

BAZI TURUNÇGİL ANAÇLARININ DOKU KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTILMASI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR*

Bilge KAYA

Hamide GÜBBÜK

Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya

Özet

Bu çalışmada Troyer sitranjı, Carrizo sitranjı ve Turunç anaçlarının *in vitro* çoğaltım olanakları araştırılmıştır. Bu amaçla yürütülen çalışmalarda, değişik eksplant tipleri ve hormon konsantrasyonlarının çoğalma ve köklenme üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırma sonuçları, Troyer ve Carrizo sitranjı anaçları için büyüme ve gelişme aşamasında 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA ve 1 mg/l GA₃ ilavesi, Turunçta ise 1 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA ilavesinin sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu verdiğini göstermiştir. Çoğaltma aşamasında denenen besi ortamlarından 2 mg/l BAP'ın 1 mg/l NAA ile birlikte kullanımı BAP'ın tek başına kullanımlarına göre sürgün sayısı bakımından daha başarılı bulunmuştur. Köklendirme aşamasında ise IBA'nın NAA ile birlikte kullanımı, IBA'nın tek başına kullanımlarına göre özellikle kök sayısı bakımından daha iyi sonuç vermiştir. Araştırma sonucunda, Troyer ve Carrizo sitranjı anaçlarının doku kültürü ile başarıyla çoğaltılabileceği, Turunç anaçının ise köklendirme aşamasında tatminkar sonuç vermediği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Turunçgil, Anaç, Ortam, Çoğaltma, Köklendirme.

Investigations on the Propagation of Some Citrus Rootstocks by Tissue Culture

Abstract

In this research the propagation of Troyer citrange, Carrizo citrange and Sour orange rootstocks in tissue culture were investigated. During the studies, the effect on propagation and rooting of different type of explants and hormon concentrations were investigated. In terms of shoot number, the results of the research for the rootstocks of Troyer citrange, Carrizo citrange, the addition of 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA and 1 mg/l GA₃; for Sour orange rootstocks, the additions of 1 mg/l BAP and 1 mg/l NAA gave the best results, in the growth and development stage. In the propagation stage, according to the number of shootings using of 2 mg/l BAP with 1 mg/l NAA concentration was found to be more successful than the BAP concentration used alone in tested culture medium. In the rooting stage, using of IBA with NAA gave better results than using IBA concentration alone, especially for the number of roots. Results showed that Troyer and Carrizo citrange rootstocks can be propagated by *in vitro*, but in rooting stage Sour orange rootstock didn't give satisfactory results.

Keywords: Citrus, rootstock, media, propagation, rooting

1. Giriş

Turunçgiller meyve türleri arasında üretim ve ticaret hacmi bakımından dünyada 1. sırada yer almaktadır. Ülkemizde de iç ve dış satım açısından önemli yer tutan turunçgillerin üretimi, son yıllarda zaman zaman dalgalanmalar göstermekle beraber, giderek artan bir seyir izlemiştir. Nitekim 1970 yılında 655.700 ton olan üretimimiz, 1999 yılında 1.668.000 tona ulaşmıştır (Anonymous, 1999). Bu üretimin yaklaşık %88'i Akdeniz Bölgesi, %11.5'i Ege Bölgesi ve geriye kalan %0.5 ise diğer bölgelerimizden (özellikle Doğu Karadeniz Bölgesinden) karşılanmaktadır (Anonim,

1996).

Turunçgillerde, geleneksel yolla çöğür yetiştiriciliği için en az iki yıllık bir süreye gereksinim duyulmaktadır. Ayrıca arazi koşullarında zaman zaman karşılaşılan sorunlar, ekilen tohumlardan homojen bitki eldesini güçleştirmektedir. Oysa ki anaçların çoğaltılmasında doku kültürü tekniklerinin kullanımı, hem süreyi kısaltmakta, hem de çok kısa bir zaman sürecinde homojen bitki materyali eldesine olanak sağlamaktadır. Geleneksel çöğür yetiştiriciliğinde, tohumlar yılın belli dönemlerinde ekilmekte ve ayrıca çok fazla sayıda çöğüre gereksinim

* Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunca desteklenmiş olup, yüksek lisans tezinin bir bölümüdür.

duyulduğu zaman daha geniş araziye ihtiyaç duyulmaktadır (Özcan ve Ulubelde, 1984). Anaçların çoğaltılmasında doku kültürü tekniklerinin kullanımı ise, bir tohumdan bir yıl içerisinde çok fazla sayıda çöğür eldesini mümkün kılabilir (Harada ve Murai, 1996).

Turunçgillerin doku kültürü ile çoğaltılmasında eksplant olarak nüseller çöğürlerden gelişen yaprak, epikotil, petiol, plumula, kotiledon ve kök parçaları kullanılabilir (Leng ve He, 1988; Gill ve ark., 1995). Besi ortamı olarak ise genellikle Murashige&Skoog (1962) ve Murashige& Tucker (1969) besi ortamları, karbon kaynağı olarak sukroz (%2-3) ve katılaştırıcı olarak ise agar (%0.7-0.8) kullanılmaktadır (Moore, 1986; Beloualy, 1990; Maggon ve Singh, 1995). Besi ortamlarına, genellikle büyüme ve gelişme aşamasında hormon ilave edilmemiş, çoğaltma aşamasında sitokinin olarak benzil aminopürin (BAP), köklendirme aşamasında ise oksinlerden indol bütirik asit (IBA) ve naftalen asetik asit (NAA) ilave edilmiştir (Edriss ve Burger, 1984; Moore, 1986; Beloualy, 1990).

Turunçgillerde doku kültürü tekniklerinden, kallus kültürü aracılığıyla somaklonal varyant bitkilerin, sürgün ucu kültürüyle hastalık ve özellikle virüslerden arındırılmış bitkilerin, anter kültürüyle haploid bitkilerin, protoplast kültürü ve protoplast füzyonu aracılığıyla ise somatik hibridizasyon, *in vitro* seleksiyon ve direkt olarak gen transferi amaçlanmaktadır (Koç ve Can, 1992).

Bu çalışmada; ülkemiz ve bölgemiz için önem taşıyan bazı yeni turunçgil anaçlarının doku kültüründe hızla çoğaltılma olanakları araştırılmıştır. Çalışmada ayrıca *in vitro* da değişik anaçların büyüme ve gelişme, çoğaltma ve köklendirme aşamalarında kullanılacak en uygun besi ortamı kombinasyonları ve eksplant tipleri belirlenmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

Bu araştırma, 1999 ve 2001 yılları arasında Akdeniz Üniversitesi Ziraat

Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Araştırmada deneme materyali olarak, Turunç, Carrizo sitranjı ve Troyer sitranjı anaçlarına ait tohumlar kullanılmıştır.

Troyer sitranjı, Carrizo sitranjı ve Turunç anaçlarına ait tohumlar olgun meyvelerden çıkarıldıktan sonra musluk suyu altında iyice yıkanmış ve 45°C'deki sıcak suda 10 dakika bekletilmişlerdir. Tohumların sterilizasyonunda ticari sodyum hipoklorit kullanılmış ve tohumlar önce %70'lik alkolde 1 dakika ve %15'lik sodyum hipoklorit içeren çözeltide ise 20 dakika bekletilmişlerdir. Tohumlar en son olarak 3 defa steril saf sudan geçirildikten sonra iç ve dış kabukları uzaklaştırılmış ve uç kısmı aşağıya gelecek şekilde 30 g/l sukroz ve 8 g/l agar içeren 3 farklı besi ortamına transfer edilmişlerdir. Besi ortamları 121°C sıcaklık ve 1.2 kg/cm² basınç altında 20 dakika otoklav edilmiş ve kültürlerin büyüme ve gelişme aşamasında 20x100 mm'lik kültür tüpleri, çoğaltma aşamasında 5 cm çap ve 6.6 cm boyunda, köklendirme aşamasında ise 5 cm çap ve 9.85 cm boyunda otoklava dayanıklı cam kavonozlar kullanılmıştır. Büyüme ve gelişme aşamasında besi ortamlarından kültür tüplerine 8 ml, çoğaltma aşamasında kullanılan kavonozlara 30 ml, köklendirme aşamasında ise 40 ml konulmuştur. Besi ortamının birincisinde tohumlar direkt olarak MS ortamına, ikincisinde temel MS ortamına 1mg/l BAP ve 1 mg/l NAA, üçüncüsünde ise MS ortamına 1 mg/l BAP, 1mg/l NAA ve 1mg/l GA₃ ilave edilmiştir. Çoğaltma aşamasında eksplant olarak MS ortamında kültüre alınan tohumlardan gelişen bitkiciklerin epikotil (kotiledon ve ilk gerçek yaprak arasındaki kısım), yapraklı boğum ve tepe sürgünleri (gelişmesini tamamlamış yaprak ile 2 adet gelişmesini tamamlamamış yaprak) kullanılmıştır. Çoğaltma aşamasında farklı tipte eksplantlar yanında, BAP'ın değişik konsantrasyonları (0, 1, 2 ve 3 mg/l) ve aynı BAP konsantrasyonlarının 1 mg/l NAA ile olan kombinasyonları denenmiştir. Köklendirme aşamasında ise IBA'nın değişik konsantrasyonları (1, 2, 3 mg/l) ile 1 mg/l IBA'nın 1 ve 1.5 mg/l NAA ile olan

kombinasyonları denenmiştir (Edriss ve Burger, 1984; Gill ve ark., 1995). Araştırmada büyüme ve gelişme ile çoğaltma aşamalarında eksplant başına düşen sürgün sayısı; köklendirme aşamasında ise bitki boyu, kök sayısı, en uzun kök uzunluğu, ortalama kök uzunluğu değerleri, anaçlara ve besi ortamı kombinasyonlarına göre saptanmıştır. Kültürler her üç aşamada da 4 haftada bir alt kültüre alınmışlar ve 25 ± 2 °C sıcaklık, 3000 lux ışık şiddetinde 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık ortamda büyütülmüşlerdir.

Araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 yinelemeli ve her yinelemede büyüme ve gelişme aşamasında 10 tüp, çoğaltma aşamasında 5 kavonoz ve her kavonozda 3 eksplant ve köklendirme aşamasında ise 10 kavonoz ve her kavonozda 2 eksplant olacak şekilde planlanmış, ortalamalar %5 önem düzeyinde "LSD Testi" kullanılarak karşılaştırılmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Kültürlerin Büyüme ve Gelişme Aşamasına İlişkin Bulgular

Farklı hormon kombinasyonlarında Troyer sitranji, Carrizo sitranji ve Turunç anaçlarına ait tohumlardan gelişen sürgün sayıları Çizelge 1'de verilmiştir. Bu çizelgeden her üç anaçta da değişik hormon kombinasyonlarının gelişen sürgün sayısı üzerine etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir. Troyer sitranji anacında

tohumdan gelişen sürgün sayısı MS ortamında 1.72 adet ile en düşük, 3.81 adet ile 1mg/l BAP, 1mg/l NAA ve 1mg/l GA₃ içeren ortamda ise en yüksek olarak saptanmış ve bunu 3.73 adet ile 1 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren besi ortamı izlemiştir. Carrizo sitranji anacında, Troyer sitranji anacında olduğu gibi tohumdan gelişen sürgün sayısı, MS ortamında 1.47 adet, 1mg/l BAP ve 1 mg/l NAA içeren ortamda 2.33 adet ve 1mg/l BAP, 1mg/l NAA ve 1mg/l GA₃ içeren ortamda ise 4.06 adet ile en yüksek saptanmıştır. Turunç anacında ise tohumdan gelişen sürgün sayısı diğer iki anaç aksine 1mg/l BAP, 1mg/l NAA ve 1mg/l GA₃ içeren ortamda 1.50 adet ile en düşük, 1mg/l BAP ve 1mg/l NAA içeren ortamda ise 1.92 adet ile en yüksek olarak saptanmıştır. Araştırma bulgularımız, Troyer ve Carrizo anaçlarında denenen hormon kombinasyonlarından 1mg/l BAP, 1mg/l NAA ve 1mg/l GA₃ kombinasyonu; buna karşın Turunçta ise 1mg/l BAP ve 1mg/l NAA içeren hormon kombinasyonu sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu vermiştir. Turunç anacında, sürgün sayısı bakımından ortaya çıkan bu farklılık, türlerin nüseller embriyoniye eğilimlerinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Yapılan çalışmalarda, turunçgillerde tohumların büyüme ve gelişme aşamalarında genellikle MS

Çizelge 1. Değişik Hormon Kombinasyonlarında Troyer sitranji, Carrizo sitranji ve Turunç Anaçlarına Ait Tohumlardan Gelişen Sürgün Sayıları.

Türler	Hormon Konsantrasyonları (mg/l)	Sürgün Sayısı (adet)
Troyer sitranji	MS	1.72 b
	MS+1 BAP+1 NAA	3.73 a
	MS+1 BAP+1 NAA+1 GA ₃	3.81 a
Carrizo sitranji	MS	1.47 c
	MS+1 BAP+ NAA	2.33 b
	MS+1 BAP+1 NAA+1 GA ₃	4.06 a
Turunç	MS	1.83 ab
	MS+1 BAP+1 NAA	1.92 a
	MS+1 BAP+1 NAA+1 GA ₃	1.50 b

LSD_{0.5}(Troyer sitranji): 0.192; LSD_{0.5}(Carrizo sitranji): 0.212; LSD_{0.5}(Turunç): 0.322

ortamı kullanılmış, bizim çalışmamızda olduğu gibi oksin ve sitokin kullanımına rastlanmamıştır. Araştırma bulgularımız sonucu MS ortamında elde edilen bulgular, Edriss ve Burger (1984), Can ve ark. (1992)'nin bulguları ile uyum içerisinde bulunmuştur.

3.2. Çoğaltma Aşamasına İlişkin Araştırma Bulguları

Troyer sitranjı, Carrizo sitranjı ve Turunç anaçlarında, değişik BAP konsantrasyonları ve farklı eksplant tiplerinde saptanan ortalama sürgün sayıları Çizelge 2, 3 ve 4'de verilmiştir. Bu çizelgelerde de görüldüğü gibi her üç turunçgil anacı için değişik BAP konsantrasyonları ve eksplant tiplerinin sürgün sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Troyer sitranjında ortalama sürgün sayısı eksplant tiplerine göre farklılık göstermiştir. Nitekim, sürgün sayısı 1.22 adet ile tepe sürgünü eksplantlarında en düşük ve 3.41 adet ile epikotilde en yüksek saptanmıştır. BAP konsantrasyonlarına göre saptanan sürgün sayısı ise 1.52 adet ile kontrol uygulamasında en düşük ve 4.73 adet ile 1 mg/l BAP uygulamasında ise en yüksek belirlenmiştir. Ayrıca BAP'ın 1 mg/l'nin üzerinde kullanımının, eksplant başına düşen sürgün sayısında belirgin düşümlere neden olduğu saptanmıştır (Çizelge 2). Carrizo sitranjı anacında ortalama sürgün sayısı, Troyer sitranjı anacının aksine, 2.99 adet ile tepe sürgünü eksplantlarında en yüksek saptanmış ve bunu 2.95 adet ile yapraklı boğuma ait eksplantlar izlemiştir. En düşük sürgün sayısı ise 2.56 adet ile epikotilde

belirlenmiştir. BAP konsantrasyonlarına göre saptanan sürgün sayısı Troyer sitranjı anacında olduğu gibi kontrol uygulamasında 1.58 adet ile en düşük, 3.97 adet ile 1 mg/l BAP uygulamasında ise en yüksek saptanmıştır. BAP'ın 1 mg/l üzerine çıkan konsantrasyonları Troyer sitranjı anacında olduğu gibi Carrizo sitranjında da sürgün sayısını azaltmıştır (Çizelge 3). Turunç anacında eksplant tiplerine göre saptanan sürgün sayısı yapraklı boğumda 2.30 adet ile en yüksek saptanmış ve bunu 2.25 adet ile epikotil izlemiştir. En düşük sürgün sayısı ise 1.73 adet ile tepe sürgünü eksplantlarında ortaya çıkmıştır. Değişik BAP konsantrasyonlarında saptanan sürgün sayısı, 2.42 adet ile 1 mg/l BAP konsantrasyonunda en yüksek saptanmış ve bunu 2.29 adet ile 3 mg/l BAP konsantrasyonu izlemiştir. En düşük sürgün sayısı ise 1.72 adet ile kontrol uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 4). Araştırma bulguları, denemede kullanılan her üç anaçta da BAP'ın 1 mg/l konsantrasyonunun eksplant başına düşen sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu verdiğini göstermiştir. Eksplant tipleri bakımından ise Troyer sitranjı anacında epikotil, Carrizo sitranjı anacında tepe sürgünü ve Turunç anacında ise yapraklı boğuma ait eksplantlar sürgün sayısı bakımından daha iyi sonuç vermiştir. Araştırmada ayrıca Troyer sitranjı ve Carrizo sitranjı anaçlarında, gerek sürgün kalitesi ve gerekse sürgün sayısı Turunç anacından daha başarılı bulunmuştur. Araştırma bulgularımız, Maggon ve Singh (1995)'in bulguları ile farklılık göstermiştir. Bu araştırmacılar, BAP'ın 2 mg/l'nin üzerine çıkan konsantrasyonlarının sürgün sayısını

Çizelge 2. Troyer sitranjı Anacında Değişik BAP Konsantrasyonları ve Eksplant Tiplerinin Sürgün Sayısı Üzerine Etkileri.

BAP Konsantrasyonu (mg/l)	Eksplant Tipleri			Ortalama Sürgün Sayısı (adet)
	Epikotil	Yapraklı Boğum	Tepe Sürgünü	
Kontrol	1.50 e	1.58 e	1.47 e	1.52 c
1 BAP	6.14 a	4.62 b	3.44 c	4.73 a
2 BAP	2.47 d	2.80 d	4.47 b	3.24 b
3 BAP	3.55 c	2.73 d	3.47 c	3.25 b
Eksplant Tipi Ort.	3.41 a	2.93 b	1.22 c	

LSD_{0.05}(Eksplant Tipi): 0.256; LSD_{0.05}(Ortam): 0.237

Çizelge 3. Carrizo sitranjı Anacında Değişik BAP Konsantrasyonları ve Eksplant Tiplerinin Sürgün Sayısı Üzerine Etkileri.

BAP Konsantrasyonu (mg/l)	Eksplant Tipleri			Ortalama Sürgün Sayısı (adet)
	Epikotil	Yapraklı Boğum	Tepe Sürgünü	
Kontrol	1.50 g	1.67 g	1.58 g	1.58 c
1 BAP	3.08 d	4.65 a	4.19 b	3.97 a
2 BAP	2.43 f	2.80 e	3.50 c	2.91 b
3 BAP	3.24 cd	2.67 ef	2.67 ef	2.86 b
Eksplant Tipi Ort.	2.56 b	2.95 a	2.99 a	

LSD_{0,5}(Eksplant Tipi): 0.134; LSD_{0,5}(Ortam): 0.154

Çizelge 4. Turunç Anacında Değişik BAP Konsantrasyonları ve Eksplant Tiplerinin Sürgün Sayısı Üzerine Etkileri.

BAP Konsantrasyonu (mg/l)	Eksplant Tipleri			Ortalama Sürgün Sayısı (adet)
	Epikotil	Yapraklı Boğum	Tepe Sürgünü	
Kontrol	1.75 de	1.83 de	1.58 ef	1.72 c
1 BAP	2.43 b	2.83 a	2.00 cd	2.42 a
2 BAP	2.33 bc	2.17 bc	1.33 f	1.94 b
3 BAP	2.50 ab	2.37 b	2.00 cd	2.29 a
Eksplant Tipi Ort.	2.25 a	2.30 a	1.73 b	

LSD_{0,5}(Eksplant Tipi): 0.165; LSD_{0,5}(Ortam): 0.191

azalttığını bildirmişlerdir. Bu durum, araştırmada kullanılan bitki materyallerinin farklılığından kaynaklanabilir.

Troyer sitranjı, Carrizo sitranjı ve Turunç anaçlarında, değişik BAP konsantrasyonları ile 1 mg/l NAA kombinasyonlarının farklı eksplant tiplerinde saptanan ortalama sürgün sayıları Çizelge 5,6 ve 7'de verilmiştir. Bu çizelgelerden değişik hormon kombinasyonları ve eksplant tiplerinin ortalama sürgün sayısı üzerine etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir. Troyer sitranjı anacında, ortalama sürgün sayısı tepe sürgününde 2.69 adet ile en düşük, epikotilde ise 3.77 adet ile en yüksek olarak saptanmış ve bunu 3.42 adet ile yapraklı boğuma ait eksplantlar izlemiştir. Hormon kombinasyonlarına göre saptanan sürgün sayıları, 1.52 adet ile kontrol uygulamasında en düşük, 4.69 adet ile 2 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA kombinasyonunda ise en yüksek olarak saptanmıştır (Çizelge 5). Carrizo sitranjı anacında sürgün sayısı, 3.93 adet ile tepe sürgünü eksplantlarında en yüksek saptanmış ve bunu 3.65 adet ile yapraklı boğum izlemiştir. En düşük sürgün sayısı ise 3.32 adet ile epikotilde belirlenmiştir. Hormon kombinasyonlarına göre saptanan

sürgün sayısı, 2 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA kombinasyonunda 4.59 adet ile en yüksek, kontrol uygulamasında ise 1.58 adet ile en düşük olarak bulunmuştur (Çizelge 6). Turunç anacında ise sürgün sayısı, 1.80 adet ile tepe sürgününde en düşük, 2.06 adet ile yapraklı boğumda en yüksek saptanmış ve bunu 2.02 adet ile epikotile ait eksplantlar izlemiştir. Hormon kombinasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkisi, kontrol uygulamasında 1.72 adet ile en düşük, 2 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA kombinasyonunda ise 2.05 adet ile en yüksek saptanmıştır (Çizelge 7). Araştırma bulguları, denenen tüm besi ortamlarında sürgün sayısı bakımından Troyer sitranjı ve Carrizo sitranjı anaçlarının Turunçtan daha iyi sonuç verdiğini göstermiştir. Denemeye alınan her üç anaçta da 2 mg/l BAP'ın 1 mg/l NAA ile olan kombinasyonu sürgün sayısı bakımından daha başarılı bulunmuştur. Eksplant tipleri açısından ise BAP'ın bağımsız kullanımında olduğu gibi Troyer sitranjında epikotil, Carrizo sitranjında tepe sürgünü ve Turunç anacında ise yapraklı boğuma ait eksplantlar sürgün sayısı bakımından daha başarılı bulunmuştur. Edriss ve Burger (1984), Troyer sitranjı anacında 0.5 mg/l BAP ve 0.1 mg/l NAA kombinasyonunun sürgün sayısı

Çizelge 5. Troyer sitranjı Anacında Değişik Hormon Kombinasyonları ve Eksplant Tiplerinin Sürgün Sayısı Üzerine Etkileri.

Hormon Kombinasyonları	Eksplant Tipleri			Ortalama Sürgün Sayısı (adet)
	Epikotil	Yapraklı Boğum	Tepe Sürgünü	
Kontrol	1.50 g	1.58 g	1.47 g	1.52 d
1mg/l BAP+ 1 mg/l NAA	3.60 cd	2.50 f	2.59 ef	2.89 c
2 mg/l BAP+ 1 mg/l NAA	4.83 b	5.75 a	3.50 cd	4.69 a
3 mg/l BAP+ 1 mg/l NAA	5.17 ab	3.83 c	3.20 de	4.06 b
Eksplant Tipi Ort.	3.77 a	3.42 b	2.69 c	

LSD_{0.5} (Eksplant Tipi):0.313; LSD_{0.5} (Ortam):0.361

Çizelge 6. Carrizo sitranjı Anacında Değişik Hormon Kombinasyonları ve Eksplant Tiplerinin Sürgün Sayısı Üzerine Etkileri.

Hormon Kombinasyonları	Eksplant Tipleri			Ortalama Sürgün Sayısı (adet)
	Epikotil	Yapraklı Boğum	Tepe Sürgünü	
Kontrol	1.50 f	1.67 f	1.58 f	1.58 c
1 mg/l BAP+ 1 mg/l NAA	4.08 cd	3.47 e	4.75 b	4.10 b
2 mg/l BAP+ 1 mg/l NAA	3.88 cd	5.61 a	4.28 c	4.59 a
3 mg/l BAP + 1 mg/l NAA	3.88 cd	3.83 de	5.11 b	4.27 b
Eksplant Tipi Ort.	3.32 c	3.65 b	3.93 a	

LSD_{0.5} (Eksplant Tipi): 0.203; LSD_{0.5} (Ortam): 0.203

Çizelge 7. Turunç Anacında Değişik Hormon Kombinasyonları ve Eksplant Tiplerinin Sürgün Sayısı Üzerine Etkileri.

Hormon Kombinasyonları	Eksplant Tipleri			Ortalama Sürgün Sayısı (adet)
	Epikotil	Yapraklı Boğum	Tepe Sürgünü	
Kontrol	1.75 cde	1.83 cd	1.58 de	1.72 b
1 mg/l BAP+ 1 mg/l NAA	2.50 a	2.00 bcd	2.10 abc	2.02 a
2 mg/l BAP+1 mg/l NAA	2.00 bcd	2.00 bcd	2.17 abc	2.05 a
3 mg/l BAP + 1mg/l NAA	1.83 cd	2.40 ab	1.33 e	1.86 ab
Eksplant Tipi Ort.	2.02 ab	2.06 a	1.80 b	

LSD_{0.5} (Eksplant Tipi): 0.232; LSD_{0.5} (Ortam):0.268

bakımından en iyi sonucu verdiğini, BAP'ın yüksek konsantrasyonlarında ise epikotil eksplantlarında sürgün sayısının azaldığını saptamışlardır.

3.3. Köklendirme Aşamasına İlişkin Araştırma Bulguları

Araştırmada Troyer ve Carrizo sitranjı anaçlarında çoğaltma aşamasında gerek sürgün sayısı ve gerekse sürgün kalitesi bakımından tatminkar sonuçlar alınmıştır. Buna karşın, Turunç anacında çoğaltma aşamasında denenen tüm ortamlarda ve eksplant tiplerinde çoğalma gerçekleşmiş, fakat oluşan sürgünlerin kalitesiz olduğu ve bunların köklendirme ortamlarına transferden sonra gelişme

göstermediği ve kültürlerin ileri aşamada canlılıklarını kaybettiği gözlenmiştir. Bu nedenle, köklendirme aşamasında sadece Troyer ve Carrizo sitranjı anaçları kullanılmıştır. Troyer sitranjı anacında, değişik köklendirme ortamlarında 4 hafta bekletilen eksplantlarda saptanan ortalama bitki boyu, kök sayısı, en uzun kök uzunluğu ile ortalama kök uzunluğu değerleri Çizelge 8'de verilmiştir. Troyer sitranjı anacında incelenen tüm kriterler üzerine hormon kombinasyonlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Ortalama bitki boyu 8.62 cm ile 3 mg/l IBA konsantrasyonunda en yüksek saptanmış ve bunu 5.10 cm ile 1 mg/l IBA konsantrasyonu izlemiştir. En düşük bitki boyu ise 4 cm ile 2 mg/l IBA

Çizelge 8. Değişik IBA Konsantrasyonlarının Troyer sitranjı Anacında Bitki Boyu, Kök Sayısı, En Uzun Kök Uzunluğu, Ortalama Kök Uzunluğu Üzerine Etkileri.

Hormon Kombinasyonları (mg/l)	Bitki Boyu (cm)	Kök Sayısı (adet)	En Uzun Kök Uzunluğu (cm)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)
1 IBA	5.10 b	1.18 d	6.04 b	6.02 b
2 IBA	4.00 d	2.33 c	4.94 c	3.85 c
3 IBA	8.62 a	2.17 c	7.85 a	7.67 a
1 IBA+1 NAA	4.30 cd	13.52 a	5.29 c	3.53 cd
1 IBA+1.5 NAA	4.72 bc	7.75 b	3.86 d	2.93 d
LSD _{%5}	0.435	0.585	0.567	0.641

konsantrasyonunda saptanmıştır. İncelenen kriterlerden, ortalama kök sayısı 13.52 cm ile 1 mg/l IBA ve 1 mg/l NAA kombinasyonunda en yüksek saptanmış ve bunu 7.75 cm ile yine IBA'nın 1mg/l konsantrasyonunun 1.5 mg/l NAA ile olan kombinasyonu izlemiştir. IBA'nın tek başına kullanımlarında ise ortalama kök sayısı daha düşük saptanmıştır. İncelenen kriterlerden en uzun ve ortalama kök uzunluğu değerleri, BAP'ın 3 mg/l konsantrasyonunda en yüksek olarak saptanmıştır. Nitekim bu konsantrasyonda en uzun kök uzunluğu 7.85 cm ve ortalama kök uzunluğu ise 7.67 cm olarak saptanmıştır. Kök sayısının aksine, IBA ve NAA'nın birlikte kullanımlarında en uzun ve ortalama kök uzunluğu değerlerinde düşüşler gözlenmiştir.

Değişik hormon kombinasyonlarının, Carrizo sitranjı anacında bitki boyu, kök sayısı, en uzun kök uzunluğu ve ortalama kök uzunluğu üzerine etkileri Çizelge 9'da verilmiştir. Bu çizelgeden, incelenen tüm kriterler üzerine hormon kombinasyonlarının etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir. Troyer sitranjı anacında olduğu gibi Carrizo sitranjı anacında da bitki boyu 8.36 cm ile 3 mg/l IBA konsantrasyonunda en yüksek saptanmış,

bunu 6.30 cm ile 1 mg/l IBA konsantrasyonu izlemiştir. İncelenen kriterlerden, kök sayısı bakımından elde edilen sonuçlar Troyer sitranjı anacı ile paralellik göstermiş ve kök sayısı 7.08 adet ile 1 mg/l IBA ve 1 mg/l NAA kombinasyonunda en yüksek saptanmıştır (Çizelge 9). Carrizo sitranjında en uzun ve ortalama kök uzunluğu değerleri IBA'nın 1 mg/l konsantrasyonunda en yüksek ve 1 mg/l IBA'nın 1 mg/l NAA kombinasyonunda ise en düşük saptanmıştır. En uzun kök uzunluğu 2.85 cm ile 9.98 cm ve ortalama kök uzunluğu değeri 2.84 cm ile 9.22 cm arasında değişim göstermiştir.

Araştırma bulgularımız sonucunda, Troyer sitranjı ve Carrizo sitranjı anaçlarında IBA'nın NAA ile birlikte kullanımı, kök sayısı bakımından IBA'nın tek başına kullanımından daha başarılı bulunmuştur. İncelenen diğer kriterlerde bitki boyu, en uzun kök uzunluğu ve ortalama kök uzunluğu değerleri ise IBA'nın bağımsız kullanımlarında daha yüksek saptanmıştır. Fakat, bitkilerin toprağa transferinden sonraki pişkinleştirme aşamasında, bitki boyu ve kök uzunluğundan ziyade, kök sayısının daha önemli olduğu gözlenmiştir. Köklenme ile

Çizelge 9. Değişik IBA Konsantrasyonlarının Carrizo sitranjı Anacında Bitki Boyu, Kök Sayısı, En Uzun Kök Uzunluğu, Ortalama Kök Uzunluğu Üzerine Etkileri.

Hormon Kombinasyonları (mg/l)	Bitki Boyu (cm)	Kök Sayısı (adet)	En Uzun Kök Uzunluğu (cm)	Ortalama Kök Uzunluğu (cm)
1 IBA	6.30 b	1.58 c	9.98 a	9.22 a
2 IBA	4.84 c	3.33 b	4.66 c	4.65 c
3 IBA	8.36 a	1.55 c	7.37 b	7.05 b
1 IBA+1 NAA	3.37 d	7.08 a	2.85 e	2.84 d
1 IBA+1.5 NAA	3.74 d	6.69 a	3.92 d	3.23 d
LSD _{%5}	0.532	0.556	0.530	0.571

ilgili olarak Goh ve ark. (1995)'tarafından *Citrus grandis*'de yapılan çalışmada köklenmenin IBA'nın 2.5 µM konsantrasyonunda; Kinnow ve Local Sangra mandarinlerinde yapılan bir çalışmada ise NAA'nın 2 mg/l yada NAA'nın 2 mg/l konsantrasyonunun 1 mg/l IBA kombinasyonunda gerçekleştiği saptanmıştır (Gill ve ark., 1994). Araştırma bulgularımız, bu araştırmacıların bulgularından farklılık göstermiştir. Bu durum, araştırmada kullanılan bitki materyalinin farklılığından kaynaklanmış olabilir.

4. Sonuç

Troyer sitranjı, Carrizo sitranjı ve Turunç anaçlarının *in vitro* da çoğaltılma olanaklarının araştırıldığı bu çalışmadan aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

Kültürlerin büyüme ve gelişme aşamasında, denenen anaçlardan Troyer ve Carrizo sitranjı anaçları için MS ortamına 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA ve 1 mg/l GA₃, Turunç anacında ise 1 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA ilavesi sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu vermiştir. Çoğaltma aşamasında, denemede kullanılan her üç anaçta da BAP'ın 1 mg/l kullanımı sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu vermiş ve BAP'ın 1 mg/l üzerine çıkan konsantrasyonlarının ise sürgün sayısını azalttığı belirlenmiştir. BAP ve NAA'nın birlikte kullanıldığı kombinasyonlarda, eksplant başına düşen sürgün sayısı denemeye alınan her üç anaçta da BAP'ın 2 mg/l konsantrasyonunun 1 mg/l NAA ile olan kombinasyonunda en yüksek saptanmıştır. Eksplant tipleri açısından ise çoğaltma aşamasında, Troyer sitranjı anacında epikotil, Carrizo sitranjı anacında tepe sürgünü ve Turunç anacında ise yapraklı boğuma ait eksplantlar sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu vermiştir. Köklendirme aşamasında, Troyer sitranjı ve Carrizo sitranjı anaçlarında 1 mg/l IBA ve 1 mg/l NAA kombinasyonu kök sayısı bakımından, IBA'nın tek başına kullanımları ise bitki boyu, en uzun ve ortalama kök uzunlukları bakımından daha avantajlı bulunmuştur.

Kaynaklar

- Anonymous, 1999. FAO Pruduction Year Book.
- Anonim, 1996. Tarımsal Yapı ve Üretim. D.İ.E. Matbaası. DİE Yayın No: 1873, Ankara.
- Beloualy, N., 1990. Plant regeneration from callus culture of three Citrus rootstocks. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 24:29-34.
- Can, C., Koç, N.K. ve Çınar, A., 1992. Turunçta (*Citrus aurantium* var. *Brezilia*) epikotil segmentleri kullanılarak *in vitro* da klonal üretim. *Doğa- Türk- Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 16 (1): 132-139.
- Edriss, M.H. and Burger, D. W., 1984. *In vitro* propagation of 'Troyer' citrange from epicotyl segments. *Scientia Horticulturae*, 23, 159-162.
- Gill, M., Singh, Z., Dhillon, B. S., Gosal, S. S. and Zora, S., 1994. Somatic embriyogenesis and plantlet regeneration on calluses derived from seedling explants of 'Kinnow' mandarin (*Citrus nobilis* Lour X *Citrus deliciosa* Tenora). *Journal of Horticultural Science*, 69 (2):231-236.
- Gill, M. I. S., Singh, Z. Dhillon, B. S. and Gosal, S. S., 1995. Somatic embriyogenesis and plantlet regeneration in mandarin (*C. reticulata* Blanco). *Scientia Horticulturae*, 63:167-176.
- Goh, C. J., Sim, G. E., Morales, C. L. and Loh, C. S., 1995. Plantlet regeneration through different morphogenic pathways in pommelo tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 43 (3): 301-303.
- Harada, H., Murai, Y., 1996. Clonal propagation of *Poncirus trifoliata* through culture of shoot primordia. *Journal of Horticultural Science*, 71 (6): 887-892.
- Koç, N. K. ve Can, C. 1992. Turunçta kallus kültürlerinin elde edilmesinde bazı oksin, sitokinin ve kültür ortamlarının etkileri. *Doğa-Türk- Tarım ve Ormancılık Dergisi*, 16 (1): 287-291.
- Leng, E. and He, M., 1988. Plant regeneration in Citrus. *Genetic Manipulation in Crops Newsletter*, 23 (4): 34-37.
- Maggon, R. and Singh, B. D., 1995. Promotion of adventitious bud regeneration by ABA in combination with BAP in epicotyl and hypocotyl explants of sweet orange. *Scientia Horticulturae*, 63, 123-128.
- Moore, G. A., 1986. *In vitro* propagation of citrus rootstocks. *HortScience*, 21 (2): 300-301.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tabacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15, 473-497.
- Murashige, T. and Tucker, D.P.H., 1969. Growth factor requirements of Citrus tissue culture. In: Charpman H.p. (ed). *Proc. 1st. Citrus Symp.*, Riverside CA., 3,
- Özcan, M. ve Ulubelde, M., 1984. Turunçgil Anaçları. Ege Bölge Zirai Araştırma Enstitüsü Yayınları, No: 50, Menemen - İzmir.