ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Oğuzcan KURTULUŞ

BAZI TURUNÇGİL MELEZLERİNİN *İN VİTRO* KOŞULLARDA ÇOĞALTIM VE KÖKLENDİRME PERFORMANSLARININ ARAŞTIRILMASI

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ADANA-2020

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI TURUNÇGİL MELEZLERİNİN *İN VİTRO* KOŞULLARDA ÇOĞALTIM VE KÖKLENDİRME PERFORMANSLARININ ARAŞTIRILMASI

Oğuzcan KURTULUŞ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Yıl: 2020, Sayfa: 57
Jüri : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU
: Doç. Dr. Özhan ŞİMŞEK

Turunçgiller yetiştiriciliği yapılan ve yüksek tür çeşitliliğine sahip meyve gruplarından biridir. Taze olarak tüketilmesi ve farklı endüstrilerde ham madde olarak kullanılması turunçgillerin önemini artırmaktadır. Bu nedenle turunçgillerde yeni çeşit ve anaç geliştirme çalışmaları oldukça önemlidir. Melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen değerli bitkilerin çoğaltılması için bitki doku kültürü çalışmaları güçlü bir alternatiftir. Tez çalışmasında, Sunki mandarin (*Citrus sunki*) x Rubidoux Üç Yapraklısı (*Poncirus trifoliata* var.Rubidoux) melez bireylerinin farklı besin ortamlarında (Murashige and Skoog Medium -MS, Woody Plant Medium -WPM, Rugini Olive Medium -ROM) mikroçoğaltım performansları incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin köklendirilmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerin (indol bütirik asit - IBA ve naftalen asetik asit - NAA) etkisi araştırılmıştır. Elde edilen köklü bitkiler dış koşullara alıştırılmıştır. Tez çalışmasında kullanılan genotiplerden mikroçoğaltım aşamasında en başarılı genotipler SR-60 ve SR-75 olurken, kök aşamasında en başarılı genotipler SR-33, SR-41, SR-47 ve SR-60 olmuştur. Besin ortamlarının mikroçoğaltım üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P<0.05$). Köklenme denemelerinde bitki boyu ve kök uzunluğu için en başarılı bitki büyüme düzenleyici IBA, kök sayısı için en başarılı bitki büyüme düzenleyici ise NAA olarak belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Bitki doku kültürü, mikroçoğaltım, melezleme, turunçgil

ABSTRACT

MSc THESIS

INVESTIGATION OF MICROPROPAGATION AND ROOTING PERFORMANCES OF SOME CITRUS HYBRIDS IN *IN VITRO* CONDITIONS

Oğuzcan KURTULUŞ

ÇUKUROVA UNIVERSITY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF HORTİCULTURE

Supervisor : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
Year: 2020, Pages: 57
Jury : Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR
: Prof. Dr. Turgut YEŞİLOĞLU
: Assoc. Prof. Dr. Özhan ŞİMŞEK

Citrus is one of the fruit species that is cultivated and has a high species diversity. Consuming fresh and using as raw material in different industries increases the importance of citrus fruits. Therefore, development of new varieties and rootstocks in citrus fruits is very important. Plant tissue culture studies are a powerful alternative to reproduce valuable plants obtained as a result of crossbreeding studies. In the thesis study, micropropagation performances of *Citrus sunki* x *Poncirus trifoliata* var. Rubidoux hybrid individuals in different nutrient media (Murashige and Skoog Medium -MS, Woody Plant Medium -WPM, Rugini Olive Medium -ROM) were investigated. In addition, the effect of different plant growth regulators (indole butyric acid - IBA and naphthalene acetic acid - NAA) on rooting of plants was investigated. Rooted plants acclimatizated to greenhouse conditions. Among the genotypes used in the thesis, the most successful genotypes in the micropropagation stage were SR-60 and SR-75, while the most successful genotypes in the root stage were SR-33, SR-41, SR-47 and SR-60. The effect of nutrient media on micropropagation was found statistically insignificant ($P < 0.05$). In rooting assay, the most successful plant growth regulator for plant height and root length was determined as IBA, and the most successful plant growth regulator for root number was determined as NAA.

Key words: Plant tissue culture, micropropagation, hybridization, citrus

GENİŞLETİLMİŞ ÖZET

Turunçgiller, Dünya'da yetiştiriciliği yapılan en büyük meyve gruplarından biridir. Anavatanı Güneydoğu Asya olan turunçgiller günümüzde Dünya'da geniş bir coğrafyaya dağılım göstermiştir. Bu anlamda turunçgiller içerisinde hızlı bir çeşit dinamiğinin var olması, farklı ıslah yöntemleriyle değişik iklim ve toprak koşullarına uyum sağlayabilen anaç ve çeşitlerin elde edilmesi önemli bir etken olmuştur. Turunçgiller, portakal, limon, mandarin ve altıntop gibi "*Citrus*" cinsine ait türleri içermektedir. Zengin bir C vitamini içeriğine sahip olan turunçgiller insan sağlığı için çok önemlidir.

Turunçgiller (*Citrus* spp.), yetiştiricilikte yaygın olarak aşı ile çoğaltılmasına rağmen, daha küçük bitki dokularının kullanılabilmesine imkan sağlayan doku kültürü teknikleri, klasik yöntemlerle çoğaltmada sorun yaşanan durumlarda seri ve hızlı üretim için kullanılmaktadır. Mikroçoğaltımın başarısı, eksplantların alındığı anaç bitkinin genotipi, sağlık durumu ve yetişme koşulları (kültürel uygulamalar, beslenme, ışık, sıcaklık, vb.) ile doğrudan ilişkilidir.

Tez kapsamında, Sunki mandarin (*Citrus sunki*) x Rubidoux Üç Yapraklısı (*Poncirus trifoliata* var.Rubidoux) melez bireylerinin farklı besin ortamlarında (Murashige and Skoog Medium -MS, Woody Plant Medium -WPM, Rugini Olive Medium -ROM) mikroçoğaltım performansları incelenmiştir. Ayrıca bitkilerin köklendirilmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerin (indol bütirik asit - IBA ve naftalen asetik asit - NAA) etkisi araştırılmıştır. Elde edilen köklü bitkiler dış koşullara alıştırılmıştır.

Mikroçoğaltım denemelerinde, genotip etkisini belirlemek amacıyla 22 melez MS besin ortamında, besin ortamı etkisini belirlemek için 8 melez MS ve WPM, 4 melez ise MS, WPM ve ROM besin ortamlarında kullanılmıştır. Köklenme denemelerinde genotip etkisini belirlemek için 13 melez 1 mg/L IBA içeren MS ortamında, bitki büyüme düzenleyicilerin etkisini belirlemek için ise 9 melez IBA ve NAA içeren MS ortamında köklendirilmiştir.

Çalışma sonucunda her melez bireyin genotip etkisinden dolayı farklı gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Tez kapsamında kullanılan genotiplerden mikroçoğaltım aşamasında en başarılı genotipler SR-60 ve SR-75 olurken, köklenme aşamasında en başarılı genotipler SR-33, SR-41, SR-47 ve SR-60 olmuştur. Tez çalışmasında, 6 bireyin MS ve WPM besin ortamlarında, 4 bireyin ise MS, WPM ve ROM besin besin ortamlarında mikroçoğaltımında besin ortamları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($P<0.05$). Köklenme denemelerinde bitki boyu ve kök uzunluğu için en başarılı bitki büyüme düzenleyici IBA, kök sayısı için en başarılı bitki büyüme düzenleyici ise NAA olarak belirlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisanas öğrenimim süresi boyunca hiçbir zaman desteklerini benden esirgemeyen, bana güvenen ve destek olan, değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yıldız AKA KAÇAR'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Tezimin son halini almasında emek harcayan kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Turgut Yeşiloğlu ve Sayın Doç. Dr. Özhan Şimşek'e çok teşekkür ederim.

Tez çalışmam boyunca yardım ve desteklerini benden esirgemeyen Dr. Dicle Dönmez ve Biyolog Emine Acar'a çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın laboratuvar kısmında bana yardımcı olan Çukurova Üniversitesi Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi çalışanları Ziraat Yüksek Mühendisi Belgin BİÇEN ve Fatma Kara'ya ayrıca yüksek lisans öğrencileri Zeynep Girici ve Kübra Teper'e çok teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi, tezimin yazım aşamasında da fikir ve görüşlerini benden esirgemeyen sevgili ağabeyim Dr. Alican Kurtuluş'a çok teşekkür ederim.

Son olarak beni yetiştiren, sürekli yanımda olan ve her türlü desteğini benden esirgemeyen aileme sonsuz şükranlarımı ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT II
GENİŞLETİLMİŞ ÖZET III
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER VI
ÇİZELGELER DİZİNİ VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ X
KISALTMALAR XII
1. GİRİŞ 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 5
3. MATERYAL VE YÖNTEM 11
3.1. Materyal 11
3.2. Yöntem 12
3.2.1. Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu 12
3.2.2. Kültür Ortamı 14
3.2.3. Mikroçoğaltım Denemelerinin Kurulması 14
3.2.3.1. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Genotipin Etkisi 15
3.2.3.2. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Farklı Besin Ortamlarının Etkisi 16
3.2.3.2.(1). Birinci Uygulama 16
3.2.3.2.(2). İkinci Uygulama 16
3.2.4. Köklenme Denemelerinin Kurulması 17
3.2.4.1. Turunçgil Melezlerinin Köklenmesi Üzerine Genotip Etkisinin Belirlenmesi 17
3.2.4.2. Turunçgil Melezlerinin Köklendirilmesi Üzerine Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Etkisinin Belirlenmesi 18

3.2.5. Bitkilerin Dış Koşullara Alıştırılması 19
3.2.6. Deneme Planı, İncelenen Kriterler ve İstatistik Analizleri 19
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 21
4.1. Mikroçoğaltım Denemelerine Ait Bulgular 21
4.1.1. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Genotipin Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular 21
4.1.2. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Farklı Besin Ortamlarının Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular 24
4.1.2.1. Birinci Uygulamaya Ait Veriler 24
4.1.2.2. İkinci Uygulamaya Ait Veriler 29
4.2. Köklenme Denemelerine Ait Bulgular 34
4.2.1. Turunçgil Melezlerinin Köklenmesi Üzerine Genotipin Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular 34
4.2.2. Turunçgil Melezlerinin Köklenmesi Üzerine Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular 37
4.3. Bitkilerin Dış Koşullara Alıştırılmasına Ait Veriler 42
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 51
KAYNAKLAR 53
ÖZGEÇMİŞ 57

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Dünya ve Türkiye'deki turunçgillerin 2015-2019 yılları arası üretim miktarları 1
Çizelge 3.1. Mikroçoğaltım üzerine genotip etkisinin belirlenmesinde kullanılan bitkiler 16
Çizelge 3.2. MS ve WPM ortamlarında çoğaltılan genotipler 17
Çizelge 3.3. MS, WPM ve ROM ortamlarında çoğaltılan genotipler 17
Çizelge 3.4. Turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine genotip etkisinin belirlenmesinde kullanılan genotipler 18
Çizelge 3.5. Turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkisinin belirlenmesinde kullanılan genotipler 19
Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında gelişimlerine ait veriler 22
Çizelge 4.2. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin çoğaltımı üzerine etkisinin belirlenmesinde mikroçoğaltım oranına ait veriler 24
Çizelge 4.3. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler 26
Çizelge 4.4. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait veriler 28
Çizelge 4.5. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin çoğalımı üzerine etkisinin belirlenmesinde mikroçoğaltım oranına ait veriler 30
Çizelge 4.6. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler 31
Çizelge 4.7. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait veriler 33

Çizelge 4.8. Genotipin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisine ait veriler 35
Çizelge 4.9. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler 38
Çizelge 4.10. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait veriler 39
Çizelge 4.11. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait veriler 41
Çizelge 4.12. Dış koşullara alıştırılan bitki sayıları 43

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 1.1. 2015-2019 yılları arası Türkiye turunçgil üretim miktarları 2
Şekil 1.2. 2015-2018 yılları arası Dünya turunçgil üretim miktarları 2
Şekil 3.1. Sunki mandarini'nin olgun meyvelerinin görünümü..... 11
Şekil 3.2. Rubidoux anacı'nın olgun meyvelerinin görünümü. 12
Şekil 3.3. Bitkilerin sterilizasyon aşamaları 13
Şekil 3.4. Bitkilerin alt kültüre alınması..... 15
Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında gelişimlerine ait grafik..... 23
Şekil 4.2. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltım oranı üzerine etkisine ait grafik..... 25
Şekil 4.3. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik 27
Şekil 4.4. SR-63 genotipinin WPM besin ortamında gelişimine ait görüntü 27
Şekil 4.5. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait grafik 29
Şekil 4.6. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltım oranına ait grafik..... 31
Şekil 4.7. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik..... 32
Şekil 4.8. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait grafik 34
Şekil 4.9. Genotipin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisine ait grafik 36
Şekil 4.10. SR-49 genotipinde 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklenen bitkiler..... 36
Şekil 4.11. SR-99 genotipinde 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklenen bitkiler..... 37

Şekil 4.12. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik 39
Şekil 4.13. IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait grafik..... 40
Şekil 4.14. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait grafik 42
Şekil 4.15. Dış koşullara alıştırılan bitkilere ait görüntü 44
Şekil 4.16. SR-47 genotipinin dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonraki görüntüsü 45
Şekil 4.17. SR-60 genotipinin dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonraki görüntüsü 45
Şekil 4.18. SR-41 genotipinin dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonraki görüntüsü 46

KISALTMALAR

2,4-D	: Diklorofenoksi asetik asit
atm	: Atmosfer
BA	: Bütirik Asit
BAP	: 6-Benzil Amino Pürin
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyici
Cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DKW	: (Driver and Kuniyuki Walnut Medium)
EK	: Embriyogenik Kallus
FAO	: Food and Agriculture Organisation (Gıda ve Tarım Örgütü)
g	: Gram
$GA3_3$	: Giberellik asit
IAA	: İndol Asetik asit
IBA	: İndol Bütirik asit
KİN	: 6-Furfuril Amino Pürin
L	: Litre
mg	: Miligram
MS	: (Murashige ve Skoog, 1962)
MT	: Murashige & Tucker
NAA	: Naftalin asetik asit
ºC	: Santigrat derece
RITA	: The Recipient for Automated Temporary Immersion (Otomatik Geçici Daldırma için Alıcı)
ROM	: Rugini Olive Medium
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu

WPM : (WP, Lloyd ve McCown, 1980)

µl : Mikrolitre

1. GİRİŞ

Turunçgiller (*Citrus spp*.), dünya'da yetiştiriciliği yapılan en büyük meyve gruplarındandır. Anavatanı Çin, Güneydoğu Asya ve Hindistan olan turunçgiller günümüzde Dünya'da geniş bir coğrafyaya dağılım göstermiştir. Turunçgiller; limon, mandarin, portakal ve altıntop gibi yetiştiriciliği yaygın ve ekonomik değere sahip türlerin yanı sıra şadok, ağaç kavunu ve bergamot gibi diğer türleri de barındırmaktadır. Bu anlamda turunçgiller bünyesinde hızlı bir çeşit dinamiğinin var olması, farklı ıslah yöntemleriyle değişik iklim ve toprak koşullarına uyum sağlayabilen anaç ve çeşitlerin elde edilmesi önemli bir etken olmuştur. Tropik ve semitropik ikilm bitkisi olan turunçgillerin sofralık olarak yetiştiriciliği daha çok subtropik bölgelerde yoğunlaşmış durumdadır. Akdeniz havzası içerisinde yer alan ülkemiz, kaliteli sofralık üretim bakımından uygun ekolojik koşullara sahiptir (Tuzcu, 1998). Yıllara göre Dünya ve Türkiye'deki turunçgil üretimleri Çizelge 1.1, Şekil 1.1 ve Şekil 1.2'de sunulmuştur.

Çizelge 1.1. Dünya ve Türkiye'deki turunçgillerin 2015-2019 yılları arası üretim miktarları (FAO, TÜİK, 2020)

Yıl	Dünya (Ton)	Türkiye (Ton)
2015	144.377.310	3.975.873
2016	144.931.671	4.293.007
2017	146.276.055	4.769.726
2018	152.448.800	4.902.052
2019	-	4.301.415



Şekil 1.1. 2015-2019 yılları arası Türkiye turunçgil üretim miktarları (TÜİK, 2020)



Şekil 1.2. 2015-2018 yılları arası Dünya turunçgil üretim miktarları (FAO, 2020)

"*Citrus*" cinsine ait portakal, limon, mandarin ve altıntop türlerine ait meyveler C vitamini içeriği bakımından zengindir. Sahip olduğu değerli fitokimyasallar nedeni ile insan sağlığı için çok önemli bir meyve grubudur. Taze meyve, meyve suyu, konsantre, reçel, marmelat olarak kullanımının yanı sıra kabuklarından elde edilen ve değerli bir bileşik olan esans kozmetikte, parfümeri sektöründe ve tıbbı amaçla olarak farmakoloji alanında kullanılmaktadır (Güven, 2010).

Citrus türleri herdem yeşil özellik gösterirler. Kendi içlerinde tür ve çeşitlere göre farklılık gösteren ağaç, meyve ve yaprak özellikleri vardır. Çiçekleri hermafrodit özelliktedir ve böceklerle tozlanır.

Çok yıllık bahçe bitkilerinde üretimde kullanılan çeşitler, heterozigot kalıtsal yapıları nedeniyle tohumla çoğaltıldıklarında genetik yapı olarak açılım gösterirler, bazı meyve tür ve çeşitlerinde tohum oluşmaz, bazı meyve türlerinde ise tohumlar oluşur, ancak tohumların çimlenme gücü ya çok düşüktür ya da çimlenme gücü hiç yoktur. Bu gibi nedenlerden dolayı generatif yolla çoğaltım tercih edilmez.

Turunçgiller (*Citrus* spp.), yetiştiricilikte yaygın olarak aşı ile çoğaltılmaktadır. Bunun yanında daha küçük bitki dokularının kullanılabilmesine imkan sağlayan doku kültürü teknikleri, klasik yöntemlerle çoğaltmada sorun yaşanan durumlarda seri ve hızlı üretim için kullanılmaktadır (Gülşen ve Uzun, 2011).

Turunçgil ıslahçılarının temel amacı değişik şekillerde meydana gelen farklılıkları belirlemek ve vejetatif çoğaltmanın avantajıyla bireylerin devamlılığını sağlamaktır. Melezleme çalışmaları ile melez bitkiler arasından seçim yapılarak aranan özellikleri taşıyan genotipler seçilir (Yeşiloğlu, 2017). Seçilen genotiplerin çoğaltılması için doku kültürü teknikleri güçlü bir alternatif sunmaktadır.

Doku kültürü, bitkiden izole edilen doku (eksplant) parçasını yapay besin ortamında yaşatma tekniğidir. Hücre ve dokular bölünerek kök, yaprak, sürgün, embriyo veya tam bitki geliştirirler. Bazen kültürdeki hücre ve dokulardan kallus olarak adlandırılan farklılaşmamış hücre topluluğu gelişebilir. Bu bilgi ekonomik

önemi olan çoğu bitkilerin klonal olarak çoğaltılmasında başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Ayrıca bitki doku kültürü, bitkilerin kitlesel üretimine ilave olarak laboratuvarda sentezlenemeyen ikincil metabolitlerin ve tıbbi bileşenlerin üretiminde de kullanılmaktadır (Onay ve ark., 2012).

Bir bitkiden alınan ve yeni bir bitkiyi oluşturabilme potansiyeline sahip embriyo, gövde, sürgün, kök, kallus, tek hücre ya da polen tanesi gibi bitki kısımlarından *in vitro'*da yapay besin ortamında yeni bitkilerin elde edilmesine mikroçoğaltım denir. Bitkilerin *in vitro* üretimi, kullanılan eksplantın özelliğine göre (embriyo, meristem, anter, hücre veya protoplast kültürü vb.) adlandırılır.

Mikroçoğaltımın başarısı, eksplantların alındığı anaç bitkinin genotipi, sağlık durumu ve yetişme koşulları (kültürel uygulamalar, beslenme, ışık, sıcaklık, vb.) ile doğrudan ilişkilidir. Mikroçoğaltımın avantajları olarak hastalık ve zararlılardan arındırılmış bitkisel materyal elde edilmesi, kitlesel üretimde; üretilen bitkilerde fenotipik ve genotipik benzerlik (homojenite), diğer yöntemlerden daha kısa kültür süresi, zor üretilen türlerin daha kolay üretimi, seçilen belirli/üstün genotiplerin hızlı üretimi, üretimde daha az anaç kullanılması, somaklonal varyasyondan dolayı yeni çeşitlerin/genotiplerin elde edilmesidir (Aka-Kaçar, 2015). Islah çalışmalarında elde edilen melez bitkilerin güvenli ve hızlı bir şekilde çoğaltılması önemlidir. Ebeveynleri aynı olan farklı genotiplerin *in vitro* koşullarda verdiği tepkilerde genotipik farklılıkları oluşabilmektedir. Bu sebeple her melez bitki için optimum çoğaltım koşulunun belirlenmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışmasında, Sunki mandarin X Rubidoux Üç Yapraklısı melez bireylerinin farklı besin ortamlarında (Murashige and Skoog Medium -MS, Woody Plant Medium -WPM, Rugini Olive Medium -ROM) çoğalma ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerinde (indol bütrik asit - IBA ve naftelen asetik asit - NAA) köklenme performansları incelenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Edriss ve Burger (1984), Troyer sitranjı [*Poncirus trifoliata* (L.) Rat. × *Citrus sinensis* (L.) Osbeck]'ndan izole edilen epikotil, kök meristemi ve kök segmenti dokularını kültüre alıp rejenerasyon olanaklarını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda 10 mg/l NAA ve 0.5 mg/l BAP içeren MS ortamında kallus elde edilmiş, bu kallus kültüründen 0.1 mg/l NAA ve 0.25 mg/l BAP içeren MS ortamında sürgün oluşumu sağlanmış, sürgün oluşumu 0.1-1 mg/l NAA ve 0.5 mg/l BAP içeren MS ortamında elde edilmiş ve elde edilen sürgünlerin köklenmesi sadece 2 mg/l NAA içeren MS ortamında gerçekleşmiştir. Ayrıca 1 mg/l NAA ve 10 mg/l BAP içeren MS ortamında kök segmentlerinden kallus oluşmaksızın doğrudan sürgün oluştuğu gözlenmiştir.

Singh ve ark (1994), çalışmalarında mandarin (*C. reticulata* Blanco cv. Khasi mandarini) ve limon (*C. lemon* Burm) bitkilerinden alınan sürgün ucu eksplantları ile mikroçoğaltım yapmışlardır. Mikroçoğaltım denemelerinde, 1 mg/L BAP, 0.5 mg/L Kinetin ve 0.5 mg/L NAA içeren MS ortamı kullanılmıştır. Köklenme denemelerinde ise, 0.25 mg/L BAP, 0.5 mg/L NAA ve 0.5 mg/L IBA içeren MS besin ortamı kullanmışlardır. Köklenen bitkiler dış koşullara aktarılmıştır.

Bordon ve ark. (2000), 4 *Citrus* türü (*C. aurantium, C. macrofilla, C. reshni, C. sinensis*) ve Troyer sitranjının *in vitro* çoğaltımı üzerine ışık, hormonlar ve eksplant yönünün etkilerini araştırdıkları çalışmada, dikey yerleştirilen eksplantların kallus oluşumu olmadan doğrudan kök oluşturduğunu, yatay dikimlerde ise sadece Troyer sitranjının doğrudan kök oluşturduğunu, *Citrus* türlerinin ise doğrudan kök oluşturmadığını tespit etmişlerdir. Karanlığın sürgün oluşumunu engellediğini ve bu etkinin sitokinin benziladenin uygulamaları ile Troyer sitranjında ve kısmen *C. sinensis*'te ortadan kalktığını belirlemişlerdir. Bu çalışmada elde ettikleri kalitatif ve kantitatif farklılıklar sonucunda *in vitro*

çoğaltım koşullarının her genotip için ayrı ayrı optimize edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.

Kaya ve Gübbük (2001), Troyer sitranjı, Carrizo sitranjı ve Turunç anaçlarının *in vitro* çoğaltım koşullarını araştırmışlardır. Bu çalışmada farklı hormon konsantrasyonları ve eksplant tiplerinin çoğaltma ve köklendirme üzerine etkileri incelenmiştir. Araştırma sonucunda, Troyer ve Carrizo sitranjı anaçları için büyüme ve gelişme aşamasında 1 mg/l BAP, 1 mg/l NAA ve 1 mg/l GA ilavesi, turunçta ise 1 mg/l BAP ve 1 mg/l NAA ilavesinin sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu verdiği gözlemlenmiştir. Çoğaltma aşamasında denenen besi ortamlarından 2 mg/l BAP'ın 1 mg/l NAA ile kullanımında elde edilen sürgün sayısı BAP'ın tek başına kullanımına göre daha iyi sonuç vermiştir. Köklendirme aşamasında ise IBA'nın NAA ile kullanımı, sadece IBA kullanımına göre daha iyi sonuç verdiği saptanmıştır. Araştırma sonucunda, Troyer ve Carrizo sitranjı anaçlarının doku kültürü ile çoğaltılabileceği, Turunç anacının ise köklendirme aşamasında çok başarılı sonuç vermediği gözlemlenmiştir.

Ali ve Mirza (2006), *Citrus jambhiri*'nin MS ortamında mikroçoğaltımında farklı hormon konsantrasyonları ve farklı bitki eksplantlarının etkilerini araştırmışlardır. Optimum kallus oluşumu tüm eksplant tipleri için 1.5 mg/l 2,4-D ilave edilmiş MS ortamında gerçekleşmiştir. Kallustan sürgün oluşumu 3 mg/l BA içeren MS ortamında gerçekleşmiştir. Doğrudan sürgün oluşumu gövde segmenti eksplantlarının 3 mg/l BA içeren MS ortamına aktarıldığında gerçekleşmiştir. Ayrıca 0.5 mg/l NAA içeren MS ortamı %70 oranında köklenme sağlamıştır.

Biçen (2008), 10 turunçgil genotipinde 1, 2 ve 3 mg/l BA içeren MS ve 0, 0.5 ve 1 mg/l BA içeren MT besi ortamlarında stil ve ovül kültürü ile kallus oluşumu, somatik embriyogenesis ve bitki rejenerasyonu sağlamıştır. Çalışmanın sonucunda stil eksplantlarından somatik embriyo oluşumu %0 (Pomeroy üç yapraklısı, Volkameriana, AREC Swingle Sitrumelo, M2 Sitranjı) ve % 100 (Gou Tou turuncu) arasında, ovül eksplantlarında ise somatik embriyo oluşum oranları %

0 (Alanya Dilimli portakalı, AREC Swingle, Sitrumelo Carrizo Sitranjı) ile % 100 (Kleopatra Mandarini ve Tuzcu 891) arasında görülmüştür.

Sharma ve ark (2009), Kleopatra mandarini, Kaba limon, Troyer sitranjı ve Pectinifera anaçlarının sürgün ucu ve nod eksplantları ile yürüttükleri bu çalışmada, 0.5 mg/L Kinetin, 2 mg/L NAA ve 2 mg/L 2,4-D içeren MS besin ortamı kullanmışlardır. Ayrıca eksplant başına düşen maksimum kardeş sayısı 1 mg/L BAP içeren MS ortamında saptanmıştır. Kleopatra mandarini ve Kaba limon anaçları için ½ MS ve 10 mg/L IBA ile maksimum köklenme elde edilmiştir. Troyer sitranjında kallus gelişimi ve kardeşlenme olmasına rağmen sürgün ve kök oluşumu gözlemlenememiştir. Köklendirilen bitkiler dış koşullara aktarılmıştır.

Perez ve ark (2010), Fino 46, Fino 49, Fino 77, Eureca, Lizbon ve Messina limon çeşitlerine ait nodal segmentler ile mikroçoğaltım ve köklendirme çalışmaları yapmışlardır. En iyi köklenme 3 mg/L IBA ile en iyi kardeşlenme ise 2 mg/L BA ve 2 mg/L GA_3 içeren ortamdan elde edilmiştir.

Bhagat ve ark (2012), Limon'da (*C. jambhiri*) mikroçoğaltım ve RAPD markır sistemi ile genetik kararlılığın belirlenmesini çalışmışlardır. Çalışmada eksplant olarak nodal segmentler kullanılmıştır. 3 mg/L BAP içeren MS besin ortamı kullanılarak maksimum kardeş (%75) oluşumu ve 2 mg/L 2İP içeren MS besin ortamı kullanılarak maksimum sürgün (2.57 cm) uzunluğu elde edilmiştir. Maksimum köklenme (%87) 0.5 mg/L NAA içeren MS besin ortamı ile elde edilmiştir. RAPD analizleri sonucunda somaklonal varyasyon gözlenmemiştir.

Şen ve Aka Kaçar (2012), yürüttükleri çalışmalarında on bir turunçgil anacının *in vitro* koşullarda geliştirilen bitkilerinin kök segmentleri, epikotil, kotiledon, yaprak ve embriyo eksplantları kullanılarak embriyogenik kallus (EK) eldesi amaçlamışlardır. Eksplantları farklı besi ortamlarında kültüre almışlardır. Bu çalışmanın sonunda, embriyo eksplantlarından elde edilen kalluslardan en yüksek embriyogenik kallus oluşum oranı 2,4-D (2 mg/l) + BAP (0.5 mg/l) içeren besi ortamında Troyer sitranjı (*Citrus sinensis* (l) Osb. X *Poncirus trifoliata* (L) Raf) anacında %80 EK oluşumu görülmüştür. Epikotil, yaprak ve kotiledon kültürlerinin

her üçünde de en iyi besi ortamı 2,4-D (2 mg/l) + KİN (0.5 mg/l) + NAA (2 mg/l) içeren denemede EK oluşumu görülmüştür. Epikotil eksplantı denemesinde, en iyi EK oluşumu Rubidoux (*Poncirus trifoliata* (L) Raf.) üç yapraklı genotipinde görülürken, yaprak eksplantında *Severinia buxifolia* genotipi en iyi EK olarak saptanmıştır. Kotiledon eksplantı denemesinde de en iyi EK oluşumu Troyer sitranjı genotipinde görülmüştür. Kök eksplantı denemesinde en yüksek EK Gou Tou turuncu (*Citrus aurantium* L.) genotipinde görülmüştür. En iyi besi ortamının ise 2,4-D (2 mg/l) + KİN (0.5 mg/l) olduğu saptanmıştır.

Tallon ve ark (2013), Alemow (*C. macrophylla*) ve Turunç (*C. aurantium*) bitkilerinden alınan nodal eksplantlarla *in vitro* organogenesis çalışmışlardır. Çalışmada farklı besin ortamlarının (MS, WPM ve DKW) optimum koşullarda farklı konsantrasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicilerle kombinasyonu denenmiştir. En iyi sonuçlar Alemow için 3 mg/L BA, turunç için 2 mg/L BA içeren ortamlarda elde edilmiştir. Anaçlarda 3 farklı temel ortamdan Alemow için WPM (Woody Plant Medium) ya da DKW (Driver and Kuniyuki Walnut Medium) en iyi sonuçları verirken, Turunç için DKW en iyi ortam olarak belirlenmiştir.

Amgai ve ark. (2016), MS ortamında 10 farklı hormon (BAP ve IAA) düzeyinin ve 3 farklı kültür süresinin (4, 8, 12 hafta) mandarin (*Citrus reticulata* Blanco)'in *in vitro* koşullarda çoğaltımında kallus oluşumu, sürgün oluşumu ve bitki rejenerasyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada eksplantlardan doğrudan sürgün oluşumunun en yüksek olduğu hormun düzeyi BAP (0.5 mg/l) ve IAA (0.2 mg/l) olarak belirlenmiş, bu hormon düzeyinde eksplant olarak *in vitro* koşullarda elde edilmiş bitkilerin sürgün ucu kullanıldığında doğrudan sürgün oluşumu oranı % 71.72 iken gövde tomurcuğu kullanıldığında bu oran % 27.91 olmuştur. Ayrıca eksplant olarak çiçek tomurcuğu kullanıldığında sürgün elde edilemediği belirtilmiştir.

İnceoğlu (2018), yapmış olduğu bu çalışmada dört farklı turunçgil anacının (Carrizo sitranjı, Tuzcu 31-31 turuncu, Gou Tou turuncu) *in vitro* koşullarda çimlendirilen tohumlarından gelişen kök eksplantları kullanılarak bitki

rejenerasyonunun optimizasyonunu hedeflemiştir. Bu çalışmada kullandığı turunçgil genotiplerine ait kök eksplantları BAP ve NAA'nın 21 farklı konsantrasyonunu içeren besin ortamında kültüre almıştır. Bu çalışmanın sonunda kök eksplantlarından elde edilen kalluslardan en yüksek başarı 0.5 mg/L BAP içeren MS ortamında Carrizo sitranjında (%90.73), Tuzcu 31-31 turuncunda (%83.33) ve Tuzcu Kleopatra mandarininde (%62.87) sağlanmıştır. Gou Tou turuncunda ise kallus oluşum oranı %58.33 olarak saptanmıştır. Rejenerasyon oranlarına bakıldığında en yüksek başarı Carrizo sitranjında (%88.09), daha sonra Tuzcu 31-31 genotipinde (%25.95) görülmüştür. En düşük rejenerasyon oranı ise Gou Tou turuncunda (%2.75) görülmüştür. Tuzcu Kleopatra mandarininde rejenerasyon sağlanamamıştır. Sürgün oluşum oranlarına bakıldığında Carrizo sitranjı en başarılı genotip olarak belirlenmiştir (%60.95). Carrizo sitranjında 0.5 mg/L BA, 1.0 mg/L BA+0.5 mg/L NAA ve 2.0 mg/L BAP içeren MS ortamlarında %100 başarı elde edilmiştir. Gou Tou turuncunda sürgün başarı oranı %0.23 olarak saptanmıştır.

Cengiz (2018), turunçgillerde yaygın olarak kullanılan 'Tuzcu 31-31 turuncu' ve 'C-35 sitranjı' anaçlarının, katı besin ortamları ve Plantform biyoreaktör sistemi besin ortamlarında mikroçoğaltımı ve köklendirme çalışmaları yapmıştır. 'Tuzcu 31-31 turuncu' ve 'C-35 sitranjı' genotiplerinin ikisinde de en iyi mikroçoğaltım ortamı 2.0 mg/L BAP içeren MS besin ortamı olarak, en iyi köklendirme ortamı ise 0.5 mg/L NAA içeren ½ MS besin ortamı olarak tespit edilmiştir. Ardından bu ortamlar ile Plantform biyoreaktör sisteminde çalışmıştır. Bu çalışma sonunda ise Tuzcu 31-31 turuncu çoğaltma ve köklenme ortamında Plantform biyoreaktör sistemi bitki kalitesi, çoğalma katsayısı ve bitki boyu bakımından katı besin ortamına göre daha iyi gelişme gösterdiğini tespit etmiştir. C-35 sitranjında ise çoğaltma ortamında bir fark gözlenemezken, köklendirme ortamında Plantform biyoreaktör sistemi daha iyi gelişme ve istatistiksel üstünlük göstermiştir. Plantform biyoreaktör sistemiyle elde ettiği bitkileri SSR

markırlarıyla tarama yapmıştır ve bunun sonucunda herhangi bir genetik açılım görülmemiştir.

Bulbarela-Marini ve ark. (2019), Tahiti laymı (*Citrus latifolia*)'nın *in vitro* çoğaltım olanaklarını araştırdıkları çalışmalarında, RITA®-type biyoreaktör, yarı katı ortam ve sıvı ortama yarı daldırma yöntemiyle ortamların etkinliğini araştırmışlardır. RITA®-type biyoreaktörün 40 ml kullanıldığında sürgün sayısında (3.20), yarı katı ortam (1.58) ve yarı daldırma (1.21)'ya göre daha yüksek başarı sağlamıştır. Ayrıca çalışma sonunda ortamda bulunan besin elementleri ölçüldüğünde, RITA®-type biyoreaktör sisteminde azot dışındaki makro besin elementlerinin (P, K, Ca, Mg, S) ve Çinko, Bakır, Mangan ve Bor'un diğer ortamlara göre daha fazla tüketildiği tespit edilmiştir.

Santiago ve ark. (2019), 10 farklı turunçgil anacının ('Indio', 'Riverside' ve 'San Diego' citrandarinleri, 'Sunki Tropical' mandarin, ve RL × TR-001, FRL × (RL × TR)-005, CSM × (RL × TR)-059, TRH-051, TRH-069 ve CSM × TRBK-Colombia melezleri) *in vitro* da WPM ortamında çoğaltımını araştırdıkları çalışmada, 180 gün sonunda elde edilen bitki sayısı 25 ile 279 arasında değişirken en yüksek bitki sayısı Indio citrandarin anacından elde etmişlerdir. Poliembriyoni oranlarının ise %55 ile %91 arasında değiştiğini ve en yüksek poliembriyoni oranının Indio citrandarin anacında görüldüğünü bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada bitkisel materyal olarak Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melezlerinden 28 melez birey kullanılmıştır. Ebeveynlere ait bilgiler aşağıda sunulmuştur.

Sunki Mandarin (*Citrus sunki* (Hayata) hort ex. Tanaka): Sunki mandarini (Şekil 3.1), Çin'de yaygın olarak kullanılmaktadır. Tristeza ve xyloporosis (gözenekleşme) virüs hastalıklarına tolerant, ancak exocortise (Cüceleşme - CEV) duyarlıdır. Sunki mandarini üzerine aşılı ağaçlar tuzluluğa yüksek tolerant, soğuklara orta derecede tolerant ve kireçli topraklara adaptasyonu yüksektir. Meyve verimi, meyve suyu miktarı ve meyve suyundaki şeker içeriği turunç üzerine aşılı ağaçlardan elde edilen meyvelerle eşit miktarda veya daha üstündür (Castle,1987; Saunt, 2000). Kireçli topraklara adaptasyonunun iyi ve demir klorozuna tolerant olduğu bildirilmiştir (İncesu, 2011).



Şekil 3.1. Sunki mandarini'nin olgun meyvelerinin görünümü. (http://citruspages.free.fr/images/sunki5pb.jpg)

Rubidoux Üç Yapraklısı (*Poncirus trifoliata* var. Rubidoux): Üç yapraklı anacının küçük çiçekliler grubunda yer alan Rubidoux anacı (Şekil 3.2) genel olarak üç yapraklının özelliklerini göstermektedir. Soğuklara dayanıklı, nüseller embriyoniye eğilimli, üzerindeki çeşidin erkenciliğine olumlu etkisi vardır. Ayrıca büyük çiçekli gruba göre meyve kalitesine ve iriliğine ve bitkinin bodurluğu üzerine daha olumlu etkisi olduğu görülmüştür (Kamiloğlu, 2009).



Şekil 3.2. Rubidoux anacı'nın olgun meyvelerinin görünümü.
(http://citruspages.free.fr/images/poncirusrubidoux2.jpg)

3.2. Yöntem

3.2.1. Sürgün Uçlarının Sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan melez bireylere ait sürgün uçları aktif sürgün döneminde temin edilerek laboratuvara getirilmiştir. Bitkisel materyale ait sürgün uçları kültüre alınmadan önce yüzey sterilizasyonları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla laboratuvara getirilen sürgün uçları çeşme suyu altında 10 dk yıkanmış,

ardından %70'lik etil alkolde 3 dk, daha sonra %20'lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 10 dk bekletilmiştir. Son olarak sterilant maddelerin uzaklaştırılması amacıyla steril kabin içerisinde 3 defa steril saf su ile yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Bitkilerin sterilizasyon aşamaları

3.2.2. Kültür Ortamı

Yüzey sterilizasyonu tamamlanan sürgün uçları 1mg/L BAP (6-benzilaminopurin) içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Besin ortamına 30 g/L sukroz, 0.5 g/L malt ekstrakt ve 7 g/L agar eklenerek pH 5.7 ye ayarlanmıştır. Besin ortamları kültür kaplarına dökülerek 121 °C'de ve 1.05 atm basınçta otoklavda steril edilmiştir. Steril edilen besin ortamlarında sürgün uçları kültüre alınmıştır. Sürgün uçları, 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 25 °C hava koşullarında kültüre alınmıştır.

Farklı besin ortamlarının ve genotipin melez turunçgil bireylerinin mikroçoğaltımı üzerine etkisini belirlemek amacıyla kurulan denemelerde ilk olarak başlangıç materyalleri MS besin ortamında çoğaltılmıştır ve elde edilen bitkiler ile mikroçoğaltım denemeleri kurulmuştur.

3.2.3. Mikroçoğaltım Denemelerinin Kurulması

Melez turunçgil bitkilerinin mikroçoğaltım denemelerinde MS, WPM ve ROM besin ortamları kullanılmıştır. Hazırlanan besin ortamlarına 1 mg/L BAP, 30 g/L sukroz, 0.5 g/L malt ekstrakt ve 7 g/L agar eklenmiştir. Besin ortamlarının pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır. Besin ortamları kültür kaplarına dökülerek 121 °C'de ve 1.05 atm basınçta otoklavda steril edilmiştir. Bitkicikler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 25 °C hava koşullarında kültüre alınmıştır. Bitkicikler dört haftada bir olmak üzere toplamda 3 defa altkültüre alınmıştır. Bitkilerin altkültüre alınmasına ait görüntü Şekil 3.4'te sunulmuştur.



Şekil 3.4. Bitkilerin alt kültüre alınması

3.2.3.1. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Genotipin Etkisi

Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine genotipin etkisini belirlemek amacıyla 22 farklı Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melez bireyi MS besin ortamında çoğaltılmıştır. Denemede kullanılan genotipler Çizelge 3.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1. Mikroçoğaltım üzerine genotip etkisinin belirlenmesinde kullanılan bitkiler

No	Genotip kodu	No	Genotip kodu	No	Genotip kodu
1	SR-2	9	SR-61	17	SR-87
2	SR-5	10	SR-63	18	SR-91
3	SR-34	11	SR-69	19	SR-92
4	SR-41	12	SR-72	20	SR-94
5	SR-47	13	SR-75	21	SR-98
6	SR-49	14	SR-82	22	SR-99
7	SR-56	15	SR-83		
8	SR-60	16	SR-86		

3.2.3.2. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Farklı Besin Ortamlarının Etkisi

Kültüre alınan 22 turunçgil melezinin mikroçoğaltımı üzerine farklı besin ortamlarının etkisini belirlemek amacıyla, iki farklı uygulama gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.2.(1). Birinci Uygulama

Birinci uygulamada, 8 farklı Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melez bireyi MS ve WPM besin ortamlarında çoğaltılmıştır. Bu bireyler Çizelge 3.2.'de sunulmuştur.

3.2.3.2.(2). İkinci Uygulama

İkinci uygulamada, 4 farklı Sunki mandarin X Rubidoux üç yapraklı melez bireyi MS, WPM ve ROM besin ortamlarında çoğaltılmıştır. Bu bireyler Çizelge 3.3.'te verilmiştir.

Turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine farklı besin ortamlarının etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen denemede kullanılan genotipler, kültüre alınan 22 genotip arasından çoğalma performansı yüksek ve denemeler için yeterli sayıda bitki elde edilen genotiplerden seçilmiştir.

Çizelge 3.2. MS ve WPM ortamlarında çoğaltılan genotipler

No	Genotip kodu	No	Genotip kodu
1	SR-41	5	SR-69
2	SR-47	6	SR-82
3	SR-49	7	SR-86
4	SR-63	8	SR-99

Çizelge 3.3. MS, WPM ve ROM ortamlarında çoğaltılan genotipler

No	Genotip kodu
1	SR-60
2	SR-69
3	SR-75
4	SR-86

3.2.4. Köklenme Denemelerinin Kurulması

Melez turunçgil bireylerinin köklendirilmesi denemelerinde MS besin ortamı kullanılmıştır. Besin ortamlarına 1 mg/L IBA (indol bütirik asit), 30 g/L sukroz ve 7 g/L agar eklenmiştir. Besin ortamlarının pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır. Besin ortamları kültür kaplarına dökülerek 121 °C'de ve 1.05 atm basınçta otoklavda steril edilmiştir. Bitkicikler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık ve 25 °C ortam koşullarında kültüre alınmıştır. Bitkiler 6 hafta kültüre alınmıştır.

3.2.4.1. Turunçgil Melezlerinin Köklenmesi Üzerine Genotip Etkisinin Belirlenmesi

Turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine genotip etkisinin belirlenmesi amacıyla 13 genotip 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır.

Turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine genotip etkisinin belirlenmesi için kurulan denemede, mikroçoğaltım denemeleri sonucunda köklenme denemeleri için yeterli sayıda çoğalan genotipler ve tez çalışmasında mikroçoğaltım denemelerinin dışında tutulan, fakat laboratuvarda çoğaltımı yapılan

genotipler kullanılmıştır. Denemede kullanılan genotipler Çizelge 3.4'te sunulmuştur.

Çizelge 3.4. Turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine genotip etkisinin belirlenmesinde kullanılan genotipler

No	Genotip kodu	No	Genotip kodu
1	SR-33	8	SR-69
2	SR-41	9	SR-73
3	SR-49	10	SR-77
4	SR-51	11	SR-79
5	SR-60	12	SR-80
6	SR- 63	13	SR-99
7	SR-67		

3.2.4.2. Turunçgil Melezlerinin Köklendirilmesi Üzerine Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerin Etkisinin Belirlenmesi

Turunçgil melezlerinin köklendirilmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkisini belirlemek amacıyla besin ortamlarına 1 mg/L IBA veya 1 mg/L NAA ilave edilmiştir. Denemede kullanılan genotipler Çizelge 3.5'te sunulmuştur.

Çizelge 3.5. Turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkisinin belirlenmesinde kullanılan genotipler

No	Genotip kodu	No	Genotip kodu
1	SR-41	6	SR-69
2	SR-47	7	SR-75
3	SR-49	8	SR-82
4	SR-60	9	SR-86
5	SR-63		

3.2.5. Bitkilerin Dış Koşullara Alıştırılması

Köklenen bitkiler dış koşullara aktarılmadan önce bitkilerin bulunduğu kültür kaplarının kapakları kademeli olarak açılmış, laboratuvarda ön alıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bitkiler su ile agardan tamamen uzaklaştırıldıktan sonra serada 1:1 oranda steril torf:perlit karışımı içeren viyollere aktarılmıştır. Her besin ortamından gelen bitkiler ayrı ayrı viyollerde gözlenmiştir

3.2.6. Deneme Planı, İncelenen Kriterler ve İstatistik Analizleri

Çalışmada, melez turunçgil bireylerinin *in vitro* koşullarda çoğaltımı ve köklendirilmesi üzerine farklı genotip ve besin ortamlarının etkisi karşılaştırılmıştır. Bu amaçla, denemelerin tamamı 3 tekerrürlü olacak şekilde, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Mikroçoğaltım denemelerinde 4 haftada bir olmak üzere 3 altkültür yapılmıştır. Her altkültür sonunda 20'şer bitki incelenmiştir. İstatistik analizlerde altkültürlerin ortalamaları alınmıştır.

Mikroçoğaltım denemelerinde her altkültür sonunda;

- Mikroçoğaltım oranı (kardeş sayısı/bitki)
- Bitki boyu (cm)
- Yaprak sayısı (adet/bitki)

Köklenme denemelerinde, bitkiler kültüre alındıktan 6 hafta sonra;

- Bitki uzunluğu (cm),
- Kök sayısı (adet),
- Kök uzunluğu (cm) parametreleri incelenmiştir.

Çalışmada elde edilen veriler ile varyans analizleri gerçekleştirilmiştir. Önemli çıkan ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD testi ile belirlenmişir. İstatistik analizlerde JMP 8.01 programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında Sunki mandarin X Rubidoux Üç Yapraklısı melezlerinin farklı besin ortamlarında (MS, WPM ve ROM) mikroçoğaltım ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerinde (IBA, NAA) köklenme performansları incelenmiştir.

4.1. Mikroçoğaltım Denemelerine Ait Bulgular

4.1.1. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Genotipin Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Genotipin mikroçoğaltıma etkisini belirlemek amacıyla 1 mg/L BA içeren MS besin ortamında 22 farklı melez bireyin çoğalma performansları araştırılmıştır. Deneme sonunda mikroçoğaltım oranı, bitki boyu ve yaprak sayısına ait veriler incelenmiştir. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında gelişimlerine ait veriler Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında gelişimlerine ait veriler

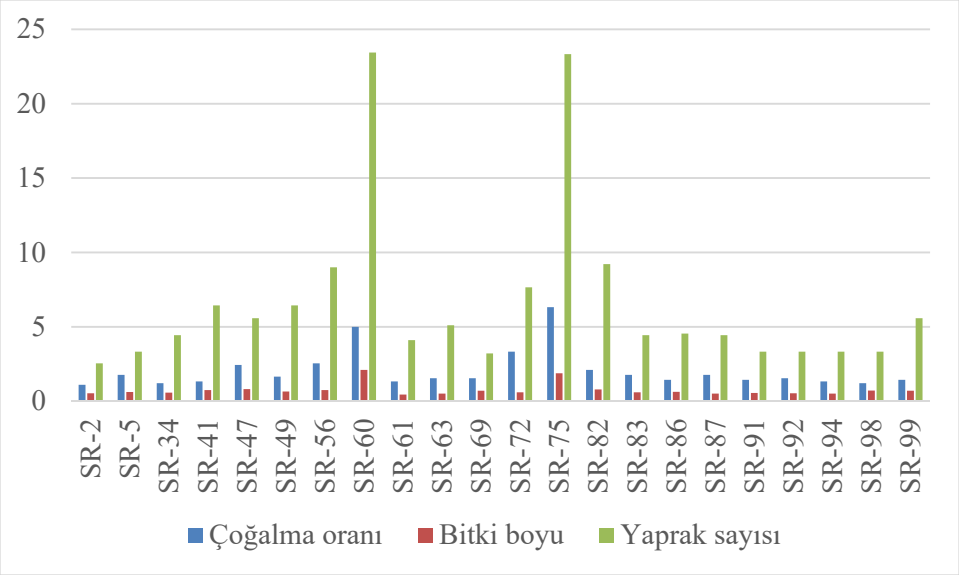
Genotip	Mikroçoğaltım oranı (kardeş sayısı/ bitki sayısı)	Bitki boyu (cm)	Yaprak sayısı (adet)
SR-2	1.11f	0.54de	2.55e
SR-5	1.77def	0.62bcde	3.33de
SR-34	1.22f	0.58bcde	4.44de
SR-41	1.33f	0.75bcd	6.44bcde
SR-47	2.44cde	0.82b	5.58bcde
SR-49	1.66def	0.66bcde	6.44bcde
SR-56	2.55cd	0.75bcd	9.00bc
SR-60	5.00b	2.11a	23.44a
SR-61	1.33f	0.45e	4.11de
SR-63	1.55def	0.52de	5.11bcde
SR-69	1.55def	0.71bcd	3.22de
SR-72	3.33c	0.60bcde	7.66bcd
SR-75	6.33a	1.88a	23.33a
SR-82	2.11def	0.80bc	9.22b
SR-83	1.77def	0.60bcde	4.44de
SR-86	1.44ef	0.63bcde	4.55cde
SR-87	1.77def	0.52de	4.44de
SR-91	1.44ef	0.56cde	3.33de
SR-92	1.55def	0.54de	3.33de
SR-94	1.33f	0.52de	3.33de
SR-98	1.22f	0.72bcd	3.33de
SR-99	1.44ef	0.71bcd	5.58bcde

LSDçoğalma oranı:1.009

LSDbitki boyu:0.244

LSDyaprak sayısı:4.472

Tez çalışmasının mikroçoğaltım denemelerinde kullanılan 22 genotip için, mikroçoğaltım oranı, bitki boyu, yaprak sayısının istatistiksel olarak önemli olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Çizelge 4.1. incelendiğinde, en iyi çoğalma performansı gösteren genotipin SR-75 (6.33 kardeş sayısı/bitki sayısı) olduğu gözlemlenirken, çoğalma oranı en düşük genotip SR-2 (1.11) olarak saptanmıştır. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında bitki boyları incelendiğinde, en yüksek bitki boyu SR-60 genotipinde (2.11 cm) gözlemlenirken, en kısa bitki boyu SR-61 genotipinde (0.45 cm) tespit edilmiştir. Genotipler arasındaki yaprak sayısı farklılıkları incelendiğinde, en fazla yaprak sayısı SR-60 genotipinde (23.44) görülürken, en az yaprak sayısı SR-2 genotipinde (2.55) saptanmıştır. Tüm veriler değerlendirildiğinde, mikroçoğaltım performansı en iyi genotipler SR-75 ve SR-60 olarak belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan 22 genotipin MS besin ortamında gelişimlerine ait grafik Şekil 4.1.'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında gelişimlerine ait grafik

4.1.2. Turunçgil Melezlerinin Mikroçoğaltımı Üzerine Farklı Besin Ortamlarının Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular

Kültüre alınan 22 turunçgil melezinin mikroçoğaltımı üzerine farklı besin ortamlarının etkisini belirlemek amacıyla, iki farklı uygulama gerçekleştirilmiştir. Birinci uygulamada, 8 farklı melez MS ve WPM besin ortamlarında çoğaltılmıştır. İkinci uygulamada, 4 farklı melez MS, WPM ve ROM besin ortamlarında çoğaltılmıştır.

4.1.2.1. Birinci Uygulamaya Ait Veriler

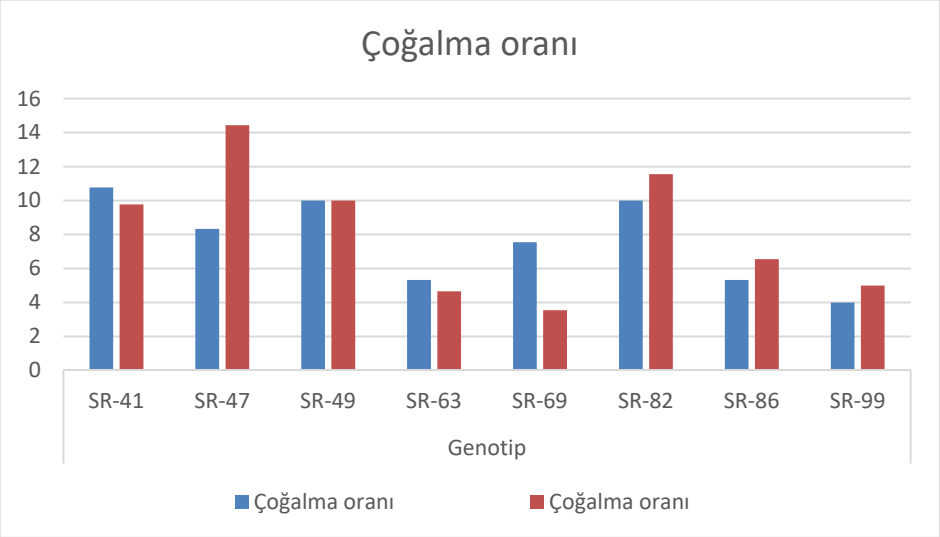
MS ve WPM besin ortamlarının 8 farklı melezin mikroçoğaltımı üzerine etkisini belirlemek amacıyla kurulan deneme sonucunda mikroçoğaltım oranı, bitki boyu ve yaprak sayısına ait veriler incelenmiştir. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine etkisinin belirlenmesinde, mikroçoğaltım oranına ait veriler Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin çoğaltımı üzerine etkisinin belirlenmesinde mikroçoğaltım oranına ait veriler

Genotip kodu	Mikroçoğaltım oranı		Genotip ortalama
	MS	WPM	
SR-41	10.77bc	9.77bcd	10.27A
SR-47	8.33bcde	14.44a	11.38A
SR-49	10.00bcd	10.00bcd	10.00A
SR-63	5.33efg	4.66fg	5.00B
SR-69	7.55cdef	3.55g	5.55B
SR-82	10.00bcd	11.55ab	10.77A
SR-86	5.33efg	6.55defg	5.94B
SR-99	4.00fg	5.00efg	4.50B
Besin ortamı ortalama	7,66	8,19	

LSDgenotip:2.529
LSDbesin ortamı:Ö.D
LSDgenotip*besin ortamı:3.576

Sekiz farklı melezin MS ve WPM besin ortamlarında mikroçoğaltım oranı üzerine genotip ve genotip*besin ortamı interaksiyonu istatistiksel olarak önemli bulunurken, besin ortamı etkisi önemsiz bulunmuştur ($P<0.05$). Çizelge 4.2 incelendiğinde, mikroçoğaltım oranı en yüksek 14.44 ile WPM besin ortamında SR-47 genotipinde ve 11.55 ile WPM besin ortamında SR-82 genotipinde gözlenmiştir. En düşük mikroçoğaltım oranı 3.55 ile WPM besin ortamında SR-69 genotipinde tespit edilmiştir. Araştırmada besin ortamlarının çoğalma oranına etkisi incelendiğinde, WPM ortamı MS besin ortamına göre daha başarılı bulunmuştur. Genotipler arasında en yüksek çoğalma oranı ortalaması SR-47 genotipinde (11.38) gözlemlenirken, en düşük çoğalma oranı ortalaması SR-99 genotipinde (4.50) saptanmıştır. Denemede kullanılan MS ve WPM besin ortamlarının genotipler arasındaki bitki mikroçoğaltım oranları üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.2.'de sunulmuştur.



Şekil 4.2. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltım oranı üzerine etkisine ait grafik

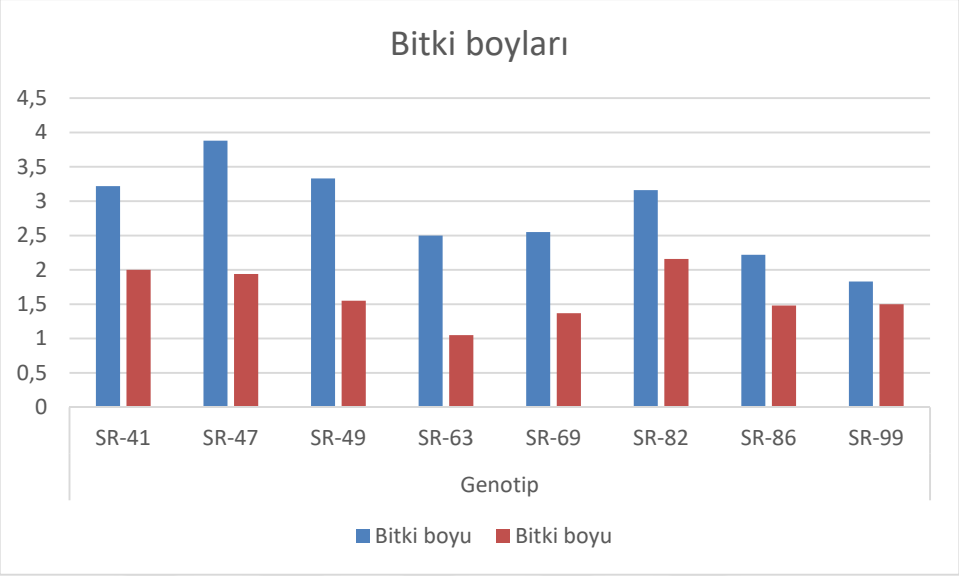
MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler Çizelge 4.3.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler

Genotip	MS	WPM	Genotip ortalama
SR-41	3.22b	2.00cdef	2.61AB
SR-47	3.88a	1.94def	2.91A
SR-49	3.33ab	1.55fgh	2.44B
SR-63	2.50cd	1.05h	1.77C
SR-69	2.55c	1.37gh	1.96C
SR-82	3.16b	2.16cde	2.66AB
SR-86	2.22cde	1.48fgh	1.85C
SR-99	1.83efg	1.50fgh	1.66C
Besin ortamı ortalama	2.84	1.63	

LSDgenotip:0.396
LSDbesin ortamı:0.198
LSDgenotip*besin ortamı:0.561

MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler incelendiğinde, genotip, besin ortamı ve genotip*besin ortamı etkileşimlerinin bitki boyu üzerine etkisi arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.05$). MS ve WPM besin ortamlarının bitki boyu üzerine etkisi kıyaslandığında, MS ortamının bitki boyu uzunluğuna WPM ortamına göre daha olumlu etki yaptığı gözlemlenmiştir. Genotipler arasında bitki uzunluğu en çok SR-47 genotipinde (2.91 cm) gözlemlenirken, en kısa bitki SR-99 (1.66 cm) olarak tespit edilmiştir. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.3.'te sunulmuştur.



Şekil 4.3. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik

Mikroçoğaltım aşamasındaki bitkilere ait görüntü Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4. SR-63 genotipinin WPM besin ortamında gelişimine ait görüntü

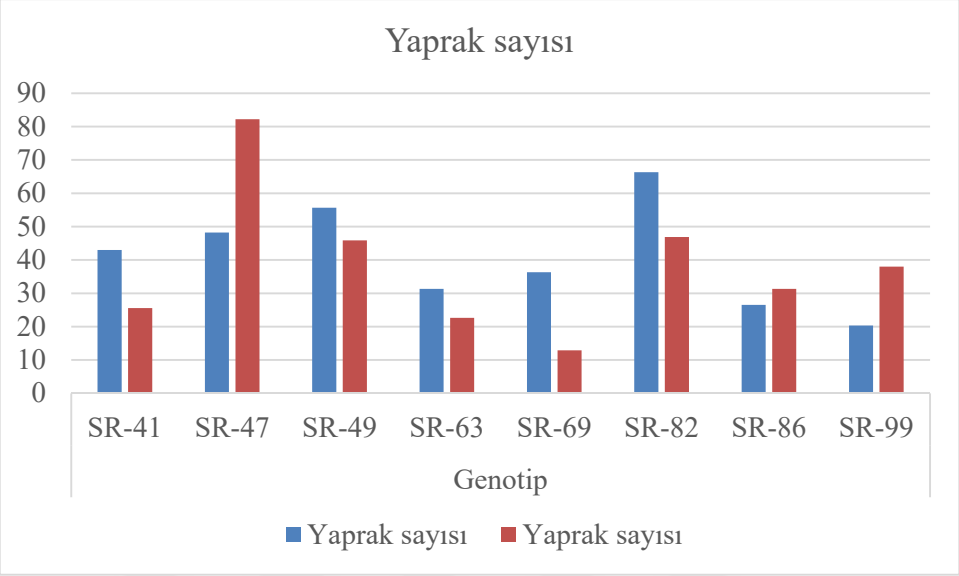
MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait veriler Çizelge 4.4.'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait veriler

Genotip	**MS**	**WPM**	**Genotip ortalama**
SR-41	43.00cde	25.55efg	34.27C
SR-47	48.22bcd	82.22a	65.22A
SR-49	55.66bc	45.88cd	50.77B
SR-63	31.33defg	22.66fg	27.00C
SR-69	36.33def	12.88g	24.61C
SR-82	66.33ab	49.66bcd	58.00AB
SR-86	26.55efg	31.33defg	28.94C
SR-99	20.33fg	38.00cdef	29.16C
Besin ortamı ortalama	40.97	38.52	

LSDgenotip:13.046
LSDbesin ortamı:ÖD
LSDgenotip*besin ortamı:18.450

MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisi incelendiğinde, genotip ve genotip*besin ortamı interaksiyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken, yalnızca besin ortamlarının etkisi arasında istatistiksel fark gözlemlenmemiştir ($P<0.05$). Genotipler bazında yaprak sayısı kıyaslandığında, en çok yapraklanma SR-47 (65.22) genotipinde gözlemlenirken, en az yapraklanma SR-69 (24.61) genotipinde gözlemlenmiştir. Yapraklanma sayısına ortamların etkisi incelendiğinde, MS ortamı WPM ortamından daha başarılı sonuç vermiştir. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.5.'te sunulmuştur.



Şekil 4.5. MS ve WPM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait grafik

4.1.2.2. İkinci Uygulamaya Ait Veriler

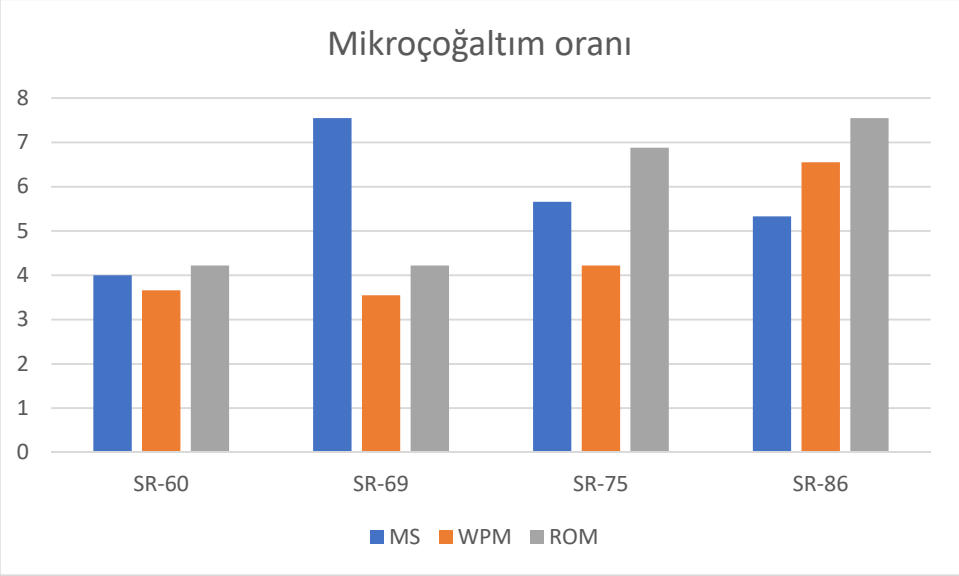
MS, WPM ve ROM besin ortamlarının 4 farklı melezin mikroçoğaltımı üzerine etkisini belirlemek amacıyla kurulan deneme sonucunda mikroçoğaltım oranı, bitki boyu ve yaprak sayısına ait veriler incelenmiştir. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltımı üzerine etkisinin belirlenmesinde, mikroçoğaltım oranına ait veriler Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4.5. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin çoğalımı üzerine etkisinin belirlenmesinde mikroçoğaltım oranına ait veriler

	Genotip				
	SR-60	**SR-69**	**SR-75**	**SR-86**	**Besin ortamı ortalama**
MS	4.00bc	7.55a	5.66abc	5.33abc	5,63
WPM	3.66c	3.55c	4.22bc	6.55ab	4,5
ROM	4.22bc	4.22bc	6.88a	7.55a	5,72
Genotip ortalama	3.96B	5.11AB	5.59A	6.48A	

LSDgenotip: 1.492
LSDbesin ortamı: ÖD
LSDgenotip*besin ortamı: 2.584

MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltım oranı üzerine etkisi incelendiğinde, genotip ve genotip*besin ortamı interaksiyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken, yalnızca besin ortamlarının etkisi arasında istatistiksel fark gözlemlenmemiştir ($P<0.05$). Çizelge 4.5. incelendiğinde en iyi çoğalma performansı gösteren genotipler SR-69 MS (7.55) ve SR-86 ROM (7.55) olduğu gözlemlenirken, çoğalma oranı en düşük genotip ise SR-69 WPM (3.55) olarak belirlenmiştir. MS besin ortamında en iyi çoğalım gösteren genotip SR-69 (7.55), WPM ortamında en iyi çoğalım gösteren genotip SR-86 (6.55) ve ROM ortamında en iyi çoğalım gösteren genotip SR-86 (7.55) olarak saptanmıştır. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin çoğalımı üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.6.'da sunulmuştur.



Şekil 4.6. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin mikroçoğaltım oranına ait grafik

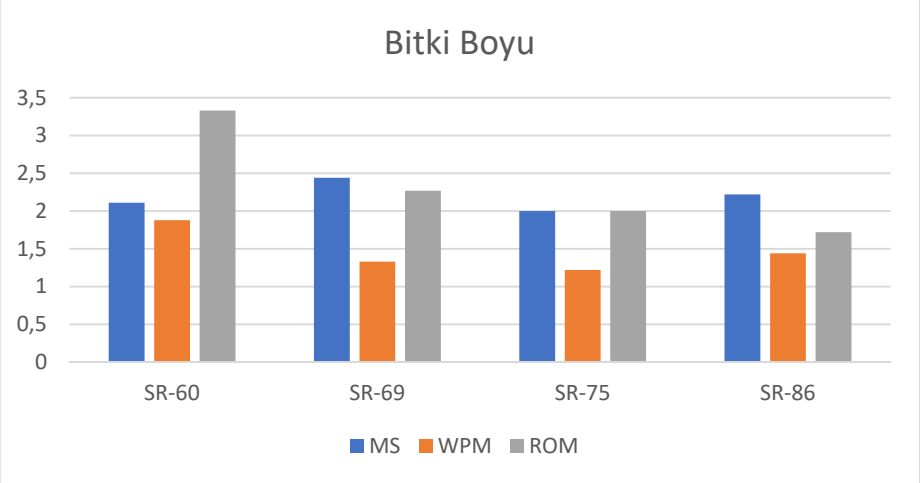
MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler Çizelge 4.6.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler

	Genotip				
	SR-60	SR-69	SR-75	SR-86	**Besin ortamı ortalama**
MS	2.11bcd	2.44b	2.00bcd	2.22bc	2.19A
WPM	1.88cde	1.33fg	1.22g	1.44efg	1.47B
ROM	3.33a	2.27bc	2.00bcd	1.72def	2.33A
Genotip ortalama	2.44A	2.01B	1.74B	1.79B	

LSDgenotip:0.278
LSDbesin ortamı:0.240
LSDgenotip*besin ortamı:0.481

MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisi incelendiğinde, genotip, besin ortamı ve genotip*besin ortamı interaksiyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Çizelge 4.6. incelendiğinde en yüksek bitki boyu gösteren genotip SR-60 MS (3.33) olduğu gözlemlenirken, bitki boyu en kısa olan genotip ise SR-75 WPM (1.22) olarak belirlenmiştir. MS besin ortamında en yüksek bitki boyu gösteren genotip SR-69 (2.44), WPM ortamında en yüksek bitki boyu gösteren genotip SR-60 (1.88) ve ROM ortamında en yüksek bitki boyu gösteren genotip SR-60 (3.33) olarak saptanmıştır. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.7.'de sunulmuştur.



Şekil 4.7. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik

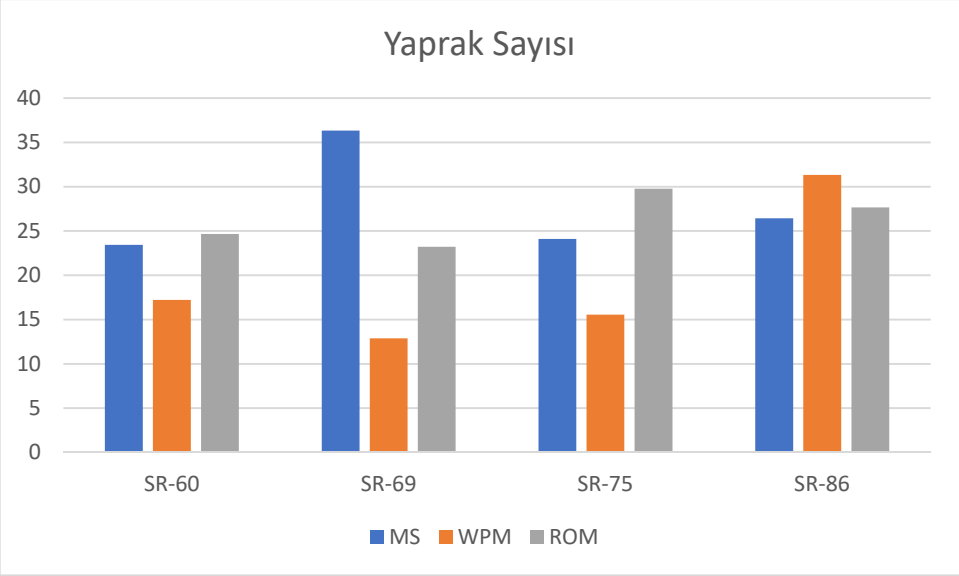
MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait veriler Çizelge 4.7.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.7. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait veriler

	Genotip				
	SR-60	SR-69	SR-75	SR-86	**Besin ortamı ortalama**
MS	23.44bcde	36.33a	24.11bcde	26.44abcd	28.56A
WPM	17.22cde	12.88e	15.55de	31.33ab	19.25B
ROM	24.66bcd	23.22bcde	29.77ab	27.66abc	26.33A
Genotip ortalama	21.77	24.14	23.14	28.48	

LSDgenotip:ÖD
LSDbesin ortamı:5.683
LSDgenotipxbesin ortamı:11.367

MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisi incelendiğinde, besin ortamı ve genotip*besin ortamı interaksiyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunurken, genotip etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Çizelge 4.7. incelendiğinde en fazla yapraklanma gösteren genotip SR-69 MS (36.33) olduğu gözlemlenirken, en az yapraklanma gösteren genotip ise SR-69 WPM (12.88) olarak belirlenmiştir. MS besin ortamında en fazla yapraklanma gösteren genotip SR-69 (36.33), WPM ortamında en fazla yapraklanma gösteren genotip SR-86 (31.33) ve ROM ortamında en fazla yapraklanma gösteren genotip SR-75 (29.77) olarak saptanmıştır. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.8.'de sunulmuştur.



Şekil 4.8. MS, WPM ve ROM besin ortamlarının turunçgil melezlerinin yaprak sayısı üzerine etkisine ait grafik

4.2. Köklenme Denemelerine Ait Bulgular

4.2.1. Turunçgil Melezlerinin Köklenmesi Üzerine Genotipin Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular

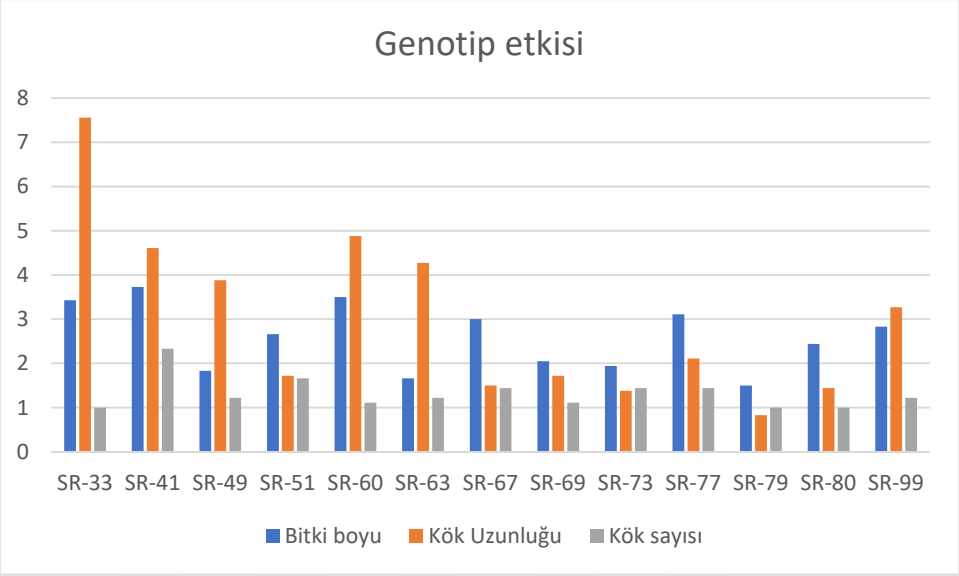
Genotipin *in vitro* köklenme üzerine etkisini belirlemek amacıyla 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında 13 farklı melez bireyin köklenme performansları araştırılmıştır. Deneme sonunda bitki boyu, kök uzunluğu ve kök sayısına ait veriler incelenmiştir. Çalışmada kullanılan genotiplerin MS besin ortamında köklenmelerine ait veriler Çizelge 4.8.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. Genotipin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisine ait veriler

Genotip	Bitki boyu	Kök Uzunluğu	Kök sayısı
SR-33	3.43abc	7.56a	1.00c
SR-41	3.77a	4.61b	2.33a
SR-49	1.83gh	3.88b	1.22bc
SR-51	2.66cdef	1.72cd	1.66b
SR-60	3.50ab	4.88b	1.11bc
SR-63	1.66gh	4.27b	1.22bc
SR-67	3.00abcd	1.50d	1.44bc
SR-69	2.05efgh	1.72cd	1.11bc
SR-73	1.94fgh	1.38d	1.44bc
SR-77	3.11abcd	2.11cd	1.44bc
SR-79	1.50h	0.83d	1.00c
SR-80	2.44defg	1.44d	1.00c
SR-99	2.83bcde	3.27bc	1.22bc

LSDbitki boyu: 0.824
LSDkök uzunluğu: 1.690
LSDkök sayısı: 0.593

Genotipin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisi incelendiğinde, bitki boyu, kök uzunluğu ve kök sayısı arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Genotipin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisine ait veriler incelendiğinde (Çizelge 4.8), en yüksek bitki boyu SR-41 genotipinde (3.77), en kısa bitki boyu ise SR-79 genotipinde (1.50) ölçülmüştür. En uzun kök SR-33 genotipinde (7.56), en kısa kök SR-79 genotipinde (0.83) ölçülmüştür. En fazla kök sayısı SR-41 genotipinde (2.33), en az kök sayısı ise SR-33, SR-79 ve SR-80 genotiplerinde (1.00) tespit edilmiştir. Genotipin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.9.'da sunulmuştur. Köklenen bitkilere ait görüntüler ise Şekil 4.10 ve Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Genotipin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisine ait grafik



Şekil 4.10. SR-49 genotipinde 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklenen bitkiler



Şekil 4.11. SR-99 genotipinde 1 mg/L IBA içeren MS besin ortamında köklenen bitkiler

4.2.2. Turunçgil Melezlerinin Köklenmesi Üzerine Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Etkisinin Belirlenmesine Ait Bulgular

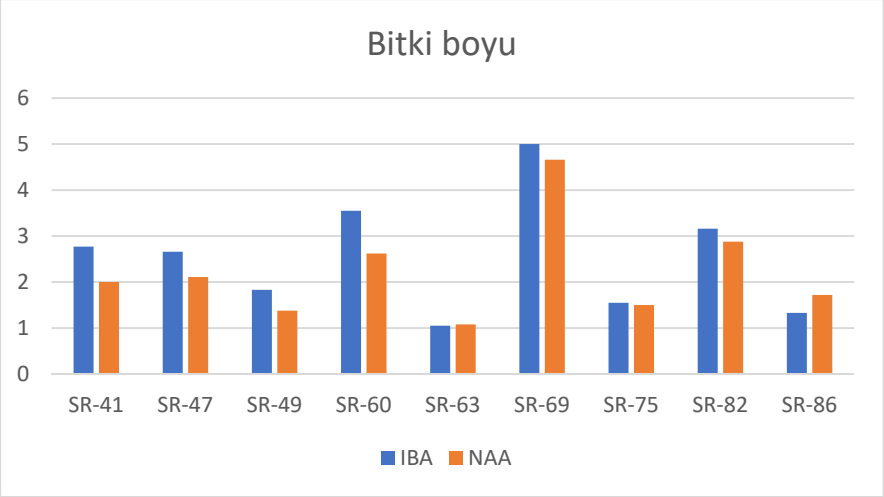
Mikroçoğaltım denemeleri sonucunda elde edilen bitkiler kullanılarak farklı bitki büyüme düzenleyicilerin turunçgil melezlerinin köklenmesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Dokuz turunçgil melezinin köklenmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicilerin etkisini belirlemek amacıyla, IBA ve NAA'nın 1 mg/L konsantrasyonu kullanılmıştır. Denemede bitki boyu, kök uzunluğu ve kök sayısına ait veriler incelenmiştir. IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler Çizelge 4.9.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.9. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait veriler

Genotip	IBA	NAA	Genotip Ortalama
SR-41	2.77cd	2.00efg	2.38C
SR-47	2.66cde	2.11def	2.38C
SR-49	1.83fg	1.38gh	1.61D
SR-60	3.55b	2.62cde	3.09B
SR-63	1.05h	1.08h	1.07E
SR-69	5.00a	4.66a	4.83A
SR-75	1.55fgh	1.50fgh	1.52DE
SR-82	3.16bc	2.88bc	3.02B
SR-86	1.38gh	1.72fgh	1.55D
BBD Ort.	2.55A	2.22B	

LSDgenotip: 0.472
LSDbbd: 0.223
LSDbbd*genotip: Ö.D.

Çizelge 4.9 incelendiğinde, genotip ve bitki büyüme düzenleyiciler arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). En uzun bitki boyu SR-69 genotipinde (5.00 IBA ve 4.66NAA) tespit edilmiştir. En kısa bitki boyu ise SR-63 genotipinde (1.05 IBA ve 1.08 NAA) ölçülmüştür. Bitki büyüme düzenleyici ayırt etmeden, gelişen genotip her iki ortamda da iyi gelişim gösterirken, kısa kalan genotip her iki ortamda fazla gelişim gösterememiştir. IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.12.'de sunulmuştur.



Şekil 4.12. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin bitki boyu üzerine etkisine ait grafik

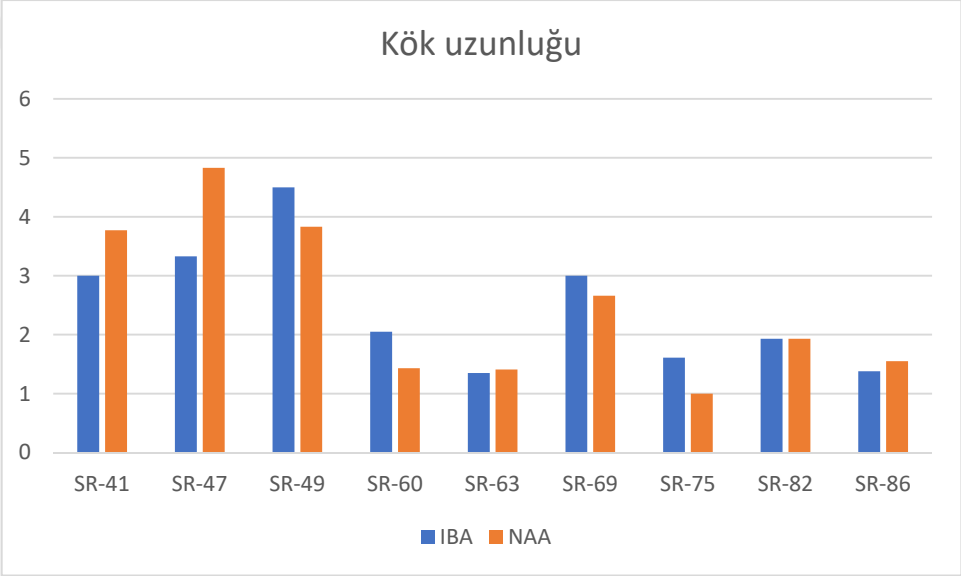
IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait veriler Çizelge 4.10.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.10. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait veriler

Genotip	IBA	NAA	Genotip Ortalama
SR-41	3.00cde	3.77bc	3.38BC
SR-47	3.33cd	4.83a	4.08AB
SR-49	4.50ab	3.83abc	4.16A
SR-60	2.05efg	1.43gh	1.74D
SR-63	1.35gh	1.41gh	1.38D
SR-69	3.00cde	2.66def	2.33C
SR-75	1.61gh	1.00h	1.30D
SR-82	1.93fgh	1.93fgh	1.93D
SR-86	1.38gh	1.55gh	1.47D
BBD Ort.	2.46A	2.49A	

LSDgenotip: 0.717
LSDbbd: Ö.D.
LSDbbd*genotip: Ö.D.

IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait veriler incelendiğinde (Çizelge 4.10), yalnızca genotipin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.05$). En fazla kök uzunluğu SR-47 genotipinde (4.83 NAA) tespit edilmiştir. En düşük kök uzunluğu ise SR-75 genotipinde (1.00 NAA) ölçülmüştür. IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.13'te sunulmuştur.



Şekil 4.13. IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait grafik

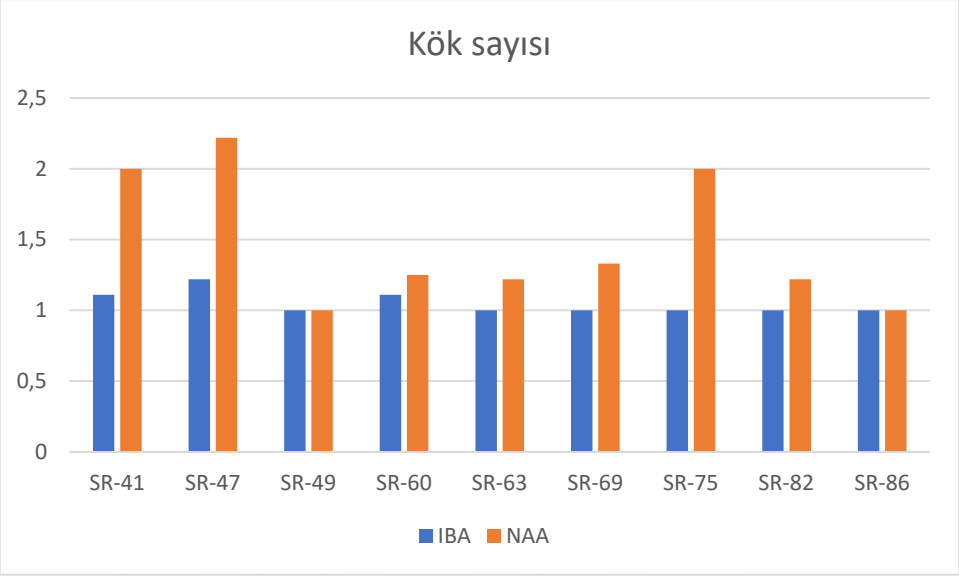
IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait veriler Çizelge 4.11'de sunulmuştur.

Çizelge 4.11. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait veriler

Genotip	**IBA**	**NAA**	**Genotip Ortalama**
SR-41	1.11b	2.00a	1.55A
SR-47	1.22b	2.22a	1.72A
SR-49	1.00b	1.00b	1.05B
SR-60	1.11b	1.25b	1.18B
SR-63	1.00b	1.22b	1.11B
SR-69	1.00b	1.33b	1.16B
SR-75	1.00b	2.00a	1.50A
SR-82	1.00b	1.22b	1.11B
SR-86	1.00b	1.00b	1.00B
BBD Ortalama	1.04B	1.48A	

LSDgenotip: 0.283
LSDbbd: 0.133
LSDbbd*genotip:0.400

IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait veriler incelendiğinde (Çizelge 4.11), genotip, bitki büyüme düzenleyici ve BBD*genotip interaksiyonları istatistiksel olarak öenmli bulunmuştur ($P<0.05$). En fazla kök sayısı SR-47 genotipinde (2.22 NAA) tespit edilmiştir. IBA ve NAA bitki büyüme düzenleyicilerinin turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait grafik Şekil 4.14.'te sunulmuştur.



Şekil 4.14. IBA ve NAA'nın turunçgil melezlerinin kök sayısı üzerine etkisine ait grafik

4.3. Bitkilerin Dış Koşullara Alıştırılmasına Ait Veriler

Köklenme denemeleri sonucunda elde edilen köklü bitkiler dış koşullara alıştırılmıştır. Dış koşullara alıştırılan bitki sayıları Çizelge 4.12'de gösterilmiştir. Dış koşullara alıştırılan bitkilere ait görüntü Şekil 4.15'te, dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonra bitkilere ait görüntüler Şekil 4.16-18'de sunulmuştur.

Çizelge 4.12. Dış koşullara alıştırılan bitki sayıları

Genotip	Dış koşullara alıştırılan bitki sayısı
SR-33	80
SR-41	370
SR-47	134
SR-49	40
SR-51	9
SR-60	60
SR-63	28
SR-67	10
SR-69	10
SR-73	9
SR-75	20
SR-77	6
SR-79	6
SR-80	6
SR-99	6



Şekil 4.15. Dış koşullara alıştırılan bitkilere ait görüntü



Şekil 4.16. SR-47 genotipinin dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonraki görüntüsü



Şekil 4.17. SR-60 genotipinin dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonraki görüntüsü



Şekil 4.18. SR-41 genotipinin dış koşullara alıştırıldıktan 2 ay sonraki görüntüsü

Günümüzde, abiyotik ve biyotik stres koşullarna dayanıklı turunçgil anaç ve çeşit geliştirme çalışmaları, farklı araştırıcılar tarafından gerçekleştirilmektedir. Anaç ve çeşit geliştirme çalışmaları sonucunda elde edilen melez bitkilerin, anaç/çeşit olma potansiyellerinin değerlendirilebilmesi için öncelikle bu materyallerin çoğaltılması gerekmektedir. *İn vitro* mikroçoğaltım, melezleme çalışmaları sonrasında elde edilen değerli materyallerin çoğaltılması için güçlü bir araçtır. Tübitak 1007-Kamu Kurumları Araştırma ve Geliştirme Projelerini Destekleme Programı kapsamında, 2013-2017 yılları arasında turunçgillerde yürütülen çeşit ve anaç geliştirme çalışmaları kapsamında elde edilen melez bitkiler *in vitro* koşullarda çoğaltılmıştır. Çalışmada 5 melezleme kombinasyonundan (Volkameriana X Rubidoux, Volkameriana X Swingle, Sunki Mandarini X Rubidoux, Çin turuncu X Rubidoux ve King Mandarini X Rubidoux) elde edilen

bitkiler kullanılmıştır. Çalışmada bitkiler 0.5 g/L malt ekstract ve 1 mg/L BA içeren MS besin ortamında kültüre alınmıştır. Çalışma sonunda *in vitro* koşullarda çoğalma ve köklenme performansı en iyi olan bireyler Çin turuncu X Rubidoux ve Volkameriana X Rubidoux melezlemesi sonucunda elde edilen bireyler olmuştur (Yeşiloğlu ve ark., 2017). Yürütülen bu tez çalışmasında Sunki mandarin X Rubidoux Üç Yapraklısı melezlerinin *in vitro* koşullarda çoğaltım ve köklendirilmesi incelenmiştir. Çalışma sonucunda her bireyin farklı gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Tez kapsamında kullanılan genotiplerden mikroçoğaltım aşamasında en başarılı genotipler SR-60 ve SR-75 olurken, kök aşamasında en başarılı genotipler SR-33, SR-41, SR-47 ve SR-60 olmuştur.

Mikroçoğaltım teknikleri az sayıdaki değerli materyallerin klonal ve hızlı çoğaltılmasında yaygın olarak kullanılmasına rağmen her bitki türünün verdiği cevap farklı olmaktadır. Turunçgiller bitki doku kültürüne zor cevap veren rekalsitrant bitki türleri arasındadır. Bu nedenle, melezleme çalışmaları sonucunda elde edilen bireylerin de çoğalma performansları başka bitki grupları ile karşılaştırıldığında düşük olmaktadır. Tez çalışmasında kullanılan Sunki mandarin X Rubidoux Üç Yapraklısı melezlerinin *in vitro* koşullarda mikroçoğaltım ve köklenme performansları birbirinden farklılık göstermiştir. Tez çalışmasında, öncelikle 22 melez birey MS besin ortamında çoğaltılmıştır. Genotipler arasındaki bu çoğalma performansları arasındaki farklılıktan dolayı, çalışmada kullanılan tüm genotiplerin farklı besin ortamlarındaki performansları incelenememiştir. Ancak, çoğalma performansı iyi olan 6 bireyin MS ve WPM besin ortamlarında, 4 bireyin ise MS, WPM ve ROM besin besin ortamlarında çoğaltımı gerçekleştirilebilmiştir. Elde edilen bu bulgu, bitkilerin *in vitro* kültürlerindeki başarının genotipe göre farklılık gösterdiğini doğrular niteliktedir.

Birçok bitki türünde olduğu gibi, turunçgillerde de, herhangi bir *in vitro* rejenerasyon sisteminin başarısı, kültür koşulları, büyüme düzenleyicilerinin uygulanması ve konsantrasyonları ve eksplant tipi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Genotip ayrıca doku kültürü sonuçları üzerinde çok güçlü bir etkiye sahiptir

(Santiago ve ark. 2019). Literatür incelendiğinde, doku kültürü süresince elde edilen cevapların bitki türüne göre değiştiğine dair çok sayıda araştırma bulunmaktadır. Bazı örneklerde, bitki doku kültürü çalışmaları süresince gözlenen cevapların nüklear genler, sitoplazmik genler ve gen interaksiyonları gibi genetik faktörler ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Genotipik farklılıklardan dolayı optimum besin ortamı ve kültür şartları türden türe farklılık göstermektedir. Bitki doku kültürü için genel bir protokol kullanılabilmesine rağmen, yakın akraba bitki çeşitleri bile birbirinden farklı besin ortamına ve kültür koşullarına ihtiyaç duyabilmektedir. Bu nedenle mikroçoğaltım ve köklendirme çalışmalarında en iyi metot denemelerle belirlenmelidir. Bitki büyüme düzenleyicileri kullanılarak *in vitro* çoğaltım ve köklendirme teşvik edilmektedir, ancak birbirine yakın genotiplerin bile eğilimleri farklı olabilmektedir (George et al., 2007). Santiago ve ark. (2019), 10 farklı turunçgil anacının ('Indio', 'Riverside' ve 'San Diego' citrandarinleri, 'Sunki Tropical' mandarin, ve RL × TR-001, FRL × (RL × TR)-005, CSM × (RL × TR)-059, TRH-051, TRH-069 ve CSM × TRBK-Colombia melezleri) *in vitro* koşullarda WPM ortamında çoğaltımını araştırmışlardır. Çalışma sonunda, en yüksek bitki sayısı Indio citrandarin anacından elde edilmiştir. Tez çalışmasında, 6 bireyin MS ve WPM besin ortamlarında, 4 bireyin ise MS, WPM ve ROM besin besin ortamlarında mikroçoğaltımında besin ortamları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($P<0.05$).

Bitki büyüme düzenleyicileri oksinler, absisik asit, sitokininler, etilen ve gibberellinler olmak üzere beş ana sınıfa ayrılır. Oksinler ve sitokininler bitki doku kültürü çalışmalarında büyümeyi ve organize gelişimi düzenlemek için kullanılan en önemli bitki büyüme düzenleyicileridir. Bitki doku kültürü çalışmalarında etkin sonuç alabilmek için aynı anda ya da ardışık olarak farklı sınıflardaki iki veya daha fazla bitki büyüme düzenleyicinin kombine edilmesi gerekebilir (Gaspar ve ark. 1996). Amgai ve ark. (2016), MS ortamında 10 farklı hormon (BAP ve IAA) düzeyinin ve 3 farklı kültür süresinin (4, 8, 12 hafta) mandarin (*Citrus reticulata* Blanco)'in *in vitro* koşullarda çoğaltımı üzerine etkilerini araştırmışlardır. En

yüksek sürgün oluşumu 0.5 mg/l BAP ve 0.2 mg/L IAA içeren besin ortamında elde edilmiştir. İnceoğlu (2013), dört farklı turunçgil anacının (Carrizo sitranjı, Tuzcu 31-31 turuncu, Gou Tou turuncu) *in vitro* koşullarda kök eksplantlarından bitki rejenerasyonunu optimize etmişlerdir. Bu amaçla BAP ve NAA'nın 21 farklı konsantrasyonunu içeren MS besin ortamı kullanmışlardır. Çalışma sonucunda, sürgün oluşum oranlarına bakıldığında Carrizo sitranjı en başarılı genotip olarak belirlenmiştir (%60.95). Carrizo sitranjında 0.5 mg/L BA, 1.0 mg/L BA+0.5 mg/L NAA ve 2.0 mg/L BAP içeren MS ortamlarında %100 başarı elde edilmiştir. Tallon ve ark (2013), Alemow (*C. macrophylla*) ve Turunç (*C. aurantium*) bitkilerinden alınan nodal eksplantlarla in vitro organogenesis çalışmışlardır. Çalışmada farklı besin ortamlarının (MS, WPM ve DKW) optimum koşullarda farklı konsantrasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicilerle kombinasyonu denenmiştir. En iyi sonuçlar Alemow için 3 mg/L BA, Turunç için 2 mg/L BA içeren ortamlarda elde edilmiştir. Anaçlarda 3 farklı temel ortamdan Alemow için WPM ya da DKW (Driver and Kuniyuki Walnut Medium) en iyi sonuçları verirken, Turunç için DKW en iyi ortam olarak belirlenmiştir. Chamandoosti (2017), *C. latifolia* Tan bitkisinde *in vitro* sürgün oluşumunu araştırmıştır. Çalışmada sürgün gelişiminin en iyi 4.44 uM BA ve 0.053 uM NAA içeren besin ortamında olduğu tespit edilmiştir. Bitki boyu için en başarılı ortam ise 4.44 uM BA ve 0.049 uM IBA içeren besin ortamı olarak belirlenmiştir. Tez çalışmasında, 9 genotipin köklendirmesi üzerine 1 mg/L IBA ve 1 mg/L NAA'nın etkisi incelenmiştir. Köklendirme denemelerinde bitki boyu, kök uzunluğu ve kök sayısına ait veriler incelenmiştir. Köklenme denemelerinde bitki boyu ve kök uzunluğu için en başarılı bitki büyüme düzenleyici IBA, kök sayısı için en başarılı bitki büyüme düzenleyici ise NAA olarak belirlenmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışmasında, Sunki mandarin X Rubidoux Üç Yapraklısı melez bireylerinin farklı besin ortamlarında (MS, WPM ve ROM) çoğalma ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerinde (IBA ve NAA) köklenme performansları incelenmiştir. Mikroçoğaltım denemelerinde, genotip etkisini belirlemek amacıyla 22 melez MS besin ortamında, besin ortamı etkisini belirlemek için 8 melez MS ve WPM, 4 melez ise MS, WPM ve ROM besin ortamlarında kullanılmıştır. Köklenme denemelerinde genotip etkisini belirlemek için 13 melez 1 mg/L IBA içeren MS ortamında, bitki büyüme düzenleyicilerin etkisini belirlemek için ise 9 melez IBA ve NAA içeren MS ortamında köklendirilmiştir.

Çalışma sonucunda her bireyin farklı gelişim gösterdiği tespit edilmiştir. Tez kapsamında kullanılan genotiplerden mikroçoğaltım aşamasında en başarılı genotipler SR-60 ve SR-75 olurken, kök aşamasında en başarılı genotipler SR-33, SR-41, SR-47 ve SR-60 olmuştur. Tez çalışmasında, 6 bireyin MS ve WPM besin ortamlarında, 4 bireyin ise MS, WPM ve ROM besin besin ortamlarında mikroçoğaltımında besin ortamları arasında istatistiksel olarak farklılık bulunmamıştır ($P<0.05$). Köklenme denemelerinde bitki boyu ve kök uzunluğu için en başarılı bitki büyüme düzenleyici IBA, kök sayısı için en başarılı bitki büyüme düzenleyici ise NAA olarak belirlenmiştir.

Turunçgil ıslah programlarının en kritik aşamalarından biri melez bitkilerin çoğaltılmasıdır. Melez bitkilerin çoğaltılmasında bitki doku kültürü yöntemleri güçlü bir alternatiftir. Bitki doku kültürü çalışmalarında başarı genotip ile doğrudan ilişkilidir. Bundan sonra yürütülecek çalışmalarda, melez bitkilerin çoğaltılmasında farklı besin ortamları kullanılabilir. Hatta besin ortam içeriklerinde modifikasyonlar yapılarak her genotip için optimum besin ortamı geliştirilebilir. Mikroçoğaltım ve köklenme aşamalarında farklı bitki büyüme düzenleyicisi ve konsantrasyonları kullanılarak optimum bitki büyüme düzenleyici tipi ve dozu belirlenebilir.

Melez bitkilerin *in vitro* kültürlerinde sınırlı başlangıç materyali olduğundan, her genotip için optimum koşulların belirlenmesi için yapılacak çalışmalar ancak yeterli sayıda materyal elde edildiği zaman mümkün olabilmektedir. Bu nedenle başlangıç ortamının çok doğru seçilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Aka Kaçar, Y., 2015. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Bitki Biyoteknolojisi Ders Notu (Yayınlanmamış).

Ali, S., & Mirza, B.,2006. Micropropagation of rough lemon (Citrus jambhiri Lush.): Effect of explant type and hormone concentration. *Acta Botanica Croatica*, *65*(2), 137-146.

Amgai, R. B., Prasai, H. K., & Pandey, Y. R. (2016). Hormonal effect on mandarin orange (Citrus reticulata Blanco) micro-propagation. *Nepal Journal of Biotechnology*, *4*(1), 33-36.

Bhagat, A., Pati, P. K., Virk, G. S., & Nagpal, A. 2012. An efficient micropropagation protocol for Citrus jambhiri Lush. and assessment of clonal fidelity employing anatomical studies and RAPD markers. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant, 48(5), 512-520.

Biçen, B., 2008. Bazi Turunçgil Anaçlarinda Farklı Eksplant Kaynağı ve Besin Ortamlarının Somatik Embriyogenesis Üzerine Etkileri. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış).

Bordón, Y., Guardiola, J. L., & García-Luis, A. (2000). Genotype affects the morphogenic response in vitro of epicotyl segments of Citrus rootstocks. *Annals of Botany*, *86*(1), 159-166.

Bulbarela-Marini, J. E., Gómez-Merino, F. C., Galindo-Tovar, M. E., Solano-Rodríguez, L. A., Murguía-González, J., Pastelín-Solano, M. C., ... & Castañeda-Castro, O. (2019). The in vitro propagation system of Citrus× latifolia (Yu. Tanaka) Yu. Tanaka (Rutaceae) affects the growth and depletion of nutriments. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *55*(3), 290-295.

Cengiz, M., 2018. Bazı Turunçgil Genotiplerinin Klasik Ve Yeni Nesil Doku Kültürü Teknikleri İle Mikroçoğaltimi Ve Genetik Kararlılığının Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi (Yayınlanmamış).

Edriss, M.H. and Burger, D.W., 1984. In vitro propagation of 'Troyer' citrange from epicotyl segments. *Scientia Hortic.,* 23: 159--162.

FAO, 2020. http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC

Gülşen, O., Uzun, A., 2011. Turunçgil Araştırmalarında BiyoteknolojiÇalışmaları. Anadolu Tarım Bilim. Derg., 26(1):68-76

Güven, N., 2010. Adana İlinde Turunçgillerin Pazarlama Yapısı ve Sorunları. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana Micropropagation of Lemon (*Citrus Limon*) from Mature Nodal Segments.

İnceoğlu, Ü., Dönmez, D., Şimşek, Ö., Yeşiloğlu, T., & Kaçar, Y. A. (2018). Carrizo Sitranjı (Citrus sinensis Osb. X Poncirus trifoliata Raf. var "Carrizo")'nın Kök Eksplantlarından Bitki Rejenerasyonunun Optimizasyonu. *alatarım*, 18.

İncesu, 2011. Anaç ve Anaç özelliği olan bazı turunçgil genotiplerinde Demir klorozuna dayanıklılığın fizyolojik ve genetik yönden incelenmesi, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 267s.

Kamiloğlu, M. 2009. Turunçgillerde ara anaç uygulamalarının uyuşmazlık ve büyüme gücü üzerine etkilerinin araştırılması, Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 386s.

Kaya, B., & Gübbük, H. Bazı Turunçgil Anaçlarının Doku Kültürü İle Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *14*(2), 69-76.

Onay, A., ve ark., 2012. Batman University International Participated Science andCulture Symposium. Batman, TURKEY

Pérez-Tornero, O., Tallon, C.I., and Porras, I., 2010. An Efficient Protocol for Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 100(3):263-271.

Santiago, R. T., ve ark., 2019. Micropropagation of different citrus rootstocks using WPM medium culture. Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em periódico indexado (ALICE).

Sharma, S., Prakash, A., & Ajinath, T. E. L. E., 2009. *İn vitro* propagation of Citrus rootstocks. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj Napoca, 37(1):84-88.

Singh, S., Ray, B. K., Bhattacharyya, S., & Deka, P. C., 1994. *İn vitro* propagation of *Citrus reticulata* Blanco and *Citrus limon* Burm. f. HortScience, 29(3):214-216.

Şen, İ., ve Aka Kaçar, Y., 2012. Bazı Turunçgil Anaçlarında Eksplant Kaynağı ve Büyüme Düzenleyicilerin Embriyogenik Kallus Eldesi Üzerine Etkileri, Ç.Ü Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, Cilt:28(5):71-78.

Tallón, C. I., Porras, I., & Pérez-Tornero, O., 2013. High efficiency *in vitro* organogenesis from mature tissue explants of Citrus macrophylla and *C. aurantium.* İn vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 49(2):145-155

Tuzcu Ö. 1998. Turunçgiller Lisans Ders Notları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Adana (Yayınlanmamış).

TÜİK, 2020. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001

Yeşiloğlu, T. 2017. Turunçgil Anaçlarının Tarihçesi ve Yeni Anaçların Geliştirilmesi. TÜRKTOB Dergisi, 22, 12-14.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Mersin'de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Mersin Özel Türkmen Koleji'nde, lise öğrenimini ise Mersin Hacı Sabancı Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2010 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü'nde başladığı lisans eğitimini 2014 yılında tamamladı. Yüksek lisans eğitimini Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda yapmaktadır.