

Araştırma Makalesi (Research Article)

Selcan ÖZYALIN^{1*} 

Cennet YAMAN² 

Gülden BALCI³ 

^{1,3}Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat
Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 66100,
Merkez, Yozgat, Türkiye

²Yozgat Bozok Üniversitesi, Ziraat
Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 66100,
Merkez, Yozgat, Türkiye

* Sorumlu yazar (Corresponding author):

selcan.ozyalin@yobu.edu.tr

Anahtar sözcükler: Bitki büyüme
düzenleyicileri, bitki doku kültürü, *in vitro*
çoğaltım, üzüm meyveler

Keywords: Plant growth regulators, plant
tissue culture, *in vitro* propagation, berry fruits

Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg., 2025, 62 (2):259-267

<https://doi.org/10.20289/zfdergi.1456285>

Ahududunun (*Rubus idaeus* L. cv. Ruby) mikroçoğaltımında Giberellik Asitin (GA₃) bitki gelişimine etkisi*

The effect of gibberellic acid (GA₃) on plant growth
in micropropagation of raspberry (*Rubus idaeus* L.
cv. Ruby)

*Bu makale sorumlu yazarın doktora tez çalışmasının bir kısmından üretilmiştir.

Received (Alınış): 22.03.2024

Accepted (Kabul Tarihi): 27.12.2024

ÖZ

Amaç: Çalışma, *in vitro* şartlarda giberellik asitin (GA₃) ahududu (*Rubus idaeus* L. cv. Ruby) bitkisinin gelişimine etkisinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür.

Materyal ve Yöntem: Çalışma, GA₃'ün farklı dozları (0, 0.25, 0.5, 1.0 mg l⁻¹), 6-Benzilaminopurine (BAP) (0.1 mg l⁻¹)+Kinetin (Kin) (0.5 mg l⁻¹) içeren ve içermeyen MS besin ortamında denenmiştir. Denemede bazı morfolojik ve fizyolojik parametrelerin ölçümleri yapılmıştır.

Araştırma Bulguları: Araştırmada GA₃ uygulamasının incelenen parametreler üzerine etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir. Sürgün boyunda (3.93 cm), boğum arası uzunlukta (2.44 mm) ve klorofilde (38.68 SPAD) en iyi sonuçlar 1.0 mg l⁻¹ GA₃ uygulamasından elde edilmiştir. Boğum sayısında (3.67 adet) 0.5 ve 1.0 mg l⁻¹ GA₃ uygulaması, sürgün sayısında (3.33 adet) ise BAP+Kin+0.5 mg l⁻¹ GA₃ uygulamasından en iyi sonuçlar elde edilmiştir.

Sonuç: Sonuç olarak BAP ve Kin ile kombine edilen GA₃ uygulamaları sürgün sayısının artmasında, sadece GA₃'ün kullanıldığı uygulamalar da ise sürgün uzunluğunda ve boğumlar arası mesafenin artmasında etkili olduğu tespit edilmiştir.

ABSTRACT

Objective: The study was conducted to determine the effect of gibberellic acid (GA₃) on the development of raspberry (*Rubus idaeus* L. cv. Ruby) plant under *in vitro* conditions.

Material and Methods: The study tested different doses of GA₃ (0, 0.25, 0.5, 1.0 mg l⁻¹) in MS nutrient medium with and without 6-Benzylaminopurine (BAP) (0.1 mg l⁻¹) + Kinetin (Kin) (0.5 mg l⁻¹). Some morphological and physiological parameters were measured in the experiment.

Results: In the study, it was determined that the effect of GA₃ application on the parameters examined was significant. The best results in shoot length (3.93 cm), internode length (2.44 mm), and chlorophyll (38.68 SPAD) were obtained from 1.0 mg l⁻¹ GA₃ application. The best results were obtained from 0.5 and 1.0 mg l⁻¹ GA₃ application in the number of nodes (3.67 piece), and BAP+Kin+0.5 mg l⁻¹ GA₃ application in the number of shoots (3.33 piece).

Conclusion: As a result, it was determined that GA₃ applications combined with BAP and Kin effectively increased the number of shoots, and applications in which only GA₃ was used effectively increased the shoot length and distance between nodes.

GİRİŞ

Rosaceae familyasının *Rubus* cinsi içerisinde yer alan kırmızı ahududu (*Rubus idaeus* L.), üzüm sü meyveler grubuna giren bir meyve türüdür. Yeryüzünde geniş bir yayılma alanına sahip olan ahududu, özellikle Asya, Avrupa ve Amerika kıtalarının ılıman iklim bölgelerinde doğal olarak yayılış gösterir. Türkiye’de ise kuzey bölgeleri boyunca, hava oransal nemi ve toprak nemi fazla olan yerlerde, genellikle 1000 metre ve daha fazla yükseklikteki bölgelerde doğal olarak bulunmaktadır (Onur, 1996). Ahududu meyveleri toplu meyveler grubunda yer alır. Meyveleri kendine ait çok beğenilen bir kokuya ve tada sahiptir. Ayrıca insan sağlığı açısından önemli olan bazı pigmentler, fenoller, flavonlar, flavonoidler, vitamin ve liflerce diğer meyve türlerinden daha zengin oldukları bilinmektedir (Pehlivan & Güler, 2004).

Ahududu bitkisinin çoğaltılmasında kök sürgünleri veya kök çelikleri kullanılmaktadır. Kök boğazında ve kökünde bulunan adventif gözlerden süren taze sürgünler, geç sonbahardan itibaren erken ilkbahara kadar köklü olarak sökülme suretiyle fidan elde edilebilir. Fakat bu yöntemlerle fidan elde edilmesinin birçok dezavantajı olabilmektedir. Köklü sürgünlerin ana bitkiden ayrılması hem zahmetli hem de ana bitkinin verim ve kalitesine olumsuz etki yapabilmektedir. Ahududu bitkisinin çalı formunda olması ve gövdelerinin de 2 yıllık olmasından dolayı aşı ile üretim mümkün olmamaktadır. Çelikle çoğaltmada ise köklenme problemi yaşanmaktadır. Dolayısı ile ahududunun çoğaltılmasında sınırlı sayıda üretim teknikleri kullanılabilmektedir. Birçok türde olduğu gibi ahududu da doku kültürü yöntemiyle sağlıklı bir şekilde çoğaltılabilir (Onur, 1996).

Doku kültürü ile çoğaltım yöntemi, tüm dünyada ve özellikle gelişmiş ülkelerde ticari anlamda yoğun olarak kullanılmaktadır. Bahçe bitkilerinde bazı meyve türlerinin, klon anaçların büyük bir kısmının ve ekonomik değeri yüksek süs bitkilerinin ve ayrıca virüsten arındırılmış çeşitlerin kitlesel olarak çoğaltılmasında kullanılan önemli bir çoğaltma yöntemidir. Doku kültürü yöntemi, ahududuların klonal mikroçoğaltımında, hastalık ve zararlılardan arı bitki üretiminde ve tek tip yüksek kaliteli bitkilerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılabilmektedir. Ahududuların mikroçoğaltımında kullanılan bitki büyümeyi düzenleyicilerin her biri farklı etkiler yapmaktadır. Özellikle sürgün oluşumu için kullanılan sitokin grubu bileşikler ahududunun kardeşlenerek çoğaltılmasında etkili olmaktadır. Fakat kardeşlenme sırasında homojen bir sürgün gelişimi mümkün olamayabilmektedir. Ahududuların mikroçoğaltımında kardeşlenen her bir sürgünün özellikle boğum sayılarının birbirinden farklı olması elde edilecek yeni bitkilerin birbirinden farklı bir gelişim göstermesine neden olmaktadır. Bu durum aynı zamanda hayatta kalma oranını da olumsuz etkilemektedir. Bu yüzden ahududuların mikroçoğaltımında kullanılan bitki büyümeyi düzenleyicilerin sürgün gelişimi üzerindeki etkilerinin daha detaylı incelenmesi gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda sürgün çoğaltımı için bazı bitki büyümeyi düzenleyiciler kullanılmıştır. Bunlar BAP (veya BA) (6-benzilaminopurin) (Gök, 1997; Gonzalez et al., 2000; Zawadzka & Orlowska, 2009; Walender et al., 2014; Lebedev et al., 2018; Georgieva et al., 2020), TDZ (Thidiazuron) (Cousineau & Donnelly, 1991), Kinetin (Lebedev et al., 2018), Zeatin (Owens Y De Novoa & Conner, 1992), 2iP (6- {gamma, gamma-Dimethylallylamino} pürine) ve FeEDTA (ethylenediaminetetra-acetate ferric) (Snir, 1981)’dir. Yapılan araştırmalarda daha çok ahududunun çoğaltma katsayısının artırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Fidancı & Erenoğlu (2006), bazı böğürtlen ve ahududu çeşitlerinin (Heritage ve Tulameen) *in vitro* çoğaltılmasında MS ortamına 1 mg l⁻¹ BAP, 100 mg l⁻¹ myo-inositol, 0.4 mg l⁻¹ thiamine HCL ve 0.5 mg l⁻¹ GA₃ ilave ederek bir araştırma yapmıştır. Araştırmada çoğaltma katsayısının belirlenmesinde BAP’ın etkileri incelenmiş olup GA₃’ün etkisine bakılmamıştır. Bu doğrultuda yapılan literatür araştırmasında, giberellik asit (GA₃)’in ahududuların doku kültürü ile çoğaltılması üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmaların yetersiz olduğu belirlenmiştir.

Bitki büyümeyi düzenleyici madde olan giberellinler, büyük bir bileşik sınıfını içerir ve keşfedilmelerinin kronolojik sırasına göre numaralandırılarak GA₁, GA₂, GA₃, ... GA₅₀ ... olarak

kısıtlanmışlardır. Bunların hepsi tetrasiklik diterpenoid asitlerdir. Ancak bunlardan yalnızca GA₁, GA₂, GA₃ ve GA₇ biyolojik aktiviteye sahiptir. Giberellinler, cüce fidelerin boğum arası uzamasının uyarılmasında etkilidir. Bu etki, giberellinlerin hücre uzamasını artırıcı etkileri sonucunda ortaya çıktığı bilinmektedir. Giberellinlerin bitkilerin yaşam döngüsü boyunca farklı işlevleri de vardır. Bunlar; tohum çimlenmesini, polen gelişimini ve polen tüpü büyümesini, çiçeklenmeyi, meyve gelişimini arttırmasıdır. Giberellinler içerisinde doğada en yaygın bulunan ve ayrıca ticari olarak da sağlanabilen GA₃ (giberellik asit)'tür (Taiz et al., 2015). Çalışmada, özellikle ahududu bitkisinin *in vitro* çoğaltılmasında karşılaşılan, bitkinin cüce kalması, yeni oluşan sürgünlerin ayrılmasında yaşanan problemler gibi sorunları ortadan kaldırabilmek ya da azaltabilmek, bu doğrultuda bitkiyi boyuna uzatarak mikroçoğaltım için kullanılacak eksplantların homojen olarak alınmasını sağlayabilmek ve homojen bir gelişim sağlayabilmek amacıyla *in vitro* şartlarda giberellik asitin (GA₃) ahududu (*Rubus idaeus* L. cv. Ruby) bitkisinin gelişimine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışma için bitki materyali olarak ahududu (*Rubus idaeus* L.) bitkisinin Ruby çeşidi kullanılmıştır. Bitki materyali, Yozgat Bozok Üniversitesi Gedikhasanlı Bilal Şahin Tarımsal Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki 7 yaşındaki ahududu parselinden alınmıştır. Eksplant kaynağı olarak 1 yıllık (vejetatif) sürgünlerin boğumları kullanılmıştır.

Yüzey dezenfeksiyonu

Eksplantlar akan çeşme suyu altında yıkanmış sonrasında su dolu beher içerisine 1-2 damla tween-20 ilave edildikten sonra 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Daha sonra akan çeşme suyu altında durulanmıştır. Durulama işlemi sonrası eksplantlar 45 dakika saf su içinde bekletilmiştir. Yüzey dezenfeksiyonuna %70'lik etil alkol ve %20'lik ticari çamaşır suyu çözeltisi ile devam edilmiştir. Sırasıyla etil alkolde 2 dakika, çamaşır suyunda 15 dk bekletilmiş ve steril saf su ile üç kez 5'er dakika durulanarak dezenfeksiyon işlemi tamamlanmıştır.

Kültür ortamı

Walender et al. (2014), Lebedev et al. (2018) ve Yanxia et al. (2018)'nin *in vitro* çoğaltımında yapmış oldukları çalışmaları dikkate alınarak klonal çoğaltım yapılmıştır. Çalışmada, 0.1 mg l⁻¹ BAP (6-Benzilaminopurine) ve 0.5 mg l⁻¹ Kinetin (Kin) bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) ile desteklenmiş MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamı kullanılmıştır. 30 g l⁻¹ sukroz içeren MS besin ortamının pH'sı 5.8'e ayarlanmış ve 6.5 g l⁻¹ agar (Lebedev et al., 2018) ilave edildikten sonra 121°C'de ve 1.2 atmosfer basınç altında 20 dakika süre ile steril edilmiştir.

Eksplantların kültür ortamına aktarılması ve kültür şartları

Yüzey dezenfeksiyonu yapılmış eksplantlar besin ortamının olduğu tüplere aktarılmıştır. Kültüre alınan eksplantlar %60 nem içeren, 24±2°C sıcaklıkta, beyaz floresan ışığı (35 µmol m⁻² s⁻¹) altında 16/8 saat (aydınlık/karanlık) fotoperiyotta inkübe edilmiştir.

In vitro sürgün çoğaltımı (mikroçoğaltım) için MS, sukroz, agar, 0.1 mg l⁻¹ BAP ve 0.5 mg l⁻¹ Kin içeren besin ortamı kullanılmıştır. Mikroçoğaltım için bitkiler 15 günde bir taze ortama alınmış, ve 30 günde bir de alt kültürleme işlemi uygulanmıştır. Yeterli sayıda sürgün elde edildikten sonra 2-3 yapraklı mikror bitkiler, GA₃'ün farklı dozları (0, 0.25, 0.5, 1.0 mg l⁻¹), 6-Benzilaminopurine (BAP) (0.1 mg l⁻¹)+Kinetin (0.5 mg l⁻¹) içeren ve içermeyen MS (Murashige & Skoog, 1962) besin ortamlarına aktarılmış ve deneme kurulmuştur (Çizelge 1). 3 hafta sonra bitkiler aynı ortamlarında alt kültüre alınmıştır. Alt kültüre alındıktan 3 hafta sonra ise bitkilerin ölçümleri yapılmıştır.

Çizelge 1. Çalışmada uygulanan bitki büyüme düzenleyicilerin dozları**Table 1.** Doses of plant growth regulators applied in the study

Uygulamalar	Dozlar (mg l ⁻¹)			
	BAP + Kin	GA ₃		
	0.1 + 0.5	0.25	0.5	1.0
0	-	-	-	-
1	+	-	-	-
2	+	+	-	-
3	+	-	+	-
4	+	-	-	+
5	-	+	-	-
6	-	-	+	-
7	-	-	-	+

Ölçümler ile ilgili yöntemler:

Taze ağırlık: Besin ortamından arındırıldıktan hemen sonra hassas terazi ile gram olarak ölçülmüştür.

Kuru ağırlık: Bitkiler oda koşullarında kurutularak hassas terazi ile gram olarak ölçülmüştür.

Sürgün boyu: En uzun sürgünün gövdesinin en alt noktasından en üst yaprağın uç noktasına kadar cetvel yardımı ile cm olarak ölçülmüştür.

Sürgün sayısı: Bitki başına oluşan sürgün sayısı belirlenmiştir.

Toplam yaprak sayısı: Bitki başına tüm yapraklar sayılarak adet olarak belirlenmiştir.

Boğum sayısı: En uzun sürgünün boğum sayısı belirlenmiştir.

Boğum arası uzunluk: En uzun sürgünün, en uzun olan 2 bölgesi seçilerek mm olarak ölçülmüştür.

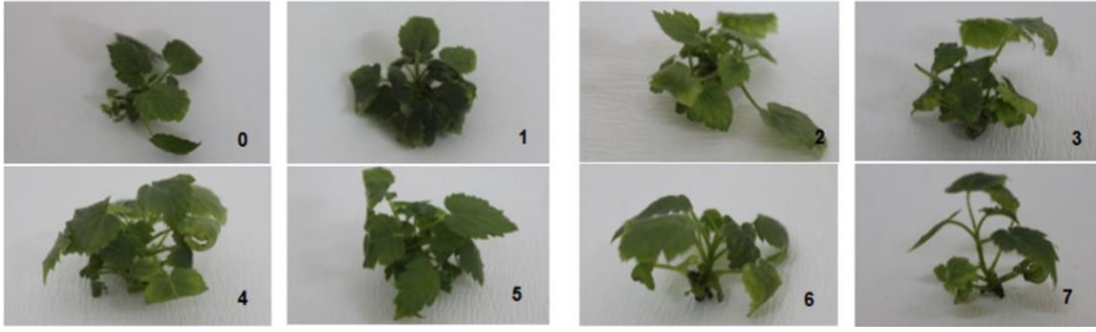
Antosiyanin içeriği: Bitki başına 2 yaprak seçilerek antosiyanin ölçüm cihazıyla (Opti Science ACM–200 Plus Anthocyanin Meter) ölçüm yapılmıştır.

Klorofil içeriği: Bitki başına 2 yaprak seçilerek klorofil ölçüm cihazıyla (Konica Minolta SPAD–502 Plus Chlorophyll Meter) ölçüm yapılmıştır.

Çalışma tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Deneme 3 tekerrürlü, her tekerrürde 5 bitki olacak şekilde kurulmuştur. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi IBM SPSS 20.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve veriler arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI ve TARTIŞMA

0.1 mg l⁻¹ BAP, 0.5 mg l⁻¹ Kin ve GA₃'ün farklı (0.25, 0.5, 1.0 mg l⁻¹) konsantrasyonlarının kullanılarak kombine edildiği çalışmamızda *in vitro* ahududu bitkilerinin (Şekil 1) sürgün boyu (cm), sürgün sayısı (adet), toplam yaprak sayısı (adet), boğum sayısı (adet), boğum arası uzunluğu (mm), bitki taze ağırlığı (g), bitki kuru ağırlığı (g), yaprakların antosiyanin (ACI) ve klorofil (SPAD) içerikleri belirlenmiştir. İncelenen tüm parametrelerde GA₃'ün etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.



Şekil 1. Uygulama yapılan ahududu bitkilerinin deneme kurulduktan 6 hafta sonraki genel görüntüsü.

Figure 1. General appearance of the treated raspberry plants 6 weeks after the experiment was established.

Araştırmada, uygulamaların sürgün boyuna etkileri incelendiğinde 7. uygulama olan 1.0 mg l⁻¹ GA₃ uygulaması (3.93 cm), istatistiki olarak en iyi sonucu vermiştir. Sürgün sayısına etkileri incelendiğinde 3. (3.33 adet) ve 4. (3 adet) uygulamalar öne çıkmıştır. En fazla yaprak sayısı 3. ve 2. uygulamada (sırasıyla 19.00 ve 18.67 adet) belirlenmiştir. Tek başına GA₃ uygulamasının (6. ve 7. uygulama: 9.33, 8.67 adet) yaprak sayısına olumsuz etki yaptığı gözlenmiştir. En fazla boğum sayısının 3.67 adet ile 6. ve 7. uygulamalar olduğu tespit edilmiştir. En uzun boğum arası 7. uygulamada (2.44 mm) belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. GA₃'ün ahududunun bazı vejetatif büyüme parametreleri üzerine etkisi

Table 2. Effect of GA₃ on some vegetative growth parameters of raspberry

Uyg.	Sürgün Boyu (cm)	Sürgün Sayısı (adet)	Yaprak Sayısı (adet)	Boğum Sayısı (adet)	Boğum Arası Uzunluğu (mm)
0	2.96±0.5 ^{bc}	2.33±0.6 ^{ab}	11.33±2.9 ^{bc}	2.00±0.0 ^{bc}	1.93±0.6 ^{ab}
1	2.79±0.2 ^{bc}	2.67±0.6 ^{ab}	16.33±3.1 ^{ab}	1.67±0.6 ^c	1.86±0.5 ^{abc}
2	2.69±0.1 ^c	2.33±0.6 ^{ab}	18.67±3.2 ^a	2.33±0.6 ^{bc}	1.93±0.2 ^{ab}
3	2.98±0.3 ^{bc}	3.33±0.6 ^a	19.00±1.7 ^a	2.33±0.6 ^{bc}	1.08±0.2 ^c
4	3.03±0.4 ^{bc}	3.00±1.0 ^a	15.67±4.5 ^{ab}	2.33±0.6 ^{bc}	1.59±0.4 ^{bc}
5	3.42±0.2 ^{ab}	1.67±0.6 ^{bc}	11.67±3.1 ^{bc}	3.00±0.0 ^{ab}	1.25±0.4 ^{bc}
6	2.96±0.1 ^{bc}	1.00±0.0 ^c	9.33±1.2 ^c	3.67±0.6 ^a	1.56±0.4 ^{bc}
7	3.93±0.5 ^a	1.00±0.0 ^c	8.67±1.5 ^c	3.67±1.2 ^a	2.44±0.6 ^a
p	*0.008	*0.001	*0.001	*0.007	*0.027

Uygulamalar: 0: Kontrol; 1: BAP+Kin; 2: BAP+Kin+0.25 GA₃; 3: BAP+Kin+0.50 GA₃; 4: BAP+Kin+1.00 GA₃; 5: 0.25 GA₃; 6: 0.50 GA₃; 7: 1.00 GA₃ (* ≤0,001önemli).

Denemede elde edilen taze ağırlık verilerine göre 1. ve 2. uygulamaların (sırasıyla 0.191 ve 0.194 g) belirgin şekilde önde olduğu görülmüştür. Kuru ağırlık değerlerinin ise, 1. ve 3. uygulamalarda (sırasıyla 0.043 ve 0.042 g) önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. GA₃'ün tek başına uygulanmasının taze ve kuru ağırlık üzerine negatif etkisi olduğu görülmektedir. Besin ortamında BAP+Kin olması taze ve kuru ağırlığı arttırmış fakat aynı ortamda (BAP+Kin) GA₃'ün dozunun artması ile taze ağırlık azalmıştır (2, 3 ve 4. uygulamalar). Antosiyanin içeriği incelendiğinde, kontrol (4.35 ACI) ve 7. uygulamanın (4.22 ACI) istatistiki önemde en yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür. Klorofil içeriği verilerine göre kontrol (37.29 SPAD) ve GA₃'ün tek başına uygulandığı 6. ve 7. uygulamaların (36.84 ve 38.68 SPAD) en yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

In vitro çoğaltımda besin ortamına GA₃'ün ilave edilmesinin, bitkinin sürgün uzamasını önemli ölçüde arttırdığı, sürgün çoğalma oranını ise azalttığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Bobrowski et al., 1996; Emmanuel et al., 2000; Paudyal & Haq, 2000; Martinussen et al., 2004; Kefayeti et al., 2019). GA₃

uygulamalarının 'Chester Thornless' çeşidi böğürtlenin çoğalma hızı üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada, BAP ve IBA kombinasyonlarının farklı konsantrasyonlarına GA₃ eklenmesinin çoğalma oranını olumsuz etkilediği bildirilmiştir (Kefayeti et al., 2019). Benzer şekilde cloudberry (*Rubus chamaemorus*) türünün *in vitro* çoğaltımında, BAP bulunan besin ortamı içine GA₃ eklenmesinin sürgün sayısını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Martinussen et al., 2004). Bu çalışmamızdan elde edilen veriler mevcut literatürlerle uyumludur. Hepaksoy (2017), BAP, NAA (naftalin asetik asit) ve GA₃ ile kombinasyon yaptığı çalışmada, BBD bulunmayan kontrol bitkisinde kardeşlenme sayısını 1.27 adet olarak bildirirken, BAP ile NAA kombinasyonlarında 1.25 ile 1.52 adet arasında kardeşlenme belirlemiştir. Aynı kombinasyonlara 0.1 mg l⁻¹ GA₃ eklenmesiyle kardeşlenme sayısının 1.71 ile 2.53 arasında değiştiğini bildirmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada ise BAP ve Kin ile GA₃'ün kombine edildiği 3. ve 4. uygulamalarda (3.33; 3.00 adet) en fazla sürgün oluşumunun olduğu görülmektedir. Bu durumda, GA₃'ün diğer bitki büyümeyi düzenleyici maddeler ile sinerjik etki yaparak çoğalma oranını arttırdığı düşünülmektedir.

Çizelge 3. GA₃'ün ahududunun bazı vejetatif büyüme parametreleri üzerine etkisi

Table 3. Effect of GA₃ on some vegetative growth parameters of raspberry

Uyg.	Taze ağırlık (g)	Kuru ağırlık (g)	Antosiyanin (ACI)	Klorofil (SPAD)
0	0.125±0.01 ^c	0.029±0.002 ^{cd}	4.35±1.0 ^a	37.29±0.9 ^a
1	0.191±0.03 ^a	0.043±0.002 ^a	3.39±0.4 ^{abc}	31.92±3.0 ^{bc}
2	0.194±0.03 ^a	0.040±0.002 ^{ab}	2.91±0.2 ^c	29.47±1.0 ^c
3	0.180±0.01 ^{ab}	0.042±0.002 ^a	2.81±0.3 ^c	29.09±2.2 ^c
4	0.143±0.02 ^{bc}	0.034±0.005 ^{bc}	3.15±0.7 ^{bc}	30.19±2.1 ^c
5	0.129±0.02 ^c	0.029±0.006 ^{cd}	3.97±0.3 ^{ab}	34.54±2.3 ^{ab}
6	0.097±0.04 ^c	0.025±0.005 ^d	3.93±0.5 ^{ab}	36.84±4.0 ^a
7	0.105±0.03 ^c	0.026±0.004 ^d	4.22±0.5 ^a	38.68±1.3 ^a
p	*0.001	*0.0	*0.01	*0.0

Uygulamalar: 0: Kontrol; 1: BAP+Kin; 2: BAP+Kin+0.25 GA₃; 3: BAP+Kin+0.50 GA₃; 4: BAP+Kin+1.00 GA₃; 5: 0.25 GA₃; 6: 0.50 GA₃; 7: 1.00 GA₃ (* ≤0,001önemli).

Ahududu ile ilgili yapılan *in vitro* çalışmalarda daha çok mikroçoğaltım için sürgün sayısının artırılması ve elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi amaçlanmıştır (Snir, 1981; Gonzalez et al., 2000; Zawadzka & Orlikowska, 2009; Walender et al., 2014; Hunková et al., 2016; Lebedev et al., 2018; Yanxia et al., 2018). Çalışmamızda, mikroçoğaltım için kullanılan 0.1 mg l⁻¹ BAP ve 0.5 mg l⁻¹ Kin sürgün sayısını arttırmıştır. Sayısal olarak en fazla sürgün sayısına sahip olan uygulama 0.1 mg l⁻¹ BAP, 0.5 mg l⁻¹ Kin ve 0.5 mg l⁻¹ GA₃ içeren 3. uygulama olmuştur. Najaf-Abadi & Hamidoghli (2009), böğürtlenin *in vitro* çoğaltılmasında BA (0, 2 ve 3 mg l⁻¹) ile desteklenmiş, tek başına veya GA₃ (0, 0.2, 0.5 ve 1 mg l⁻¹) ile kombinasyon halinde MS içeren 12 kültür ortamını karşılaştırmış ve çalışmamıza benzer bir sonuç ile en fazla sürgün sayısının 2 mg l⁻¹ BA ve 0.5 mg l⁻¹ GA₃ içeren ortamdan elde edildiğini bildirmiştir. Fakat çalışmamızda, oluşan yeni sürgünler küçük kalmış, en uzun hakim sürgün dışında oluşan bu küçük sürgünlerin uzunlukları 10 mm'nin altında kaldığı belirlenmiştir.

Yapılan bir çalışmada, farklı besin ortamlarının tatlı patates genotipleri üzerine etkileri araştırılmış ve en yüksek boğum sayısının GA₃ içeren besin ortamında elde edildiği bildirilmiştir (Karan & Özdemir, 2021). Yapmış olduğumuz çalışmada benzer bir sonuç elde edilmiş ve boğum sayısının en fazla olduğu uygulamanın GA₃ dozlarının uygulandığı 6. ve 7. uygulamalar olduğu belirlenmiştir (Çizelge 2).

Çalışmamızda antosiyanin ve klorofil ölçümleri incelendiğinde, herhangi bir BBD'nin bulunmadığı kontrol bitkilerinde ve GA₃'ün besin ortamında tek başına bulunduğu uygulamalarda antosiyanin (7. uygulama) ve klorofil (6. ve 7. uygulama) oranlarının arttığı görülmektedir (Çizelge 3). Antosiyaninler, üzüm sürgünlerinin önemli fenolik bileşiklerindendir (Sariburun, 2009). Sekonder metabolit üretimi için günümüzde kullanılan birçok *in vitro* yöntem bulunmaktadır. Bitki büyümeyi düzenleyici tiplerinin ve

dozlarının sekonder metabolit üretiminde oldukça karmaşık bir role sahip olduğu bilinmektedir (Yağcı vd., 2008). Yapılan bazı çalışmalarda GA₃'ün birçok hücre kültüründe antosiyanin üretimini inhibe ettiği ifade edilmiştir (Yağcı vd., 2008; Ali et al., 2015). Fakat çalışmamızda BAP+Kin ve GA₃'ün dozlarını içeren ortamlarda antosiyanin içeriği en düşük belirlenirken sadece GA₃'ün bulunduğu ortamlarda antosiyanin içeriği artmıştır.

Klorofil değerleri incelendiğinde, ortamda herhangi bir BBD'nin bulunmadığı 0. uygulama ile sadece GA₃'ün bulunduğu 6. ve 7. uygulamanın istatistiki olarak aynı olması, ortamda BAP+Kin bulunan uygulamaların (1, 2, 3 ve 4. uygulamalar) ise en düşük değerlere sahip olması, ortamda BAP+Kin bulunmasının klorofil içeriğini olumsuz etkilediğini düşündürmektedir. Karataş vd. (2016), yaptıkları çalışmada latin çiçeğine uyguladıkları GA₃'ün yapraklarda klorofil içeriğini arttırdığını rapor etmişlerdir.

SONUÇ

Çalışmada, GA₃'ün BAP+Kin ile kombine edildiği ortamlar, yeni sürgün oluşumunu teşvik etmiş fakat hakim sürgünün dışındaki diğer sürgünler küçük boyutlu kalmıştır. Çalışmalarımızda karşılaştığımız, farklı çalışmalarda da karşılaşılan *in vitro* bitkilerin cüce kalması (Türközü vd., 2014), klonal çoğaltım için sürgünlerin ayrılmasında yaşanan problemler ve elde edilen yeni sürgünlerin farklı boylarda olmasından kaynaklı homojen gelişmemesi gibi sorunları aşmak ve ileride yapacağımız çalışmalarda kullanılmak üzere tek tip bitki elde edilebilmek amacıyla çalışmamızda en önemli bulduğumuz uygulama 1.0 mg l⁻¹ GA₃ içeren 7. uygulama olmuştur. Çalışmanın amacına uygun olan 1.0 mg l⁻¹ GA₃ uygulamasında, yeni sürgün oluşmasa bile, bitki boyuna uzayıp yeni boğumlar oluşturmuş ve bu boğumlar mikroçoğaltımda eksplant kaynağı olarak kullanımını kolaylaştırmıştır.

Sonuç olarak, *in vitro* koşullarda ahududu (*R. idaeus* L. cv. Ruby) bitkisine uygulanan GA₃'ün tek başına besin ortamına ilavesi ile sürgün boyunun uzamasında, diğer bitki büyümeyi düzenleyiciler (BAP+Kin) ile birlikte besin ortamına ilavesinde ise sürgün sayısını arttırmasında etkili olduğu belirlenmiştir. Yinede ileride yapılacak çalışmalarda farklı BBD veya GA₃'ün kombine edildiği ortamlar kullanılarak bitki gelişimine etkilerinin belirlenmesi gerekmektedir. Aynı zamanda *in vitro*'da denenen bitki büyüme düzenleyicilerinin sonraki *in vivo* aklimatizasyon ve gelişim aşamasındaki etkilerinin de araştırılması önem taşımaktadır.

Veri Kullanılabilirliği

Veriler makul talep üzerine sağlanabilmektedir.

Yazar Katkıları

Çalışmanın konsepti ve tasarımı: SÖ, CY, GB; örnek toplama: SÖ, GB; verilerin analizi ve yorumlanması: SÖ, CY; istatistiksel analiz: SÖ; görselleştirme: SÖ, GB, CY; makalenin yazımı: SÖ, GB, CY.

Çıkar Çatışması

Bu çalışmada yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Etik Beyan

Bu araştırma için etik kurula ihtiyaç olmadığını beyan ederiz.

Finansal Destek

Bu çalışma Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından finansal olarak desteklenmiştir (BAP, Proje No; FDK-2023-1177). Finansal destek için Yozgat Bozok Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi (BAP) birimine teşekkür ederiz.

Makale Açıklaması

Bu makale Konu Editörü Dr. Emrah ZEYBEKOĞLU tarafından düzenlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Ali, M., B.H. Abbasi & G.S. Ali, 2015. Elicitation of antioxidant secondary metabolites with jasmonates and gibberellic acid in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 120 (3): 1099-1106. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0666-2>.
- Bobrowski, V. L., P. Mello-Farias & J. Petters, 1996. Micropropagation of blackberries (*Rubus* sp.) cultivars. Current Agricultural Science and Technology, 2 (1): 17-20.
- Cousineau, J.C. & D.J. Donnelly, 1991. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of tissue cultured and greenhouse-grown raspberry. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 27: 249-255. <https://doi.org/10.1007/BF00157588>.
- Emmanuel, S., S. Ignacimuthu & K. Kathiravan, 2000. Micropropagation of *Wedelia calendulacea* Less., a medicinal plant. Phytomorphology, 50 (2): 195-200.
- Fidancı, A. & B. Erenoğlu, 2006. "Bazı böğürtlen ve ahududu çeşitlerinin *in vitro*'da üretilmesi, 254-257". II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu (14-16 Eylül 2006, Tokat) Bildirileri, Nobel Yayın Dağıtım No: 1144, 385 s.
- Georgieva, M., V. Kondakova & S. Yancheva, 2020. A comparative study on raspberry cultivars in micropropagation. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 26 (3): 527-532.
- Gonzalez, M.V., M. Lopez, A.E. Valdes & R.J. Ordas, 2000. Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants. Association of Applied Biologists, 137: 73-78. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00059.x>.
- Gök, Ş., 1997. Bazı Ahududu Çeşitlerinin Meristem Kültürü Yöntemi ile Çoğaltılması ve Köklendirilmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 64 s.
- Hepaksoy, S., 2017. GF 677 (*P. amygdalus* x *P. persica*) klon anacının doku kültüründe sürgünucu tekniği ile çoğaltılması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 54 (4): 447-451. <https://doi.org/10.20289/zfdergi.386559>.
- Hunkova, J., G. Libiakova & A. Gajdošová, 2016. Shoot proliferation ability of selected cultivars of *Rubus* spp. as influenced by genotype and cytokinin concentration. Journal of Central European Agriculture, 17 (2): 379-390. <https://doi.org/10.5513/icea.v17i2.4282>.
- Karan, Y. B. & Ş. Özdemir, 2021. The effect of different media on in vitro micropropagation in sweet potatoes. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 9 (9): 1647-1652. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v9i9.1647-1652.4645>
- Karataş, İ., L. Öztürk & Y. Okatan, 2016. Karanlıkla teşvik edilen yaprak senesensi sürecinde gibberellik asit ve 6-benzilaminopürinin bazı biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University (JAFAG), 33 (1): 17-24. <https://doi.org/10.13002/jafag911>
- Kefayeti, N., E. Kafkas & S. Ercişli, 2019. Micropropagation of 'Chester thornless' blackberry cultivar using axillary bud explants. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 47 (1): 162-168. <https://doi.org/10.15835/nbha47111280>.
- Lebedev, V., M. Arkaev, M. Dremova, I. Pozdniakov & K. Shestibratov, 2018. Effects of growth regulators and gelling agents on ex vitro rooting of raspberry. Plants, 8 (3): 1-10. <https://doi.org/10.3390/plants8010003>.
- Martinussen, I., G. Nilsen, L. Svenson, O. Junttila & K. Rapp, 2004. *In vitro* propagation of cloudberry (*Rubus chamaemorus*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 78: 43-49. <https://doi.org/10.1023/B:TICU.0000020392.85854.28>.
- Murashige, T. & F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with Tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473-492. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Najaf-Abadi, A. J. & Hamidoghli, Y. 2009. Micropropagation of thornless trailing blackberry ('*Rubus* sp.') by axillary bud explants. Australian Journal of Crop Science, 3 (4): 191-194. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.037509152756777>.
- Onur, C., 1996. Ahududu Yetiştiriciliği. Antalya: Damla Ofset, 100 s.
- Owens Y De Novoa, C. & A.J. Conner, 1992. Comparison of in vitro shoot regeneration protocols from rubus leaf explants. NZJ Crop Hort. Sci., 20: 471-476. <https://doi.org/10.1080/01140671.1992.10418068>.
- Paudyal, K. P. & N. Haq, 2000. *In vitro* propagation of pummelo (*Citrus grandis* L. Osbeck). In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 36: 511-516. <https://doi.org/10.1007/s11627-000-0091-6>.

- Pehlivan, M. & M. Güleriyüz, 2004. Ahududu ve böğürtlenlerin insan sağlığı açısından önemi. Bahçe 33 (1-2): 51-57.
- Sarıburun, E. 2009. Bursa'da Yetiştirilen Bazı Ahududu (*Rubus idaeus* L.) ve Böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.) Çeşitlerinin Fenolik Bileşiklerinin Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi (LC-MS) ile İncelenmesi ve Antioksidan Aktivite Tayinleri. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı, (Basılmamış) Yüksek Lisans Tezi, Bursa, 157 s.
- Snir, I., 1981. Micropropagation of red raspberry. Scientia Horticulturae, 14: 139-143. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(81\)90005-4](https://doi.org/10.1016/0304-4238(81)90005-4).
- Taiz, L., E. Zeiger, I.M. Møller & A. Murphy, 2015. Plant Physiology and Development (6th Edition). Sinauer Associates Incorporated, Massachusetts, USA, 761 s.
- Türküzü, D., F. Yaşar, Ş. Ellialtıoğlu & B. Yıldırım, 2014. Tarhun (*Artemisia dracuncululus* L.) bitkisinin doku kültürü yoluyla çoğaltılması üzerinde çalışmalar. Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences, 24 (3): 300-308.
- Walender, M., J. Persson, H. Asp & L.H. Zhu, 2014. Evaluation of a new vessel system based on temporary immersion system for micropropagation. Scientia Horticulturae, 179: 227-232. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.09.035>.
- Yağcı, C., M.C. Toker & G. Toker 2008. Bitki doku kültürü yoluyla üretilen flavonoidler. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, (1): 47-58.
- Yanxia, L., L. Zhongling, L. Jianming & L. Guijun, 2018. Establishment of tissue culture and propagation system for raspberry (*Rubus idaeus*) cultivar 'Polana'. Forest Engineering, 34 (2): 26-29.
- Zawadzka, M. & T. Orlikowska, 2009. Influence of FeEDDHA on *in vitro* rooting and acclimatisation of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) in peat and vermiculite. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 84 (6): 599-603. <https://doi.org/10.1080/14620316.2009.11512572>.