

## Bazı Kiraz Anaçlarının Mikroçoğaltımı Üzerinde Araştırmalar II. Köklenme ve Dış Koşullara Alıştırma<sup>1</sup>

Serra HEPAKSOY<sup>2</sup> Ali TANRISEVER<sup>3</sup>

### Summary

#### Investigations on Micropropagation of Some Cherry Rootstocks II. Rooting and Acclimatization

Nursery tree propagation with clonally propagated dwarf rootstocks is gaining more and more increase in the world each year. This experiment is designed to determine rooting and acclimatization media of invitro shootlets of Gisela 5 and Gisela 6 cherry rootstocks. Rooting ratio of invitro shootlets of Gisela 6 is higher than Gisela 5. Rooting ratio of both rootstocks shoots is % 8.33-33.33 in half concentrated MS medium containing 0, 4, 8 µM IBA or NAA with or without 4.96 µM BA, while media supplemented with 2 g l<sup>-1</sup> active coal is % 25-50. Shoots obtained under in vitro conditions and treated with 666 mg l<sup>-1</sup> NAA solution higher rooted in same rooting media. Peat, volcanic tuff, perlite and mixture of sand, soil and farmland manure (1:1:1) were used for the acclimatization. Peat gave the best results for acclimatization to outdoor conditions.

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

### Giriş

Dünyada meyveciliği gelişmiş ülkelerde fidan üretiminde klon anaçlarının kullanımı yaygındır. Birçok ülkede küçük taç oluşturan, erken meyveye yatan, kritik iklim koşullarında kiraz-vişne yetiştiriciliğine olanak veren, değişik hastalık-zararlılara dayanıklı, aş

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

<sup>2</sup> Doç. Dr., Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bornova, İZMİR e-mail: hepaksoy@ziraat.ege.edu.tr

<sup>3</sup> Prof. Dr., Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bornova, İZMİR e-mail: tanrisever@ziraat.ege.edu.tr

uyuşmazlığı göstermeyen anaçlar elde edebilmek için yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Elde edilen bu anaçların vegetatif yöntemlerle hızlı bir şekilde çoğaltılması da son derece önemlidir. Anaçların doku kültürü yoluyla çoğaltılması halinde, kısa sürede ve zamana bağlı olmaksızın fazla miktarda anaç elde edilmesi yanı sıra, virüsten arı bitki elde etmek de mümkün olabilmektedir. Hızlı ve geniş çaplı üretim için in vitro teknikler bir çok meyve türünün çoğaltılmasında kullanılmaktadır (Bajaj, 1986).

İn vitro üretimde çoğaltma sağlandıktan sonra, köklendirme ve köklü bitkilerin toprağa transferi ve geliştirilmeleri önemli bir aşamadır (Pierik, 1987). Özellikle köklenmesi zor olan türlerde çoğaltmanın başarı ile yapılabilmesine karşın, köklenme sağlanamayabilmektedir. Kiraz ve vişne anaç ile çeşitlerinin in vitro sürgünlerinin köklendirilmesi konusunda çalışmalar bulunmaktadır.

Pierik (1987), alt kültür sayısı ile köklenme arasında ilişki olduğunu, alt kültür sayısının artması ile köklenme oranının arttığını, köklenme için şekerin gerekli olduğunu, IAA'nın bazı durumlarda IBA ve NAA'ya göre daha aktif köklenme sağladığını ve sürgün büyüklüğünün köklenmeyi arttırdığını bildirmektedir.

Duston (1981), F 12/1 (*P. avium*) anacının 8 µM NAA içeren ortamda köklendiğini saptamıştır. Ancak, bu sürgünler kallus oluşturup, meydana gelen kökler birbirlerine yapışmışlar ve daha ince olmuşlardır. Ayrıca, bu şekilde köklenen sürgünler, toprağa transfer edildikleri zaman ölmüşlerdir. 4.0 µM gibi daha düşük NAA ve 4.96 µM BA içeren MS besin ortamında ise, in vitro sürgünlerin köklenmesinin daha iyi olduğu gözlenmiştir. Riffaud ve Cornu (1981), *Prunus avium* sürgünlerinin köklenmesinde, sürgünlerin dikimden önce 5.0 µM IBA'ya batırma ile 5.0 µM IBA içeren besin ortamına dikim arasında herhangi bir farklılık olmadığını tespit etmişlerdir.

Snir (1982), kirazın in vitro çoğaltılması üzerinde detaylı bir araştırma yapmıştır. Araştırmacı, ocak ayında aldığı kiraz kalemlerini önce 4 °C'de karanlıkta birkaç ay bekletmiş, daha sonra, % 80'lik isopropil alkolde 30 dakika tutarak sterilizasyonu yapmış ve 1 mm boyutunda tomurcukları çıkararak değişik besin ortamlarında kültüre almıştır. Elde edilen in vitro sürgünlerin en iyi 1 mg l<sup>-1</sup> IBA, %2 sakkaroz ve % 0.7 agar içeren pH'sı 5.3'e ayarlanan 1/2 oranında seyreltilen MS ortamında köklendikleri tespit edilmiştir. Sürgünlerin köklendirme ortamına dikiminden sonra bir ay içinde ortalama kök sayısı 19.7'ye, ortalama kök uzunluğu 29.5 mm ye ulaşarak, kökler dallanmışlardır. Araştırmada, yaralama ile köklenme arasında olumlu

bir ilişki bulunmuş ve köklenme sırasında kallus oluşumu da gerçekleşmemiştir. Denemede gözlenen diğer bir olay, kullanılan 6 kiraz çeşidinin farklı performans göstermiş olmasıdır. *Prunus avium* (F 12/1 anacı ile Hedelfinger ve Sam kiraz çeşitleri) ve *P.cerasus* (Cer W 10 anacı ile Schattenmorelle, Bascha ve Schwabische Weinweichsel vişne çeşitleri)'un in vitro sürgünlerinin köklenme durumlarını araştıran Paul ve Feucht (1985), en etkili oksinin IBA olduğunu saptamışlardır. Aynı türün farklı çeşitlerinin köklenme potansiyellerinin de farklı olduğu çalışmada ortaya konulmuştur. Mazzard anacının in vitro çoğaltılması üzerinde çalışan Sauer (1985), elde ettiği in vitro sürgünleri, 1/3 oranında seyreltilmiş, 2 mg l<sup>-1</sup> IAA içeren katı veya sıvı MS besin ortamında 25 ± 1°C'de 16 h ışık-8 h karanlık periyotta, 500-600 lux ışık intensitesinde köklendirmiştir. Özzambak ve Schmidt (1991) kirazda yaptıkları çalışmada, Early Burlat ve Viola çeşitleri ile F 12/1 ve 209/1'anaçlarının in vitro sürgünlerini, 1.0 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren yarı yarıya seyreltilmiş MS ortamında köklendirmişlerdir. Fidancı ve ark. (2001), Gisela 5 ve Tabel klon anaçlarının in vitro sürgünlerini, 1/2 MS makro elementleri, MS mikro elementleri ve 1 mg l<sup>-1</sup> IBA içeren besin ortamında köklendirmişlerdir.

İn vitro bitkiler köklendirildikten sonra, dış koşullara aktarma son derece önemli bir aşama olup, koşulların uygun olmaması durumunda, bitkilerdeki kayıplar çok fazla olmaktadır. Dış koşullara transfer sırasında öncelikle bitki kökleri iyice yıkanarak agardan arındırılmalıdır, aksi takdirde küf, mantar, bakteri gibi çeşitli etmenlerin etkisi altında kalır, ayrıca canlı kalma oranı düşer. Hastalıklara karşı fungusit uygulaması yapılabilir. Dikim, odunsu türler için önerilen kum-perlit-torf; torf-perlit-talaş; vermikulit-torf; perlit-talaş; 1:1 veya 1:2 oranlarında torf:perlit; torf:perlit karışımlarına yapılarak, nem ve diğer koşullar yönünden kültür ortamı koşulları sağlanmaya çalışılmaktadır (Oglesby ve Griffis, 1986; Özzambak, 1986; Kytel, 1987; Ranjit ve ark., 1988; Özzambak ve Schmidt, 1991). Özzambak ve Hepaksoy (1997), Heimanns Rubinweichsel vişne çeşidinin in vitro köklü bitkilerinin dış koşullara aktarılması sırasında torf ortamında hem tutum oranının hem de bitki gelişiminin iyi olduğunu saptamışlardır. Fidancı ve ark. (2001), Gisela 5 ve Tabel klon anaçlarının in vitro köklü sürgünlerini eşit oranda karıştırılan torf-perlit ortamına alındıklarında yüksek oranda canlılık elde etmişlerdir.

## **Materyal ve Yöntem**

Gisela 5 ve Gisela 6 kiraz klon anaçlarına ait eksplantların doku kültürü yolu ile çoğaltılan sürgünleri kullanılmıştır. Sürgünlerin in vitro koşullarda köklendirilmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, büyüklükleri ve gelişme durumları mümkün olduğunca aynı olan materyal kullanılmıştır. Böylece, köklenme durumunun sadece besin ortamından etkilenmesi, diğer bütün faktörlerin aynı olması sağlanmaya çalışılmıştır.

Köklendirme çalışmalarında, önce Jones ve Hopgood (1979)'a göre bir, Snir (1982)'e göre iki olmak üzere üç farklı besin ortamı kullanılmıştır. Jones ve Hopgood (1979)'a göre hazırlanan besin ortamının içeriği;

Jones ve ark. (1977) ortamı + 3 mg l<sup>-1</sup> IBA + 0.1 mg l<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>

Snir (1982)'e göre hazırlanan besin ortamlarının içerikleri ise,

Snir ve Erez (1980) ortamı + 0.5 mg l<sup>-1</sup> NAA + 1 mg l<sup>-1</sup> IBA

Hedtrich (1979) ortamı + 0.5 mg l<sup>-1</sup> NAA + 1 mg l<sup>-1</sup> IBA şeklindedir.

Köklendirme çalışmasının daha sonraki aşamasında ise, yarı yarıya seyreltilmiş Murashige - Skoog (MS) besin ortamına IBA ve NAA'nın değişik konsantrasyonları eklenerek denenmiştir. Pierik (1987), büyüme düzenleyici maddelerin etkilerinin belirlenmesinde, karşılaştırmanın mol cinsinden yapılmasının daha doğru sonuçlar verdiğini bildirmesi nedeniyle, adı geçen oksinlerin 0, 4 ve 8 µM konsantrasyonları denenmiştir. Ayrıca BA'nın etkisinin de ortaya konulabilmesi amacıyla ortamlara 0 ve 4.96 µM BA eklenmiştir.

Denenen dokuz farklı besin ortamında da yeterli oranda köklenme elde edilememesi nedeni ile bazı araştırmacıların (Fridborg ve Eriksson, 1975; Eliasson, 1981; Patel ve Thorpe, 1984), aktif kömürün köklenme üzerine olumlu etkisini bildirmeleri nedeniyle aynı içerikteki besin ortamlarına 2 g l<sup>-1</sup> aktif kömür ilave edilerek, aynı besin ortamları tekrar denenmiştir. İn vitro bitkiciklerin aktif kömür içeren bu yeni ortamlara dikimi sırasında iki ayrı yol izlenmiştir. Birincisi, bitkiciklerin dip kısımları kesilerek ortama dikilmesi, diğeri ise, dip kısımlarında kesim yapıldıktan sonra 666 mg l<sup>-1</sup> konsantrasyonundaki NAA çözeltisine 1 sn batırıldıktan sonra besin ortamlarına dikilmesidir. İkinci metotta, hormon uygulamasından sonra, çözeltinin uçması için kısa bir süre beklendikten sonra dikim gerçekleştirilmiştir.

In vitro koşullarda köklendirilen bitkiler, curuf, perlit, torf ve eşit oranda karıştırılan kum-bahçe toprağı-gübre karışımından oluşan harç ortamları kullanılarak dış koşullara adaptasyonları incelenmiştir. Ortamlara dikilen bitkilerin gelişmelerini saptayabilmek amacıyla, tutum oranı, dikim öncesi ve dikimden 6 hafta sonraki kök ve sürgün

uzunlukları ile yaprak sayıları belirlenmiştir. Böylece, bitkilerin ortamlardaki gelişme farklılıkları net olarak ortaya konulmuştur.

### **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

Jones ve Hopgood (1979)'a göre bir, Snir (1982)'e göre iki ortam olmak üzere üç farklı besin ortamına dikilen bitkiciklerde gözlem süresince her hangi bir ölüm gerçekleşmemiş, sadece dikim sırasında meydana gelmiş olabilen birkaç kültürde enfeksiyon görülmüştür. Dikimden 50 gün sonrasına kadar hiçbir ortamda her iki anaca ait kültürlerde kök oluşumu meydana gelmemiştir. Ancak, bitkiler canlılıklarını koruyarak, bir miktar uzamışlardır. 50. günden sonra Snir (1982)'e göre hazırlanan ortamlarda bir iki bitkide kök primordiası meydana gelmiş, 60-65 gün sonra bunlarda iki veya üç kök oluşmuştur. Ancak, diğer kültürlerin hiç birinde bu zamana kadar kök oluşmadığı gibi, bazı kültürlerde kötüleşme başlamıştır. Bu nedenle, denemeye son verilerek 0, 4, 8  $\mu$ M IBA/NAA ile 0 ve 4.96  $\mu$ M BA içeren 1/2 oranında seyreltilen MS besin ortamlarında köklendirme çalışmalarına devam edilmiştir.

Hormon içerikleri farklı olan MS besin ortamlarında, her iki anacın da köklenme oranları oldukça düşük olmuştur. Gisela 5 anacında köklenme %8.33-33.33, Gisela 6 anacında ise, %16.66-33.33 arasında değişmiştir. Her iki anaçta da en düşük köklenme oranı hiç hormon içermeyen kontrol olarak kullanılan besin ortamında gerçekleşmiştir (Çizelge 1). Ancak bu farklılıkların hiç biri istatistiksel anlamda değildir.

Çizelge 1. Gisela 5 ve Gisela 6 anaçlarının 9 farklı MS besin ortamındaki köklenme oranları (%).

<b>Hormon</b> <b>Konsantrasyonu (<math>\mu</math>M)</b>	<b>Köklenme Oranı (%)</b>	
	<b>Gisela 5</b>	<b>Gisela 6</b>
0 NAA / IBA+ 0 BA	8.33	16.66
4 NAA + 0 BA	16.66	33.33
4 NAA + 4.96 BA	25.00	33.33
8 NAA + 0 BA	25.00	33.33
8 NAA + 4.96 BA	25.00	25.00
4 IBA + 0 BA	33.33	25.00
4 IBA + 4.96 BA	8.33	25.00
8 IBA + 0 BA	25.00	33.33
8 IBA + 4.96 BA	33.33	33.33
LSD <sub>0.05</sub> anaç ö.d.	LSD <sub>0.05</sub> ortam ö.d.	LSD <sub>0.05</sub> anaç x ortam ö.d.
ö.d. önemli değil		

Denenen dokuz farklı besin ortamında da yeterli köklenme elde edilememesi nedeni ile, ortamlara aktif kömür eklenmiştir. İn vitro bitkiciklerin aktif kömür eklenen ortamlara dikimi sırasında materyal ve yöntemde açıklandığı gibi, iki ayrı metot uygulanmıştır. Bu besin ortamlarında bitkiciklerin köklenme durumları Çizelge 2’de görülmektedir.

Çizelge 2. Gisela 5 ve Gisela 6 anaçlarının 2 g l<sup>-1</sup> aktif kömür içeren 9 farklı MS besin ortamında, NAA uygulamasının yapılması ve yapılmaması durumundaki köklenme oranları (%).

Hormon Konsantrasyonu ( $\mu$ M)	NAA Uygulaması	Köklenme Oranı (%)	
		Gisela 5	Gisela 6
0 NAA / IBA+ 0 BA	-	25.00	50.00
0 NAA / IBA + 0 BA	+	66.66	83.33
4 NAA + 0 BA	-	25.00	33.33
4 NAA + 0 BA	+	58.33	75.00
4 NAA + 4.96 BA	-	33.33	33.33
4 NAA + 4.96 BA	+	50.00	66.66
8 NAA + 0 BA	-	41.66	41.66
8 NAA + 0 BA	+	58.33	75.00
8 NAA + 4.96 BA	-	50.00	41.66
8 NAA + 4.96 BA	+	66.66	50.00
4 IBA + 0 BA	-	58.33	41.66
4 IBA + 0 BA	+	66.66	66.66
4 IBA + 4.96 BA	-	25.00	25.00
4 IBA + 4.96 BA	+	33.33	50.00
8 IBA + 0 BA	-	33.33	41.66
8 IBA + 0 BA	+	41.66	58.33
8 IBA + 4.96 BA	-	33.33	41.66
8 IBA + 4.96 BA	+	41.66	50.00
LSD <sub>0.05</sub> anaç	0.070**	LSD <sub>0.05</sub> ortam	0.147**
LSD <sub>0.05</sub> NAA uyg	0.070**	LSD <sub>0.05</sub> anaç x ortam	ö.d.
LSD <sub>0.05</sub> anaç x NAA uyg.	ö.d.	LSD <sub>0.05</sub> ortam x NAA uyg.	ö.d.
LSD <sub>0.05</sub> anaç x ortam x NAA uyg.	ö.d.		
- NAA uygulaması yapılmayan ö.d. önemli değil		+ NAA uygulaması yapılan	
	** P $\leq$ 0.01		

Anaçlar açısından köklenme oranı incelendiğinde, Gisela 6 anaçının sürgünlerinde daha yüksek köklenme meydana geldiği görülmektedir. Besin ortamları ve NAA uygulaması dikkate alınmadan

yapılan değerlendirmeye göre, ortalama köklenme oranı Gisela 5 sürgünlerinde %44.90 iken, Gisela 6'da bu oran %51.39 olarak gerekleŒmiŒtir. Gisela 5'de %25.00-66.66 arasında deęiŒen köklenme oranı, Gisela 6'da %25.00-83.33 arasında deęiŒmiŒtir. Besin ortamları arasındaki farklılık incelendiğinde ise, anaç ve sürgünlere yapılan NAA uygulaması dikkate alınmaksızın, en iyi köklenmenin (%58.33) 4  $\mu$ M IBA bulunan ortamda olduğu görülmektedir. Bunu kontrol ortamı (%56.25), 8  $\mu$ M NAA içeren (%54.17), 8  $\mu$ M NAA + 4.96  $\mu$ M BA içeren (%52.08) ortamlar izlemektedir. En dŒk köklenme ise, %36.36 ile 4  $\mu$ M IBA + 4.96  $\mu$ M BA içeren besin ortamında gerekleŒmiŒtir. Görüldüğü gibi 4  $\mu$ M IBA bulunan ortamda en yüksek köklenme elde edilirken, ortama 4.96  $\mu$ M BA eklenmesi köklenmeyi olumsuz yönde etkileyerek, köklenmenin çok azalmasına yol amıŒtır. İstatistiki olarak bir farklılık olmamakla birlikte oksinlerin 4  $\mu$ M konsantrasyonunda bulunması durumunda IBA, NAA'ya göre; 8  $\mu$ M olması durumunda ise NAA bulunan ortamlarda biraz daha iyi sonuç alınmıŒtır. Paul ve Feucht (1985), bazı kiraz ile viŒne türlerinin anaç ve eŒitlerinin in vitro köklenmesi üzerinde IBA'nın en etkili oksin olduğunu bildirmekle birlikte, bu alıŒmada IBA ile NAA arasında belirgin bir farklılık saptanamamıŒtır. Nitekim, Jiangang ve Jishan (1994) benzer bir sonuç bulmuŒtur. BA'nın olumlu etkisi yine çok fazla belirgin olmamakla birlikte NAA ile birlikte kullanılması durumunda Gisela 5 anacında etkisi grlmüŒtr. Duston (1981), F 12/1 (*P. avium*) anacının 8  $\mu$ M NAA içeren ortamda iyi kklenmekle birlikte, daha ince olduklarını ve bu Œekilde köklenen sürgünlerin toprağa transferi durumunda ölümlerin meydana geldiğini, bu nedenle de 4.0  $\mu$ M gibi daha dŒk NAA ve 4.96  $\mu$ M BA içeren MS besin ortamının, in vitro sürgünlerin köklenmesinde daha iyi olduğu bildirmektedir. Ancak bu alıŒmada ortama 4.96  $\mu$ M BA eklenmesi köklenmeyi olumsuz yönde etkilemiŒtir.

Besin ortamına dikimden önce sürgünlerin NAA çözeltisine batırılması, köklenme oranının belirgin Œekilde artmasını saęlamıŒ ve bu farklılık istatistiki olarak önemli olmuŒtur. Anaç ve besin ortamı farkı gözetilmeksizin, NAA uygulaması yapılmayan sürgünlerde köklenme oranı %38.21 iken, NAA uygulaması bu oranı arttırarak %58.80'e ıkarmıŒtır (izelge 2). Gisela 5 anacında en fazla köklü bitki NAA uygulaması yapılarak, 0  $\mu$ M NAA + 0  $\mu$ M BA (kontrol), 8  $\mu$ M NAA + 4.96  $\mu$ M BA ve 4  $\mu$ M IBA + 0  $\mu$ M BA içeren ve aktif kömür ilave edilen 1/2 MS besin ortamına dikilen sürgünlerden elde edilmiŒtir. Gisela 6 anacına ait in vitro sürgünlerde ise en fazla köklenme, hiç hormon içermeyen besin ortamında meydana gelmiŒ ve sürgünlerin

%83.33'ü köklenmiştir. Bu oran, NAA uygulaması yapılmaması durumunda %50 ve besin ortamına aktif kömür eklenmemesi durumunda ise, %16.66 olarak gerçekleşmiştir. Çizelge 1 ve 2 karşılaştırıldığı zaman, besin ortamlarına aktif kömür konulması durumunda her iki anaçta da köklenme oranının arttığı görülmektedir. Bu sonuçlara göre, Gisela anaçlarında köklenmeyi arttırabilmek için ortama aktif kömür ilavesi önerilebilir. Nitekim, Fridborg ve Eriksson (1975) monokotiledon, Eliasson (1981) dikotiledon bitkilerde, Patel ve Thorpe (1984) coniferae familyasına ait bitkilerde ve Grönroos (1987), *Pinus sylvestris* ve *P. contorta*'da benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Elde edilen bulgulara göre, yapılabilecek diğer bir öneri, köklenmeyi sağlamak için sürgünlere hormon uygulaması yapılarak besin ortamına dikimdir. Bu çalışmada hormon olarak  $666 \text{ mg l}^{-1}$  NAA kullanılmış olup, köklenmeyi teşvik edici diğer hormonların da denenmesinde yarar vardır. Hormon tipi yanı sıra, konsantrasyon üzerinde de çalışmalar yapılmalıdır. Bu konuda IBA uygulamalarının başarılı olduğuna dair bazı çalışmalar da mevcuttur (Smith ve Thorpe, 1975; Phillion ve ark., 1983). Sürgünler küçük olduğu için, daha yüksek konsantrasyondaki uygulamaların zararlı olabileceği düşünüldüğünden ve diğer konsantrasyonları denemek için yeterli sürgün bulunmadığı, ayrıca %83.33 gibi yüksek sayılabilecek bir köklenme sağlandığı için, daha yüksek konsantrasyon bu çalışmada denenmemiştir.

Doku kültürü ile üretimin en son ve en önemli aşaması, elde edilen köklü bitkiciklerin dış koşullara aktarılması aşamasıdır. İn vitro koşullarda gelişen köklü bitkicikler yaklaşık %100 oransal nem içeren ortamdan alınarak, yine oransal nemi yüksek olan yerlerde dış koşullara aktararak alıştırmalıdır. Alıştırma sırasında köklü bitkicikler değişik yetiştirme ortamlarına dikilebilirler. Çalışmada, bitkiciklerin gelişimlerinin engellenmemesi için öncelikle köklerindeki agar, akar su altında iyice yıkanarak temizlenmiştir. Daha sonra, bitkicikler bakırlı preparat olan Pomarsol eriyiği ile muamele edilerek, curuf, perlit, torf ve eşit oranda karıştırılan kum-bahçe toprağı-gübre karışımından oluşan harç doldurulan küçük plastik kaplara şaşırtılmışlardır. Sulama yapıldıktan sonra, nemin korunabilmesi için üzerleri naylon örtü ile kapatılmış, biraz büyüdükten sonra, üzerleri gün içinde kademeli olarak açılarak, dış ortama alışmaları sağlanmış, daha sonra da üzerleri tamamen açılmıştır.

Çalışmada yer alan anaçların, alıştırma ortamlarına dikildikten sonraki tutum oranları birbirlerine çok yakın olup, istatistiki açıdan farklılık yoktur. Gisela 5 anacının ortalama tutum oranı %53.33 iken,



Gisela 6 anacının ki biraz daha yüksek (%56.67) olmuştur (Çizelge 3). Görüldüğü gibi, köklü bitkiciklerde kültürden çıkarıldıktan sonraki kayıp, yaklaşık %50 gibi oldukça yüksek bir değerdedir. Zaten, doku kültürü çalışmalarının en zor aşaması alıştırma olup, burada kayıplar fazla olmaktadır. Bu nedenle doku kültüründen çıkarılan bitkilerin, yetiştirme ortamlarına şaşırtıldıktan sonra, öncelikle nem ve sıcaklık kontrollü yerlerde tutulmaları, kademeli olarak dış koşullara ve araziye alınmaları gereklidir. Alıştırma ortamlarında meydana gelen tutum oranları arasında da istatistiki farklılık olmamakla birlikte, her iki anaca ait köklü bitkilerin en yüksek tutumu torf ortamında gerçekleşmiştir.

Çizelge 3. İn vitro köklü bitkiciklerin alıştırma ortamlarındaki tutum oranları (%).

<b>Ortam</b>	<b>Gisela 5</b>	<b>Gisela 6</b>
Curuf	60.00	53.33
Harç	40.00	46.67
Perlit	46.67	53.33
Torf	66.67	73.33
Ortalama	53.33	56.67
LSD <sub>0.05</sub> anaç ö.d.	LSD <sub>0.05</sub> ortam ö.d.	LSD <sub>0.05</sub> anaç x ortam ö.d.
ö.d. önemli değil		

Köklü in vitro bitkiciklerin dört farklı ortamda, 6 haftadaki gelişmeleri incelendiğinde, kök uzunluğu ve yaprak sayısı açısından ortamlar arasında; sürgün uzunluğu açısından da anaçlar ve ortamlar arasında istatistiksel anlamda farklılıklar ortaya çıkmıştır.

Kök uzunluğu en fazla olan bitkiler torf ortamında yetişenler olmuştur. Bunu, perlit, curuf ve harç ortamları izlemiştir (Çizelge 4).

Torf ve perlit bitkilerin köklerini sardığı gibi, gelişme için gevşek bir ortam oluşturduğu için, köklerin gelişimi bu ortamlarda iyi olmuştur. Buna karşılık, curuf kökü çok iyi sarmadığı, harç ise köklerin gelişimi için gevşek bir gelişme ortamı sağlamadığı için bu iki ortam, zaten kök yapısı zayıf olan in vitro bitkicikler için gelişmeyi yavaşlatmış olabilir. Sürgün gelişmesi bakımından incelendiğinde, kök gelişmesinde olduğu gibi, torf ortamında yetişen bitkilerin boyları daha uzun olmuştur. İkinci sırada harç ortamında, daha sonra ise perlit ve curuf ortamlarında yetişen bitkiler yer almaktadır. Yaprak sayısı bakımından bitkilerin geliştikleri ortamlar incelenirse, yine ilk sırada torf ortamında yetişenleri görmekteyiz. Diğer üç ortam arasında farklılık olmamakla birlikte, harç, perlit ve curuf şeklinde sıralanmaktadır (Çizelge 4). Özzambak ve Hepaksoy (1997), köklü in

vitro vişne bitkiciklerinin tutumlarının, perlit ortamında curuf ve torfa göre, gelişmenin ise, torf ortamında, daha iyi olduğunu bildirmekle beraber, bu çalışmada gelişme ile ilgili benzer sonuç bulunurken, tutum oranlarının torf ve curuf ortamlarında perlit ortamına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Çizelge 4. İn vitro köklü bitkiciklerin farklı alıştırma ortamlarında 6 haftalık net gelişme durumları.

Ortam	Ort. Kök Uzunluğu (mm)		Ort. Sürgün Uzunluğu (mm)		Ort. Yaprak Sayısı (Adet)	
	Gisela 5	Gisela 6	Gisela 5	Gisela 6	Gisela 5	Gisela 6
Curuf	39.33	38.00	28.67	36.67	1.33	1.67
Harç	23.67	17.33	54.33	58.67	1.67	1.67
Perlit	55.67	55.67	34.67	41.67	1.67	1.67
Torf	62.00	62.00	61.00	69.00	2.67	3.67
Ortalama	45.17	43.25	44.67	51.50	1.84	2.17
LSD <sub>0.05</sub> anaç	ö.d.		3.568**		ö.d.	
LSD <sub>0.05</sub> ortam	3.453**		5.047**		0.707**	
LSD <sub>0.05</sub> anaç x ortam	ö.d.		ö.d.		ö.d.	

ö.d. önemli değil

\*\* P≤0.01

### Sonuç

Bodur klon kiraz anaçlarından Gisela 5 ve Gisela 6'nın in vitro sürgünlerini, in vitro koşullarda köklendirme ve dış koşullara alıştırma ortamlarının belirlenmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, denenen köklendirme ortamlarında % 8.33 ile 33.33 gibi çok düşük oranlarda köklenme sağlanmıştır. Aynı ortamlara 2 g l<sup>-1</sup> aktif kömür eklenmesi durumunda ise, anaçlara ait sürgünlerin köklenme oranları % 25 ile 50 arasında değişmiştir. Köklenmeyi arttırabilmek amacıyla dikimden önce sürgünlerin NAA çözeltisiyle (666 mg g l<sup>-1</sup>) 1 saniye süre ile muamele edilmesi durumunda ise, köklenme % 33.33 ile 83.33 arasında değişmiştir. NAA uygulaması dikkate alınmadan, ortamlardaki köklenme oranları % 36.67 ile % 54.17 arasında değişmiş olup, en düşük köklenme oranı her iki anaçta da 4 µM IBA + 4.96 µM BA bulunan besin ortamlarında gerçekleşmiştir. Oksin olarak kullanılan NAA ve IBA'nın etkileri bakımından her hangi bir fark tespit edilemediği gibi, denenen 4 veya 8 µM konsantrasyonlar arasında da önemli bir farklılık olmamıştır. Bununla birlikte, elde edilen köklenme oranlarına bakılarak, 4 µM konsantrasyonun 8 µM'e göre daha iyi olduğu söylenebilir.

Doku kültürü ile üretimin en son ve en önemli aşaması, elde edilen köklü bitkiciklerin dış koşullara aktarılmasıdır. Bu çalışmada, ortam olarak curuf, perlit, torf ve eşit oranda karıştırılan kum-bahçe toprağı-gübreten oluşan harç kullanılmış olup, torf ortamında yetişen bitkilerin kök uzunlukları, diğer ortamlarda yetişenlere göre daha fazla olmuştur. Bunu, perlit, curuf ve harç ortamları izlemiştir. Bitkicikler sürgün gelişmesi bakımından incelendiğinde, kök gelişmesinde olduğu gibi, torf ortamında yetişen bitkilerin boyları daha uzun olmuştur. Sürgün uzunluğu açısından ikinci sırada harç, daha sonra da perlit ve curuf ortamlarında yetişen bitkiler yer almaktadır. Bitkilerin meydana getirdikleri yeni yaprakların sayısı bakımından ortamlar incelenirse, yine ilk sırada torf ortamı yer almaktadır. Diğer ortamlar arasında ise önemli farklılık bulunmamaktadır. Bitkilerin gelişmeleri genel olarak değerlendirilirse, torf ve harç, diğer iki ortama göre daha iyi bir gelişim sağlamış olup, torf in vitro bitkilerin dış ortama aktarılması sırasında kullanılabilir uygun bir ortam olarak görülmektedir. Ancak, harç da, karışım oranlarının değiştirilmesi veya karışıma torf, perlit gibi materyallerin ilave edilmesi durumunda köklü bitkilerin tutum oranları da artabilir ve böylece alıştırma için iyi bir ortam olabilir.

### Özet

Dünyada klonal bodur anaç kullanılarak fidan üretimi her yıl artmaktadır. Anaçların çoğaltılma yöntemlerinden biri de doku kültürüdür. Bu çalışmada Gisela 5 ve Gisela 6 kiraz anaçlarına ait in vitro sürgünlerin, in vitro koşullarda köklendirilip, dış koşullara alıştırma ortamları belirlenmiştir. Bu amaçla değişik hormon konsantrasyonları içeren besin ortamları denenmiştir. Gisela 6 anacının sürgünlerinde köklenme oranı Gisela 5'e göre daha yüksek olmuştur. Çalışmada 0, 4, 8 µM IBA veya NAA ile 0, 4.96 µM BA içeren 1/2 MS ortamlarında % 8.33 - 33.33 oranında köklenme gerçekleşirken, aynı ortamlara 2 g l<sup>-1</sup> aktif kömür eklenmesi durumunda köklenme % 25 - 50 olmuştur. Sürgünlerin köklendirme ortamına dikilmeden önce NAA çözeltilisine batırılmaları köklenme oranını arttırmıştır. Köklü in vitro bitkilerin dış ortama aktarılması sırasında torf, perlit, curuf ve harç kullanılmış ve en iyi ortam olarak torf saptanmıştır.

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

### Kaynaklar

- Bajaj, Y.P.S., 1986. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol 1. Trees. Springer, Berlin Heidelberg, New York.
- Dunston, A.I., 1981. Transplantation and post-transplantation of micropropagated tree-fruit rootstocks. Intern. Plant Prop. Soc. Combined Proc., 31: 39 - 45.

- Eliasson, L., 1981. Factors affecting the inhibitory effect of indolylacetic acid on root formation in pea cuttings. *Physiol. Plantarum* 51: 23 - 26.
- Fidancı, A., Burak, M. ve Erenoğlu, B., 2001. Bazı klonal kiraz ve vişne anaçlarının in vitro'da hızlı çoğaltma tekniklerinin belirlenmesi (I. Aşama). 25-28 Eylül 2001. I. Sert Çekirdekli Sempozyumu Bildirileri, s. 167 - 174. Yalova.
- Fridborg, G. and Eriksson, T., 1975. Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. *Physiol. Plantarum* 34: 306 - 308.
- Grönroos, R., 1987. Rooting of *Pinus sylvestris* and *Pinus contorta* hypocotyl cuttings invitro. Uppsala University, Botanical Auditorium, (Unpublished PhD Thesis).
- Jiangang, H. and Jishan, G., 1994. A study on tissue culture of *Ficus carica*. *J. of Nanjing Forestry Uni.*, 18 (3): 73 - 76.
- Jones, O.P. and Hopgood, M.E., 1979. The successful propagation in vitro of two rootstocks of *Prunus*: the plum rootstock Pixy (*P. institia*) and the cherry rootstock F 12/1 (*P. avium*). *J. of Hort. Sci.*, 54: 63 - 66.
- Kyte, L., 1987. Plants from Test Tubes. An Introduction to Micropropagation. Timber Pres. Inc. Portland Oregon. 1 - 159 pp.
- Oglesby and Jr. Griffis, J.L., 1986. Commercial In vitro Propagation and Plantation Crops. In: Tissue Culture as a Plant Production System for Horticultural Crops. (Ed. by: R.H. Zimmerman et al.). Martinus. NijHoff Publishers. Dordrecht. 253 - 259 pp.
- Özzambak, E., 1986. Bazı F<sub>1</sub> hıyar varyetelerinin doku kültürü yolu ile çoğaltılması üzerine araştırmalar. E.Ü. Ziraat Fakültesi, İzmir. Doktora Tezi (Basılmamış).
- Özzambak, E. and Schmidt, H., 1991. In vitro and in vivo micrografting of cherry (*Prunus avium* L.) *Gartenbauwissenschaft*. 56 (5): 221-223.
- Özzambak, E. and Hepaksoy, S., 1997. Investigations on in vitro rooting and acclimatization of sour cherry cv. Heimanns Rubinweichsel. *Acta Hort.*, 447: 153 - 154.
- Patel, K.R. and Thorpe, T.A., 1984. In vitro differentiation of plantlets from embryonic explants of lodgepole pine (*Pinus contorta* Dougl. ex Loud.). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 3: 131 - 142.
- Paul, L. and Feucht, W., 1985. Rooting sweeting sweet and sour cherry cultivars and clones in vitro. *Mitteilungen Klosterneuburg. Rebe und wein*, 35 (2): 69 - 74.
- Phillion, B.J., deWitt, J. and Bunting, W.R., 1983. Propagation of juvenile Scots Pine cuttings under a 24-hour photoperiod. *Tree Planters' Notes*. 34: 39 - 42.
- Pierik, R.L.M., 1987. In Vitro Culture of Higher Plants. Mortinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- Ranjit, M., Kester, D.E. and Polito, V.S., 1988. Micropropagation of cherry rootstocks. III. Correlations between anatomical and physiological parameters and root initiation. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113 (1): 155 - 159.
- Riffaud, J.L. and Cornu, D., 1981. Utilisation de la culture in vitro pour multiplication de meristem adult (*P. avium*) sélectionnés en forêt. *Agronomy* 1: 633 - 640.
- Sauer, A., 1985. In vitro propagation of *Prunus avium* L. and storage of in vitro derived plantlets. *Acta Hort.*, 169: 351.
- Smith, D.R. and Thorpe, T.A., 1975. Root initiation in cuttings of *Pinus radiata* seedlings. II. Growth regulator interactions. *J. Exp. Bot.* 26: 193 - 202.
- Snir, I., 1982. In vitro propagation of sweet cherry. *HortScience* 17 (2): 192 - 193.