksplant tipi ortalaması |
|---------------|------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| Yaprak kenarı | Kontrol | 0.00 d* | 2.06 ab |
| | 0.5 | 6.17 a | |
| | 1.0 | 0.00 d | |
| Yaprak ortası | Kontrol | 2.08 c | 2.19 a |
| | 0.5 | 4.50 b | |
| | 1.0 | 0.00 d | |
| Sürgün ucu | Kontrol | 2.58 c | 1.69 b |
| | 0.5 | 2.50 c | |
| | 1.0 | 0.00 d | |

*: Aynı sütunda değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre %5 düzeyinde önemlidir.

Eksplant tipinin kök sayısı üzerine etkisi Çizelge 2'de gösterilmiştir. Çizelge'de de görüldüğü gibi yaprak ortasından alınan eksplantlarda saptanan kök sayısı en yüksek (2.19 adet), sürgün ucundan alınan eksplantlarda ise en düşük (1.69 adet) olarak belirlenmiştir. Yaprak kenarından alınan eksplantlarda saptanan kök sayısı ise bu iki değer arasında (2.06 adet) yer almıştır. IBA konsantrasyonuna bağlı olarak saptanan kök sayıları Çizelge 3'de gösterilmiştir. IBA konsantrasyonunun 1.0 mg/l düzeyine çıkarılması ile bitkiciklerde hiç kök oluşmadığı ve bunun yerine yoğun kallus oluşumunun meydana geldiği gözlenmiştir. Buna karşın, 0.5 mg/l IBA konsantrasyonunda 4.38 adet kök sayısı ile en yüksek değer oluşurken bunu kontrol uygulamasının izlediği ortaya konulmuştur.

Çizelge 3. Değişik IBA Konsantrasyonlarının Kök Sayısı Üzerine Etkileri

| Hormon konsantrasyonu IBA (mg/l) | Hormon ortalaması |
|-------------------------------------|-------------------|
| Kontrol | 1.55 b* |
| 0.5 | 4.38 a |
| 1.0 | 0.00 c |

*: Aynı sütunda değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre %5 düzeyinde önemlidir.

Eksplant tipinin kök uzunluğu üzerine etkisi incelendiğinde yaprak ortası ve sürgün ucundan alınan eksplantların aynı istatistiksel grup içinde yer aldığı, yaprak kenarından alınanların ise bağımsız bir grup oluşturdukları belirlenmiştir. Nitekim, sürgün ucundan alınan eksplantlarda 12.20 mm olarak saptanan kök uzunluğu yaprak ortasından alınanlarda 12.00 mm olarak saptanmıştır (Çizelge 4).

IBA konsantrasyonlarının kök uzunluğu üzerine etkisi Çizelge 5'de gösterilmiştir. Kök sayısında olduğu gibi kök uzunluğunda da IBA'nın 1.0 mg/l'lik konsantrasyonunda kök oluşumu gerçekleşmemiş, bunun yanında 0.5 mg/l IBA konsantrasyonunda 18.31 mm ile en yüksek ortalama kök uzunluğu değeri saptanmış ve bunu 13.39 mm ile kontrol uygulaması izlemiştir.

Alıştırma ve Arazi Koşullarına Aktarma Aşamaları

Köklenme ortamında dört hafta kalan sürgün ucu, yaprak ortası ve yaprak kenarı eksplantlarından gelişen bitkicikler 1:1 oranında torf:perlit karışımı içeren plastik saksılara

aktarılmışlardır. Burada dört hafta süreyle tutulan bitkilerin hepsi eksplant tipine bağlı kalmadan yaşamlarını sürdürmüşler ve 4-5 gerçek yaprak oluşturduktan sonra, yarısı 18 cm çapında 30 cm yüksekliğindeki 1:1:1 oranında kum:toprak:çiftlik gübresi ve diğer yarısı ise 1:1:1 oranında kum:toprak:torf içeren plastik saksılara dikilerek sisleme serasına alınmışlardır.

Çizelge 4. Eksplant Tipi ve Hormon Konsantrasyonu Arasındaki İlişkinin Ortalama Kök Uzunluğu Üzerine Etkisi

| Eksplant tipi | IBA konsantrasyonu (mg/l) | Ort. kök uzunluğu (mm/bitki) | Eksplant tipi ortalaması |
|---------------|---------------------------|------------------------------|--------------------------|
| Yaprak kenarı | Kontrol | 0.00 d* | 7.50 b |
| | 0.5 | 22.49 a | |
| | 1.0 | 0.00 d | |
| Yaprak ortası | Kontrol | 18.24 bc | 12.00 a |
| | 0.5 | 17.76 c | |
| | 1.0 | 0.00 d | |
| Sürgün ucu | Kontrol | 21.93 ab | 12.20 a |
| | 0.5 | 14.68 c | |
| | 1.0 | 0.00 d | |

*: Aynı sütunda değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre %5 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 5. Değişik IBA Konsantrasyonlarının Kök Uzunluğu Üzerine Etkileri

| Hormon konsantrasyonu IBA (mg/l) | Hormon ortalaması |
|----------------------------------|-------------------|
| Kontrol | 13.39 b* |
| 0.5 | 18.31 a |
| 1.0 | 0.00 c |

*: Aynı sütunda değişik harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar Tukey testine göre %5 düzeyinde önemlidir.

Tartışma ve Sonuç

Diğer meyve türlerinde olduğu gibi kivilerin çoğaltılmasında klasik çoğaltma yöntemlerinin yanında, doku kültürüyle çoğaltma tekniğinden de yararlanılabilmektedir. Klasik çoğaltma tekniklerinden aşıyla çoğaltmada yeni bir fidan eldesi için en az iki yıllık bir süreye gereksinim vardır. Ayrıca aşıyla çoğaltmanın sadece belirli bir zaman diliminde yapılması yıl boyu fidan üretimini engellemektedir. Çelikle çoğaltmada ise, yeşil çelikle çoğaltmanın pratik olmaması nedeniyle üretimde tercih edilmemekte, odun çelikleriyle çoğaltmada yüksek konsantrasyonlarda (3000-8000 ppm NAA veya IBA) hormon kullanımına gereksinim duyulmaktadır (1). Yıl boyu fidan üretimi ve çok kısa bir zaman diliminde çok sayıda tek düze (bir örnek) bitki materyali eldesi ancak doku kültürüyle çoğaltmada mümkün olmaktadır. Kivilerin doku kültürüyle çoğaltılmasında embriyo kültürü, anter kültürü, protoplast kültürü, kallus kültürü ve meristem kültüründen yararlanılabilmektedir (3, 4, 6, 11, 16, 17, 18, 19). Fakat bu tekniklerden en fazla kullanılan meristem kültürü ile çoğaltma tekniğidir (5, 9, 18, 20).

Doku kültürü yöntemiyle çoğaltmada kültür ortamının içeriği, kullanılan hormonlar ve fiziksel koşullar önemli rol oynamaktadır. Marino ve Bertazza (5), Hayward ve Tomuri'de sürgün ve boğum oluşumunda en iyi sonucu BAP verdiği halde kallus gelişiminin zeatin bakımından zengin olan ortamda olacağını saptamışlardır. Bu çalışmada da tohumlardan gelişen bitkilerden elde edilen parçaların (yaprak kenarı, yaprak ortası, sürgün ucu) kültüre alınmasında BAP'la birlikte NAA kullanılmıştır. Kültür ortamında kullanılan hormonlar yanında eksplant tipi de sürgün oluşumunu önemli derecede etkilemektedir. Yaprak kenarı, yaprak ortası ve sürgün ucunun eksplant olarak kullanıldığı bu çalışmada yaprak ortasından alınan eksplantların diğerlerine göre daha fazla sayıda sürgün oluşturduğu belirlenmiştir. Bulgularımız Canhoto ve Cruz (3)'ün bulgularıyla uyum içerisinde bulunmuştur. Nitekim bu araştırmacılar eksplant olarak yaprak sapı ve yaprak ayasını kullanmışlar ve sonuçta yaprak ayasından alınan eksplantların yaprak sapına göre daha fazla sayıda sürgün oluşturduğunu saptamışlardır.

Kivilerin doku kültürüyle çoğaltılmasında diğer bitki türlerinde olduğu gibi köklenme aşamasında genellikle IBA kullanılmaktadır (6, 11, 18, 20). Bu çalışmada köklendirme aşamasında kültür ortamına 0.5 ve 1.0 mg/l IBA ilavesi yapılmış ve fazla sayıda hava kökü saptanmıştır. Buna karşın, kontrol uygulamasında daha az sayıda kök oluşmuş fakat oluşan köklerin tamamının gerçek kök olduğu gözlenmiştir. Ayrıca IBA konsantrasyonunun artışı eksplantlarda kallus oluşumunu artırmış, aşırı kallus oluşumu ise köklenmeyi engellemiştir. Bulgularımız Canhoto ve Cruz (3)'ün bulgularıyla uyum içerisinde. Aynı konuda bu

araştırcılar tarafından yapılan çalışmada da IBA'nın 1.0 mg/l'nin üzerine çıkarılmasının kallus oluşumunu artırdığı saptanmıştır.

Bu araştırmada kivi bitkisinin doku kültürü yöntemiyle çoğaltılması amaçlanmıştır. Tohumların % 2'lik sodyum hipoklorid konsantrasyonunda 10 dakika bekletilmesi sağlıklı eksplant yüzdesi bakımından en iyi sonucu vermiştir. Tohumdan gelişen bitkiciklerin yaprak ortasından alınan parçaları gerek yaprak kenarı, gerekse sürgün ucundan alınan parçalara göre ortalama sürgün sayısı ve toplam yaprak sayısı bakımından daha başarılı bulunmuştur. Ortalama sürgün uzunluğu bakımından ise sürgün ucundan ve yaprak ortasından alınan parçalar yaprak kenarına göre daha iyi sonuç vermiştir. Tohumlardan alınan parçacıklardan gelişen bitkiciklerin köklendirilmesinde kontrol uygulamasının 0.5 ve 1.0 mg/l IBA uygulamasına göre daha olumlu sonuç verdiği belirlenmiştir.

Kaynaklar

1. Samancı H. ve İ. Uşlu. Türkiye'de kivi (*Actinidia deliciosa* A. Chev.) yetiştirme olanakları üzerinde alışmalar, I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt 1 (meyve), 187-190. Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bornova, İzmir. 1992.
2. Baktır İ. Bahçe bitkilerinin üretiminde doku kültürünün yeri ve nemi. Derim, Narenciye Araştırma Enstitüsü Yayını, 4, 2, 78-84, 1987.
3. Canhoto J.M. and G.S. Cruz. In vitro multiplication of *Actinidia chinensis* Planch. by culture of young leaves. Bol. Soc. Brot., 60, 239-252, 1987.
4. Kataoka I., M. Nakahira and H. Inoue. Active shoot regeneration in callus culture of kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch.). Technical Bulletin of Faculty of Agriculture, Kagawa University, 39, 1, 21-26, 1987.
5. Marino G. and G. Bertazza. Micropropagation of *Actinidia deliciosa* cv. 'Hayward' and 'Tomuri'. Scientia Horticulturae, 45, 65-74, 1990.
6. Shen X.S., J.Z. Wan and W. Yiluo. Propagation in vitro of Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis*) through the development of axillary buds. Scientia Horticulturae, 42, 45-54, 1990.
7. Wiyaporn S., S. Subhadrabandhu and O. Sahavarharin. In vitro vegetative multiplication of kiwi plant. Acta Horticulturae, 279, 447-459, 1990.
8. Xiao X.G., A.M. Hirsch and D. Fortune. Method of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, cultivar Hayward) micropropagation by leaf tissue culture. Fruits, 46, 57-66, 1991.
9. Pedroso M.C., M.M. Oliviera and M.S.S. Pais. Micropropagation and simultaneous rooting of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* 'Hayward'. HortScience, 27, 5, 443-445, 1992.

10. Jordan M., C. Medina and A.M. Mujica. Micropropagation of kiwifruits (*Actinidia chinensis* Pl.). Histochemical study of morphogenesis induced in vitro. Hort. Abst., 57-09262, 1987.
11. Pais M.S.S., M.M. Oliveira and J. Barroso. Use of petiole segments of *Actinidia chinensis* (Kiwi) for plant differentiation and production of friable calli for protoplast isolation. Acta Horticulturae, 212, 687-689. 1987.
12. Kamenicka A. and M. Rypak. The regeneration of *Actinidia chinensis* Planch. cultured in vitro. Hort. Abst., 60-04156, 1990.
13. Messina R. and G. Costa. Influence of paclobutrazol on in vitro rooting of kiwifruit explants. Adv. Hort. Sci., 4, 90-92, 1990.
14. Murashige T. and F. Skoog. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 15, 473, 1962.
15. Düzgüneş O., T. Kesici, O. Kavuncu ve F. Gürbüz. Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik metodları II), Ankara Üniversitesi Ziraat Fak. Yay., no:1021, Ders kitabı: 295, 1987.
16. Fraser L.G. and C.F. Harvey. Somatic embriyogenesis from anther-derived callus in two *Actinidia* species. Scientia Horticulturae, 29, 335-346, 1986.
17. Kin M.S., L.G. Fraser and C.F. Harvey. Rescue of hybrid embryos of *Actinidia* species. Scientia Horticulturae, 44, 97-106, 1990.
18. Monette P.L. Cold storage of kiwifruit shoot tips in vitro. HortScience, 21, 5, 1203-1205, 1986.
19. Oliveira M.M. and M.S.S. Pais. Plant regeneration from protoplasts of long-term callus cultures of *Actinidia deliciosa* var. *deliciosa* cv. Hayward (Kiwifruit). Plant Cell Reports, 6, 643-646, 1991.
20. Monette P.L. Organogenesis and plantlet regeneration following in vitro cold storage of kiwifruit shoot tip cultures. Scientia Horticulturae, 31, 101-106, 1987.