



T.C.
Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

KARADUTUN (*Morus nigra* L.) IN VITRO

ÇOĞALTIMI

Emel ŞENGÜL

Yüksek Lisans Tezi

KARADUTUN (*Morus nigra* L.) *IN VITRO*

ÇOĞALTIMI

Emel ŞENGÜL



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KARADUTUN (*Morus nigra* L.) IN VITRO
ÇOĞALTIMI**

Emel ŞENGÜL

Doç.Dr. Ümran ERTÜRK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2012
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Emel ŞENGÜL tarafından hazırlanan “Karadutun (*Morus nigra* L.) *In Vitro* Çoğaltımı” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Ümran ERTÜRK

Başkan: Doç.Dr. Ümran ERTÜRK
U.Ü.Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

İmza

Üye: Prof. Dr. Nuray SIVRETEPE
U.Ü.Ziraat Fakültesi
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

İmza

Üye: Prof. Dr. Nazan DAĞÜSTÜ
U.Ü.Ziraat Fakültesi
Tarla Bitkileri Anabilim Dalı

İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Kadri ARSLAN

Enstitü Müdürü

29/05/2012

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı **beyan ederim.**

29/05/2012

İmza

Emel ŞENGÜL

ÖZ

Yüksek Lisans

KARADUTUN (*Morus nigra* L.) *IN VITRO* ÇOĞALTIMI

Emel ŞENGÜL

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Ümran ERTÜRK

Bu çalışmada karadutun *in vitro* çoğaltım olanakları değerlendirilmiştir. Eksplant olarak karadutun (*Morus nigra* L.) yaşlı ağaçlarından alınan kışlık koltuk tomurcukları ile ilkbaharda sürmenin başlaması ile oluşan yıllık sürgünlerden alınan koltuk tomurcukları ve *in vitro* da çoğaltımı yapılmış 5-6 aylık genç bitkilerden alınan koltuk tomurcukları kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, yaşlı ağaçlardan alınan kışlık koltuk tomurcuklarının daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

Başlangıç kültüründe en iyi sonuçlar, 1 mg/L BA içeren ortamdan elde edilmiştir. Genç bitkilerden alınan eksplantlar başlangıç kültüründe yüksek sürme oranı yanında oldukça yüksek oranlarda kallus oluşturmuştur.

Sürgün çoğaltım aşamasında verim çağındaki ağaçlardan alınan eksplantlarda çoğaltma ve vitrifikasyon oranları dikkate alındığında 3 mg/L BA konsantrasyonunun daha iyi sonuç verdiği görülmüştür. *In vitro* da çoğaltımı yapılmış bitkilerden alınan eksplantlarda ise 2 mg/L BA konsantrasyonu daha başarılı sonuçlar vermiştir.

En yüksek köklenme oranı her üç eksplant tipinde de kontrol ve putresin uygulamalarından elde edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Karadut, mikro çoğaltım, BA, putresin

2012, vii+48

ABSTRACT

MSc Thesis

In Vitro Propagation of Black Mulberry (*Morus nigra* L.)

Emel ŞENGÜL

Uludağ University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Horticulture

Supervisor: Doç. Dr. Ümran ERTÜRK

In this study possibilities of *in vitro* propagation of black mulberry were evaluated. Axillary buds taken from mature trees in winter and spring, and 5-6 months juvenile plants propagated *in vitro* culture were used as explants. According to the results obtained, it was seen that axillary winter buds taken from mature trees gave the best results.

The best results in the initiation culture were obtained from 1 mg/L BA concentration. g/L. In explants taken from juvenile plants generated high sprout rate and callus formation.

The best results in the initiation culture were obtained from 1 mg/L BA concentration. g/L. In explants taken from juvenile plants generated high sprout rate and callus formation.

The highest rooting rate in all three types of explants was obtained from putrescine and control applications.

Key words: *Morus nigra*, micropropagation, BA, putrescine

2012, vii + 48 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve yazım aşamasında yönlendirici katkılarıyla desteğini gördüğüm, bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ümran ERTÜRK'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans Tez çalışmaları esnasında tüm bölüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan U.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı Bölüm Başkanlığı'na içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her konuda olduğu gibi tezimin hazırlanmasında da maddi ve manevi katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili aileme şükranlarımı sunarım.

Emel ŞENGÜL

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	vii
1.GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	11
3.1. Başlangıç Kültürü Aşaması.....	11
3.2. Sürgün Çoğaltım Aşaması.....	14
3.3. Köklendirme Aşaması.....	15
3.4. Dış koşullara Aktarma (Aklimatizasyon).....	16
3.5. Verilerin Değerlendirilmesi.....	16
4.ARAŞTIRMA BULGULARI.....	17
4.1. Başlangıç Kültürü Aşaması.....	17
4.2. Sürgün Çoğaltım Aşaması	20
4.3. Köklendirme Aşaması	24
4.3.1. Dış Koşullara Alıştırma (Aklimatizasyon).....	34
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	35
KAYNAKLAR.....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 4.1. Karadutta farklı eksplant tipi ve BA uygulamalarının başlangıç kültürü aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri.....	18
Çizelge 4.2.‘A’ eksplant tipinde BA uygulamalarının sürgün çoğaltım aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri.....	21
Çizelge 4.3.‘B’ eksplant tipinde BA uygulamalarının sürgün çoğaltım aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri.....	22
Çizelge 4.4.‘C’ eksplant tipinde BA uygulamalarının sürgün çoğaltım aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri.....	23
Çizelge 4.5.‘A’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine farklı uygulamaların etkileri.....	26
Çizelge 4.6.‘B’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine farklı uygulamaların etkileri.....	29
Çizelge 4.7. ‘C’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine farklı uygulamaların etkileri.....	32
Çizelge 4.8. Dış koşullara aktarılan bitkilerin canlı kalma oranları.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1.Başlangıç kültüründe kullanılan eksplantlardan bir görünüm.....	12
Şekil 4.1.Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan ‘A’ eksplant tipinin 4 haftalık gelişme periyodu sonundaki genel görünümleri.....	19
Şekil 4.2.Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan ‘C’ eksplant tipinin 4 haftalık gelişme periyodu sonundaki genel görünümleri.....	20
Şekil 4.3.Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan ‘A’ ve ‘B’ eksplant tiplerinin sürgün çoğaltım aşaması sonundaki genel görünümleri.....	23
Şekil 4.4.Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan ‘C’ eksplant tipinin sürgün çoğaltım aşaması sonundaki genel görünümleri.....	24
Şekil 4.5.Farklı uygulamaların ‘A’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine etkileri...	27
Şekil 4.6.Farklı uygulamaların ‘B’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine etkileri...	30
Şekil 4.7.Farklı uygulamaların ‘C’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine etkileri...	33
Şekil 4.8. Dış koşullara aktarılan karadut bitkileri.....	34

SİMGELER ve KISALTMALAR

KISALTMALAR

BA	:	Benzyladenin
GA ₃	:	Gibberelik asit
IAA	:	Indol-3-Asetik asit
IBA	:	Indol-3-Bütirik Asit
MS	:	Murashige ve Skoog ortamı
NAA	:	Naftalenasetik asit
PA	:	Poliamin

SİMGELER

Atm	:	Atmosfer
°C	:	Santigrat derece
dk	:	Dakika
g	:	Gram
l	:	Litre
mg	:	Miligram
mg/L	:	Miligram/Litre
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
µg	:	Mikrogram
M	:	Molar
µM	:	Mikromol

GİRİŞ

Dut, *Urticales* takımının *Moraceae* familyasından *Morus* cinsine dâhildir. *Morus* cinsi içine giren tür sayısını, Freeman (1978) 12, Huo (2002) 14, Machii ve ark. (2001) 24 ve 1 alt tür, Martin ve ark. (2002) 30'dan fazla, Datta (2002) ise 68 olarak bildirmişlerdir. Meyvesinden faydalanılan ve yaygın olarak yetiştiriciliği yapılan dut türleri *M. alba* L., *M. nigra* L., ve *M. rubra* L.'dir. *M. alba* L.'nin anavatanı Çin, Japonya, Tayland, Malezya ve Birmanya, *M. nigra* L.'nin Türkiye, İran, Arabistan, Rusya'nın Güney Asya'da bulunan kısımları ve Suriye, *M. rubra* L.'nin ise Kuzey Amerika'dır (Bellini ve ark. 2000; Roger 2002). Ancak bu türlerin doğal yayılma alanları insanoğlunun müdahaleleri ile büyük oranda değişime uğramıştır (Zheng ve ark. 1988). Birçok meyve türünde olduğu gibi Anadolu, dutun da anavatanı ve en eski kültür alanlarından birisidir (Özbek 1977).

Dut, farklı iklim ve toprak koşullarına adaptasyon kabiliyetinin yüksek olması nedeniyle, ılıman, tropik ve subtropik iklim bölgelerinde yetişebilen bir meyve türüdür. Özellikle doğu, batı ve güneydoğu Asya, Güney Avrupa, Kuzey Amerika'nın güneyi, Güney Amerika'nın kuzeybatısı ve Afrika'nın bazı bölümlerinde duta yaygın olarak rastlanmaktadır (Datta 2002). Dut soğuk hava koşulları geçmeden tomurcukları sürmeye başlamayan bir meyve türü olması nedeniyle ilkbahar geç donlarından zarar görmez. (Grieve 2002). Bu nedenle, dut özellikle karasal iklimin hüküm sürdüğü yörelerimizde dahi yetiştirilebilen bir meyve türüdür. Ülkemizde en yaygın olarak *M. alba* L. (beyaz dut), *M. nigra* L. (karadut) ve *M. rubra* L. (mordut) türleri bulunmakta ve bunlar özellikle meyveleri için yetiştirilmektedir (Erdoğan ve Aygün 2005). Her ne kadar bu türlerin üretim miktarları istatistiklerde ayrı ayrı yer almasa da ilk sırada beyaz dutun yer aldığı ve karadutunda önemli bir miktarda yetiştirildiği bilinmektedir. Son yıllarda antioksidan maddelerin ve fenolik bileşiklerin insan sağlığına yararları anlaşıldıktan sonra karaduta olan ilginin arttığı gözlenmektedir. Meyve kalitesi bakımından oldukça üstün özelliklere sahip olan birçok genotip, yalnızca kerestesinden yararlanılmak amacıyla kesilerek yok edilmiştir. Dünyada geniş bir yayılış alanına sahip olmasına karşın dut birçok ülkede de hala tanınmamaktadır (Erdoğan ve Aygün 2005).

Karadut ağacı çoğunlukla geniş, yuvarlak tepeli, toplu bir taç yapısına sahiptir (Anşin ve Özkan 1993). Ortalama olarak 15-20 m boyunda ağaçlar oluşturan karadutun 30 m'ye kadar boylanmalarına da rastlanmaktadır. Yapraklar sürgünlere almalı ve sarmal olarak dizilmektedir (Anşin ve Özkan 1993; Tutin 1996). Karadut monoik bir meyve türüdür. Aynı ağaç üzerinde farklı yerlerde bulunan erkek ve dişi çiçekler bir yıllık dallar üzerinde ilkbaharda oluşan dalcıkların yaprak koltuklarında oluşmaktadır (Ağaoğlu ve ark. 1995). Çiçek ekseninde yer alan çiçeklerden oluşan meyvecikler topluluğundan ibaret olan karadut meyvesi “çoklu meyve” (multiple) yapısındadır (Ağaoğlu ve ark. 1995; Lale ve Özçağiran 1996).

Dut diğer meyve türlerinde olduğu gibi, hem generatif hem de vejetatif olarak çoğaltılabilmektedir. Beyaz ve kırmızı dut türlerinin tohumlarında, meyveden çıkarılır çıkarılmaz ekilmeleri durumunda bile, herhangi bir çimlenme sorunu bulunmamaktadır. Karadut tohumlarında ise gibberellik asit uygulamalarıyla çimlenmede başarı elde edilmektedir. Fakat çoğu meyve türünde olduğu gibi, dut türlerinin de özelliklerini kaybetmeden çoğaltılması aşı, çelik, daldırma ve doku kültürü gibi vejetatif çoğaltım yöntemleri ile mümkün olmaktadır (Davis 1982).

Ülkemizde dut fidanı en fazla aşı ile üretilmektedir (Yılmaz 1982). Karadutun aşı ile çoğaltımında, dutun kesim yüzeyinde süt akıntısı meydana gelmesi, göz aşılarında gözün altında genellikle boşluk bulunması ve aşı uyumsuzluğu gibi nedenlerle aşı tutumunda sorunlar yaşanmaktadır. Bunun yanı sıra aşılama zamanı ve yapılan aşı çeşidi de başarıyı etkileyen diğer faktörlerdir (Ayfer ve ark. 1986; Özkan ve Arslan 1996; Yıldız ve Koyuncu 2000). Bu nedenlerden dolayı aşılama çalışmalarından farklı sonuçlar elde edilmektedir. Karadut genellikle beyaz dut çöğürleri üzerine aşılanmaktadır. Beyaz dutun anaç olarak kullanıldığı çalışmada durgun göz aşılarının kış soğuklarından zarar gördüğü, ancak ilkbaharda yapılan kabuk aşılarda % 25 oranında aşı tutma ve tutan aşılarda ise % 76.5 oranında sürme meydana geldiği kaydedilmiştir. En yüksek aşı tutma oranı ise (% 88.3) Haziran ayında yapılan T göz aşısından elde edilmiştir (Vural 2001). Yapılan diğer bazı çalışmalarda ise aşı başarısı durgun göz aşılarında % 6.1, yarma aşıda ise % 46.3 düzeyinde bulunmuştur (Erdoğan ve ark. 2006).

Güneş ve Çekiç (2006)'nın, farklı dut anaçlarının, aşılama zamanlarının ve aşı çeşitlerinin karadutta aşı başarısı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, anaç olarak kara, beyaz, mor ve salkım dut türlerine ait çöğürler kullanılmıştır. Aşılar Mart (sürgün), Haziran (sürgün) ve Ağustos (durgun) aylarında yapılmıştır. Dutlarda kesim yüzeyinde meydana gelen kanama ve süt akıntıları dikkate alınarak, aşı çeşidi olarak T ve ters T göz aşı yöntemleri denenmiştir. Çalışma sonucunda anaçlar ve aşılama yöntemleri arasındaki fark önemli bulunmazken; aşılama zamanları arasındaki fark önemli bulunmuştur. Aşılama zamanları karşılaştırıldığında, en başarılı zamanın durgun aşı dönemi olduğu belirlenmiştir. En yüksek aşı başarısı durgun dönemde yapılan ters T aşılarından (% 69.2); en düşük başarı ise yine aynı yöntem ile yapılan sürgün aşılarından (% 21) elde edilmiştir. Dutun vejetatif olarak çoğaltılması amacıyla yapılan aşı çalışmalarında istenilen başarının sağlanamaması (Miralimov 1963) araştırmacıları diğer vejetatif yöntemleri denemeye zorlamıştır.

Çelikle çoğaltma en ucuz ve pratik çoğaltma yöntemlerinden birisidir. Bu nedenle dutların çelikle çoğaltılması üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda genotip, çelik tipi (odun çeliği, yeşil çelik), çeliğin yaşı, çelik alma zamanı, büyümeyi düzenleyici maddenin tipi, konsantrasyonu, köklendirme ortamı ve sıcaklığı ile dikim şeklinin etkileri incelenmiş ve farklı sonuçlar elde edilmiştir (Alexandrow 1988; Ayfer ve ark. 1986; Baksh ve ark. 2000; Konarlı ve ark. 1977; Ünal ve ark. 1992).

Dut yeşil, yarı odun ve odun çelikleri ile çoğaltılabilmekteyse de yeşil çelikte nem ve sıcaklık kontrolü gerektiğinden çoğunlukla yarı odun ve odun çelikleriyle çoğaltım kullanılmaktadır (Ting-zing ve ark. 1988; Machii ve ark. 2002). Bazı araştırmacılar karadutta yeşil çeliklerde hiç köklenme olmadığını bildirirken (Ayfer ve ark. 1986; Koyuncu ve ark. 2004) bazıları da yüksek sayılabilecek düzeylerde köklenme elde ettiklerini bildirmektedir (Özkan ve Arslan 1996). Erdoğan ve ark., (2006) dut çeliklerinin köklendirilmesi üzerine IBA'nın etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada çelikler dinlenme ve gelişme dönemlerinde olmak üzere iki dönemde alınıp, ısıtmasız sera koşullarında köklendirilmeye çalışılmıştır. Çalışmada 2'si karadut (*Morus nigra* L.) (25-İ-65 ve 25-i-71) ve 8'i beyaz dut (*Morus alba* L.) (25-i-37, 25-İ-57, 25-İ-80, 25-İ-110, 25-İ-123, 25-İ-203, 25-İ-205 ve 25-İ-206) olmak üzere 10 genotip, 3500 ve 4500 ppm IBA ile muamele edildikten sonra perlit ortamında köklendirmeye alınmışlardır.

Temmuz döneminde karadut tiplerinin çeliklerinde köklenme oranı % 0.0-70.0 arasında olurken, beyaz dut tiplerinde bu oran % 3.3-70.0 arasında değişmiştir. Yapılan diğer bazı köklendirme çalışmalarında Ünal ve ark. (1992) kara ve mor dutlarda % 4.1-20.0, Özkan ve Arslan (1996) karadutlarda % 56.7, Koyuncu ve ark. (2004) % 0.0-33.3, Karadeniz ve Şişman (2003) % 0.67-23.4 köklenme yüzdesi elde ederken bu oran beyaz dut çeliklerinde % 51.7 ile % 95.0 düzeylerinde değişmiştir. Soylu ve ark. (1997) ise beyaz dutta odun çeliklerinde % 46.6 - % 96.6 arasında köklenme başarısı elde etmişlerdir. Bu sonuçlar karadut çeliklerinin köklenme performanslarının beyaz duta göre daha zayıf olduğunu göstermektedir.

Karadutun çoğaltılmasında kullanılan diğer bir yöntemde hava daldırmasıdır. Karadut ağacı üzerindeki uygun obur dallar veya genç sürgünlerde hava daldırması yapılarak köklü fidan üretme yoluna gidilmektedir. Ancak bu yöntemle çok az fidan üretimi sağlandığından ticari bir yetiştiricilik için talep edilen ihtiyacı karşılamak mümkün değildir. Karadutun çeşit özelliğini kaybetmeden çoğaltılabilmesi için, farklı vejetatif çoğaltma yöntemleriyle çoğaltmada başarının artırılması gerekmektedir.

Dutun çoğaltılmasında birçok türde olduğu gibi kısa sürede çok sayıda sağlıklı bitki üretilmesine izin veren, *in vitro* çoğaltım yöntemlerinden de yararlanılmaktadır. Dünya’da karadutun *in vitro* çoğaltımı üzerine az sayıda çalışma yapılmış olup (Yadav ve ark. 1990), ülkemizde ise bu konuda yapılmış sadece birkaç çalışma (Yıldız ve Yılmaz 1999) bulunmaktadır.

Bu çalışmada, karadutta fidan üretimini sağlamak amacıyla *in vitro* çoğaltım yöntemlerinden yararlanma olanağı araştırılmış ve rutin bir üretim için en uygun eksplant tipi, başlangıç, sürgün çoğaltım ve köklendirme aşamalarında kullanılabilecek en uygun hormon düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

In vitro çoğaltım; bütün bir bitki oluşturma yeteneğine sahip hücre, doku veya organ gibi bitki kısımlarından, yapay besi ortamlarında ve aseptik şartlarda hızlı bir şekilde bitki elde edilmesine olanak sağlayan ve birçok bitki hücre kültürü yöntemlerinde kullanılan çoğaltma tekniğidir (Debergh ve Zimmerman 1993; Hazarika 2006). Eğer bitkilerin uygun besin maddeleri ihtiyacı, hormon ve kültür istekleri yeterince biliniyorsa, *in vitro* teknikler kullanılarak tüm bitki türlerinin üretilmesi mümkündür (Mansuroğlu ve Gürel 2001). *In vitro* tekniklerin bitki yetiştiriciliği ve genetiği yönünden önemli avantajları vardır. Bu teknikler kısa sürede hızlı ve kitlesel üretime izin verdiği gibi, bitki materyalinin hastalıklardan arındırılmış olarak üretilmesine de olanak sağlamaktadır. Ayrıca kaybolmakta olan türlerin korunması ve çoğaltılması zor olan türlerin üretiminde de çeşitli doku kültürü yöntemleri rutin olarak uygulanmaktadır (Babaoğlu ve ark. 2001). Dutun da içerisinde bulunduğu üzüksü meyve türlerinin çoğaltılmasında doku kültürü yöntemleri önemli bir yer almaktadır (Zimmerman 1991).

Dutta yapılan doku kültürü çalışmalarının bazılarında başarılı sonuçların alındığı kaydedilmiştir. Sharmila ve ark. (1990), sürgün ucu eksplantlarında tek bir eksplanttan 20 adet bitkicik oluştuğunu ve dutun doku kültürü ile ticari olarak üretilebileceğini bildirmişlerdir. Dutun doku kültürü ile çoğaltılması konusunda yapılan çoğu çalışmada MS ortamından (Patel ve ark. 1983; Bapat ve ark. 1987; Tewary ve ark. 1989; Jain ve ark. 1990; Sharmila ve ark. 1990; Sharma ve Thorpe 1990; Tewary ve Rao 1990; Yadav ve ark. 1990), bazı çalışmalarda Snir ortamından (Ivanicka 1987), bazılarında ise Linsmaier ve Skoog's ortamından (Jain ve Datta 1992) başarılı sonuçlar alınmıştır.

Karadutların *in vitro* çoğaltımı üzerine yapılan çalışmalarda kullanılan eksplant tipinin başarıyı önemli derecede etkilediği kaydedilmiştir. Jain ve ark. (1990) dört farklı dut türünde yaptıkları doku kültürü çalışması sonucunda, uç gözlerden alınan eksplantların yan gözlerden alınanlara göre daha iyi sürgün oluşturduğunu kaydetmişlerdir. Gerek duyulan hormon konsantrasyonu açısından ise tür, çeşit ve eksplant tipine bağlı olarak bazı farklılıklar olduğu bildirilmiştir (Jain ve ark. 1990; Sharma ve Thorpe 1990). Dut türlerinin doku kültürü ile çoğaltılması konusunda araştırma yapan diğer bazı araştırmacılar da benzer görüşler bildirerek, en uygun hormon uygulamasının türlere (Jain ve ark. 1990) ve eksplant tipine (Sharmila ve ark. 1990) bağlı olarak değiştiğini

bildirmişlerdir. Yine Patel ve ark. (1983) yaptıkları çalışmada gövde ve yaprak sapı eksplantlarından kallus, uç tomurcuklarından alınan eksplantlardan ise sürgün oluşumunun meydana geldiğini belirtmişlerdir. Sharma and Thorpe'de (1990) sürgün gelişiminde yan tomurcukların pozisyonunun etkili olduğunu, dalların alt kısımlarındaki tomurcukların üst kısımlarındakine göre daha iyi sonuç verdiğini bildirmişlerdir.

Yıldız ve Yılmaz (1999) karadutun doku kültürü ile çoğaltılabilme imkanlarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, 4 farklı hormon (BA, 2-4 D, Kinetin, ve GA₃) ve bunların 5 farklı dozunun (0.1, 0.5, 1, 5, 10 mg/L) ilave edildiği MS temel besi ortamını kullanmışlardır. Eksplantlar olgun ağaçların sürgün ucundan ve koltuk tomurcuklarından alınmıştır. Araştırma sonucunda, eksplant başına en fazla sürgün (4.1 adet) 5 mg/L kinetin uygulanan sürgün ucu eksplantlarından alınmıştır. Enfeksiyon oranının sürgün ucu eksplantlarında, koltuk tomurcuğu eksplantlarına göre daha az olduğu belirlenmiştir. Sürgün ucu eksplantları gelişme oranı ve kardeşlenme sayısı açısından, koltuk tomurcuklarına göre daha avantajlı bulunmuştur.

Yadav ve ark. (1990), MS temel ortamında kültüre alınan karadutlarda hem sürgün ucu hem de koltuk tomurcuklarından alınan eksplantlarda en iyi sürgün gelişiminin 1 mg/L BA uygulamasından elde edildiğini bildirmişlerdir.

Tewary ve Rao (1990) ise beyaz dut ile yaptıkları çalışmada sürgün ucu eksplantlarında sürgün geliştirmek için en iyi hormon konsantrasyonunun 1 veya 2 mg/L BA olduğunu bildirmişlerdir.

Morus alba'nın doku kültürü ile çoğaltımı üzerine yapılan bir çalışmada başlangıç ortamı olarak MS +2.0 mg/L BA + 0.1 mg/L NAA, çoğaltma ortamı olarak MS +2.0 mg/L BA + 0.20 mg/L NAA + 1.0 mg/L GA₃ önerilirken, köklendirmede 1/2 MS + 0.2 mg/L NAA + 0.5 mg/L IBA ortamından en iyi sonuçların alındığı belirtilmiştir (Jian 2006).

Kim ve ark.(1985) beyaz dutta yaptıkları bir araştırmada, dutun kotiledon, yaprak, hipokotil ve sürgün ucu eksplantlarını kullanmışlardır. Besin ortamı olarak MS ve AE (Von Arnold and Eriksson) ortamları kullanılmış ve bu ortamlara farklı konsantrasyonlarda BA ve NAA ilave edilmiştir. 2 mg/L BA içeren besin ortamında

kotiledon kültüründe 4-5 gün sonra sürme gerçekleşirken, genç yapraklar, hipokotil ve sürgün ucu eksplantlarında 10-15 gün sonra sürme meydana gelmiştir. Başlangıç ortamında 4-6 hafta tutulan eksplantlar NAA ve BA'nın farklı konsantrasyonlarında kültüre alınmıştır. En iyi gelişim ve çoğalmanın 1 mg/L BA içeren besin ortamında gerçekleştiği belirtilmiştir.

Oka ve Ohyama (1981), sürgün ve tohumlardan yetişen beyaz dut bitkilerinden alınan yaprak eksplantlarını MS ortamında kültüre almışlardır. Değişen BA konsantrasyonlarına bağlı olarak yapraklarda anormallikler tespit edilmiştir.

Kiran ve ark. (1989), beyaz dutun yaşlı ağaçlarından alınan koltuk tomurcuklarını kullanarak yaptıkları çalışmada en yüksek kardeşlenmeyi % 3 sukroz ve 2.5 µM N6-BA içeren MS ortamından alınmıştır. Seralarda büyütülen 3-4 yaşındaki bitkilerin koltuk tomurcuklarının kültüre alınması ile de benzer sonuçlar elde edilmiştir. *In vitro*'da oluşan sürgünler köklendirmeye alınmış ve içerisinde % 0.05 veya % 0.1 aktif kömür bulunan ortamlarda 2 haftada kök oluşumunun sağlandığı belirtilmiştir. Köklenmiş sürgünler kum-vermikulit (1:1) karışımına aktarıldığında % 100 başarı elde edilmiştir.

Morus alba'da yapılan bir çalışmada sürgün ucu ve koltuk tomurcuğu eksplantlarının 5 mg/L BA + 1.1 mg/L kinetin içeren MS besin ortamında çok hızlı çoğalma sağladığı gözlenmiş ve en yüksek köklenme 0.5 mg/L IBA içeren MS besin ortamında tespit edilmiştir (Balakrishnan ve ark. 2009).

Morus alba L.'nin 3 çeşidi Chinese White, Kokuso-27, Ichinose ve *M. multicaulis* Perr.'in 2 çeşidi Goshierami ve Rokokuyaso'nun yaşlı ağaçlarından alınan sürgün ucu ve koltuk tomurcuğu eksplantlarından yararlanılarak *in vitro* çoğaltımları yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada koltuk tomurcuğu eksplantlarının, sürgün ucu eksplantlarından daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir. Sürgün oluşumu için en etkili sitokinin BA olarak belirlenirken, en uygun ortam Murashige and Skoog olarak belirlenmiştir. Sukroz'un sürgün çoğaltımı için en uygun karbon kaynağı olduğu görülmüştür. 4-5 alt kültüre kadar sürgün çoğalma hızında artış olduğu fark edilmiştir. Köklendirmede oksinler oldukça etkili görülmüştür. Chinese White, Ichinose, Kokuso-27 ve Rokokuyaso'nun koltuk tomurcuğu eksplantlarında kök oluşumu, her eksplanttaki kök sayısı ve kök

uzunluğu en yüksek 0.5 mg/L ve 1 mg/L NAA içeren ortamda gözlenmiştir. (Bhau ve Wakhlu 2003).

Anis ve ark. (2003), BA ve kinetin içeren MS ortamında beyaz dutun koltuk tomurcuğu eksplantlarında % 80 ve sürgün ucu eksplantlarında % 70 sürme olduğunu bildirmişlerdir. En iyi sürgün çoğaltımı her iki eksplant tipinde de 2 mg/L BA ve 0.2 mg/L NAA ilaveli MS ortamında gözlenmiştir. Her iki eksplant tipinin çoğaltımında 2 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA + 25 mg/L aspargin + 1 mg/L glutamin içeren MS ortamı kullanılmıştır. Bu içerikteki besin ortamında koltuk tomurcuklarının sürmesi ve sürgün uzamasının kolaylaştığı belirlenmiştir. MS ortamına 1 mg/L NAA ilavesi ile % 80 köklenme elde edilmiştir.

Morus indica'nın koltuk tomurcukları ile *in vitro* koşullarda yapılan çalışmada 2.4 D (0.3 mg/L) ilave edilmiş MS ortamında % 80 sürme gözlenmiştir. Başlangıç ortamı olarak 0.5 ve 1 mg/L BA kullanılmıştır. Çoğaltma aşamasında ise 0.5, 1, 1.5 ve 4 mg/L BA konsantrasyonları kullanılmıştır. En iyi çoğalmanın 4 mg/L BA ve 0.05 mg/L GA₃ bulunan MS ortamında meydana geldiği tespit edilmiştir. Fakat BA konsantrasyonu arttıa sürgün uzunluğunun azaldığı belirlenmiştir. 1 mg/L 2.4 D içeren köklendirme ortamında 30 gün süreyle bekletilen sürgünlerde % 87.6 oranında köklenme elde edilmiştir (Chitra ve Padmaja 1999).

Mei-Chun (2002), *Morus latifolia*'nın yaşlı ağaçlarından alınan koltuk tomurcuklarında en yüksek köklenme (% 85) oranını ½ MS'te, % 2 fruktoz ve 1 mg/L IBA bulunan ortamdan elde etmiştir. En iyi çoğalma oranı ise % 2 fruktoz, 2 mg/L BA ve 1 mg/L IBA içeren ortamda grlmştir.

Morus laevigata'da yapılan çalışmada 5 mg/L BA içeren MS besin ortamında sürgün çoğaltma oranının arttığı ancak yüksek oranda BA içeren besin ortamlarında sürgün uzunluğunun düşük olduğu grlmştir (Pattnaik ve ark. 1996).

Morus laevigata'nın 10 yaşındaki ağaçlarından alınan koltuk tomurcukları, MS besin ortamında BA'nın farklı konsantrasyonlarında (0.5-5.0 mg/L) kültüre alınmıştır. *In vitro*'da çoğaltılan sürgünlerden alınan koltuk tomurcukları sürgün çoğaltımının en yüksek görüldüğü 2.5 mg/L BA içeren besin ortamında kültüre alınmıştır. Tekrarlanan

alt kültürler sonucu 6. alt kültüre kadar hızlı bir sürgün çoğaltımının olduğu gözlenmiştir. MS içerisine 0.1 mg/L IBA ve 0.1 mg/L NAA ilavesi yapılarak köklenme ortamına alınan sürgünlerde 5 hafta sonra köklerin geliştiği gözlenmiştir. (Hossain ve ark. 1992).

Islam ve ark. (1993), *Morus laevigata* 'nın mikro çoğaltımında eksplant olarak koltuk tomurcuklarını kullanmışlar ve çoğaltma ortamında 2,5 µM, 5 µM, 10 µM, 15 µM BA konsantrasyonlarını denemişlerdir. En fazla sürgün oluşumu 10 µM BA içeren MS ortamında, en yüksek sürgün uzunluğu ise 5 µM BA'lı besin ortamında görülmüştür. Köklenme ortamı olarak ½ MS + 0,5 µM IBA kullanıldığında en yüksek kök sayısı ve kök uzunluğu elde edilmiştir.

In vitro koşullarda kök oluşumu, besin ortamı, bitkinin genetik yapısı, büyümeyi düzenleyiciler, alt kültürlerin sürgün kalitesi, fotoperiod, ışık yoğunluğu ve kalitesi gibi faktörler tarafından etkilenmektedir. Odunsu bahçe bitkileri otsulara göre daha zor köklenmektedirler. Adventif kök oluşumunda oksinler tek başına etkili olmayıp diğer bileşikler de etkilidir (Gaspar ve ark. 1994). Bu bileşiklerden Putresin, Kadaverin, Spermidin ve Spermin olarak 4 tipi poliaminlerin bitkilerde kök oluşumu üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (Smith ve ark. 1979). Poliaminler hücre farklılaşması, gelişmesi ve bölünmesine düşük konsantrasyonlarda etki ederler (Gallardo ve ark. 1996). Dışarıdan poliamin uygulamalarının köklenmeyi uyarıcı etkisi, bitkinin türüne ve sürgünün fizyolojik durumuna bağlı olarak değişmektedir. Poliaminlerden putresin zeytinde tek başına ya da oksin ile birlikte kök oluşumunu arttırmıştır. Yine odunsu bitkilerden badem, elma, kayısı, kestane, Çin armudu, armut ve cevizde karartma ve dışarıdan putresin uygulamasının köklenme üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılan çalışmada, *in vitro* da köklenme ortamına putresin ilavesinin armutta köklenme yüzdesini arttırdığı, elma da ise dışarıdan putresin uygulamasının karartma ile birlikte uygulandığında köklenmeyi arttırdığı gözlenmiştir. Cevizde putresin ve karanlık uygulamalarının köklenmeyi önemli oranda arttırdığı, kestane ve bademde ise etkili olmadığı görülmüştür. Putresinin zeytinde erken köklenmeyi teşvik ettiği, oksinle birlikte uygulandığında ise köklenme yüzdesini arttırdığı görülmüştür (Rugini and ark. 1992).

Zilkah ve ark. (2006), *in vitro* da ‘GF-677’ sürgünlerinin köklenmesi üzerine putresin ve hidrojen peroksidin etkilerini araştırmak için yaptıkları çalışmada köklenme yüzdesi üzerine IBA ile birlikte putresin ve hidrojen peroksit uygulamalarını karşılaştırmışlardır. Putresin (1 mM) ve hidrojen peroksit (1 M’lık çözeltiye 2 sn daldırılmış) köklenme yüzdesini % 42 ve % 35’e kadar yükseltmiştir. Hidrojen peroksidin sürgünlerdeki kök ağırlığını % 190, sayısını % 110, uzunluğunu % 64 arttırdığı, putresinin ise ağırlığı % 110, sayıyı % 106 oranında arttırdığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, Türkiye’de son yıllarda insan sağlığı açısından önemi ve talep edilen fidan miktarı artmaya başlayan karadutun (*Morus nigra* L.) *in vitro* çoğaltılmasında, eksplant tiplerinin, başlangıç, çoğaltma ve köklendirme ortamında kullanılan büyümeyi düzenleyicilerin etkilerinin belirlenmesi üzerinde çalışılmıştır.

3.MATERYAL ve YÖNTEM

Bu araştırma 2010-2011 yıllarında Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümüne ait doku kültürü laboratuvarında yürütülmüştür. Ülkemizde karadutun tescillenmiş bir çeşidi olmadığından, halk arasında ekşi kara adı verilen çeşitten eksplant alınarak çalışma gerçekleştirilmiştir.

Karadut'da (*Morus nigra* L.) *in vitro* çoğaltım denemeleri başlangıç, sürgün çoğaltımı ve köklendirme olmak üzere 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. Bu aşamalarda kullanılan materyal ve yöntemler aşağıda verilmiştir.

3.1. Başlangıç Kültürü Aşaması

In vitro çoğaltım denemelerinde, başlangıç kültüründe,

-Verim çağındaki karadut ağaçlarından alınan, 1 yaşlı sürgünler üzerinde bulunan, pulları tamamen temizlenmiş uyur koltuk tomurcukları (**eksplant A**)

-Verim çağındaki ağaçlardan, vejetasyon başlangıcında, yıllık sürgünlerden alınan koltuk tomurcukları (**eksplant B**)

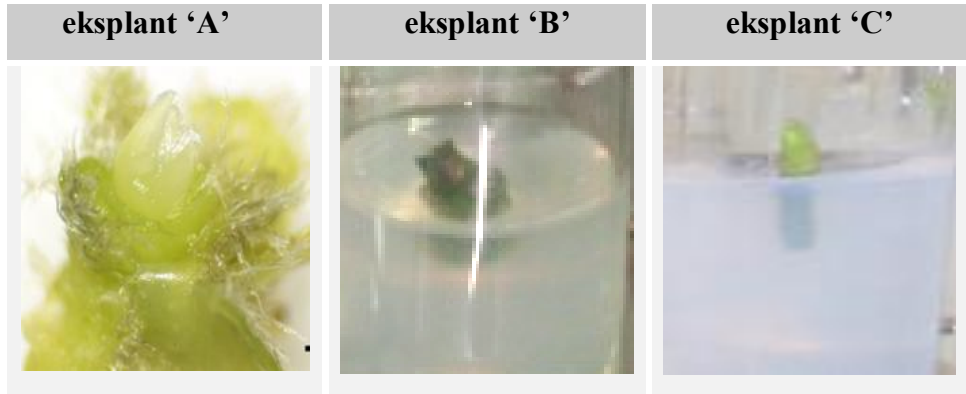
-*In vitro* da çoğaltımı yapılarak dış koşullara aktarılan 5-6 aylık bitkilerden alınan koltuk tomurcukları (**eksplant C**) eksplant olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1) .

1 yaşlı sürgünler üzerindeki uyur koltuk tomurcuklarından eksplant hazırlamak amacıyla sürgünler kış dinlenmesini tamamladıktan sonra kesilerek laboratuara getirilmiş tomurukların kabarması ve pulların gevşemesi amacı ile 4-5 gün suda bekletilmiştir. Bekletme sırasında çeliklere bir kez % 0.2'lik fungisit (Thiram) uygulaması yapılmıştır. Tomurcuklarda kabarma gerçekleştiğinde dıştaki tomurcuk pulları pens yardımıyla temizlenmiştir. Dış pulları temizlenen tomurcuklar sterilizasyon işlemine tabi tutulmuş ve daha sonra mikroskop altında kalan pullar temizlenerek ortama dikilmiştir (Eksplant A).

Büyüme dönemindeki koltuk tomurcuklarının eksplant olarak kullanılması amacıyla vejetasyon başlangıcında yıllık sürgünler üzerindeki tomurcukların belirginleştiği dönemde, sürgünlerin uç kısımlarından 5-10 cm uzunluğunda yeşil çeliklerden yararlanılmıştır. Çelikler alındıktan sonra üzerindeki tüm yapraklar, yaprak sapının bir

kısmı sürgün üzerinde kalacak şekilde temizlenmiş, steril saf su içerisinde konularak, hızla doku kültürü laboratuvarına getirilmiş ve sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur (Eksplant B).

In vitro çoğaltımı yapılarak elde edilen 5-6 aylık bitkilerden alınan koltuk tomurcuklarının eksplant olarak kullanılması amacıyla, vejetasyon başlangıcında sürgünler üzerindeki tomurcukların belirginleştiği dönemde, sürgünlerin uç kısımlarından 3-6 cm uzunluğundaki yeşil çeliklerden yararlanılmıştır. Çelikler alındıktan sonra üzerindeki tüm yapraklar temizlenip, yaprak sapının bir kısmı sürgün üzerinde bırakılmış ve hızla sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur (Eksplant C).



Şekil 3.1. Başlangıç kültüründe kullanılan eksplantlardan bir görünüm

Sterilizasyon aşamasında, eksplantlar Soylu ve Ertürk (1999) tarafından kestaneler için kullanılan, sterilizasyon işlemlerine tabi tutulmuşlardır. 'B' ve 'C' eksplant tipleri için tomurcuklar akan su altında 60 dk yıkanmış, diğer eksplant tipi (eksplant A) için ise bu uygulama yapılmamıştır. Daha sonra bütün eksplantlar % 3'lük CuSO_4 çözeltisinde, arada bir çalkalanarak 20 dk, % 70'lik etil alkolde ise 1 dk tutulmuştur. Bu uygulamalardan sonra steril saf su ile çalkalanan eksplantlar % 15'lik (v/v) NaOCl (%6-14 klorak içeren Merch) ve birkaç damla Tween 20 içeren çözeltiye alınmış ve burada 15 dk tutulduktan sonra 3'er kez 5 dk olacak şekilde steril saf su ile çalkalanarak, yüzey sterilizasyonu işlemi tamamlanmıştır.

Sterilizasyondan sonra eksplantlar (B ve C) boğumun alt ve üst kısmından, 0.4-0.6 cm kalacak şekilde kesilmiş ve besin ortamına tomurcuk yüzeyde kalacak şekilde dikilmiştir.

Başlangıç kültürü aşamasında, 30 g/L sukroz, 7 g/L agar, MS vitamin (M-6896, Sigma), 0.5 ve 1 mg/L BA ilave edilen Murashige ve Skoog (MS; M-5524, Sigma) besin ortamı kullanılmıştır.

Besin ortamlarının pH'sı, 0.1 N HCl ve 0.1 N NaOH kullanılarak 5.8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar, ısıtıcı üzerinde kaynamaya başlayana kadar (92 °C) tutulmuş ve sonra 25 x 150 mm'lik kültür tüplerine yaklaşık 15 ml olacak şekilde doldurularak 121 °C'de 1.1 atm basınçta 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Kültür tüplerine her tüpte bir eksplant olacak şekilde dikim yapılmıştır. Deneme, her bir BA konsantrasyonu ve eksplant tipi için 3 tekerrürlü kurulmuş, değerlendirmeler her tekerrürde 10 eksplant kullanılarak yapılmıştır.

Dikim sonrası kültür tüpleri 4 hafta süreyle 25±1°C'de, 16 saat fotoperiyotta 3000 lux florasan lamba altında kültüre alınmıştır

4 haftalık gelişme periyodu sonunda, başlangıç kültüründe kullanılan BA konsantrasyonları ve eksplant tiplerinin karşılaştırılması amacıyla, eksplantlarda aşağıdaki parametreler değerlendirilmiştir.

Enfeksiyon oranı (%): Bakteriyel, fungal ya da diğer mikroorganizmalar ile bulaşma sebebiyle enfeksiyon gelişimi gözlenen eksplantların, toplam eksplant sayısına oranını ifade etmektedir.

Kararma oranı (%): Oksidasyon sonucunda dokularında kararma oluşan eksplantların, toplam eksplant sayısına oranını ifade etmektedir.

Kallus gelişme oranı (%): Üzerinde kallus oluşumu gözlenen eksplantların, toplam eksplant sayısına oranını ifade etmektedir.

Sürme oranı (%): 4 haftalık kültür boyunca tomurcukları patlayıp sürme meydana gelen eksplantların, toplam eksplant sayısına oranını ifade etmektedir.

Sürgün uzunluğu (mm): Kültür ortamında gelişen sürgünlerin uzunluğunu ifade etmektedir. Sürgün uzunluğu cetvel yardımı ile ölçülmüştür.

Boğum sayısı/sürgün (adet): Kültür ortamında büyüyen sürgünlerde oluşan boğum sayısını ifade etmektedir.

3.2. Sürgün Çoğaltım Aşaması

Sürgün çoğaltım aşamasında, eksplant olarak 0.5 ve 1 mg/L BA konsantrasyonlarını içeren başlangıç ortamından elde edilen 1.5-2.0 cm uzunluktaki 2 boğumlu sürgünler kullanılmıştır.

Sürgün çoğaltım aşamasında, 'A' ve 'B' eksplant tiplerinden elde edilen sürgünler 3 ve 5 mg/L BA, 'C' eksplant tipinden elde edilen sürgünler ise 2 ve 3 mg/L BA konsantrasyonlarında kültüre alınmıştır. Çoğaltım ortamı olarak 30 g/L sukroz, 7 g/L agar ve vitamin (M-6896, Sigma) içeren MS (MS-5524, Sigma) besin ortamı kullanılmıştır. Hazırlanan ortamlar 400 ml'lik cam kavanozlara yaklaşık 50 ml olacak şekilde doldurulmuş ve 121 °C'de 1.1 atm basınçta 20 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Kültür kavanozlarındaki besin ortamına, her kavanozda 3 eksplant olacak şekilde dikim yapılmış; deneme her eksplant tipi ve BA konsantrasyonunda 3 tekerrür ve her tekerrürde 3 kavanoz olacak şekilde düzenlenmiştir.

Sürgünler 4 hafta süreyle 25±1 °C'de, 16 saat fotoperiyotta florasan lamba altında kültüre alınmıştır.

Çoğaltma ortamındaki 4 haftalık gelişme periyodu sonucunda ortamlardan çıkartılan sürgünlerde aşağıdaki parametreler incelenmiştir;

Çoğalma oranı: Bir eksplantta 4 haftalık kültür süresince oluşan tomurcuk ve sürgünlerin sayısını ifade etmektedir.

Eksplant taze ağırlığı (mg): 4 haftalık kültür süresince eksplantın ulaştığı ağırlığı ifade etmektedir. Tartımlar maksimum 150 g kapasiteli, 0.001 g hassasiyette çalışan Sartorius BL 150 S model terazi ile yapılmıştır.

Sürgün uzunluğu (mm): 4 haftalık gelişme dönemi sonunda eksplantlardaki sürgünlerin ulaştığı uzunluğu ifade etmektedir. Sürgün boyu cetvel yardımı ile ölçülmüştür.

Vitrifikasyon oranı (%): 4 haftalık gelişme dönemi sonunda vitrifikasyon gösteren sürgünlerin oranını ifade etmektedir.

3.3. Köklendirme Aşaması

Köklendirme aşamasında eksplant olarak 2-3 boğumlu sürgünler kullanılmıştır. Köklendirme denemeleri başlangıç kültüründe tanımlanan eksplant tipi ve çoğaltım aşamasında kullanılan BA konsantrasyonlarına göre ayrı ayrı oluşturulmuştur. Köklendirme aşamasında 30 g/L sukroz, 7 g/L agar ve vitamin (M-6896, Sigma) ilave edilmiş ½ MS (MS-5524, Sigma) içeren besin ortamı kullanılmıştır. Köklendirme ortamları kontrol (hormonsuz ortam), 0.5 mg/L IBA, 1 mg/L IBA, putresin (160 mg/L), putresin (160 mg/L) + 0.5 mg/L IBA, putresin (160 mg/L) + 1 mg/L IBA ihtiva edecek şekilde hazırlanmıştır. Kültür ortamı olarak 8 cm yükseklikte 210 ml'lik cam kavanozlar kullanılmış, her kavanoza yaklaşık 40 ml besin ortamı konulmuştur. Besin ortamının pH ayarlaması ve sterilizasyonu önceki aşamalarda belirtildiği gibi yapılmıştır.

Sürgünler köklendirme ortamlarına alınmadan önce, çoğaltma ortamından büyümeyi düzenleyici içermeyen 30 g/L sukroz, 7 g/L agar ve vitamin içeren MS ortamına aktarılmışlar ve 2 hafta süreyle bu ortamda tutulmuşlardır. Daha sonra eksplantlar 10 gün süreyle köklendirme ortamlarına alınmıştır. Bu süre sonunda eksplantlar tekrar hormon içermeyen ½ MS ortamına aktarılmış ve burada 25 gün süreyle kültüre alınmıştır. Sürgünlerde kök oluşumu 35 gün sonra belirlenmiştir.

Deneme, kontrol, IBA, putresin ve putresin + IBA uygulamaları için 3 tekerrür ve her tekerrürde 3 kavanoz olacak şekilde düzenlenmiş, her kavanoza 3 adet eksplant dikilmiştir.

Eksplantlar, başlangıç ve sürgün çoğaltım aşamalarında belirtilen koşullarda köklenmeye alınmıştır. Köklenmenin sağlanması için etkili uygulamanın tespit

edilebilmesi amacıyla, kültür süresi sonunda eksplantlarda aşağıda belirtilen parametreler incelenmiştir.

Köklenme oranı (%): Köklenen bitkiciklerin, toplam eksplant sayısına oranını ifade etmektedir.

Kök sayısı/sürgün (adet): Kültür sonunda her bir sürgünde oluşan toplam kök sayısını ifade etmektedir.

Kök uzunluğu (mm): Kültür sürecinde oluşan köklerin uzunluğunu ifade etmektedir. Her bir sürgünde oluşan bütün köklerin ölçülmesiyle elde edilmiştir.

Sürgün uzunluğu (mm): Köklenme ortamına alınan sürgünlerin 5 haftalık kültür boyunca ulaştıkları uzunluğu ifade etmektedir. Ölçümler cetvel yardımı ile yapılmıştır.

3.4. Dış Koşullara Aktarma (Aklimatizasyon)

Agar ortamından alınan köklenen bitkicikler dış ortam koşullarına aktarılırken, kökler üzerindeki agar musluk suyu ile yıkanarak temizlenmiştir. Sonra bu bitkicikler, içerisinde hindistancevizi lifi (cocopeat) + torf (1:1) bulunan küçük plastik saksılara dikilmiş ve nem kontrolü olmayan ortam koşullarına alınmıştır. Saksıların üzeri ortam nemini artırmak amacıyla ilk üç gün tamamen streç film ile kapatılmıştır. Daha sonra streç film kademeli olarak açılarak bitkilerin dış koşullara alıştırılması sağlanmıştır.

3.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Denemeler neticesinde elde edilen tüm verilerin varyans analizleri 0.05 önemlilik seviyesinde ve JMP 7 bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar 0.05 önemlilik seviyesinde LSD testi ile saptanmıştır. Başlangıç ve çoğaltım kültürü denemeleri tesadüf parselleri deneme desenine 2 faktörlü, köklendirme aşaması ise tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 faktörlü kurulmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Başlangıç Kültürü Aşaması

Karadutta yapılan başlangıç kültürü ile ilgili olarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’ de verilmiştir. İncelenen parametrelerden enfeksiyon, sürme, sürgün uzunluğu değerlerindeki farklılıkların, BA konsantrasyonu, eksplant tipi ve eksplant tipi x BA konsantrasyonu interaksyonundan, kararma, kallus ve boğum sayısı/sürgün değerlerindeki farklılıkların ise eksplant tipi, eksplant tipi x BA konsantrasyonu interaksyonundan kaynaklandığı görülmüştür (Çizelge 4.1).

Karadutta enfeksiyon oranı, eksplant tipi ve büyümeyi düzenleyici interaksyonuna bağlı olarak değerlendirildiğinde ise % 0 ile % 32.2 arasında değişen bir seyir izlemiştir. ‘A’ eksplant tipinde enfeksiyon oranı, besin ortamındaki BA konsantrasyonlarına göre % 6.2 ve % 8.3 arasında değişmiştir. ‘B’ eksplant tipinde ise her iki BA konsantrasyonunda da en yüksek değerleri vermiş ve enfeksiyon oranı % 32.2’e ulaşmıştır. ‘C’ tipi eksplantlarında ise enfeksiyon oranı % 0.0 -% 1.5 aralığında değişen değerleriyle ‘A’ ve ‘B’ eksplant tiplerine göre en düşük enfeksiyon oranını vermiştir (Çizelge 4.1).

Kararma oranında ‘A’ ve ‘C’ tipi eksplantlarda, ‘B’ tipine göre oldukça düşük değerler vermiştir. Kararma oranı ‘B’ tipi eksplantlar da % 25.1 - %25.5 düzeylerinde meydana gelmiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Karadutta farklı eksplant tipi ve BA uygulamalarının başlangıç kültürü aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri

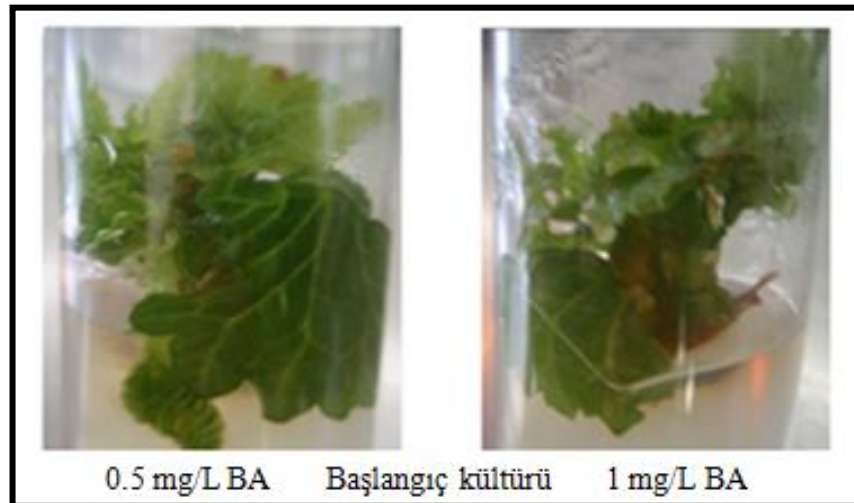
	Enfeksiyon Oranı (%)	Kararma Oranı (%)	Kallus Gelişme Oranı (%)	Sürme Oranı (%)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Boğum sayısı/ Sürgün (adet)
Eksplant tipi x BA uygulamaları						
A x 0.5 mg/L BA	8.3 c*	0.9 b	14.2 b	60.9 d	14.3 c	1.7 c
B x 0.5 mg/L BA	32.2 a	25.5 a	13.6 b	44.1 e	18.1 b	1.8 c
C x 0.5 mg/L BA	1.5 d	2.1 b	76.6 a	100.0 a	16.6 b	3.0 a
A x 1 mg/L BA	6.2 c	1.2 b	27.4 b	81.6 b	20.9 a	2.2 bc
B x 1 mg/L BA	23.2 b	25.1 a	20.9 b	68.1 c	20.6 a	2.0 bc
C x 1 mg/L BA	0.0 d	1.3 b	70.0 a	100.0 a	17.5 b	2.6 ab
Varyans analizi						
Eksplant tipi	**	**	**	**	**	**
BA uygulamaları	**	öd	öd	**	**	öd
Eksplant tipi x BA uygulamaları	**	**	**	**	**	**

* İncelenen parametreler bazında eksplant tipi x BA uygulamaları interaksyonu bakımından ortaya çıkan farklılıklar; ** 0.05 düzeyinde önemlidir; öd: önemli değildir.

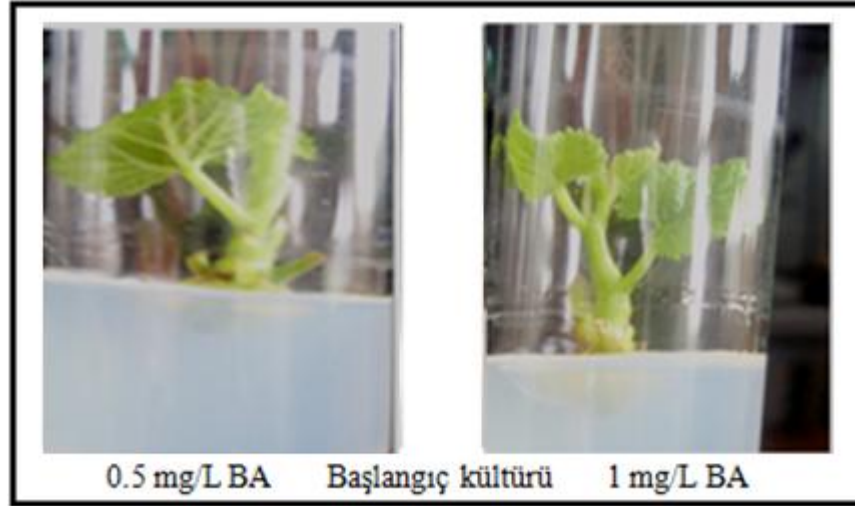
Kallus gelişim oranı eksplant tipi ve BA uygulamaları interaksiyonuna bağlı olarak değerlendirildiğinde 'C' eksplant tipinde 0.5 ve 1 mg/L BA konsantrasyonlarında % 76.6 - 70.0 oranında tespit edilirken, 'A' (% 14.2 – % 27.4) ve 'B' eksplant tiplerinde (% 13.6 – % 20.9) birbirine yakın ve 'C' tipi eksplantlarına göre düşük kallus değerleri verdiği belirlenmiştir.

Sürme oranı 'C' eksplant tipinde her iki BA konsantrasyonunda da % 100 olurken, bu oran 'A' eksplant tipinde 0.5 ve 1 mg/L BA konsantrasyonunda % 60.9 - %81.6 ve 'B'de ise % 44.1 – 68.1 düzeylerinde meydana gelmiştir. Her üç eksplant tipinde de 1 mg/L BA konsantrasyonu en yüksek sürme oranlarını vermiştir.

Farklı BA konsantrasyonlarını içeren besin ortamına dikilen eksplantlardan kültür sonunda meydana gelen yeni sürgünlerin uzunlukları karşılaştırıldığında, sürgün uzunluğu üzerine ortamdaki BA konsantrasyonunun etkisi, eksplant tipine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. 0.5 mg/L BA içeren besin ortamında 'A' eksplantları 14.3 mm'lik sürgün uzunluğu ile görülürken, 1 mg/L BA'da bu değer 20.9 mm olmuştur. Yine 'B' eksplantları 1 mg/L BA konsantrasyonunun, 0.5 mg/L BA'a göre üstünlüğü görülürken, 'C' eksplantlarında bu etki belirgin olmamıştır (Çizelge 4.1; Şekil 4.1 ve 4.2).



Şekil 4.1. Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan 'A' eksplant tipinin 4 haftalık gelişme periyodu sonundaki genel görünümü



Şekil 4.2. Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan ‘C’ eksplant tipinin 4 haftalık gelişme periyodu sonundaki genel görünüşleri

Boğum sayısı/sürgün parametresinde ‘C’ eksplantları 0.5 mg/L BA içeren besin ortamında 3.0 (adet) değeriyle en yüksek sonucu verirken, bunu 1 mg/L BA konsantrasyonunda elde edilen 2.6 (adet) değeri izlemiştir. Bu parametrede en düşük değerler ise 0.5 mg/L BA konsantrasyonunda ‘A’ ve ‘B’ eksplant tiplerinde sırasıyla 1.7 (adet) ve 1.8 (adet) olarak elde edilmiştir (Çizelge 4.1).

4.2. Sürgün Çoğaltım Aşaması

Sürgün çoğaltım aşamasında kullanılan farklı BA (2, 3 ve 5 mg/L) konsantrasyonlarının etkilerini belirlemek amacıyla incelenen parametreler eksplant tiplerine göre ayrı değerlendirilmiş ve bunlar ‘A’ eksplant tipi için Çizelge 4.2’ de, ‘B’ eksplant tipi için Çizelge 4.3 ve ‘C’ eksplant tipi için Çizelge 4.4’te verilmiştir.

3 ve 5 mg/L BA konsantrasyonlarında çoğaltıma alınan ‘A’ eksplant tipinde elde edilen sonuçlara göre parametrelerin, ortamdaki BA konsantrasyonuna bağlı olarak bazı farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir.

‘A’ eksplant tipinde, çoğalma oranı bakımından elde edilen sonuçlar, başlangıç ortamı BA konsantrasyonları ile birlikte değerlendirildiğinde, en iyi sonuç başlangıç ortamında 1 mg/L BA’da gelişen ve çoğaltım aşamasında 3 mg/L BA’ya aktarılan eksplantlardan 7.7 olarak elde edilmiştir. Bu sonuç, 0.5 mg/L BA’dan 3 ve 5 mg/L BA’ya aktarılan eksplantlarda sırasıyla 6.9 ile 4.7 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Eksplant taze ağırlığı bakımından elde edilen bulgular başlangıç ortamı BA konsantrasyonları ile birlikte değerlendirildiğinde 0.5 mg/L'den 3 mg/L BA konsantrasyonuna aktarılanlarda, eksplant taze ağırlığı 3300,0 mg ile en yüksek değeri vermiştir. Diğer BA konsantrasyonlarında ise daha düşük ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (Çizelge 4.2).

Sürgün uzunlukları 0.5 mg/L'den 5 mg/L BA'ya aktarılan eksplantlarda 19.3 mm, 1 mg/L'den 3 ve 5 mg/L BA'ya aktarılan eksplantlarda ise 19.8 mm ve 20.7 mm olarak belirlenmiştir. 0.5 mg/L'den 3 mg/L BA'ya alınan eksplantlar 16.2 mm değeriyle en düşük sürgün boyunu vermiştir (Çizelge 4.2; Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. 'A' eksplant tipinde BA uygulamalarının sürgün çoğaltım aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri

BA Uygulamaları (mg/L)		Çoğalma Oranı	Eksplant Taze ağırlığı (mg)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Vitrifikasyon Oranı (%)
Başlangıç	Çoğaltım				
0.5	3	6.9 ab*	3300.0 a	16.2 b	5.3 c
0.5	5	4.7 c	2350.0 b	19.3 a	18.8 b
1	3	7.7 a	2050.0 b	19.8 a	15.5 b
1	5	5.8 bc	2110.0 b	20.7 a	32.5 a
Varyans analizi					
Başlangıç (A)		öd	**	**	**
Çoğaltım (B)		**	öd	**	**
A x B		**	**	**	**

* İncelenen parametreler bazında başlangıç x çoğaltım ortamı BA uygulamaları interaksyonu bakımından ortaya çıkan farklılıklar; ** 0.05 düzeyinde önemlidir; öd: önemli değildir.

Vitrifikasyon oranı başlangıç ve çoğaltım ortamındaki BA konsantrasyonlarına bağlı olarak değerlendirildiğinde en yüksek vitrifikasyon oranı % 32.5 ile 1 mg/L'den 5 mg/L BA'ya aktarılan eksplantlarda görülürken, bunu % 18.8 ile 0.5 mg/L'den 5 mg/L BA'ya aktarılanlar takip etmiştir. En düşük vitrifikasyon oranı ise % 5.3 değeri ile 0.5 mg/L'den 3 mg/L BA'ya aktarılan eksplantlarda görülmüştür (Çizelge 4.2).

'B'eksplant tipinde elde edilen çoğalma oranı, başlangıç ortamı BA konsantrasyonları ile birlikte değerlendirildiğinde 0.5 ve 1 mg/L BA'dan 3 mg/L BA'ya aktarılan eksplantlarla benzerlik göstermekle birlikte (5.4 ve 5.8), 5 mg/L BA'ya aktarılanlara (4.1 ve 4.2) göre daha yüksek değerler vermiştir. (Çizelge 4.3).

Eksplant taze ağırlığı, başlangıç kültürü ve çoğaltım ortamındaki BA konsantrasyonlarına bağlı olarak farklılık göstermemesine rağmen başlangıç kültüründe 1 mg/L BA'dan 3 mg/L BA'ya aktarılan eksplantların taze ağırlıklarının, diğer BA konsantrasyonlarına göre daha yüksek sonuç (3300.0 mg) verdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

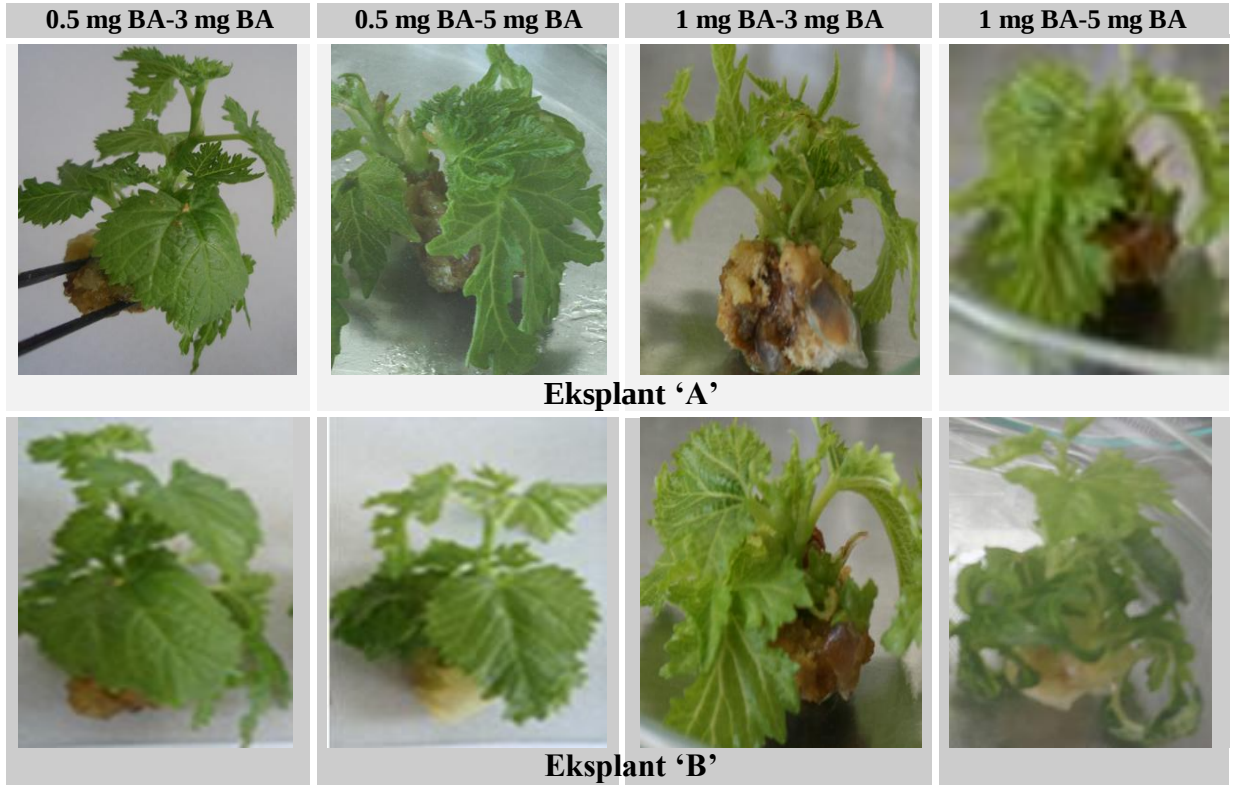
'B' eksplant tipinde sürgün uzunluğu açısından yapılan değerlendirmelerde başlangıç ortamında 0.5 mg/L konsantrasyonunda tutulan ve çoğaltım ortamında 3 ve 5 mg/L BA'ya aktarılan eksplantlarda sırasıyla 20.4 mm, 20.2 mm, 1 mg/L'den 3 ve 5 mg/L BA'ya aktarılanlarda 19.8 mm ile 21.6 mm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.3; Şekil 4.3).

Çizelge 4.3.'B' eksplant tipinde BA uygulamalarının sürgün çoğaltım aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri

BA Uygulamaları (mg/L)		Çoğalma Oranı	Eksplant Taze ağırlığı (mg)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Vitrifikasyon Oranı (%)
Başlangıç	Çoğaltım				
0.5	3	5.4 a *	3280.0	20.4	5.1d
0.5	5	4.1 b	2910.0	20.2	30.8 b
1	3	5.8 a	3300.0	19.8	15.5 c
1	5	4.2 b	2980.0	21.6	41.9 a
Varyans analizi					
Başlangıç (A)		öd	öd	öd	**
Çoğaltım (B)		**	öd	öd	**
A x B		**	öd	öd	**

* İncelenen parametreler bazında başlangıç x çoğaltım ortamı BA konsantrasyonu interaksyonu bakımından ortaya çıkan farklılıklar; ** 0.05 düzeyinde önemlidir; öd: önemli değildir.

Vitrifikasyon oranı artan BA konsantrasyonuna bağlı olarak artış göstermiştir. En yüksek vitrifikasyon oranı başlangıçta 1 mg/L BA konsantrasyonunda ve çoğaltım aşamasında 5 mg/L BA'ya aktarılan eksplantlarda (% 41.9) elde edilirken, bunu 0.5 mg/L BA'dan 5 mg/L BA'ya (% 30.80) aktarılanlar takip etmiştir. Başlangıç kültüründe 0.5 mg/L BA'da kültüre alınan ve çoğaltım aşamasında 3 mg/L BA'ya (% 5.1) aktarılan eksplantlarda daha düşük vitrifikasyon görülmüştür (Çizelge 4.3.).



Şekil 4.3. Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan ‘A’ ve ‘B’ eksplant tiplerinin sürgün çoğaltım aşaması sonundaki genel görünüşleri

‘C’ eksplant tipinde elde edilen çoğalma oranı, başlangıç ve çoğaltım kültüründeki BA konsantrasyonlarına göre önemli farklılık göstermemiş ve birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Yine sürgün uzunluğu değerlerinde de BA konsantrasyonlarına bağlı olarak önemli bir fark görülmemiş, uzunluklar 26.7 mm ile 31.6 mm arasında değişiklik göstermiştir (Çizelge 4.4; Şekil 4.4).

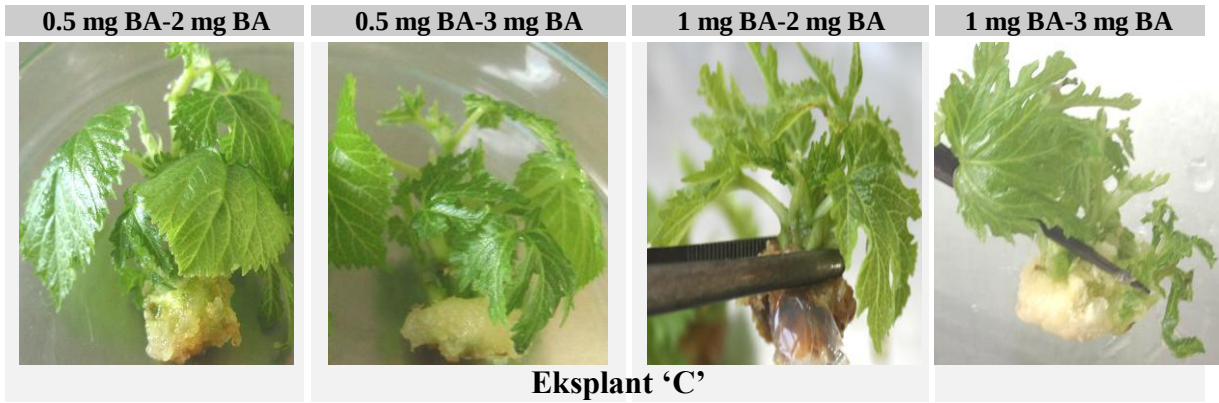
Çizelge 4.4. ‘C’ eksplant tipinde BA uygulamalarının sürgün çoğaltım aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri

BA Uygulamaları (mg/L)		Çoğalma Oranı	Eksplant Taze ağırlığı (mg)	Sürgün Uzunluğu (mm)	Vitrifikasyon Oranı (%)
Başlangıç	Çoğaltım				
0.5	3	7.2*	3210.0 bc	30.1	40.7 b
0.5	5	7.2	4150.0 ab	26.7	77.7 a
1	3	6.8	2890.0 c	27.0	11.1 b
1	5	7.1	4940.0 a	31.6	44.4 b
Varyans analizi					
Başlangıç (A)		öd	**	öd	**
Çoğaltım (B)		öd	öd	**	**
A x B		öd	**	öd	**

* İncelenen parametreler bazında başlangıç x çoğaltım ortamı BA uygulamaları interaksyonu bakımından ortaya çıkan farklılıklar; ** 0.05 düzeyinde önemlidir; öd: önemli değildir.

‘C’ eksplantlarında BA konsantrasyonlarının eksplantların taze ağırlıkları üzerine etkisi incelendiğinde, en yüksek değer 1 mg/L’den 3 mg/L BA’ya aktarılan eksplantlarda (4940.0 mg) görülmüştür, en düşük değer ise 1 mg/L’den 2 mg/L BA’ya aktarılan eksplantlardan (2890.0 mg) elde edilmiştir (Çizelge 4.4).

Vitrifikasyon oranında % 77,7 ile en yüksek değer başlangıç ortamında 0,5 mg/L BA konsantrasyonunda, çoğaltım aşamasında 3 mg/L BA konsantrasyonuna alınan eksplantlarda olurken, en düşük değer % 11,1 ile 1 mg/L’den 2 mg/L BA konsantrasyonuna aktarılan eksplantlardan elde edilmiştir. (Çizelge 4.4).



Şekil 4.4. Farklı BA konsantrasyonlarında kültüre alınan ‘C’ eksplant tipinin sürgün çoğaltım aşaması sonundaki genel görünüşleri

4.3. Köklendirme Aşaması

Köklendirme aşamasında yapılan denemelerde elde edilen sonuçlar ‘A’ eksplant tipi için Çizelge 4.5’te, ‘B’ eksplant tipi için Çizelge 4.6’da ve ‘C’ eksplant tipi için Çizelge 4.7’de verilmiştir. Elde edilen bulgular, incelenen tüm parametrelerde uygulamalara göre farklılıkların olduğunu ve bu farklılıklarında istatistikî açıdan önemli olduğunu göstermiştir.

‘A’ eksplant tipi kullanılarak yapılan denemelerde, tüm uygulamalarda köklenme elde edilmiş; ancak köklenme oranları uygulamalara bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir. Başlangıç ve sürgün çoğaltım aşamasındaki farklı BA konsantrasyonları ile köklenme ortamındaki uygulamalar birlikte değerlendirildiğinde, en yüksek köklenme oranı % 92.5 - % 96.2 değerleri ile putresin uygulamalarından elde edilmiş, bunu % 62.9 - % 92.5 arasındaki değerler ile kontrol uygulamaları izlemiştir. ‘A’ eksplant tipinde en

düşük köklenme oranı % 3.7 değeri ile başlangıç kültürü aşamasında 0.5 ve 1 mg/L BA'da bulunan ve çoğaltım aşamasında 3 ve 5 mg/L BA'ya alınan ve köklenme aşamasında putresin+1 mg/L IBA uygulamasına aktarılan eksplantlarda görülmüştür. (Çizelge 4.5; Şekil 4.5).

Kallus oluşumu incelendiğinde, kök oluşumu zayıf olan uygulamalarda kallus oluşumunun yüksek olduğu gözlenmiştir. Kontrol ve putresin uygulamalarında kallus oranı daha düşük olurken, özellikle 0.5 ve 1 mg/L IBA, putresin+0.5 mg/L IBA ve putresin+1 mg/L IBA uygulamalarında, % 62.9- % 96.2 değerleri arasında değişen oldukça yüksek kallus oluşumları gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

'A' eksplant tipinde yine bütün uygulamalar birlikte dikkate alındığında kök sayısı bakımından en yüksek değerler putresin uygulamalarından (6.4 – 6.8 adet) elde edilmiştir. En düşük değerler ise putresin+0.5 mg/L IBA ve putresin+1 mg/L IBA uygulamalarından elde edilmiştir. En yüksek 6.8 (adet) olan kök sayısı 1 mg/L BA içeren başlangıç ortamından 3 mg/L BA içeren çoğaltım ortamına ve köklendirmede putresin uygulamasına aktarılan bitkiciklerde gözlenirken, en düşük değer 0.2 (adet) ile 1 mg/L BA'dan 5 mg/L BA'ya ve putresin+1 mg/L IBA'ya aktarılan sürgünlerden elde edilmiştir.

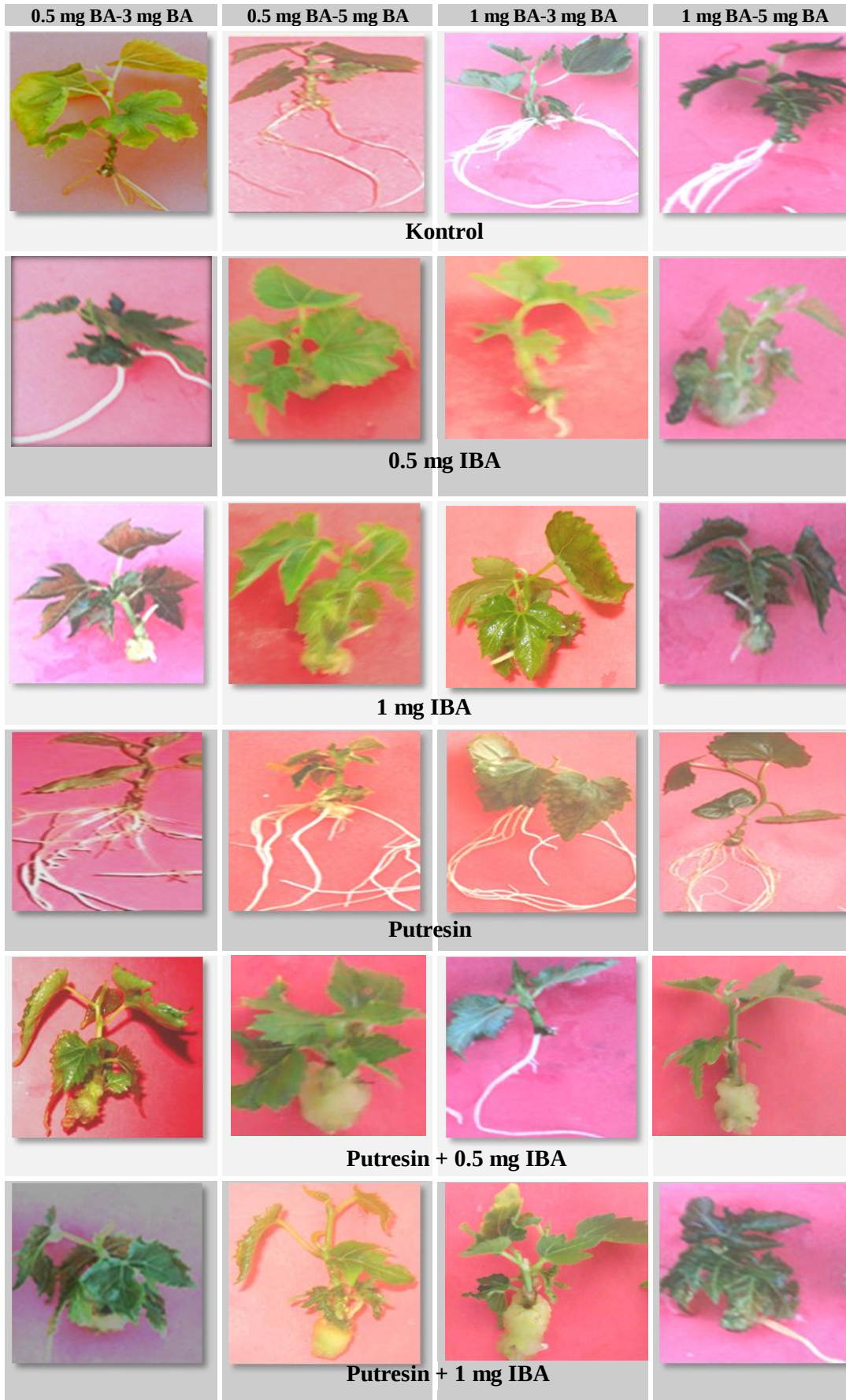
Kök uzunluğu parametresinde, 0.5 mg/L BA'dan 5 mg/L BA'ya daha sonra putresine aktarılan sürgünlerde 79.9 mm değeri ile en yüksek olurken, en düşük değer ise 1 mg/L BA'dan 5 mg/L BA'ya ve putresin+1 mg/L IBA uygulamasına aktarılan eksplantlardan elde edilmiştir (Şekil 4.5).

Köklendirme aşaması sonucunda, köklenmeye alınan sürgünlerin uzunlukları karşılaştırıldığında, birkaç istisna hariç, genellikle köklenme oranı yüksek olan uygulamalardaki sürgün uzunluklarının diğer uygulamalara göre daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. En yüksek sürgün uzunluğu 27.3 mm ile 0.5 mg/L BA'dan 3 mg/L BA'ya ve putresine aktarılan bitkiciklerde görülürken, en düşük değer 17.2 mm ile 1 mg/L'den 5 mg/L BA'ya ve putresin+1 mg/L IBA uygulamasına aktarılan eksplantlardan elde edilmiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. ‘A’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine farklı uygulamaların etkileri

Başlangıç BA uygulamaları (mg/L)	Çoğaltım ortamı BA uygulamaları (mg/L)	Köklendirme uygulamaları	Köklenme oranı (%)	Kallus (%)	Kök sayısı/ Sürgün (adet)	Kök uzunluğu (mm)	Sürgün uzunluğu(mm)
0.5	3	Kontrol	74.0 b*	7.4 e	2.0 defghı	37.9 cde	23.6 abcde
		0.5 mg IBA	29.6 cd	70.3 cd	1.7 efghıj	52.8 bcd	22.0 bcdef
		1 mg IBA	18.5 def	81.4 abc	1.5 fghıj	37.9 cde	20.1 defg
		Putresin	92.5 a	3.7 e	6.4 a	69.4 ab	27.3 a
		Put+0.5 mg IBA	37.0 c	62.9 d	3.6 bc	63.9 ab	24.4 abcd
		Put+1 mg IBA	11.1 ef	88.8 ab	1.4 ghıj	31.4 def	20.7 cdefg
0.5	5	Kontrol	62.9 b	7.4 e	2.7 bcdefgh	47.0 bcd	21.9 bcdef
		0.5 mg IBA	29.6 cd	70.3 cd	3.8 b	67.2 ab	24.8 abc
		1 mg IBA	37.0 c	62.9 d	3.3 bcde	50.1 bcd	22.5 bcdef
		Putresin	92.5 a	7.4 e	6.5 a	79.9 a	21.6 bcdef
		Put+0.5 mg IBA	33.3 cd	66.6 cd	2.7 bcdefgh	60.6 abc	20.1 defg
		Put+1 mg IBA	3.7 f	96.2 a	0.7 ıj	11.5 f	19.9 efg
1	3	Kontrol	70.3 b	7.4 e	3.0 bcdef	57.9 abc	21.9 bcdef
		0.5 mg IBA	25.9 cde	74.0 bcd	2.1 cdefghı	45.7 bcd	21.5 bcdefg
		1 mg IBA	25.9 cde	74.0 bcd	2.8 bcdefg	38.8 cde	23.4 abcde
		Putresin	96.2 a	3.7 e	6.8 a	69.4 ab	25.1 ab
		Put+0.5 mg IBA	25.9 cde	74.0 bcd	2.3 bcdefgh	47.1 bcd	21.2 bcdefg
		Put+1 mg IBA	3.7 f	96.2 a	1.2 hıj	11.2 f	21.3 bcdefg
1	5	Kontrol	92.5 a	7.4 e	3.4 bcd	64.7 ab	21.6 bcdefg
		0.5 mg IBA	18.5 def	81.4 abc	2.0 defghı	37.6 cde	21.1 bcdefg
		1 mg IBA	18.5 def	81.4 abc	3.0 bcdef	54.1 bcd	24.2 abcde
		Putresin	92.5 a	7.4 e	6.6 a	67.8 ab	23.1 abcdef
		Put+0.5 mg IBA	22.2 cde	77.7 bcd	0.3 j	1.8 ef	18.7 efg
		Put+1 mg IBA	11.1 ef	88.8 ab	0.2 j	1.0 f	17.2 g
Varyans analizi							
Başlangıç BA uygulamaları (A)			öd	öd	öd	**	öd
Çoğaltım BA uygulamaları (B)			öd	öd	öd	öd	**
Köklendirme uygulamaları (C)			**	**	**	**	**
A x B			öd	**	**	**	**
A x C			**	**	**	**	**
B x C			**	**	**	**	**
A x B x C			**	**	**	**	**

* İncelenen parametreler bazında başlangıç x çoğaltım x köklenme uygulamaları interaksyonu bakımından ortaya çıkan farklılıklar ; ** 0.05 düzeyinde önemlidir; öd: önemli değildir



Şekil 4.5. Farklı uygulamaların 'A' eksplant tipinin köklenmesi üzerine etkileri

Başlangıç, çoğaltım ve köklendirme ortamları birlikte değerlendirildiğinde ‘B’ eksplant tipinde benzer şekilde köklenme yüzdesinde en iyi sonuçlar putresin uygulamalarından elde edilmiştir. Putresin uygulamalarında köklenme oranının % 77.7 ile % 100.0 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bunu % 51.8-% 85.1 arasında değişen değerler ile kontrol uygulamaları izlemiştir. En yüksek köklenme oranı % 100 değeriyle, başlangıç kültüründe 0.5 mg/L BA’da, çoğaltım aşamasında 5 mg/L BA’ya alınan ve köklenme aşamasında putresine aktarılan eksplantlarda tespit edilirken, en düşük köklenme oranı ise % 3.7 değeri ile 1 mg/L BA’dan 5 mg/L BA’ya köklenme aşamasında putresin+0.5 mg/L IBA ve putresin+1 mg/L IBA uygulamasına aktarılan eksplantlardan elde edilmiştir (Çizelge 4.6; Şekil 4.6).

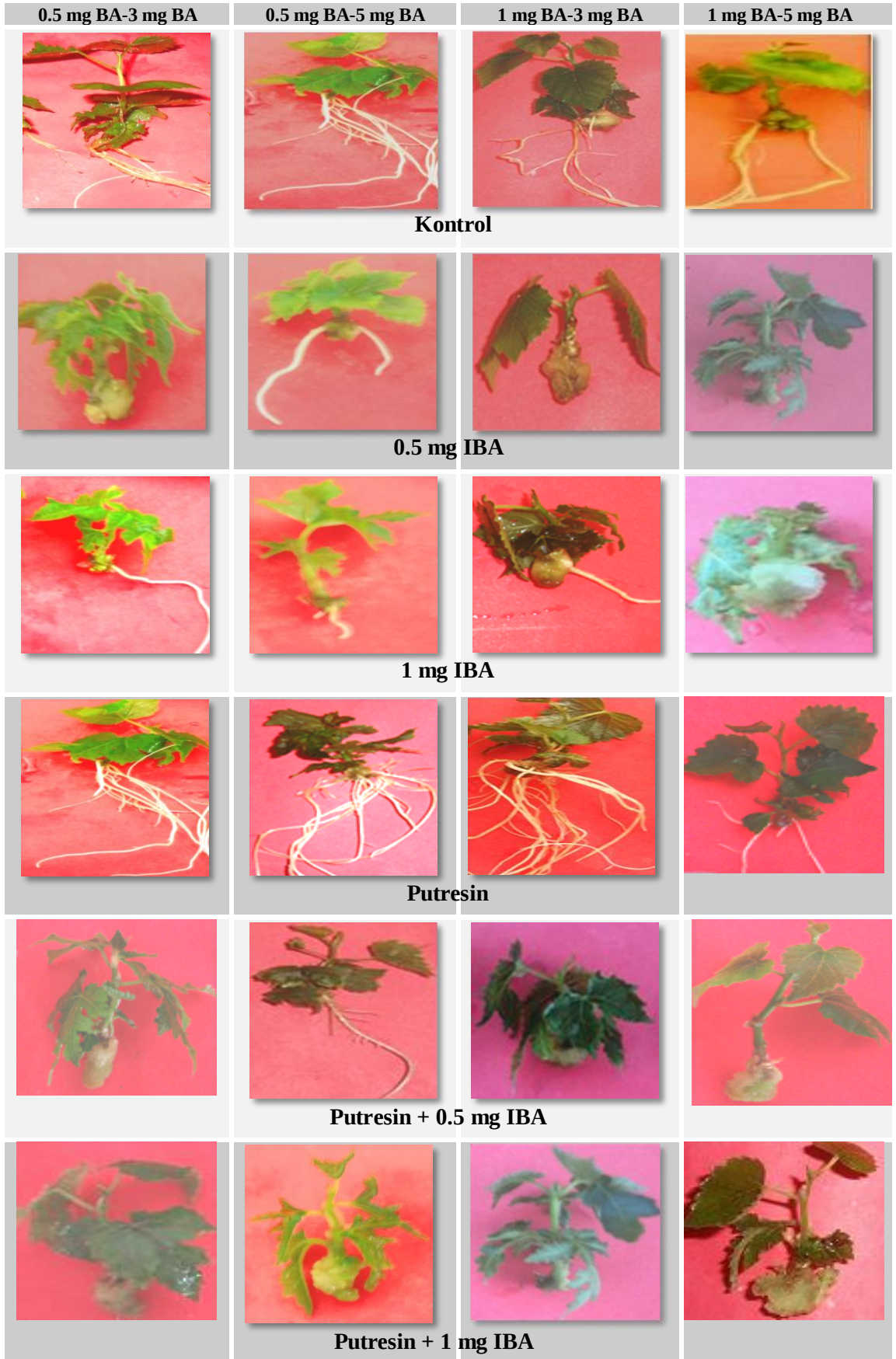
Köklenme uygulamalarında kallus oluşumu özellikle 0.5 ve 1 mg/L IBA, putresin + 0.5 mg/L IBA ve putresin + 1 mg/L IBA uygulamalarında en yüksek değerleri vermiş ve % 96.2’lere varan kallus oluşumu gözlenmiştir. Köklenmenin yüksek olduğu putresin ve kontrol uygulamalarında ise bu oran % 0’a kadar düşmüştür (Çizelge 4.6).

‘B’ eksplant tipinde kök sayısı ve kök uzunluğu parametresinde putresin uygulamaları bir istisna dışında en yüksek kök sayısını vermiştir. Putresin uygulamalarında en yüksek kök sayısı 7.2 (adet) olurken, bunu takip eden kontrol uygulamalarında bu değer 4.9 (adet) olarak belirlenmiştir. Kök sayısında en düşük değer başlangıç aşamasında 1 mg/L BA’da bulunan, çoğaltım aşamasında 5 mg/L BA’ya alınan ve köklendirme aşamasında putresin+1 mg/L IBA’ya aktarılan eksplantlarda 0.1 (adet) olarak tespit edilmiştir. Özellikle başlangıç ve çoğaltım aşamalarında yüksek oranda BA içeren ortamlardan gelen sürgünlerde kök oluşumu oldukça düşük olduğundan, kök sayısında yok denecek kadar (0.1 adet) az olmuştur. Kök uzunluğu parametresinde yine en yüksek değerler putresin uygulamalarından elde edilmiş (49.2 mm – 68.3 mm), kontrol uygulamaları da buna yakın sonuçlar vermiştir. En yüksek değer 68.3 mm ile 0.5 mg/L BA’dan 3 mg/L BA’ya ve köklendirme aşamasında putresin uygulamasına aktarılan eksplantlardan elde edilirken en düşük değer 8.3 mm ile 1 mg/L’den 5 mg/L BA’ya ve köklendirme aşamasında putresin+0.5 mg/L IBA’ya aktarılan eksplantlardan elde edilmiştir (Çizelge 4.6; Şekil 4.6).

Çizelge 4.6. ‘B’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine farklı uygulamaların etkileri

Başlangıç ortamı BA uygulamaları (mg/L)	Çoğaltım ortamı BA uygulamaları (mg/L)	Köklendirme uygulamaları	Köklenme oranı (%)	Kallus (%)	Kök sayısı/ Sürgün (adet)	Kök uzunluğu (mm)	Sürgün uzunluğu (mm)
0.5	3	Kontrol	62.9 d*	37.0 e	3.2 def	48.5 bcde	23.0 ab
		0.5 mg IBA	18.5 efg	81.4 bcd	1.9 gh	46.5 bcdef	21.1 abcd
		1 mg IBA	11.1 fgh	88.8 abc	1.3 h	26.5 ghı	19.8 de
		Putresin	96.2 ab	3.7 f	6.2 a	68.3 a	23.1 a
		Put+0.5 mg IBA	25.9 e	74.0 d	3.0 defg	62.1 ab	21.3 abcd
		Put+1 mg IBA	18.5 efg	81.4 bcd	3.3 cd	35.5 cdefg	20.4 cde
0.5	5	Kontrol	51.8 d	3.7 f	2.7 defg	58.3 ab	20.5 cde
		0.5 mg IBA	18.5 efg	81.4 bcd	2.5 defg	33.6 defg	20.0 cde
		1 mg IBA	18.5 efg	81.4 bcd	2.7 defg	29.3 efgh	20.0 cde
		Putresin	100 a	0 f	7.2 a	59.3 ab	20.1 cde
		Put+0.5 mg IBA	25.9 e	74.0 d	2.3 defgh	31.8 defg	19.3 de
		Put+1 mg IBA	7.4 gh	92.5 ab	1.3 h	20.0 ghı	1.94 de
1	3	Kontrol	81.4 c	11.1 f	4.8 b	53.6 abc	21.1 bcd
		0.5 mg IBA	14.8 efgh	88.8 abc	2.1 defgh	25.9 ghı	20.8 cd
		1 mg IBA	18.5 efg	81.4 bcd	2.4 defgh	30.5 defg	22.0 abc
		Putresin	88.8 abc	3.7 f	4.5 bc	49.2 abcd	22.0 abc
		Put+0.5 mg IBA	18.5 efg	81.4 bcd	2.0 efgh	29.3 efgh	19.7 de
		Put+1 mg IBA	11.1 fgh	88.8 abc	1.9 gh	27.4 fghı	20.0 cde
1	5	Kontrol	85.1 bc	3.7 f	4.9 b	59.6 ab	20.1 cde
		0.5 mg IBA	22.2 ef	77.7 cd	2.0 fgh	33.6 defg	20.5 cde
		1 mg IBA	14.8 efgh	85.1 abcd	2.3 defgh	30.9 defg	21.3 abcd
		Putresin	77.7 c	0.0 f	3.3 de	64.8 ab	20.3 cde
		Put+0.5 mg IBA	3.7 h	96.2 a	0.3 ı	8.3 ı	21.8 abc
		Put+1 mg IBA	3.7 h	96.2 a	0.1 ı	10.8 hı	18.7 e
Varyans analizi							
Başlangıç BA uygulamaları (A)			öd	**	**	**	öd
Çoğaltım BA uygulamaları (B)			öd	öd	**	öd	**
Köklendirme uygulamaları (C)			**	**	**	**	**
A x B			öd	**	**	**	**
A x C			**	**	**	**	**
B x C			**	**	**	**	**
A x B x C			**	**	**	**	**

* İncelenen parametreler bazında başlangıç x çoğaltım x köklenme uygulamaları interaksyonu bakımından ortaya çıkan farklılıklar ; ** 0.05 düzeyinde önemlidir; öd: önemli değildir.



Şekil 4.6. Farklı uygulamaların 'B' eksplant tipinin köklenmesi üzerine etkileri

'B' eksplant tipinde bütün uygulamalar birlikte değerlendirildiğinde sürgün uzunluğu 18.7 mm ile 23.1 mm arasında değişmiştir. Sürgün uzunluğu parametresinde en yüksek değer 23.1 mm ile başlangıç aşamasında 0.5 mg/L BA'da bulunan çoğaltım aşamasında 3 mg/L BA'ya alınan ve köklendirme aşamasında putresine aktarılan eksplantlarda görülürken, en düşük değer 18.7 mm ile 1 mg/L'den 5 mg/L BA'ya ve putresin + 1 mg /L IBA uygulamasına aktarılanlardan elde edilmiştir (Çizelge 4.6).

'C' eksplant tipinde köklenme uygulamalarının köklenme oranı üzerine etkileri önemli bulunmuştur. Köklenme oranında en yüksek değerler % 81.4 – 92.5 ile putresin uygulamalarından alınmış, bunu kontrol uygulamaları izlemiştir. En iyi sonuç % 92.5 değeri ile başlangıç aşamasında 0.5 mg/L BA'da bulunan, çoğaltım aşamasında 2 mg/L BA'ya alınan ve köklendirme aşamasında putresine aktarılan eksplantlarda görülürken, 1 mg/L BA'dan 2 ve 3 mg/l BA'ya ve köklendirme aşamasında putresin + 1 mg/L IBA uygulamasına aktarılan eksplantlarda köklenme meydana gelmemiştir (Çizelge 4.7; Şekil 4.7).

Kallus oluşumu özellikle köklenmenin az ya da hiç görülmediği 0.5 mg/L IBA, 1 mg/L IBA, putresin+0.5 mg/L IBA ve putresin+1 mg/L IBA uygulamalarında % 44.4 -% 100 arasında değişirken, bu oran yüksek köklenme görülen kontrol ve putresin uygulamalarında % 0-% 14.8 değerleri arasında olmuştur.

'C' eksplant tipinde en yüksek kök sayısı 0.5 mg/L BA'dan 3 mg/L BA'ya alınan ve köklendirme aşamasında kontrol uygulamasına aktarılan eksplantlarda 5.4 (adet) olarak belirlenirken, 1 mg/L BA'dan 2 ve 3 mg/L BA'ya ve köklendirme aşamasında putresin+1 mg/L IBA'ya aktarılan eksplantlarda kök oluşmamıştır. Kök uzunluğu parametresinde en yüksek değer 0.5 mg/L'den 2 mg/L BA'ya ve kontrol uygulamasına aktarılan eksplantlarda 89,2 mm olarak belirlenmiştir.

Köklenme sonunda ölçülen sürgün uzunluğunda en yüksek değer 36.5 mm ile 0.5 mg/L BA'dan 2 mg/L BA'ya ve köklenme aşamasında 1 mg/L IBA'ya aktarılan eksplantlarda elde edilirken, en düşük sonuç 19.5 mm değeri ile 0.5 mg/L'den 3 mg/L BA'ya ve putresin+1 mg IBA uygulamasına aktarılan eksplantlarda tespit edilmiştir. (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. ‘C’ eksplant tipinin köklenmesi üzerine farklı uygulamaların etkileri

Başlangıç ortamı BA uygulamaları (mg/L)	Çoğaltım ortamı BA uygulamaları (mg/L)	Köklendirme uygulamaları	Köklenme oranı (%)	Kallus (%)	Kök sayısı/ Sürgün (adet)	Kök uzunluğu (mm)	Sürgün uzunluğu (mm)
0.5	2	Kontrol	85.1 a*	11.1 f	4.5 ab	89.2 a	35.0 ab
		0.5 mg IBA	22.2 ef	77.7 bc	1.1 defg	42.1 bcdef	26.1 cdefghijk
		1 mg IBA	55.5 bc	44.4 e	2.4 cde	74.9 abc	36.5 a
		Putresin	92.5 a	7.4 f	5.0 a	71.6 abc	32.5 abcd
		Put+0.5 mg IBA	33.3 de	66.6 cd	1.2 defg	78.3 ab	29.3 abcdefg
		Put+1 mg IBA	18.5 efg	81.4 abc	0.3 fg	41.1 bcdef	27.1 cdefghijk
0.5	3	Kontrol	88.8 a	3.7 f	5.4 a	54.4 abcde	19.8 jk
		0.5 mg IBA	11.1 fg	88.8 ab	0.2 fg	36.6 bcdef	28.8 abcdefgh
		1 mg IBA	7.4 fg	92.5 ab	0.1 fg	46.3 abcde	20.0 ijk
		Putresin	85.1 a	14.8 f	5.0 a	72.9 abc	24.4 efghijk
		Put+0.5 mg IBA	51.8 cd	48.1 de	2.5 cd	56.8 abcd	21.7 ghijk
		Put+1 mg IBA	7.4 fg	92.5 ab	0.3 fg	44.0 abcdef	19.5 k
1	2	Kontrol	59.2 bc	14.8 f	1.6 cdef	68.0 abcd	21.1 hijk
		0.5 mg IBA	25.9 ef	77.7 bc	0.9 efg	78.2 ab	27.6 bdefghij
		1 mg IBA	14.8 efg	85.1 abc	0.2 fg	24.1 def	24.7 defghijk
		Putresin	81.4 a	14.8 f	4.8 a	71.3 abc	28.4 bcdefgh
		Put+0.5 mg IBA	18.5 efg	81.4 abc	0.6 fg	31.3 cdef	32.9 abc
		Put+1 mg IBA	0.0 g	100.0 a	0.0 g	0.0 f	25.1 cdefghijk
1	3	Kontrol	74.0 ab	0.0 f	3.1 bc	60.3 abcd	23.9 efghijk
		0.5 mg IBA	22.2 ef	77.7 bc	1.2 defg	74.7 abc	31.6 abcde
		1 mg IBA	7.4 fg	92.5 ab	0.2 fg	49.8 abcde	30.0 abcdef
		Putresin	81.4 a	3.7 f	4.9 a	52.3 abcde	26.8 bcdefghijk
		Put+0.5 mg IBA	7.4 fg	92.5 ab	1.7 cdef	39.6 bcdef	27.7 bcdefghi
		Put+1 mg IBA	0.0 g	100.0 a	0.0 g	0.0 f	23.9 fghijk
Varyans analizi							
Başlangıç BA uygulamaları (A)			**	**	**	**	öd
Çoğaltım BA uygulamaları (B)			öd	öd	öd	öd	**
Köklendirme uygulamaları (C)			**	**	**	**	**
A x B			**	**	**	**	**
A x C			**	**	**	**	**
B x C			**	**	**	**	**
A x B x C			**	**	**	**	**

* İncelenen parametreler bazında başlangıç x çoğaltım x köklenme uygulamaları interaksyionu bakımından ortaya çıkan farklılıklar ; ** 0.05 düzeyinde önemlidir; öd: önemli değildir.



Şekil 4.7. Farklı uygulamaların 'C' eksplant tipinin köklenmesi üzerine etkileri

4.3.1. Dış Koşullara Alıştırma (Aklimatizasyon)

Agar ortamından dış koşullara aktarılan karadut bitkilerinde kontrollü şartlar sağlanamadığından sonuçlar genel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Dış koşullara aktarılan bitkilerin canlı kalma oranları

Köklendirme uygulamaları	Köklenmeye alınan bitkicik sayısı (adet)	'A'		'B'		'C'	
		Köklenen bitki sayısı (adet)	Canlı kalma oranı (%)	Köklenen bitki sayısı (adet)	Canlı kalma oranı (%)	Köklenen bitki sayısı (adet)	Canlı kalma oranı (%)
Kontrol	27x4	74	78.0	68	72.2	60	73.3
0.5 mg/L IBA	27x4	22	42.8	18	40.0	20	40.0
1 mg/L IBA	27x4	20	28.5	14	50.0	22	33.3
Putresin	27x4	98	72.0	88	87.5	90	82.6
Putresin+0.5mg/L IBA	27x4	30	25.0	16	40.0	22	57.1
Putresin+1 mg/L IBA	27x4	6	50.0	10	60.0	4	0.0



Şekil 4.8. Dış koşullara aktarılan karadut bitkileri a) Agar ortamından çıkarıldıktan sonra saksılara aktarılan bitkiler b)Nem kontrolü amacıyla üzerleri streç film ile kapatılan bitkiler c) Dış koşullara aktarıldıktan 3-4 ay sonraki görünüşleri d)Dış koşullara aktarıldıktan 1 yıl sonraki görünüşleri

Bitkicikler dış koşullara aktarıldıktan 3-4 ay sonra 10-15 cm sürgün uzunluğuna, bir kış dönemi geçirip 1 seneyi tamamladığında ise 50-70 cm'ye ulaşmış, gövde odunlaşmıştır (Şekil 4.8).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Karadutun doku kültürüyle çoğaltılabilme imkânını belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, eksplant tipi ve BA konsantrasyonunun başarıyı etkileyen önemli faktörler olduğu ortaya çıkmıştır.

Başlangıç kültürü ile ilgili olarak yapılan denemelerde, elde edilen bulgulara göre, başlangıç kültüründe en düşük enfeksiyon oranı % 0.0 ile 'C' eksplant tipinde elde edilirken, en yüksek sonuç % 27.7 ile 'B'eksplant tipinde tespit edilmiştir.

Başlangıç kültüründe verim çağındaki ağaçlardan alınan 'A' eksplantlarının 'B' eksplantlarına göre daha az kararma gösterdiği tespit edilmiştir. Kararma oranı 'A'eksplant tipinde % 1.1 , 'B' eksplant tipinde ise % 25.3 dolayında olmuştur. Her iki tip eksplantında yaşlı ağaçlardan alınmış olmasına rağmen, 'A' eksplantlarında daha az kararma görülmesinin nedeni, bu eksplant tipinin daha küçük ve kesim yüzeyinin daha az olmasından kaynaklanmış olabilir. Lenartowicz ve Millikan (1977) ve McCown ve Amos (1979) eksplant büyüklüğü ve eksplantın kesim yüzeyi artmasının kararma oranını arttırdığını bildirmişlerdir. 'C' eksplant tipinde ise kararma yine düşük oranlarda %1.7 düzeylerinde olmuştur. Bu eksplantların genç bitkilerden alınmış olması, kararma oranını düşürmüştür. *In vitro* koşullardaki kararma, kimyasal olarak açıklanabilen ve çoğunlukla tanenler ve okside olan polifenoller nedeniyle ortaya çıkan bir olaydır. Fenollerin konsantrasyonu, yaşlı gövdelerde, genç gövdelere göre çok daha yüksektir (Chevre ve ark. 1983; Muhitch ve Fletcher 1985)ve yaşlı kısımlar, genç kısımlara göre fenolik bileşiklerin çok çeşitli tiplerini içermektedir (Lenartowicz ve Millikan 1977; McCown ve Amos 1979).

Başlangıç kültüründe 'A' ve 'B' eksplant tiplerinde % 71.3 ve % 56.1 dolayında sürme meydana gelirken, 'C' eksplant tipinde bu oran %100 olmuştur. 'C' eksplant tipi BA konsantrasyonuna bağlı olarak 2.6 ve 3.0 arasında değişen boğum sayısı/sürgün miktarı ile 'A' ve 'B' eksplant tiplerinden daha yüksek değerler vermiştir. 'A', 'B' ve 'C' eksplant tiplerinde sürme, sürgün uzunluğu, boğum sayısı/sürgün parametrelerinde başlangıç ortamında 1 mg/L BA konsantrasyonunda daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yadav ve ark. (1990) karadutlarda sürgün ucu ve koltuk tomurcuğu

eksplantlarında en iyi sürgün gelişiminin 1 mg/l BA, Tewary ve Rao (1990) ise sürgün ucu eksplantlarında 1 veya 2 mg/l BA uygulamalarından elde edildiğini belirtmişlerdir. Bu sonuçlarda elde ettiğimiz bulguları destekler niteliktedir. 'C' eksplantlarının diğer iki eksplant türüne göre daha iyi sonuç vermesinin nedeni, eksplantların oldukça genç bitkilerden alınmasıdır. Doku kültürü ile çoğaltımda özellikle yaşlı odunsu bitkilerden alınan eksplantların, genç bitkilerden alınanlara göre daha yavaş gelişme, daha zayıf çoğalma ve köklenme gösterdikleri belirlenmiştir (Hanus and Rohr, 1987). Kallus oranına bakıldığında en yüksek değer %73.3 ile 'C' eksplant tipinden elde edilirken, 'A' ve 'B' eksplantlarında birbirine yakın ve daha düşük değerler (%20.8 ve %17.2) bulunmuştur. 'C' eksplant tipinin yüksek BA içeren ortamlardan gelen genç bitkiler olması, bunların diğer eksplant tiplerine göre daha yüksek kallus oluşturmalarının nedeni olabilir.

Yaptığımız çalışmada çoğaltım ortamında 5 mg/L BA kullanılması, 'A' ve 'B' eksplant tiplerinde 3 mg/L BA'ya göre daha düşük kardeşlenme oranı vermiştir. 'C' eksplant tipinde ise 2 ve 3 mg/L BA uygulamalarından benzer sonuçlar elde edilmiştir. Dutun farklı türleri ile yapılan çalışmalarda sürgün gelişimi ve çoğaltımında BA'nın diğer sitokininlere göre daha etkili olduğunu tespit edilmiştir (Yadav ve ark. 1990; Pattnaik ve Chand 1997). Ancak yüksek BA konsantrasyonlarının sürgün çoğalmasını engellediği, başarılı sonuçların ise daha düşük konsantrasyonlardan elde edildiği vurgulanmıştır (Bhau ve Wakhlu 2003; Channuntapipat ve ark. 2003; Rugini ve Verma 1983; Tabachnick ve Kester 1977).

Çoğaltım aşaması sonucunda ölçülen sürgün uzunlukları, BA konsantrasyonlarına bağlı olarak 'A' eksplant tipinde farklılık gösterirken, 'B' ve 'C' eksplant tiplerinde önemli farklılıklar görülmemiştir. Balakrishnan ve ark. (2009) *Morus alba*'nın koltuk tomurcukları ile yaptıkları çalışmada, besin ortamındaki BA konsantrasyonu arttıkça sürgün uzunluğunda azalma olduğunu, Chitra ve ark. (1999) ise BA konsantrasyonu arttıkça sürgün uzunluğunda artış olduğunu kaydetmişlerdir. Ancak elde ettiğimiz bulgulara BA konsantrasyonuna bağlı olarak doğrusal bir artış ya da azalmanın olmadığı görülmüştür.

Çoğaltım aşaması sonucu elde edilen eksplant taze ağırlıkları ‘A’ ve ‘B’ eksplant tiplerinde BA konsantrasyonlarına bağlı olarak farklılık göstermemiştir. Ancak, ‘B’ ve ‘C’ eksplant tiplerinde her iki BA konsantrasyonunda da ‘A’ eksplant tipine göre daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. ‘C’ eksplant tipinde ise eksplant taze ağırlığı değerleri hormon dozlarına göre farklılık göstermiş ve en yüksek değer, başlangıç aşamasında 1 mg/L BA’da bulunan, çoğaltım aşamasında 3 mg/L BA’ya alınan eksplantlardan elde edilmiştir.

Odunsu türlerin *in vitro* kültüründe karşılaşılan problemlerden birisi olan vitrifikasyon, dokuların camsı, bol sulu ve genellikle şiş görünümlü istenmeyen fiziksel bozukluk sergilemesidir (Chawla 2002). Vitrifikasyon, sürgün çoğaltımını ve kültür canlılığını (Hammerschlag 1986) etkilediği ve mikro çoğaltımla üretilen bitkilerin *in vivo* koşullarına transferinin başarılı bir şekilde yapılmasını engellediği için doku kültürü endüstrisinin temel problemini oluşturmaktadır. Vitrifikasyonun ortaya çıkmasında birçok faktör rol oynamaktadır. Kullanılan büyüme düzenleyicilerin türü, konsantrasyonu ve kültür ortamının kimyasal bileşimi vitrifikasyonun ortaya çıkmasında rol oynayan faktörlerden bazılarıdır (Nas ve ark. 2008). Bu çalışmada da vitrifikasyona uğramış dokular gözlemlenmiştir. Çoğaltma aşaması sonucunda sürgünlerde meydana gelen vitrifikasyon oranlarının eksplant tipine ve artan BA konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. ‘A’ eksplant tipinde 5 mg/L BA konsantrasyonunda % 25.6 vitrifikasyon görülürken, bu oran ‘B’ eksplant tipinde % 36.3 olmuştur. ‘C’ eksplant tipinde ise 3 mg/L BA konsantrasyonunda % 61.0 düzeylerinde ve diğer eksplantlara göre yaklaşık 2 kat fazla oranda vitrifikasyon meydana gelmiştir. Doku kültüründe çoğaltılan bitkilerden alınan eksplantlarda yüksek oranda vitrifikasyon görülmesinin nedeni, bu bitkilerin yüksek BA konsantrasyonu içeren ortamlarda üretilmesi ve tekrar yüksek sayılabilecek konsantrasyonlarda büyümeyi düzenleyicilere tabi tutulması olabilir. Phan ve Hagadus (1988) ortamdaki yüksek sitokinin konsantrasyonunun vitrifikasyona neden olduğunu, Leshem ve ark. (1988) ise düşük sitokinin dozları ile vitrifikasyonun kontrol edilebileceğini bildirmişlerdir.

Köklenme uygulamalarında en iyi köklenme oranları her üç eksplant tipinde de putresin ve kontrol uygulamalarından elde edilmiştir. Rugini ve ark. (1992) putresinin armut ve

zeytinde erken köklenmeyi teşvik ettiğini belirlemişlerdir. ‘A’ eksplant tipinde yüksek köklenme başlangıç kültüründe 1 mg/L BA, çoğaltım aşamasında 3 mg/L BA’da bulunan ve köklenme aşamasında putresine aktarılan bitkiciklerde % 96.2 olarak belirlenirken, 1 mg/L BA’dan 5 mg/L BA’ya ve putresin ile kontrol uygulamalarına alınan eksplantlar da % 92.5 değeriyle aynı sonuçları vermiştir. Buradan elde edilen bulgular, 1 mg/L’den 5 mg/L BA’ya alınan sürgünlerin büyümeyi düzenleyici ilave edilmeyen ortamlarda oldukça başarılı bir şekilde köklenebildiklerini göstermiştir. ‘B’ eksplant tipinde en iyi köklenme oranı 0.5 mg/L BA’dan 5 mg/L BA’ya ve putresine aktarılan eksplantlarda (% 100) belirlenirken, kontrol değeri diğer kontrol uygulamalarıyla karşılaştırıldığında % 51.8 köklenme ile daha düşük bir değer göstermiştir. ‘C’ eksplant tipinde ise en yüksek köklenme oranı % 92.57 ile başlangıç kültüründe 0.5 mg/L BA, çoğaltım aşamasında 2 mg/L BA alınan ve köklenme aşamasında putresine aktarılan eksplantlarda tespit edilmiştir. Başlangıç, sürgün çoğaltım ve köklenme uygulamaları birlikte değerlendirildiğinde ‘C’ de köklenme açısından putresin uygulamasının, kontrol uygulamasına yakın sonuçlar verdiği görülmüştür.

Köklenme uygulamalarında her üç eksplant tipi birlikte değerlendirildiğinde kök sayısı ve kök uzunluğu parametrelerinde en iyi sonuçlar kök yüzdesinin de yüksek olarak belirlendiği putresin uygulamalarından alınmıştır. ‘A’ eksplant tipinde en yüksek kök sayısı değeri dört uygulamadan da putresine aktarılan eksplantlarda tespit edilirken, en iyi sonuç 6.8 (adet) değeri ile 1 mg/L’den 3 mg/L BA’ya ve putresine aktarılan eksplantlarda belirlenmiştir. Kök uzunluğunda ise en yüksek değer 79.9 mm ile 0.5 mg/L’den 5 mg/L BA’ya ve köklenme aşamasında putresin uygulamasına aktarılan eksplantlardan elde edilmiştir. ‘B’ eksplant tipinde en yüksek kök sayı değeri 7.2 (adet) ile 0.5 mg/L BA’dan 5 mg/L BA’ya aktarılan ve köklendirme aşamasında putresin uygulamasına aktarılanlarda, kök uzunluğunda ise 68.3 mm ile 0.5 mg/L’den 3 mg/L BA’ya ve putresine aktarılan eksplantlarda tespit edilmiştir. Yapılan bazı çalışmalarda putresinin kök uzunluğu ve sıklığını arttırdığı, kök kalitesinde de olumlu etkiler yaptığı kaydedilmiştir (Tang ve Newton 2005; Yao ve ark. 2010). ‘C’ eksplant tipinde kontrol ve putresin uygulamalarının birbirine yakın sonuçlar verdiği belirlenmiştir. ‘C’ eksplant tipinde en yüksek kök sayı (5.4 adet) değeri 0.5 mg/L BA içeren başlangıç ortamından, 3 mg/L BA’da çoğaltıma alınan ve büyümeyi düzenleyici içermeyen köklenme

ortamlarına aktarılanlardan elde edilmiş, kök uzunluğu (89.2 mm) değerleri ise 0.5 mg/L'den 2 mg/L BA'ya sonrasında kontrole aktarılan eksplantlardan elde edilmiştir.

Köklenme uygulamaları 3 eksplant tipi ve hormon dozları ile birlikte değerlendirildiğinde, köklenme oranının düşük olduğu 0.5 mg/L IBA, 1 mg/L IBA, putresin+0.5 mg/L IBA ve putresin+1 mg/L IBA uygulamalarında yüksek oranda kallus oluşumunun meydana geldiği görülmüştür. Bu uygulamalarda yüksek kallus oluşumunun nedeninin, yüksek BA konsantrasyonu içeren besin ortamlarından alınan sürgünlerin bünyelerindeki sitokinin oranının ortamdaki IBA düzeyine yakın olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Mikroçoğaltımda köklenmenin gerçekleşebilmesi için köklendirmeyi teşvik edici oksinlerin sitokininlerden daha fazla olması gerekmekte, oksin/ sitokinin oranının eşit olduğunda durumlarda kallus oluşumu gözlenmektedir.

Köklenme uygulamalarında sürgün uzunluğunda en yüksek değerler, eksplant 'A' ve 'B' eksplant tiplerinde 0.5 mg/L'den alınan çoğaltım aşamasında 3 mg/L BA'ya alınan ve köklendirmede putresine aktarılanlarda sırasıyla 27.3 mm, 23.1 mm olarak belirlenmiştir. 'C' eksplant tipinde 0.5 mg/L'den 2 mg/L BA'ya ve köklendirmede 1 mg/L IBA uygulamasına aktarılan eksplantlarda en yüksek sonuç (36.5 mm) elde edilirken, kontrol ve putresin uygulamalarından da benzer sonuçlar alınmıştır.

Karadutun *in vitro* çoğaltımı ile ilgili olarak yapılan bu çalışmada, elde edilen bütün bulgular değerlendirildiğinde, başlangıç kültürü aşamasında 'B' eksplant tipinde kararırma oranının diğer eksplant tiplerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu eksplantlarda görülen kararmanın nedeninin dönor bitkinin yaşı ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle eksplant alınacak ağaçların mümkün olduğu kadar genç olmasına özen gösterilmelidir. Diğer taraftan ekplantların dikimden önce steril askorbik asitli suda bekletilmesi ve kültür başlangıç aşamasında kültür ortamlarının sık sık değiştirilmesi yada sıvı ortam kullanılması ile bu sorunun kısmen çözülebileceği düşünülmektedir.

'C' eksplant tipinde yoğun olmak üzere, her üç eksplant tipinde de, başlangıç kültürü aşamasında kallus oluşumu gözlenmiştir. 'C' eksplantlarında yüksek oranda kallus gelişiminin nedeni, bunların yüksek BA konsantrasyonları içeren ortamlarda üretilen

bitkilerden alınan eksplantlar olması ve tekrar yüksek BA konsantrasyonları içeren ortamlarda kültüre alınmaları olabilir. Eksplantların tabanındaki meydana yoğun kallus genetik stabilitenin sağlanmasında sorun oluşturabilir ve kallus üzerinde rastgele gelişen tomurcuklar genetik açıdan farklı bitkiler oluşturabilir. Bu nedenle başlangıç kültüründe meydana gelen yoğun kallus oluşumunun mümkün olduğu kadar azaltılması gerekmektedir. Başlangıç aşamasında daha düşük BA konsantrasyonları ya da farklı sitokininler kullanılarak bu sorunun çözümlenmesine yönelik yeni çalışmalar yapılmalıdır.

Karadutun *in vitro* çoğaltımında karşılaşılan en önemli sorunlardan biriside vitrifikasyondur. Özellikle 'C' eksplant tipi başta olmak üzere, diğer eksplant tiplerinde de çoğaltım ortamında kullanılan yüksek BA konsantrasyonlarına bağlı olarak vitrifikasyon görülmüştür. Vitrifikasyon oranının yüksek olması mikroçoğaltımda başarı oranını oldukça düşürmektedir. Vitrifikasyona birçok faktör etki etmektedir. Bu çalışmada meydana gelen vitrifikasyonun daha çok yüksek BA konsantrasyonundan ve kültür kaplarındaki yoğun nemden kaynaklandığı düşünülmektedir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda çoğaltım aşamasında BA düzeyinin düşürülmesi ve kültür kapları içerisindeki nem düzeyinin düşürülmesine imkân veren kaplar kullanılarak vitrifikasyonu sorunu çözmek gerekmektedir.

Karadutun *in vitro* çoğaltımına yönelik olarak yapılan bu çalışma sonunda elde edilen veriler doğrultusunda, başlangıç kültüründe daha düşük düzeylerde karar ve kallus oluşumu görülen 'A' eksplant tipi diğerlerine göre daha ümitvar görülmektedir. Aynı eksplant tipinde başlangıç kültüründe kullanılan 1 mg/L BA konsantrasyonunun 0.5mg/L BA dozuna göre daha yüksek sürme oranı ve hemen hemen aynı oran kallus oluşturması nedeniyle daha avantajlı olduğu görülmüştür. Çoğaltım aşamasında, çoğalma ve vitrifikasyon oranları dikkate alındığında 3 mg/L BA konsantrasyonunun 'A' ve 'B' eksplant tiplerinde daha başarılı olduğu görülmüştür. 'C' eksplant tipinde ise başlangıç kültüründe BA konsantrasyonlarında yüksek oranda kallus, ve çoğaltım aşamasında ise yüksek oranda vitrifikasyon görülmesi nedeniyle, kullanılan BA düzeylerinin yapılacak çalışmalar ile yeniden belirlenmesi gerekmektedir. Ancak genel bir değerlendirme yapılacak olursa başlangıç aşamasında 1 mg/L BA, çoğaltma aşamasında ise 2 mg/L BA konsantrasyonunun 'C' eksplant tipinde daha ümitvar sonuçlar verdiği söylenebilir. Köklendirme aşamasında kontrol uygulamalarının,

yüksek köklenme oranı veren putresin uygulamalarına yakın değerler vermiş olması, çalışılan karadut çeşidinin *in vitro* köklendirilmesinde büyümeyi düzenleyici kullanımının zorunlu olmadığını göstermiştir.

In vitro da köklendirilen bitkicikler aklimatizasyon için toprağa aktarılmışlardır. Yürütülen bu çalışmada, karadutta *in vitro* yöntemiyle tam bir bitki eldesi için geçen süre 20-22 hafta olmuştur.

KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y.S., Ayfer, M., Köksal, İ., Abak, K., Kaynak, L., Fidan, Y., Çelik, M., Çelik, H., ve Gülşen, Y. 1995.** Bahçe Bitkileri Ankara Üniv., Ziraat Fakültesi Yayınları 1009. Ankara.
- Alexandrow, A. 1988.** Effect of temperature on the rooting of ripe wood mulberry cutting. Plant Sci., 25(2), 56-68.
- Anis M., Faisal M. ve Singh S.K. 2003.** Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through *in vitro* culture of shoot tip and nodal explants. Plant Tissue Cult. **13**(1) : 47-51, 2003 (June).
- Anşin, R. ve Özkan, Z.C. 1993.** Tohumlu bitkiler (*Spermatophyta*), Odunsu Taksonlar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi, Trabzon.
- Ayfer M., Gülşen, Y. ve Kantarcı, M. 1986.** Ayaş dutunun çelikle çoğaltımı üzerine bir araştırma. Ank. Ü. Ziraat Fak. Yıllığı, 35: 289-297.
- Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. 2001.** Bitki Biyoteknolojisi, Doku kültürü ve uygulamaları. S.Ü. Vakfı Yayınları. 2001.
- Baksh, S., Mir, M.R., Darzi, G.M ve Khan, M.A. 2000.** Performance of hard wood stem cuttings of mulberry genotypes under temperate climatic conditions of Kashmir. Indian J. Seric. 39(1): 30-32.
- Balakrishnan, V., Ram Latha, M., Ravindran, K.C. ve Philip Robinson J. 2009.** Clonal propagation of *Morus alba* L. through nodal and axillary bud explants. Botany Research International, 2 (1): 42-49, 2009.
- Bapat, VA., Mhatre, M. (Minal Mhatre), Rao, PS., and Mhatre, M. 1987.** Propagation of *Morus indica* L. (mulberry) by encapsulated shoot buds. Plant Cell Reports, 6: 5, 393-395.
- Bhau B.S. and Wakhlu A.K. 2003.** Rapid micropropagation of five cultivars of mulberry. Biologia Plantarum 46 (3):349-355.
- Bellini, E., Giordani, E., Roger, J.P. 2000.** The Mulberry for Fruit. Il Gelso da Frutto. L'informatore Agrario, Verona, LVI, 7: 89-93.
- Channuntapipat C, Wirthensohn M, Ramesh SA, Battle I, Arus P, Sedgly M, Collins G. 2003.** Identification of incompatibility in genotypes of almond (*Prunus dulcis*) using specific primers based on the introns of the s-alleles. Plant Breed., 122: 164- 168.
- Chawla, H. S. 2002,** Introduction to plant biotechnology. Science Publishers, Inc., Plymouth, UK, 538 P.

Chevre, A.M., S.S.Gill, A.Mouras, and Salesses, G. 1983. *In vitro* vegetative multiplication of chestnut. J.Hort. Sci.58: 23-29.

Chitra, C., D.S., G. Padmaja 1999. Clonal propagation of mulberry (*Morus indica* L. cultivar M-5) through in vitro culture of nodal explants Department of Plant Sciences, School of Life Sciences, University of Hyderabad, Hyderabad 500 046, India Scientia Horticulturae 80 (1999) 289±298.

Datta, R.K. 2002. Mulberry cultivation and utilization in India. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Health Paper 147: 45-62.

Davis, P.H. 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 7, Edinburgh at the University Press, 947 p., Edinburgh.

Debergh, P.C. and Zimmerman, R.H. 1993. Micropropagation technology and application. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 484 p.

Erdoğan, V., Aygün, A. 2005. Karadutun (*Morus nigra* L.) yeşil çelikle çoğaltılması üzerinde bir araştırma. 2. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, 172-175.

Erdoğan, Ü., Pırlak, L., Çakmakçı, R. 2006. Dut (*Morus spp.*) Çeliklerinin köklendirilmesi üzerine araştırma. II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, 193-198.

Esau, K. 1977. Anatomy of Seed Plants. 2nd Edition. John Wiley and Sons, Inc. New York.

Freeman, W.H. 1978. Temperate-Zone Pomology. W.H.Freeman and Company, San Francisco. 428.

Gallardo, M., Matilla, A., Munoz de Rueda, P. 1996. Role of polyamines in growth and development, Ars Pharm. 37; (1), 17-27.

Gaspar T.; Kevers C.; Hausman J. F.; Ripetti V. 1994. Peroxidase activity and endogenous free auxin during adventitious root formation. In: Lumdsen, P.J.; Nicholas, J.R.; Davies, W. J. eds. Physiology, growth and development of plants in culture. Kluwer Academic, Dordrecht, pp 289–298.

Grieve, M. 2002. Mulberry Common. <http://botanical.com/botanical/mgmh/m/mul.com62.html>.

Güneş, M., Çekiç, Ç. 2006. Farklı dut anaçlarının, aşılama zamanlarının ve aşı çeşitlerinin Kara dut (*Morus nigra* L.)’un aşı başarısı üzerine etkisi. II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu 14-16 Eylül 2006. Tokat.

Hammerschlag F.A. 1986. Temperate fruits and nuts. Pp. 221-236. In: Zimmerman R.H., Griesbach R.J., Hammerschlag F.A. and Lawson R.H. (eds.) Tissue culture as a plant production system for horticultural crops. Martinus Nijhoff, Dordrecht.

- Hanus, D. and Rohr, R. 1987.** *In vitro* plantlet regenerdliion from juvenile and mature sycamore maple. Acta Hort. 212:77-82.
- Hazarika, B.N. 2006.** Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. Scientia Horticulturae 108 (2006) 105–120.
- Hossain, M., Rahman, S. M., Zaman, A., Joarder, O.I. and Islam, R. 1992.** Micropropagation of *Morus laevigata* Wall. From mature trees. Plant Cell Reports 11:522-524.
- Huo, Y. 2002.** Mulberry cultivation and utilization in China. Mulberry for animal production, FAO Animal Production and Healt Paper 147: 11-44.
- Islam, R., Zaman, A., Joarder, O.I. ve Barman, A.C. 1993.** *In vitro* propagation as an aid for cloning of *Morus laevigata* Wall. Plant Cell. Tissue and Organ Culture 33: 339-341,1993.
- Ivanicka, J. 1987.** *In vitro* micropropagation of mulberry, *Morus nigra* L. Scientia Horticulture, 32:1/2, 33-39.
- Jain, AK., Dandin, SB. and Sengupta, K. 1990.** *In vitro* propagation through axillary bud multiplication in different mulberry genotypes. Plant-Cell-Reports, 8:12, 737-740.
- Jian L. 2006.** Study on mulberry tissue culture system. Journal of Anhui Agricultural Sciences 2006-16.
- Karadeniz, T., Şişman, T. 2003.** Beyaz ve karadutun meyve özellikleri ve çelikle çoğaltılması. Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Ordu, 428-432.
- Kim, H., Patel, K., Thorpe, T. 1985.** Regeneration of mulberry plantlets thorough tissue culture. Plant Physiology Research Group, Department of Biology, University of Calgary.
- Kiran, K., Sharma and Trevor A. Thorpe 1989.** *In vitro* propagation of mulberry (*Morus alba* L.) through nodal segments. [Scientia Horticulturae. Volume 42, Issue 4](#), May 1990, Pages 307-320.
- Konarlı, O., Çelebioğlu, G. ve Çıragil, N. 1977.** Yaprak dut çeşitlerinin odun çeliği ile üretilmesi. Bahçe dergisi, 8:35-39.
- Koyuncu, F., Vural, E. ve Çelik, M. 2004.** Kara dut (*Morus nigra* L.) çeliklerinin köklendirilmesi üzerine araştırmalar. Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu Kitabı, s: 424-427, Trabzon.
- Lale, H. ve Özçağırın, R. 1996.** Dut türlerinin pomolojik, fenolojik ve bazı meyve kalitesi özellikleri üzerinde bir araştırma. Derim, 13(14): 177-182.
- Lenartowicz, A. and Millikan, D. F. 1977.** Meristem culture of *Juglans nigra* l. Proc. IL State Acad. of sci. 70.(2):193.

Leshem, B., Shalev, D.P. Izhar, S., 1988. Cytokinin as an inducer of vitrification in melon. Ann. Bot. 61, 255–260.

Machii, H., Koyama, A., Yamanouchi, H., Matsumoto K., Kobayashi, S., Katagiri, K. 2001. A List of Morphological and Agronomical Traits of Mulberry Genetic Resources. Misc.

Machii, H., Koyama, A. ve Yamanouchi, H. 2002. Mulberry breeding, cultivation and utilization in Japan. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Healt Paper, 147, 63-72.

Martin, G., Reyes, F., Hernández, I., Milera, M. 2002. Agronomic Studies with Mulberry in Cuba. Mulberry for Animal Production, FAO Animal Production and Healt Paper, 147: 103-114.

Mansuroğlu, S., E. Gürel, 2001. Mikroçoğaltım. Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları, Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. (edt.) 374 sayfa, 262-281.

McCown, B. and Amos, R. 1979. Initial trials with commercial micropropagation of birch selections. Comb. Proc. Inter. Prop. Soc. 29: 387-393.

Mei-Chun, L. 2002. Micropropagation of *Morus latifolia* Poilet using axillary buds from mature trees. Scientia Horticulturae 96 (2002) 329–341.

Miralimov, J.V. 1963. Budding mulberries in the same years as the rootstocks are planted. Shelk 2, 12-14. Publ. Natl. Inst. Seric. Entomol. Sci., 29: 1-307.

Muhitch, M.J., and J.S. Fletcher. 1985. Influence of culture age and spermidine-treatment on the accumulation of phenolic compounds in suspension cultures. Plant Physiol. 78:25-28.

Nas, M.N., Mirici, S., Parmaksız, İ., Özcan, S., Mansuroğlu, S., Gürel, E. 2008. Mikroçoğaltım (Klonal Çoğaltım-Mikropropagasyon) ve Ticari Uygulamaları. Bitki Biyoteknolojisi, Doku Kültürü ve Uygulamaları, Ed. M. Babaoğlu, E. Gürel ve S. Özcan, Cilt 1, 235-270, Selçuk Üniversitesi Yayınevi, Konya,

Oka, S., Ohshima, K. 1981. *In vitro* initiation of adventitious buds and its modification by high concentration of benzyladenine in leaf tissues of mulberry (*Morus alba*). Canadian Journal of Botany, 59:(1) 68-74, 10.1139/b81-012.

Özbek, S. 1977. Genel Meyvecilik. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Yay:111, Ders Kitapları:6, Adana. 386.

Özkan, Y. ve Arslan, A. 1996. Karadut'un (*Morus nigra* L.) odun ve yeşil çeliklerle çoğaltılması üzerine araştırmalar. Gaziosmanpaşa Üniv. Ziraat fak. Dergisi, 13:15-27.

Patel, G.K., Bapat, V.A., Rao, P.S. 1983. *In vitro* culture of organ eksplants of *Morus indica*; plant regeneration and fruit formation in axillary bud culture. Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie. 111:5,465-468.

Pattnaik, S.K., Chand, P.K. 1997. Rapid clonal propagation of three mulberries, *Morus cathayana* Hemsl., *M. lhou* Koiz. and *M. serrata* Roxb., through *in vitro* culture of apical shoot buds and nodal explants from mature trees. Plant Cell Rep. 16, 503±508.

Pattnaik, S.K., Sahoo, Y., Chand, P.K. 1996. Micropropagation of a fruit tree, *Morus australis* Poir. Syn. *M. acidosa* Griff.. Plant Cell Rep. 15, 841±845.

Phan, C.T., Hagadus, P. 1988. Possible metabolic basis for the developmental anomaly observed *in vitro* culture, called ‘vitreous plants’. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 6, 83–94.

Roger, J.P. 2002. Description of Mulberry Tree. (www.unifi.it/project/ueresgen29/ds15.htm.)

Rugini, E., Antonella J., Maria L. 1992. Role of basal shoot darkening and exogenous putresine treatments on *in vitro* rooting and on endogenous polyamine changes in difficult – to – root woody species. Scientia horticulturae. Vol.53 Nos. 1-2.

Rugini, E., Verma, D.C., 1983. Micropropagation of a difficult-to-propagate almond (*Prunus amygdalus*, Batsch) cultivar. Plant Sci. Lett. 28, 273–281.

Sharma, K.K. and Thorpe, T.A. 1990. *In vitro* propagation of mulberry (*Morus alba* L.) through nodal segments. Scientia Horticulture, 42: 4, 307-320.

Sharmila, C., Soumita, C., Datta, S.K. and Chattopadhyay, S. 1990. Quick *in vitro* production of mulberry (*Morus alba*) plantlets for commerical purpose. Indian Journal of Experimental Biology, 28: 6, 522-525; 8.

Smith, T.A., Bagni, N., Fracossini, D.S. 1979. The formation of amines and their derivatives in plants (EJ Hewitt, CV Cutting seeds) “Nitrogen Assimilation of Plants” , Academic Press, New York, pp. 557-570.

Soylu, A., Akbudak, B., Gümüş, C., Mert, C. 1997. Değişik uygulamaların “İchinosa Dut Odun Çeliklerinin Köklenmesi Üzerine Etkileri”. Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg., (1997) 13: 11-20.

Soylu, A. ve Ertürk, Ü. 1999. Researchs on micropropagation of chestnut. Acta Hort. 494:247-253.

Tabachnik, L., Kester, D.E., 1977. Shoot culture for almond and almond–peach hybrid clones *in vitro*. HortScience 12, 545–547.

Tang W, Newton R.J. 2005. Polyamines promote root elongation and growth by increasing root cell division in regenerated *Virginia pine* (*Pinus virginiana* Mill.) plantlets. Plant Cell Rep 24:581–589.

Tewary, PK., Gupta, BK. and Rao, GS.1989. *In vitro* studies on the growth rate of callus of mulberry (*Morus alba* L.). Indian Journal of Forestry, 12: 1, 34-35.

Tewary, PK. and Rao, GS. 1990. Multiple shoot formation through shoot apex culture of mulberry. Indian Journal of Forestry, 13: 2, 109-111.

Ting zing, Z., Tan, Y. Huang, G. Fan, H. ve Ma B. 1988. Mulberry Cultivation. FAO Agriculturae Services Bulletin, 73, 1, p. 127, Rome.

Tutin, G. T. 1996. *Morus* L.'in : Tutin. G.T. Burges, N.A., Chater, A.C., Edmondson, J. R., Heywood, V.H., Moore, D. M., Valentine. D. H., Walters S. M., Webb. D.A. (Ed). Flora Europe Vol 1, Psilotaceae to Platanaceae Seond Edition. pp. 77. Cambridge University Press, Australia.

Ünal, A., Özçağırın, R. ve Hepaksoy, S. 1992. Kara dut ve mor dut çeşitlerinde odun çeliklerinin köklenmesi üzerinde bir araştırma. Türkiye I. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi, Cilt 1, 267-270.

Vural, U. 2001. Aşılı karadut (*Morus nigra* L.) fidanı üretimi üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi.

Yadav, U., Lal, M. and Jaisval, V.S. 1990. Micropropagation of *Morus nigra* L. From shoot tip and nodal eksplant of mature trees. Scientia Horticulture, 44:1-2, 61-67.

Yao Q., Wang, L. , Xing, Q., Chen, J., Zhu, H. 2010. Exogenous polyamines influence root morphogenesis and arbuscular mycorrhizal development of Citrus limonia seedlings. Plant Growth Regul (2010) 60:27–33.

Yıldız, K., ve Yılmaz, H. 1999. *In vitro* kültüre alınan karadut (*Morus nigra* L.) Eksplantlarında farklı hormon ve dozlarının sürgün oluşumuna etkileri üzerinde bir araştırma. 11.Kükem-Biyoteknoloji Kongresi Özel Sayısı-Eylül 1999. 23:2, 211-216.

Yıldız, K. ve Koyuncu, F. 2000. Karadutun (*Morus nigra* L.) odun çelikleri ile çoğaltılması üzerine bir araştırma. Derim, 17:130-135.

Yılmaz, M. 1982. Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği. Çukurova Üniv. Basımevi, Adana.

Zheng, T., Tan, Y., Huang, G., Fan, H., Ma, B. 1988. Mulberry Cultivation. FAO Agriculturae Services Bulletin, 73(1), Rome. 127.

Zilkah, S., Zamiri, N., Ziv, M. 2006. Putrescine and Hydrogen Peroxide Improve the Rooting of 'GF-677' Rootstock in Woody Cuttings and Tissue Culture Shoots. Acta Horticulturae. No: 713. Page:331-335.

Zimmerman, R.H. 1991. Micropropagation of temperate zone fruit and nut crops. Micropropagation, Technology and Aplication. (Ed: Debergh, P.C., Zimmerman, R.H.). Kluwer Academic Publishers, 231-236.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emel ŞENGÜL
Doğum Yeri ve Tarihi : BURSA / 26.10.1983
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Atatürk Lisesi (2000)
Lisans : Uludağ Üniversitesi/Ziraat Fakültesi (2009)
Yüksek Lisans : Uludağ Üniversitesi/Bahçe Bitkileri Ana Bilim
Dalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl : -

İletişim (e-posta) : emel.sengul26@gmail.com

Yayınları* :

Ertürk, Ü., C. Mert, E. Şengül, 2011. Cevizlerde Farklı Çöğür Anacı Kaynaklarının Gelişim Performansları. Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 4-8 Ekim 2011, Poster bildiri.

Ertürk, Ü., C. Mert, E. Şengül, 2011. Bazı Yerli ve Yabancı Ceviz Çeşitlerinin Yaprak Kalınlığı ve Stoma Yoğunluklarının Belirlenmesi. Türkiye VI. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi 4-8 Ekim 2011, Poster bildiri.