

Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar I. Gelişme ve Çoğalma¹

Serra HEPAKSOY²

Summary

Investigations on Micropropagation of Some Cherry Rootstocks I. Shoot Development and Proliferation

Nursery tree propagation with clonally propagated dwarf rootstocks is gaining more and more increase in the world each year. In this study, determination of the best medium containing for shoot development and proliferation during the micropropagation of Gisela 5 and Gisela 6 cherry rootstocks. As a result, it is found out that both rootstocks can be propagated by tissue culture and that rootstock Gisela 6 displays higher performance than Gisela 5. Generally, GA₃ remained quite ineffective in the development of newly formed shoots and proliferation but high concentration was affected negatively. As the proliferation medium, the MS medium containing 1 mg l⁻¹ BA + 0.5 mg l⁻¹ IBA or NAA is determined to be the best.

Key words: Gisela clones, rootstock, in vitro propagation, cherry.

Giriş

Kiraz fidanı, çöğür ve klon anaçları üzerine aşılama yapılarak yetiştirilmektedir. Eskiden dünyada en yaygın olarak *Prunus avium* L ve *P. mahaleb* L. çöğür anaçları kullanılmaktaydı. Bu anaçlar, büyük taçlı ve geç meyveye yatan ağaçların oluşumuna neden olurlar. Bu nedenle, küçük taç oluşturan, erken meyveye yatan, kritik iklim koşullarında kiraz-vişne yetiştiriciliğine olanak veren ve değişik hastalık-zararlılara dayanıklı anaç elde edebilmek için yoğun olarak bir çok ülkede çalışmalar başlamıştır. Günümüzde, *P. avium*, *P. mahaleb*

¹ Bu çalışma, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No 2000-ZRF-010) Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

² Doç. Dr., E. Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bornova, İZMİR
e-mail: hepaksoy@ziraat.ege.edu.tr

ve *P. cerasus* türü içinde çok sayıda çöğür ve klon anaçları ile, tür ve türler arası melezleme yoluyla elde edilen hibrit klon anaçları bulunmaktadır. *P. avium* çöğür anaçlarına örnek olarak, Alkavo, Hüttner 170 x 53, KW101, Mazzard, OCR-1 verilebilir. Aynı türün klon anaçlarına ise, Charger, Cristimar I.A.I., F 12/1'i örnek olarak vermek mümkündür. *P. mahaleb* çöğür anaçları arasında, Alpruna, CT500, CT2753, Mahaleb 900 ve 4, Türk Mahalebi; klon anaçları arasında, Dunabogdany, SL 64, Bonn klonları 6, 58, 60, 62 gibi anaçlar yer almaktadır. *P. cerasus* türünde çöğür anacı olarak, Trevnenska o.p, VG1, F442, Ilva; klon anacı olarak da Stockton Morello, Vladimirskaya, VV1, CAB klonları sayılmaktadır. Son yıllarda yoğunlaşan, tür ve türler arası melezlemeler sonucunda elde edilen hibrit klon anaçları arasında ise, Colt, Camil (GM 79), Damil (GM 61/1), Inmil (GM 9), Gisela klonları, M x M (MaxMa) klonları bulunmaktadır (Iezzoni ve ark., 1991).

Gisela serisi klonları Almanya'da elde edilen melez klon anaçları olup, değişik serileri vardır. Bunlardan bazılarının isimleri ve orijinleri aşağıda verilmiştir (Iezzoni ve ark., 1991).

148/1, 2, 8, 9	<i>P. cerasus</i> 'Schattenmorelle' x <i>P. canescens</i>
209/1	<i>P. cerasus</i> 'Schattenmorelle' x <i>P. canescens</i>
154/4 ve 7	<i>P. cerasus</i> 'Schattenmorelle' x <i>P. fruticosa</i>
169/15	<i>P. cerasus</i> 'Schattenmorelle' x <i>P. avium</i>
172/2, 9	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. avium</i>
173/1, 5, 9	<i>P. fruticosa</i> x <i>P. cerasus</i> 'Schattenmorelle'
473/10	<i>P. avium</i> x <i>P. fruticosa</i>

Gisela klon serileri arasında en fazla önem kazananları Gisela 1 (172/9), Gisela 5 (148/2), Gisela 6 (148/1) ve Gisela 10 (173/9)'dur. Gisela 5 (148/2) (*P. cerasus* x *P. canescens*), bu serinin en bodur anacıdır. Bu anaç, mazzard anacı üzerine aşılı ağaçların % 45'i kadar büyüklükte ağaçlar meydana getirir. Ağır topraklara dayanımı iyi ve *Phytophytora*'ya karşı nisbeten dayanıklı bir anaçtır. Gisela 6 (148/1) (*P. cerasus* 'Schattenmorelle' x *P. canescens*), Gisela 5 anacına göre daha kuvvetli bir anaç olup, yarı bodur olarak değerlendirilmektedir. Üzerine aşılı çeşitler, Mazzard anacına aşılı çeşitlerin yaklaşık % 60 - 70'i büyüklüğünde ağaçlar meydana getirir ve bu anaç üzerindeki ağaçlar erken meyveye yatarlar (Wertheim ve ark., 1998).

Klon anaçlarının çoğaltılmasında vegetatif yöntemlerden en fazla kullanılabilecek çelik ile çoğaltılmaktadır. Bazı anaçlarda daldırma metodunu da uygulamak mümkündür. Geniş çaplı üretim ve kısa

sürede çok sayıda anaç materyali elde etmek amacı ile in vitro tekniklerden de son yıllarda yaygın olarak yararlanılmaktadır.

Hızlı ve geniş çaplı üretim için in vitro teknikler bir çok meyve türünün çoğaltılmasında kullanılmaktadır (Bajaj, 1986).

Mikroçoğaltım için üretime genellikle, sürgün ucu ile başlanır (Rosati ve ark., 1980; Sauer 1985; Bandok ve ark., 1989; Borkowska, 1990). Sürgün uçlarının sürmesi sonucu oluşan uzun sürgünlerden göz içeren boğumların, tekrar kültüre alınması yoluyla (tek boğum kültürü) ya da sürgün uçlarının, yaprak koltuklarında bulunan uyur gözlerin, sitokinin uygulamalarıyla sürdürülmesi sonucu yan dalların oluşturulması yoluyla çoğaltma sağlanabilmektedir (Rowe, 1985; Zimmerman, 1991). Bu iki metot ayrı ayrı uygulanabildiği gibi, birlikte de kullanılabilmekte ve böylece üretim hızı arttırılabilmektedir.

İn vitro vegetatif üretimin başlangıç aşamasında, eksplant alınacak bitkilerin seçilerek, bakımlarının gerçekleştirilmesi gereklidir. İyi gelişen, sağlıklı bitkilerle kültüre başlanması, başarı şansını arttırarak, temiz kültür elde edilmesini kolaylaştırmaktadır. Daha sonraki aşamada, meristem veya sürgün ucu gibi eksplantların steril olarak izolasyonu gerçekleştirilir. Bir sonraki aşama ise, eksplantın regenerasyon kabiliyetini kaybetmeden çoğaltılmanın gerçekleştiği sürdürme aşamasıdır.

Doku kültüründe meristem kültürü yöntemiyle ve alt kültür işlemleri sonucu gençleştirme sağlanabilmekte (Pierik, 1987), bu da doku kültürünün önemli bir yararı olarak karşımıza çıkmaktadır. Böylece çoğalması ve köklenmesi zor olan türlerin in vitro üretimi mümkün olmaktadır (Hammerschlang, 1982).

Kiraz ve vişnenin doku kültürü ile çoğaltılmasında genellikle MS (Murashige-Skoog) besin ortamının makro ve mikro elementleri, bazı durumlarda ise MS ortamı modifiye edilerek kullanılmaktadır. Modifiye işlemlerinden birisi, sararma belirtilerine karşı demir miktarının arttırılmasıdır (Skirvin, 1984). Besin ortamında vitamin olarak, 10 değişik vitamin karışımı (Skirvin ve Chu 1977), Linsmaer-Skoog vitaminleri ve MS vitaminleri kullanılmaktadır. Enerji kaynağı olarak, 20-30 g l⁻¹ konsantrasyonda sakkaroz ilave edilmekte, bazı durumlarda ise daha yüksek konsantrasyonlardan da yararlanılmaktadır. *Prunus* türlerinde katı ortam, sıvı ortama göre daha fazla tercih edilmekte olup, 6-8 g l⁻¹ agar uygun bir dozdur. Kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ile konsantrasyonları kültür aşamasına ve bitki türüne göre farklılık göstermektedir (Borkowska ve Szczerba, 1991; Morini ve ark., 1992).

İn vitro çoğaltmada çeşitli sorunları olan Mazzard anacı üzerinde çalışan Sauer (1985), genç sürgünlerin tepe tomurcuklarına ait meristemleri, 0.1 mg l⁻¹ NAA ve 2 mg l⁻¹ BAP içeren MS ortamında kültüre alarak, yan sürgünlerin gelişmesini sağlamıştır. Özzambak ve Schmidt (1991), kirazda yaptıkları invitro mikro aşılama çalışmasında, Early Burlat ve Viola çeşitleri ile F 12/1 ve 209/1 anaçlarına ait sürgün uçlarını, 1.0 mg l⁻¹ BAP içeren MS ortamında çoğaltmışlardır.

F 12/1 (*Prunus avium*), Colt (*P. avium* x *P. pseudocerasus*) kiraz anaçlarını sürgün ucu ile üretmeye çalışan Hammannt ve Grant (1993), besin ortamının pH'sının 5.0'a düşürülmesi, BA konsantrasyonunun 2.2 µM, agar konsantrasyonunun 5.5 veya 6.5 g l⁻¹ olması ve besin ortamına 1.0 µM floroglisinol ilave edilmesi durumunda sürgün çoğalmasının arttığını tespit etmişlerdir.

F 12/1 kiraz anacının sürgün ucu ile çoğaltılması üzerinde çalışan Goudarzi ve ark. (1997), materyalin sterilizasyonunda civa klorür kullanmışlardır. Eksplantların çoğalması aşamasında besin ortamı olarak, MS besin ortamının tuzları, LS besin ortamının vitaminleri ile NAA ve BA bulunan bir ortam kullanılmıştır. Çoğalma aşamasında en iyi sonuç, 0.25 mg l⁻¹ NAA ile 1 mg l⁻¹ BA bulunan ortamda elde edilmiştir.

Han ve ark. (1998), kirazın yan sürgün kültürü yolu ile in vitro üretimi üzerinde çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar, serada yetişen bitkilerden eksplant alınarak kültüre başlandığında, bulaşmanın % 76.6 gibi çok yüksek oranda olduğunu ve bulaşmanın % 70.6 ile 83.9 oranında bakteri, % 27.1 oranında ise fungusdan kaynaklandığını saptamışlardır. İn vitro sürgün çoğalmasında BA'nın kinetinden daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Gisela 5 (*P. cerasus* x *P. canescens*) kiraz anacının doku kültürü ile üretiminde çoğalma aşamasında kullanılan agar çeşidi ve konsantrasyonunun etkisini araştıran Ruzic ve ark. (1998), sürgün uçlarını 1 mg l⁻¹ BAP, 0.1 mg l⁻¹ NAA, 0.1 mg l⁻¹ GA₃ ve 20 g l⁻¹ sakkaroz içeren MS besin ortamında kültüre almışlardır. Besin ortamlarına altı farklı agar çeşidi [Kalys 575 (600), Kalys 500, Sigma, Difco-Bacto, torlak ve yerel agar], üç farklı konsantrasyonda (6.0, 6.5, 7.0 g l⁻¹) ilave edilmiştir. En yüksek çoğalma oranı 6 veya 6.5 g l⁻¹ Kalys 575 (600), Kalys 500 ve Sigma agar bulunan besin ortamlarında gerçekleşmiştir. Bu besin ortamlarında gelişen bitkiciklerde her hangi bir olumsuzluğa rastlanmamıştır. Diğer agar tipleri kullanıldığı zaman gelişmede ortaya çıkan olumsuzluklar, ancak agarın 7 g l⁻¹ olması durumunda azalmıştır.

Bu çalışmada, Türkiye’de son yıllarda kullanılmaya başlayan Gisela anaçlarından, bodur Gisela 5 ile yarı bodur Gisela 6 anaçlarının sürgün ucu metodu ile in vitro çoğaltılmasında, gelişme ve çoğalma için uygun besin ortamları belirlenmeye çalışılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada esas olarak MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamı kullanılmıştır. Bitki büyüme düzenleyici olarak, oksin grubundan, indol butirik asit (IBA) ve naftalen asetik asit (NAA); gibberellin grubundan gibberellik asit (GA_3), sitokinin grubundan da benzil adenin (BA) kullanılmıştır. *Prunus* türlerinin in vitro üretimi üzerinde çalışan bir çok araştırmacı (Özzambak ve Schmidt, 1991; Goudarzi ve ark., 1997; Ruzic ve ark., 1998; Sülüsoğlu ve Çelik, 1991) benziladenin konsantrasyonunu 1 mg l^{-1} önermeleri nedeni ile çalışmada BA sabit tutularak, oksin çeşidi (IBA/NAA) ve konsantrasyonu ile GA_3 konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır.

Besin ortamlarına 30 g l^{-1} sakkaroz ve 7 g l^{-1} agar ilave edilmiş, pH değerleri, pH-metre yardımı ile NaOH ve HCl kullanılarak 5.3’e ayarlanmıştır. Steril saf su ile hazırlanan besin ortamları, daha önce steril hale getirilen tüp veya kavanozlara konulduktan sonra, $121 \text{ }^\circ\text{C}$ ’de 1.2 atmosfer basınçtaki otoklavda 20 dakika tutularak sterilizasyonu yapılmıştır.

Denemede kullanılan MS besin ortamlarının içerikleri ve bu ortamlara verilen numaralar aşağıda gösterilmiştir.

1. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.1 mg l^{-1} IBA
2. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.1 mg l^{-1} NAA
3. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.1 mg l^{-1} IBA + 0.1 mg l^{-1} GA_3
4. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.1 mg l^{-1} NAA + 0.1 mg l^{-1} GA_3
5. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.25 mg l^{-1} IBA
6. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} IBA
7. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.25 mg l^{-1} NAA
8. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} NAA
9. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.25 mg l^{-1} IBA + 0.1 mg l^{-1} GA_3
10. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} IBA + 0.1 mg l^{-1} GA_3
11. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.1 mg l^{-1} IBA + 0.25 mg l^{-1} GA_3
12. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.25 mg l^{-1} IBA + 0.25 mg l^{-1} GA_3
13. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} IBA + 0.25 mg l^{-1} GA_3
14. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.25 mg l^{-1} NAA + 0.1 mg l^{-1} GA_3
15. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} NAA + 0.1 mg l^{-1} GA_3
16. MS + 1 mg l^{-1} BA + 0.1 mg l^{-1} NAA + 0.25 mg l^{-1} GA_3

17. MS + 1 mg l⁻¹ BA + 0.25 mg l⁻¹ NAA + 0.25 mg l⁻¹ GA₃

18. MS + 1 mg l⁻¹ BA + 0.5 mg l⁻¹ NAA + 0.25 mg l⁻¹ GA₃

Anaçlara ait 3-5 cm uzunluğundaki sürgün uçları, Haziran ayının ortasında alınarak laboratuara getirilmiştir. Alınan bitki parçacıklarının boyları kısaltılmış, küçük yapraklar koparılmış ve tek tek çeşme suyu ile yıkanarak materyal üzerindeki kaba kir uzaklaştırılmıştır. Eksplantlar daha sonra sabunlu suya konulmuş, ara sıra karıştırılarak 20 dakika bekletildikten sonra, akan çeşme suyu altında, 20 dakika kadar yıkanarak ön sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır. Daha sonra steril kabinde, örnekler 20 dakika süre ile içine bir iki damla Tween 20 ilave edilen %4 sodyum hipoklorit içeren 1/2 oranında seyreltilmiş çamaşır suyunda tutularak sterilizasyon gerçekleştirilmiştir. Buradan çıkarılan örnekler, üç defa beşer dakika süre ile steril saf suda tutularak dikime hazır duruma getirilmiştir (Muriithi ve ark., 1982; Ranjit ve Kestler, 1988).

Deneme, tesadüf parselleri deneme desenine göre üç tekerrürlü olarak yürütülmüş ve ortalamaların karşılaştırılmasında LSD testi kullanılmıştır. Yüzde olarak hesaplanan değerlerde açı transformasyonu uygulanmış ve buna ait LSD değerleri verilmiştir.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Gisela 5 ve Gisela 6 anaçlarının in vitro çoğalma durumlarını saptamak amacıyla Haziran ayında sürgün ucu örnekleri alınarak, öncelikle literatür çalışması ışığı altında materyal ve metot bölümünde belirtilen 1 - 4 no'lu besin ortamlarına dikimleri yapılmıştır.

Anaçlara ait eksplantların başlangıçtaki gelişme oranları (%) farklı olup, bu farklılık istatistiki anlamda önemlidir. Gisela 6 anaç, Gisela 5'e göre daha yüksek oranda gelişme göstermiştir. Gisela 6 anacında %64.59 olan gelişme, Gisela 5 anacında %55.00 olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 1).

Anaçlar arasında gelişme farklılığının ortaya çıkması beklenen bir olay olup, bir çok araştırmacı bu yönde bulgular elde etmiştir (Ajer ve Aharna, 1990; Borkowska, 1990). Besin ortamlarının, gelişme üzerine etkileri farklı olmuştur. Ancak anaç x ortam interaksyonu önemli bulunmamıştır. En iyi gelişmeler, 1 mg l⁻¹ BA + 0.1 mg l⁻¹ IBA veya NAA'nın + 0.1 mg l⁻¹ GA₃ içeren ortamlarda gerçekleşmiştir. Bunlardan 0.1 mg l⁻¹ NAA bulunan ortam, IBA bulunana göre daha iyi bir gelişme sağlamış olmakla birlikte, bu farklılık istatistiksel olarak önemli değildir. 1 mg l⁻¹ BA ve 0.1 mg l⁻¹ GA₃ ile birlikte 0.1 mg l⁻¹ NAA içeren ortamda Gisela 5 ve Gisela 6 anaçlarının gelişmeleri

sırasıyla %58.33 ve 70.00 olurken, IBA içeren ortamda yine aynı sıra ile %56.67 ve 66.67 şeklinde gerçekleşmiştir. Besin ortamlarının GA₃ içermeyip, sadece BA ve IBA/NAA içermeleri durumunda ise gelişen eksplant yüzdesi daha az olmuştur. (Çizelge 1). Ruzic ve ark. (1998), Gisela 5 anacının çoğaltılması için çalışmamızı destekler şekilde benzer bir besin ortamı olan 1 mg l⁻¹ BAP, 0.1 mg l⁻¹ NAA, 0.1 mg l⁻¹ GA₃ içeren MS ortamını önermiştir.

Çizelge 1. Gisela 5 ve Gisela 6 anaçlarının 4 farklı MS besin ortamındaki gelişme oranları (%).

Ortam No	Gisela 5	Gisela 6			
1	51.67	60.00			
2	53.33	61.67			
3	56.67	66.67			
4	58.33	70.00			
Ortalama	55.00	64.59			
LSD _{0.05} anaç	0.032**	LSD _{0.05} ortam	0.045**	LSD _{0.05} anaç x ortam	ö.d.
ö.d. önemli değil		** P ≤ 0.01			

Kiraz klon anaçlarına ait sürgün uçları 1 - 4 no'lu ortamlarda kültüre alınıp, bunların gelişme oranları belirlendikten sonra, besin ortamı denemeleri için yeterli sayıda eksplant sağlayabilmek amacıyla, canlı kalarak gelişmeye başlayan kültürlerden bir süre yeni sürgünler elde edilmiştir. Bu amaçla, alt kültürler yapılmış ve eksplant sayısı artırılmıştır. Yeterli sayıya ulaşıncaya elde edilen bu in vitro sürgünlerin sürgün uçları alınarak, materyal ve metot bölümünde belirtildiği gibi hormon içerikleri farklı olan 18 MS besin ortamına dikim yapılmıştır.

Çalışmanın bu bölümünde, farklı besin ortamları deneyerek, BA ile birlikte 0.1, 0.25, 0.5 mg l⁻¹ konsantrasyondaki IBA ve NAA'nın, farklı konsantrasyonlardaki (0, 0.1 ve 0.25 mg l⁻¹) GA₃'ün çoğalma ve gelişme üzerine etkisi saptanmıştır.

Kültüre alınıştan 5 hafta sonra, çoğalmanın belirlenebilmesi amacıyla, her bir eksplanttan meydana gelen toplam sürgün sayısı saptanmıştır. Ortamlar dikkate alınmadan yapılan değerlendirmede Gisela 6 anacının çoğalma yeteneğinin daha fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Bu durum eksplantların ilk kültüre alındıklarında elde edilen canlılık oranlarına ait bulgular ile aynıdır. Diğer bir ifade ile, anaçlara ait eksplantların canlı kalma oranları ile çoğalma yetenekleri arasında bir ilişki olup, canlı kalma oranlarının yüksek oluşu, bu çeşidin in vitro üretime eğiliminin daha fazla olduğunu düşündürmektedir. Nitekim

Aksoy ve Hepaksoy (2004), farklı Sarılop incir klonlarının sürgün ucu yöntemi ile çoğaltılması üzerinde yaptıkları çalışmada benzer sonucu bulmuşlar, 37 nolu Sarılop klonunun, in vitro çoğaltılmasında başlangıçtan sona kadar her aşamada, diğer iki klona göre daha iyi sonuç vermiştir.

Gisela 6 anacında çoğalma, besin ortamlarına bağlı olarak 1.4 ile 8.0 adet/eksplant arasında değişmiş ve meydana gelen ortalama sürgün sayısı 5.26 adet/eksplant olurken, Gisela 5 anacında yine ortamlara göre 1.0 ile 6.8 adet/eksplant arasında değişmiş ve ortalama olarak 4.26 adet/eksplant tespit edilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Gisela 5 ve Gisela 6 anaçlarının 18 farklı besin ortamındaki çoğalma miktarları (adet / eksplant).

Ortam No	Gisela 5	Gisela 6	Ortam No	Gisela 5	Gisela 6
1	4.8	6.4	10	4.4	4.8
2	4.6	6.0	11	1.2	1.4
3	4.6	6.2	12	1.0	3.4
4	4.6	6.2	13	6.2	6.8
5	5.0	5.6	14	4.2	5.4
6	6.8	8.0	15	4.2	5.0
7	5.2	5.6	16	1.4	1.8
8	6.6	7.2	17	1.6	3.2
9	4.2	5.0	18	6.0	6.6
LSD _{anaç 0.05} 0.220**		LSD _{ortam 0.05} 0.661**		LSD _{anaç x ortam 0.05} 0.661**	
ö.d. önemli değil		** P≤ 0.01			

6, 8, 13 ve 18 no'lu ortamlarda, genellikle çoğalma her iki anaçta da daha fazla olmuş, buna karşılık 11, 16, 12 ve 17 no'lu ortamlarda ise, çok düşük düzeyde kalmıştır. Geriye kalan 10 besin ortamında ise, çoğalma orta düzeydedir. Besin ortamı x anaç interaksyonu önemli olmakla birlikte, her iki anaçta da en iyi ve kötü sonuçların alındığı besin ortamları aynı olup, orta düzeyde çoğalmanın elde edildiği ortamlarda bazı farklılıklar bulunmaktadır. En fazla çoğalmanın gerçekleştiği 6, 8, 13 ve 18 no'lu besin ortamlarının içeriklerine bakılacak olursa, 1 mg l⁻¹ BA ile birlikte 0.5 mg l⁻¹ IBA/NAA bulunduğu görülmektedir. Çoğalma üzerine etkileri bakımından IBA ve NAA arasında bir farklılık bulunmamaktadır. Bu iki ortamdan sonra, BA ve IBA/NAA'ya ilave olarak 0.25 mg l⁻¹ GA₃'ün bulunduğu ortamlar gelmektedir. Besin ortamlarına 0.25 mg l⁻¹ GA₃ eklenmesi çoğalmayı biraz azaltmış olmakla birlikte, bu farklılık önemli değildir.

Çoğalmanın en düşük düzeyde gerçekleştiği ortamlar ise 11, 12, 16 ve 17 no'lu ortamlarının ortak yönleri, yüksek çoğalmanın sağlandığı ortamlardaki oksin miktarından daha az (0.1-0.25 mg l⁻¹ IBA/NAA) oksin içermeleridir. GA₃ konsantrasyonu ise aynıdır. Diğer bir ifade ile, düşük konsantrasyonda (0.1-0.25 mg l⁻¹) oksin bulunan ortama ilave edilen GA₃ konsantrasyonunun yüksek olması durumunda, çoğalma olumsuz yönde etkilenmiştir. Besin ortamlarında oksin olarak IBA/NAA kullanılması ile konsantrasyonlarının 0.1 veya 0.25 mg l⁻¹ olması her hangi bir farklılık yaratmamış ve her durumda çoğalma çok düşük olmuştur. Genel olarak, besin ortamlarının içerdikleri IBA veya NAA konsantrasyonlarının azalması, çoğalmanın da azalmasına neden olmuştur. 0.1 veya 0.25 mg l⁻¹ IBA/NAA bulunduran ortamlarda, 0.5 mg l⁻¹ bulunanlara göre daha az çoğalma meydana gelmiştir. Goudarzi ve ark. (1997), F 12/1 kiraz anacı için 1 mg l⁻¹ BA ile birlikte 0.25 mg l⁻¹ NAA dozunu önermiştir, ancak bu çalışmada oksin konsantrasyonunun 0.5 mg l⁻¹ olması daha iyi sonuç vermiştir. Oksin konsantrasyonunun düşük, buna karşılık GA₃ konsantrasyonunun yüksek olmasında olduğu gibi, oksin miktarının yüksek, GA₃ miktarının düşük olması durumunda da çoğalma olumsuz yönde etkilenmiştir. Buradan da oksin ve gibberellin oranının önemli olduğu sonucu ortaya çıkmaktadır.

Denemede yer alan kiraz anaçlarının çoğalması üzerine besin ortamlarının etkisinin belirlenmesi yanı sıra, çoğalan bitkiciklerin gelişmeleri de incelenmiştir. Bu amaçla, her bir eksplanttan meydana gelen yeni bitkicikler boylarına göre küçük (<1cm), orta (1 - 2.5 cm) ve büyük (>2.5 cm) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır.

Kültüre alınıştan beş hafta sonra meydana gelen bitkiciklerin boyları incelendiğinde, küçük ve büyük olarak değerlendirilen sürgünler açısından anaçlar arasında fark olmamış, sadece ortamlar bakımından farklılık oluşmuştur. Orta boy sürgünlerin meydana gelişinde ise, anaç ve ortamlar arasında farklılık ortaya çıkmıştır. Gisela 6 anacında, daha fazla sayıda 1-2.5 cm uzunluğunda sürgün meydana gelmiştir. Her iki anaçta da bir eksplanttan meydana gelen 1 cm den küçük sürgün sayısı, orta ve büyük boy sürgünlere göre daha az olmuştur (Çizelge 3).

Çalışmada oksin olarak IBA veya NAA kullanılması arasında önemli bir farklılık meydana gelmediği gibi, bu hormonların konsantrasyonlarının 0.5 mg l⁻¹ olması, 0.25 veya 0.1 mg l⁻¹ olmasına göre daha olumlu sonuç vermekle birlikte, düşük iki konsantrasyon arasında bariz bir farklılık ortaya çıkmamıştır. Ayrıca GA₃'ün belirgin olarak olumlu bir etkisi de saptanamamıştır.

Çizelge 3. Anaçlarının farklı besin ortamlarında oluşturdukları yeni sürgünlerin boylara göre gruplandırılması.

Ortam No	Sürgün Sayısı (Adet / Eksplant)					
	<1 cm)		(1 – 2.5 cm)		>2.5 cm)	
	Gisela 5	Gisela 6	Gisela 5	Gisela 6	Gisela 5	Gisela 6
1	2	2	2	2	1	2
2	2	2	2	2	1	2
3	1	1	1	3	2	2
4	1	2	1	2	2	3
5	2	2	3	3	1	1
6	2	2	2	3	3	3
7	2	2	2	2	2	2
8	2	2	2	3	3	3
9	1	1	1	2	2	2
10	1	1	1	2	2	2
11	0	0	1	1	0	0
12	0	1	1	1	1	1
13	2	2	2	2	2	3
14	1	1	1	2	2	2
15	1	1	1	2	2	2
16	0	1	1	1	0	0
17	0	1	1	1	0	1
18	2	2	2	2	2	2
LSD _{0.05} anaç	ö.d.		1.184**		ö.d.	
LSD _{0.05} ortam	0.435**		0.542**		0.550**	
LSD _{0.05} anaç x ortam	ö.d.		ö.d.		ö.d.	
ö.d. önemli değil			** P≤ 0.01			

Sonuç

Ülkemizde, son yıllarda kullanılmaya başlayan Gisela anaçlarından, bodur Gisela 5 ile yarı bodur Gisela 6 anaçlarının sürgün ucu metodu ile in vitro çoğaltılmasında, gelişme ve çoğalma için uygun besin ortamları belirlemeye yönelik bu çalışmada, anaçların her ikisinin de in vitro çoğaltmaya uygun oldukları ortaya çıkmıştır. Gisela 6 anacının çoğalma eğiliminin daha yüksek olduğu saptanmıştır. 1 mg l⁻¹ BA ile birlikte farklı hormon çeşidi ve konsantrasyonu denenmiş olup, oksin olarak IBA veya NAA kullanılması arasında önemli bir farklılık tespit edilememiş, ancak 0.5 mg l⁻¹ oksin konsantrasyonunun, 0.25 veya 0.1 mg l⁻¹'a göre daha olumlu sonuç verdiği saptanmıştır. Genel olarak çoğalma ve meydana gelen yeni sürgünlerin gelişmesi üzerine düşük konsantrasyonda GA₃ her hangi bir etkide bulunmamış, buna karşılık konsantrasyonun artırılması halinde çoğalma olumsuz yönde

etkilenmeye başlamıştır. Ancak, hormon konsantrasyonlarının etkisinin belirlenmesinde, tek bir hormonun değil, farklı hormonların oranı önemlidir. Bu nedenle, ortam denemelerinin farklı hormon kombinasyonları ve konsantrasyonlarında devam ettirilmesinde yarar vardır.

Özet

Dünyada klonal bodur anaç kullanılarak fidan üretimi yılda yıla artmaktadır. Klonal anaçların çoğaltılmasında doku kültüründen yararlanmak mümkündür. Bu çalışmada klonal kiraz anaçlarından Gisela 5 ve Gisela 6'nın sürgün ucu metodu ile in vitroda çoğaltılmasında, gelişme ve çoğalma için uygun besin ortamları belirlenmeye çalışılmıştır. Gisela 6 anacının çoğalma eğilimi Gisela 5'den daha yüksektir. Genel olarak çoğalma ve meydana gelen yeni sürgünlerin gelişmesi üzerine düşük konsantrasyonda GA₃ her hangi bir etkide bulunmamış, buna karşılık konsantrasyonun artırılması halinde çoğalma olumsuz yönde etkilenmeye başlamıştır. En uygun besin ortamı 1 mg l⁻¹ BA + 0.5 mg l⁻¹ IBA / NAA olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Gisela klonları, anaç, in vitro çoğaltma, kiraz.

Kaynaklar

- Ajer, N.B. and Sharma, S.D., 1990. Micropropagation in some plum cultivars. Fruit Sci. Reports, 17 (2): 57 – 63.
- Aksoy, U. ve Hepaksoy, S., 2004. Seçilmiş üstün nitelikli Sarılop incir klonlarının çoğaltılması üzerinde araştırmalar. E.Ü. Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü 2000 ZRF 016 no'lu Proje Sonuç Raporu. Bornova, İzmir.
- Bajaj, Y.P.S., 1986. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol 1. Trees. Springer, Berlin Heidelberg, New York.
- Bondok, A.Z., El-Agomy and Gomae, A.H., 1989. In vitro propagation of Marianna 2624 plum rootstock. Egyptian J. of Hort., 16 (1): 9-16.
- Borkowska, B., 1990. Rate of proliferation and efficiency of rhizogenesis of sour cherry cultures recultured invitro for several years. Fruit Sci. Reports, 17 (4): 165-170.
- Borkowska, B. and Szczerba, J., 1991. Influence of different carbon sources on invertase activity and growth of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) shoot cultures. J. of Exp. Botany 240 (42): 911 - 915.
- Goudarzi, R., Majedi, A., Talaie, A.R. and Mostafavi, M., 1997. Micropropagation of cherry rootstock (*Prunus avium* cv F12/1) by shoot tip culture. Iranian J. of Agr. Sci., 28 (3): 133 - 143.
- Hammerschlag, F.A., 1982. Factors influencing in vitro multiplication and rooting of the plum rootstock Myrobolan (*Prunus cerasifera* Ehrh.) J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107 (1): 44 - 47.
- Hammatt, N. and Grant, N.J., 1993. Apparent rejuvenation of mature wild cherry (*Prunus avium* L.) during micropagation. J. of Plant Physi., 141 (3): 341 - 346.

- Han, B.H., Choi, S.L. and Joung, H.Y., 1998. In vitro propagation of Verisea cv. Christiane, and Guzman cv. Beteroniana and cherry by axillary shoot culture. RDA J. of Hort. Sci., 40 (1): 66 - 70.
- Iezzoni, A., Schmidt, H. and Albertini, A., 1991. Cherries (*Prunus*). Acta Hort., 290-III: 111 - 173.
- Morini, S., Sciutti and Fortuna, P., 1992. In vitro growth response of *Prunus cerasifera* shoots as influenced by different light-dark cycles and sucrose concentrations. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 28 (3): 245 - 248.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol Plant., 15: 473 - 497.
- Muriithi, L.M., Rangan, T.S. and Waite, B.H., 1982. In vitro propagation of fig through shoot tip culture. HortScience, 17 (1): 86 - 87.
- Özzambak, E. and Schmidt, H., 1991. In vitro and in vivo micrografting of cherry (*Prunus avium* L.) Gartenbauwissenschaft. 56 (5): 221-223.
- Pierik, R.L.M., 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- Ranjit, M. and Kester, D.E., 1988. Micropropagation of cherry rootstocks. II. Invigoration and enhanced rooting of 46-1. Mazzard by co-culture with colt.. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113 (1): 150 - 154.
- Rosati, P., Grazia, M. and Swerezewski, C., 1980. In vitro propagation of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. Calita). J.Amer. Soc.Hort. Sci. 105 (1): 126-129.
- Rowe, Jan W., 1986. New Technologies in Plant Tissue Culture (Tissue culture as a plant production system for Horticultural Crops p. 35-53. (Ed by Zimmermann R.H. et al.). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- Ruzic, D., Cerovic, R. and Ystaas, J., 1998. Influence of agar brands and concentration on in vitro shoot multiplication of the cherry rootstock Gisela 5. Acta Hort., 468: 209 - 216.
- Sauer, A., 1985. In vitro propagation of *Prunus avium* L. and storage of in vitro derived plantlets. Acta Hort., 169: 351.
- Skirvin, R.M. and Chu, M.C., 1979. In vitro propagation of "Forever Yours" rose. HortScience 15 (4): 608-610.
- Skirvin, R.M., 1984. Stone Fruits. (Handbook of Plant Cell Culture, Vol. 3. Crop Species, (Ed. by P.V. Ammirato, D.A. Evans, W.R. Sharp and Y. Yamado) Mc. Millan Publishing Comp. NewYork.
- Sülüşoğlu, M. ve Çelik, M., 2001. Kara ve sarı idris anaçlarının mikro üretiminde temel besin ortamının ve hormonların sürgün proliferasyonu ve kalitesi üzerine etkileri. 25-28 Eylül 2001. I. Sert Çekirdekli Sempozyumu Bildirileri. S. 167-174. Yalova.
- Wertheim, S.J. and de Groene, J.M., 1997. FPO- trial with summer cuttings. Gisela 5 is easy to propagate. Fruitteelt Den Haag, 87 (46): 14 - 21.
- Zimmerman, R.H., 1991. Micropropagation of Temperate Zone Fruit and Nutcrops. Micropropagation (Ed. Debergh P.C and R.H. Zimmerman). Acad. Pub. Dordrecht. 231 - 247 pp.