

Ali Asghar ZAİNEL¹
Serra HEPAKSOY²

¹ Kerkük Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Kerkük / Irak

² Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 35100, İzmir / Türkiye

sorumlu yazar: serra.hepaksoy@ege.edu.tr

Bir İdris Anacı 'Pontaleb'in Doku Kültürü İle Çoğaltılma Olanaklarının Araştırılması

Investigation of the Possibilities of Propagation a Mahaleb Rootstock 'Pontaleb' by Tissue Culture

Alınış (Received): 13.04.2017

Kabul tarihi (Accepted): 08.08.2017

Anahtar Sözcükler:

Anaç, kiraz, pontaleb, *Prunus mahaleb* L., *in vitro*, çoğaltma

Key Words:

Rootstock, sweetcherry, pontaleb, *Prunus mahaleb* L., *in vitro*, propagation

ÖZET

Bu çalışmada, kiraz için önemli bir anaç olan idris popülasyonu içinden Fransa'da seçilen 'Pontaleb' tohum anacının doku kültüründe vejetatif olarak çoğaltılabilme olanağı araştırılmıştır. Sürgün uçları alındıktan sonra yüzey sterilizasyonu yapılarak dikim yapıldı. Murashige Skoog (MS) temel besin ortamına, bitki büyüme düzenleyicisi olarak 1-2 mg/l BAP, 0,1 mg/l IBA/NAA ile 0,1 veya 0,5 mg/l GA₃ eklenmiştir. Denenen ortamlar içinde sürgün gelişimi ve çoğalması dikkate alındığında 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA + 0,5 mg/l GA₃ içeren MS ortamı diğerlerine göre daha başarılı bulunmakla birlikte çalışmada tatminkar sonuçlar elde edilememiştir.

ABSTRACT

In this study, the possibility of vegetative propagation by tissue culture of 'Pontaleb' seedling rootstock selected from the mahaleb population in France which is an important rootstock for sweetcherry was investigated. Shoot tip explants was taken and then surface sterilized and planted. Murashige Skoog (MS) medium supplemented with 1 and 2 mg/l BAP, 0,1 mg/l IBA or NAA and GA₃ were used. For proliferation and multiplication, MS medium containing 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA + 0,5 mg/l GA₃ was found to be more succesful than the others but satisfactory results were not obtained in the study.

GİRİŞ

Dünyanın meyvecilik açısından en uygun iklim kuşaklarından birinde bulunan Türkiye'de kiraz yetiştiriciliği her geçen yıl artmaktadır. Türkiye'nin Akdeniz kıyı şeridi hariç hemen her yerinde kiraz yetiştirilebilmektedir. Son yıllarda ülkemiz kiraz konusunda oldukça önemli mesafeler almıştır. Yetiştiriciler kiraz üretimi konusunda biraz daha bilinçlenerek, daha fazla gelir getiren çeşitleri daha kaliteli olarak yetiştirebilir duruma gelmişlerdir. Üretim girdilerindeki sıkıntılarda azalma ve ihracat firmalarının sayısındaki artışın yanı sıra soğuk hava ve paketleme tesisleri istenen düzeyde olmasa da daha iyi duruma gelmiştir. Bu gelişmelerin sonucunda ihracat miktarı ve gelirden artışlar meydana gelmiştir.

Kiraz üretimimizin büyük bir kısmı, dünyanın en önemli kiraz çeşitleri arasına giren ve Avrupa'da 'Türk Kirazi' olarak bilinen 0900 Ziraat çeşidinden

oluşmaktadır. Son yıllarda yetiştiriciler tarafından Sweet Heart, Celeste, Kordia, Regina, North Wonder, Sunburst, Summit gibi yeni kiraz çeşitleri de yetiştirilmeye başlanmıştır. Birçok meyve türünde olduğu gibi, kiraz fidanı da aşı ile üretilmekte olup aşılama için uygun anaç seçimi yapılması gereklidir. Her anacın yaygın olduğu ülke, hatta yöre farklıdır. Yayılıştaki etkili olan en önemli faktör, yetiştiricilik yapılacak yerdeki iklim ve toprak koşullarına adaptasyon ile sulama koşullarıdır.

Ülkemizde eski yıllarda çöğür anacının kullanımı çok yaygın olmakla beraber, günümüzde klon anaçlarının kullanımı ön plana çıkmaya başlamıştır. Türkiye'de yetiştirilmekte olan kiraz ağaçlarında *Prunus mahaleb* L. anacı kullanımı yaygındır. *Prunus mahaleb* L., mahlep ya da idris isimleriyle bilinir. İdris ağaçları hastalıklara karşı dayanıklı ağaçlar olup, özellikle Amerika'da kiraz anacı olarak kullanılmaktadır (Katzner, 2001). Orijini Batı Asya olup, bu bölgede geniş yayılım göstermektedir.

Avrupa'nın doğusu ve merkezinde de sık olmamakla birlikte görülmektedir. *Prunus mahaleb* L.'nin anavatanı arasında bulunan ülkemizde büyük bir genetik çeşitlilik bulunmakta, Amasya, Ankara, Bolu, Çorum, Diyarbakır, Gümüşhane, Hakkari, İstanbul, Kars, Mardin, Muğla, Tokat, Uşak ve Van'da doğal yayılım göstermektedir (Davis, 1972; Anonim, 1985).

İdris anacının soğuk ve kurak iklimlere dayanımı iyi, toprak bakımından ise fazla seçici olmamakla birlikte ağır topraklardan hoşlanmaz (Perry, 1987; Gerçekçioğlu ve Çekiç, 1999). Bu özelliklerinden dolayı, idris yeni kiraz anaçlarının elde edilmesinde kullanılmaktadır.

P.mahaleb L. çöğür anaçları arasında, Alpruna, CT500, CT2753, Mahaleb 900 ve 4, Türk Mahalebi, klon anaçları arasında ise, Dunabogdany, Korponay, SL 64, Bonn klonlarından 6, 58, 60, 62 gibi anaçlar yer almaktadır (Trefois, 1985; lezzoni et al., 1991; Druart, 1996; Hrotkó and Simon, 1996).

Anaçların birörnek olması açısından vejetatif yöntemlerle çoğaltılması meyve yetiştiriciliğinde önemlidir. Vejetatif çoğaltma yöntemlerinden birisi doku kültürüdür. Doku kültürü son 20-25 yıldır anaç çoğaltılmasında oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. *In vitro* koşullarda meyve türlerinde genellikle kullanılan birkaç mikro çoğaltım protokolu bulunmakla birlikte, özellikle odunsu türlerin her biri için çoğunun optimize edilmesi gerekmektedir (Damiano and Palombi, 2000). Bu nedenle her genotip için ayrı çalışmaların yapılma zorunluluğu vardır. Örneğin Zilkah et al. (1992), MxM (*Prunus avium* x *Prunus mahaleb*) kiraz anaçlarının üç klonunun *in vitro* üretimi üzerine yaptıkları çalışmada, MxM 2 ve MxM 60 klonları için Boxus ortamının, MxM 46 klonu için ise, Tabachnik ve Kester ortamının en iyi sonuç verdiğini saptamışlardır. Sürgün çoğaltımında ise, Almehdi ve Prfitt (AP) ortamına MxM 2 klonu için 0,2 mg/l BA ve 0,01mg/l IBA ilavesiyle en iyi sonuç alındığı tespit edilirken, MxM 46 klonunda 6 mg/l BA ve 0,01 mg/l IBA, MxM 60 klonunda ise 0,5 mg/l BA, 0,2 mg/l GA₃ ve 0,01mg/l IBA ilave edilmesi durumunda en iyi başarı elde edilmiştir. Sürgün uzamasının bütün klonlarda 0,2 mg/l BA ve 0,01mg/l IBA içeren AP ortamında iyi olduğu ortaya konulmuştur. Araştırmacılar, köklenmenin yarı kuvvetteki MS ortamına 0,5 mg/l NAA eklenmesi durumunda sağlanabildiğini ve köklenen bitkiciklerin dış koşullara kolaylıkla adapte edilebildiğini belirtmişlerdir. Maxma 14 anacı ile ilgili yapılan çalışmalarda ise, çoğalma ve gelişme üzerine GA₃'ün düşük konsantrasyonda her hangi bir etkide bulunmadığı, ancak, konsantrasyonun 0,25 mg/l olması durumunda çoğalmada azalma meydana geldiği, oksin olarak IBA veya NAA arasında önemli bir farklılık olmazken, konsantrasyonların 0,1 mg/l olması, 0,25

veya 0,5 mg/l olmasına göre daha iyi sonuçların elde edildiği çalışma bulunduğu gibi (Hepaksoy, 2004), başka bir çalışmada bu anacın çoğaltılmasında, GA₃ 0,25 mg/l olarak sabit tutularak, BAP'ın 0,1; 0,5 ile 1,0 mg/l ve 2,4-D'nin 0,01; 0,1 ile 0,5 mg/l konsantrasyonları tek veya kombinasyonları şeklinde kullanılması durumunda, BAP'ın tek başına 0,1 ve 0,5 mg/l gibi düşük konsantrasyonları ve 2,4-D'nin 0,01 mg/l olan düşük konsantrasyonlarının daha başarılı olduğu saptanmıştır (Günel, 2006). Büyükdemirci (2008) ise, 0,5 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 0,1 mg/l GA₃ ve 6 g/l agar içeren MS besin ortamında en iyi sürgün çoğaltımının gerçekleştiğini belirtmiştir.

Kiraz için önemli klon anaçlarından bir diğeri olan Gisela 5 anacının çoğaltılması ile ilgili değişik araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalardan da farklı sonuçlar elde edilmiştir. Büyükdemirci (2008), MS besin ortamında sitokinin, oksin ve agarın farklı konsantrasyonlarını denemiş ve 0,5 mg/l BAP + 0,01 mg/l IBA + 0,1 mg/l GA₃ ve 6 g/l agar ilavesi ile en iyi sürgün çoğaltımı elde etmiştir. MS makro elementlerinin, özellikle nitratların azaltılması sonucunda köklenme oranını arttırdığı saptanmıştır. Demiral ve Ülger (2008) ise, çoğaltım aşamasında en iyi sürgün sayısını (2,93 adet) 0,75 mg/l BAP + 1,0 mg/l IBA, en uzun sürgün boyunu (1,68 cm) ise 1,0 mg/l BAP + 2,0 mg/l IBA içeren MS ortamlarında elde etmişlerdir.

Šiško (2011), ise Gisela 5'in sürgün uçları ve koltuk tomurcuklarını eksplant kaynağı olarak kullandığı çalışmada MS ve WPM ortamlarını denemiş kalluslu ve gelişme meydana gelmeme oranının düşük olması nedeniyle, WPM ortamı daha iyi bulmuştur. *In vitro* bitkicikler, köklenmeleri için farklı oksin (IBA ve NAA) içerikli 4 ortama transfer edilmiş, en yüksek köklenme (%90) 0,5 mg/L IBA, en düşük (%65) ise 1 mg/L NAA içeren ortamda meydana gelmiştir. Aynı anaçla, farklı sitokinin konsantrasyonları, eksplant tipi ve eksplantın dikim şeklinin çoğalma üzerine etkileri Bošnjak et al. (2012) tarafından araştırılmış ve bu amaçla ortam olarak QL, eksplant olarak da aksiller sürgünler kullanılmıştır. Çoğalma amacıyla sürgünler 0,1 mg/L IBA ve 0,5 mg/L GA₃ konsantrasyonları sabit tutularak, çeşitli sitokinin tipi (BA, TDZ ve KIN) ve konsantrasyonu denenmiştir. En yüksek çoğalma sırasıyla (4,1 ve 3,7) 1 mg/L BA ve 0,5 mg/L TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Aynı zamanda, eksplant dikiminin çoğalma üzerine önemli etkisi görülmüştür. Tepesi alınmış ve yapraksız mikro sürgünler yatay yerleştirildiğinde (8,9), dikey yerleştirilenlere (4,1) göre yüksek oranda çoğalma elde edilmiştir. Köklendirme amacıyla farklı uygulamalar yapılmış ve en iyi köklenme, 20 saat 80 mg/l IBA içeren solüsyonda tutulup, hormonsuz ortama transfer edilen uygulamadan elde edilmiştir.

Yukarıda verilen örneklerden anlaşılacağı gibi, her anacın çoğaltılmasında başarı sağlanan besin ortamları ve içerdiği bitki büyüme düzenleyiciler farklı olduğu gibi, kullanılacak ortam tek değildir. Bu nedenle başarı oranının arttırılabilmesi için çalışmalara devam edilmelidir.

Bu çalışmada ise, kirazlar için önemli bir anaç olan idris popülasyonu içinden Fransa'da seçilen pontaleb tohum anacının doku kültüründe vejetatif olarak çoğaltılabilme olanağı araştırılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Materyal

Çalışmada *Prunus mahaleb* L. içinden selekte edilen pontaleb anacı kullanılmıştır. Bu anaç, Fransa'da INRA tarafından 1960 yılında çöğürlerden selekte edilmiş ve 1967 yılında tanıtılmıştır. SL 405 tipinin kendine döllenenmesi ile elde edilmiştir. Kiraz ağaçlarının erken yaşta bol ürün vermesini sağlayan, nispeten bodur bir anaçtır. Bu anaç sertifikalı olarak virüssüz tohumlardan yetiştirilmektedir (Lugli et al., 2011).

Yöntem

Çalışmada esas olarak MS (Murashige-Skoog, 1962) besin ortamı kullanılmış, farklı hormon tipi ve konsantrasyonları denenmiştir. Oksin grubundan, indol butirik asit (IBA) ile naftalen asetik asit (NAA); gibberellin grubundan gibberellik asit (GA_3), sitokinin grubundan da 6- benzilaminopürin (BAP) kullanılmıştır. Besin ortamlarına 30 g/l sakkaroz ve 7 g/l agar ilave edilmiştir. Besin ortamlarının pH değerleri, pH-metre yardımı ile NaOH ve HCl kullanılarak 5,6'ya ayarlanmıştır. Steril saf su ile hazırlanan besin ortamları, daha önce steril hale getirilen tüp veya kavanozlara doldurulduktan sonra, 121 °C'de 1,2 atmosfer basınçta 20 dakika otoklavda tutularak sterilizasyon yapılmıştır.

Denemede çoğalma aşamalarında kullanılan MS besin ortamlarının hormon içerikleri ve bu ortamlara verilen numaralar çizelge 1'de görülmektedir.

Çizelge 1. MS besin ortamlarının içerikleri ve numaraları
Table 1. Contents of MS culture media and numbers

Ortam No	Hormon İçeriği
1	1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA
2	1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA
3	2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA
4	2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA
5	1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 0,1 mg/l GA_3
6	2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA + 0,5 mg/l GA_3

Sabah erken saatte bitkilerden sürgün uçları toplanarak laboratuvara getirilmiş, küçük yapraklarının bir kısmı kopararak, boyları kısaltıldıktan sonra, tek tek çeşme suyu ile yıkanarak materyal üzerindeki kaba kirin uzaklaştırılması sağlanmış, daha sonra sabunlu suya

konulmuştur. Burada belirli aralarla karıştırılarak 20 dakika bekletildikten sonra, akan çeşme suyu altında, 20 dakika yıkanarak ön sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır (Hepaksoy, 2004). Daha sonra steril kabinde örnekler 20 dakika süre ile %4 sodyum hipoklorit içeren, 1/5 oranında seyreltilmiş çözeltide tutularak sterilizasyon gerçekleştirilmiş, çıkarılan örnekler, üç kez beşer dakika süre ile steril saf suda tutularak dikime hazır duruma getirilmiştir (Muriithi, et al., 1982; Ranjit and Kestler, 1988).

In vitro kültürler 24 ± 1 °C sıcaklıktaki, $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ışık şiddetinde 16 saat fotoperiyotta kültür odalarında tutulmuştur. Sürgün uçlarının kültüre alınmalarını takiben, kültürlerin bazılarında enfeksiyon meydana gelmiş, bazılarında ise kararma ve vitrifikasyon meydana gelerek, canlılıklarını koruyamamışlardır. Bu tip eksplantların sayısının çok az olması nedeniyle oran belirlenmemiş ve bütün değerlendirmeler, sorunlu kültürlerin atılmasından sonra kurulan denemeler şeklinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma üç tekerrürlü ve her tekerrürde 20 eksplant olacak şekilde yürütülmüştür. Elde edilen veriler SPSS Version 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ile varyans analizi yapılmıştır. Çoğalma ile ilgili verilerde kültür sayısı alt parsel, ortam ana parsel faktörü olmak üzere "Tesadüf Parselleri Bölünmüş Parseller" deneme desenine göre analiz yapılmış, ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan testi ile $\alpha=0,05$ önem düzeyinde belirlenmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Pontaleb anacının üç alt kültür süresince değişik besin ortamlarında elde edilen ortalama sürgün boyu, yaprak sayısı ve kardeş sayısı değerleri çizelge 2-4 de verilmiştir. Ortalama sürgün boyu açısından değerlendirildiğinde, ortam ve alt kültürler arasında istatistiksel farklılıklar görülmüş, bu farklılıklar ortamlar arasında %1 düzeyinde, alt kültürler arasında ise %5 düzeyinde önemli olurken, ortam x alt kültür etkisi önemsiz bulunmuştur.

Ortalama sürgün boyu değerlerine bakıldığında, en iyi sonuç 12,81 mm ile 1,0 mg/L BAP + 0,1 mg/l IBA içerikli MS ortamında görülmektedir. En zayıf gelişme ise 0,78 mm ile 2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA bulunan ortamda kaydedilmiş, ortama NAA yerine IBA eklenmesi ise, sürgün uzamasını biraz arttırarak 1,48 mm olmasını sağlamıştır (Çizelge 2).

Üç alt kültür süresince hiç bir besin ortamında ölümler ve vitrifikasyon nedeniyle *in vitro* sürgünlerde düzenli bir gelişme görülmemiştir. Besin ortamında 2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA + 0,5 mg/l GA_3 bulunması durumunda gelişme ikinci alt kültür sonuna kadar artmış, daha sonra ölümlerin başlaması nedeniyle düşüşler yaşanmıştır. Ortamlara 1,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 0,1 mg/l GA_3 ve 2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l

NAA / IBA eklenmesi durumunda, birinci alt kültürden sonra gelişme devam etmemiş ve bütün sürgünler ölmüştür. Buna karşın MS besin ortamına 1 mg/l BAP yanı sıra 0,1 mg/l NAA veya IBA eklenmesi durumunda ilk alt kültürden sonra gelişmede bazı gerilemeler meydana gelmekle birlikte 3 ay boyunca canlı sürgünler kalmıştır (Çizelge 2).

Pontaleb anacında, en uzun ortalama sürgün boyu, NAA yanı sıra BAP ve GA₃'ün yüksek konsantrasyonda olduğu besin ortamında 16,58 mm ile ikinci alt kültürde elde edilmiştir. Denemede yer alan diğer bütün besin

ortamlarında ilk alt kültürden sonra gelişmede duraklamalar ve ölümler başlamıştır. Besin ortamlarının içeriği genel olarak değerlendirildiğinde, 1 mg/l BAP ile beraber 0,1 mg/l IBA veya NAA içerikli ortamlar sürgün boyu açısından daha iyi görülmektedir (Çizelge 2),

In vitro sürgünlerin ortalama yaprak sayıları değerlendirildiğinde, ortam ve ortam x alt kültür interaksyonunda istatistiki olarak %1 düzeyinde önemli farklılıklar bulunurken, alt kültürler arasında farklılık önemsiz olmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 2. Farklı MS ortamlarındaki ortalama sürgün boyu (mm)

Table 2. Average shoot length in different MS media (mm)

Ortam No	1. Alt kültür	2. Alt kültür	3. Alt kültür	Ortalama
1	11,66	8,78	8,89	9,78 a
2	13,92	12,42	12,08	12,81 a
3	2,33	0,00	0,00	0,78 b
4	2,27	2,17	0,00	1,48 b
5	6,50	0,00	0,00	2,17 b
6	12,17	16,58	5,78	11,51 a
Ortalama	8,14 a	6,66 b	4,46 c	
	Ortam**	Alt kültür*	Ortam x Alt kültür öd	

** = % 1 düzeyde önemli * = % 5 düzeyde önemli öd = önemli değil

Çizelge 3. Farklı MS ortamlarındaki ortalama yaprak sayısı

Table 3. Average number of leaves in different MS media (mm)

Ortam No	1. Alt kültür	2. Alt kültür	3. Alt kültür	Ortalama
1	0,88 b	2,33 abc	3,33 a	2,18 abc
2	2,00 ab	3,33 ab	4,08 a	3,14 ab
3	0,22 b	0,00 c	0,00 b	0,07 c
4	0,60 b	1,92 bc	0,00 b	0,84 bc
5	0,67 b	0,00 c	0,00 b	0,22 c
6	5,43 a	5,33 a	0,89 ab	3,88 a
Ortalama	1,63	2,15	1,38	
	Ortam**	Alt kültür öd	Ortam x Alt kültür**	

** = % 1 düzeyde önemli öd = önemli değil

Sürgünlerin sahip oldukları ortalama yaprak sayılarına bakıldığında, en fazla yaprak 3,88 adet/eksplant ile 2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 0,5 mg/l GA₃ içeren ortamda meydana geldiği görülmüştür. Ortalama yaprak oluşumun en az (0,07 adet/eksplant) olduğu ortam ise, 2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA içeren olmuştur. Pontaleb anacının yaprak sayısı ortalamasının en yüksek değeri olan 5,43 adet/eksplant sayısına, sürgün boyunda olduğu gibi, oksine ek olarak BAP ve GA₃'ün yüksek miktarda olduğu ortamda ilk alt kültürde yani birinci ayın sonunda ulaşılmıştır.

Yaprak sayısı oluşumuna bakıldığında, 1 mg/l BAP ile 0,1 mg/l IBA bulunan MS besin ortamında 2,00 adet/eksplant değerinden 4,08 adet/eksplanta kadar giderek yaprak sayısı alt kültürler süresince artış gösterirken, bu ortama 0,1 mg/l GA₃'ün de eklenmesi durumunda ilk alt kültürden sonra kültürlerde tamamen ölüm meydana gelmiştir.

In vitro sürgünler ortalama kardeşlenme sayısı açısından değerlendirildiğinde, ortamlar ve alt kültürler arasında farklılıklar görülmüş ve bu farklılıklar ortamda %1 düzeyinde, alt kültürde %5 düzeyinde istatistiki anlamda önemli olurken, ortam x alt kültür interaksyonu önemsiz olmuştur.

Besin ortamları ortalama kardeşlenme sayısı açısından karşılaştırıldığında, en düşük ortalama 0,11 adet/eksplant ile 2 mg/l BAP'a ek olarak 0,1 mg/l NAA veya IBA içeren ortamlarda elde edilmiştir. En yüksek kardeşlenme ortalaması ise 0,67 adet/eksplant ile 0,1 mg/l NAA'ya ek olarak sitokinin ve gibberellik asidin yüksek olduğu ortamda elde edilmiştir. Sürgünlerde üç alt kültür süresince meydana gelen yeni sürgün sayılarına bakıldığında, en fazla çoğalma ortalama 0,60 adet/eksplant ile birinci alt kültürde gözlenmiştir. Alt kültür sayısı arttıkça kardeşlenme ortalaması azalmış ve üçüncü alt kültürde 0,11 adet/eksplant değerine düşmüştür (Çizelge 4).

Çizelge 4. Farklı MS ortamlarındaki ortalama kardeş sayısı
Table 4. Average multiplication in different MS media (mm)

Ortam No	1. Alt kültür	2. Alt kültür	3. Alt kültür	Ortalama
1	0,39	0,22	0,22	0,28 ab
2	0,75	0,67	0,17	0,53 ab
3	0,00	0,33	0,00	0,11 b
4	0,33	0,00	0,00	0,11 b
5	1,00	0,00	0,00	0,33 ab
6	1,13	0,63	0,25	0,67 a
Ortalama	0,60 a	0,31 ab	0,11 b	
	Ortam**	Alt kültür *	Ortam x Alt kültür öd	

*= % 5 düzeyde önemli ** = % 1 düzeyde önemli öd = önemli değil

TARTIŞMA

Kiraz için önemli bir anaç olan idris anacı içinden seçilen pontaleb tohum anacının sürgün ucu tekniği ile doku kültüründe klonal olarak çoğaltılma olanağının araştırıldığı bu çalışmada Murashige Skoog (MS) temel besin ortamı kullanılmıştır. Sert çekirdekli meyve türlerine ait doku kültürü çalışmalarında özellikle kiraz ve vişnede genellikle bu besin ortamının makro ve mikro elementlerinin kullanıldığı belirtilmekle birlikte, bazı araştırmacılar odunlu bitkilerde farklı besin ortamlarını kullanarak daha iyi başarı elde etmektedirler (Skirvin and Chu, 1979). Kültür ortamına eklenen bitki büyüme düzenleyicileri ile bunların konsantrasyonları bitki türü ve kültür aşamasına (başlangıç, çoğaltma yada köklenme) göre farklılık gösterir. Organ farklılaşmasında oksin ve sitokininler önemli rol oynarlar. Sitokininlerden BAP (benzilamino pürin) çok sık kullanılan ve genellikle de olumlu sonuç veren bir büyüme düzenleyicidir. Oksinlerden ise IBA (indol bütirik asit) ve NAA (naftalen asetik asit), IAA (indol asetik asit)'e göre daha yoğun kullanılmaktadır. Ayrıca, gibberellin grubundan GA₃ (gibberellik asit) de kullanılmaktadır. Bu çalışmada BAP'ın 1 ve 2 mg/l konsantrasyonu 0,1 mg/l IBA veya NAA ile kombinasyonu yapılarak, uygun BAP miktarı ile oksinlerin miktarı sabit tutularak hangisinin pontaleb anacının çoğaltılmasında daha etkili olduğu ortaya konulmaya çalışılmıştır. Ayrıca, GA₃'ün 0,1 ve 0,5 mg/l gibi düşük ve yüksek miktarlarının etkisinin nasıl olduğu incelenmiştir.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde, MS besin ortamına eklenen BAP miktarının 2 mg/l olması durumunda oksin olarak IBA kullanılmasının NAA'ya göre yeni yaprak oluşumu açısından daha etkili olduğu görülmektedir. Muna et al. (1999), da benzer şekilde IBA'nın NAA ile karşılaştırıldığında daha başarılı sonuç verdiğini ve kallus oluşumunun daha az olduğunu bildirmişlerdir. NAA ilk ayın sonundan itibaren sürgünlerde ölümlerin meydana gelmesine de neden olmuştur. Ancak ortama 0,5 mg/l GA₃ eklenmesi durumunda, sağlıklı gelişen sürgün sayısında artış olduğu gibi, sürgün uzaması ve yeni yaprak oluşumunda da iyileşme görülmüştür. Özellikle ikinci alt

kültür sonuna kadar iyi bir gelişme kaydedilmiş, fakat daha sonra bazı kültürlerde ölümler meydana gelmeye başlamıştır. BAP miktarının daha düşük (1 mg/l) olması durumunda besin ortamına düşük konsantrasyonda da (0,1 mg/l) olsa GA₃ eklenmesi gelişmeyi olumsuz etkileyerek birinci ayın sonunda sürgünler ortalama 6,50 cm boyunda olmalarına rağmen zayıf geliştikleri için, yapraklarda kurumaların meydana gelmesi nedeniyle bu sürgünler ortalama 0,67 adet yaprağa sahip olmuşlardır. Ancak yine de her sürgünde ortalama 1 adet yeni bitki meydana gelmiştir. Ana sürgünlerin aynı ortama alt kültüre alınmasının ardından, zayıf gelişen sürgünlerde ölümler meydana gelmeye başlamış ve ikinci alt kültürün sonunda canlı kalan sürgün olmamıştır. Debnath (2004), genellikle üçüncü alt kültüre kadar eksplantlarda çoğalma katsayısının arttığı ve daha sonra stabil kaldığını bildirmekle birlikte, burada çoğalma aşamasında ilk alt kültürden sonra gelişmede gerilemeler başlamıştır. Bu durum muhtemelen besin ortamının içeriğinden kaynaklanmıştır. Maxma 14 anacında da genel olarak gelişme ve çoğalma üzerinde GA₃'ün düşük konsantrasyonda etkili olmadığı, konsantrasyonun 0,25 mg/l'ye yükseltilmesi durumunda ise, çoğalmada azalma meydana geldiği belirtilmiştir (Hepaksoy, 2004). Çalışmada denenen MS besin ortamları içinde en başarılı sonuç 0,1 mg/l NAA ile birlikte yüksek miktarda BAP (2 mg/l) ve GA₃ (0,5 mg/l) bulunan ortamda elde edilmiştir. Söz konusu ortamda kallus oluşmaması da bir avantajdır.

Çalışmada genel olarak başarılı sonuçlar elde edilememekle birlikte, birçok araştırmacının aksine, BAP miktarının artması durumunda gelişmenin daha iyi olduğu saptanmıştır. Doku kültüründe çoğaltma sırasında besin ortamlarında sitokininin sürekli olarak bulunması sürgün oluşumunu teşvik etmektedir (Nordstorm and Eliasson, 1986). Besin ortamında BAP'ın düşük konsantrasyonda bulunmasıyla tatminkar sonuçların elde edildiği araştırmalar mevcuttur. Günel (2006), Gisela 5 ve Maxma 14 anaçlarında 0,1 ve 0,5 mg/l BAP'ın tek başına veya 0,01 mg/l 2,4 D ile birlikte kullanılması durumunda başarının daha iyi olduğunu

belirtirken; Büyükdemirci (2008), her iki anaçta da çoğalma için 0,5 mg/l BAP kullanımını önermiştir. Aynı BAP konsantrasyonu PHL-A anaçı için de başarılı bulunmuştur (Mahdavian et al., 2011). Ancak bu çalışmada 1 mg/l ve daha yüksek konsantrasyonlar daha iyi sonuç verdiği gibi, Muna et al (1999)'ün belirttiğinin aksine kallus oluşumunu da teşvik etmemiştir.

SONUÇ

Çalışmada denenen ortamlar içinde sürgün gelişimi ve çoğalması dikkate alındığında 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA + 0,5 mg/l GA₃ içeren MS ortamı diğerlerine göre daha başarılı bulunmuştur. Ancak, ikinci alt kültürden itibaren gelişmede duraklama başladığı için birinci ayın sonunda ana sürgünlerde çoğaltmaya devam

KAYNAKLAR

- Anonim, 1985. Ülkemizdeki Bazı Önemli Orman Tali Ürünlerinin Teşhis ve Tanıtımı Klavuzu. T.C. Tarım Orman ve Köyişleri Bak. Orman Gen. Müd. Yay., Yay. no:659, Seri no:18. Ankara.
- Bošnjak, A.M., S. Kereša, L.H. Jerčić and M. Barić, 2012. The effect of cytokinin type and explant orientation on axillary shoot proliferation and *in vitro* rooting of Gisela 5 cherry rootstock, Journal of Food, Agriculture and Environment, 10 (3&4): 616-620.
- Büyükdemirci, H. 2008. The effects of medium ingredients on shoot propagation and rooting of cherry rootstocks *in vitro*. Acta Horticulturae, 795: 419-422.
- Damiano, C. and M.A. Palombi, 2000. La micropropagazione 20 anni dopo: innovazioni tecniche e ottimizzazione dei protocolli delle colture *in vitro*. Rivista di Frutticoltura, 62: 48-55.
- Davis, D.S., 1972. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Volume 4:19.
- Debnath, S.C., 2004. Clonal propagation of dwarf raspberry (*Rubus pubescens* Raf.) through *in vitro* axillary shoot proliferation. Plant Growth Regulation, 43: 179-186.
- Demiral, S. ve S. Ülger, 2008. Gisela 5 kiraz anaçının doku kültürü ile çoğaltılması üzerine bir araştırma. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21 (1): 117-121.
- Druart, P., 1996. Performance of the GM rootstocks in high density sweet cherry orchards. Acta Horticulturae, 410: 217-266.
- Gerçekçioğlu, R. ve Ç. Çekiç, 1999. Mahalep (*Prunus mahalep* L.) çekirdeklarının çimlenmesi üzerine bazı uygulamaların etkileri. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 23 (1): 145-150.
- Günel, F., 2006. Gisela 5 (*P. cerasus* x *P. canescens*) ve Maxma 14 (*P. mahalep* x *P. avium*) anaçlarından *in vitro* da sürgün elde edilmesi üzerine değişik BAP ve 2, 4- D düzeylerinin etkilerinin belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 56 S.
- Hepaksoy, S., 2004. Maxma 14 Kiraz Anaçının İnvitro Üretimi, Anadolu Dergisi 14 (2): 67-80.
- Hrotkó, K. and G. Simon, 1996. Effect of rootstock on the growth and productivity of cherry trees. Acta Hort. 410, 519-526.
- Iezzoni, A., H. Schmidt and A. Albertini, 1991. Cherries (*Prunus*). Acta Horticulturae, 290, III, 111-173.
- Katzer, G., 2001. Mahlep, <http://www.-ang.kfünigraz.ac.at/katzer/eng/prun.mahhtm/> (Erişim Nisan 2016).

edilmemesi gerektiği ortaya çıkmıştır. Bu çalışma bir tohum anaçı olan pontalebin doku kültüründe vejetatif olarak çoğaltılması üzerine yapılan ilk çalışmadır. Bazı sonuçlar elde edilmekle birlikte, pratiğe uygulanacak nitelikte başarı elde edilememiştir. Ancak, ümitvar sonuçlar ortaya çıkmış olup, bu konuda çalışmaların başka besin ortamları ve değişik hormon konsantrasyonları ile devam ettirilmesi önemlidir. Böylece önemli bir tohum anaçının klon anaçı haline getirilmesi sağlanabilir.

TEŞEKKÜR

"2013ZRFO03" no'lu projenin gerçekleştirilmesinde destek sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.

- Lugli, S., S. Mussachi, M. Grandi, G. Bassi, S. Franchini and M. Zago, 2011. The sweet cherry production in northern Italy: innovative rootstock and emerging high-density plantings. Proceedings of the 3rd Conference "Innovations in Fruit Growing", Belgrade, pp. 75-92.
- Mahdavian, M., N. Bouzari and H. Abdollahi, 2011. Effects of media and plant growth regulators on micropropagation of a dwarfing cherry rootstock (PHL-A). Romania, Bihorean Biologist 5 (2): 86-90. Article No: 11112.
- Muna, A.S., A.K. Ahmad, K. Mahmoud and Abdul-Kade, M. Khoder and K. Abdul-Rahman, 1999. *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 59: 203-208.
- Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
- Muriithi, L.M., T.S. Rangan and B.H. Waite, 1982. *In vitro* propagation of fig through shoot tip culture. HortScience, 17, 1, 86-87.
- Nordstrom, A.C. and L. Eliasson, 1986. Uptake and translocation of C14-labeled benzylaminopurine in apple shoots grown *in vitro* in relation to shoot development. Physiol Plantarum 68 (3): 431-435.
- Perry, R.L., 1987. Cherry rootstocks. In: Rootstocks for Fruit Crops, R.C. Rom and R.F. Carlson (eds.), pp. 217-264. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Ranjit, M. and D.E. Kester, 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.
- Skirvin, R.M. and M.C. Chu, 1979. *In vitro* propagation of "Forever Yours" rose. HortScience, 15 (4): 608-610.
- Šiško, M., 2011. *In vitro* propagation of Gisela 5 (*Prunus cerasus* x *P. canescens*). Agricultura 8: 31-34.
- Trefois, R., 1985. Dwarfing rootstocks for Sweet Cherries. Acta Horticulturae, 169: 147-155.
- Zilkah, S., E. Faingersh and A. Rotbaum, 1992. *In vitro* Propagation of three MxM (*Prunus avium* x *P. mahaleb*) cherry rootstocks. Acta Horticulturae, 314:201-208.