

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BAZI AVOKADO (*Persea americana* Mill.) ANAÇLARININ *in Vitro*
KOŞULLARDA MİKRO ÇOĞALTIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Gizem GÜLER

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2025

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**BAZI AVOKADO (*Persea americana* Mill.) ANAÇLARININ *in Vitro*
KOŞULLARDA MİKRO ÇOĞALTIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Gizem GÜLER

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

TEMMUZ 2025

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI AVOKADO (*Persea americana* Mill.) ANAÇLARININ *in Vitro*
KOŞULLARDA MİKRO ÇOĞALTIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Gizem GÜLER

BAHÇE BİTKİLERİ

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

.

TEMMUZ 2025

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI AVOKADO (*Persea americana* Mill.) ANAÇLARININ *in Vitro*
KOŞULLARDA MİKRO ÇOĞALTIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

Gizem GÜLER
BAHÇE BİTKİLERİ
ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

Bu tez 21/07/2025 tarihinde jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Neslihan Yeşim YALÇIN MENDİ

Prof. Dr. Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL

Prof. Dr. Mehmet POLAT

Doç. Dr. Sevinç ATEŞ

ÖZET

BAZI AVOKADO (*Persea americana* Mill.) ANAÇLARININ *in Vitro* KOŞULLARDA MİKRO ÇOĞALTIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Gizem GÜLER

Doktora Tezi, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Temmuz 2025; 143 sayfa

Dünyada, başta Amerika, Güney Afrika ve Avustralya olmak üzere ticari avokado yetiştiriciliğinde klonal anaç kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Klonal anaç kullanımını arttıran nedenler arasında, genetik olarak homojen bireylerin elde edilmesi, biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklı olmaları, yüksek verim ve homojen meyve eldesi gösterilebilir. Türkiye’de ise klonal anaç konusu hala araştırma düzeyindedir. Ancak üretim alanlarının her geçen gün artması ve iklim değişikliğinin olumsuz etkileri göz önüne alındığında, biyotik ve abiyotik strese karşı dayanıklılıkları nedeniyle yakın gelecekte klonal anaç kullanımının Türkiye’de de kaçınılmaz hale geleceği öngörülmektedir. Bununla birlikte dünyada avokadonun mikro çoğaltımı konusunda hala sorunlar bulunmaktadır. Bu nedenle planlanan bu tez çalışmasında, dünyada yaygın olarak kullanılan ve yüksek ticari değere sahip ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal avokado anaçlarının mikro çoğaltım olanakları araştırılmıştır.

Araştırmada başlangıç aşamasında en uygun temel besin ortamının belirlenmesi amacıyla dört farklı temel besin ortamı (WPM, MS, B5 ve DKW) denenmiştir. Sürgün çoğaltma aşamasında her bir anaç için en başarılı sonuçları veren temel besin ortamına farklı sitokinin tipleri (BAP ve mT) ile konsantrasyonları (1 ve 2 mg/L) uygulanarak etkileri araştırılmıştır. Köklendirme aşamasında mikro çeliklerin köklenmesini sağlamak amacıyla farklı oksin tipleri (IBA ve NAA) ile konsantrasyonları (0, 0.5, 1, 2 ve 3 mg/L) denenmiştir. Dış koşullara alıştırma aşamasında ise *in vitro* bitkiciklerin dış koşullara adaptasyon performansları değerlendirilmiştir.

Temel besin ortamları denemesinde morfolojik parametrelere (canlılık oranı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, sürgün gelişme durumu, kararma oranı, kallus oranı ve camlaşma oranı) ait veriler I., II. ve III. alt kültür aşamalarında değerlendirilmiş; fizyolojik parametrelere (yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ve SPAD değeri) ilişkin ölçümler ise sadece III. alt kültür aşamasında gerçekleştirilmiştir. Sitokinin tipleri ile konsantrasyonlarının sürgün gelişimi ve çoğaltımı üzerindeki etkileri incelenirken, temel besin ortamları denemesinde dikkate alınan tüm parametrelere ek olarak, sürgün sayısı da dikkate alınmıştır. Köklendirme aşamasında köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök gelişme durumu ve kallus gelişme durumuna ait veriler köklenme ortamına transferden 6 hafta sonra değerlendirilmiştir. Dış koşullara alıştırma aşamasında ise *in vitro* bitkiciklerin dış koşullara alışma oranı, her iki anaç için bitkiciklerin *in vitro*

koşullardan çıkarılarak Jiffy-7 tabletlere dikildiği tarihten 2 ve 6 hafta sonra belirlenmiştir.

Araştırma bulguları, temel besin ortamları denemesinde tüm morfolojik ve fizyolojik parametreler birlikte değerlendirildiğinde, 'Duke 7' klonal anacı için en uygun temel besin ortamının WPM, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise MS besin ortamı olduğu belirlenmiştir. Sürgün gelişimi ve çoğaltımında her iki klonal anaç için en uygun sitokininin BAP olduğu belirlenmiş, sürgün gelişiminin teşvik edilmesinde 1 mg/L, sürgün çoğaltımının artırılmasında ise 2 mg/L konsantrasyonu en uygun düzey olarak tespit edilmiştir. Sürgünlerin morfolojik bütünlüğünün korunması ve kararma, kallus oluşumu ile camlaşma gibi bozuklukların en aza indirilmesinde her iki klonal anaç için sitokinin olarak mT, konsantrasyon olarak 1 mg/L en başarılı sonuçları vermiştir. Tüm fizyolojik parametreler için her iki klonal anaçta da en etkili sitokinin mT olarak belirlenmiş; optimum mT konsantrasyonu 'Duke 7' klonal anacı için 1 mg/L, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise 2 mg/L olarak tespit edilmiştir. Köklendirme denemesinde her iki klonal anaç için de en etkili oksin tipinin IBA olduğu belirlenmiş ve 'Duke 7' klonal anacı için 1 mg/L, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise 2 mg/L konsantrasyonu en uygun düzey olarak belirlenmiştir. Son aşama olan dış koşullara alıştırmada *in vitro* bitkicikler Jiffy-7 tabletlere dikimden 2 hafta sonra dış koşullara alışma başarı oranları 'Duke 7' klonal anacında %87.50, 'Toro Canyon' klonal anacında %81.25 olarak belirlenmiş, dikimden 6 hafta sonra bu oran 'Duke 7' klonal anacında %43.75 ve 'Toro Canyon' klonal anacında ise %31.75'e düşmüştür.

Araştırma bulgularımız, klonal anaçların mikro çoğaltımında başarıyı arttırmak ve ticari üretime uygun, sağlıklı bitkiler elde edebilmek için her bir genotipine özgü besin ortamı, büyüme düzenleyiciler ve konsantrasyonlarının ayrı ayrı optimize edilmesi gerektiğini göstermiştir. Ayrıca dış koşullara adaptasyonun artırılmasına yönelik olarak aklimatizasyon sürecinin aşamalı geçişlerle desteklenmesi ve uygun sera koşullarında yürütülmesi, hayatta kalma oranlarını arttırma açısından önem arz etmektedir. Bu doğrultuda, gelecekte yürütülecek çalışmalarda genotipe özgü optimizasyon ve aklimatizasyon yaklaşımlarının geliştirilmesine odaklanılması önerilmiştir. Sonuç olarak her iki klonal anaç da mikro çoğaltım yöntemi ile başarıyla çoğaltılmış, fakat dış ortama transfer edildikten 6 hafta sonra, özellikle 'Toro Canyon' klonal anacında yaşama oranı, 'Duke 7'ye göre daha düşük saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELE: BAP, IBA, *in vitro*, Klonal anaç, Köklendirme, Mikro çoğaltım, Sürgün çoğaltımı, *Persea americana* Mill.

JÜRİ: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Neslihan Yeşim YALÇIN MENDİ

Prof. Dr. Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL

Prof. Dr. Mehmet POLAT

Doç. Dr. Sevinç ATEŞ

ABSTRACT

INVESTIGATION OF MICROPROPAGATION POTENTIAL OF SOME AVOCADO (*Persea americana* Mill.) ROOTSTOCKS UNDER *in Vitro* CONDITIONS

Gizem GULER

PhD Thesis in Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

July 2025; 143 pages

The use of clonal rootstocks has begun to spread in commercial avocado cultivation worldwide, particularly in countries such as the United States, South Africa, and Australia. Among the reasons for the increasing use of clonal rootstocks are the ability to obtain genetically uniform individuals, their resistance to biotic and abiotic stress conditions, high yield potential, and the production of uniform fruits. The use of clonal rootstocks in Türkiye is still limited to the research stage. However, considering the continuous expansion of production areas and the adverse impacts of climate change, the use of clonal rootstocks in Türkiye is expected to become inevitable in the near future due to their resistance to biotic and abiotic stresses. Nevertheless, there are still challenges worldwide regarding the micropropagation of avocado. Therefore, in this thesis study the micropropagation potential of the ‘Duke 7’ and ‘Toro Canyon’ clonal avocado rootstocks, which are widely used around the world and have high commercial value, was investigated.

In the initiation stage of the study, four different basal nutrient media (WPM, MS, B5, and DKW) were evaluated to determine the most suitable basal nutrient media for micropropagation. During the shoot proliferation stage, the effects of different types of cytokinins (BAP and mT) and concentrations (1 and 2 mg/L) were investigated on the basal nutrient media that yielded the most successful results for each rootstock. In the rooting stage, different types of auxin (IBA and NAA) and concentrations (0, 0.5, 1, 2, and 3 mg/L) were evaluated to induce root formation in microcuttings. In the acclimatization stage, the adaptation performance of *in vitro* plantlets to *ex vitro* conditions was evaluated.

In the basal nutrient media test, data related to morphological parameters (viability rate, shoot length, number of leaves, shoot development status, browning rate, callus rate, and vitrification rate) were evaluated in the first, second, and third subculture stages; while measurements related to physiological parameters (leaf area, leaf fresh and dry weight, and SPAD value) were only performed in the third subculture stage. While investigating the effects of cytokinin types and concentrations on shoot development and proliferation, number of shoots was also taken into account in addition to the parameters considered in the basal nutrient media experiment. During the rooting stage, data on rooting rate, number of roots, root length, root development status, and callus development status were evaluated six weeks after transfer to the rooting medium. During the acclimatization stage, the acclimatization rate of *in vitro* plantlets to external

conditions was determined 2 and 6 weeks after the plantlets were removed from *in vitro* conditions and transplanted into Jiffy-7 tablets in each rootstock.

The research findings revealed that, when considering all morphological and physiological parameters together in the basal nutrient media experiments, the highest shoot growth was recorded in the ‘Duke 7’ clonal rootstock on WPM medium and the ‘Toro Canyon’ rootstock on MS medium. In the shoot development and proliferation, BAP was identified as the most effective cytokinin for both clonal rootstocks. While 1 mg/L BAP was found to be optimal for promoting shoot growth and development, 2 mg/L was determined to be the most suitable concentration for enhancing shoot proliferation. The most successful outcomes in maintaining morphological stability and minimizing physiological disorders such as browning, callus formation, and hyperhydricity were achieved with 1 mg/L mT treatment in both clonal rootstocks. Moreover, mT was identified as the most effective cytokinin across all physiological parameters, with the optimal concentration determined as 1 mg/L for the ‘Duke 7’ clonal rootstock and 2 mg/L for the ‘Toro Canyon’ clonal rootstock. In the rooting experiment, IBA was determined to be the most effective auxin type for both clonal rootstocks. The optimal concentration was found to be 1 mg/L for the ‘Duke 7’ clonal rootstock and 2 mg/L for the ‘Toro Canyon’ clonal rootstock. In the final stage of acclimatization, the highest acclimatization rates were 87.50% for the ‘Duke 7’ clonal rootstock and 81.25% for the ‘Toro Canyon’ clonal rootstock after 2 weeks. These rates decreased to 43.75% for the ‘Duke 7’ clonal rootstock and 31.75% for the ‘Toro Canyon’ clonal rootstock at 6 weeks after transplantation of *in vitro* plantlets into Jiffy-7 tablets.

Our research identified that to increase success in the micropropagation of clonal rootstocks and obtain healthy plants suitable for commercial production, the culture medium, growth regulators, and their concentrations must be individually optimized for each genotype. Furthermore, to enhance adaptation to *ex vitro* conditions, the acclimatization process should be supported by gradual transitions and conducted under appropriate greenhouse conditions, which is crucial for improving survival rates. Accordingly, future studies are recommended to focus on developing genotype-specific optimization and acclimatization approaches. As a result, both clonal rootstocks were successfully propagated using the micropropagation method, but six weeks after transfer to the external environment, the survival rate was found to be lower in the ‘Toro Canyon’ clonal rootstock than in the ‘Duke 7’.

KEYWORDS: BAP, IBA, *in vitro*, Clonal rootstock, Micropropagation, Rooting, Shoot propagation, *Persea americana* Mill.

COMMITTEE: Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK

Prof. Dr. Neslihan Yeşim YALÇIN MENDİ

Prof. Dr. Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL

Prof. Dr. Mehmet POLAT

Assoc. Prof. Dr. Sevinç ATEŞ

ÖNSÖZ

Avokado üretiminde modern tarım uygulamaları, özellikle klonal anaçların kullanımını ön plana çıkarmaktadır. Dünyada farklı ülkelerde (ABD, Güney Afrika, Avustralya, Yeni Zelanda vb.) klonal anaç kullanımı yaygınlaşmakta, üretim verimliliği ve kalite standartları bu sayede iyileştirilmektedir. Klonal anaçlar, genetik homojenlik sağlamaları, çevresel stres faktörlerine karşı gösterdikleri direnç ve meyve kalitesi üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle tercih edilmektedir. Türkiye’de ise bu konuda henüz herhangi bir uygulama bulunmamakla birlikte, artan üretim alanları ve iklim değişikliğine bağlı riskler göz önünde bulundurulduğunda, klonal anaçların yakın gelecekte yaygın şekilde kullanılacağı öngörülmektedir. Bu nedenlerle planlanan doktora çalışmasında, dünya genelinde yaygın olarak kullanılan ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarının mikro çoğaltım olanakları araştırılmıştır.

Doktora eğitimim süresince yalnızca bir danışman değil, aynı zamanda yol gösterici bir rehber olarak bana ilham veren; bilgi, deneyim ve desteğini daima yanımda hissettiren değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Hamide GÜBBÜK’e sonsuz saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tez izleme komitemde yer alan ve tez aşamamda bana büyük destek veren Prof. Dr. Mehmet POLAT ve Doç. Dr. Sevinç ATEŞ’e ve jüri üyesi olarak tezime katkı sağlayan kıymetli hocalarım Sayın Prof. Dr. Neslihan Yeşim YALÇIN MENDİ ve Sayın Prof. Dr. Melekber SÜLÜŞOĞLU DURUL’a teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmalarım süresince Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) bulunan Kaliforniya Üniversitesi, Riverside’de (UCR) yürüttüğüm araştırmalara maddi destek sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu’na (TÜBİTAK) (2214-A Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Burs Programı) ve bu araştırmaya yönelik ön çalışmaların gerçekleştirilmesine katkıda bulunan Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü’ne (TAGEM) teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımı yürüttüğüm Kaliforniya Üniversitesi Riverside, Bitki Transformasyon Araştırma Merkezi Müdürü Dr. Martha L. Orozco-Cardenas’a araştırma sürecimde bana sunduğu laboratuvar olanakları ve bilimsel katkılarından dolayı teşekkür ederim. Ayrıca Avokado Islah Programı Koordinatörü Prof. Dr. Mary Lu Arpaia ile program araştırmacısı Dr. Eric Focht’a araştırma sürecimde sağladıkları bitki materyali desteği, bilimsel katkıları ve her zaman yanımda olduklarını hissettirdikleri içten destekleri için en içten teşekkürlerimi sunarım. Bununla birlikte avokado konusunda yürüttüğüm çalışmalara değerli fikir ve görüşleriyle katkı sağlayan Sayın Joseph Mark Buhl’a da teşekkür ederim. Öte yandan Amerika’da bulunduğum süre boyunca her konuda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. John Giles Waines ile Sayın Makbule Temel Köksal’a da gönülden teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan; hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini daima yanımda hissettiğim sevgili annem Jale GÜLER’e ve babam Fahrettin GÜLER’e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Her zaman yanımda olan, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen kader ortağım, kardeşim Melis GÜLER’e teşekkür ederim.

Son olarak yüksek lisans öğrenimimden bu yana hayatımda olan, her konuda desteğini esirgemeyen ve doktora sürecimin başından sonuna kadar yanımda olarak katkı sunan kıymetli dostum Gülüstân POLAT’a ve doktora çalışmam boyunca çalışmalarımı bana her türlü yardımı sağlayan Öğr. Gör. Dr. Recep BALKIÇ’a teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
AKADEMİK BEYAN	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Avokado Hakkında Genel Bilgiler	3
2.2. Avokadoda Klonal Anaç Kullanımının Önemi ve Çoğaltma Yöntemleri	4
2.3. Avokadonun Mikro Çoğaltımı: Doku Kültürü Yaklaşımları	5
2.4. Avokadoda Mikro Çoğaltım Yöntemleri	7
2.4.1. Meristem/sürgün ucu kültürü	7
2.4.2. Aksiller tomurcuk/boğum kültürü	8
2.5. Avokadoda Mikro Çoğaltım Süreci	8
2.5.1. Eksplantların hazırlanması ve kültür başlangıcı	8
2.5.2. Temel besin ortamlarının kullanımı	9
2.5.3. <i>In vitro</i> çoğaltımda bitki büyüme düzenleyicilerinin ve destekleyici bileşenlerin kullanımı	12
2.5.4. <i>In vitro</i> köklendirmede bitki büyüme düzenleyicilerinin ve destekleyici bileşenlerin kullanımı	21
2.5.5. Kültür inkübasyon koşulları	29
2.5.6. Dış koşullara alıştırmaya (Aklimatizasyon) sürecinde adaptasyon uygulamaları	31
3. MATERYAL VE METOT	33
3.1. Materyal	33
3.2. Metot	34
3.2.1. Sterilizasyon işlemleri, besin ortamlarının bileşenleri ve inkübasyon koşulları	34

3.2.2. Başlangıç kültür ortamı.....	42
3.2.3. Temel besin ortamlarının eksplantların büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri.....	43
3.2.4. Farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının sürgün çoğaltımı ve gelişimi üzerine etkileri.....	45
3.2.5. Farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarının köklenme üzerine etkileri	46
3.2.6. Bitkiciklerin dış koşullara alışma (aklimatizasyon) sürecindeki performansları.....	47
3.2.7. Deneme planı ve verilerin analizi	47
4. BULGULAR	49
4.1. Temel Besin Ortamlarının Eksplantların Büyüme ve Gelişmesi Üzerine Etkileri.....	49
4.1.1. Morfolojik parametrelere ilişkin bulgular.....	49
4.1.2. Fizyolojik parametrelere ilişkin bulgular.....	69
4.2. Farklı Sitokinin Tipleri ve Konsantrasyonlarının Sürgün Çoğaltımı ve Gelişimi Üzerine Etkileri.....	71
4.2.1. Morfolojik parametrelere ilişkin bulgular.....	72
4.2.2. Fizyolojik parametrelere ilişkin bulgular.....	95
4.3. Farklı Oksin Tipleri ve Konsantrasyonlarının Köklenme Üzerine Etkileri.....	96
4.3.1. Köklendirme parametrelerine ilişkin bulgular	96
4.4. Bitkiciklerin Dış Koşullara Alışma (Aklimatizasyon) Sürecindeki Performansları	105
4.4.1. <i>In vitro</i> bitkiciklerin dış koşullara alışma oranı (%).....	105
5. TARTIŞMA	107
6. SONUÇLAR	122
7. KAYNAKLAR	125
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum “Bazı Avokado (*Persea americana* Mill.) Anaçlarının *in Vitro* Koşullarda Mikro Çoğaltım Olanaklarının Araştırılması” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

16/06/2025

Gizem GÜLER

İmzası

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

N	: Azot
dk	: Dakika
rpm	: Dakikada devir
da	: Dekar
Fe	: Demir
°C	: Derece celsius
\$	: Dolar
EtOH	: Etil alkol
K	: Fosfor
g	: Gram
v/v	: Hacim/hacim
ha	: Hektar
HCl	: Hidroklorik asit
kg	: Kilogram
L	: Litre
Mg	: Magnezyum
m ²	: Metrekare
µm	: Mikrometre
µM	: Mikromolar
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
mm ²	: Milimetrekare
K	: Potasyum

Na : Sodyum

NaOH : Sodyum hidroksit

s : Saniye

cm :Santimetre

t : Ton

% : Yüzde



Kısaltmalar

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BATEM	: Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
BAP	: Benzilaminopürin/6-benziladenin
BBD	: Bitki Büyüme Düzenleyicileri
Fe-EDDHA	: Demir – etilendiamin-N, N'-bis (2-hidroksifenilasetat)
2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit
DF	: Dixon ve Fuller
DKW	: Driver ve Kuniyuki Walnut
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
PG	: Floroglisinol
FAO	: Food and Agriculture Organization (Gıda ve Tarım Örgütü)
B5	: Gamborg
GA ₃	: Gibberellik Asit
IAA	: İndol Asetik Asit
IBA	: İndol Bütirik Asit
2iP	: 2-İzopentenil Adenine
CaCl ₂	: Kalsiyum Hipoklorit
KIN	: Kinetin
mT	: Meta-topolin
MS	: Murashige ve Skoog
NAA	: Naftalin Asetik Asit
CPPU	: N-(2-kloro-4-piridil)-N-fenilüre
NN	: Nitsch ve Nitsch
PPM	: Plant Preservation Mixture
PVP	: Polivinilpirolidon

QL	: Quoirin and Lepoiver
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
SPAD	: Soil Plant Analysis Development
TAGEM	: Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel M¼d¼rl¼ę¼
TDZ	: Thidiazuron
T¼B¼TAK	: T¼rkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
TRIA	: Triacontanol
UCR	: University of California, Riverside
WPM	: Woody Plant Medium

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. a) ‘Duke 7’; b) ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarının sera içerisindeki genel görünüşleri	33
Şekil 3.2. a) Dijital kontrollü otoklavda besin ortamlarının 20 dk süre ile sterilizasyonu; b) yatay laminar hava akışlı kabin içerisinde steril edilmiş besin ortamlarının makro pipet yardımıyla kültür kaplarına dağıtılmasına ilişkin genel görünüş	35
Şekil 3.3. Sterilizasyon öncesi toplanmış eksplantlar; ‘Duke 7’ klonal anacına ait a) sürgün uçları; b) boğum segmentleri; ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait c) sürgün uçları; d) boğum segmentlerinin genel görünüşleri	36
Şekil 3.4. Eksplantların a) akan musluk suyu altında yıkanması; b) %70 etil alkol içerisinde çalkalanması; c) sürgün uçlarının %1’lik NaOCl çözeltisinde sterilizasyonu; d) boğum segmentlerinin %3’lük NaOCl çözeltisinde sterilizasyonu; e) steril deiyonize su ile durulanması; f) 250 rpm hızda çalkalayıcıda çalkalanması aşamalarına ait genel görünüşler	37
Şekil 3.5. Başlangıç aşamasında, sürgün ucu ve boğum kültürlerine ait başlangıç kültürlerinin, iklim odasında kontrollü çevre koşulları altında inkübasyonundan genel görünüş.....	41
Şekil 3.6. Başlangıç, sürgün çoğaltma ve köklendirme aşamalarında kurulan denemelere ait kültürlerin, iklim odasında inkübasyonundan genel görünüş.....	41
Şekil 3.7. Köklendirme aşamasında, tamamen karanlık koşulların sağlanması amacıyla siyah plastik kaplar içerisinde inkübe edilen kültürlerin iklim odasındaki genel görünüşü.....	42
Şekil 3.8. Kültüre alınan ‘Duke 7’ klonal anacına ait a) sürgün uçları; b) boğum segmentleri ve ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait c) sürgün uçları; d) boğum segmentlerinin genel görünüşleri.....	43
Şekil 3.9. İlk kültür ortamında, kararma sonucu canlılığını kaybetmiş sürgün ucu eksplantının genel görünüşü	44
Şekil 3.10. <i>In vitro</i> koşullarda elde edilen yapraklara ait a) yaprak alanı; b) yaprak taze ve kuru ağırlığı; c) SPAD değeri ölçümünden genel görünüşler	45
Şekil 4.1. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler.....	50
Şekil 4.2. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler.....	51
Şekil 4.3. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler	52

Şekil 4.4. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler	53
Şekil 4.5. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan yaprak sayısındaki değişimler.....	54
Şekil 4.6. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan yaprak sayısındaki değişimler.....	55
Şekil 4.7. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler.....	56
Şekil 4.8. ‘Duke 7’ klonal anacında, üç alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gözlemlenen sürgün gelişme durumlarının genel görünümüleri: I. alt kültür a) WPM; b) MS; c) B5; d) DKW; II. alt kültür e) WPM; f) MS; g) B5; h) DKW; III. alt kültür ı) WPM; i) MS; j) B5; k) DKW	58
Şekil 4.9. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler.....	58
Şekil 4.10. ‘Toro Canyon’ klonal anacında üç alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gözlemlenen sürgün gelişme durumlarının genel görünümüleri: I. alt kültür a) WPM; b) MS; c) B5; d) DKW; II. alt kültür e) WPM; f) MS; g) B5; h) DKW; III. alt kültür ı) WPM; i) MS; j) B5; k) DKW	59
Şekil 4.11. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kararma oranlarındaki değişimler.....	60
Şekil 4.12. ‘Duke 7’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kararma oluşumunun genel görünümü	61
Şekil 4.13. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kararma oranındaki değişimler.....	62
Şekil 4.14. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kararma oluşumunun genel görünümü	63
Şekil 4.15. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kallus oranındaki değişimler.....	63
Şekil 4.16. ‘Duke 7’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kallus oluşumunun genel görünümü	64
Şekil 4.17. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kallus oranındaki değişimler.....	65

Şekil 4.18. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kallus oluşumunun genel görünümü.....	66
Şekil 4.19. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan camlaşma oranındaki değişimler.....	66
Şekil 4.20. ‘Duke 7’ klonal anacına ait eksplantlarda, MS besin ortamında gözlemlenen camlaşmanın genel görünümü	67
Şekil 4.21. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan camlaşma oranındaki değişimler.....	68
Şekil 4.22. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen camlaşmanın genel görünümü	69
Şekil 4.23. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler.....	72
Şekil 4.24. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler.....	73
Şekil 4.25. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen sürgün sayısındaki değişimler	74
Şekil 4.26. ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda oluşan sürgün sayısına ilişkin görünümler.....	75
Şekil 4.27. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen sürgün sayısındaki değişimler.....	76
Şekil 4.28. ‘Toro Canyon’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda oluşan sürgün sayısına ilişkin görünümler.....	77
Şekil 4.29. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler.....	77
Şekil 4.30. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler	78
Şekil 4.31. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen yaprak sayısındaki değişimler	80
Şekil 4.32. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen yaprak sayısındaki değişimler.....	81
Şekil 4.33. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler.....	82

Şekil 4.34. ‘Duke 7’ klonal anacında I. alt kültür a) 1 mg/L BAP; b) 2 mg/L BAP; c) 1 mg/L mT; d) 2 mg/L mT; II. alt kültür e) 1 mg/L BAP; f) 2 mg/L BAP; g) 1 mg/L mT; h) 2 mg/L mT; III. alt kültür ı) 1 mg/L BAP; i) 2 mg/L BAP; j) 1 mg/L mT; k) 2 mg/L mT uygulamalarında sürgün gelişme durumundan genel görünümeler	83
Şekil 4.35. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/ konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler	84
Şekil 4.36. ‘Toro Canyon’ klonal anacında I. alt kültür a) 1 mg/L BAP; b) 2 mg/L BAP; c) 1 mg/L mT; d) 2 mg/L mT; II. alt kültür e) 1 mg/L BAP; f) 2 mg/L BAP; g) 1 mg/L mT; h) 2 mg/L mT; III. alt kültür ı) 1 mg/L BAP; i) 2 mg/L BAP; j) 1 mg/L mT; k) 2 mg/L mT uygulamalarında sürgün gelişme durumundan genel görünümeler	85
Şekil 4.37. ‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/ konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kararma oranlarındaki değişimler	86
Şekil 4.38. ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kararma sorunu.....	87
Şekil 4.39. ‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/ konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kararma oranlarındaki değişimler	87
Şekil 4.40. ‘Toro Canyon’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kararma sorunu.....	88
Şekil 4.41. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/ konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kallus oranlarındaki değişimler.....	89
Şekil 4.42. ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kallus sorunu	90
Şekil 4.43. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/ konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kallus oranlarındaki değişimler.....	90
Şekil 4.44. ‘Toro Canyon’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kallus sorunu	91
Şekil 4.45. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/ konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan camlaşma oranlarındaki değişimler	92
Şekil 4.46. ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen camlaşma sorunu.....	93
Şekil 4.47. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/ konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan camlaşma oranlarındaki değişimler	93
Şekil 4.48. ‘Toro Canyon’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen camlaşma sorunu.....	94
Şekil 4.49. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin köklenme oranındaki değişimler	98
Şekil 4.50. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/ konsantrasyonlarında mikro çeliklerin köklenme oranındaki değişimler	98

Şekil 4.51. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök sayısındaki değişimler	99
Şekil 4.52. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök sayısındaki değişimler	100
Şekil 4.53. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök uzunluğundaki değişimler.....	100
Şekil 4.54. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök uzunluğundaki değişimler	101
Şekil 4.55. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök gelişme durumundaki değişimler.....	102
Şekil 4.56. ‘Duke 7’ klonal anacında a) kontrol; b) 1 mg/L IBA uygulaması ile <i>in vitro</i> koşullarda köklendirilmiş mikro çeliklerin görünüşleri.....	102
Şekil 4.57. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök gelişme durumundaki değişimler	103
Şekil 4.58. ‘Toro Canyon’ klonal anacında a) kontrol; b) 2 mg/L IBA uygulaması ile <i>in vitro</i> koşullarda köklendirilmiş mikro çeliklerin görünüşleri.....	103
Şekil 4.59. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kallus gelişme durumu üzerine etkileri.....	104
Şekil 4.60. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kallus gelişme durumu üzerine etkileri	105
Şekil 4.61. Dış koşullara alındıktan 6 hafta sonra Jiffy-7 üzerinde gelişen a) ‘Duke 7’ klonal anacına; b) ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait bitkicikler	106

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Avokadonun <i>in vitro</i> koşullarda sürgün gelişimi üzerine farklı sitokinin tipleri ile konsantrasyonlarının etkilerinin incelendiği araştırma bulgularına ait sonuçlar	16
Çizelge 2.2. Avokadonun <i>in vitro</i> koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri ile konsantrasyonlarının etkilerinin incelendiği araştırma bulgularına ait sonuçlar	26
Çizelge 3.1. Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd ve McCown 1981), Murashige ve Skoog (MS) (Murashige ve Skoog 1962), Gamborg (B5) (Gamborg vd. 1968) ve Driver ve Kuniyuki Walnut (DKW) (Tulecke ve McGranahan 1985) temel besin ortamlarının içeriği	38
Çizelge 3.2. Denemelerde kullanılan besin ortamlarının içerikleri	40
Çizelge 4.1. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%)	50
Çizelge 4.2. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%)	51
Çizelge 4.3. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm)	53
Çizelge 4.4. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm)	54
Çizelge 4.5. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)	55
Çizelge 4.6. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)	56
Çizelge 4.7. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4)	57
Çizelge 4.8. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4)	59
Çizelge 4.9. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kararma oranı üzerine etkileri (%)	61
Çizelge 4.10. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kararma oranı üzerine etkileri (%)	62
Çizelge 4.11. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kallus oranı üzerine etkileri (%)	64
Çizelge 4.12. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kallus oranı üzerine etkileri (%)	65
Çizelge 4.13. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)	67
Çizelge 4.14. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)	68

Çizelge 4.15. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarının III. alt kültür aşamasında sürgünlerin yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri	69
Çizelge 4.16. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarının III. alt kültür aşamasında sürgünlerin yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri	70
Çizelge 4.17. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%).....	73
Çizelge 4.18. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%).....	74
Çizelge 4.19. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant).....	75
Çizelge 4.20. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant).....	76
Çizelge 4.21. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm).....	78
Çizelge 4.22. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm).....	79
Çizelge 4.23. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant).....	80
Çizelge 4.24. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant).....	81
Çizelge 4.25. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4).....	83
Çizelge 4.26. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4).....	84
Çizelge 4.27. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kararma oranı üzerine etkileri (%)	86
Çizelge 4.28. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kararma oranı üzerine etkileri (%)	88
Çizelge 4.29. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kallus oranı üzerine etkileri (%).....	89
Çizelge 4.30. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kallus oranı üzerine etkileri (%).....	91
Çizelge 4.31. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)	92
Çizelge 4.32. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)	94
Çizelge 4.33. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının III. alt kültür aşamasında yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri.....	95

Çizelge 4.34. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının III. alt kültür aşamasında yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri.....	96
Çizelge 4.35. ‘Duke 7’ klonal anacına ait mikro çeliklerin <i>in vitro</i> koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök gelişme durumu ve kallus gelişme durumu üzerine etkileri	96
Çizelge 4.36. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait mikro çeliklerin <i>in vitro</i> koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök gelişme durumu ve kallus gelişme durumu üzerine etkileri.....	97
Çizelge 4.37. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait <i>in vitro</i> bitkiciklerinin dış koşullara alıştırılmasındaki başarı oranları	106

1. GİRİŞ

Avokado (*Persea americana* Mill.), Laurales takımı ve Lauraceae (Defnegiller) familyasına ait ekonomik açıdan büyük öneme sahip bir türdür (Renner 1999). Herdemyeşil bir tür olan avokadonun kökeninin Meksika olduğu ve en erken kültüre alınan türlerinden biri olduğu bilinmektedir. Farklı kaynaklara göre dünyadaki varlığının M.Ö. 2000-4500 yıllarına kadar uzandığı bildirilmektedir (Popenoe ve Zentmyer 1997; Galindo-Tovar vd. 2008). Küresel ısınmaya bağlı iklim değişiklikleri, avokado yetiştiriciliğinin giderek daha geniş alanlara yayılmasına neden olmaktadır (Ayala-Silva and Ledesma 2014). Avokadonun doğal yayılış alanı, Guatemala ve Meksika'nın kuzey ve doğu bölgelerinden başlayarak Orta Amerika'nın Pasifik kıyılarına kadar uzanan geniş bir coğrafyayı kapsamaktadır (Popenoe 1920; Storey vd. 1986; Smith ve Drew 1997). Günümüzde avokado üretimi, beş kıtada yaklaşık 50 ülkede ticari olarak gerçekleştirilmektedir (Zentmyer 1972).

Son yıllarda avokado, yüksek pazar değeri ve besleyici özellikleri sayesinde uluslararası ticarete önemli bir ivme kazanmıştır. 2023 yılı verilerine göre dünya genelinde avokado üretimi 10.466.560 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonymous 1). Bu üretimde Meksika, Kolombiya, Peru, Dominik Cumhuriyeti, Endonezya ve Kenya önde gelen üretici ülkeler arasında yer almaktadır (Anonymous 1). Türkiye'de ise avokado üretimi son on yılda önemli bir artış göstermiş olup, 2023 yılı itibarıyla toplam üretim 38.462 tona ulaşmıştır (Anonim 1). Ülkemizde avokado üretiminin en yoğun olarak yapıldığı iller sırasıyla Antalya, Mersin ve Adana'dır. Son yıllarda üretim miktarındaki artış, avokadonun iç pazardaki talebinin yanı sıra ihracat potansiyelinin de yükseldiğine işaret etmektedir.

Avokado, hermafrodit çiçek yapısına sahip olup, protandri ve dikogami özellikleri göstermektedir (Sedgley 1985). Bu durum, avokadonun yüksek derecede heterozigot bir genetik yapıya sahip olmasına neden olmakta ve dolayısıyla tohumla çoğaltımda yüksek genetik varyasyonların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Söz konusu genetik çeşitlilik, birörnek (klonal) bitki materyali üretimini önemli ölçüde sınırlamaktadır ve bu nedenle genetik bütünlüğün sürdürülebilirliği ve istenilen genotipin özelliklerinin korunması amacıyla vejetatif çoğaltım yöntemleri tercih edilmektedir (Hartmann vd. 2011). Avokado kültür çeşitleri, genellikle çöğür ya da klonal anaçlar üzerine aşılanarak çoğaltılmaktadır. Klonal anaçlar sadece genetik olarak birörnek bitki materyali üretimini sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda aşıllı çeşitlerin büyüme kuvveti, verim düzeyi ile biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı toleransı gibi birçok önemli agronomik özelliği üzerinde de belirleyici rol oynamaktadır (De Villiers ve Ernst 2015). Klonal anaçlar, çelikle çoğaltım, 'Frolich ve Platt' tekniği ve mikro çoğaltım gibi çeşitli vejetatif çoğaltım yöntemleriyle elde edilebilmektedir. Ancak bu yöntemler arasında, geleneksel bir yöntem olan çelikle çoğaltımda üretim katsayısı oldukça düşüktür. Bu durumun başlıca nedenleri arasında yöntemin yalnızca yılın belirli dönemlerinde uygulanabilir olması ve köklenme oranlarının genellikle düşük düzeyde kalması yer almaktadır (Eggers ve Halma 1937; Kadman ve Ben-Ya'acov 1965; Reuveni ve Raviv 1980). Ayrıca biyotik ve abiyotik stres koşullarına tolerans sağlayacak anaçların kullanılması gereken durumlarda, çelikle çoğaltım yöntemi bu gereksinimi karşılamada yetersiz kalmaktadır. Avokadoda ticari klonal üretim amacıyla geliştirilen 'Frolich ve Platt' tekniği ise etiolleşme esasına dayanmakta olup 40 yılı aşkın süredir yaygın olarak kullanılmaktadır (Frolich ve Platt 1972; Ernst vd. 2013). Fakat bu teknik, mevsimsel uygulama zorunluluğu, düşük

çoğaltım katsayısı, yüksek iş gücü gereksinimi ve zaman alıcı yapısı gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir. Bu sınırlamalar, son yıllarda mikro çoğaltım yöntemlerine olan ilgiyi artırmıştır (Ernst vd. 1999; Martinez-Pacheco vd. 2010). Mikro çoğaltım yöntemi, yüksek çoğaltım katsayısı, zaman tasarrufu ve mevsimsel sınırlamalardan bağımsız olarak yıl boyunca uygulanabilmesi gibi avantajlarıyla bitki çoğaltımında önemli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır (Hartmann vd. 2011).

Avokado bitkisinde doku kültürü yönteminin tanınmasıyla birlikte, mikro çoğaltım protokollerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar belirgin bir şekilde artış göstermiştir. Bununla birlikte bu yöntemin klasik çoğaltım yöntemlerine alternatif olarak uygulanabilirliğini sınırlayan çeşitli problemler hâlen varlığını sürdürmektedir (Hiti-Bandaralage vd. 2017). Mikro çoğaltım süreçlerinde (başlangıç, sürgün çoğaltma, köklendirme ve dış koşullara adaptasyon aşamaları) kontaminasyon, fizyolojik bozukluklar, düşük çoğalma oranları, yetersiz köklenme ve dış koşullara adaptasyon güçlüğü gibi çeşitli sınırlamalarla karşılaşmaktadır (Hiti-Bandaralage vd. 2017; Hiti-Bandaralage 2018; Mansoor 2018). Bu sınırlamalar üzerinde en belirleyici faktörün genotip olduğu, bunun yanı sıra, eksplantın tipi ve yaşı, kullanılan temel besin ortamı, bitki büyüme düzenleyicilerinin türü ve konsantrasyonları, ön uygulamalar, karbon kaynağı (şeker), jelleştirici ajanlar ve inkübasyon koşulları gibi çeşitli etmenlerin de mikro çoğaltımın her bir aşamasında önemli ölçüde etkili olduğu bildirilmektedir (Hartmann vd. 2011). Bu doğrultuda, avokado genotiplerinin mikro çoğaltımda sürgün çoğaltımı, köklendirme ve dış koşullara adaptasyona yönelik yeni protokollerin geliştirilmesi ya da mevcut protokollerin iyileştirilmesi büyük önem taşımaktadır (Hiti-Bandaralage vd. 2017).

Bu tez çalışmasında, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal avokado anaçlarının mikro çoğaltım olanakları araştırılmıştır. Bu kapsamda, başlangıç aşamasında her bir klonal anaç için en uygun temel besin ortamının [Woody Plant Medium (WPM), Murashige ve Skoog (MS), B5 (Gamborg) ve DKW (Driver ve Kuniyuki Walnut)] belirlenmesi amaçlanmıştır. Sürgün çoğaltma aşamasında, belirlenen en uygun temel besin ortamları esas alınarak, bu ortamlara ilave edilen farklı sitokinin tipleri [benzilaminopürin (BAP) ve meta-topolin (mT)] ve konsantrasyonlarının (1 ve 2 mg/L) sürgün gelişimi ve çoğaltımı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Köklendirme aşamasında, mikro çeliklerin *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri [indol-3-bütirik asit (IBA) ve naftalin asetik asit (NAA)] ve konsantrasyonlarının (0, 0.5, 1, 2 ve 3 mg/L) etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Dış koşullara alıştırma aşamasında ise her bir anaca ait *in vitro* bitkiciklerin dış koşullara adaptasyon performanslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Avokado Hakkında Genel Bilgiler

Avokado (*Persea americana* Mill.), Lauraceae familyasının en önemli meyve türlerinden biridir. Bu familyaya ait diğer ekonomik öneme sahip türler arasında tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*), kafur (*Cinnamomum camphora*) ve defne (*Laurus nobilis*) yer almaktadır (Litz vd. 2007). *Persea* cinsine ait olan avokado, çiçekli bitkiler arasında en eski türlerden biri olarak kabul edilmekte olup, bu cins içerisinde *P. schiedeana* Nees, *P. parvifolia* Williams ve *P. americana* Mill. gibi türler yer almaktadır (Scora vd. 2002). Avokado morfolojik, fizyolojik ve ekolojik özelliklerine göre Meksika (*P. americana* var. *drymifolia*), Guatemala (*P. americana* var. *guatemalensis*) ve Batı Hint (*P. americana* var. *americana*) olmak üzere üç soya ayrılmaktadır (Popenoe 1939; Scora vd. 2002; Galindo-Tovar vd. 2008). Günümüzde ticari olarak yetiştirilen avokado çeşitleri, bu üç soya ve bunların melezlerine dayanmaktadır. Subtropikal iklim koşullarında genellikle Guatemala ve Meksika soylarına ait avokado genotipleri tercih edilirken, tropikal iklim bölgelerinde ise Batı Hint soyu daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

Avokadonun doğal yayılış alanı Chiapas (Güney Meksika), Guatemala ve Orta Amerika'nın Pasifik kıyılarına kadar uzanmaktadır (Popenoe 1920; Storey vd. 1986; Smith ve Drew 1997). Arkeolojik bulgular, bu meyvenin on bin yıl önce Meksika'da seleksiyona tabi tutulduğunu göstermektedir (Knight 2002). Besin değeri ve sağlığa katkıları keşfedildikçe, Amerikalı koloniler uygun iklim koşullarına sahip bölgelerde avokado yetiştiriciliğini yaygınlaştırmıştır (Morton 1987). Ticari avokado üretimi, 1911 yılında 'Fuerte' çeşidinin Meksika'dan Kaliforniya'ya getirilmesiyle başlamış ve daha sonra Meksika, Amerika Birleşik Devletleri, Şili, İsrail, İspanya, Avustralya ve Endonezya gibi birçok ülkeye yayılmıştır (Morton 1987; Ben-Ya'acov ve Michelson 1995).

Dünya genelinde avokado üretim alanı ve miktarında önemli artışlar yaşanmıştır. 1961 yılında avokado üretimi 78.690 ha alanda gerçekleştirilirken, toplam üretim 716.353 t olarak kaydedilmiştir. 1996 yılına gelindiğinde, üretim alanı 296.486 ha, üretim miktarı ise 2.236.581 t'a ulaşmıştır (Anonymous 1). Bu veriler, 35 yıllık dönemde avokado üretim alanının ve miktarının yaklaşık 3.3 kat arttığını göstermektedir. Söz konusu büyüme, avokadonun küresel ölçekte artan talep doğrultusunda ekonomik açıdan değer kazanan ve ticari önemi giderek artan bir ürün haline geldiğinin önemli bir göstergesidir. Günümüzde toplam avokado üretimi 10.466.560 t seviyesine ulaşmıştır (Anonymous 1). Son on yılda avokado yetiştiriciliği yapılan alanlar hızla genişlemiş ve küresel üretim yıllık ortalama %5 oranında artış göstermiştir. Ancak bu üretim artışı, aynı dönemde %12.5 oranında büyüyen küresel talebi karşılamakta yetersiz kalmaktadır (Anonymous 1). Dünyada en büyük avokado üretici ülkesi 2.973.344 ton ile Meksika olup, onu Kolombiya (1.085.765 ton), Dominik Cumhuriyeti (1.016.834 t), Peru (982.558 t), Endonezya (874.046 t) ve Kenya (542.000 t) takip etmektedir (Anonymous 1). Küresel ticarete Meksika hem üretimde hem de ihracatta lider konumda bulunmaktadır. Dünya avokado ihracatında ilk beş ülke sırasıyla Meksika (%35.3), Peru (%17.3), Hollanda (%12.7), İspanya (%4.4) ve Şili (%3.0) olarak sıralanmaktadır. Başlıca ithalatçı ülkeler ise ABD, Hollanda, İspanya, Fransa, Almanya ve Birleşik Krallık olarak öne çıkmaktadır (Anonymous 1).

Türkiye’de ticari avokado üretimi, 1970’li yıllarda FAO aracılığıyla Kaliforniya’dan getirilen ‘Fuerte’, ‘Hass’, ‘Bacon’ ve ‘Zutano’ çeşitlerinin introduksiyonu ile başlamıştır. Son yıllarda avokado yetiştiriciliği hızla yaygınlaşmış olup, bu artışın temel nedenleri arasında yüksek ekonomik getirisi, sağlığa yararlı etkilerinin fark edilmesi ve iç-dış pazarlarda sahip olduğu ticaret potansiyeli yer almaktadır (Doğan vd. 2017). Türkiye’de avokado üretimi ağırlıklı olarak Akdeniz Bölgesi’nde gerçekleştirilmektedir. 2023 yılı itibarıyla Türkiye’nin toplam avokado üretim alanı 47.205 da olup, toplam üretim 38.462 t olarak kaydedilmiştir. Bu üretimin %54.9’u Antalya, %43.5’i Mersin, %1’i Muğla ve %0.6’sı Adana, Hatay ve İzmir illerinde gerçekleştirilmektedir (Anonim 1). FAO verilerine göre, Türkiye’nin 2023 yılı avokado ihracat miktarı 5.713 t, ithalat miktarı ise 10.953 t olarak kaydedilmiştir (Anonymous 1). Türkiye’nin avokado ithalatında başlıca tedarikçi ülkeler Kenya, Peru, Kolombiya, Hindistan ve Lübnan olup, toplam ithalatın büyük bir kısmı bu ülkelerden sağlanmaktadır. Öte yandan, Türkiye’nin ihracatında öne çıkan pazarlar arasında Rusya Federasyonu, Gürcistan, Ukrayna, Bulgaristan ve Azerbaycan yer almak ve ihracatın önemli bir bölümü bu ülkelere gerçekleştirilmektedir (Anonymous 1).

Avokadonun popülaritesindeki artışın başlıca nedenleri arasında yüksek besin değeri, sağlıklı yağ asitleri içeriği ve nispeten düşük kalori içeriğine sahip olması yer almaktadır (Anonymous 2; Ford vd. 2023). ABD’de kişi başına düşen avokado tüketimi, 1998 yılında 0.68 kg iken 2023 yılında 4.18 kg’a ulaşarak yaklaşık altı kat artış göstermiştir (Hammami vd. 2024). Avokado, yüksek oranda çözünür lif, tekli doymamış yağ asitleri ile magnezyum (Mg), potasyum (K) ve sodyum (Na) gibi mineraller bakımından zengin bir meyvedir. Ayrıca düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterol seviyesini düşürdüğü bilinen tekli doymamış oleik asit bakımından da zengindir. (Dreher ve Davenport 2013). Karotenoidlerin emilimini artırarak kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser türlerine ilişkin risklerin azaltılmasında etkili olduğu bildirilmektedir (Chong vd. 2006). Sahip olduğu besin bileşimi ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle avokado, sağlıklı beslenmeye önem veren bireyler için beslenme açısından tercih edilen bir meyve haline gelmiştir.

2.2. Avokadoda Klonal Anaç Kullanımının Önemi ve Çoğaltma Yöntemleri

Günümüzde avokado yetiştiriciliğinde, birçok meyve türünde olduğu gibi vejetatif çoğaltma yöntemlerinden biri olan aşılama ile çoğaltma yaygın olarak kullanılmaktadır (Warschefsky vd. 2016). Bu yöntemde kullanılan anaçlar, *Phytophthora*’ya dayanıklılık, tuzluluğa tolerans, kireçli topraklara adaptasyon, bodurluk ve erkencilik gibi özellikler sağlarken, aşılama kalemleri ise meyve verimi ve kalitesini artırmak amacıyla tercih edilmektedir (Whiley vd. 1990). Ancak avokadonun toprak özellikleri (tuzluluk, alkalilik, kireç, yüksek toprak sıcaklığı ve toprak kaynaklı hastalıklar) ile iklim koşulları (yüksek ve düşük sıcaklıklar) gibi çevresel stres faktörlerine karşı oldukça hassas olması, uygun anaç seçimini kritik bir faktör haline getirmektedir (Silva ve Ledesma 2014).

Avokadoda kullanılan anaçlar, tohum (çöğür) ve klonal anaçlar olmak üzere iki temel gruba ayrılmaktadır. Ancak vejetatif çoğaltım yöntemlerinin uygulanmasındaki zorluklar, birçok ülkede çöğür anaçların yaygın olarak tercih edilmesine neden olmaktadır. Nitekim tohumdan elde edilen çöğür anaçları düşük üretim maliyeti, üretim kolaylığı ve güçlü vejetatif gelişim kapasiteleri gibi avantajları nedeniyle ticari yetiştiricilikte sıklıkla kullanılmaktadır (Ben-Ya’acov ve Michelson 1995). Bununla

birlikte avokado tohumlarının açık tozlanma sonucu oluşan meyvelerden elde edilmesi, yüksek düzeyde heterozigotluğa yol açmakta ve bu durum çöğür anaçlarının büyüme ve gelişme özelliklerinde önemli farklılıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Webber 1926). Ayrıca çöğür anaçlarının biyotik ve abiyotik stres koşullarına dayanıklılık düzeylerinin değişkenlik göstermesi, verimde dalgalanmalara ve kültürel işlemlerin zorlaşmasına yol açmaktadır (Ben-Ya'acov ve Michelson 1995). Bu bağlamda çöğür anaçlarla kurulan bahçelerde genetik farklılıkların bulunması, ağaçlar arasında gelişimsel uyumsuzluklara neden olmakta ve bu durum da verimlilikte dengesizliklerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Castro vd. 1995). Klonal anaçlar, homojen özellik göstermeleri, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı toleranslı veya dayanıklı olmaları, bodur gelişim eğilimi sergilemeleri, meyve verimi ve kalitesini artırmaları, sık dikim sistemlerine uygunluk sağlamaları ve kültürel işlemleri kolaylaştırmaları gibi birçok agronomik avantaja sahiptir (Ben-Ya'acov ve Michelson 1995; De Villiers ve Ernst 2015). Bu üstün özellikleri nedeniyle, gelecekte sürdürülebilir avokado yetiştiriciliğinde klonal anaç kullanımının kaçınılmaz olacağı öngörülmektedir (Ben-Ya'acov ve Michelson 1995). Ancak tüm bu avantajlarına rağmen, klonal anaçların çoğaltımı teknik açıdan oldukça zorlu bir süreçtir (Ben-Ya'acov ve Michelson 1995). Klonal anaçlar, çeliklerin köklendirilmesi veya kontrollü tozlanma yoluyla çoğaltılabilmektedir. Fakat kontrollü tozlanma sonucunda meydana gelen aşırı meyve dökümü, bu yöntemin ticari anlamda uygulanabilirliğini sınırlandırmaktadır.

Avokado klonal anaçlarının çoğaltımında en yaygın kullanılan yöntemlerden biri 'Frolich ve Platt' tekniğidir. Yaklaşık elli yıl önce Frolich ve Platt (1972) tarafından geliştirilen bu teknik, daha sonra Ernst (1999) tarafından çift aşılama dayalı mikro aşılama uyarlanarak yeniden yapılandırılmıştır. Bu teknikte, çöğür anaç üzerine istenilen anaç genotipine ait kalem aşılama ve ardından etiolleşmiş sürgün oluşumunu teşvik etmek amacıyla kültürler karanlık koşullarda inkübasyona alınmaktadır. Elde edilen etiolleşmiş sürgünler, uygun köklendirme hormonları ile muamele edilerek köklendirildikten sonra, ikinci bir aşılama ile istenilen çeşit kalemi aşılama olarak tam aşılı bitkiler elde edilmektedir (Ernst vd. 1999; Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2012). Ancak teknikte yapılan iyileştirmelere rağmen üretimin mevsimsel koşullara bağlı olması, düşük çoğaltım katsayısı ve uygulama sürecinin zaman alıcı olması gibi sınırlamalar hâlen tam olarak giderilememiştir (Ernst vd. 1999; Martinez-Pacheco vd. 2010). Bu durum, bitki teminini zorlaştırmakta ve satış fiyatlarının yükselmesine neden olmaktadır (Platt 1976; Ernst 1999). Bu doğrultuda, klonal anaçların üretiminde alternatif bir yöntem olarak doku kültürü temelli mikro çoğaltım tekniklerinin geliştirilmesine yönelik araştırmaların önemi her geçen gün artmaktadır.

Ülkemizde ise klonal anaç kullanımı henüz yaygınlaşmamış olmakla birlikte, avokado üretim alanlarının giderek artması ve iklim değişikliğine bağlı olarak biyotik ve abiyotik stres koşullarının etkisinin giderek artması, yakın gelecekte bu anaçların kullanımını kaçınılmaz hâle getirecektir.

2.3. Avokadonun Mikro Çoğaltımı: Doku Kültürü Yaklaşımları

Bitki doku kültürü, steril koşullar altında izole edilen bitki hücreleri, dokuları ve organlarının uygun besin ortamlarında kültüre alınması işlemidir (Babaoğlu vd. 2001). Bu yöntem, bitki ıslahı, hızlı çoğaltım, sekonder metabolit üretimi, germplazm muhafazası ve fizyolojik mekanizmaların araştırılması gibi birçok alanda yaygın olarak

kullanılmaktadır (Ahloowalia vd. 2004). Doku kültürünün önemli uygulamalarından biri olan mikro çoğaltım, sınırlı miktarda başlangıç materyali kullanarak kısa sürede çok sayıda bitki üretimi sağlayan bir *in vitro* tekniktir (Hartmann vd. 2011). Bu yöntemle sürgün ucu, meristem, tomurcuk, boğum, kök, yumru, soğan, hücre süspansiyonu ve embriyo kültürleri kullanılarak farklı bitki türlerinde klonal çoğaltım gerçekleştirilebilmektedir (Hartmann vd. 2011). Mikro çoğaltıma yönelik ilk çalışma, 1902 yılında Haberlandt tarafından gerçekleştirilmiş olup, kendisi tek bir hücreden tam bir organizma üretilebileceği fikrini ortaya atmıştır (Mansuroğlu ve Gürel 2001). Meyvecilik alanında, bu teknik 1970’li yıllarda fidancılık sektörüne aktarılmış ve 1980’li yıllardan itibaren yaygınlaşarak ticari üretimde önemli bir potansiyel sunmaya devam etmiştir (Hartmann vd. 2011).

Günümüzde muz, çilek, fıstık, ceviz, badem, elma, kayısı, kiraz ve şeftali gibi birçok otsu ve odunsu bitki türlerinde yaygın olarak uygulanmaktadır (Mohamed-Yasseen 1993; Dobránszki ve Da Silva 2010). Mikro çoğaltım, istenilen özelliklere sahip genotiplerin ticari üretime kazandırılmasında etkili bir yöntemdir. Ayrıca sürgün ucu aşılama gibi teknikler kullanılarak virüs ve benzeri patojenlerin eliminasyonu sağlanmakta ve genetik olarak üstün çeşitlerin çoğaltılmasına olanak tanımaktadır (Yıldırım ve Çalar 2017). Bunun yanı sıra, mikro çoğaltım ile elde edilen bitkiler veya mikro sürgünler, ilerleyen yıllarda tekrar kullanılmak üzere germplazm muhafazası için uygun bir kaynak oluşturmaktadır (Acemi 2011). Bu sayede *in vitro* materyaller, ülkeler arasında karantina kurallarına daha uygun şekilde taşınabilmektedir.

Son yıllarda, avokado yetiştiriciliğinde doku kültürü yöntemlerinin tanınmasıyla birlikte, uygulanabilir doku kültürü teknikleri ve mikro çoğaltım protokollerinin geliştirilmesine yönelik çalışmalar yoğunlaşmıştır. Diğer bitki türlerinde olduğu gibi avokado için mikro çoğaltım, sınırlı miktarda başlangıç materyali ile kısa sürede büyük ölçekli bitki üretimini yıl boyunca mümkün kılması nedeniyle giderek daha yaygın bir uygulama haline gelmektedir (Hiti-Bandaralage vd. 2017). Bu tekniğin yaygınlaşması, avokado ıslahı çalışmaları sonucunda elde edilen önemli genotiplerin çoğaltılarak ticari üretime kazandırılmasına ve virüs ile mikoplazma gibi hastalık etmenlerinden arındırılmış sağlıklı çeşitlerin üretilmesine olanak sağlamıştır (Hiti-Bandaralage vd. 2017). Ayrıca avokadonun mikro sürgünlerinin ilerleyen yıllarda tekrar kullanılmak üzere germplazm muhafazası için uygun bir kaynak oluşturması ve *in vitro* materyalin ülkeler ile kıtalar arasında daha kolay taşınabilmesi gibi geniş kapsamlı avantajları bulunmaktadır (O’Brien vd. 2016). Ancak avokadonun *in vitro* koşullarda çoğaltılması ve doku kültürü çalışmaları uzun yıllar önce başlamış olmasına rağmen, henüz istenilen düzeye ulaşamamıştır (Premkumar vd. 2002). Birçok çalışma, avokadonun *in vitro* çoğaltımının oldukça zor olduğunu ortaya koymuştur (Nhut vd. 2008). Bu durumun en önemli nedeni, avokadonun diğer odunsu türlerde olduğu gibi rekalsitrant (inatçı) bir tür olarak kabul edilmesidir (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Castro vd. 1995; Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003; Zulfiqar vd. 2009). Bu özellik, avokadonun *in vitro* rejenerasyon sürecini karmaşık hale getirmekte ve başarılı bir mikro çoğaltım için gerekli protokollerin geliştirilmesini zorlaştırmaktadır. Bununla birlikte, uygun besin ortamı bileşenlerinin belirlenmesi ve rejenerasyon oranlarının artırılması gibi konular hâlâ araştırma gerektiren kritik başlıklar arasında yer almaktadır (Ahmed vd. 2001). Rejenerasyon kapasitesi; genotip, ana bitkinin fizyolojik durumu, eksplant türü ve *in vitro* ortam koşulları (besin ortamının içeriği ve inkübasyon koşulları) gibi faktörlere bağlı

olarak değişkenlik göstermektedir (Zulfiqar vd. 2009). Özellikle, doku kültüründe olgun bitki dokularının (çiçeklenme ve meyve üretme yeteneğine sahip bitkilerden alınan) rejenerasyon kapasitesi, genç bitki dokularına (çimlenmiş tohumlardan elde edilen) kıyasla daha düşüktür (Hiti-Bandaralage vd. 2015). Diğer odunsu türlerde olduğu gibi avokadoda da genç eksplantlar kültüre alındığında daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Ancak genç bitki eksplantları için optimize edilen protokoller, olgun bitki dokularında aynı başarı oranını vermemektedir. Bu durum, avokadonun doku kültürüyle mikro çoğaltımında karşılaşılan temel zorluklardan biri olarak kabul edilmektedir (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003).

Son 45 yılda yapılan çalışmalarda, avokadonun farklı olgunluk seviyelerine sahip çeşitli eksplant türleri (embriyo, sürgün ucu, boğum segmentleri, yaprak, yaprak peti, kök, çiçek, meyve mezokarpi, sap, polen, kotiledon ve protoplastlar) *in vitro* koşullarda kültüre alınmıştır (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003). Ancak bu çalışmalar sırasında zayıf sürgün gelişimi, geriye doğru ölüm, yaprak dökümü (Pliego-Alfaro and Murashige 1987; Pliego-Alfaro 1988), camlaşma (Gonzalez-Rosa vd. 1985; Kane vd. 1989), aşırı kallus oluşumu (Schroeder 1980; Gonzalez-Rosa vd. 1985) ve düşük yaşama oranı (Gonzalez-Rosa ve Salazar-Garcia 1984; Schall 1987) gibi birçok problemle karşılaşmıştır. Avokadonun *in vitro* çoğaltılmasında yaşanan bu zorlukların aşılması ve ticari olarak uygulanabilir bir protokol geliştirilebilmesi için kapsamlı araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Hiti-Bandaralage vd. 2017). Başarılı bir mikro çoğaltım protokolünün oluşturulabilmesi için; tür ve çeşide özgü kültür ortamının belirlenmesi, eksplant kaynağının seçimi, ana bitkiye uygulanacak ön işlemler, temel besin ortamının içeriği, bitki gelişim düzenleyicilerinin tipi ve konsantrasyonu ile inkübasyon koşulları gibi faktörlerin optimize edilmesi gerekmektedir (Hiti-Bandaralage vd. 2017). Günümüzde avokado için mikro çoğaltım yöntemi henüz tam olarak ticarileştirilememiştir. Klasik çoğaltım yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen mikro çoğaltım protokolleri ise halen sınırlı bir başarı oranına sahiptir (Castro vd. 1995; Barrera-Guerra vd. 1998).

2.4. Avokadoda Mikro Çoğaltım Yöntemleri

2.4.1. Meristem/sürgün ucu kültürü

Mikro çoğaltım yöntemlerinden biri olan sürgün ucu/meristem kültürü, süs bitkileri, meyve türleri, tıbbi ve aromatik bitkiler ile orman bitki türleri gibi ekonomik açıdan önemli bitkilerin çoğaltılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Walkey 1972; Persley vd. 1987; Quiroz vd. 2017). Bu teknikte, 0.2-1.0 mm boyutlarında meristematik dokuların ya da küçük sürgün uçlarının *in vitro* koşullarda kültüre alınması oldukça zordur. Ancak virüsten arı bitki elde edilmesi ve kitlesel çoğaltım sağlanması açısından en etkili yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir (Schroeder 1973, 1976; Romberger 1980). Avokadoda meristem kültürü ile ilgili ilk çalışma, Schroeder (1973) tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırmacı, 2-8 mm boyutundaki sürgün uçlarını gelişmiş yaprak taslakları ile birlikte kültüre almış, ancak eksplantların diplerinde aşırı kallus oluşumu nedeniyle sürgün çoğalmasının engellendiğini ve köklenme sağlanamadığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Hendry ve Van Staden (1982) ile Harty (1985) tarafından yapılan çalışmalarda, meristem kültürüyle sürgün ucu eksplantlarının çoğaltılmasının oldukça zor olduğu belirlenmiştir. Nel ve Kotzé (1984) tarafından yapılan bir çalışmada, *in vitro* koşullarda sürgün uçlarından yeni sürgünler elde edilmiş ve virüs eliminasyonu

sağlanmıştır. Ancak rejenerasyon kapasitesinin düşük olması ve ölüm oranlarının yüksekliği nedeniyle mikro sürgünlerin kendi kökleri üzerinde gelişim gösteremediği ve seçilmiş anaçların klonal çoğaltımı için bu yöntemlerin uygun olmadığı belirtilmiştir. Bugüne kadar avokadoda sürgün ucu/meristem kültürü ile tam anlamıyla bir bitki elde etmeye yönelik başarılı bir protokol geliştirilememiştir.

2.4.2. Aksiller tomurcuk/boğum kültürü

Avokadonun *in vitro* çoğaltımı üzerine yapılan çalışmalar hem genç hem de olgun materyallerden elde edilen boğum eksplantlarının *in vitro* koşullarda başarıyla çoğaltılabildiğini ortaya koymuştur (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Pliego-Alfaro 1988; Zirari ve Lionakis 1994). Yapılan çalışmalar, çoğu odunsu bitki türünde olduğu gibi avokado için de boğum kültürünün uygun bir çoğaltım yöntemi olduğunu ve sürgün ucu (apikal meristem) kültürüne kıyasla daha yüksek başarı oranları sağladığını göstermektedir (Schroeder 1979; Anis vd. 2003).

Boğum segmentleri, seçkin genotiplerin genetik istikrarını koruması açısından güvenilir bir kaynak olarak kabul edilmektedir (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003). Bununla birlikte, boğum segmentlerinden elde edilen sürgünlerin daha uzun süre canlı kaldığı, ancak sürgün uzama kapasitelerinin sınırlı olduğu bildirilmiştir (Schroeder 1973). Ayrıca boğum eksplantlarının sürekli alt kültüre alınması durumunda bodur büyüme, yaprak dökülmesi, sürgün ucu ölümü (apikal nekroz), yaşlanma ve bitki kaybı gibi sorunların ortaya çıktığı belirtilmiştir (Harty 1985; Cooper 1987; Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003; Cortés-Rodríguez vd. 2011; Hiti-Bandaralage vd. 2015). Bunlara ek olarak boğum segmentlerinin farklı kültür sistemlerinde (sıvı faz, sıvı ve katı çift faz) kültüre alınması durumunda vitrifikasyon (camlaşma) sorununun yaygın olarak görüldüğü bildirilmiştir (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003). Bu olumsuzluklar nedeniyle olgun boğum segmentlerinin *in vitro* koşullarda uzun süre kültüre alınmasının oldukça zor olduğu belirtilmiştir (Hiti-Bandaralage vd. 2017).

2.5. Avokadoda Mikro Çoğaltım Süreci

2.5.1. Eksplantların hazırlanması ve kültür başlangıcı

Başarılı bir mikro çoğaltım protokolünün oluşturulabilmesi için başlangıç aşaması kritik bir öneme sahiptir. Mikro çoğaltım sürecinin verimliliğini belirleyen en önemli faktörlerden biri, kullanılan eksplantın kaynağı ve özellikleridir. Eksplantın alındığı donör bitkinin yaşı, fizyolojik durumu (aktif büyüme veya dinlenme dönemi) ve genetik yapısı, kültür başarısını doğrudan etkilemektedir (Zulfiqar vd. 2009). Bu bağlamda doku kültürü teknikleriyle başarılı bir sürgün veya köklenme rejenerasyonu elde edebilmek için stres faktörlerinden etkilenmemiş, sağlıklı donör bitkilerin seçimi büyük önem taşımaktadır (Hiti-Bandaralage vd. 2017). Eksplant kaynağı olarak genellikle tepe (apikal) ve koltuk altı (aksiller) tomurcuklar tercih edilsede, farklı bitki organları da mikro çoğaltım amacıyla kullanılabilir (Mansuroğlu ve Gürel 2001). Avokadoda en yaygın kullanılan eksplant kaynakları sürgün ucu ve boğum segmentleridir (Cooper 1987; Zirari ve Lionakis 1994; Castro vd. 1995; Wessels 1996; Barrera-Guerra vd. 1998; Barceló-Muñoz vd. 1999; Nhut vd. 2008; Zulfiqar vd. 2009; Cortés-Rodríguez vd. 2011; Hiti-Bandaralage vd. 2015; Osorio vd. 2018).

Bunun yanı sıra eksplantın bitki üzerindeki konumu, alındığı dönem, genotip ve başlangıç aşamasındaki sterilizasyon süreci de kültür başarısını doğrudan etkileyebilmektedir (Zulfiqar vd. 2009). Bazı avokado genotipleri üzerinde yürütülen *in vitro* çalışmalarda, eksplantın alındığı dönemin sürgün rejenerasyon kapasitesi üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Shekhawat vd. 1993). Ancak Castro vd. (1995) tarafından yapılan çalışmada, ilkbahar, yaz ve sonbahar dönemlerinde *in vitro* koşullarda kültüre alınan ‘Lula’ ve ‘Velvick’ anaçlarının gelişiminde belirgin bir fark gözlemlenmemiştir. Bu durum, genotip ve çevresel faktörlerin mikro çoğaltım sürecinde farklı tepkiler gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Başlangıç aşamasında yaygın olarak karşılaşılan temel sorunlardan biri mikrobiyal kontaminasyondur (Sivanesan vd. 2021). Odunsu bitkilerin mikro çoğaltımında bakteriyel ve fungal kontaminasyonu kontrol etmek zor olduğundan, yüzey sterilizasyon işlemi büyük önem taşımaktadır (Mihaljević vd. 2013). Sterilizasyonun başarısı, kullanılan dezenfektan maddenin cinsi, konsantrasyonu ve uygulama süresi gibi faktörlere bağlıdır. Ayrıca bitki dokularına zarar vermeden etkin bir sterilizasyon sağlanması gerekmektedir (Mansuroğlu ve Gürel 2001). Arazi veya sera koşullarında yetiştirilen avokado bitkilerinden elde edilen eksplantların yüzey sterilizasyonunda sodyum hipoklorit (NaOCl), kalsiyum hipoklorit (CaCl₂), etanol (EtOH), civa klorür (HgCl₂), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve gümüş nitrat (AgNO₃) gibi dezenfektanlar yaygın olarak kullanılmaktadır. Cooper (1987), yüzey sterilizasyonunda %95’lik alkol kullanımının kontaminasyonu azaltmada etkili olduğunu belirtmiştir. Ancak %70’lik alkole ek olarak %1’lik HgCl₂ (Nhut vd. 2008), %1-5’lik NaOCl (Wessels vd. 1996; Zulfiqar vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2015) ve %4’lük CaCl₂ (Gonzalez-Rosas ve Salazar-Garcia 1984) kullanımına dair bulgular da mevcuttur. Avokadoda sürgün ucu ve boğum kültüründe en çok tercih edilen sterilizasyon protokolleri genotipe bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle %0.5-3 NaOCl içeren çözeltiler kullanılmaktadır (Cooper 1987; Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Zirari ve Lionakis 1994; Castro vd. 1995; Wessels 1996; Barceló-Muñoz vd. 1999; De la Viña vd. 2001). Bunlara ek olarak, donör bitkilere budama yapılması ve fungusit uygulanması, *in vitro* koşullarda mikrobiyal kontaminasyonu azaltmada etkili bir strateji olarak kabul edilmektedir (Cooper 1987).

Mikrobiyal kontaminasyonun yanı sıra, fenolik bileşiklerin oksidasyonu sonucu meydana gelen kararma da mikro çoğaltım sürecinde önemli bir sorun teşkil etmektedir (Sivanesan vd. 2021). Özellikle odunsu bitkilerde, sterilizasyon ve kesim işlemleri sırasında salınan fenolik bileşikler, fenoloksidazlar ve peroksidazlar aracılığıyla veya hava yoluyla okside olarak kararma problemine neden olmaktadır (Bhat ve Chandel 1991). Avokadoda bu sorunu önlemek için çeşitli kimyasallar kullanılmıştır. Besin ortamına antioksidan maddelerin (askorbik asit, sitrik asit, polivinilpirolidon ve aktif kömür) ilave edilmesi (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Ahmed vd. 2001; Cortés-Rodríguez vd. 2011; Guler vd. 2021;), eksplantların kültüre alınmadan önce %50 buz içeren ortamda 500 mg/L askorbik asit ve sitrik asit çözeltisinde bekletilmesi (Castro vd. 1995) ve 150 mg/L askorbik asit ile 100 mg/L sitrik asit kombinasyonunda tutulması (Wessels 1996) fenolik oksidasyonu azaltıcı etkiler gösterebilmektedir.

2.5.2. Temel besin ortamlarının kullanımı

Her bitki türü için kullanılan besin ortamları, temel olarak benzer bileşenleri içermektedir (Mansuroğlu ve Gürel 2001). Bu ortamların yapısında makro elementler (N,

P, K, Ca, Mg, S), mikro elementler (B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn) ve vitaminlerin yanı sıra, bitki büyümesini düzenleyici maddeler, şekerler, jel yapıcı ajanlar, amino asitler ve organik asitler bulunmaktadır (Özzambak vd. 2018). Bu bileşenler, bitki dokularının *in vitro* koşullarda büyüme ve gelişimini optimize etmek amacıyla dikkatle formüle edilmektedir. Besin ortamının bileşimi ve bileşenlerin konsantrasyonları, kültürün amacı ve kullanılan bitki türünün fizyolojik özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Mansuroğlu ve Gürel 2001). Optimum besin ortamı protokolünü belirlemek oldukça zorlu bir süreçtir. *In vitro* koşullarda sürgün ya da kök rejenerasyonu için gerekli besin maddeleri, tür ve genotiplere göre farklılık göstermektedir (Schroeder 1968). Ayrıca temel besin ortamı, mikro çoğaltım sürecinin başlangıç, çoğaltım ve köklendirme aşamalarında kritik bir rol oynamaktadır. Pek çok araştırmacı tarafından farklı besin ortamı formülasyonları önerilmiş olmasına rağmen, yalnızca belirli birkaç formül yaygın olarak kullanılmaktadır (Babaoğlu vd. 2002). Bu formülasyonlar arasında en yaygın olanlardan biri, Murashige ve Skoog (MS) temel besin ortamıdır. MS ortamının, birçok bitki türünde kültür başlangıcı ve sürgün çoğaltımı için başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Mansuroğlu ve Gürel 2001).

Avokadonun mikro çoğaltımı üzerine yapılan çalışmalar, kullanılan temel besin ortamı bileşiminin kültür başarısı üzerinde doğrudan etkili olduğunu göstermektedir. Çoğu araştırmada, makro element konsantrasyonu yarıya indirilmiş (1/2) MS temel besin ortamının, avokado eksplantlarının gelişimi için daha uygun olduğu belirlenmiştir (Nel 1983; Nel ve Kotze 1984; Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Biasi vd. 1994; Barceló-Muñoz vd. 1999; De la Viña vd. 2001; Taah vd. 2009). Bu durum, MS ortamının tam kuvvetteki tuz içeriğinin bazı odunsu bitkilerde ve özellikle avokado genotiplerinde toksik etki gösterebilmesi ile ilişkilendirilmektedir. Yüksek iyon konsantrasyonlarının *in vitro* büyümeyi inhibe ettiği ve fizyolojik stres oluşturduğu bilinmektedir (Harty 1985; McCown ve Sellmer 1987; Barceló-Muñoz vd. 1999). Bununla birlikte, tam kuvvette MS temel besin ortamı da bazı çalışmalar tarafından kullanılmış olup, belirli genotiplere bağlı olarak başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Gonzalez-Rosas ve Salazar-García 1984; Vega 1989; Mohamed-Yasseen 1993; Zirari ve Lionakis 1994; Biasi 1995; Barrera-Guerra vd. 1998; Nhut vd. 2008; Osorio vd. 2018; El-Fadl vd. 2022). Ayrıca belirli mineral ve organik bileşenlerin konsantrasyonlarının değiştirilerek modifiye edilen MS besin ortamlarının da avokadonun mikro çoğaltımında kullanıldığı rapor edilmiştir (Wessels 1996; Barceló-Muñoz vd. 1999; Schaffer vd. 1999; Ahmed vd. 2001; Rabuma vd. 2020). Bu modifikasyonlar genellikle, genotipe özgü besin gereksinimlerini karşılamak ve eksplantların adaptasyon sürecini iyileştirmek amacıyla yapılmaktadır. Ancak MS ortamının yüksek tuz içeriğinin bazı genotipler üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceği göz önünde bulundurulduğunda, bazı araştırmacılar kültür başlatma ve sürgün çoğaltım çalışmalarında daha düşük tuz konsantrasyonuna sahip alternatif besin ortamlarını tercih etmişlerdir. Özellikle Woody Plant Medium (WPM) (McCown and Lloyd 1981) ve Gamborg (B5) ortamları (Gamborg vd. 1968), odunsu bitkilerde ve hassas genotiplerde daha iyi uyum sağlayabilen alternatifler olarak öne çıkmaktadır. WPM ortamı, özellikle odunsu bitkiler için geliştirilmiş olup, MS ortamına kıyasla daha düşük toplam tuz konsantrasyonuna sahiptir ve iyonik stresin azaltılmasına yardımcı olmaktadır (McCown ve Lloyd 1981; Cooper 1987; Castro vd. 1995; Taah vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2015; Qasrawi ve Sholi 2022). Benzer şekilde, B5 ortamı, hücre kültürü ve kök gelişimini destekleyen farklı azot kaynakları ile *in vitro* koşullarda belirli türler için avantaj sağlayabilmektedir (Gamborg vd. 1968; Taah vd. 2009; Rohim vd. 2013). Bu nedenle

WPM ve B5 ortamları, özellikle belirli avokado genotiplerinde MS ortamına kıyasla daha başarılı sonuçlar elde etmek amacıyla alternatif besin ortamları olarak değerlendirilmiştir.

Bu temel besin ortamlarına ek olarak, avokadonun *in vitro* mikro çoğaltımında farklı eksplantların adaptasyonunu ve gelişimini iyileştirmek amacıyla modifiye edilmiş Anderson (Anderson 1984), Dixon ve Fuller (DF) (Dixon ve Fuller 1976), Nitsch ve Nitsch (NN) (Nitsch 1969), Miller (Miller 1963), Quoirin and Lepoiver (QL) (George vd. 1987) ve Yasuda (Yasuda vd. 1985) besin ortamlarının çeşitli denemelerde test edildiği rapor edilmiştir (Schroeder 1980; Hendry ve Van Staden 1982; Young 1983; Harty 1985). Bunun yanı sıra bazı çalışmalarda farklı besin ortamlarının bileşenlerinin birleştirilerek kullanıldığı bildirilmiştir. Örneğin, MS besin ortamının makro ve mikro elementleri ile B5 besin ortamına ait vitaminlerin kombinasyonunun, avokado mikro çoğaltımında sürgün gelişimi üzerinde olumlu etkiler sağladığı belirtilmiştir (Cortés-Rodríguez vd. 2011). Bu yaklaşım, farklı ortamların avantajlarını birleştirerek bitki türlerine özgü besin gereksinimlerini daha iyi karşılamayı amaçlayan etkili bir strateji olarak öne çıkmaktadır. Özellikle, genotipe bağlı varyasyonların fazla olduğu türlerde, modifiye besin ortamları kullanılarak *in vitro* gelişimin optimize edilmesi mümkün olabilmektedir.

Bu yaklaşıma paralel olarak, Driver ve Kuniyuki Walnut Medium (DKW) temel besin ortamı, özellikle ceviz (*Juglans regia* L.) ve bazı odunsu bitkilerin doku kültüründe yaygın olarak kullanılmaktadır (Tulecke ve McGranahan 1985). DKW ortamı, azot içeriği bakımından MS besin ortamına benzerlik gösterirken, iyon konsantrasyonları açısından önemli farklılıklar içermektedir. Özellikle, MS ortamına kıyasla yaklaşık 7 kat daha fazla kükürt, 3 kat daha fazla kalsiyum ve 10 kat daha fazla bakır içerdiği bildirilmiştir (Tulecke ve McGranahan 1985; Page vd. 2021). Bu özellikleri nedeniyle, DKW besin ortamı genellikle yüksek tuz içeriğine toleranslı bitki türlerinin sürgün çoğaltımı ve köklenme aşamalarında başarılı sonuçlar vermektedir (Sharma vd. 2025). Örneğin, acı badem (*Prunus amygdalus*) (Kassim vd. 2010), siyah ceviz (*Juglans nigra*) (Bosela ve Michler 2008) ve bazı fındık çeşitlerinde (Hemmati-Gougeh vd. 2024) sürgün ve kök rejenerasyonu için tercih edilmektedir. Ancak bazı tür veya genotiplerde yüksek toplam tuz konsantrasyonu nedeniyle toksik etkilerin meydana geldiği rapor edilmiştir (Bosela ve Michler 2008; Bhat vd. 2024). Bu nedenle, belirli tür ve genotipler için besin ortamı bileşenlerinin optimize edilmesi kritik öneme sahiptir. DKW besin ortamının avokado (*Persea americana*) genotipleri üzerindeki etkileriyle ilgili literatürde herhangi bir *in vitro* çalışma bulunmamaktadır. Ancak Lauraceae familyasına ait bazı türlerde DKW ortamının kullanıldığı sınırlı sayıda araştırma mevcuttur. Özellikle, defne (*Laurus nobilis* L.) gibi türlerin *in vitro* mikro çoğaltımında DKW ortamının etkili bir besin ortamı olarak değerlendirildiği rapor edilmiştir (Royandazagh 2019). Bu çalışmalar, DKW ortamının belirli Lauraceae türlerinde sürgün rejenerasyonu ve çoğaltımı destekleyebileceğini göstermektedir. Ancak avokado gibi yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip türlerde, DKW ortamının besin dengesi, iyon konsantrasyonu ve osmotik potansiyelinin uygun olup olmadığı henüz araştırılmamıştır. Yüksek iyon konsantrasyonlarının avokado eksplantları üzerinde potansiyel toksik etkiler yaratma olasılığı göz önünde bulundurulduğunda, DKW ortamının bu türde nasıl bir etki göstereceği belirsizdir. Bu bağlamda, DKW ortamının avokado mikro çoğaltımındaki potansiyel etkilerinin belirlenmesine yönelik araştırmalar gereklidir.

2.5.3. *In vitro* çoğaltımda bitki büyüme düzenleyicilerinin ve destekleyici bileşenlerin kullanımı

Bitki büyüme düzenleyicileri (BBD), *in vitro* çalışmaların başarısını etkileyen en kritik faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Gaspar vd. 1996). BBD'ler, hücre bölünmesi, farklılaşması ve morfogenez süreçlerini yönlendirerek, kültür ortamında optimal büyüme koşullarının sağlanmasına katkıda bulunur. Özellikle oksinler, sitokininler ve gibberellinler, *in vitro* koşullarda bitki gelişimini teşvik eden temel düzenleyiciler olarak bilinmektedir. Oksinler hücre genişlemesi ve kök gelişimini desteklerken, sitokininler hücre bölünmesini teşvik ederek sürgün çoğalmasını artırmaktadır (Gaspar vd. 1996). Uygun BBD kombinasyonlarının seçimi ve optimize edilmesi, doku kültürü protokollerinin başarısı için kritik öneme sahiptir (Kim vd. 2023). Örneğin, sitokinin/oksin oranının yüksek olması sürgün oluşumunu, oksin/sitokinin oranının yüksek olması kök oluşumunu, oksin/sitokinin oranının dengeli olması ise kallus oluşumunu desteklemektedir (Machakova vd. 2008; Mansuroğlu ve Gürel 2001). Bu hormonlar arasındaki denge, bitki türüne ve genotipine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir, bu nedenle her tür için optimize edilmiş protokoller geliştirilmesi gerekmektedir.

Bitki doku kültürü uygulamalarında sitokininler, hücre bölünmesini ve farklılaşmasını teşvik ederek sürgün oluşumunu, gelişimini ve çoğaltımını destekleyen en önemli bitki büyüme düzenleyicisi (BBD) gruplarından biri olarak kabul edilmektedir (Van Nieuwkerk vd. 1986; Lu 1993; Pawlicki ve Welander 1994; Lane vd. 1998). Sitokininler yalnızca sürgün gelişimini teşvik etmekle kalmaz, aynı zamanda vasküler sistem oluşumu, kloroplast biyogenezi ve yaşlanmanın geciktirilmesi gibi çeşitli fizyolojik ve morfolojik süreçlerde de önemli rol oynamaktadır (Krikorian 1995). Sitokininlerin en önemli etkilerinden biri, tepe hakimiyetini (apikal dormansi) ortadan kaldırarak, büyüyen eksplantın eksenini boyunca aksiller tomurcukların aktivasyonunu sağlaması ve yeni sürgün oluşumunu teşvik etmesidir (Howell vd. 2003; Aremu vd. 2012a). Bu süreç, sitokininlerin oksinlerle olan etkileşimi sayesinde gerçekleşmekte olup, aksiller tomurcuk gelişimi üzerindeki baskıyı azaltarak sürgün çoğaltımını artırmaktadır (Cavallaro vd. 2022). Bu özellikleri nedeniyle sitokininler, mikro çoğaltım tekniklerinde yaygın olarak kullanılmakta ve doku kültürü protokollerinde uygun konsantrasyon ve kombinasyonlarda kullanımı, *in vitro* bitki gelişimini optimize etmek açısından kritik bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Werbrouck 2010; Amoo vd. 2011).

Birçok odunsu bitki türünde olduğu gibi, avokadonun mikro çoğaltımında eksplantlar, BBD içermeyen besin ortamında kültüre alındığında, sürgün çoğaltım katsayısının ve sürgün uzamasının sınırlı olduğu bildirilmiştir (Zulfıkar vd. 2009). Bu durum, avokado eksplantlarının *in vitro* koşullarda belirli düzeyde içsel oksin ürettiğini, ancak sitokinin sentezinin yetersiz olmasıyla ilişkilendirilmektedir. Sitokinin eksikliği, hücre bölünmesini ve tomurcuk aktivasyonunu sınırlandırarak sürgün gelişimini engelleyebilir. Bu nedenle, sürgün çoğaltımının sağlanabilmesi için kültür ortamına dışarıdan sitokinin ilavesi gereklidir ve uygun konsantrasyonunun belirlenmesi kritik bir faktördür (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003; Hiti-Bandaralage vd. 2015;). Buna ek olarak bazı çalışmalarda besin ortamına sitokinin eklenmesine rağmen tepe tomurcuğu baskınlığının devam ettiği bildirilmiştir (Mohamed-Yasseen 1993; Castro vd. 1995; Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003). Bu durum apikal dominansın tamamen ortadan

kaldırılabilmesi için sitokininlerin tek başına yeterli olmadığını ve aksiller tomurcukların aktivasyonunun oksin-sitokinin dengesine bağlı olduğunu göstermektedir.

Birçok odunsu bitki türünün *in vitro* rejenerasyonunda kullanılan sitokinin türü ve konsantrasyonu, türler arasında önemli ölçüde farklılık gösterebilmektedir. Bu farklılık, genotip, fizyolojik gereksinimler ve kültür koşullarına verilen yanıtlarla doğrudan ilişkilidir (Valero-Aracama vd. 2010; Werbrouck 2010; Aremu vd. 2012a; Héctor vd. 2024). Çok sayıda odunsu ve otsu bitki türünün mikro çoğaltım çalışmalarında sürgün üretimini teşvik etmede ve aksiller meristemlerin çoğaltımında en yaygın kullanılan sitokinin türevlerinden biri benzilaminopürin (BAP)'dir (Holub vd. 1998; George ve Debergh 2008). Bu tercih, BAP'ın kolay temin edilebilirliği ve nispeten düşük maliyetiyle ilişkilidir. Bununla birlikte, BAP'ın odunsu bitki türlerinde sürgün rejenerasyonu açısından diğer sitokininlere kıyasla daha üstün olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Siwach ve Gill 2011). Avokadonun *in vitro* çoğaltımında, sürgün oluşumu ve çoğalmasını teşvik etmek amacıyla en yaygın kullanılan sitokinin türü BAP olarak bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda, BAP'ın avokado eksplantlarında genellikle 0.1-4 mg/L arasındaki konsantrasyonlarda etkili olduğu bildirilmiştir (Barringer vd. 1996; Wessels 1996; Vidales-Fernández 2002; Raharjo ve Litz 2005; Zulfiqar vd. 2009; Taah vd. 2009; Rohim vd. 2013; Ibarra-López vd. 2016; Rabuma vd. 2020; Qasrawi ve Sholi 2022). Ancak BAP konsantrasyonunun 4 mg/L'nin üzerine çıkması durumunda gelişmemiş küçük sürgün oluşumu, aşırı kallus, camlaşma (vitrifikasyon) ve sürgün ucu nekrozisi gibi fizyolojik bozukluklar meydana geldiği bildirilmiştir (Gaba 2005; Zulfiqar vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2015, 2017).

Camlaşma ve sürgün ucu nekrozu gibi fizyolojik bozuklukların önlenmesi ve daha iyi sürgün gelişiminin sağlanması amacıyla, BAP'a alternatif olarak doğal kaynaklı bir sitokinin olan meta-topolin (mT) önerilmektedir (Bairu vd. 2007). mT ve türevlerinin, bitki doku kültürü çalışmalarında etkili bir şekilde kullanılabileceği çeşitli araştırmalarla ortaya konulmuş olup, bitki hücre bölünmesi, farklılaşma ve morfogenez süreçlerinde olumlu etkiler sağlayarak mikro çoğaltım ve organ gelişimi üzerinde önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir (Werbrouck vd. 2010). Yapılan çalışmalarda, topolin türevlerinin *in vitro* koşullarda sürgün oluşumunu teşvik etmede zeatin ve BAP'tan daha etkili olduğu belirlenmiştir (Kubalakova ve Strnad 1992; Werbrouck vd. 2010). Özellikle mT'nin sürgün çoğaltımını artırdığı, *in vitro* koşullarda sıklıkla karşılaşılan fizyolojik bozuklukları azalttığı, köklenmeyi geliştirdiği ve bitkilerin dış koşullara adaptasyonunda önemli düzeyde olumlu etkiler yarattığı bildirilmiştir (Aremu vd. 2012b). Bu nedenle her tür veya genotip için en uygun sitokinin türü ve konsantrasyonunun belirlenmesi, başarılı bir *in vitro* rejenerasyon süreci için kritik öneme sahiptir (Eliášová ve Balla 2023). Odunsu bitki türlerinin *in vitro* çoğaltımında yapılan çalışmalarda, mT'nin sürgün çoğaltımında en etkili konsantrasyonlarının genellikle 0.2-4.3 mg/L arasında olduğu tespit edilmiştir (Ahmad ve Strnad 2021). *Juglans nigra* üzerinde 0.9 mg/L mT + 2 mg/L BAP kombinasyonu (Stevens ve Pijut 2018), *Corylus colurna* üzerinde 1.8 mg/L mT (Gentile vd. 2017), *Dendrocalamus asper* üzerinde 4.3 mg/L mT (Ornellas vd. 2017), *Ceratonia siliqua* üzerinde 2.1 mg/L mT (Shahzad vd. 2017), *Pyrus communis* üzerinde 1.75 mg/L mT (Dimitrova vd. 2016), *Prunus domestica* üzerinde 1.5 mg/L mT (Gentile vd. 2014) ve *Paulownia elongata* x *Paulownia fortunei* üzerinde 0.9 mg/L mT (Clapa vd. 2014) kullanımının sürgün gelişimini artırdığı bildirilmiştir. Avokado ile ilgili *in vitro* çalışmalarda mT'ye dair yalnızca bir çalışma bulunmaktadır. Hiti-Bandaralage vd.

(2015), avokado boğum segmentlerinin *in vitro* çoğaltımı için yaygın olarak kullanılan BAP yerine, mT'nin kullanımını önermiştir. Çalışmada, mT uygulamasıyla sürgün ucu nekrozu, yaprak dökümü ve ölümün başarılı bir şekilde önlenildiği rapor edilmiştir. Ayrıca 0.08 mg/L mT ile 0.1 mg/L GA₃ kombinasyonunun daha uzun sürgünlerin elde edilmesinde etkili olduğu belirtilmiştir. Bu bulgular, mT'nin avokado mikro çoğaltımında alternatif bir sitokinin olarak kullanım potansiyelini ortaya koymaktadır. Ancak *in vitro* doku kültürü çalışmalarında mT kullanımı birçok avantaj sunmasına rağmen bazı dezavantajları da bulunmaktadır. Bazı bitki türlerinin mikro çoğaltımında, mT'nin diğer sitokininlere kıyasla daha düşük çoğaltım oranlarına yol açtığı rapor edilmiştir (Wojtania 2010; Montalbán vd. 2011). Bu durum, mT'nin etkisinin tür ve genotipe bağlı olarak değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca mT'nin yüksek konsantrasyonlarda (2.2 mg/L üzeri) kullanımı, sürgün kalitesinde düşüşe ve anormalliklerin oluşmasına neden olabilmektedir (Bairu vd. 2007; Montalbán vd. 2011). Buna ek olarak mT'nin ekonomik maliyetinin BAP gibi yaygın kullanılan sitokininlere kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu durum, özellikle büyük ölçekli ticari mikro çoğaltım çalışmaları için ekonomik bir kısıt oluşturabilmektedir (Gentile vd. 2017).

Bunun yanı sıra, diğer BBD'ler de avokado eksplantlarının sürgün gelişimini ve çoğaltımını teşvik etmek amacıyla araştırılmıştır. Kinetin (KIN) (Hendry ve Van Staden 1982; Gonzalez-Rosas ve Salazar-García 1984; Harty 1985; Rohim vd. 2013), N-(2-kloro-4-piridil)-N-fenilüre (CPPU) (Castro vd. 1995), thidiazuron (TDZ) (Mohamed-Yasseen 1993; Barrera-Guerra vd. 1998) ve 2-izopentenil adenine (2iP) (Escobedo ve Escobedo 2010), yalnızca sürgün ucu veya boğum kültürlerinden sürgün rejenerasyonu için değil, aynı zamanda zigotik embriyolardan sürgün gelişimini teşvik etmek amacıyla da kullanılmıştır (Zulfiqar vd. 2009; Aremu vd. 2012a). Ancak yapılan çalışmalar BAP'ın avokadonun mikro çoğaltımında daha etkili olduğunu ve rejenerasyon sıklığı, bitki boyu ve sürgün büyümesi açısından KIN, TDZ ve 2iP gibi sitokininlerden daha üstün olduğunu göstermiştir (Raharjo ve Litz 2005; Zulfiqar vd. 2009).

Mikro çoğaltımda, bitki dokularında organ farklılaşmasını sağlamak amacıyla sitokininler tek başına veya belirli oranlarda oksin ya da gibberellin ile kombinasyon halinde kullanılabilir (Gaspar vd. 1996). Son yıllarda yapılan çalışmalar, sitokininlerin oksinler veya gibberellinler ile sinerjik etki göstererek sürgün çoğaltımını ve gelişimini teşvik ettiğini ortaya koymuştur. Avokadonun *in vitro* sürgün çoğaltımında, sitokininlerle birlikte en sık kullanılan oksinler; indol asetik asit (IAA), indol bütirik asit (IBA) ve naftalin asetik asit (NAA) olup, gibberellin grubundan ise en sık kullanılan bileşik gibberellik asittir (GA₃). Bu oksinler genellikle 0.01-10 mg/L, GA₃ ise 0.1-3 mg/L konsantrasyonlarında besin ortamına eklenmektedir (Vidales-Fernández 2002; Raharjo ve Litz 2005; Mansoor 2018). Yapılan araştırmalarda, sitokinin-oksin kombinasyonlarının avokado mikro çoğaltımında sürgün çoğalması, uzaması ve farklılaşması üzerinde olumlu etkiler sağladığı belirlenmiştir. Çeşitli çalışmalarda, farklı sitokinin ve oksin kombinasyonlarının etkili olduğu rapor edilmiştir. Örneğin, Rabuma vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada 0.125 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA veya 1 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA/IAA kombinasyonlarının başarılı olduğu bildirilmiştir. Cortés-Rodríguez vd. (2011) çalışmasında 1 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA, Peñaloza-Remigio vd. (2020) tarafından yürütülen çalışmada ise 1 mg/L BAP + 0.1 mg/L NAA kombinasyonunun *in vitro* sürgün çoğaltımı açısından etkili olduğu belirlenmiştir. Cooper (1987), 0.3 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA kombinasyonunun başarılı olduğunu rapor

ederken, Wessels (1996) tarafından yapılan çalışmada 1 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA kombinasyonunun sürgün oluşumu üzerinde olumlu etkiler sağladığı belirtilmiştir. Bununla birlikte, Gonzalez-Rosas (1990) çalışmasında 1 mg/L kinetin + 1 mg/L IBA, Hendry ve Van Staden (1982) çalışmasında ise 1 mg/L KIN + 1 mg/L NAA kombinasyonlarının sürgün gelişimini teşvik ettiği rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, sitokinin ve oksin kombinasyonlarının avokadonun mikro çoğaltımında önemli bir rol oynadığını ve genotipe bağlı olarak en uygun oranların belirlenmesi gerektiğini göstermektedir.

Avokadonun mikro çoğaltımında, genç materyallerin (çimlenmiş tohumlardan elde edilen) sürgün rejenerasyon potansiyelinin oldukça yüksek olduğu ve bu oranın birçok genotipte %90'ın üzerinde değerlere ulaşabildiği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur. Ancak olgun materyallerin (çiçeklenme ve meyve üretme yeteneğine sahip bitkilerden alınan) sürgün rejenerasyonu, her bir çeşit için uygulanan BBD'ye bağlı olarak farklı olarak enotipler arasında farklılık göstermektedir. Bu bağlamda her bir genotip için özel olarak belirlenmiş BBD kombinasyonlarının kullanılması gerekmektedir (Hiti-Bandaralage vd. 2015). Avokadonun *in vitro* koşullarda sürgün gelişimi üzerine farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının etkilerini inceleyen araştırma bulgularına ait veriler Çizelge 2.1'de verilmiştir. Bu bulgular, seçilen çeşide özgü optimum besin ortamı ve BBD kombinasyonlarının belirlenmesinin, olgun eksplantların *in vitro* koşullarda başarılı bir şekilde çoğaltılması için kritik bir zorluk teşkil ettiğini göstermektedir. Bu nedenle avokadonun *in vitro* çoğaltımında çeşitler arası farklılıkları göz önünde bulundurarak doğru ve etkili bir doku kültürü protokolü geliştirilmesi, başarılı bir mikro çoğaltım süreci için önemli bir adımdır.

Çizelge 2.1. Avokadonun *in vitro* koşullarda sürgün gelişimi üzerine farklı sitokinin tipleri ile konsantrasyonlarının etkilerinin incelendiği araştırma bulgularına ait sonuçlar

Avokado çeşit/genotip ve klonal anaçlar	Eksplant tipleri	Temel besin ortamı tipleri	Optimum BBD konsantrasyonları	İnkübasyon süreleri	Sürgün oluşumu	Referanslar
‘Duke 7’	Sürgün ucu	MS (1/2 kuv. makro ve mikro element)	2 mg/L BAP	4 hafta	Sürgün oluşumu düşük, gelişme zayıf	Nel vd. (1983)
<i>Persea indica</i> L.’ye ait genotip	Aksiller tomurcuk	MS (1/2 kuv. makro ve mikro element)	2 mg/L BAP	4 hafta	Eksplant başına 3-4 sürgün oluşumu	Nel vd. (1983)
‘Lula’ ve ‘Waldin’	Aksiller tomurcuk	Anderson	0.2 mg/L BAP + 1 mg/L GA ₃ + 0.2 mg/L IBA	8 hafta	Sürgün uzunluğu 12 mm	Young (1983)
<i>Persea indica</i> L.’ye ait genotip	Boğum segmenti	MS	2 mg/L BAP	8 hafta	Eksplant başına 60 sürgün oluşumu	Nel ve Kotzé (1984)
‘Duke 7’	Sürgün ucu	Dixon ve Fuller	10 mg/L KIN	9 hafta	Eksplant başına 6.1 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 100-150 mm	Harty (1985)
‘Duke 7’	Boğum segmenti	WPM	0.3 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA	8 hafta	Eksplant başına 2-3 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 10-20 mm	Cooper (1987)
‘Colin V-33’	Boğum segmenti	MS	2 mg/L BAP + 2 mg/L GA ₃	4 hafta	Eksplant başına 4 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 20 mm	Vega (1989)
‘Hass’	Boğum segmenti	MS (1/2 kuv. makro element)	Çift fazlı ortamda 0.1 mg/L BAP - sıvı 0.65 mg/L BAP - katı	8 hafta	Eksplant başına 1.6 sürgün oluşumu	Zirari ve Lionakis (1994)
‘Fuerte’	Boğum segmenti	MS (1/2 kuv. makro element)	Çift fazlı ortamda 0.2 mg/L BAP - sıvı 0.65 mg/L BAP - katı	8 hafta	Eksplant başına 1.7 sürgün oluşumu	Zirari ve Lionakis (1994)

Çizelge 2.1.'in devamı.

'Duke 7'	Boğum segmenti	MS (1/2 kuv. makro element)	Çift fazlı ortamda 0.3 mg/L BAP-sıvı 0.65 mg/L BAP - katı	8 hafta	Eksplant başına 1.63 sürgün oluşumu	Zirari ve Lionakis (1994)
'Topa Topa'	Boğum segmenti	MS (1/2 kuv. makro element)	Çift fazlı ortamda 0.4 mg/LBAP - sıvı 0.65 mg/L BAP - katı	8 hafta	Eksplant başına 3.1 sürgün oluşumu	Zirari ve Lionakis (1994)
'Velvick'	Aksiller tomurcuk	WPM	0.1 mg/L CPPU	12 hafta	Sürgün oluşumu %92	Castro vd. (1995)
'Lula'	Aksiller tomurcuk	WPM	0.1 mg/L CPPU	12 hafta	Sürgün oluşumu %92	Castro vd. (1995)
'Duke 7'	Aksiller tomurcuk	MS	1 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA	8 hafta	Eksplant başına yaprak sayısı 4.5 adet	Wessels (1996)
<i>P. drymifolia</i> Ness.'e ait genotip	Aksiller tomurcuk	MS	2 mg/L BAP	4 hafta	Sürgün gelişimi gözlenmedi	Barrera-Guerra vd. (1998)
'IV-8'	Nodal segment	MS (1/2 kuv. makro element)	Çift fazlı ortamda 0.65 mg/L BAP - katı 0.1 mg/L BAP - sıvı	6 hafta	Eksplant başına 3.2 sürgün oluşumu	Barceló-Muñoz vd. (1999)
'RR-86'	Boğum segmenti	MS (1/2 kuv. makro element)	Çift fazlı ortamda 0.65 mg/L BAP - katı 0.1 mg/L BAP - sıvı	6 hafta	Eksplant başına 9 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 47.0 mm	De la Viña vd. (2001)
'Hass'	Boğum segmenti	MS	BBD'siz + %2 pepton	7 hafta	Eksplant başına 0.4 sürgün oluşumu Sürgün oluşumu %44 Sürgün uzunluğu 4.5 mm	Nhut vd. (2008)
'Hass'	Boğum segmenti	MS	BBD'siz + %2 pepton	7 hafta	Eksplant başına 1.0 sürgün oluşumu Sürgün oluşumu %100 Sürgün uzunluğu 8.3 mm	Nhut vd. (2008)
'Fuerte'	Aksiller tomurcuk	MS (3/4 kuv. makro ve mikro element)	1 mg/L BAP	6 hafta	Eksplant başına 4.8 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 24.3 mm	Zulfiqar vd. (2009)

Çizelge 2.1.'in devamı.

'Fuerte'	Apikal tomurcuk	MS (3/4 kuv. makro ve mikro element)	1.5 mg/L BAP	6 hafta	Eksplant başına 2.5 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 40.6 mm	Zulfiqar vd. (2009)
Meksika soyu genotipler (773, 765 ve 064)	Boğum segmenti	MS	0.5 mg/L BAP + 0.1 mg/L IBA	12 hafta	Eksplant başına 3-5 sürgün oluşumu Sürgün oluşumu %71.3 Sürgün uzunluğu 22.5 mm	Cortés-Rodríguez vd. (2011)
'Velvick'	Boğum segmenti	WPM	0.1 mg/L mT + 0.1 mg/L GA ₃	6 hafta	Sürgün oluşumu %100 Sürgün uzunluğuna artış Yaprak satışında artış Sürgün kalitesinde iyileşme	Hiti-Bandaralage vd. (2015)
'Huevo de Toro'	Aksiller tomurcuk	Yasuda	2 mg/L BAP + 0.01 mg/L IAA + 0.5 mg/L GA ₃	12 hafta	Eksplant başına 1.19-1.5 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 10.7-10.9 mm Eksplant başına yaprak sayısı 1.21 adet	Ibarra-López vd. (2016)
'Butter'	Aksiller tomurcuk	Yasuda	1 mg/L BAP + 0.3 mg/L IBA	12 hafta	Eksplant başına 1.89-2.14 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 12.1-12.3 mm Eksplant başına yaprak sayısı 1.21-2.38 adet	Ibarra-López vd. (2016)
'Edranol'	Aksiller tomurcuk	MS (1/2 kuvvette)	1 mg/L BAP	12 hafta	Eksplant başına 1.08 sürgün oluşumu	Mansoor (2018)
'Hass'	Boğum segmenti	WPM	1 mg/L BAP + 0.5 mg/L GA ₃	8 hafta	Eksplant başına 0.62 sürgün oluşumu	Osorio vd. (2018)
'Hass'	Sürgün ucu	WPM	1 mg/L BAP + 0.5 mg/L GA ₃	8 hafta	Eksplant başına 0.42 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 6.1 mm	Osorio vd. (2018)
'Velvick'	Boğum segmenti	WPM	BAP + NAA (konsantrasyon belirsiz)	10 hafta	Sürgün uzunluğu 15.35 mm Eksplant başına yaprak sayısı 6.08 adet Sürgün kalitesi %85	Hiti Bandaralage vd. (2019)
'Reed'	Boğum segmenti	SH	KIN – A (konsantrasyon belirsiz)	10 hafta	Sürgün uzunluğu 12.9 mm Eksplant başına yaprak sayısı 3.82 adet Sürgün kalitesi %35	Hiti-Bandaralage vd. (2019)

Çizelge 2.1.'in devamı.

'Kidd'	Boğum segmenti	WPM	Zeatin – A (konsantrasyon belirsiz)	10 hafta	Sürgün uzunluğu 11.28 mm Eksplant başına yaprak sayısı 4.25 adet Sürgün kalitesi %45	Hiti-Bandaralage vd. (2019)
'Hass'	Boğum segmenti	B5	mT – A (konsantrasyon belirsiz)	10 hafta	Sürgün uzunluğu 10.79 mm Eksplant başına yaprak sayısı 4.63 adet Sürgün kalitesi %20	Hiti-Bandaralage vd. (2019)
'Duke 7'	Boğum segmenti	Yasuda	0.01 mg/L Triacantanol (TRIA)	4 hafta	Sürgün uzunluğu 20 mm	Peñaloza-Remigio vd. (2020)
'Velvick'	Boğum segmenti	Yasuda	0.01 mg/L TRIA	4 hafta	Sürgün uzunluğu 22 mm	Peñaloza-Remigio vd. (2020)
'Arba Minch Chano Mille'	Aksiller tomurcuk	MS	0 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA	8 hafta	Eksplant başına 2.06 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 17 mm	Rabuma vd. (2020)
'Arba Minch Chano Mille'	Apikal tomurcuk	MS	0 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA	8 hafta	Eksplant başına 3.64 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 20.4 mm	Rabuma vd. (2020)
'Teppi'	Aksiller tomurcuk	MS	0.125 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA	8 hafta	Eksplant başına 2.08 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 17 mm	Rabuma vd. (2020)
'Teppi'	Apikal tomurcuk	MS	0.125 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA	8 hafta	Eksplant başına 2.84 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 22.6 mm	Rabuma vd. (2020)
'Buta-Jira'	Aksiller tomurcuk	MS	1 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA/ IAA	8 hafta	Eksplant başına 1.94 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 21 mm	Rabuma vd. (2020)
'Buta-Jira'	Apikal tomurcuk	MS	1 mg/L BAP + 0.125 mg/L IBA/IAA	8 hafta	Eksplant başına 2.7 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 26.6 mm	Rabuma vd. (2020)
'Lula'	Aksiller tomurcuk	WPM	1.5 mg/L BAP	6 hafta	Eksplant başına 4 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 48 mm	Qasrawi ve Sholi (2022)
'Lula'	Apikal tomurcuk	WPM	1.5 mg/L BAP	6 hafta	Sürgün uzunluğu 48 mm	Qasrawi ve Sholi (2022)
<i>Persea americana</i> Mill.'e ait genotip	Boğum segmenti	MS	2 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA	6 hafta	Eksplant başına 6.2 sürgün oluşumu Sürgün uzunluğu 37 mm	El-Fadl vd. (2022)

Bitki doku kültüründe, eksplantların büyümesi, gelişmesi ve farklılaşması için temel besin elementleri olan inorganik bileşiklerin ve BBD'lerin yanı sıra, şekerler, jel yapıcı maddeler ve moleküler mekanizması tam olarak tanımlanmamış bazı organik ekstraktlar da kültür ortamına eklenmektedir (Hürkan 2020). Bitki hücrelerinin *in vitro* koşullarda gelişimi için dışarıdan karbon kaynağı sağlanması gereklidir. Karbonhidratlar, kültür ortamında yalnızca enerji kaynağı olarak işlev görmekle kalmayıp, aynı zamanda büyüme, gelişim ve köklenme süreçlerini doğrudan etkilemektedir (Thorpe 2007; Ferreira vd. 2011). Bu doğrultuda, doku kültürü çalışmalarında en yaygın kullanılan karbon kaynaklarından biri sakarozdur ve genellikle MS besin ortamında %3 (30 g/L) konsantrasyonunda kullanılması önerilmektedir (Murashige ve Skoog 1962). Çeşitli araştırmalarda, avokadonun *in vitro* sürgün çoğaltımı çalışmalarında %3 sakaroz konsantrasyonunun yaygın olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Mansoor 2018). Ancak Hiti-Bandaralage vd. (2015) tarafından gerçekleştirilen *in vitro* sürgün rejenerasyonu çalışmasında, kültür ortamında %2 sakaroz konsantrasyonu kullanılmıştır. Bu durum, sakaroz konsantrasyonunun bitki türüne ve genotipine bağlı olarak farklılık gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Besin ortamının fiziksel yapısının doğru seçimi de, mikro çoğaltımda gelişme ve çoğaltım ile köklenme süreçlerini önemli ölçüde etkilemektedir (George vd. 2008). Avokadonun *in vitro* sürgün rejenerasyonunu arttırmak amacıyla farklı ortam yapıları (katı, sıvı ve çift fazlı—katı ortam üzerinde sıvı tabaka) test edilmiştir (Pliego-Alfaro vd. 1987; Castro vd. 1995; Barceló-Muñoz vd. 1999; Zulfiqar vd. 2009). Çift fazlı ortamların, apikal sürgün uçlarındaki nekrozu azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Bairu vd. 2009; Kataeva vd. 1991). Ancak bu ortamda kültüre alınan dokularda camlaşma gibi fizyolojik bozuklukların meydana geldiği belirlenmiştir (Pliego-Alfaro vd. 1987; Barceló-Muñoz vd. 1999; De la Viña vd. 2001). Bu nedenle birçok araştırmacı, camlaşma riskini azaltmak amacıyla yarı katı ortamların kullanımını tercih etmiştir (Wessels vd. 1996; Barceló-Muñoz vd. 1999; Premkumar vd. 2002; Nhut vd. 2008; Zulfiqar vd. 2009; Cortés-Rodríguez vd. 2011; Hiti-Bandaralage vd. 2015; Osorio vd. 2018). Bununla birlikte bazı araştırmacılar besin ortamlarında agar yerine jelrite kullanımını tercih etmiştir (Castro vd. 1995; Sánchez-Romero vd. 2007; Hiti-Bandaralage vd. 2015). Jelrite, agar ile kıyaslandığında daha ekonomik olması ve şeffaf bir jel olarak katılaşması nedeniyle avantaj sağlamaktadır. Ayrıca şeffaf yapısı, *in vitro* kültürlerde kontaminasyonun daha kolay tespit edilmesine olanak tanıyarak sterilite kontrolünü kolaylaştırmaktadır (George vd. 2008). Bu özellikleri nedeniyle, jelrite bazı protokollerde agarın yerine alternatif olarak değerlendirilmektedir.

In vitro çoğaltım çalışmalarında yaygın olarak kullanılan inorganik bileşiklerden biri olan AgNO_3 , etilenin baskılanması yoluyla sürgün çoğaltımını ve uzamasını teşvik etmektedir (George vd. 2008). Hiti-Bandaralage vd. (2015), avokadonun *in vitro* kültürlerinde AgNO_3 'ün etkisini inceleyerek, bu bileşiğin sürgün kalitesini artırdığını ve apikal nekroz oluşumunu önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Bunun yanı sıra, *in vitro* çalışmalarda pH, kültür ortamının kimyasal ve biyolojik stabilitesini etkileyen kritik bir parametredir. pH değeri, besin elementlerinin çözünürlüğünü ve bitki dokuları tarafından alınımını belirlerken, aynı zamanda enzim aktivitesi ve kültür ortamının mikrobiyal stabilitesi üzerinde de doğrudan etkili olmaktadır (George vd. 2008). Avokado kültürlerinde, pH genellikle 5.6 ile 5.8 arasında değişmekte olup, bu aralığın sürgün çoğaltımı ve köklenme süreçleri için optimum besin alınımını ve büyümeyi desteklediği

bildirilmiştir (Zulfiqar vd. 2009). Bu nedenle kültür ortamının uygun pH seviyesinde tutulması, *in vitro* koşullarda sağlıklı sürgün gelişimi ve köklenme başarısı açısından kritik bir faktör olarak değerlendirilmektedir.

2.5.4. *In vitro* köklendirmede bitki büyüme düzenleyicilerinin ve destekleyici bileşenlerin kullanımı

Mikro çoğaltım sürecinin başarısı çeşitli aşamalara bağlı olup, en kritik aşamalardan biri köklendirme aşamasıdır. *In vitro* koşullarda köklenme sürecindeki düşük başarı oranları, bitkilerin hayatta kalma oranlarını olumsuz etkilemekte ve ticari mikro çoğaltım uygulamalarında önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (George ve Debergh 2008; Hartmann vd. 2011). Debergh ve Maene (1981), *in vitro* köklendirmenin bitki türüne bağlı olarak mikro çoğaltım maliyetinin %35-75'ini oluşturduğunu belirtmiştir. Bu nedenle köklendirme aşamasının optimizasyonu hem başarının artırılması hem de üretim maliyetlerinin azaltılması açısından kritik bir öneme sahiptir.

Özellikle odunsu bitkilerin *in vitro* koşullarda köklendirilmesi, otsu bitkilere kıyasla daha büyük zorluklar içermektedir. Avokado, köklendirilmesi zor olan meyve türleri arasında yer almakta olup, *in vitro* koşullarda elde edilen sürgünlerde kök rejenerasyonunu sağlamak, mikro çoğaltım sürecinin en karmaşık ve zorlayıcı aşamalarından biri olarak değerlendirilmektedir (Nel ve Kolze 1984; Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Zulfiqar vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2017). Yapılan araştırmalar, özellikle olgun avokado materyallerinin *in vitro* köklendirilmesinde istenilen başarı düzeyine henüz ulaşamadığını ortaya koymaktadır. Bu durum, avokado mikro çoğaltımında köklendirme sürecinin daha detaylı araştırılmasını ve protokol optimizasyonuna yönelik çalışmaların artırılmasını zorunlu kılmaktadır (Hiti-Bandaralage vd. 2017).

Köklendirme aşamasındaki başarı, birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Bunlar arasında bitkinin genotipi, ana materyalin fizyolojik durumu, eksplant kaynağı (tepe veya aksiller tomurcuk), köklendirme ortamının kimyasal ve fiziksel bileşimi, köklenmeyi teşvik edici maddeler ve inkübasyon koşulları yer almaktadır (Hartmann vd. 2011). Bu faktörler, özellikle köklenme yeteneği düşük olan odunsu bitkiler için daha büyük bir önem taşımaktadır (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003). Avokadonun mikro çoğaltımında karşılaşılan düşük köklenme oranı sorununu çözenin en önemli ön koşullarından biri, köklendirme aşamasında yüksek kaliteli ve iyi gelişmiş sürgünlerin elde edilmesi ve kullanılmasıdır (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003). Nel (1983), yaptığı çalışmada güçlü sürgünlerin köklendirme aşamasında daha yüksek köklenme başarısı gösterdiğini bildirmiştir. Buna karşın, zayıf ve yeterince gelişmemiş sürgünlerin köklenme oranlarının düşük kaldığı belirlenmiş ve bu tür sürgünlerin, köklendirme ortamına aktarılmadan önce herhangi BBD içermeyen besin ortamında ek bir ön kültürleme sürecine tabi tutulması önerilmiştir. Bu ön kültürleme, sürgün çoğaltma aşamasında kullanılan BBD'lerin köklenme üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla gerçekleştirilmektedir (Moshkov vd. 2008; Van Staden vd. 2008). Barrera-Guerra vd. (1998) tarafından yürütülen bir köklendirme çalışmasında, genç materyallerin thidiazuron (TDZ) (0.0001-1 mg/L) içeren besin ortamında kültüre edilmesi durumunda, BBD içermeyen ortamlara kıyasla daha düşük köklenme potansiyeline sahip olduğu belirlenmiştir.

Köklenme başarısını etkileyen en önemli faktörlerden biri donör bitkinin ontogenetik ve fizyolojik yaşıdır. Bitki materyalinin gelişimsel evresi, *in vitro* köklenme başarısını önemli ölçüde etkilemektedir ve genç ve fizyolojik olarak aktif dokular, olgun dokulara kıyasla genellikle daha yüksek köklenme kapasitesi sergilemektedir (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003; Hartmann vd. 2011). Odunsu bitkilerde, bitkisel materyalin olgunlaşmasıyla birlikte köklenme kapasitesinin belirgin şekilde azaldığı gözlemlenmiştir (Hartmann vd. 2011). Avokado üzerine yapılan çalışmalar da bu durumu desteklemektedir. Genç bitkisel materyallerin *in vitro* koşullarda daha yüksek köklenme oranlarına sahip olduğu, buna karşın olgun materyallerden elde edilen sürgünlerin köklenme oranlarının düşük kaldığı ve çoğu durumda köklenmenin sağlanamadığı rapor edilmiştir (Kadman ve Ben-Ya'acov 1965; Zirari and Lionakis 1994; Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro 2003; Duhoky vd. 2012; Hiti-Bandaralage vd. 2015). Genç avokado materyalleri üzerinde yapılan bir çalışmada, IBA ilave edilen besin ortamında %100 köklenme oranına ulaşıldığı bildirilmiştir (Pliego-Alfaro 1988; García-Gómez 1994; Hiti-Bandaralage vd. 2017). Buna karşın, olgun avokado materyalleri *in vitro* koşullarda köklendirme işlemine karşı yüksek oranda rekalsitranlık (inatçı) göstermekte olup, bu durum genellikle çok düşük köklenme oranlarına veya köklenmenin tamamen başarısız olmasına yol açmaktadır (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987). Zirari ve Lionakis (1994), 'Duke', 'Topa Topa', 'Hass' ve 'Fuerte' gibi farklı avokado anaç ve çeşitlerinden elde edilen olgun eksplantların *in vitro* köklendirme çalışmalarında başarısız olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde olgun avokado materyallerinin köklendirilmesi üzerine yapılan diğer araştırmalarda, farklı oksin uygulamaları ve kombinasyonları test edilmesine rağmen tatmin edici bir köklenme elde edilememiştir (Mora-Aviles 1994; Barrera-Guerra vd. 1998).

Kadman (1976), avokadonun *in vitro* koşullarda köklendirilmesinde başarı elde etmenin en etkili yolunun, genç bitki materyali kullanımı ya da olgun dokuların yeniden gençleştirilmesi olduğunu belirtmiştir. Genç materyallerin kullanımı genetik değişimlere yol açma riski taşıırken, olgun materyallerin kullanımı köklendirme sürecinde ciddi zorluklar yaratmaktadır. Bu nedenle olgun materyalin yeniden gençleştirilmesi, düşük köklenme oranları ve morfolojik bozukluklar gibi sorunların üstesinden gelmek için etkili bir strateji olarak önerilmektedir. Gençleştirme süreci, düzenli alt kültüre alma, genç bitki materyaline aşılama veya şiddetli budama gibi uygulamalarla gerçekleştirilebilmektedir (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Escobedo ve Escobedo 2010). Pliego-Alfaro ve Murashige (1987), 'Duke 7' anacının köklendirilmesi üzerine gerçekleştirdikleri çalışmada, genç materyallerde yaklaşık %100 köklenme sağlandığını, ancak olgun materyallerde köklenmenin başarısız olduğunu bildirmiştir. Ayrıca *in vitro* koşullarda aşılama yöntemiyle, olgun materyallerin köklenme oranının yaklaşık %30'a yükseltilebildiğini belirtmişlerdir. Barceló-Muñoz vd. (1999) tarafından yapılan bir başka çalışmada, 'GA-13' çeşidine ait olgun materyallerin *in vitro* aşılama yöntemiyle işlendiği ve bu sayede %90 köklenme oranı elde edildiği rapor edilmiştir. Bu bulgular, aşılama işleminin, genç materyallerde bulunan köklenme uyarıcılarının olgun materyale aktarılmasını sağlayarak köklenme yeteneğini artırabileceğini göstermektedir. Bunun yanı sıra, olgun materyallerin gençleştirilmesi için kullanılan diğer etkili yöntemlerden biri de şiddetli budama uygulamasıdır. Barceló-Muñoz vd. (1999), 'IV-8' avokado anacından elde edilen olgun materyale dipten uygulanan yoğun budama işlemi sonrasında, *in vitro* köklendirme oranının %90'ın üzerine çıktığını bildirmiştir. Bu

sonuçlar, şiddetli budamanın olgun bitki materyallerinin gençleştirilmesinde ve *in vitro* köklenme başarısının arttırılmasında etkili bir teknik olduğunu ortaya koymaktadır.

Köklenme sürecinde eksplant kaynağı (tepe ve koltuk altı tomurcukları) önemli bir faktör olup, köklenme oranını ve başarısını doğrudan etkilemektedir (Palanisamy ve Kumar 1977; Zulfiqar vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2017). Tepe ve koltuk altı tomurcuklarından elde edilen sürgünlerin *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine yapılan çalışmalarda, Zulfiqar vd. (2009) tepe tomurcuğundan %29, koltuk altı tomurcuğundan ise %19 köklenme oranı elde etmişlerdir. Buna ek olarak Qasrawi ve Sholi (2022), koltuk altı tomurcuklarından elde edilen sürgünlerin en yüksek köklenme oranına (%50) sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Tepe ve koltuk altı tomurcuklarının köklenmeye verdiği tepkideki farklılıkların, IBA'nın hücreler tarafından alımındaki, hücresel reseptörler tarafından tanınmasındaki veya etki mekanizmalarındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Sujatha ve Reddy 1998). Buna ek olarak, koltuk altı tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin, tepe tomurcuğundan elde edilenlere kıyasla köklendirme için daha yüksek IBA konsantrasyonuna (1.5 mg/L) ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir. Bu durum, tepe tomurcuklarında bulunan yüksek içsel oksin seviyeleri ile eksplantların büyüme hormonlarına yanıt verme potansiyellerindeki farklılıklarla ilişkilendirilmektedir (Hiti-Bandaralage vd. 2017).

Köklenme üzerinde etkili olan bir diğer önemli faktör, köklendirme ortamının kimyasal ve fiziksel bileşimidir. *In vitro* koşullarda köklendirme ortamının doğru şekilde hazırlanması ve dışarıdan oksin uygulamalarının optimal konsantrasyonlarda kullanılması, özellikle adventif kök oluşumu açısından kritik bir rol oynamaktadır (De Klerk vd. 1999; Dobránszki ve Da Silva 2010). Köklendirme ortamında kullanılan temel besin ortamları, içeriklerindeki elementlerin farklı konsantrasyonlarına bağlı olarak köklenme üzerinde farklı etkiler gösterebilmektedir (Aghaye vd. 2013). Mikro çoğaltımın köklendirme aşamasında, temel besin ortamındaki tuz konsantrasyonlarının azaltılması yaygın bir uygulama olup, bu yöntem kök oluşumunu teşvik etmek amacıyla sıklıkla tercih edilmektedir (Hiti-Bandaralage vd. 2017). Avokado sürgünlerinin *in vitro* koşullarda köklendirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda, farklı makro element kuvvetlerine sahip temel besin ortamları kullanılmıştır. Bu çalışmalar kapsamında; tam kuvvet (Barringer vd. 1996), ½ kuvvette (Cooper 1987), ¾ kuvvette (Zulfiqar vd. 2009), 1/3 kuvvette (Barceló-Muñoz vd. 1999) ve 3/10 kuvvette (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987) besin ortamları kullanılmıştır. Makro element kuvvetinin yarıya düşürülmesi, kimyasal reaksiyonların azalmasına olanak tanıyarak köklenme sürecinde olumlu etkiler sağlamaktadır (Buyukdemirci 2008). Ancak mikro elementler köklenme üzerinde kritik bir rol oynamakta olup, bazı araştırmalar mikro element konsantrasyonunun yarıya düşürülmesinin köklenme oranlarını olumsuz etkileyebileceğini göstermiştir. Pliego-Alfaro vd. (1988), genç avokado mikro çeliklerinde 1/3 kuvvetindeki MS besin ortamının kullanılmasıyla %100 köklenme elde edildiğini, buna karşın tam kuvvetteki MS besin ortamında bu oranın yalnızca %10 olduğunu bildirmişlerdir. Mikro çoğaltımda kullanılan temel besin ortamında yer alan mikro elementlerden biri olan demir, bitki metabolizmasında önemli roller üstlenmektedir. Özellikle klorofil ve DNA sentezinde hayati bir rol oynayan demir, aynı zamanda IAA katabolizmasını düzenleyen peroksidaz enzimlerinin bir bileşeni olarak işlev görmektedir (Dunlap ve Robacker 1988). Birçok araştırmacı, Fe-EDTA'nın odunsu bitkilerin *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koymuştur (Rashid ve Street 1973; Molassiotis vd. 2003;

Antonopoulou vd. 2007). Bununla birlikte, yapılan çalışmalar, besin ortamında kullanılan vitamin çeşitleri ve konsantrasyonlarındaki değişikliklerin mikro sürgünlerin köklenmesi üzerinde doğrudan belirleyici bir etkiye sahip olmadığını göstermektedir (Pliego-Alfaro 1988).

Temel besin ortamına ilave olarak, diğer bitki türlerinde olduğu gibi, avokadonun *in vitro* koşullarda köklenmesi için spesifik oksin türünün ve konsantrasyonunun dışarıdan sağlanması büyük önem taşımaktadır (García-Gómez vd. 1994). Oksin içermeyen besin ortamlarında, kültüre alınan genç materyallerin köklenme yeteneğinin son derece düşük olduğu bildirilmiştir (Ahmed vd. 2001). Oksinler, bitkilerde büyüme ve gelişmeyi düzenleyen en önemli BBD arasında yer almakta olup, özellikle apikal meristemlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunarak apikal dormansinin kontrolünde kritik bir rol oynamaktadır (Machakova vd. 2008; Muller ve Leyser 2011). Oksinler; bitkilerin boyca uzaması, hücre bölünmesi ve büyümesi, hücre ve doku farklılaşması gibi birçok fizyolojik süreçte etkin bir şekilde görev almakta olup, ayrıca doku kültürü çalışmalarında kök rejenerasyonu, kallus oluşumu ve somatik embriyogenez süreçlerini teşvik edici etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Taah vd. 2009; Pop vd. 2011). Mikro çoğaltım sürecinde köklendirme aşamasının başlangıcında oksinlerin kök oluşumunu teşvik ettiği, ancak kök gelişim evresinde doğrudan gerekli olmadığı belirlenmiştir (Taah vd. 2009). Pliego-Alfaro ve Bergh (1992) tarafından yapılan bir çalışmada, mikro sürgünlerin 25 mg/L IBA içeren besin ortamında üç gün süreyle inkübe edilmesinin ardından, 4-8 hafta boyunca oksin içermeyen bir ortama aktarılmasıyla başarılı bir köklenme elde edildiği rapor edilmiştir. Avokadonun *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine yapılan çalışmalarda yaygın olarak IBA kullanımına odaklanılmaktadır. Optimum IBA konsantrasyonlarının avokado genotiplerine bağlı olarak 1-20 mg/L arasında değiştiği bildirilmiştir (Nel 1983; Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Biasi vd. 1994; Biasi 1995; Wessels 1996; Barceló-Muñoz vd. 1999; Witjaksono 1999; Taah vd. 2009; Zulfiqar vd. 2009; Cortés-Rodríguez vd. 2011; Rabuma vd. 2020; Qasrawi ve Sholi 2022).

IBA'nın köklendirme üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar, farklı konsantrasyonlarda başarı oranlarını ortaya koymuştur. González-Rosas ve Salazar-García (1984), 7-10 mg/L IBA içeren ortamda %50 köklenme oranı elde edildiğini bildirmiştir. Nel (1983) tarafından yapılan bir çalışmada, 2 mg/L IBA içeren sıvı ortamda %65 köklenme sağlanırken, Barringer vd. (1996), 1-2 mg/L IBA içeren ortamda %30 köklenme elde edildiğini rapor etmişlerdir. Cooper (1987), 1 mg/L IBA içeren besin ortamında 25 hafta inkübe edilen mikro sürgünlerde %60 köklenme oranına ulaşıldığını bildirmiştir. Benzer şekilde, Barceló-Muñoz vd. (1999) ve Pliego-Alfaro ve Murashige (1987), 1 mg/L IBA içeren ortamda sırasıyla %90 ve %50 köklenme oranları elde ettiklerini belirtmişlerdir. IBA'nın yanı sıra, köklendirme çalışmalarında IAA, NAA ve 2,4-diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) gibi diğer oksin tipleri de test edilmiştir. Ancak Pliego-Alfaro (1988), 2,4-D'nin düşük konsantrasyonlarda bile 'Hass' çeşidine ait eksplantlar üzerinde toksik etkiler oluşturduğunu bildirmiştir. Öte yandan Cooper (1987), 'Hass' ve 'Hopkins' çeşitlerinde 3 mg/L NAA içeren ortamda %100 köklenme oranı elde edildiğini rapor etmiştir. Bu bulgular, oksin türü ve konsantrasyonunun köklendirme protokollerinin başarısında kritik bir rol oynadığını vurgulamaktadır. IBA ile NAA'nın köklendirme üzerindeki etkileri karşılaştırıldığında, IBA'nın avokado köklenmesi için daha etkili olduğu ve daha yüksek köklenme sağladığı belirlenmiştir (Biasi vd. 1994;

Barceló-Muñoz vd. 1999; Witjaksono 1999). Ayrıca mikro çoğaltım sürecinde köklendirme aşamasında kök gelişimi üzerine oksin ve sitokinin kombinasyonlarının da önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. González-Rosas vd. (1985) yaptığı çalışmada, 0.3 mg/L IBA + 1 mg/L KIN kombinasyonunun %65 oranında köklenme sağladığını, ancak 1 mg/L IBA + 1 mg/L KIN kombinasyonunun en yüksek düzeyde kök gelişimini teşvik ettiğini bildirmişlerdir.

Oksinlerin besin ortamında yüksek konsantrasyonlarda kullanılması durumunda, eksplantlar üzerinde toksik etkiler yaratabileceği belirlenmiştir. Bu durum, oksinlerin etilen üretimini artırarak büyümeyi olumsuz yönde etkilemesinden kaynaklanmaktadır (Baker ve Wetzstein 1994; Gaba 2005). *İn vitro* koşullarda oksin konsantrasyonlarının yalnızca kök oluşumunu değil, aynı zamanda kök uzunluğunu da etkilediği bildirilmiştir. Zulfiqar vd. (2009), IBA konsantrasyonunun optimum seviyenin üzerine çıkması durumunda, kök uzunluğunda azalma meydana geldiğini rapor etmiştir. Bu bulgular, köklendirme protokollerinde oksin konsantrasyonlarının dikkatli bir şekilde optimize edilmesi gerektiğini açıkça ortaya koymaktadır. Avokadonun *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri ile konsantrasyonlarının etkilerinin incelendiği araştırma bulgularına ait sonuçlar Çizelge 2.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. Avokadonun *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri ile konsantrasyonlarının etkilerinin incelendiği araştırma bulgularına ait sonuçlar

Avokado çeşit/genotip ve klonal anaçlar	Eksplant tipleri	Temel besin ortamı tipleri	Optimum BBD konsantrasyonları	İnkübasyon süreleri	Köklenme oranı/oluşumu	Referanslar
<i>Persea indica</i>	Aksiller tomurcuk	Modifiye edilmiş MS	2 mg/L IBA	7 hafta	Köklenme oranı %80	Nel (1983)
<i>Persea indica</i>	Boğum segmenti	Modifiye edilmiş MS	0-5 mg/LIBA	8 hafta	Köklenme sağlanamamış	Nel (1983)
‘Duke 7’	Aksiller tomurcuk	MS (1/3 kuv. makro element)	1 mg/L IBA	8 hafta	Köklenme oranı %50 Ortalama kök sayısı 2-3 adet	Pliego-Alfaro ve Murashige (1987)
‘Gvaram 13’	Sürgün	MS (1/3 kuv. makro element)	1 mg/L IBA	3 gün	Kök oluşumu sağlandı	Barceló-Muñoz vd. (1990)
‘Duke 7’	Aksiller tomurcuklar	MS	5 mg/L IBA	8 hafta	Köklenme oranı %20	Wessels (1996)
<i>Persea drymifolia</i> Ness.’e ait genotip	Sürgün	MS	50 mg/L IBA (72 saat bekletme)	3 gün (IBA içeren) 4 hafta (oksin içermeyen)	Köklenme oranı %15.4	Barrera-Guerra vd. (1998)
‘IV-8’	Boğum segmenti	MS (1/3 kuv. makro element)	1 mg/L IBA	3 gün (sıvı) + 5 hafta (katı)	Köklenme oranı %90	Barceló-Muñoz vd. (1999)
‘Hass’	Boğum segmenti	MS	%2 Pepton + 0.5 mg/L NAA	20 hafta	Ortalama kök sayısı 2.3 adet Ortalama kök uzunluğu 14 cm	Nhut vd. (2008)

Çizelge 2.2.'nin devamı

'Fuerte'	Aksiller tomurcuk	MS (1/3 kuv. makro element)	1.5 mg/L IBA	4 hafta	Köklenme oranı %41 Ortalama kök sayısı 2.8 adet	Zulfiqar vd. (2009)
'Fuerte'	Apikal tomurcuk	MS (1/3 kuv. makro element)	1 mg/L IBA	4 hafta	Köklenme oranı %53 Ortalama kök sayısı 3.2 adet	Zulfiqar vd. (2009)
Meksika soyu genotipler (773)	Boğum segmenti	MS	0.5 mg/L IBA	12 hafta	Köklenme oranı %57.5 Ortalama kök sayısı 2.25 adet	Cortés-Rodríguez vd. (2011)
'Reed'	Boğum segmenti	Modifiyeli QL+ vermikulite	IBA + H ₂ O ₂ + Element X (konsantrasyon belirsiz)	12 hafta	Köklenme oranı %85	Hiti-Bandaralage vd. (2018)
Etiyopya çeşitleri 'Arba Minch Chano Mille'	Apikal tomurcuk	MS	1 mg/L IBA	8 hafta	Köklenme oranı %54 Ortalama kök sayısı 1.86 adet Ortalama kök uzunluğu 1.50 cm	Rabuma vd. (2020)
<i>Persea americana</i> Mill.'e ait genotip	Boğum segmenti	MS (1/2 kuv. makro ve mikro element)	4 mg/L IBA + 0.5 mg/L NAA	6 hafta	Köklenme oranı %80 Ortalama kök sayısı 5.1 adet Ortalama kök uzunluğu 9.3 cm	El-Fadl vd. (2022)
'Lula'	Aksiller tomurcuk	WPM	1 mg/L IBA	6 hafta	Köklenme oranı %50 Ortalama kök sayısı 3.2 adet	Qasrawi ve Sholi (2022)
'Lula'	WPM	Apikal tomurcuk	1 mg/L IBA	6 hafta	Köklenme oranı %39 Ortalama kök sayısı 2.8 adet	Qasrawi ve Sholi (2022)

In vitro koşullarda köklendirme sürecinin başarısını artırmak amacıyla, çeşitli organik kimyasalların köklendirme hormonlarıyla kombine edilerek kullanıldığı ve bu kombinasyonların köklenmeyi teşvik ettiği gösterilmiştir (George vd. 2008). Bu kimyasallar arasında peptonlar, peptitler, amino asitler ve inorganik tuzların yanı sıra lipitler, vitaminler ve şekerler gibi bileşenleri içeren suda çözünür protein hidrolizatları yer almaktadır (Pham vd. 2005; Thorpe 2007). Bu bileşenlerin, köklenme oranını artırma, hücre bölünmesini teşvik etme ve genel bitki sağlığını iyileştirme gibi çeşitli olumlu etkiler sağladığı bildirilmiştir (Aydın ve Celik 2018). Bu bağlamda, kullanılan organik ve inorganik bileşenlerin konsantrasyonlarının ve kombinasyonlarının dikkatle optimize edilmesi, köklendirme protokollerinin başarısı açısından kritik öneme sahiptir (Molassiotis vd. 2003).

Peptonların köklenme üzerindeki olumlu etkilerinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, bazı çalışmalar bu etkileri açıkça ortaya koymuştur (Schlaeger 1996). Örneğin, Nhut vd. (2008), genç avokado sürgünlerinde %2 pepton ve 0.5 mg/L NAA ilave edilmiş besin ortamı kullanarak %100 köklenme oranı elde etmiş ve peptonun köklenme süreci üzerindeki olumlu etkisini doğrulamıştır. Bir diğer organik bileşik olan floroglisinol (PG), oksinlerin etkisini artırarak hücre bölünmesi ve uzamasını teşvik etmektedir. Bu özelliği sayesinde, özellikle odunsu bitkilerde köklenme oranlarını anlamlı şekilde artırdığı rapor edilmiştir (George and Debergh 2008). Premkumar vd. (2002), avokadonun köklendirilmesi üzerine yaptıkları çalışmada, 100 mg/L PG uygulamasının kök oluşumunu teşvik ettiğini ve oksinlerin etkisini güçlendirdiğini bildirmiştir. Benzer şekilde, Zulfiqar vd. (2009), farklı PG konsantrasyonlarını test ederek, 50-150 mg/L arasında en yüksek köklenme oranının 100 mg/L konsantrasyonunda elde edildiğini rapor etmiştir. El-Fadl vd. (2022), 4 mg/L IBA, 0.5 mg/L NAA ve 160 mg/L PG içeren besin ortamında %80 köklenme sağlandığını bildirmiştir. Ayrıca Pliego-Alfaro (1988), PG'nin köklenme indüksiyonunda etkili olduğunu belirtmiştir. Bu bulgular, PG'nin oksinlerle sinerjik etki göstererek köklenmeyi teşvik eden bir bileşik olarak kullanım potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır.

Karbonhidratlar, *in vitro* köklenme süreçlerinde hem enerji kaynağı hem de osmotik dengeyi sağlayıcı bir bileşen olarak kritik bir rol oynamaktadır. Ferreira vd. (2011), karbonhidratların *in vitro* köklenmeyi teşvik ettiğini ve kültür ortamında kök gelişimi üzerinde olumlu etkiler sağladığını rapor etmiştir. Özellikle odunsu bitkilerin doku kültürü çalışmalarında, uygun konsantrasyonlarda sakaroz kullanımı köklenme verimliliğini artırmaktadır. Zulfiqar vd. (2009), sakarozun avokado köklenmesi için uygun bir karbon kaynağı olduğunu ve kök gelişimi üzerinde önemli etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir. Pliego-Alfaro (1988), farklı şeker konsantrasyonlarının köklendirme üzerindeki etkilerini araştırarak %0, 1.5, 3, 6 ve 9 oranlarında sakaroz içeren ortamları değerlendirmiştir. Araştırma bulgularına göre, %1.5-6 sakaroz içeren ortamlar arasında köklenme oranlarında anlamlı bir fark gözlenmezken, %9 sakaroz içeren ortamda köklenme oranının düştüğü, kallus oluşumunun arttığı ve yapraklarda sararma meydana geldiği bildirilmiştir. Bu sonuçlar, *in vitro* köklendirme sürecinde %3 sakaroz konsantrasyonunun optimum seviyede olduğunu ortaya koymaktadır.

Bunun yanı sıra, besin ortamının fiziksel yapısının da *in vitro* köklenme süreci üzerinde önemli bir rol oynadığı belirlenmiştir. Sıvı ortamda kültüre alınan eksplantlarda camlaşma gözlenirken, katı ortamlarda büyümenin yavaşladığı bildirilmiştir (De la Viña vd. 2001). Meksika avokado çeşidi üzerinde yapılan bir çalışmada, olgun materyale ait

sürgünlerin katı ortamda kültüre alınmasıyla %50'nin üzerinde köklenme sağlandığı rapor edilmiştir (Cortés-Rodríguez vd. 2011). Barceló-Muñoz vd. (1999) tarafından yapılan bir çalışmada, mikro sürgünlerin ilk üç gün boyunca oksin içeren sıvı ortamda inkübe edilmesinin ardından oksin içermeyen katı ortama transfer edilmesiyle daha yüksek köklenme oranlarına ulaşıldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, köklendirme aşamasında ortam bileşiminin ve fiziksel yapısının, kök oluşumu ve gelişimi üzerinde doğrudan etkili olduğunu göstermektedir.

2.5.5. Kültür inkübasyon koşulları

In vitro koşullarda kültüre alınan bitkiler, genellikle iklim odalarında veya bitki büyüme kabinlerinde inkübe edilmektedir. Bu ortamların etkinliği, sıcaklık kontrolü, uygun dalga boylarında ışık yoğunluğunun sağlanması ve fotoperiyot düzenlemesi gibi faktörlerin dikkatle optimize edilmesine bağlıdır. Kültür inkübasyon koşullarının belirlenmesi, bitki türü, kültür tipi (sürgün ucu, boğum, kallus veya embriyo) ve kültür aşaması (başlangıç, sürgün çoğaltımı veya köklendirme) gibi parametreler göz önünde bulundurularak yapılmalıdır (Murashige ve Skoog 1962; George vd. 2008).

Genel olarak *in vitro* koşullarda yetiştirilen bitkilerin büyüme ve gelişimi için ideal sıcaklık aralığı 22-28°C olarak belirlenmiştir. Bu sıcaklık aralığı çoğu bitki türü için uygun olmakla birlikte, spesifik türlerin fizyolojik ve biyokimyasal gereksinimlerine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (Babaoğlu vd. 2001; George vd. 2008). Bazı durumlarda, kültürler kısa süreli sıcaklık uygulamaları gerekebilir. Örneğin, bitkilerin virüslerden arındırılması amacıyla uygulanan termoterapi yöntemi kapsamında, bitki dokuları belirli bir süre boyunca yüksek sıcaklıklara (genellikle 35-40°C) maruz bırakılmaktadır (Cassells ve Curry 2001). Bunun yanı sıra, bazı bitki türlerinde embriyo gelişimi veya dormansinin kırılması için düşük sıcaklık uygulamalarına (4-10°C) ihtiyaç duyulmaktadır (George vd. 2008). *In vitro* kültür ortamında sıcaklık değerlerinin sabit tutulması da büyük önem taşımaktadır. Sıcaklık dalgalanmaları, bitki hücrelerinin fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerini olumsuz etkileyerek anormal büyümelere neden olabilir. Bu nedenle sıcaklık kontrolünün $\pm 1^\circ\text{C}$ hassasiyetle sağlanması, başarılı bir *in vitro* kültür süreci için kritik bir gereklilik olarak değerlendirilmektedir (Murashige ve Skoog 1962; George vd. 2008). Bu bulgular, bitki doku kültürü çalışmalarında sıcaklık yönetiminin, bitkilerin sağlıklı büyüme ve gelişimi açısından temel bir parametre olduğunu ortaya koymaktadır.

Avokado gibi tropik ve subtropik türlerin *in vitro* çoğaltımında sıcaklık kontrolü daha da önem kazanmaktadır. Avokado kültürleri genellikle çoğaltım ve köklendirme amacıyla $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklıktaki iklim odalarında inkübe edilmektedir (Hiti-Bandaralage 2017). Mikro çoğaltım çalışmaları sırasında, $25\pm 2^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığının optimum sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Pliego-Alfaro vd. 1998). Castro vd. (1995) ise düşük sıcaklıkların sürgünlerde kararma oranını azalttığını, ancak bu durumun sürgün rejenerasyonunu olumsuz etkilediğini rapor etmiştir. Bununla birlikte sıcaklığın 30°C 'ye yükseltilmesi aksiller tomurcuklardan elde edilen sürgünlerin uzamasını teşvik etmiştir. Fakat kallus kültürlerinde, bitki rejenerasyonunda 21°C 'nin, 27°C 'ye kıyasla daha yüksek canlılık oranı sağladığı tespit edilmiştir. Pliego-Alfaro vd. (1987), embriyo kültüründe 25°C 'nin embriyo gelişimi ve bitki rejenerasyonu için ideal sıcaklık olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca Avilán vd. (1986) tarafından yapılan çalışmada düşük sıcaklık uygulamalarının (4°C), avokado embriyosunun dormansisini kırmada etkili olduğu

bildirilmiştir. Köklendirme aşamasında ise sıcaklık kontrolü özellikle hassas bir süreçtir. Smith ve Drew (1997), *in vitro* koşullarda köklenmenin başarı oranının sabit bir sıcaklıkta tutulmasıyla arttığını belirtmişlerdir. Bu bulgular, avokado gibi tropik türlerin *in vitro* kültürlerinde sıcaklık yönetiminin, bitki gelişimi ve rejenerasyonu açısından kritik bir faktör olduğunu ortaya koymaktadır.

In vitro koşullarda bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde ışık yoğunluğunun önemli bir etkisi bulunmaktadır. Genellikle fotosentetik aktif radyasyon için ışık yoğunluğu 50-100 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ arasında ayarlanır ve bu değerler fotosentezi desteklemek için yeterli ışık miktarını sağlar. Bununla birlikte, bitki türüne ve uygulamaya bağlı olarak fotosentetik foton akışı değerlerinin 5 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ kadar düşük veya 150 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ kadar yüksek olduğu durumlarda rapor edilmiştir (George vd. 2008; Phillips ve Garda 2019). Düşük ışık seviyeleri genellikle fotosentez hızını sınırlandırırken, yüksek ışık seviyeleri fotoinhibitör etkilere yol açabilmektedir. Bu nedenle her bitki türü için optimum ışık yoğunluğunun belirlenmesi, *in vitro* kültürlerin başarılı bir şekilde yönetilmesi açısından kritik bir öneme sahiptir. Ayrıca ışığın kalitesi (dalga boyu) ve fotoperiyot uzunluğu gibi diğer ışık parametrelerinin de dikkate alınması gerekmektedir (Kozai vd. 1997; Carvalho vd. 2015; George vd. 2008). Işık yoğunluğu, avokadonun *in vitro* koşullarda çoğaltma ve köklendirme aşamalarındaki fizyolojisini de etkilemektedir (De la Viña vd. 2001). De la Viña vd. (2001), artan ışık yoğunluğunun klorofil seviyelerini azalttığını, buna karşın karotenoid seviyelerini artırdığını belirlemiştir. Çalışmada, 35 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ışık yoğunluğunun sürgünlerde yeşil dokunun korunmasında etkili olduğu, ancak daha yüksek ışık seviyelerinin sürgünlerde sararmaya neden olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, ışık yoğunluğunun avokadonun *in vitro* gelişimi üzerinde doğrudan etkili olduğunu ve optimum seviyede ayarlanması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Fotoperiyot, *in vitro* koşullarda bitki büyümesini destekleyen önemli bir çevresel parametredir. Genellikle 16 saat aydınlık/8 saat karanlık döngüsü tercih edilmekle birlikte, fotoperiyot süresi bitki türüne ve çalışmanın hedeflerine bağlı olarak değiştirilebilmektedir (Gamborg ve Phillips 1995). Avokadonun *in vitro* çoğaltım çalışmalarında, çoğunlukla 16 saatlik fotoperiyot koşulları benimsenmiştir (Nel 1983; Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Vega 1989; Castro vd. 1995; Zulfiqar vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2015; Hiti-Bandaralage vd. 2017). Bununla birlikte, Cooper (1987), boğum kültürleri için 24 saatlik fotoperiyot uygulanmasını önermiştir. Öte yandan, Pliego-Alfaro (1988), embriyo kültürlerinde 16 saatlik fotoperiyodun embriyo gelişimi için en uygun koşulları sağladığını bildirmiştir. Ancak Barringer vd. (1996), embriyo kültürlerinde 18 saatlik fotoperiyodun daha iyi sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir. *In vitro* kültürlerde fotoperiyodun köklenme süreci üzerindeki etkisi de oldukça belirgindir. Çeşitli araştırmalar, kültür başlangıcında karanlık veya düşük ışık yoğunluğu uygulamalarının kök oluşumunu teşvik ettiğini göstermiştir (Lightfoot vd. 2010). Bu etkinin temel nedeni, karanlık koşullarda oksin katabolizmasının yavaşlamasıdır. Karanlık ortamda hücrelerde içsel oksin seviyesinin artışı gözlenmekte olup, bu durum kök hücrelerinin indüksiyonunda ve gelişiminde kritik bir rol oynamaktadır (De Klerk vd. 1999). Zulfiqar vd. (2009) yaptığı çalışmada, avokadonun boğum kültürü başlangıcında 7 gün boyunca karanlık koşullarda inkübasyonun, kök oluşum oranlarını anlamlı derecede artırdığını rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, Pliego-Alfaro ve Murashige (1987), avokadonun embriyo kültürlerinde sürekli karanlık koşulların,

embriyo gelişimi ve kök oluşumu üzerinde olumlu etkiler sağladığını bildirmiştir. Bu bulgular, fotoperiyot süresinin avokado sürgün çoğaltımı ve köklendirme süreçlerinde kritik bir faktör olduğunu ve her aşama için özel olarak optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

2.5.6. Dış koşullara alıştırma (Aklimatizasyon) sürecinde adaptasyon uygulamaları

Dış koşullara alıştırma aşaması (aklimatizasyon), bitkiciklerin *in vitro* koşullardan dış ortama transferi sırasında veya sonrasında meydana gelen kayıplar nedeniyle, mikro çoğaltım yönteminin geniş çapta uygulanmasını sınırlandıran önemli aşamalardan biri olarak kabul edilmektedir. *In vitro* koşullardan çıkarılan köklenmiş mikro çelikler, dış ortamda değişken nem, sıcaklık ve ışık yoğunluğu gibi abiyotik stres faktörlerinin yanı sıra toprak mikroflorası kaynaklı biyotik stres koşullarına maruz kalmakta ve bu süreçte önemli anatomik ve fizyolojik değişiklikler geçirmektedir (Chandra vd. 2010; Hartmann vd. 2011). *In vitro* koşullarda yetiştirilen bitkicikler, fonksiyonel olmayan stomalara, zayıf kök sistemine ve iyi gelişmemiş kütikülaya sahip oldukları için dış koşullara doğrudan adapte olamazlar ve bu nedenle aklimatizasyon aşamasına ihtiyaç duyarlar (Hiti-Bandaralage vd. 2018). Bu süreçte bitkiciklerin hayatta kalma oranlarını arttırmak ve başarılı bir adaptasyon sağlamak için aklimatizasyon protokollerinin dikkatle tasarlanması gerekmektedir.

Avokadonun aklimatizasyon sürecine yönelik yapılan çalışmalarda, mikro çoğaltılmış avokado bitkiciklerinin aklimatizasyon aşamasında düşük hayatta kalma oranları ve yavaş gelişim gösterdiği bildirilmiştir (Vidal vd. 1992). Bu durum, *in vitro* koşullarda yetiştirilen bitkiciklerin yapısal ve fizyolojik özelliklerinin dış ortama uyum sağlamada yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır. Bu nedenle aklimatizasyon sürecinde bitkiciklerin hayatta kalma oranını arttırmak için nispi nemin kademeli olarak azaltılması ve kontrollü ortam koşullarında adaptasyonlarının sağlanması önerilmektedir (Hiti-Bandaralage vd. 2018). Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro (2003), sağlıklı avokado bitkiciklerinin başlangıçta %100 nem oranına sahip bir seraya transfer edilmesini ve ardından günlük olarak nem seviyesinin kademeli olarak azaltılmasını önermektedirler. *In vitro* koşullarda yetiştirilen mikro sürgünlerin veya bitkiciklerin dış ortama uyum sağlamasına yardımcı olmak için en yaygın yöntemlerden biri, nispi nemin kademeli olarak düşürülmesidir. Başlangıçta %90'ın üzerinde tutulabilen nispi nem oranı, bitkilerin doğal çevreye uyumunu kolaylaştırmak amacıyla çeşitli yöntemlerle kontrollü bir şekilde azaltılmaktadır (Hartmann vd. 2011; Hiti-Bandaralage vd. 2018). Bu süreçte, nem kaybını minimize etmek ve stomaların işlevselliğini artırmak için üzeri polietilen örtü ile kaplanmış ve gölgelendirilmiş alanlar (saksı, kap, raf, masa vb.) kullanılmakta olup, nemin korunmasını sağlayan mist (sisleme) veya fog (sis oluşturma) sistemleri gibi uygulamalar da yaygın olarak tercih edilmektedir (George vd. 2008; Chandra vd. 2010).

Bunun yanı sıra, bitkiciklerin dış koşullara transferinden önce *in vitro* ortamda güçlendirilmesi, başarılı aklimatizasyon için etkili bir strateji olarak değerlendirilmektedir. Bu süreçte, kültür kabında nem çekici maddelerin kullanılması veya besin ortamının osmotik potansiyelini artırmak amacıyla sakaroz ilavesi yapılması önerilmektedir. Premkumar vd. (2002), *in vitro* koşullarda çoğaltılmış bitkiciklerin dış ortam koşullarına adaptasyonu üzerine gerçekleştirdikleri çalışmada, besin ortamına farklı konsantrasyonlarda sakaroz (0, 5, 30 ve 50 g/L) ilave etmiş ve 30 ile 50 g/L sakaroz içeren ortamların, bitkiciklerin hayatta kalma oranlarını belirgin şekilde arttırdığını tespit

etmişlerdir. Bu bulgular, aklimatizasyon sürecinde nem yönetimi ve osmotik potansiyelin dikkatle optimize edilmesinin, bitkiciklerin hayatta kalma oranlarını önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir. Bununla birlikte, paklobutrazol uygulaması, bitkiciklerin dış koşullara transferinden önce ön hazırlık aşamasında başarılı sonuçlar verebilmektedir. Ayrıca mikorizal funguslarla inokülasyon, köklenme oranını arttırmak ve dış koşullara alışma sürecini kolaylaştırmak için etkili bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (Cooper 1987; Vidal vd. 1992; Cortés-Rodríguez vd. 2011; Hartmann vd. 2011). Mikoriza uygulanan bitkiciklerde şaşırtma şoku azalmakta, stomaların fonksiyonları daha etkin hale gelmekte ve besin maddelerinin alımı iyileşmektedir. Azcón-Aguilar vd. (1992), mikorizal funguslar ile inoküle edilen avokado mikro sürgünlerinde %85 hayatta kalma oranı elde etmişlerdir. Benzer şekilde, Vidal vd. (1992) çalışmasında *Glomus fasciculatum* ile inokülasyon sonucunda %72 hayatta kalma oranı belirlemiştir. Ancak Hiti-Bandaralage vd. (2018) araştırmasında, mikorizal fungus inokülasyonunun avokado bitkiciklerinin hayatta kalması ve sağlıklı büyümesi için mutlak bir gereklilik olmadığı belirtilmiştir. Hiti-Bandaralage vd. (2018), en başarılı aklimatizasyon yönteminin, köklenmiş bitkiciklerin 2-3 gün boyunca steril deiyonize suda bekletilerek ardından 4 hafta boyunca plastik örtüyle kaplanmış saksılarda inkübe edilmesi olduğunu ve bu yöntemin %97 oranında dış koşullara adaptasyon sağladığını bildirmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırmaya yönelik ön çalışmalar, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne (BATEM) bağlı Kayaburnu yerleşkesinde bulunan doku kültürü laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması ise Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) bulunan Kaliforniya Üniversitesi (Riverside) (UCR) bünyesindeki Bitki Transformasyon Merkezi laboratuvarı ve serasında 2023-2025 yılları arasında yürütülmüştür.

3.1. Materyal

Bu çalışmada, bitkisel materyal olarak iki yaşlı 'Duke 7' ve 'Toro Canyon' avokado klonal anaçları kullanılmıştır. Her iki anaçtan 30'ar adet olmak üzere toplam 60 adet klonal anaç, Brokaw Nursery A.Ş.'den (Ventura, California, ABD) temin edilmiştir. Temin edilen anaçlar, Brokaw metodu kullanılarak klonal olarak olarak çoğaltılmıştır. Anaçlar, 1:1:1 oranında (v/v) kum, kil ve tın karışımından oluşan substrat ile doldurulmuş, 8 L hacmindeki delikli siyah körüklü plastik torbalarda geliştirilmiştir. Bu klonal anaçlar daha sonra Kaliforniya Üniversitesi, Riverside'ye bağlı Bitki Transformasyon Merkezi'nin cam serasına transfer edilerek uygun ışık ve sıcaklık koşulları sağlanan tezgahlar üzerine yerleştirilmiştir. Denemede kullanılan 'Duke 7' ve 'Toro Canyon' klonal anaçlarının cam sera içerisindeki genel görünüşleri Şekil 3.1a ve b'de sunulmuştur.



(a)

(b)

Şekil 3.1. a) 'Duke 7'; b) 'Toro Canyon' klonal anaçlarının sera içerisindeki genel görünüşleri

Bitkilerin bulunduğu cam sera, otomatik sulama sistemi ile birlikte bilgisayar kontrollü sıcaklık ile bağıl nem düzenleme mekanizmalarına sahiptir. Sera içi sıcaklık 25 ± 2 °C, bağıl nem ise $\%50 \pm 5$ seviyelerinde sabit olarak tutulmuştur. Ayrıca sera içerisindeki ışık düzeyini optimize etmek amacıyla $\%55$ oranında gölgeleme tülü kullanılmıştır. Araştırma süresince bitkiler, 12 ay boyunca sera koşullarında yetiştirilmiş ve bu süre zarfında düzenli olarak sulama, gübreleme ve ilaçlama işlemleri uygulanmıştır. Bitkilerin sağlığını korumak ve optimal gelişim koşullarını sürdürmek amacıyla, aşağıda detayları verilen bakım işlemleri belirli periyotlarla uygulanmıştır.

Sulama; sulama işlemi çok çıkışlı damla sulama sistemi kullanılarak, her gün sabah ve akşam saatlerinde 2.5 dk süreyle gerçekleştirilmiştir.

Gübreleme; gübreleme uygulaması, 15-5-15 NPK (Peters Excel) formülasyonundaki su ile çözünebilen gübre kullanılarak yapılmıştır. Gübre çözeltisi 1 g/L konsantrasyonunda hazırlanarak yapraklara püskürtme yöntemiyle uygulanmıştır. Bu işlem 8 haftada bir düzenli olarak tekrarlanmıştır.

İlaçlama; fungal hastalıkların önlenmesi amacıyla, sistemik fungusit Fongarid® (Syngenta) 1 g/L konsantrasyonunda hazırlanarak yapraklara püskürtme yöntemiyle 4 haftada bir uygulanmıştır. Zararlılara karşı koruma sağlamak amacıyla sistemik pestisit Sultan® (BASF) 1 g/L konsantrasyonunda hazırlanarak yapraklara püskürtme yöntemiyle 6 haftada bir uygulanmıştır.

Araştırmada kullanılan klonal anaçlara ait özelliklere aşağıda yer verilmiştir.

‘Duke 7’: Meksika soyuna ait olup, Kaliforniya benzeri iklim koşullarına sahip bölgelerde avokado yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan klonal bir anaçtır (Rose 2003; Whiley vd. 2007). Kaliforniya Üniversitesi tarafından 1950’li yıllarda yürütülen çalışmalar sonucunda, *Phytophthora cinnamomi*’nin neden olduğu kök çürüklüğüne karşı toleranslı ilk klonal anaç olarak geliştirilmiştir (Rose 2003; Whiley vd. 2007). ‘Duke 7’, avokado çeşitleri ile aşı uyumsuzluğu sorunu taşımaması, soğuğa yüksek toleranslı olması, kireç kaynaklı kloroza karşı iyi derecede toleranslı olması ve *Phytophthora* kök çürüklüğüne karşı orta düzeyde direnç göstermesi nedeniyle avokado yetiştiriciliğinde yaygın olarak tercih edilmektedir (Anonymous 3; Zentmyer 1978; Menge vd. 1992; Zentmyer vd. 1994). Bu klonal anacın çok sayıda melez tipi bulunmaktadır ve günümüzde Brokaw metodu (Brokaw 1975) ile vejetatif olarak çoğaltılabilmektedir.

‘Toro Canyon’: Meksika-Guatemala hibriti olup, *Phytophthora citricola*’ya karşı yüksek düzeyde tolerans gösteren klonal bir anaçtır (Rose 2003). Bu anaç, 1984 yılında seçilmiş ve özellikle Kaliforniya başta olmak üzere çeşitli avokado yetiştiriciliği yapılan ülkelerde kullanılmaktadır. ‘Toro Canyon’, üzerine aşıl原因an çeşitlerde farklı büyüme kuvvetleri oluşturabilmektedir. Kireç kaynaklı kloroza ve tuzluluğa karşı orta düzeyde toleranslı olup, soğuğa yüksek tolerans göstermektedir. Ayrıca iyi drene edilmiş topraklarda yüksek performans sergilemektedir (Bender vd. 2010). Yaygın olarak kullanılan ticari klonal anaçlar arasında yer almaktadır (Anonymous 3). Günümüzde, Brokaw metodu (Brokaw, 1975) ile vejetatif çoğaltımı mümkün olmakla birlikte, çoğaltmadaki zorluklar nedeniyle üretimi sınırlıdır (Mickelbart vd. 2002).

3.2. Metot

3.2.1. Sterilizasyon işlemleri, besin ortamlarının bileşenleri ve inkübasyon koşulları

Besin ortamlarının, alet ve ekipmanların sterilizasyonu

Besin ortamlarının sterilizasyonu, otoklavda 121°C ve 1.2 atmosfer basınç altında 20 dk süreyle gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.2a). Otoklavdan çıkarılan besin ortamları, henüz katılaşmadan önce laminar hava akışlı kabinde, steril koşullar altında makro pipet yardımıyla steril cam tüplere (2.5 cm çap, 15 cm boy) 15’er ml veya plastik kültür

kaplarına (250 ml'lik) 60'ar ml olarak dağıtılmıştır (Şekil 3.2b). Besin ortamları dağıtıldıktan sonra cam tüplerin ve plastik kültür kaplarının kapakları tam kapatılmadan kabin içerisinde soğumaya bırakılmış, soğuma işlemi tamamlandıktan sonra kapaklar sıkıca kapatılarak kullanılıncaya kadar aseptik koşullar altında bekletilmiştir.



(a)



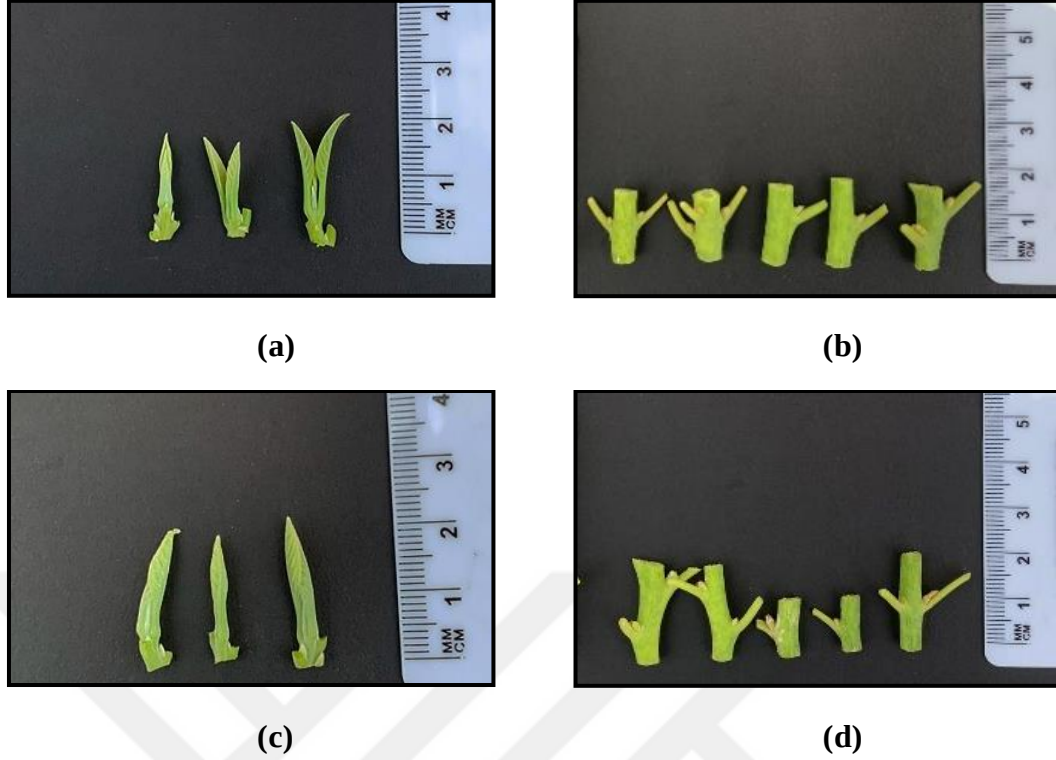
(b)

Şekil 3.2. a) Dijital kontrollü otoklavda besin ortamlarının 20 dk süre ile sterilizasyonu; **b)** yatay laminar hava akışlı kabin içerisinde steril edilmiş besin ortamlarının makro pipet yardımıyla kültür kaplarına dağıtılmasına ilişkin genel görünüm

Çalışmalarda sterilizasyon işlemleri sırasında kullanılan cam reaktif şişeler, kültüre alma esnasında kullanılan beherler, cam tüpler, plastik kültür kapları, plastik kapaklar, pensler, pensetler, bistüriler ve kurutma kağıtları alüminyum folyoya sarılarak, 121°C ve 1.2 atmosfer basınç altında STERIS S5-120 marka dijital kontrollü otoklavda 90 dk süreyle steril edilmiştir. Steril edilen malzemeler, kullanılıncaya kadar laminar hava akışlı kabin içerisinde muhafaza edilmiştir. Çalışma süresince kullanılan pensler, pensetler ve bistüriler, %70'lik etil alkole batırıldıktan sonra sürekli yanan alevden sık sık geçirilerek sterilize edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan laminar hava akışlı kabinler 24 saat boyunca aktif olarak çalıştırılmış ve dikim işlemine başlamadan önce kabinin iç yüzeyleri %70'lik etil alkol ile temizlenmiştir.

Eksplantların yüzeysel sterilizasyonu

Sera koşullarında yetiştirilen bitkilerin bir yaşlı sürgünlerinden yaklaşık 1–2 cm uzunluğundaki sürgün uçları (Şekil 3.3a ve c) ile boğum segmentleri (Şekil 3.3b ve d) budama makası ile kesilerek laboratuvara getirilmiştir.



Şekil 3.3. Sterilizasyon öncesi toplanmış eksplantlar; ‘Duke 7’ klonal anacına ait **a)** sürgün uçları; **b)** boğum segmentleri; ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait **c)** sürgün uçları; **d)** boğum segmentlerinin genel görünümü

Laboratuvara getirilen eksplantlar (sürgün uçları ve boğum segmentleri), yarım saat boyunca tazyikli musluk suyu altında yıkanmıştır (Şekil 3.4a). Daha sonra laminar hava akışlı kabin içerisinde her iki eksplant tipi önce %70 (v/v) etil alkolde 30 saniye boyunca çalkalanmış (Şekil 3.4b) ve ardından üç kez steril saf su ile durulanmıştır (Nhut vd. 2008). Bu işlemin ardından aseptik koşullarda sürgün uçları, 1-2 damla Tween 20 ilave edilmiş %1’lik sodyum hipoklorit (NaOCl) çözeltisinde 10 dk boyunca yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur (Zulfiqar vd. 2009) (Şekil 3.4c). Boğum segmentleri ise %3’lük NaOCl çözeltisinde 5 dk süreyle muamele edilmiştir (Hiti-Bandaralage vd. 2015) (Şekil 3.4d). Sterilizasyon işlemlerinin ardından NaOCl kalıntılarının dokulardan uzaklaştırılması amacıyla eksplantlar, aseptik koşullarda 3 kez, 5’er dk süreyle steril deiyonize su ile çalkalanmıştır (Şekil 3.4e). Bu çalkalama işlemleri, New Brunswick Scientific marka yatay çalkalayıcı cihazında 250 rpm hızında gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4f).



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Şekil 3.4. Eksplantların a) akan musluk suyu altında yıkanması; b) %70 etil alkol içerisinde çalkalanması; c) sürgün uçlarının %1'lik NaOCl çözeltisinde sterilizasyonu; d) boğum segmentlerinin %3'lük NaOCl çözeltisinde sterilizasyonu; e) steril deiyonize su ile durulanması; f) 250 rpm hızda çalkalayıcıda çalkalanması aşamalarına ait genel görünüm

Besin ortamlarının bileşenleri ve inkübasyon koşulları

In vitro koşullarda başlangıç aşamasında deneme materyallerinin elde edilmesi amacıyla, eksplantların ilk kültüre alınmasında ve temel besin ortamları denemesinde içerik açısından birbirinden farklı dört temel besin ortamı kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan temel besin ortamları aşağıda verilmiştir.

1. Woody Plant Medium (WPM) (McCown ve Lloyd 1981) (Çizelge 3.1)
2. Murashige ve Skoog (MS) (Murashige ve Skoog 1962) (Çizelge 3.1)
3. Gamborg (B5) (Gamborg vd. 1968) (Çizelge 3.1)
4. Driver ve Kuniyuki Walnut (DKW) (Tulecke ve McGranahan 1985) (Çizelge 3.1)

Sürgün çoğaltma aşamasında yürütülen denemede, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçları için temel besin ortamları denemesi sonucunda en uygun olduğu belirlenen temel besin ortamları kullanılmıştır. Köklendirme aşamasında ise makro element düzeyi $\frac{1}{2}$ olan MS besin ortamı tercih edilmiştir (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987; Nhut vd. 2008). Kullanılan temel besin ortamlarının bileşenleri Çizelge 3.1’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.1. Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd ve McCown 1981), Murashige ve Skoog (MS) (Murashige ve Skoog 1962), Gamborg (B5) (Gamborg vd. 1968) ve Driver ve Kuniyuki Walnut (DKW) (Tulecke ve McGranahan 1985) temel besin ortamlarının içeriği

(A) MAKRO ELEMENTLER	g/mol	WPM	MS	B5	DKW
		mg/L	mg/L	mg/L	mg/L
Amonyum nitrat (NH_4NO_3)	80.04	400	1650	-	1416
Amonyum sülfat ($\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132.14	-	-	134	-
Potasyum nitrat (KNO_3)	101.11	-	1900	2500	-
Kalsiyum klorür dihidrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	147.02	96	440	150	149
Kalsiyum nitrat tetrahidrat ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	236.15	-	-	-	1968
Çinko nitrat heksahidrat ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	297.48	-	-	-	26.68
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	136.09	-	170	-	265
Magnezyum sülfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	246.48	370	370	250	740
Sodyum dihidrojen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	138.00	-	-	150	-
(B) DEMİR					
Sodyum-demir EDTA ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{FeNa}$)	367.10	-	36.7	36.7	-
Sodyum EDTA (Na_2EDTA)	372.24	37.3	-	-	45.4
Demir sülfat heptahidrat ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	278.02	27.8	-	-	33.8
(C) MİKRO ELEMENTLER					
Mangan sülfat monohidrat ($\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	169.02	22.3	16.0	10.0	33.4
Çinko sülfat heptahidrat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	287.54	8.6	8.6	2.0	-
Nikel sülfat heksahidrat ($\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	262.90	-	-	-	0.05
Borik asit (H_3BO_3)	61.83	6.2	6.2	3.0	4.8
Potasyum iyodür (KI)	166.01	-	0.83	0.75	-
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	136.09	-	-	-	265.0
Sodyum molibdat dihidrat ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	241.95	0.25	0.25	0.25	0.39
Bakır sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	249.68	0.25	0.025	0.025	0.25
Kobalt klorür heksahidrat ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	237.90	-	0.025	0.025	-

Çizelge 3.1.'in devamı.

(D)VİTAMİNLER					
Myo-Inositol (C ₆ H ₁₂ O ₆)	180.16	100	100	100	100
Glisin (C ₂ H ₅ NO ₂)	75.07	2.0	2.0	-	2.0
Thiamin klorid hidroklorid (C ₁₂ H ₈ Cl ₂ N ₄ O ₅ xH ₂ O)	337.27	1.0	0.1	10	2.0
Nikotinik asid (C ₆ H ₅ NO ₂)	123.11	0.5	0.5	1.0	1.0
Pridoksol hidroklorid (C ₈ H ₁₂ ClNO ₃)	205.64	0.5	0.5	1.0	1.0

‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarının mikro çoğaltımında kullanılan WPM (Caisson Labs, WPP04), MS (PhytoTech Labs, M519), ½ kuvvette makro element içeren MS (Duchefa-biochemie, M0232), B5 (PhytoTech Labs, G398) ve DKW (Caisson Labs, DKP05) temel besin ortamları, makro ve mikro elementler ile vitaminleri içeren, önceden formüle edilmiş ve ticari olarak temin edilebilen hazır kültür ortamlarıdır.

Bu çalışmada, mikro çoğaltımının başlangıç aşamasında eksplantların elde edilmesine yönelik başlangıç kültür ortamında ve temel besin ortamları denemesinde dört farklı temel besin ortamına %0.1 polivinilpirolidon (PVP) (Sigma-Aldrich PVP360) ilave edilmiştir. Bu aşamada herhangi bir BBD kullanılmamıştır. Sürgün çoğaltma aşamasında yürütülen denemede her iki anaç için önceden belirlenmiş en uygun temel besin ortamına, iki farklı sitokinin (BAP ve mT) ile konsantrasyonları (1 ve 2 mg/L) ve sabit olarak 0.05 mg/L IAA (Sigma-Aldrich I2886) ilave edilmiştir. Ayrıca sürgün gelişimini desteklemek amacıyla besin ortamlarına 0.5 mg/L AgNO₃ (Sigma-Aldrich 209139) ve 60 mg/L demir – etilendiamin-N, N'-bis (2-hidroksifenilasetat) (Fe-EDDHA) (PlantMedia) eklenmiştir. Köklendirme denemesi öncesinde, ilk ortam olarak herhangi bir BBD veya başka bir destekleyici bileşen içermeyen makro element düzeyi ½ kuvvette olan MS besin ortamı kullanılmıştır. Bu ilk aşamayı takiben, köklendirme denemesi kapsamında aynı temel besin ortamına iki farklı oksin (IBA ve NAA) ile konsantrasyonları (0, 0.5, 1, 2, 3 mg/L) ilave edilmiş ve kök oluşumunu teşvik etmek amacıyla da ortama 160 mg/L PG (Thermo Scientific %99 anhidrous) eklenmiştir. Son olarak herhangi bir BBD içermeyen ½ kuvvette makro element içeren MS besin ortamı kullanılarak köklendirme süreci tamamlanmıştır.

Çalışmanın başlangıç ve sürgün çoğaltma aşamalarında besin ortamlarına 1 ml/L Plant Preservation Mixture (PPM) (Plant Cell Technology) eklenmiştir. Ayrıca tüm aşamalarında kullanılan besin ortamlarına karbon kaynağı olarak %3 sakaroz (Biochemical Fisher Chemical, S5-3) ilave edilmiştir. Besin ortamlarının pH değeri, Fisherbrand AB150 marka pH metre kullanılarak ölçülmüş ve 1N NaOH veya 1N HCl ile 5.75 seviyesine ayarlanmıştır. Otoklavlanmadan önce tüm besin ortamlarına %0.7 agar (Caisson Labs, G024), katılaştırıcı ajan olarak eklenmiştir. Denemelerde kullanılan besin ortamlarının içerikleri Çizelge 3.2’de ayrıntılı olarak verilmiştir.

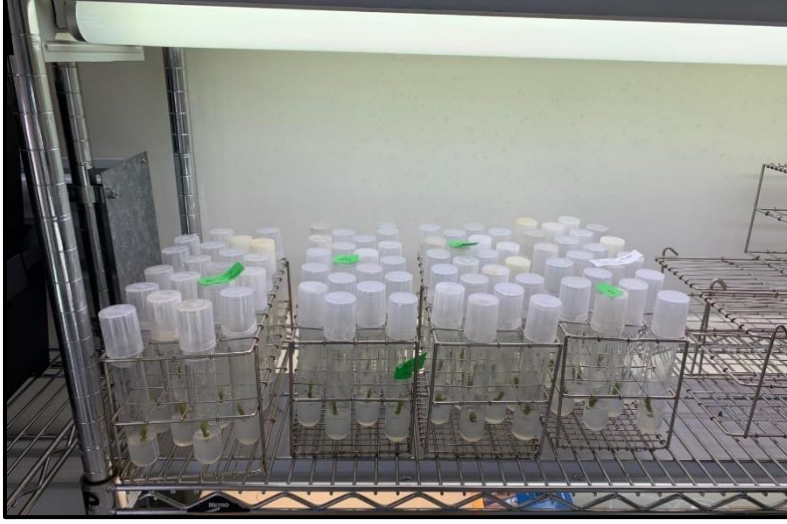
Denemelerde kullanılan sitokininler ve oksinler için her biri 1000 kat konsantrasyonunda (x1000) ayrı stok çözeltileri hazırlanmıştır. Tüm BBD’ler hassas terazide 20 mg olacak şekilde tartılmıştır. Çözünürlüklerini artırmak amacıyla, BAP ve mT yaklaşık 2-3 mL %1’lik NaOH çözeltisinde; IBA, NAA ve IAA ise yaklaşık 2-3 mL

%70'lik etil alkolde çözündürülmüştür. Hazırlanan çözeltiler, steril saf su ile 20 ml hacme tamamlanarak stok çözeltisi haline getirilmiştir. Elde edilen stok çözeltileri, kullanılıncaya kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Sitokininler ve oksinler, otoklavlama işleminden sonra laminar hava akışlı kabin içerisinde 0.2 µm membran filtre yardımıyla besin ortamlarına aseptik koşullarda ilave edilmiştir.

Çizelge 3.2. Denemelerde kullanılan besin ortamlarının içerikleri

Denemeler	Temel besin ortamları	Bitki büyüme düzenleyiciler	Destekleyici bileşenler	Karbon kaynağı	Katılaştırıcı madde
Temel besin ortamları denemesi	WPM, MS, B5 ve DKW	-	% 0.1 PVP + 1 mg/L PPM		
Farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonları denemesi	En uygun temel besin ortamı	BAP ve mT (1 ve 2 mg/L) + 0.05 mg/L IAA	0.5 mg/L AgNO ₃ + 60 mg/L Fe-EDDHA + 1 mg/L PPM	%3 sakaroz	%0.7 agar
Farklı oksin tipleri/konsantrasyonları denemesi	MS (½ kuv. makro element)	- IBA ve NAA (0, 0.5, 1, 2 ve 3 mg/L)	- 160 mg/L PG		
		-	-		

Çalışmada kullanılan tüm kültürler, kontrollü çevre koşullarına sahip iklim odasında inkübe edilmiştir. Bu ortamda, floresan ışık kaynağı ile 35 µmol·m⁻²·s⁻¹ ışık şiddeti sağlanmış ve sıcaklık 25±1°C olarak ayarlanmıştır. Fotoperiyot, zaman ayarlayıcı (timer) sistemi kullanılarak 16 saat aydınlık/8 saat karanlık olacak şekilde düzenlenmiştir. Başlangıç aşamasında, başlangıç kültür ortamlarına alınan sürgün ucu ve boğum kültürleri, 16/8 saatlik (aydınlık/karanlık) fotoperiyodun uygulandığı iklim odasında 2 hafta süreyle inkübe edilmiştir (Şekil 3.5). Bunu takiben bu aşamada yürütülen temel besin ortamları denemesinde, boğum kültürleri aynı iklim odası koşullarında 12 hafta süreyle inkübasyona alınmıştır (Şekil 3.6). Sürgün çoğaltma aşamasında yürütülen denemede, kültürler benzer şekilde 12 hafta boyunca aynı çevresel koşullarda inkübasyona tabi tutulmuştur (Şekil 3.6). Köklendirme aşamasında, köklendirme denemesi kurulmadan önce kültürler, 16 saat aydınlık fotoperiyodun uygulandığı iklim odasında 10 gün süreyle inkübe edilmiştir (Şekil 3.6). Daha sonra köklendirme denemesi kapsamında kültürler, 5 gün boyunca siyah kaplar içerisinde tamamen karanlık koşullarda aynı iklim odasında inkübe edilmeye devam etmiştir (Şekil 3.7). Son olarak kültürler, başlangıç ve sürgün çoğaltma aşamalarında uygulanan aynı çevresel koşullarda 6 hafta süreyle gelişmeye bırakılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.5. Başlangıç aşamasında, sürgün ucu ve boğum kültürlerine ait başlangıç kültürlerinin, iklim odasında kontrollü çevre koşulları altında inkübasyonundan genel görünüm.



Şekil 3.6. Başlangıç, sürgün çoğaltma ve köklendirme aşamalarında kurulan denemelere ait kültürlerin, iklim odasında inkübasyonundan genel görünüm

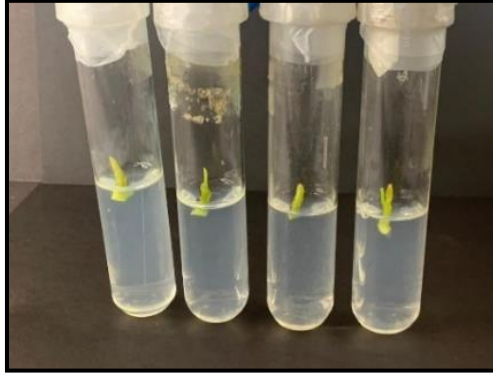


Şekil 3.7. Köklendirme aşamasında, tamamen karanlık koşulların sağlanması amacıyla siyah plastik kaplar içerisinde inkübe edilen kültürlerin iklim odasındaki genel görünümü

Dış koşullara alıştırma aşamasında, çevresel parametrelerin hassas bir şekilde kontrol edilebildiği CARON marka bitki büyüme kabini kullanılmıştır. Kabin içerisinde sıcaklık $25\pm1^{\circ}\text{C}$, ışık yoğunluğu $35\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ve fotoperiyot 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık olacak şekilde otomatik olarak ayarlanmış ve bu koşullar inkübasyon süresi boyunca sabit tutulmuştur. Bununla birlikte nem seviyesi alıştırma süreci boyunca kademeli olarak azaltılmış; ilk 10 gün boyunca %90'ın üzerinde, sonraki 10 gün boyunca ise yaklaşık %80 düzeyinde sabitlenmiştir. Bu nem koşulları, bitki büyüme kabini içerisinde yer alan otomatik kontrol sistemleri aracılığıyla sağlanmıştır. Üç haftalık alıştırma sürecinin ardından bitkicikler çevresel parametrelerin kontrollü olarak sağlandığı iklim odasına transfer edilmiş ve bu koşullar altında üç hafta daha inkübasyona tabi tutulmuştur.

3.2.2. Başlangıç kültür ortamı

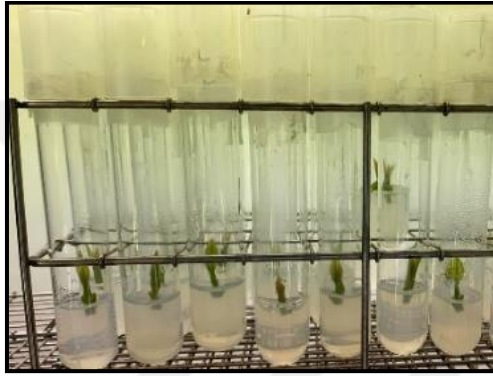
Denemeler kurulmadan önce yeterli sayıda eksplant elde edebilmek amacıyla, başlangıç aşamasında 'Duke 7' ve 'Toro Canyon' klonal anaçlarına ait sürgün ucu ve boğum segmentleri *in vitro* koşullarda kültüre alınmıştır. Bu aşamada, sterilizasyon işleminin tamamlanmasının ardından laminar hava akışlı kabin içerisinde steril sürgün uçları bisturi yardımıyla yaklaşık 1 cm uzunluğunda kısaltılmıştır. Boğum segmentleri ise üzerlerinde bir veya iki adet koltuk altı (aksiller) tomurcuk bulunacak şekilde kesilerek dikime hazır hale getirilmiştir. Her iki eksplant tipi (sürgün ucu ve boğum segmentleri), cam tüplere dikey pozisyonda yerleştirilmiş olup, dış ortamdan bulaşmaları önlemek amacıyla tüplerin ağız kısımları parafilm ile sarılmıştır (Şekil 3.8a, b, c ve d). Kültürler 2 hafta boyunca iklim odasında daha önce belirtilen koşullarda (bkz. Bölüm 3.2.1.3: Kültür Şartları) inkübe edilmiştir.



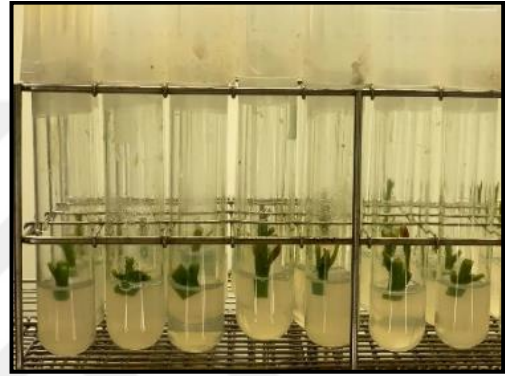
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 3.8. Kültüre alınan ‘Duke 7’ klonal anacına ait **a)** sürgün uçları; **b)** boğum segmentleri ve ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait **c)** sürgün uçları; **d)** boğum segmentlerinin genel görünüşleri

3.2.3. Temel besin ortamlarının eksplantların büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri

Temel besin ortamları denemesinde, başlangıç kültür ortamına dikimden 2 hafta sonra sürgün uçlarında kararırma ve ölüm oranının yüksek olması nedeniyle sürgün ucu kültürü için yeterli sayıda sağlıklı eksplant elde edilememiştir (Şekil 3.9). Bu nedenle temel besin ortamları denemesinde eksplant kaynağı olarak sadece boğum segmentleri kullanılmıştır. Denemede kontaminasyon belirtisi göstermeyen ve sağlıklı gelişim sergileyen boğum segmentleri tercih edilmiştir.



Şekil 3.9. İlk kültür ortamında, kararına sonucunu canlılığını kaybetmiş sürgün ucu eksplantının genel görünümü

Boğum segmentleri, laminar hava akışlı kabin içerisinde aseptik koşullarda cam tüplerinden çıkarılarak besin ortamı içeren plastik kültür kaplarına dikey pozisyonda transfer edilmiştir. Bu eksplantların tamamı 4'er hafta ara ile 3 kez alt kültüre alınmıştır. Alt kültür aşamasında, eksplantların ilk dikildikleri temel besin ortamı tipi dikkate alınarak, her bir eksplant ilgili besin ortamında alt kültüre alınmıştır. Alt kültürler de uygun koşullara sahip iklim odasında toplam 12 hafta boyunca gelişmeye bırakılmıştır (bkz. Bölüm 3.2.1.3: Kültür Şartları).

Temel besin ortamları denemesinde, 12 haftalık kültür süreci boyunca elde edilen veriler morfolojik ve fizyolojik parametreler esas alınarak değerlendirilmiştir. Morfolojik parametreler her bir alt kültür aşamasında (I., II. ve III.) canlılık oranı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, sürgün gelişme durumu, kararına oranı, kallus oranı ve camlaşma oranı esas alınarak ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Fizyolojik parametreler ise sadece III. alt kültür aşamasında incelenmiş olup; yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ile SPAD (klorofil yoğunluğu) değerlerini kapsamaktadır.

Morfolojik parametreler

Canlılık oranı (%): Canlı eksplant (boğum segmenti) sayısının toplam eksplant sayısına oranlanması ile belirlenmiş ve yüzde olarak hesaplanmıştır.

Sürgün uzunluğu (mm): Aksiller sürgünlerin tomurcuk patlama seviyesinden tepe noktasına kadar olan uzunluğu bir cetvel yardımıyla ölçülerek toplam sürgün sayısına oranlanması ile hesaplanmıştır.

Yaprak sayısı (adet): Aksiller sürgünlerde oluşan yaprak sayısının, toplam sürgün sayısına oranlanmasıyla hesaplanmıştır.

Sürgün gelişme durumu (0-4): Her bir eksplant üzerinde meydana gelen aksiller sürgünlerin gelişme durumuna göre elde edilen toplam puanların, toplam eksplant sayısına oranlanması ile hesaplanmıştır. Bu amaçla, her bir eksplantın gelişme durumu 0 ile 4 arasında puanlanmıştır (0=gelişim yok, 1=zayıf, 2=orta, 3=iyi ve 4=kuvvetli).

Kararına oranı (%): Kararına görülen eksplant sayısının, toplam eksplant sayısına oranlanması ile yüzde olarak hesaplanmıştır.

Kallus oranı (%): Kallus oluşumu görülen eksplant sayısının, toplam eksplant sayısına oranlanması ile yüzde olarak hesaplanmıştır.

Camlaşma oranı (%): Camlaşma görülen eksplant sayısının, toplam eksplant sayısına oranlanması ile yüzde olarak hesaplanmıştır.

Fizyolojik Parametler

Yaprak alanı (mm²): Yaprak alanı ölçümleri, WinDIAS-3 yaprak analiz sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen değerler toplam yaprak sayısına oranlanarak belirlenmiştir (Şekil 3.10a).

Yaprak yaş ağırlığı (mg): Yaprakların taze yaprakları, 0.001 g hassasiyetindeki terazi ile tartılmış ve elde edilen toplam yaprak yaş ağırlığı, toplam yaprak sayısına oranlanarak belirlenmiştir (Şekil 3.10b).

Yaprak kuru ağırlığı (mg): Sürgünlere ait yaprakların yaş ağırlıkları belirlendikten sonra yaprak örnekleri 65 °C sıcaklıktaki etüvde sabit ağırlığa ulaşmaya kadar 72 saat boyunca kurutulmuştur. Kurutma işleminin ardından, yaprak kuru ağırlıkları 0.001 g hassasiyetindeki terazi ile tartılmış ve elde edilen değerler toplam yaprak sayısına oranlanması ile belirlenmiştir (Şekil 3.10b).

Nisbi klorofil içeriği (SPAD) (0-99): Sürgünlerin taze yapraklarındaki klorofil içeriği, SPAD (Soil Plant Analysis Development) cihazı kullanılarak ölçülmüş ve elde edilen değerler toplam yaprak sayısına oranlanması ile belirlenmiştir (Şekil 3.10c).



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.10. *In vitro* koşullarda elde edilen yapraklara ait **a)** yaprak alanı; **b)** yaprak taze ve kuru ağırlığı; **c)** SPAD değeri ölçümünden genel görünüm

3.2.4. Farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının sürgün çoğaltımı ve gelişimi üzerine etkileri

Sürgün çoğaltma aşamasında gerçekleştirilen bu denemede, eksplant kaynağı olarak her iki klonal anaç için önceden belirlenmiş en uygun temel besin ortamında kültüre alınmış ve iki haftalık inkübasyon sürecini tamamlamış sağlıklı boğum segmentleri kullanılmıştır. Söz konusu eksplantlar, laminar hava akışlı kabin içerisinde

aseptik koşullarda, pens yardımıyla cam tüplerden çıkarılarak besin ortamı içeren plastik kültür kaplarına dikey pozisyonda transfer edilmiştir. Eksplantların tamamı, 4'er haftalık aralıklarla taze besin ortamlarına aktarılmış ve toplam 3 kez alt kültüre alınmıştır. Alt kültürlenme sürecinde, eksplantların ilk yerleştirildiği besin ortamı formülasyonları dikkate alınmıştır. Alt kültürler, uygun iklim odası koşullarında toplam 12 hafta süreyle gelişmeye bırakılmıştır (bkz. Bölüm 3.2.1.3: Kültür Şartları).

Temel besin ortamları denemesinde olduğu gibi 12 haftalık kültür süresi boyunca elde edilen veriler morfolojik ve fizyolojik parametreler esas alınarak değerlendirilmiştir. Bu denemede, temel besin ortamları denemesinde kullanılan morfolojik parametrelere ek olarak yalnızca sürgün sayısı kriteri de değerlendirmeye dahil edilmiştir.

Morfolojik parametreler

Morfolojik parametrelere ilişkin olarak canlılık oranı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, sürgün gelişme durumu, kararma oranı, kallus oranı ve camlaşma oranına ilave olarak sürgün sayısı da değerlendirilmiştir.

Sürgün sayısı (adet): Aksiller sürgün üzerindeki boğum sayısının, kültüre alınmadan önceki boğum sayısına oranlanması ile hesaplanmıştır.

Fizyolojik parametreler

Fizyolojik parametrelere ilişkin olarak yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve nisbi klorofil içeriği (SPAD) değerlendirilmiştir.

3.2.5. Farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarının köklenme üzerine etkileri

Köklendirme aşamasında deneme kurulmadan önce boğum segmentlerinden gelişen 1-2 cm uzunluğundaki sürgünler laminar hava akışlı kabin içerisinde aseptik koşullarda bistüri yardımıyla kesilerek dikime hazır hale getirilmiştir. Hazırlanan mikro çelikler, besin ortamı içeren plastik kültür kaplarına dikilmiştir. Kültürler, bu ön işlem aşamasında uygun iklim odası koşullarında 10 gün süreyle gelişmeye bırakılmıştır (bkz. Bölüm 3.2.1.3: Kültür Şartları). Bu işlemin ardından aynı mikro çelikler farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarını içeren besin ortamlarına transfer edilerek, karanlık koşullarda iklim odasında 5 gün süreyle inkübasyona alınmıştır (bkz. Bölüm 3.2.1.3: Kültür Şartları). Son olarak aynı mikro çelikler oksin içermeyen ancak aynı temel bileşime sahip besin ortamına aktarılmış ve 16 saat aydınlık fotoperiyot koşullarının uygulandığı iklim odasında toplam 6 hafta boyunca gelişmeye bırakılmıştır (bkz. Bölüm 3.2.1.3: Kültür Şartları).

Bu denemede, mikro çelikler oksin içermeyen köklendirme ortamına aktarıldıktan 6 hafta sonra köklendirme parametreleri açısından aşağıdaki kriterler incelenmiştir.

Köklenme aşamasında incelenen parametreler

Köklenme oranı (%): Köklendirme ortamına transfer edilmiş mikro çeliklerden köklenenlerin, dikilen mikro çelik sayısına oranlanması ile yüzde olarak hesaplanmıştır.

Kök sayısı (adet): Köklenen her bir mikro çelikte oluşan kök sayısı, toplam köklenmiş mikro çelik sayısına oranlanması ile hesaplanmıştır.

Kök uzunluğu (mm): Köklenen mikro çeliklerde oluşan her bir kökün uzunluğu cetvel yardımıyla ölçülerek, toplam kök sayısına oranlanması ile hesaplanmıştır.

Kök gelişme durumu (1-4): Köklenmiş mikro çeliklerin kök gelişme durumlarına göre verilen puanların toplamı, köklenen toplam mikro çelik sayısına oranlanarak değerlendirme yapılmıştır. Köklenmiş mikro çelikler görsel olarak 1-4 arasında değişen skalaya göre değerlendirilmiştir (1=zayıf, 2=orta, 3=iyi, 4=çok iyi).

Kallus gelişme durumu (0-3): Mikro çeliklerin kallus gelişme durumlarına göre verilen puanların toplamı, toplam mikro çelik sayısına oranlanarak değerlendirme yapılmıştır. Mikro çeliklerin dip kısmında oluşan kalluslar görsel olarak 0-3 puan skalasına göre değerlendirilmiştir (0= yok, 1=az, 2= orta, 3=yüksek).

3.2.6. Bitkiciklerin dış koşullara alışma (aklimatizasyon) sürecindeki performansları

Aklimatizasyon aşamasında, *in vitro* koşullarda köklendirilmiş ve sürgün gelişimi bakımından sağlıklı olarak değerlendirilen ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait bitkicikler kullanılmıştır. Köklendirilmiş bitkicikler, besin ortamı içeren plastik kültür kaplarından dikkatlice çıkarılmış ve kök bölgelerinde birikmiş besin ortamı kalıntılarını uzaklaştırmak amacıyla musluk suyu altında nazikçe yıkanmıştır. Daha sonra bitkicikler, 1 g/L PHYSAN-20 (benzil amonyum klorür karışımı) içeren ve %0.6 (v/v) oranında hazırlanmış sistemik fungusit solüsyonuna 1 dk süreyle daldırılmıştır. Daldırma işleminden sonra köklere zarar verilmemesine dikkat edilerek, üçte biri ortam içerisinde kalacak şekilde 40 mm çapındaki Jiffy-7 şişen tabletlere dikim işlemi gerçekleştirilmiştir. Jiffy-7 tabletler kullanılmadan önce düz bir kap içerisinde çeşme suyu ile tamamen şişmeleri sağlanmıştır. Dikim işleminin ardından bitkicikler, ilk 3 hafta boyunca bitki büyüme kabininde, sonraki 3 hafta ise iklim odası koşullarında olmak üzere toplam 6 hafta boyunca inkübe edilmiştir (bkz. Bölüm 3.2.1.3: Kültür Şartları). Bu süre zarfında, bitkiciklere ek besin desteği sağlamak amacıyla, her hafta düzenli olarak herhangi bir karbon kaynağı veya büyüme düzenleyici içermeyen ¼ kuvvetindeki MS çözeltisi ile düzenli olarak sulama yapılmıştır.

Çalışmada *in vitro* bitkiciklerin dış koşullara alışma oranları, bitkiciklerin Jiffy-7 tabletlere dikildiği tarihten 2 ve 6 hafta sonra belirlenmiştir. İncelenen kritere aşağıda yer verilmiştir.

In vitro bitkiciklerin dış koşullara alışma oranı (%): Jiffy-7 tabletlere dikilen bitkiciklerden gelişmeye devam edenlerin sayısının, toplam dikilen bitkicik sayısına oranlanması ile yüzde olarak hesaplanmıştır.

3.2.7. Deneme planı ve verilerin analizi

Bu tez kapsamında denemeler kurulmadan önce, ilk dikim aşamasında ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarının her biri için her bir besin ortamında 80’er adet

sürgün ucu ve 80'er adet boğum segmenti olmak üzere toplam 160 adet eksplant kültüre alınmıştır.

Denemelerin tamamı “Tesadüf Parsellerinde Faktöriyel Düzen Deneme Deseni”ne göre kurulmuştur. Her bir klonal anaç için ayrı ayrı yürütülen temel besin ortamları denemesinde, dört farklı temel besin ortamı (WPM, MS, B5 ve DKW) kullanılmış, her ortam için 8 tekerrür ve her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde toplam 160 adet eksplant değerlendirmeye alınmıştır. Farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının sürgün gelişimi ve çoğaltımı üzerine etkilerinin değerlendirildiği denemede, 2 farklı sitokinin tipi (BAP ve mT), 2 farklı konsantrasyon (1 ve 2 mg/L), 8 tekerrür ve her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde toplam 160 adet eksplant kullanılmıştır. Köklendirme denemesinde ise 2 farklı oksin tipi (IBA ve NAA), 4 farklı konsantrasyon (0.5, 1, 2 ve 3 mg/L) ve bir kontrol uygulaması ile birlikte 6 tekerrür ve her tekerrürde 5 eksplant olacak şekilde tasarlanmış olup, toplamda 270 adet mikro çelik değerlendirmeye alınmıştır.

Tüm denemelerde, her bir kültür kabı bir tekerrür olarak değerlendirilmiştir. Bu aşamalardan elde edilen veriler, tekerrürlerin ortalamaları dikkate alınarak varyans analizi (ANOVA) yöntemi ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. İstatistiksel analizler, XLSTAT yazılımı kullanılarak F-testi ile gerçekleştirilmiş olup, değerlendirmelerde %5 anlamlılık düzeyi ($p < 0.05$) esas alınmıştır. Denemeler sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edilmesi durumunda, gruplar arasındaki farklar %5 hata sınırına göre Duncan çoklu karşılaştırma testi ile karşılaştırılmıştır. Farklı gruplar arasındaki istatistiksel ayrımlar, karşılık gelen veriler üzerinde harflerle gösterilmiştir.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ avokado klonal anaçlarının mikro çoğaltım olanakları araştırılmıştır. Çalışmanın başlangıç aşamasında, her bir klonal anaç için eksplantların gelişimi açısından en uygun temel besin ortamının belirlenmesi amacıyla, BBD içermeyen WPM, MS, B5 ve DKW besin ortamları denenmiştir. Sürgün çoğaltma aşamasında, temel besin ortamları denemesinden elde edilen bulgular doğrultusunda her iki klonal anaç için en başarılı bulunan temel besin ortamı esas alınarak, bu ortama farklı sitokin tipleri (BAP ve mT) ile bunların 1 ve 2 mg/L konsantrasyonları ilave edilerek sürgün gelişimi ve çoğaltımı üzerine araştırmalar yürütülmüştür. Başlangıç ve sürgün çoğaltma aşamalarında yürütülen denemelerde elde edilen morfolojik ve fizyolojik parametrelere ilişkin bulgular, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçları için ayrı ayrı analiz edilmiştir. Morfolojik parametrelere ait veriler I., II. ve III. alt kültür aşamalarında ayrı ayrı değerlendirilmiş; fizyolojik parametrelere ilişkin ölçümler ise yalnızca III. alt kültür aşamasında gerçekleştirilmiştir. Köklendirme aşamasında, her iki klonal anaçtan elde edilen mikro çeliklerin *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri (IBA ve NAA) ve bunların 0, 0.5, 1, 2 ve 3 mg/L konsantrasyonlarının etkilerinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, incelenen köklendirme parametrelerine ait bulgular, her iki klonal anaç için ayrı ayrı analiz edilerek değerlendirilmiştir. Çalışmanın son aşamasını oluşturan dış koşullara alıştırma sürecinde, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarından elde edilen köklenmiş mikro çeliklerin *ex vitro* koşullarda gösterdikleri hayatta kalma oranları değerlendirilmiştir.

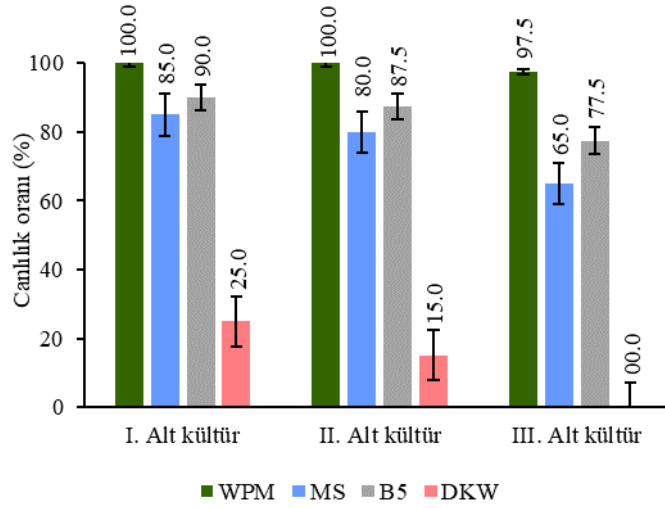
4.1. Temel Besin Ortamlarının Eksplantların Büyüme ve Gelişmesi Üzerine Etkileri

4.1.1. Morfolojik parametrelere ilişkin bulgular

İncelenen morfolojik parametrelere ilişkin bulguları değerlendirmek amacıyla canlılık oranı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, sürgün gelişme durumu, kararma oranı, kallus oranı ve camlaşma oranı I., II. ve III. alt kültür aşamalarında analiz edilmiştir.

Canlılık oranı (%)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW), üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranındaki değişimler Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler

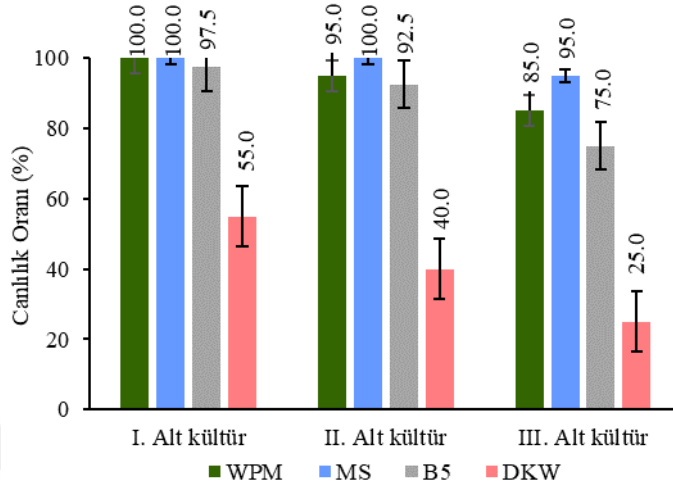
‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Bu çizelgede görüldüğü gibi canlılık oranı üzerine alt kültür sayısı x temel besin ortamı interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Buna karşın eksplantların canlılık oranı üzerine alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının etkileri ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.1). Alt kültür sayıları göz önüne alındığında, canlılık oranı %60 ile %75 arasında değişim göstermiş ve en düşük değer III. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir. Temel besin ortamlarının canlılık oranı üzerine etkileri incelendiğinde ise tüm besin ortamlarının istatistiksel olarak farklı gruplar içerisinde yer aldığı Çizelge 4.1’de görülmektedir. Eksplantlarda saptanan en yüksek canlılık oranı %99.17 ile WPM besin ortamında ve en düşük ise %13.33 ile DKW besin ortamında saptanmıştır.

Çizelge 4.1. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
I. Alt Kültür	100.00	85.00	90.00	25.00	75.00 a
II. Alt Kültür	100.00	80.00	87.50	15.00	70.62 a
III. Alt Kültür	97.50	65.00	77.50	0.00	60.00 b
Temel Besin Ortamı Ort.	99.17 a	76.67 c	85.00 b	13.33 d	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 6.994; Temel besin ortamları: 8.076				

Ö.D.: Önemli Değil

‘Toro Canyon’ klonal anacında, dört farklı temel besin ortamında alt kültür aşamalarına bağlı olarak eksplantlarda saptanan canlılık oranındaki değişimler Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, eksplantların canlılık oranı üzerine alt kültür sayısı x temel besin ortamı interaksiyonunun etkisi ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi istatistiksel olarak önemsiz, alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının etkileri ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.2). Alt kültür sayılarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri incelendiğinde, istatistiksel olarak iki bağımsız grubun olduğu ve canlılık oranının %70.00 ile %88.12 arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.2’de açıkça görülmektedir. Temel besin ortamlarının canlılık oranı üzerine etkileri göz önüne alındığında ise en yüksek değer %98.33 ile MS besin ortamında saptanmış ve bunu %93.33 ile WPM besin ortamı izlemiştir. Eksplantlarda en düşük canlılık oranı ise ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi %40.00 ile DKW besin ortamında saptanmıştır (Çizelge 4.2).

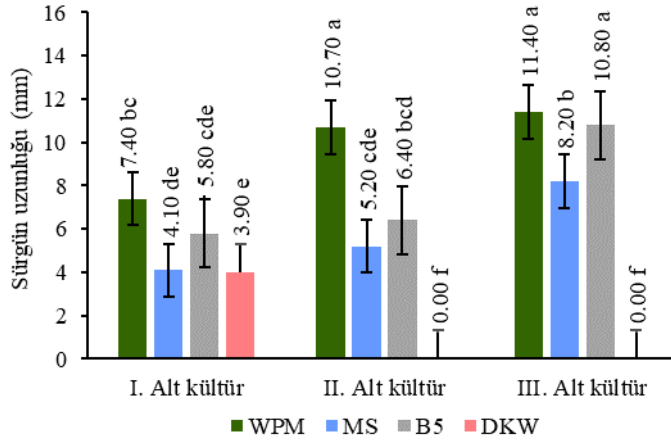
Çizelge 4.2. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	100.00	100.00	97.50	55.00	88.12 a
2. Alt Kültür	95.00	100.00	92.50	40.00	81.87 a
3. Alt Kültür	85.00	95.00	75.00	25.00	70.00 b
Temel Besin Ortamı Ort.	93.33 ab	98.33 a	88.33 b	40.00 c	
LSD _{5%}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 6.380; Temel besin ortamları: 7.367				

Ö.D.: Önemli Değil

Sürgün uzunluğu (mm)

‘Duke 7’ klonal anacına ait eksplantlarda, farklı temel besin ortamlarına (WPM, MS, B5 ve DKW) bağlı olarak üç alt kültür aşaması boyunca gözlenen sürgün uzunluğundaki değişimler Şekil 4.3’te gösterilmiştir.



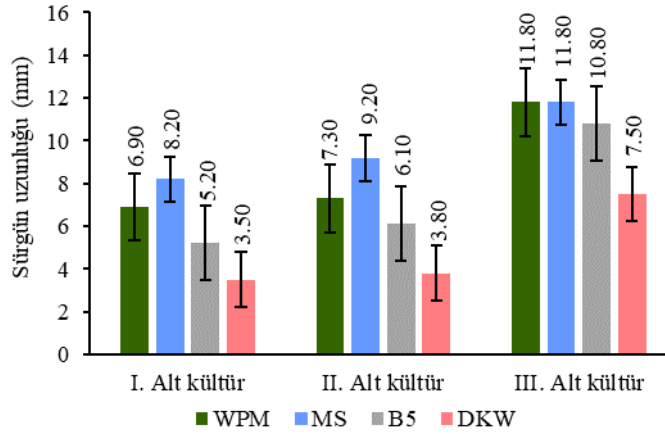
Şekil 4.3. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerindeki etkilerine ilişkin bulgular Çizelge 4.3’te sunulmuştur. Bu çizelgedeki verilere göre alt kültür sayısı x temel besin ortamı interaksyonu, alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). İnteraksiyon ortalamaları dikkate alındığında, en yüksek sürgün uzunluğu 11.40 mm ile III. alt kültür x WPM ortamı kombinasyonunda saptanmış ve bunu sırasıyla 10.80 mm ile III. alt kültür x B5 ortamı ve 10.70 mm ile II. alt kültür x WPM ortamı kombinasyonları takip etmiştir. En düşük sürgün uzunluğu değeri (3.90 mm) ise I. alt kültür x DKW ortamı kombinasyonunda saptanmıştır. DKW besin ortamının II. ve III. alt kültür aşamaları ile kombinasyonunda sürgün oluşumu gözlenmediğinden bu aşamalara ait sürgün uzunluğu değerleri kaydedilmemiştir. Alt kültür sayılarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri incelendiğinde, istatistiksel olarak iki bağımsız grubun olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Sürgün uzunluğu değerleri 5.30 mm ile 7.60 mm arasında değişim göstermiş olup en yüksek sürgün uzunluğu III. alt kültür aşamasında 7.60 mm olarak kaydedilmiştir. Temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak dört bağımsız grubun olduğu ve en yüksek sürgün uzunluğunun 9.80 mm ile WPM besin ortamında saptandığı görülmüştür (Çizelge 4.3). En düşük sürgün uzunluğu değeri (1.30 mm) ise eksplantların canlılık oranında olduğu gibi, DKW besin ortamında kaydedilmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
I. Alt Kültür	7.40 BC	4.10 DE	5.80 CDE	3.90 E	5.30 b
II. Alt Kültür	10.70 A	5.20 CDE	6.40 BCD	0.00 F	5.60 b
III. Alt Kültür	11.40 A	8.20 B	10.80 A	0.00 F	7.60 a
Temel Besin Ortamı Ort.	9.80 a	5.80 c	7.70 b	1.30 d	
LSD_{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: 0.24; Alt kültür sayıları: 0.120; Temel besin ortamları: 0.139				

‘Toro Canyon’ klonal anacında, temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkilerinin alt kültür aşamalarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği Şekil 4.4’te görülmektedir.



Şekil 4.4. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayısı x temel besin ortamı interaksyonunun sürgün uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Ancak alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.4). Alt kültür sayılarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri incelendiğinde, bu değer 5.90 mm ile 10.50 mm arasında değiştiği Çizelge 4.4’te görülmektedir. ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi en yüksek sürgün uzunluğunun 10.50 mm ile III. alt kültür aşamasında, en düşük ise 5.90 mm ile I. alt kültür aşamasında belirlenmiştir. Temel besin ortamları göz önüne alındığında ise ‘Duke 7’ klonal anacından farklı olarak, en yüksek sürgün uzunluğu 9.70 mm ile MS besin ortamında saptanmıştır. En düşük sürgün uzunluğu 4.90 mm ile DKW besin ortamında kaydedilmiştir.

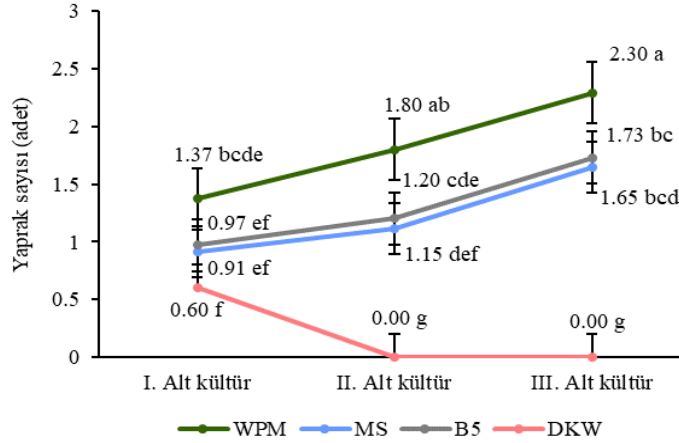
Çizelge 4.4 ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
I. Alt Kültür	6.90	8.20	5.20	3.50	5.90 b
II. Alt Kültür	7.30	9.20	6.10	3.80	6.60 b
III. Alt Kültür	11.80	11.80	10.80	7.50	10.50 a
Temel Besin Ortamı Ort.	8.70 a	9.70 a	7.40 ab	4.90 b	
LSD_{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 0.275; Temel besin ortamları: 0.318				

Ö.D.: Önemli Değil

Yaprak sayısı (adet)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı temel besin ortamlarında alt kültür aşamasına bağlı olarak eksplantlarda saptanan yaprak sayısında meydana gelen değişimler Şekil 4.5’de gösterilmiştir.



Şekil 4.5. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan yaprak sayısındaki değişimler

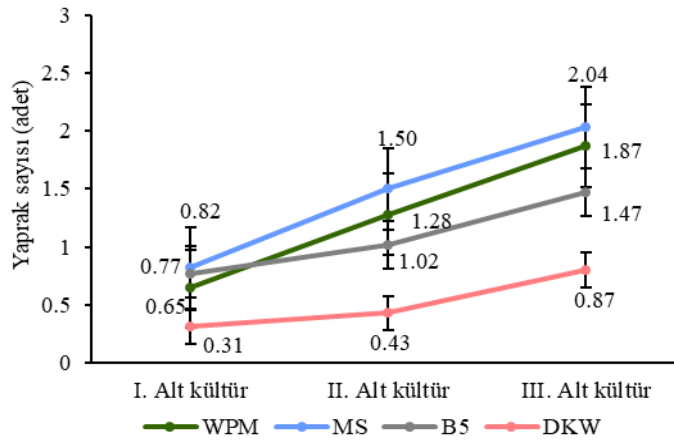
‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının yaprak sayısı üzerine etkisi Çizelge 4.5’te verilmiştir. Yaprak sayısı üzerine alt kültür sayıları, temel besin ortamları ve bu iki faktör arasındaki interaksyonun etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Şekil 4.5). İnteraksiyon ortalamaları dikkate alındığında, II. ve III. alt kültürün DKW ortamı ile kombinasyonlarında sürgün gelişimi gözlenmediğinden, yaprak oluşumu da gerçekleşmemiştir. En düşük yaprak sayısı (0.60 adet) I. alt kültür x DKW ortamı kombinasyonunda kaydedilmiş, en yüksek yaprak sayısı (2.30 adet) ise III. alt kültür x WPM ortamı kombinasyonunda belirlenmiştir. Alt kültür sayılarına göre saptanan yaprak sayısı, yüksekten düşüğe doğru sırasıyla III., II. ve I. alt kültürde kaydedilmiş olup, bu değerler 1.42 ile 0.96 adet arasında değişim göstermiştir.

Temel besin ortamlarının yaprak sayısı üzerine etkileri incelendiğinde ise istatistiksel olarak üç farklı grup olduğu Çizelge 4.5’te görülmektedir. En yüksek yaprak sayısı 1.82 adet ile WPM besin ortamında, en düşük (0.20 adet) ise sürgün uzunluğunda olduğu gibi, DKW besin ortamında saptanmıştır.

Çizelge 4.5. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	1.37 BCDE	0.91 EF	0.97 EF	0.60 F	0.96 b
2. Alt Kültür	1.80 AB	1.15 DEF	1.20 CDE	0.00 G	1.04 b
3. Alt Kültür	2.30 A	1.65 BCD	1.73 BC	0.00 G	1.42 a
Temel Besin Ortamı Ort.	1.82 a	1.24 b	1.30 b	0.20 c	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: 0.563; Alt kültür sayıları: 0.281; Temel besin ortamları: 0.325				

‘Toro Canyon’ klonal anacında, farklı temel besin ortamlarında üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan yaprak sayısındaki değişimler Şekil 4.6’da gösterilmiştir.



Şekil 4.6. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan yaprak sayısındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayısı × temel besin ortamı interaksiyonunun yaprak sayısı üzerine etkisi önemsiz, buna karşın alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının etkileri ise önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.6). Alt kültür sayılarının yaprak sayısı üzerine etkileri incelendiğinde, istatistiksel olarak üç bağımsız grup oluşmuş ve yaprak sayıları 1.57 ile 0.64 adet arasında değişim göstermiştir. Temel besin ortamları göz önüne alınarak değerlendirildiğinde ise ‘Duke 7’ klonal anacından farklı olarak, en yüksek yaprak sayısı 1.45 adet ile MS besin ortamında

kaydedilmiş ve bunu 1.27 adet ile WPM besin ortamı takip etmiştir. En düşük yaprak sayısı (0.54 adet) ise sürgün uzunluğu parametresinde olduğu gibi DKW besin ortamında kaydedilmiştir.

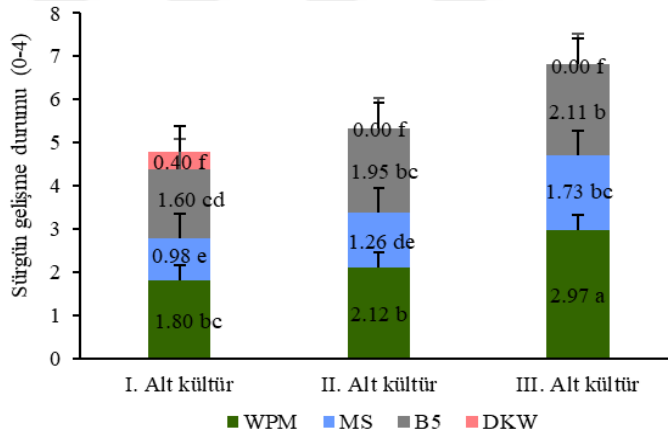
Çizelge 4.6. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.65	0.82	0.77	0.31	0.64 c
2. Alt Kültür	1.28	1.50	1.02	0.43	1.06 b
3. Alt Kültür	1.87	2.04	1.47	0.87	1.57 a
Temel Besin Ortamı Ort.	1.27 ab	1.45 a	1.09 b	0.54 c	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 0.255; Temel besin ortamları: 0.294				

Ö.D.: Önemli Değil

Sürgün gelişme durumu (0-4)

Bu parametrede, sürgünlerin gelişme durumuna göre 0-4 arasında puanlama yapılmıştır (0=gelişim yok, 1=zayıf, 2=orta, 3=iyi ve 4=kuvvetli). ‘Duke 7’ klonal anacında, temel besin ortamlarına göre her alt kültür aşamasında sürgün gelişme durumlarındaki değişimler Şekil 4.7’de gösterilmiştir.



Şekil 4.7. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayısı x temel besin ortamı interaksyonunun sürgün gelişme durumu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.7). İnteraksiyon ortalamaları dikkate alındığında, en yüksek sürgün gelişimi 2.97 puan ile III. alt kültürün WPM ortamı ile kombinasyonundan, en düşük değer (0.40 puan) ise I. alt kültürün DKW ortamı ile kombinasyonunda saptanmıştır. Ayrıca II. ve III. alt kültürün DKW ortamı ile kombinasyonunda ise sürgün gelişimi saptanmamıştır.

(Çizelge 4.7). İnteraksiyonda olduğu gibi alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının da sürgün gelişme durumu üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.7). Alt kültür sayıları göz önüne alındığında, en yüksek sürgün gelişme durumu 1.70 puan ile III. alt kültür aşamasında saptanmış ve sürgün gelişme durumu açısından istatistiksel olarak üç bağımsız grup oluşmuştur. Temel besin ortamlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri incelendiğinde ise istatistiksel olarak dört farklı grup olduğu Çizelge 4.7’de görülmektedir. En yüksek sürgün gelişimi yaprak sayısında olduğu gibi, 2.30 puan ile WPM besin ortamında saptanmış ve bunu 1.89 ile B5 besin ortamı takip etmiştir.

Çizelge 4.7. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	1.80 BC	0.98 E	1.60 CD	0.40 F	1.19 c
2. Alt Kültür	2.12 B	1.26 DE	1.95 BC	0.00 F	1.33 b
3. Alt Kültür	2.97 A	1.73 BC	2.11 B	0.00 F	1.70 a
Temel Besin Ortamı Ort.	2.30 a	1.32 c	1.89 b	0.13 d	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: 0.426; Alt kültür sayıları: 0.213; Temel besin ortamları: 0.246				

‘Duke 7’ klonal anacına ait sürgünlerin, üç alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gösterdiği gelişim durumlarına ait görünüm Şekil 4.8’de gösterilmiştir.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)

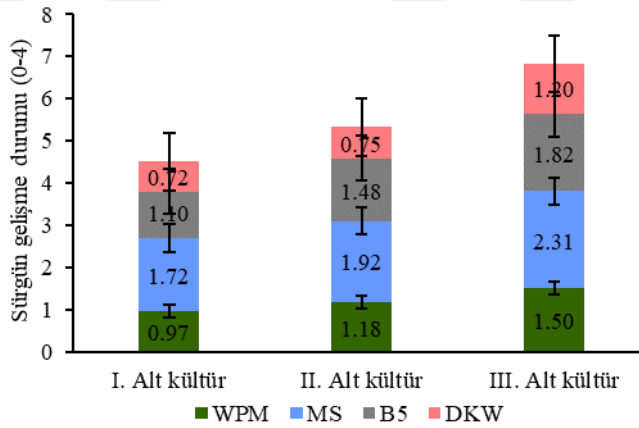


(h)



Şekil 4.8. ‘Duke 7’ klonal anacında, üç alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gözlemlenen sürgün gelişme durumlarının genel görünümü: I. alt kültür a) WPM; b) MS; c) B5; d) DKW; II. alt kültür e) WPM; f) MS; g) B5; h) DKW; III. alt kültür ı) WPM; i) MS; j) B5; k) DKW

‘Toro Canyon’ klonal anacında, sürgün gelişme durumuna ilişkin olarak her alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında saptanan değişimler Şekil 4.9’da sunulmuştur.



Şekil 4.9. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, sürgün gelişme durumu üzerine alt kültür sayısı ile temel besin ortamı arasındaki interaksyonun, alt kültür sayılarının ve temel besin ortamlarının etkileri Çizelge 4.8’de verilmiştir. Bu çizelgede de görüldüğü üzere, sürgün gelişimi üzerine alt kültür sayısı $\times$ temel besin ortamı interaksyonunun etkisi istatistiksel olarak önemsiz, buna karşın alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının etkileri ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.8). Alt kültür sayılarının, sürgün gelişme durumu üzerine etkileri incelendiğinde, en düşük değerler 1.13 puan ile I. alt kültürde ve 1.33 puan ile II. alt kültürde kaydedilmiş ve bu iki alt kültür istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. Sürgün gelişme durumu, alt kültür sayısındaki artıştan olumlu yönde etkilenmiş ve en yüksek değer 1.71 puan ile III. alt kültürde kaydedilmiştir. Sürgün gelişme durumu açısından temel besin ortamları birbiriyle karşılaştırıldığında, MS besin ortamında 1.98 puan ile en yüksek değer kaydedilmiş ve bunu sırasıyla B5, WPM ve DKW ortamları izlemiştir (Çizelge 4.8). ‘Toro Canyon’ klonal anacında ait sürgünlerin, üç alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gösterdiği gelişim durumlarına ait görünüm Şekil 4.10’da sunulmuştur.

Çizelge 4.8. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.97	1.72	1.10	0.72	1.13 b
2. Alt Kültür	1.18	1.92	1.48	0.75	1.33 b
3. Alt Kültür	1.50	2.31	1.82	1.20	1.71 a
Temel Besin Ortamı Ort.	1.22 bc	1.98 a	1.47 b	0.89 c	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 0.377; Temel besin ortamları: 0.436				

Ö.D.: Önemli Değil



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)



(i)



(j)



(j)

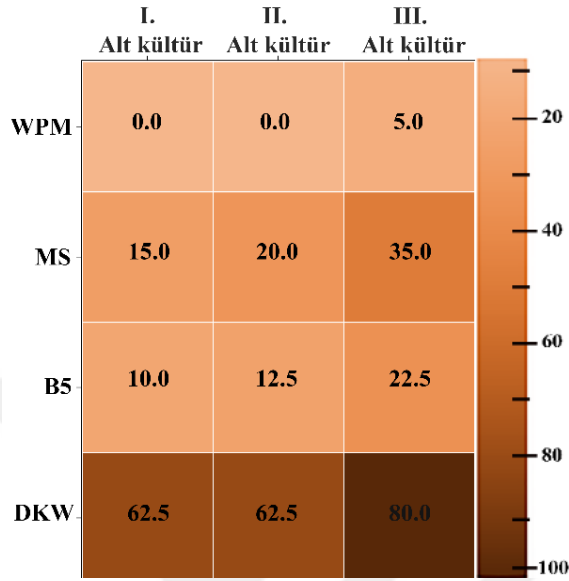


(k)

Şekil 4.10. ‘Toro Canyon’ klonal anacında üç alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gözlemlenen sürgün gelişme durumlarının genel görünüşleri: I. alt kültür a) WPM; b) MS; c) B5; d) DKW; II. alt kültür e) WPM; f) MS; g) B5; h) DKW; III. alt kültür ı) WPM; i) MS; j) B5; k) DKW

Kararma oranı (%)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı temel besin ortamlarında üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kararma oranlarındaki değişimler Şekil 4.11’de gösterilmiştir.



Şekil 4.11. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kararma oranlarındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında incelenen olumsuz morfolojik parametrelerden biri olan kararma oranı üzerine alt kültür sayısı x temel besin ortamı interaksyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (Çizelge 4.9). Alt kültür sayılarının ve temel besin ortamlarının kararma oranı üzerine etkileri ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.9). Alt kültür sayılarının kararma oranı üzerine etkileri incelendiğinde, kararma oranının III. alt kültürde (%35.62) diğer alt kültürlerle kıyasla daha yüksek gerçekleştiği Çizelge 4.9’dan izlenebilir. Alt kültür sayısındaki artışla birlikte, kararma oranında istatistiksel olarak bir artış gözlenmiştir. Kararma oranı üzerine temel besin ortamlarının etkileri değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak üç farklı bağımsız grubun olduğu Çizelge 4.9’da görülmektedir. ‘Duke 7’ klonal anacında, eksplant gelişimini destekleyen parametreler açısından en düşük performansın gözlemlendiği DKW besin ortamında, %68.33 ile en yüksek kararma oranı tespit edilmiştir (Şekil 4.12). Eksplant gelişimi açısından en yüksek performansın elde edildiği WPM besin ortamında ise kararma oranı en düşük seviyede (%1.67) gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.9. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kararma oranı üzerine etkileri (%)

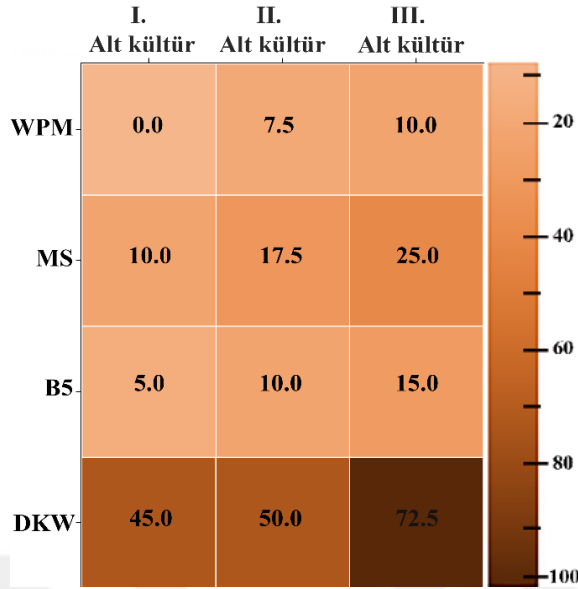
Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.00	15.00	10.00	62.50	21.87 b
2. Alt Kültür	0.00	20.00	12.50	62.50	23.75 b
3. Alt Kültür	5.00	35.00	22.50	80.00	35.62 a
Temel Besin Ortamı Ort.	1.67 c	23.33 b	15.00 b	68.33 a	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 9.334; Temel besin ortamları: 10.778				

Ö.D.: Önemli Değil



Şekil 4.12. ‘Duke 7’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kararma oluşumunun genel görünümü

‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, kararma oranına ilişkin olarak her alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gözlenen değişimler Şekil 4.13’de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kararma oranındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayısı × temel besin ortamı interaksyonunun kararma oranı üzerine etkisi önemsiz bulunmuş, ancak alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının etkileri ise önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.10). Alt kültür sayıları açısından yapılan değerlendirmede, iki farklı istatistiksel grup oluşmuş ve ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi alt kültür sayısındaki artışla birlikte kararma oranında da artış gözlenmiştir. En yüksek kararma oranı, %30.62 ile III. alt kültür aşamasında belirlenmiştir.

Çizelge 4.10. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kararma oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.00	10.00	5.00	45.00	15.00 b
2. Alt Kültür	7.50	17.50	10.00	50.00	21.25 b
3. Alt Kültür	10.00	25.00	15.00	72.50	30.62 a
Temel Besin Ortamı Ort.	5.83 c	17.50 b	10.00 bc	55.83 a	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 7.045; Temel besin ortamları: 8.135				

Ö.D.: Önemli Değil

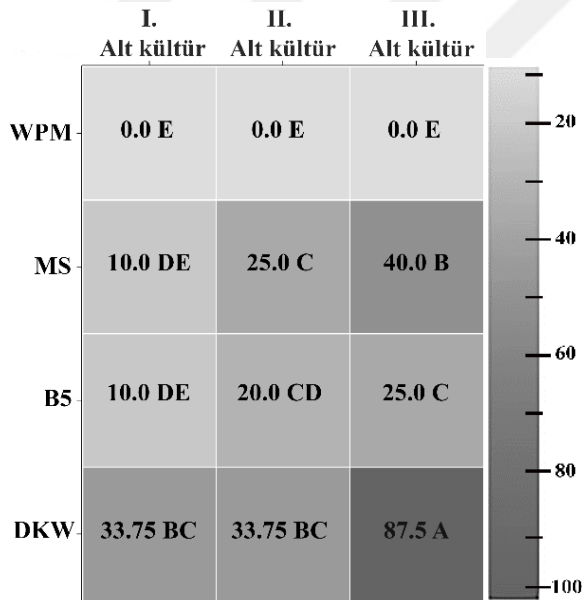
Temel besin ortamlarının kararma oranı üzerine etkileri incelendiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi DKW ortamının, istatistiksel olarak diğer ortamlardan daha yüksek kararma oranına (%55.83) sahip olduğu saptanmıştır (Şekil 4.14). Buna karşın en düşük kararma oranı %5.83 ile WPM ortamında kaydedilmiş olup, bu ortamın eksplantlarda kararma oluşumunu en az düzeyde tetiklediği saptanmıştır (Çizelge 4.10).



Şekil 4.14. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kararma oluşumunun genel görünümü

Kallus oranı (%)

‘Duke 7’ klona anacında, alt kültür sayıları ile temel besin ortamlarına bağlı olarak eksplantlarda kallus oranında meydana gelen değişimler Şekil 4.15’den izlenebilir.



Şekil 4.15. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kallus oranındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında olumsuz morfolojik parametrelerden bir diğeri kallus oluşumudur. Bu parametreye ilişkin yapılan değerlendirmelerde; alt kültür sayısı × temel besin ortamı interaksiyonu ile birlikte, alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.11). Alt kültür sayısı

× temel besin ortamı interaksiyon ortalamaları incelendiğinde, kallus oranlarının %0.00 ile %87.50 arasında değişim gösterdiği Çizelge 4.11’den izlenebilir. WPM ortamında tüm alt kültür aşamalarında kallus oluşumunun gerçekleşmediği gözlenmiştir. Buna karşın III. alt kültür x DKW ortam kombinasyonunda %87.50 ile en yüksek kallus oluşumu kaydedilmiştir (Şekil 4.16). Alt kültür sayılarının etkileri incelendiğinde, en yüksek kallus oranı %38.12 ile III. alt kültür aşamasında gerçekleşmiş ve alt kültür sayısındaki artışın eksplantlarda kallus oluşumunu istatistiksel olarak etkilediği tespit edilmiştir. Kallus oranı, temel besin ortamlarına göre değerlendirildiğinde ise kararma oranında olduğu gibi en yüksek kallus oranı %51.67 ile DKW besin ortamında saptanmıştır. Diğer besin ortamlarından MS (%25.00) ve B5 (%18.33) ortamlarında ise kallus oranları birbirine yakın bulunmuş ve aynı istatistiksel grupta yer almıştır (Çizelge 4.11).

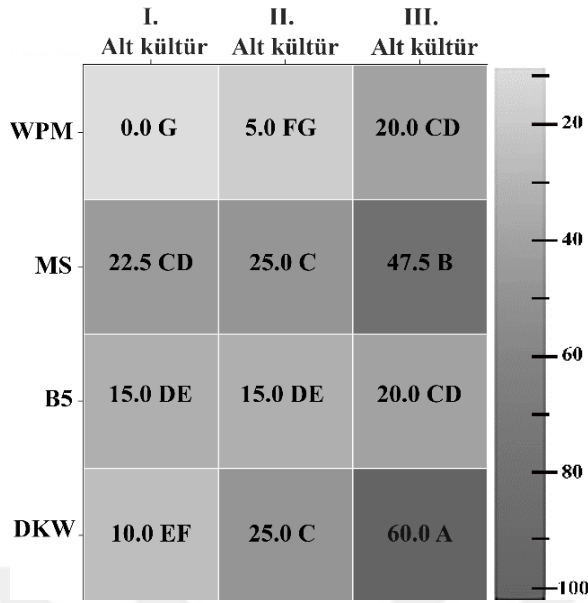
Çizelge 4.11. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kallus oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.00 E	10.00 DE	10.00 DE	33.75 BC	13.44 b
2. Alt Kültür	0.00 E	25.00 C	20.00 CD	33.75 BC	19.68 b
3. Alt Kültür	0.00 E	40.00 B	25.00 C	87.50 A	38.12 a
Temel Besin Ortamı Ort.	0.00 c	25.00 b	18.33 b	51.67 a	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: 14.950; Alt kültür sayıları: 7.475; Temel besin ortamları: 8.632				



Şekil 4.16. ‘Duke 7’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kallus oluşumunun genel görünümü

‘Toro Canyon’ klonal anacında, kallus oranında her alt kültür aşamasında farklı temel besin ortamlarında gözlenen değişimler Şekil 4.17’de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan kallus oranındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında kallus oranı üzerine alt kültür sayısı × temel besin ortamı interaksiyonunun etkisi Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.12. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının kallus oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.00 G	22.50 CD	15.00 DE	10.00 EF	11.87 c
2. Alt Kültür	5.00 FG	25.00 C	15.00 DE	25.00 C	17.50 b
3. Alt Kültür	20.00 CD	47.50 B	20.00 CD	60.00 A	36.87 a
Temel Besin Ortamı Ort.	8.33 c	31.67 a	16.67 b	31.67 a	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: 8.28; Alt kültür sayıları: 4.14; Temel besin ortamları: 84.78				

Bu çizelge görüldüğü üzere ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi alt kültür sayısı × temel besin ortamı interaksiyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). En yüksek kallus oranı, %60.00 ile III. alt kültür aşamasının DKW ortamı ile kombinasyonunda saptanmıştır (Şekil 4.18). Bu değeri, %47.50 ile aynı alt kültür aşamasına ait MS besin ortamı takip etmiştir. Alt kültür sayılarının kallus oluşumu üzerine etkileri değerlendirildiğinde, bu etkinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiş ve istatistiksel olarak üç farklı grup oluşmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 12). En düşük kallus oranı %11.87 ile I. alt kültür aşamasında ve en yüksek ise %36.87 ile III. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir. Bu durum alt kültür sayısının artmasının kallus

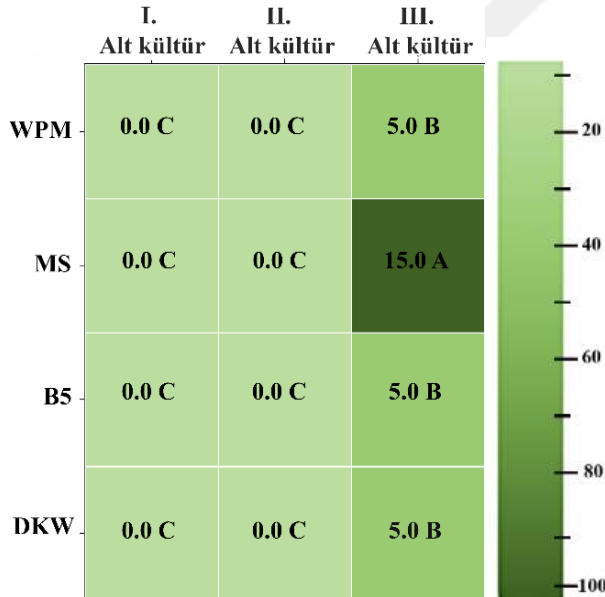
oluşumunu arttırdığına işaret etmektedir. Temel besin ortamlarının da kallus oluşumu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve ortamlar arasında üç ana istatistiksel grup oluşmuştur ($p<0.05$). En yüksek kallus oranı %31.67 ile DKW ve MS ortamlarında belirlenmiştir. Bu ortamları sırasıyla, %16.67 ile B5 ve %8.33 ile WPM ortamları izlemiştir.



Şekil 4.18. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen kallus oluşumunun genel görünümü

Camlaşma oranı (%)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı temel besin ortamlarının üç alt kültür aşaması süresince eksplantlarda saptanan camlaşma oranlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.19’den izlenebilir.



Şekil 4.19. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan camlaşma oranındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında incelenen bir diğer olumsuz morfolojik parametre olan camlaşma oranı üzerine alt kültür sayısı $\times$ temel besin ortamı interaksyonu ile birlikte alt kültür sayılarının ve temel besin ortamlarının etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu

Çizelge 4.13'ten izlenebilir ($p < 0.05$). İnteraksiyon ortalamaları değerlendirildiğinde, I. ve II. alt kültür ile tüm temel besin ortamlarının kombinasyonunda camlaşma gözlenmemiş ve bu kombinasyonlar istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almıştır. Buna karşın III. alt kültür aşamasında istatistiksel olarak iki farklı grup oluşmuştur. En yüksek camlaşma oranı %15.00 ile III. alt kültür x MS besin ortamı kombinasyonunda kaydedilmiştir (Şekil 4.20). En düşük (%5.00) ise III. alt kültürün diğer besin ortamlarıyla olan kombinasyonlarında belirlenmiştir. Alt kültür sayılarının camlaşma oranı üzerine etkileri incelendiğinde, I. ve II. alt kültürde camlaşma gözlenmemiştir. En yüksek camlaşma oranı (%7.50) ise III. alt kültürde kaydedilmiştir (Çizelge 4.13). Temel besin ortamlarının camlaşma oranı üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde ise en yüksek camlaşma oranı %5.00 ile MS ortamında saptanmıştır. Buna karşılık diğer besin ortamlarında camlaşma oranı %1.67 ile en düşük seviyede gerçekleşmiştir.

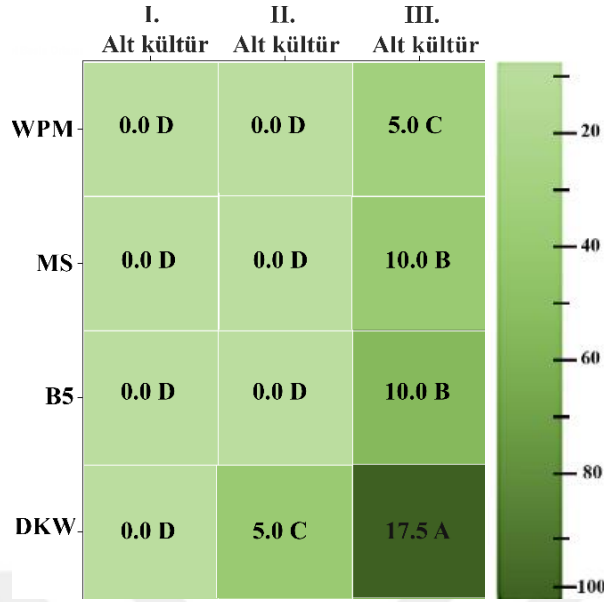
Çizelge 4.13. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.00 C	0.00 C	0.00 C	0.00 C	0.00 b
2. Alt Kültür	0.00 C	0.00 C	0.00 C	0.00 C	0.00 b
3. Alt Kültür	5.00 B	15.00 A	5.00 B	5.00 B	7.50 a
Temel Besin Ortamı Ort.	1.67 b	5.00 a	1.67 b	1.67 b	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: 3.779; Alt kültür sayıları: 1.89; Temel besin ortamları: 2.182				



Şekil 4.20. ‘Duke 7’ klonal anacına ait eksplantlarda, MS besin ortamında gözlemlenen camlaşmanın genel görünümü

‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, alt kültür sayıları ve temel besin ortamları dikkate alınarak saptanan camlaşma oranındaki değişimler Şekil 4.21’den izlenebilir.



Şekil 4.21. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarında (WPM, MS, B5 ve DKW) üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan camlaşma oranındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında da ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi camlaşma oranı üzerine alt kültür sayısı $\times$ temel besin ortamı interaksyonu, alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve temel besin ortamlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Temel Besin Ortamları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	WPM	MS	B5	DKW	
1. Alt Kültür	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0.00 b
2. Alt Kültür	0.00 D	0.00 D	0.00 D	5.00 C	1.25 b
3. Alt Kültür	5.00 C	10.00 B	10.00 B	17.50 A	10.62 a
Temel Besin Ortamı Ort.	1.67 b	3.33 b	3.33 b	7.50 a	
LSD _{5%}	Alt kültür sayısı x Temel besin ortamı: 3.585; Alt kültür sayıları: 1.793; Temel besin ortamları: 2.070				

Çizelgede görüldüğü üzere, interaksyon açısından yapılan değerlendirmede, tüm temel besin ortamlarında üç farklı alt kültürde camlaşma oranları bakımından istatistiksel olarak dört farklı grup olduğu belirlenmiştir. En yüksek camlaşma oranı %17.50 ile III. alt kültür x DKW ortamı kombinasyonunda belirlenmiştir (Şekil 4.22). En düşük camlaşma oranı ise %5.00 ile III. alt kültür x WPM ortamı kombinasyonunda ve II. alt kültür x DKW ortamı kombinasyonunda saptanmıştır. I. alt kültür ile tüm besin ortamlarının kombinasyonunda camlaşma gözlenmemiştir. Alt kültür sayıları dikkate

alındığında, camlaşma oranı alt kültür sayısına bağlı olarak artış göstermiş ve en yüksek oran %10.62 ile III. alt kültürde kaydedilmiştir. Temel besin ortamlarının camlaşma oranı üzerindeki etkileri incelendiğinde, en yüksek camlaşma oranının (%7.50) DKW besin ortamında belirlenmiştir.



Şekil 4.22. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, DKW besin ortamında gözlemlenen camlaşmanın genel görünümü

4.1.2. Fizyolojik parametrelere ilişkin bulgular

Bu bölümde, fizyolojik parametrelere ilişkin bulgular değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve nisbi klorofil içeriği (SPAD) III. alt kültür aşamasında incelenmiştir.

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı temel besin ortamlarının, III. alt kültür aşamasında sürgünlerin yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri Çizelge 4.15’te, ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait bulgular ise Çizelge 4.16’da verilmiştir.

Çizelge 4.15. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarının III. alt kültür aşamasında sürgünlerin yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri

Temel Besin Ortamları	Yaprak alanı (mm ²)	Yaprak yaş ağırlığı (mg)	Yaprak kuru ağırlığı (mg)	SPAD değerleri (0-99)
WPM	120.00 a	22.31 a	5.62 a	43.08 a
MS	85.00 b	19.97 b	4.88 b	33.12 c
B5	98.00 b	21.49 ab	5.25 ab	42.51 b
DKW	0.00 c	0.00 c	0.00 c	0.00 d
LSD _{%5}	0.195	1.914	0.542	0.436

Çizelge 4.16. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı temel besin ortamlarının III. alt kültür aşamasında sürgünlerin yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri

Temel Besin Ortamları	Yaprak alanı (mm ²)	Yaprak yaş ağırlığı (mg)	Yaprak kuru ağırlığı (mg)	SPAD değerleri (0-99)
WPM	180.00 b	32.98 b	6.91 b	37.64 b
MS	252.00 a	47.95 a	11.07 a	39.85 a
B5	157.00 b	29.79 c	6.51 b	29.43 d
DKW	141.00 b	28.35 c	6.44 b	30.88 c
LSD _{%5}	0.426*	2.161*	0.878*	0.706*

Yaprak alanı (mm²)

‘Duke 7’ klonal anacında, yaprak alanı üzerine temel besin ortamlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.15). Temel besin ortamlarının yaprak alanı üzerine etkileri incelendiğinde, en yüksek yaprak alanı 120.00 mm² ile WPM ortamında kaydedilmiş ve bunu sırasıyla B5 (98.00 mm²) ve MS (85.00 mm²) besin ortamları izlemiştir. Buna karşın DKW besin ortamında, eksplantlarda sürgün gelişimi tespit edilmemiştir.

‘Toro Canyon’ klonal anacında, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi yaprak alanı üzerine temel besin ortamlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.16). Yaprak alanı açısından en yüksek değer 252.00 mm² ile MS besin ortamında kaydedilmiştir. Diğer besin ortamları ise yaprak alanı açısından aynı istatistiksel grup içerisinde yer almışlardır. ‘Duke 7’ klonal anacının aksine, DKW besin ortamında sürgün gelişimi meydana gelmiş, fakat diğer temel besin ortamları ile karşılaştırıldığında, 141.00 mm² ile en düşük yaprak alanı değeri bu ortamda kaydedilmiştir.

Yaprak yaş ağırlığı (mg)

‘Duke 7’ klonal anacında, temel besin ortamlarının yaprak yaş ağırlığı üzerine etkileri, yaprak alanında olduğu gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.15). Temel besin ortamlarının yaprak yaş ağırlığı üzerine etkileri, yaprak alanında gözlenen eğilime benzer bir eğilim sergilemiş ve en yüksek yaprak yaş ağırlığı ise 22.31 mg ile WPM besin ortamında kaydedilmiştir. Bunu sırasıyla 21.49 mg ile B5 ve 19.97 mg ile MS besin ortamları izlemiştir. DKW besin ortamında ise eksplantlarda yaprak gelişimi tespit edilmemiştir.

‘Toro Canyon’ klonal anacında da benzer şekilde temel besin ortamlarının yaprak yaş ağırlığı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.16). Temel besin ortamlarının yaprak yaş ağırlığı üzerine etkileri incelendiğinde, istatistiksel olarak üç bağımsız grubun olduğu, en yüksek yaprak yaş ağırlığının (47.95

mg) MS besin ortamında kaydedildiği belirlenmiştir. MS besin ortamını sırasıyla WPM (32.98 mg), B5 (29.79 mg) ve DKW (28.35 mg) ortamları takip etmiştir.

Yaprak kuru ağırlığı (mg)

‘Duke 7’ klonal anacında, yaprak kuru ağırlığı üzerine temel besin ortamlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.15). Temel besin ortamlarının yaprak kuru ağırlığı üzerine etkileri göz önüne alındığında, yaprak yaş ağırlığında olduğu gibi istatistiksel olarak üç bağımsız grup ile bir ara grubun olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Çizelge 4.15). Yaprak kuru ağırlığı açısından en yüksek değer 5.62 mg ile WPM besin ortamında kaydedilmiştir. Bunu sırasıyla yaprak yaş ağırlığında belirlenen sıralamaya benzer şekilde, B5 ve MS ortamları izlemiştir. DKW besin ortamında ise sürgün gelişimi saptanmadığından, yaprak kuru ağırlığına ilişkin veri elde edilememiştir.

‘Toro Canyon’ klonal anacında, temel besin ortamlarının yaprak kuru ağırlığı üzerine etkileri ‘Duke 7’ anacında olduğu gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.16). Yapılan değerlendirmeler sonucunda, en yüksek yaprak kuru ağırlığı değeri 11.07 mg ile MS besin ortamında kaydedilmiş ve en düşük ise 6.44 mg ile DKW besin ortamında belirlenmiştir.

Nisbi klorofil içeriği (SPAD) (0-99)

‘Duke 7’ klonal anacında, temel besin ortamlarının SPAD değeri üzerine etkileri diğer yaprak parametrelerinde olduğu gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.15). En yüksek SPAD değeri 43.08 ile WPM besin ortamında, en düşük değer ise 33.12 ile MS besin ortamında saptanmıştır. DKW ortamında ise yaprak gelişimi gözlenmemiştir.

‘Toro Canyon’ klonal anacında, SPAD değeri üzerine temel besin ortamlarının etkisi Çizelge 4.16’da verilmiştir. Bu çizelgeden, temel besin ortamlarının SPAD değeri üzerine etkilerinin, incelenen diğer parametrelerde olduğu gibi istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ($p<0.05$). Temel besin ortamlarının SPAD değeri üzerine etkisi göz önüne alındığında, istatistiksel olarak dört farklı bağımsız grup saptanmıştır. Bu istatistiksel farklılıklar doğrultusunda, MS besin ortamında 39.85 ile diğer besin ortamlarına kıyasla SPAD değeri daha yüksek kaydedilmiştir. En düşük SPAD değeri ise 29.43 ile B5 besin ortamında kaydedilmiştir.

Tüm morfolojik ve fizyolojik parametreler dikkate alındığında, temel besin ortamlarının optimizasyonuna yönelik yürütülen deneme sonucunda, her bir klonal anac için en uygun besin ortamı belirlenmiştir. Buna göre ‘Duke 7’ klonal anacı için en yüksek başarı WPM ortamında elde edilirken, ‘Toro Canyon’ klonal anacı açısından en uygun besin ortamı MS formülasyonu olarak saptanmıştır.

4.2. Farklı Sitokinin Tipleri ve Konsantrasyonlarının Sürgün Çoğaltımı ve Gelişimi Üzerine Etkileri

Bu aşamada, temel besin ortamı olarak ‘Duke 7’ klonal anacı için WPM, ‘Toro Canyon’ anacı için ise MS besin ortamı kullanılmış; bu ortamlara farklı sitokinin tipleri

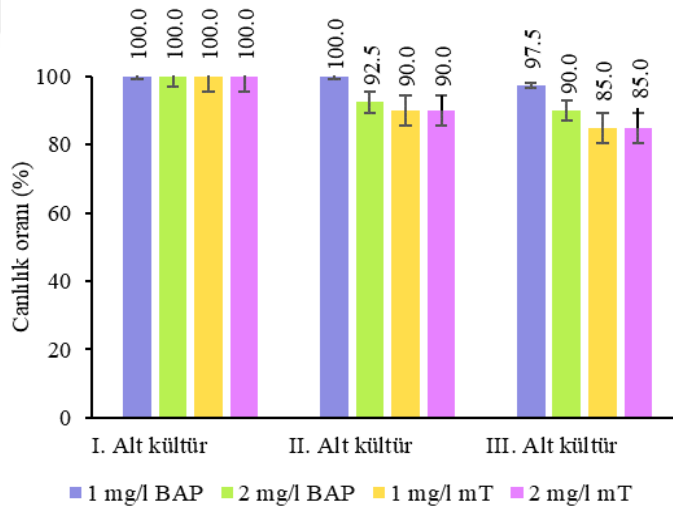
ve konsantrasyonları ilave edilerek sürgün gelişimi ve çoğaltımı üzerine etkileri değerlendirilmiştir.

4.2.1. Morfolojik parametrelere ilişkin bulgular

Bu bölümde, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının üç farklı alt kültür aşamasında (I., II. ve III.) eksplantların canlılık oranı, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, sürgün gelişme durumu, kararma oranı, kallus oranı ve camlaşma oranı üzerine etkileri incelenmiştir.

Canlılık oranı (%)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri (BAP ve mT) ve konsantrasyonlarının (1 ve 2 mg/L) üç farklı alt kültür aşamasında, eksplantlarda saptanan canlılık oranındaki değişimler Şekil 4.23’te gösterilmiştir.



Şekil 4.23. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler

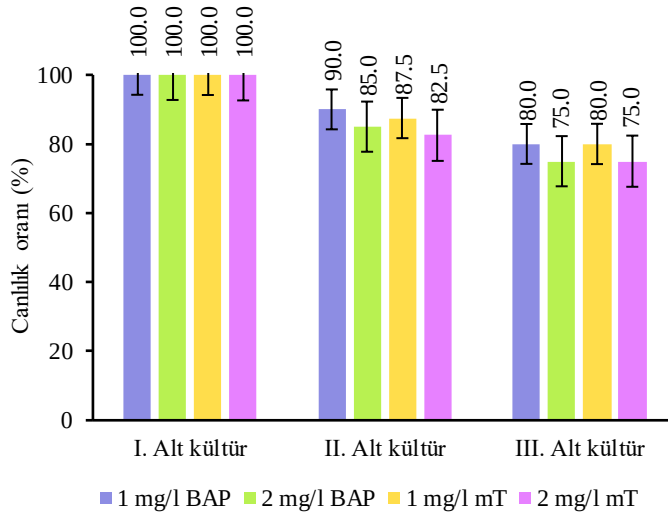
‘Duke 7’ klonal anacında, eksplantların canlılık oranı üzerine alt kültür sayısı x sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu ile alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri Çizelge 4.17’de verilmiştir. Bu çizelgede görüldüğü gibi eksplantların canlılık oranı üzerine, alt kültür sayısı x sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonunun etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Buna karşın alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Alt kültür sayılarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri incelendiğinde, istatistiksel olarak üç farklı bağımsız grubun olduğu Çizelge 4.17’den izlenebilir. Eksplantlarda en yüksek canlılık oranı %100 ile I. alt kültür aşamasında kaydedilmiş ve alt kültür sayısındaki artışla birlikte, canlılık oranında %10’luk düşüş gözlenmiştir. Zira en düşük canlılık oranı %89.37 ile III. alt kültür aşamasında belirlenmiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının canlılık oranı üzerine etkileri incelendiğinde, en yüksek canlılık oranı %99.17 ile 1 mg/L BAP uygulamasında kaydedilmiş ve diğer sitokinin tipleri/konsantrasyonları istatistiksel olarak aynı grup içerisinde yer almışlardır. (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00 a
2. Alt Kültür	100.00	92.50	90.00	90.00	93.12 b
3. Alt Kültür	97.50	90.00	85.00	85.00	89.37 c
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	99.17 a	94.17 b	91.67 b	91.67 b	
LSD₅	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 3.162; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 3.651				

Ö.D.: Önemli Değil

‘Toro Canyon’ klonal anacında, üç farklı alt kültür aşamasında sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri Şekil 4.24’te gösterilmiştir.



Şekil 4.24. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan canlılık oranlarındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, eksplantların canlılık oranı üzerine alt kültür sayısı x sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Fakat alt kültür sayılarının eksplantların canlılık oranı üzerindeki etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.18). Alt kültür sayılarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri incelendiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi istatistiksel olarak üç farklı bağımsız grubun olduğu belirlenmiştir. Alt kültür sayısı arttıkça, eksplantların

canlılık oranının düştüğü kaydedilmiştir. Zira en yüksek canlılık oranı %100.00 ile I. alt kültürde, en düşük %77.50 ile III. alt kültürde kaydedilmiştir (Çizelge 4.18).

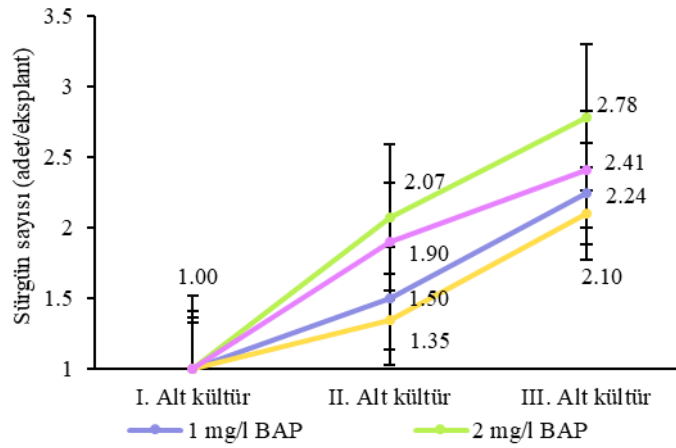
Çizelge 4.18. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının eksplantların canlılık oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00 a
2. Alt Kültür	90.00	85.00	87.50	82.50	86.25 b
3. Alt Kültür	80.00	75.00	80.00	75.00	77.50 c
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	90.00	86.67	89.17	85.83	
LSD ₅	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 5.209; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.				

Ö.D.: Önemli Değil

Sürgün sayısı (adet)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarında üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün sayısındaki değişimler Şekil 4.25’de gösterilmiştir.



Şekil 4.25. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen sürgün sayısındaki değişimler

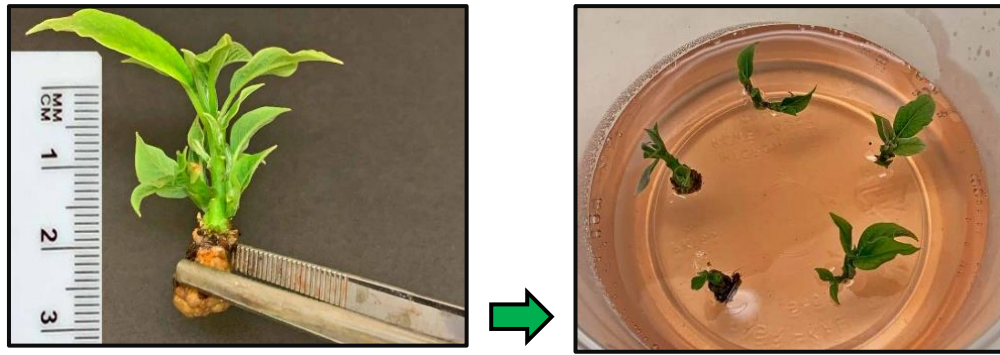
‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkileri Çizelge 4.19’da verilmiştir. Bu çizelgede görüldüğü üzere, alt kültür sayısı × sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksiyonunun sürgün sayısı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Buna karşın alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkileri, interaksiyonun aksine istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$)

(Çizelge 4.19). Alt kültür sayılarının sürgün sayısı üzerine etkisi dikkate alındığında, istatistiksel olarak üç farklı bağımsız grubun olduğu Çizelge 4.19'dan izlenebilir. Sürgün sayısı bakımından en yüksek değer 2.38 adet ile III. alt kültür aşamasında ve en düşük değer ise 1.00 adet ile I. alt kültürde belirlenmiştir. Bu anaç da, III. alt kültür aşamasının 2 mg/L BAP ile kombinasyonu sonucunda oluşan sürgün sayısına ilişkin görsele Şekil 4.26'da yer verilmiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkileri incelendiğinde ise istatistiksel olarak iki bağımsız grup ve iki ara grubun olduğu Çizelge 4.19'da görülmektedir. En yüksek sürgün sayısı değeri 1.95 adet ile 2 mg/L BAP uygulamasında saptanmış ve bunu 1.77 adet ile 2 mg/L mT uygulaması takip etmiştir. En düşük değer ise 1.48 adet ile 1 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir.

Çizelge 4.19. 'Duke 7' klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)

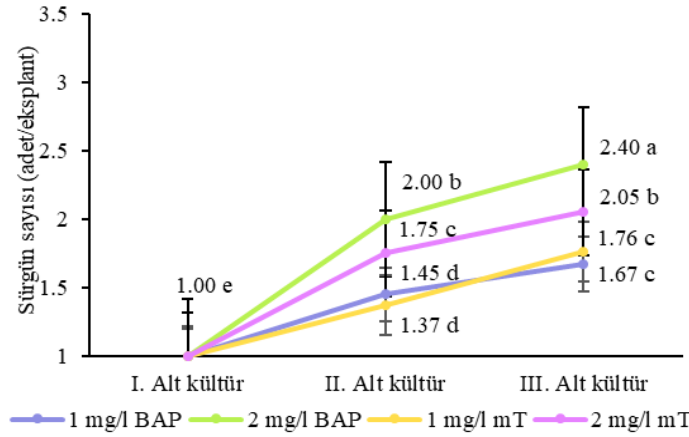
Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00 c
2. Alt Kültür	1.50	2.07	1.35	1.90	1.71 b
3. Alt Kültür	2.24	2.78	2.10	2.41	2.38 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	1.58 bc	1.95 a	1.48 c	1.77 ab	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 0.198; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.229				

Ö.D.: Önemli Değil



Şekil 4. 26. 'Duke 7' klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda oluşan sürgün sayısına ilişkin görünüm

'Toro Canyon' klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarına bağlı olarak üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün sayısındaki değişimler Şekil 4.27'de gösterilmiştir.

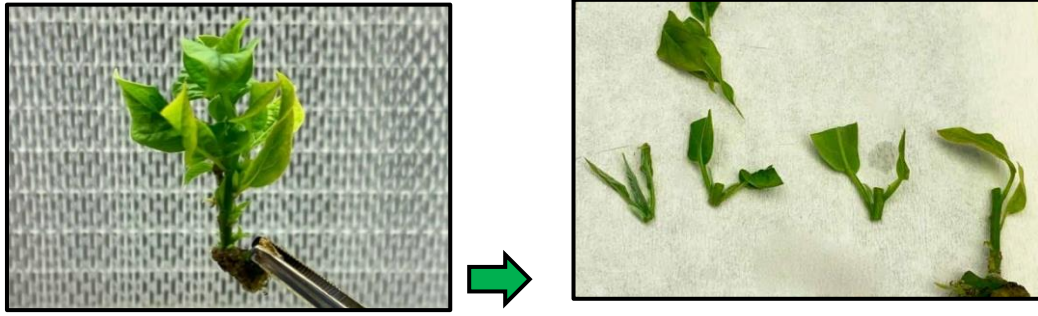


Şekil 4.27. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen sürğün sayısındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayısı ve sitokinin tipi/konsantrasyonu arasındaki interaksiyon, alt kültür sayıları, sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürğün sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.20). İnteraksiyon ortalamaları dikkate alındığında, istatistiksel olarak beş farklı grup oluştuğu belirlenmiştir. I. alt kültür ile kombine edilen tüm sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında sürğün sayısı 1.00 adet olarak kaydedilmiş ve I. alt kültür aşamasında tüm ortalamalar aynı istatistiksel grup içerisinde yer almıştır. En yüksek sürğün sayısı ise 2.40 adet ile III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda elde edilmiştir (Şekil 4.28). Alt kültür sayılarının sürğün sayısı üzerine etkisi incelendiğinde, istatistiksel olarak üç bağımsız grubun oluştuğu Çizelge 4.20’de görülmektedir. En yüksek sürğün sayısı 1.97 adet ile III. alt kültür aşamasında saptanmıştır. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürğün sayısı üzerine etkileri karşılaştırıldığında ise değerlerin 1.37 ile 1.80 adet arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.20. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürğün sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)

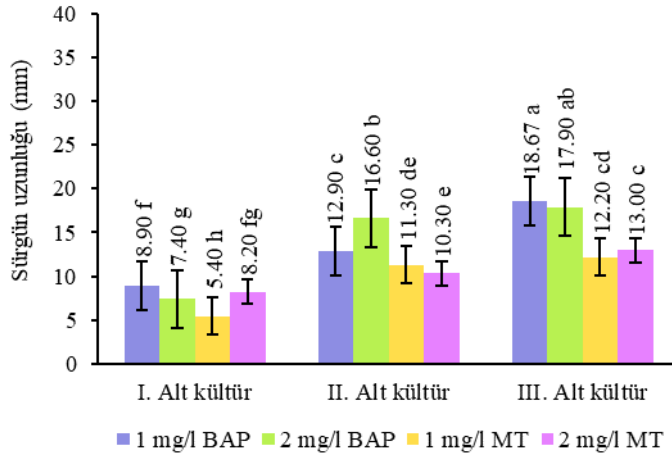
Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	1.00 E	1.00 E	1.00 E	1.00 E	1.00 c
2. Alt Kültür	1.45 D	2.00 B	1.37 D	1.75 C	1.64 b
3. Alt Kültür	1.67 C	2.40 A	1.76 C	2.05 B	1.97 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	1.37 c	1.80 a	1.38 c	1.60 b	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.144; Alt kültür sayıları: 0.072; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.083				



Şekil 4.28. ‘Toro Canyon’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda oluşan sürgün sayısına ilişkin görünüm

Sürgün uzunluğu (mm)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler Şekil 4.29’da gösterilmiştir.



Şekil 4.29. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler

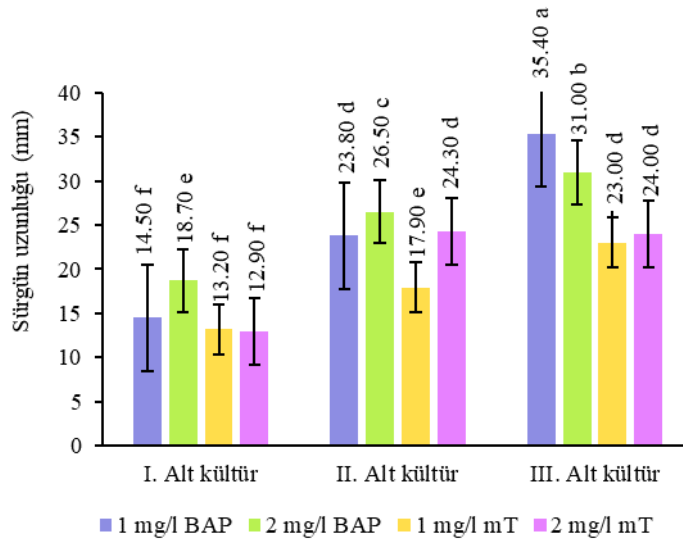
‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri Çizelge 4.21’de verilmiştir. Bu çizelgede de görüldüğü üzere, alt kültür sayısı × sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Alt kültür sayıları ve sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonunu incelendiğinde, en yüksek sürgün uzunluğu değeri (18.67 mm) III. alt kültür x 1 mg/L BAP kombinasyonunda elde edilmiştir. Bu kombinasyonu 17.90 mm ile III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonu takip etmiştir. En düşük sürgün uzunluğu ise 5.40 mm ile I. alt kültür x 1 mg/L mT kombinasyonunda kaydedilmiştir. Alt kültür sayılarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri incelendiğinde, en yüksek sürgün uzunluğu 15.44 mm ile III. alt kültür aşamasında, en

düşük ise 7.47 mm ile I. alt kültür aşamasında belirlenmiştir. Sürgün uzunluğu değeri, sitokinin tipleri/konsantrasyonları açısından değerlendirildiğinde, en yüksek sürgün uzunluğu 13.97 mm ile 2 mg/L BAP uygulamasında saptanmış ve bunu 13.49 mm ile 1 mg/L BAP uygulaması izlemiştir. En düşük değer ise 9.63 mm ile 1 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir.

Çizelge 4.21. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	8.90 F	7.40 G	5.40 H	8.20 FG	7.47 c
2. Alt Kültür	12.90 C	16.60 B	11.30 DE	10.30 E	12.77 b
3. Alt Kültür	18.67 A	17.90 AB	12.20 CD	13.00 C	15.44 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	13.49 a	13.97 a	9.63 c	10.50 b	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 1.338; Alt kültür sayıları: 0.669; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.773				

‘Toro Canyon’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarına bağlı olarak üç farklı alt kültür aşamasında sürgün uzunluğunda meydana gelen değişimler Şekil 4.30’da gösterilmiştir.



Şekil 4.30. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün uzunluğundaki değişimler

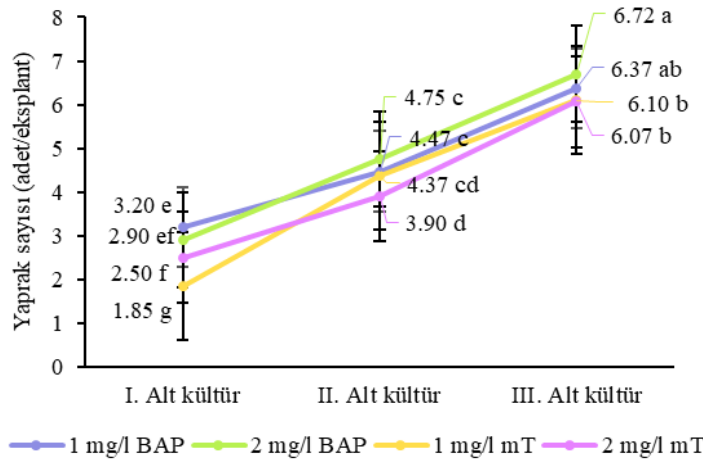
‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayısı x sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksiyonunun sürgün uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.22). İnteraksiyon ortalamaları dikkate alındığında, en yüksek değer 35.47 mm ile III. alt kültür x 1 mg/L BAP kombinasyonunda saptanmış ve en düşük değer ise I. alt kültürün 2 mg/L mT (12.90 mm) ile kombinasyonunda belirlenmiştir. İnteraksiyonda olduğu gibi alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.22). Alt kültür sayıları göz önüne alındığında, en yüksek sürgün uzunluğu 28.37 mm ile III. alt kültür aşamasında saptanmış ve sürgün uzunluğu açısından istatistiksel olarak üç bağımsız grup oluşmuştur. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkisi incelendiğinde ise istatistiksel olarak üç farklı grup oluştuğu Çizelge 4.22’de görülmektedir. En yüksek sürgün uzunluğu, sürgün sayısında olduğu gibi, 25.40 mm ile 2 mg/L BAP uygulamasında saptanmıştır.

Çizelge 4.22. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine etkileri (mm)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	14.50 F	18.70 E	13.20 F	12.90 F	14.82 c
2. Alt Kültür	23.80 D	26.50 C	17.90 E	24.30 D	23.12 b
3. Alt Kültür	35.47 A	31.00 B	23.00 D	24.00 D	28.37 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	24.59 a	25.40 a	18.03 c	20.40 b	
LSD_{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 1.734; Alt kültür sayıları: 0.867; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 1.001				

Yaprak sayısı (adet)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasına bağlı olarak eksplantlarda saptanan yaprak sayısında meydana gelen değişimler Şekil 4.31’de gösterilmiştir.



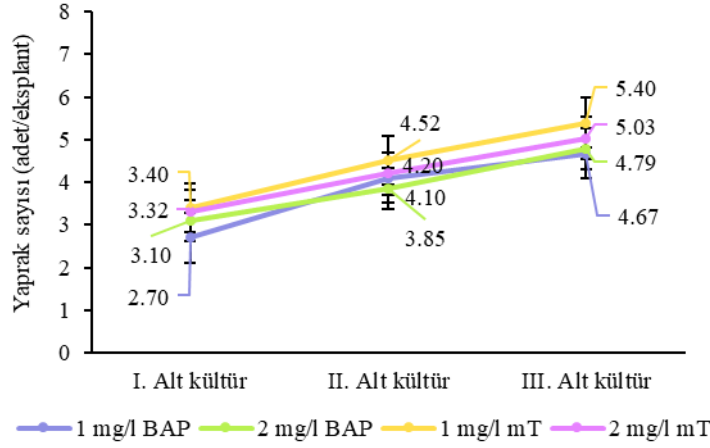
Şekil 4.31. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen yaprak sayısındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında eksplant başına düşen yaprak sayısı üzerine alt kültür sayısı ve sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Yaprak sayısı açısından en yüksek değer 6.72 adet ile III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda ve en düşük ise 1.85 ile I. alt kültür aşaması x 1 mg / L mT kombinasyonunda saptanmıştır. Alt kültür sayılarının yaprak sayısı üzerine etkisi de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Alt kültür sayılarının etkileri incelendiğinde, en yüksek yaprak sayısı 6.32 adet ile III. alt kültürde belirlenmiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkisi incelendiğinde, alt kültür sayılarında olduğu gibi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). En yüksek yaprak sayısı 2 mg/L BAP (4.79 adet) uygulamasında kaydedilmiş ve bunu 1 mg/L BAP (4.68 adet) uygulaması takip etmiştir. mT’nin her iki konsantrasyonunda eksplant başına düşen yaprak sayısı birbirine yakın bulunmuş ve bu değerler BAP uygulamalarında elde edilen değerlerin altında kalmıştır.

Çizelge 4.23. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	3.20 E	2.90 EF	1.85 G	2.50 F	2.61 c
2. Alt Kültür	4.47 C	4.75 C	4.37 CD	3.90 D	4.37 b
3. Alt Kültür	6.37 AB	6.72 A	6.10 B	6.07 B	6.32 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	4.68 a	4.79 a	4.11 b	4.15 b	
LSD _{5%}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.514; Alt kültür sayıları: 0.257; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.297				

‘Toro Canyon’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen yaprak sayısındaki değişimler, Şekil 4.32’de gösterilmiştir.



Şekil 4.32. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplant başına düşen yaprak sayısındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayısı x sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksiyonunun yaprak sayısı üzerine etkisi ‘Duke 7’ klonal anacının aksine istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.24). Buna karşın alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuş ve Çizelge 4.24’te gösterilmiştir ($p < 0.05$). Alt kültür sayılarının yaprak sayısı üzerine etkiler göz önüne alındığında, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi üç farklı istatistiksel grubun olduğu ve alt kültür sayısındaki artışla birlikte yaprak sayısında da artış meydana geldiği belirlenmiştir. En yüksek yaprak sayısı 4.98 adet ile III. alt kültürde, en düşük ise 3.13 adet ile I. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkisi incelendiğinde ise istatistiksel olarak iki bağımsız grup ile bir ara grubun olduğu Çizelge 4.24’ten izlenebilir.

Çizelge 4.24. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkileri (adet/eksplant)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	2.70	3.10	3.40	3.32	3.13 c
2. Alt Kültür	4.10	3.85	4.52	4.20	4.17 b
3. Alt Kültür	4.67	4.79	5.40	5.03	4.98 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	3.82 b	3.91 b	4.45 a	4.19 ab	
LSD _{5%}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 0.354; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.408				

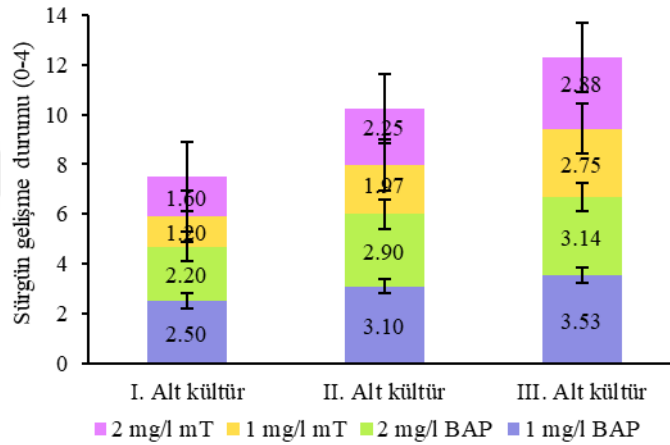
Ö.D.: Önemli Değil

Eksplant başına düşen yaprak sayısı değerleri 3.82 ile 4.45 adet arasında değişmiş ve en yüksek yaprak sayısı 4.45 adet ile 1 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir.

Sürgün gelişme durumu (0-4)

Bu parametrede, sürgünler gelişme durumlarına göre 0 ile 4 arasında puanlanarak değerlendirilmiş ve 0 = gelişim yok, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi ve 4 = kuvvetli olarak sınıflandırılmıştır.

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarına göre her alt kültür aşamasında sürgün gelişme durumlarındaki değişimler Şekil 4.33’de gösterilmiştir.



Şekil 4.33. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, sürgün gelişme durumu üzerine alt kültür sayıları, sitokinin tipleri/konsantrasyonları ve interaksyonun etkileri Çizelge 4.25’de verilmiştir. Bu çizelgede de görüldüğü gibi, alt kültür sayısı x sitokinin tipi/konsantrasyonu arasındaki interaksyon istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Buna karşın alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonları etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.25). Alt kültür sayılarına göre saptanan sürgün gelişme durumu 1.87 ile 3.08 arasında değişim göstermiştir. En yüksek sürgün gelişimi, 3.08 ile III. alt kültür aşamasında kaydedilmiş ve bunu 2.55 ile II. alt kültür aşaması izlemiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak dört farklı bağımsız grup oluşmuştur. En düşük değer 1.97 ile 1 mg/L mT uygulamasında, en yüksek ise 3.04 ile 1 mg/L BAP uygulamasında saptanmıştır (Çizelge 4.25). ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının her alt kültür aşamasındaki sürgün gelişme durumlarına ait görünüm Şekil 4.34’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.25. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	2.50	2.20	1.20	1.60	1.87 c
2. Alt Kültür	3.10	2.90	1.97	2.25	2.55 b
3. Alt Kültür	3.53	3.14	2.75	2.88	3.08 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	3.04 a	2.75 b	1.97 d	2.24 c	
LSD_{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 0.171; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.197				

Ö.D.: Önemli Değil



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)



(i)



(j)



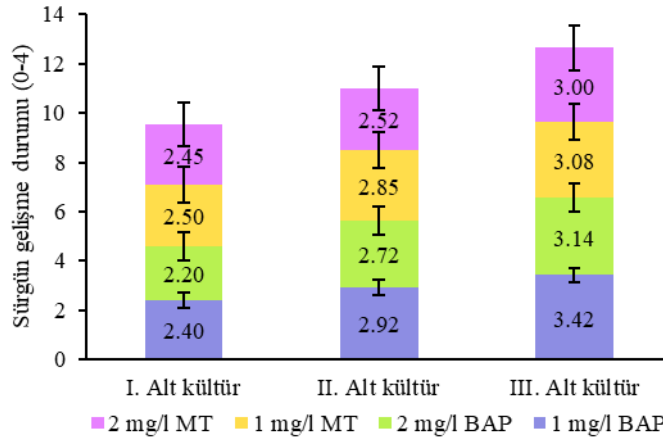
(k)



(l)

Şekil 4.34. ‘Duke 7’ klonal anacında I. alt kültür a) 1 mg/L BAP; b) 2 mg/L BAP; c) 1 mg/L mT; d) 2 mg/L mT; II. alt kültür e) 1 mg/L BAP; f) 2 mg/L BAP; g) 1 mg/L mT; h) 2 mg/L mT; III. alt kültür ı) 1 mg/L BAP; i) 2 mg/L BAP; j) 1 mg/L mT; k) 2 mg/L mT uygulamalarında sürgün gelişme durumundan genel görünüm

‘Toro Canyon’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler Şekil 4.35’de gösterilmiştir.



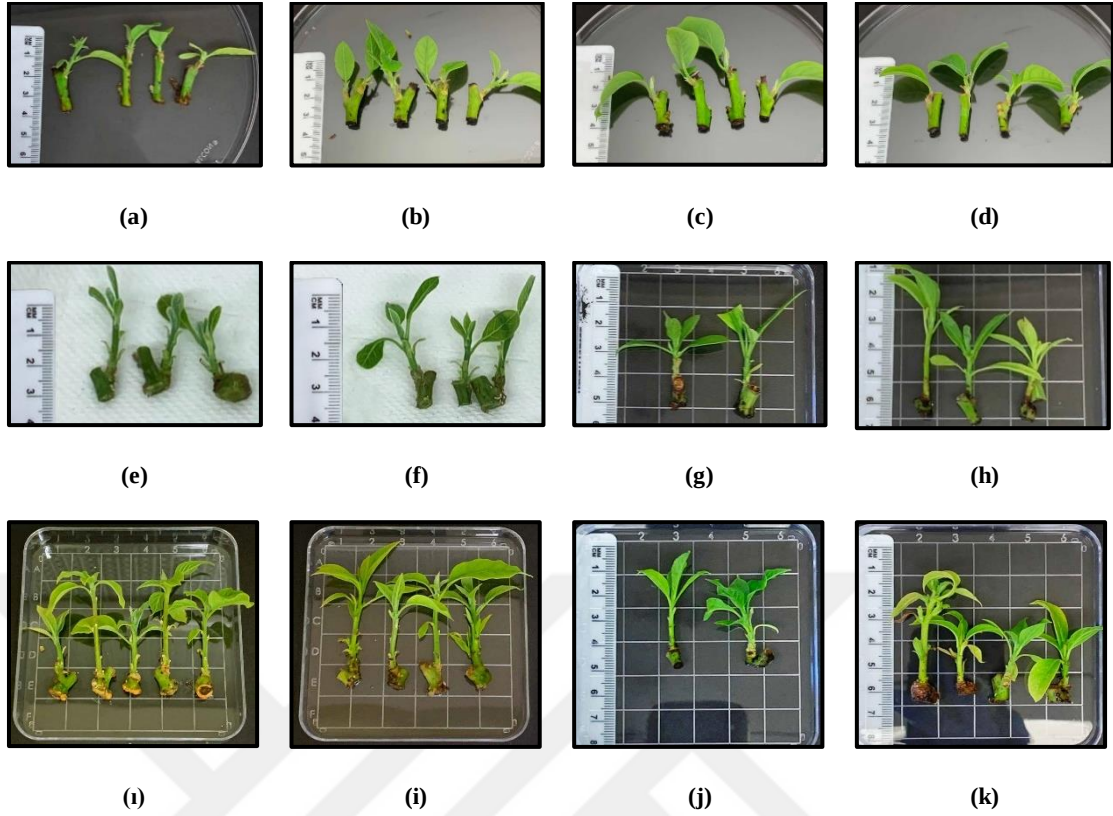
Şekil 4.35. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç farklı alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan sürgün gelişme durumundaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayısı x sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonunun sürgün gelişme durumu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri ise önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.26). Alt kültür sayıları dikkate alındığında, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi istatistiksel olarak üç bağımsız grup oluşmuş ve sürgün gelişimi 2.38 ile 3.16 arasında değişim göstermiştir. En yüksek sürgün gelişme durumu 3.16 ile III. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri incelendiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi en yüksek değer 2.91 ile 1 mg/L BAP uygulamasında saptanmıştır (Çizelge 4.26). Bu değeri sırasıyla 2.81 ile 1 mg/L mT, 2.69 ile 2 mg/L BAP ve 2.66 ile 2 mg/L mT uygulamaları izlemiştir. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında alt kültür aşamalarında sürgün gelişme durumlarına ait görünümeler Şekil 4.36’da gösterilmiştir.

Çizelge 4.26. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının sürgün gelişme durumu üzerine etkileri (0-4)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	2.40	2.20	2.50	2.45	2.38 c
2. Alt Kültür	2.92	2.72	2.85	2.52	2.75 b
3. Alt Kültür	3.42	3.14	3.08	3.00	3.16 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	2.91 a	2.69 b	2.81 ab	2.66 b	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 0.135; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.155				

Ö.D.: Önemli Değil



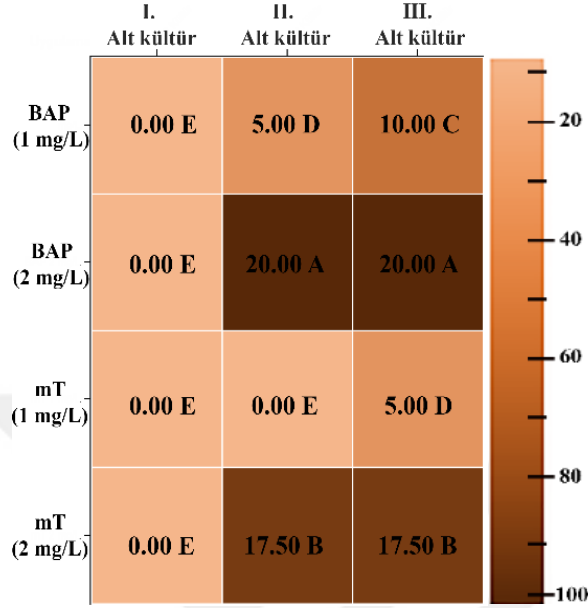
Şekil 4.36. ‘Toro Canyon’ klonal anacında I. alt kültür a) 1 mg/L BAP; b) 2 mg/L BAP; c) 1 mg/L mT; d) 2 mg/L mT; II. alt kültür e) 1 mg/L BAP; f) 2 mg/L BAP; g) 1 mg/L mT; h) 2 mg/L mT; III. alt kültür ı) 1 mg/L BAP; i) 2 mg/L BAP; j) 1 mg/L mT; k) 2 mg/L mT uygulamalarında sürgün gelişme durumundan genel görünüm

Kararma oranı (%)

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının üç alt kültür aşaması süresince eksplantlarda saptanan kararma oranlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.37’den izlenebilir.

In vitro koşullarda bitki gelişimini olumsuz etkileyen kararma problemi açısından yapılan değerlendirmede, ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayısı $\times$ sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu ile alt kültür sayılarının ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kararma oranı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.27). İnteraksiyon ortalamaları incelendiğinde, I. alt kültür aşamasında, tüm sitokinin tipi/konsantrasyonu kombinasyonlarında kararma gözlenmemiş ve aynı istatistiksel grupta yer almıştır. Buna karşın II. ve III. alt kültür aşamalarındaki kombinasyonlar arasında farklar oluşmuş ve beş farklı istatistiksel grup belirlenmiştir. En yüksek kararma oranı %20.00 ile III. alt kültür $\times$ 2 mg/L BAP ve II. alt kültür $\times$ 2 mg/L BAP kombinasyonlarında kaydedilmiştir. Şekil 4.38’de III. alt kültür aşamasında 2 mg/L BAP uygulanan eksplantlarda gözlemlenen kararmaya ilişkin görünüm sunulmaktadır. En düşük kararma oranı ise %5.00 ile III. alt kültür $\times$ 1 mg/L mT ve II. alt kültür $\times$ 1 mg/L BAP kombinasyonlarında belirlenmiştir. Alt kültür sayılarının eksplantlardaki kararma oranı üzerine etkileri incelendiğinde, en yüksek kararma oranı %13.12 ile III. alt kültür aşamasında belirlenmiştir. Öte yandan I. alt kültür

aşamasında eksplantlarda kararırma gözlenmemiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının eksplantlarda kararırma oranı üzerine etkileri değeriendirildiğinde, bu oranın %1.67 ile %13.33 arasında değışim gösterdiği ve en düşük kararırma oranının %1.67 ile 1 mg/L mT uygulamasında elde edildiği Çizelge 4.27’den izlenebilir.



Şekil 4.37. ‘Duke 7’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kararırma oranlarındaki değışimler

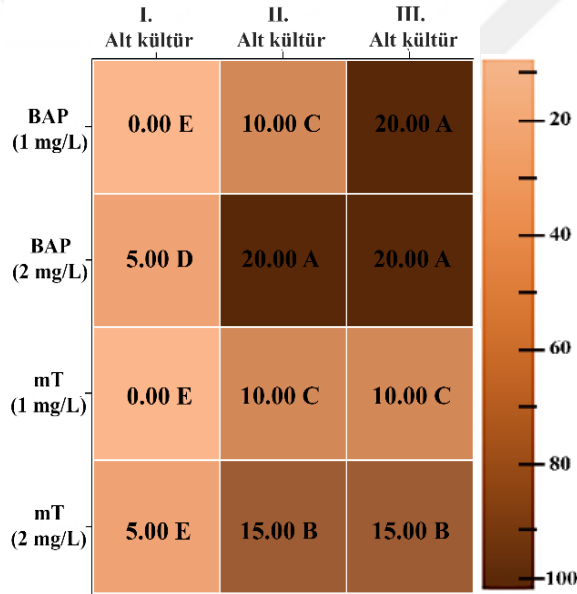
Çizelge 4.27. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kararırma oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	0.00 E	0.00 E	0.00 E	0.00 E	0.00 c
2. Alt Kültür	5.00 D	20.00 A	0.00 E	17.50 B	10.62 b
3. Alt Kültür	10.00 C	20.00 A	5.00 D	17.50 B	13.12 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	5.00 c	13.33 a	1.67 d	11.67 b	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 1.690; Alt kültür sayıları: 0.845; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.976				



Şekil 4.38. ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kararma sorunu

‘Toro Canyon’ klonal anacına ait eksplantlarda, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonları dikkate alınarak saptanan kararma oranındaki değişimler Şekil 4.39’ dan izlenebilir.



Şekil 4.39. ‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kararma oranlarındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi alt kültür sayısı $\times$ sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu ile alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kararma oranı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.28). Alt kültür sayısı $\times$ sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonunu dikkate alındığında, en yüksek kararma oranı %20.00 ile III. alt kültür x 2 mg/L BAP, III. alt kültür x 1 mg/L BAP ve II. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonlarında belirlenmiştir. Şekil 4.40’da III. alt kültür aşamasında 2 mg/L BAP uygulanan eksplantlarda gözlemlenen kararmaya ilişkin görünüm sunulmaktadır. Alt kültür sayılarının kararma oranı üzerine etkileri incelendiğinde, alt kültür sayısındaki artışa bağlı olarak kararma oranında da artış kaydedilmiştir. Bu bağlamda en yüksek kararma oranı %16.25 ile III. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kararma oranı üzerine etkileri değerlendirildiğinde ise 2

mg/L BAP uygulamasının (%15.00), istatistiksel olarak diğer uygulamalardan daha yüksek kararma oranına neden olduğu Çizelge 4.28’de açıkça görülmektedir. Nitekim en düşük kararma oranı ise %6.67 ile 1 mg/L mT uygulamasında saptanmıştır.

Çizelge 4.28. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kararma oranı üzerine etkileri (%)

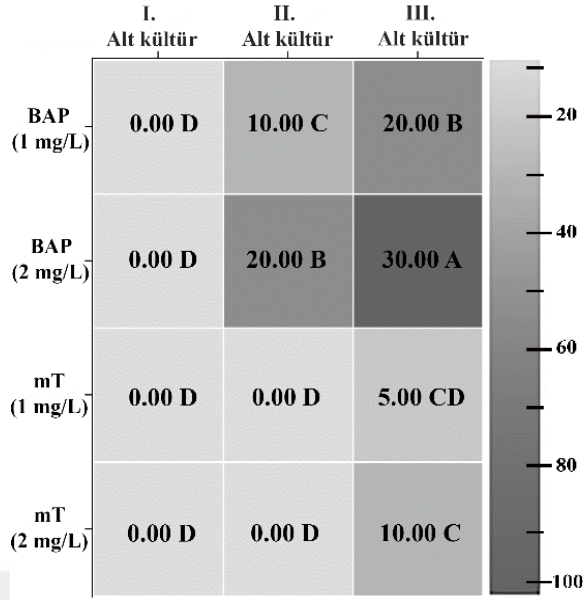
Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
I. Alt Kültür	0.00 E	5.00 D	0.00 E	5.00 D	2.50 c
II. Alt Kültür	10.00 C	20.00 A	10.00 C	15.00 B	13.75 b
III. Alt Kültür	20.00 A	20.00 A	10.00 C	15.00 B	16.25 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	10.00 b	15.00 a	6.67 c	11.67 b	
LSD ₅	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 4.780; Alt kültür sayıları: 2.39; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 2.76				



Şekil 4.40. ‘Toro Canyon’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kararma sorunu

Kallus oranı (%)

‘Duke 7’ klonal anacında, kallus oranında alt kültür aşamaları ile farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında gözlemlenen değişimler Şekil 4.41’de gösterilmiştir.



Şekil 4.41. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kallus oranlarındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında incelenen diğer problemlerden biri olan kallus oluşumu açısından yapılan değerlendirmede; alt kültür sayısı × sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu ile alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kallus oranı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.29). Alt kültür sayısı × sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu dikkate alındığında, I. alt kültür aşaması ile kombine edilen tüm sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında kallus oluşumu gözlenmemiştir.

Çizelge 4.29. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kallus oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0.00 D	0.00 c
2. Alt Kültür	10.00 C	20.00 B	0.00 D	0.00 D	7.50 b
3. Alt Kültür	20.00 B	30.00 A	5.00 CD	10.00 C	16.25 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	10.00 b	16.67 a	1.67 c	3.33 c	
LSD _{5%}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 5.070; Alt kültür sayıları: 2.535; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 2.927				

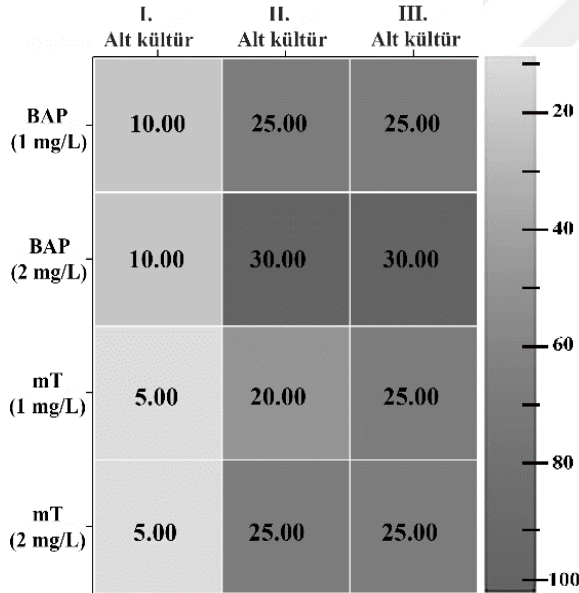
Buna karşın III. alt kültür aşamasındaki tüm kombinasyonlarda, önceki alt kültür aşamalarına göre kallus oranlarında belirgin artışlar gözlenmiştir. En yüksek kallus oranı %30.00 ile III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda saptanmıştır (Şekil 4.42). Alt kültür sayılarının etkileri değerlendirildiğinde, en yüksek kallus oluşumu %16.25 ile

III. alt kültür aşamasında gerçekleşmiş; I. alt kültürde ise kallus oluşumu hiç gözlenmemiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kallus oranı üzerine etkisi değerlendirildiğinde ise en yüksek değer %16.67 ile 2 mg/L BAP uygulamasında, en düşük ise %1.67 ile 1 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir (Çizelge 4.29).



Şekil 4.42. ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kallus sorunu

‘Toro Canyon’ klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının üç farklı alt kültür aşaması süresince eksplantlarda saptanan kallus oranlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.43’te verilmiştir.



Şekil 4.43. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan kallus oranlarındaki değişimler

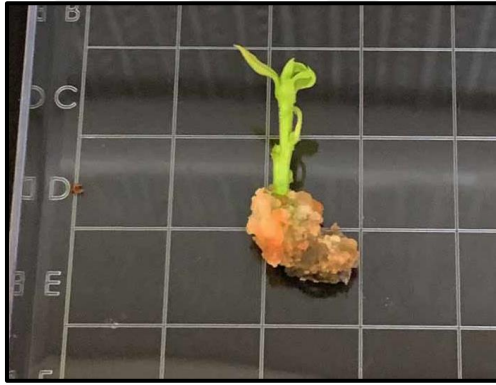
‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayısı × sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksiyonunun kallus oranı üzerine etkisi önemsiz, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.30). Alt kültür sayılarına göre kallus oranı bakımından iki bağımsız grup oluşmuş ve kallus oranı %7.50 ile %26.25 arasında değişim göstermiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kallus oluşumu üzerine etkileri dikkate alındığında ise kallus

oranları arasında istatistiksel olarak üç ana grup ve bir ara grup olduğu Çizelge 4.30'dan izlenebilir. En yüksek kallus oranı %23.33 ile 2 mg/L BAP uygulamasında kaydedilmiş ve Şekil 4.44'de gösterilmiştir. En düşük değer ise %16.67 ile 1 mg/L mT uygulamasında gözlenmiştir. Bu sonuçlar, 'Duke 7' klonal anacının aksine, 'Toro Canyon' klonal anacında mT uygulamalarının kallus oluşumunu daha yüksek düzeyde teşvik ettiğini göstermektedir.

Çizelge 4.30. 'Toro Canyon' klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının kallus oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	10.00	10.00	5.00	5.00	7.50 b
2. Alt Kültür	25.00	30.00	20.00	25.00	25.00 a
3. Alt Kültür	25.00	30.00	25.00	25.00	26.25 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	20.00 b	23.33 a	16.67 c	18.33 bc	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı x Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: Ö.D.; Alt kültür sayıları: 2.535; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 2.927				

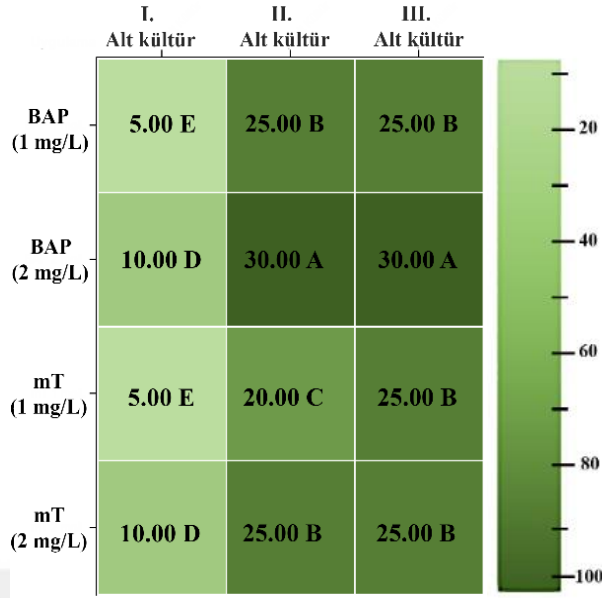
Ö.D.: Önemli Değil



Şekil 4.44. 'Toro Canyon' klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen kallus sorunu

Camlaşma oranı (%)

'Duke 7' klonal anacında, farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında üç alt kültür aşamasında eksplantlarda saptanan camlaşma oranlarındaki değişimler Şekil 4.45'de gösterilmiştir.



Şekil 4.45. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan camlaşma oranlarındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, camlaşma oranı üzerine alt kültür sayısı $\times$ sitokinin tipi/konsantrasyonu etkileşimi ile alt kültür sayıları ve sitokinin tipi/konsantrasyonu etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.31).

Çizelge 4.31. ‘Duke 7’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	5.00 E	10.00 D	5.00 E	10.00 D	7.50 c
2. Alt Kültür	25.00 B	30.00 A	20.00 C	25.00 B	25.00 b
3. Alt Kültür	25.00 B	30.00 A	25.00 B	25.00 B	26.25 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	18.33 c	23.33 a	16.67 d	20.00 b	
LSD ₅	Alt kültür sayısı $\times$ Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 1.69; Alt kültür sayıları: 0.845; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 0.976				

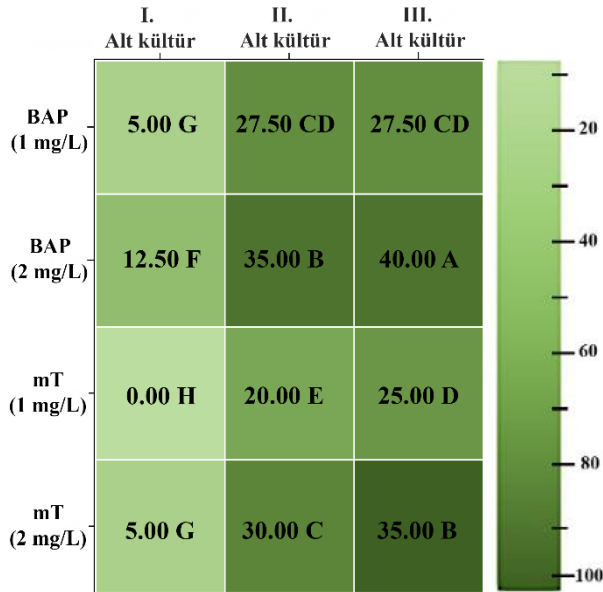
Alt kültür sayısı $\times$ sitokinin tipi/konsantrasyonu etkileşimi dikkate alındığında en yüksek camlaşma oranı %30.00 ile III. alt kültür $\times$ 2 mg/L BAP ve II. alt kültür $\times$ 2 mg/L BAP kombinasyonlarında belirlenmiştir. Şekil 4.46’da, ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür aşamasında 2 mg/L BAP uygulanan eksplantlarda camlaşma problemi görülmüştür. En düşük camlaşma oranı ise %5.00 ile I. alt kültür $\times$ 1 mg/L mT ve I. alt kültür $\times$ 1 mg/L BAP kombinasyonlarında saptanmıştır. Alt kültür sayılarının camlaşma

oranı üzerine etkileri incelendiğinde, istatistiksel olarak üç farklı grubun olduğu Çizelge 4.31’de görülmektedir. En yüksek camlaşma oranı %26.25 ile III. alt kültürde belirlenmiş, bunu %25 ile II. alt kültür aşaması izlemiştir. Bu durum, kültür sayısına bağlı olarak camlaşma oranında artış olduğunu göstermiştir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının camlaşma oranı üzerine etkileri incelendiğinde ise istatistiksel olarak dört farklı grup olduğu saptanmıştır. Camlaşma oranı, %16.67 ile 23.33 arasında değişim göstermiş ve en yüksek değer %23.33 ile 2 mg/L BAP uygulamasında kaydedilmiştir. En düşük değer (%16.67) ise 1 mg/L mT uygulamasında saptanmıştır.



Şekil 4.46. ‘Duke 7’ klonal anacında III. alt kültür x 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen camlaşma sorunu

‘Toro Canyon’ klonal anacında, alt kültür sayıları ile sitokinin tipleri/konsantrasyonlarına bağlı olarak eksplantlarda camlaşma oranında meydana gelen değişimler Şekil 4.47’den izlenebilir.



Şekil 4.47. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarında eksplantlarda saptanan camlaşma oranlarındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi camlaşma oranı üzerine alt kültür sayısı $\times$ sitokinin tipi/konsantrasyonu interaksyonu, alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.32). İnteraksiyon açısından değerlendirildiğinde, en yüksek camlaşma oranı %40.00 ile III. alt kültür $\times$ 2 mg/L BAP kombinasyonunda belirlenmiş ve Şekil 4.48’de gösterilmiştir. En düşük camlaşma oranı %5.00 ile I. alt kültür $\times$ 1 mg/L BAP ve I. alt kültür $\times$ 2 mg/L mT kombinasyonlarında saptanmıştır. Kombinasyonlardan, I. alt kültür $\times$ 1 mg/L mT kombinasyonunda ise camlaşma gözlenmemiştir. Alt kültür sayılarının camlaşma oranı üzerindeki etkileri incelendiğinde, en yüksek camlaşma oranının %31.87 ile III. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir. Bu durum, alt kültür sayısına bağlı olarak camlaşma oranında artış olduğunu göstermektedir. Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri incelendiğinde ise istatistiksel olarak dört farklı grup olduğu Çizelge 4.32’de izlenebilir. En yüksek camlaşma oranı %29.17 ile 2 mg/L BAP uygulamasında saptanmış ve bunu %23.33 ile 2 mg/L mT uygulaması izlemiştir. En düşük (%15.00) ise 1 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir.

Çizelge 4.32. ‘Toro Canyon’ klonal anacında alt kültür sayıları ve sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının camlaşma oranı üzerine etkileri (%)

Alt Kültür Sayıları	Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları				Alt Kültür Sayısı Ort.
	BAP 1 mg/L	BAP 2 mg/L	mT 1 mg/L	mT 2 mg/L	
1. Alt Kültür	5.00 G	12.50 F	0.00 H	5.00 G	5.62 c
2. Alt Kültür	27.50 CD	35.00 B	20.00 E	30.00 C	28.12 b
3. Alt Kültür	27.50 CD	40.00 A	25.00 D	35.00 B	31.87 a
Sitokinin Tipi/Konsantrasyonu Ort.	20.00 c	29.17 a	15.00 d	23.33 b	
LSD _{%5}	Alt kültür sayısı $\times$ Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 4.309; Alt kültür sayıları: 2.154; Sitokinin tipleri/konsantrasyonları: 2.488				



Şekil 4.48. ‘Toro Canyon’ klonal anacında III. alt kültür $\times$ 2 mg/L BAP kombinasyonunda eksplantlarda gözlenen camlaşma sorunu

4.2.2. Fizyolojik parametrelere ilişkin bulgular

Çalışmanın bu bölümünde, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait eksplantlara uygulanan farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu kapsamda, III. alt kültür aşamasında yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlıkları ile nispi klorofil içeriği (SPAD değeri) analiz edilmiştir.

‘Duke 7’ klonal anacında, yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlıkları ile nispi klorofil içeriği (SPAD değeri) üzerine farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri Çizelge 4.33’te verilmiştir. Bu çizelgeden de görüldüğü üzere tüm fizyolojik parametreler üzerine farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). En yüksek yaprak alanı (363.00 mm^2), yaprak yaş ağırlığı (45.43 mg) yaprak kuru ağırlığı (11.10 mg) ve SPAD (38.34) değerleri 1 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir. Buna karşılık yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı açısından en düşük değerler 1 mg/L BAP uygulamasında, SPAD değeri açısından ise en düşük değer 2 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir.

Çizelge 4.33. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının III. alt kültür aşamasında yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri

Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları	Yaprak alanı (mm^2)	Yaprak yaş ağırlığı (mg)	Yaprak kuru ağırlığı (mg)	SPAD değerleri (0-99)
BAP / 1 mg/L	102.00 d	23.85 d	5.88 c	34.21 c
BAP / 2 mg/L	140.00 c	33.49 c	8.18 b	37.93 b
mT / 1 mg/L	363.00 a	45.43 a	11.10 a	38.34 a
mT / 2 mg/L	297.00 b	39.47 b	9.64 ab	33.51 d
LSD_{%5}	0.372	2.439	2.107	0.268

‘Toro Canyon’ klonal anacında yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlıkları ile nispi klorofil içeriği (SPAD değeri) üzerine farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.34). ‘Duke 7’ klonal anacından farklı olarak en yüksek yaprak alanı (290.00 mm^2), yaprak yaş ağırlığı (48.46 mg), yaprak kuru ağırlığı (13.58 mg) ve SPAD (46.93) değerleri 2 mg/L mT uygulamasında saptanmıştır. Bu uygulamayı sırasıyla tüm parametreler açısından 1 mg/L mT , 2 mg/L BAP ve 1 mg/L BAP uygulamaları takip etmiştir.

Çizelge 4.34. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının III. alt kültür aşamasında yaprak alanı, yaprak yaş ağırlığı, yaprak kuru ağırlığı ve SPAD değerleri üzerine etkileri

Sitokinin Tipleri /Konsantrasyonları	Yaprak alanı (mm ²)	Yaprak yaş ağırlığı (mg)	Yaprak kuru ağırlığı (mg)	SPAD değerleri (0-99)
BAP /1 mg/L	232.00 c	36.25 d	8.93 d	40.50 c
BAP / 2 mg/L	250.00 bc	40.23 c	9.72 c	40.98 c
mT /1 mg/L	279.00 ab	44.67 b	11.83 b	44.90 b
mT / 2 mg/L	290.00 a	48.46 a	13.58 a	46.93 a
LSD_{%5}	0.287	1.662	0.401	0.667

4.3. Farklı Oksin Tipleri ve Konsantrasyonlarının Köklenme Üzerine Etkileri

4.3.1. Köklendirme parametrelerine ilişkin bulgular

Köklendirme aşamasında, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait mikro çeliklerde farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının *in vitro* köklenme sürecine etkilerini belirlemek amacıyla; köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök gelişme durumu ve kallus gelişme durumu parametreleri incelenmiştir. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait mikro çelikler için farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının söz konusu parametreler üzerindeki etkilerine ilişkin bulgular, sırasıyla Çizelge 4.35 ve Çizelge 4.36’da verilmiştir.

Çizelge 4.35. ‘Duke 7’ klonal anacına ait mikro çeliklerin *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök gelişme durumu ve kallus gelişme durumu üzerine etkileri

Oksin Tipleri/ Konsantrasyonları	Köklenme oranı (%)	Kök sayısı (adet/köklenmiş çelik)	Kök uzunluğu (mm)	Kök gelişme durumu (1-4) ^a	Kallus gelişme durumu (0-3) ^b
Kontrol	0.00 e	0.00 f	0.00 g	0.00 e	0.00 d
IBA/0.5 mg/L	20.00 cd	1.75 b	8.53 de	1.75 c	0.75 c
IBA/1 mg/L	45.00 a	2.33 a	18.27 a	3.00 a	2.00 b
IBA/2 mg/L	35.00 b	2.14 a	13.10 b	2.71 ab	2.10 b
IBA/3 mg/L	25.00 c	1.60 bc	7.00 ef	2.00 c	2.70 a

Çizelge 4.35.'in devamı

NAA/0.5 mg/L	5.00 de	1.00 e	5.30 f	1.00 d	0.90 c
NAA/1 mg/L	20.00 cd	1.50 cd	14.60 b	2.00 c	1.20 c
NAA/2 mg/L	25.00 c	2.20 a	10.60 cd	2.40 b	2.35 ab
NAA/3 mg/L	15.00 d	1.33 d	5.90 ef	2.00 c	2.75 a
LSD_{%5}	8.141	0.200	2.942	0.373	0.596

^a Kök gelişme durumu, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi, 4 = çok iyi; ^b Kallus gelişme durumu, 0= yok, 1=az, 2=orta, 3=yüksek

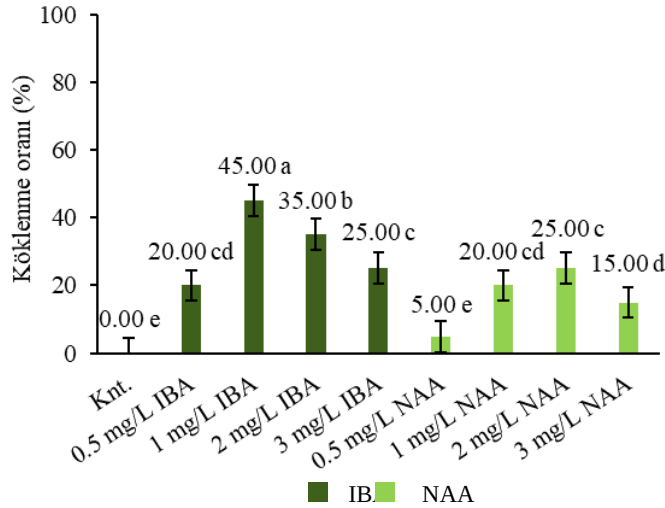
Çizelge 4.36. ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait mikro çeliklerin *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök gelişme durumu ve kallus gelişme durumu üzerine etkileri

Oksin Tipleri/ Konsantrasyonları	Köklenme oranı (%)	Kök sayısı (adet/köklenmiş çelik)	Kök uzunluğu (mm)	Kök gelişme durumu (1-4) ^a	Kallus gelişme durumu (0-3) ^b
Kontrol	0.00 e	0.00 d	0.00 e	0.00 e	0.00 c
IBA/0.5 mg/L	0.00 e	0.00 d	0.00 e	0.00 e	0.45 c
IBA/1 mg/L	15.00 b	1.67 ab	19.50 ab	1.67 c	1.65 b
IBA/2 mg/L	25.00 a	2.20 a	26.75 a	2.20 a	1.95 b
IBA/3 mg/L	10.00 c	1.50 bc	18.43 ab	1.00 d	2.50 a
NAA/0.5 mg/L	0.00 e	0.00 d	0.00 e	0.00 e	0.60 c
NAA/1 mg/L	10.00 c	1.50 bc	14.66 c	2.00 b	1.80 b
NAA/2 mg/L	15.00 b	1.67 ab	17.63 b	2.00 b	2.00 b
NAA/3 mg/L	5.00 d	1.00 c	10.50 d	1.00 d	2.80 a
LSD_{%5}	4.836	0.650	2.258	0.155	0.488

^a Kök gelişme durumu, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi, 4 = çok iyi; ^b Kallus gelişme durumu, 0= yok, 1=az, 2=orta, 3=yüksek

Köklenme oranı (%)

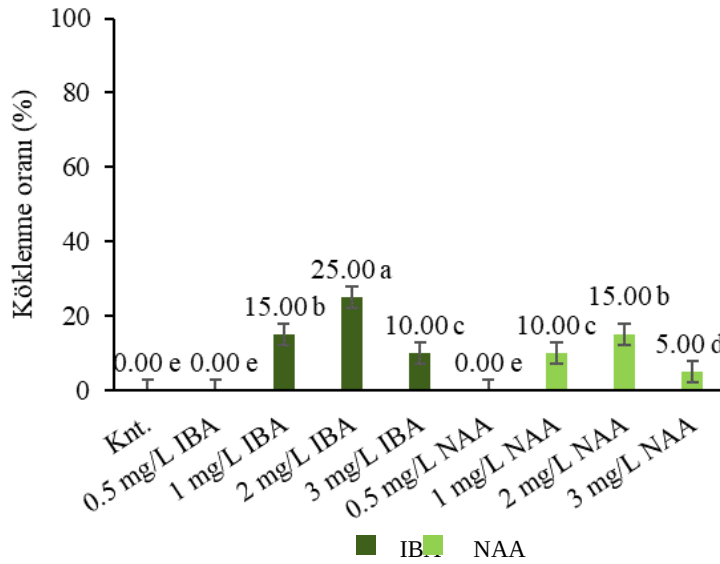
‘Duke 7’ klonal anacında, farklı oksin tipleri (IBA ve NAA) ve konsantrasyonlarının (0.5, 1, 2 ve 3 mg/L), mikro çeliklerin köklenme oranlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.49’da gösterilmiştir.



Şekil 4.49. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin köklenme oranındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, köklenme oranı üzerine farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.35). Oksin tipleri/konsantrasyonlarının köklenme oranı üzerine etkileri incelendiğinde, en yüksek köklenme oranı %45.00 ile 1 mg/L IBA uygulamasında saptanmış ve bunu sırasıyla %35.00 ile 2 mg/L IBA, %25.00 ile 3 mg/L IBA ve 2 mg/L NAA uygulamaları izlemiştir. Çizelge 4.35’de görüldüğü üzere, IBA uygulamaları NAA’ya kıyasla köklenme oranı üzerinde daha olumlu bir etki göstermiştir. Zira en düşük köklenme oranı 0.5 mg/L NAA uygulamasında kaydedilmiştir. Kontrol uygulamasında ise köklenme gözlenmemiştir.

‘Toro Canyon’ klonal anacına ait mikro çeliklerde, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının köklenme oranı üzerine etkileri Şekil 4.50’de gösterilmiştir.

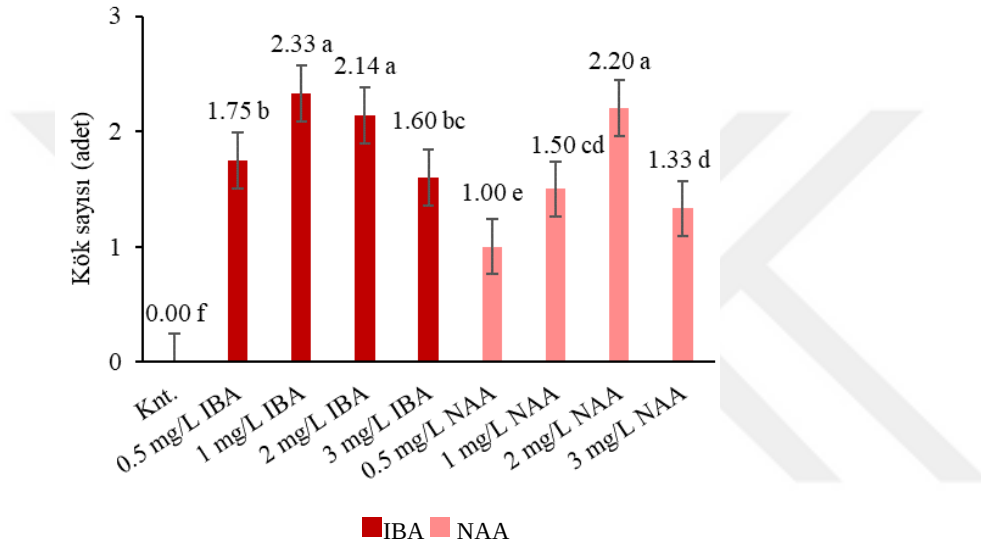


Şekil 4.50. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin köklenme oranındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, ‘Duke 7’ klonal anacında olduğu gibi köklenme oranı üzerine farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$) (Çizelge 4.36). Farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının köklenme oranı üzerine etkileri değerlendirildiğinde, en yüksek köklenme oranı %25.00 ile 2 mg/L IBA uygulamasında saptanmıştır. En düşük köklenme oranı ise %5.00 ile 3 mg/L NAA uygulamasında belirlenmiştir. Kontrol, 0.5 mg/L IBA ve NAA uygulamalarında ise köklenme gözlenmemiştir.

Kök sayısı (adet)

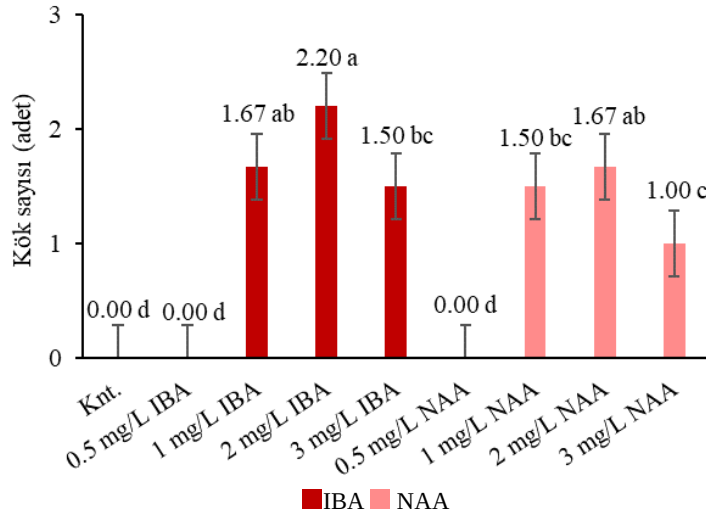
‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarında mikro çeliklerde saptanan kök sayısındaki değişimler Şekil 4.51’de gösterilmiştir.



Şekil 4.51. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök sayısındaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kök sayısı üzerine etkileri Çizelge 4.35’de verilmiştir. Bu çizelgeden de görüldüğü üzere, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kök sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Oksin tipleri/konsantrasyonlarının mikro çeliklerde kök sayısı üzerine etkileri incelendiğinde, en yüksek kök sayısı, köklenme oranında olduğu gibi 2.33 adet ile 1 mg/L IBA uygulamasında belirlenmiştir. Bu uygulamayı sırasıyla 2.20 adet ile 2 mg/L NAA ve 2.14 adet ile 2 mg/L IBA takip etmiş ve bu değerler istatistiksel olarak aynı grupta yer almıştır. En düşük kök sayısı ise 1.00 adet ile 0.5 mg/L NAA uygulamasında belirlenmiştir. Kontrol uygulamasında ise kök gelişimi saptanmamıştır.

‘Toro Canyon’ klonal anacında, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarına göre mikro çeliklerde saptanan kök sayısındaki değişimler Şekil 4.52’de verilmiştir.

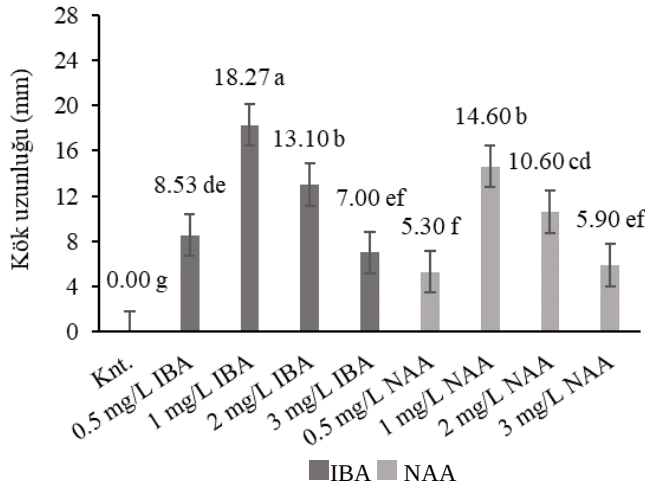


Şekil 4.52. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök sayısındaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında elde edilen bulgular doğrultusunda, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının, kök sayısı üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.36). Farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kök sayısı üzerine etkileri dikkate alındığında, en yüksek kök sayısı 2.20 adet ile köklenme oranındaki gibi 2 mg/L IBA uygulamasında belirlenmiştir. En düşük köklenme oranı ise 1.00 adet ile 3 mg/L NAA uygulamasında saptanmıştır. Kontrol ile 0.5 mg/L IBA ve NAA uygulamalarında köklenme gözlenmemiştir.

Kök uzunluğu (mm)

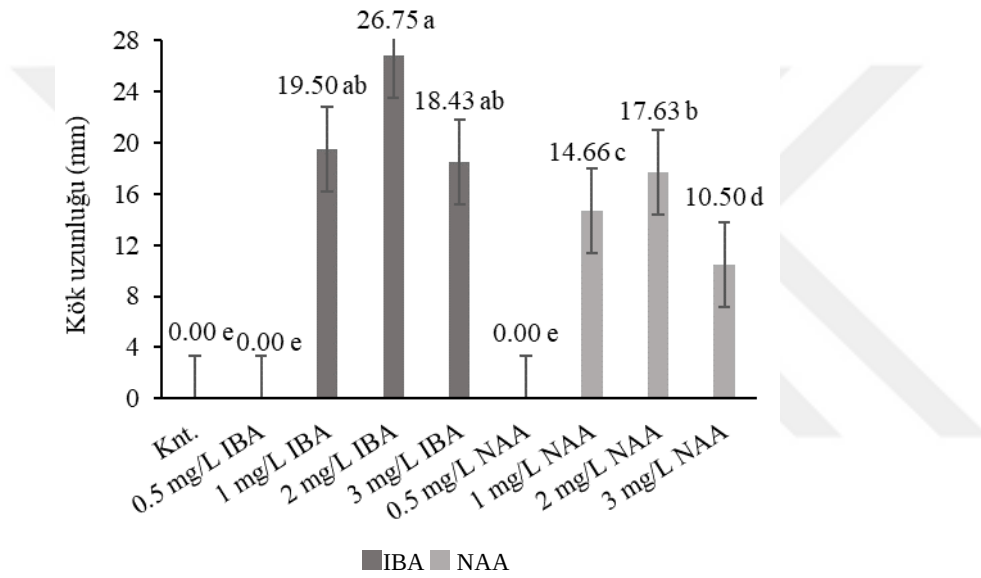
‘Duke 7’ klonal anacında, farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarında kök uzunluğunda meydana gelen değişimler Şekil 4.53’de verilmiştir.



Şekil 4.53. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök uzunluğundaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, köklenme oranı ve kök sayısında olduğu gibi, kök uzunluğu üzerine de farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.35). Farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarına ait değerler incelendiğinde, kök uzunluğu değerleri arasında kayda değer farklılıklar olduğu Çizelge 4.35’te görülmektedir. En yüksek kök uzunluğu değeri 18.27 mm ile 1 mg/L IBA uygulamasında elde edilmiştir. Bu uygulamayı sırasıyla 1 mg/L NAA (14.60 mm) ve 2 mg/L IBA (13.10 mm) uygulamaları takip etmiştir. En düşük kök uzunluğu 5.30 mm ile 0.5 mg/L NAA uygulamasında belirlenmiştir. Kontrol grubunda ise kök oluşumu gözlenmediğinden, kök uzunluğu değeri kaydedilmemiştir.

‘Toro Canyon’ klonal anacında, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarına bağlı olarak mikro çeliklerde saptanan kök uzunluğundaki değişimler Şekil 4.54’te gösterilmiştir.



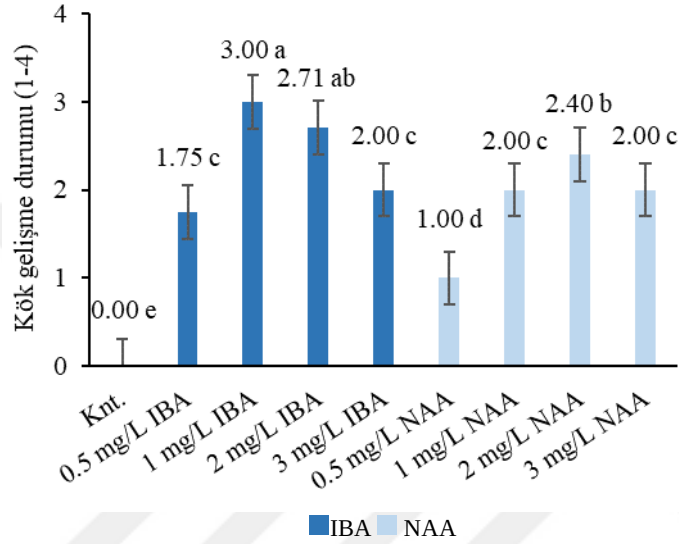
Şekil 4.54. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök uzunluğundaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, incelenen köklendirme parametrelerinden biri olan kök uzunluğu üzerine, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri Çizelge 4.36’da verilmiştir. Farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kök uzunluğu üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Oksin tipleri/konsantrasyonları dikkate alındığında, en yüksek kök uzunluğu 26.75 mm ile 2 mg/L IBA uygulamasında belirlenmiştir. Bu uygulamayı sırasıyla, 19.50 mm ile 1 mg/L IBA ve 18.43 mm ile 3 mg/L IBA uygulamaları takip etmiştir. Kök uzunluğu bakımından, IBA konsantrasyonlarının NAA konsantrasyonlarına göre daha yüksek kök uzunluğu değerleri oluşturduğu belirlenmiştir. En düşük değer ise 10.50 mm ile 3 mg/L NAA uygulamasında kaydedilmiştir. Kontrol, 0.5 mg/L IBA ve NAA uygulamalarında ise kök oluşumu gözlenmediğinden, kök uzunluğu değeri kaydedilmemiştir.

Kök gelişme durumu (1-4)

Bu parametrede, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait köklenmiş mikro çeliklerdeki kök gelişme durumları görsel olarak değerlendirilmiş ve 1-4 skalasına göre puanlanmıştır. Söz konusu değerlendirmede; 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi ve 4 = çok iyi köklenme şeklinde sınıflandırma yapılmıştır.

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının mikro çeliklerin kök gelişme durumu üzerine etkileri Şekil 4.55’de gösterilmiştir.



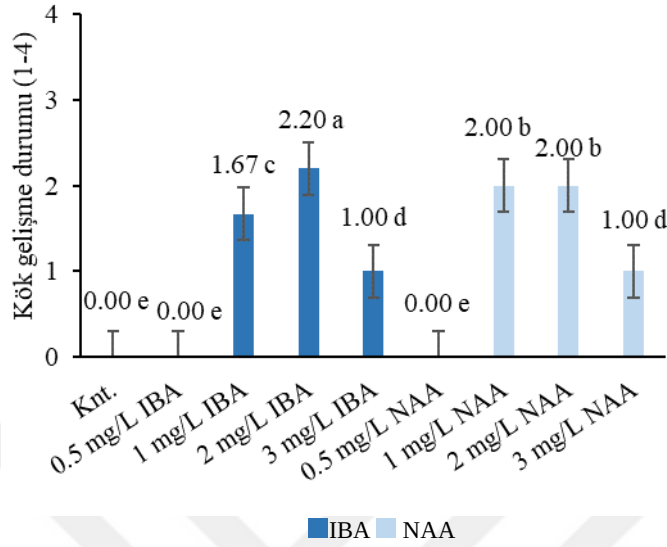
Şekil 4.55. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök gelişme durumundaki değişimler

‘Duke 7’ klonal anacında, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kök gelişme durumu (1–4) üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.35). En yüksek kök gelişme durumu, 3.00 puan ile 1 mg/L IBA uygulamasında belirlenmiştir (Şekil 4.56b). Bunu sırasıyla 2.71 ile 2 mg/L IBA ve 2.40 ile 2 mg/L NAA uygulamaları izlemiştir. En düşük kök gelişme durumu ise 1.00 puan ile 0.5 mg/L NAA uygulamasında kaydedilmiştir. Kontrol grubunda köklenme gözlenmemiştir (Şekil 4.56a)



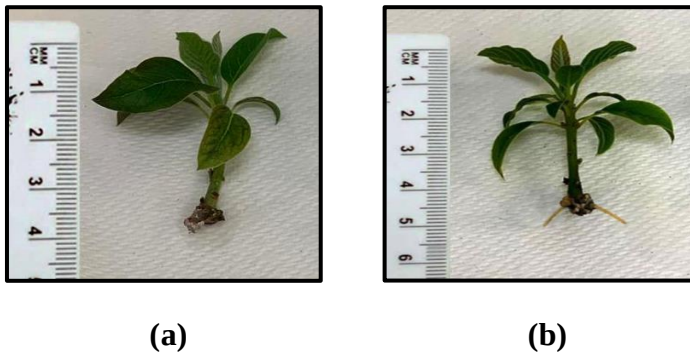
Şekil 4.56. ‘Duke 7’ klonal anacında a) kontrol; b) 1 mg/L IBA uygulaması ile *in vitro* koşullarda köklendirilmiş mikro çeliklerin görünüşleri

‘Toro Canyon’ klonal anacına ait mikro çeliklere uygulanan farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kök gelişme durumu üzerine etkileri Şekil 4.57’de gösterilmiştir.



Şekil 4.57. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kök gelişme durumundaki değişimler

‘Toro Canyon’ klonal anacında, kök gelişme durumu üzerine farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$) (Çizelge 4.36). Farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kök gelişme durumu üzerindeki etkileri göz önüne alındığında, diğer köklendirme parametrelerinde olduğu gibi en yüksek değer 2.20 puan ile 2 mg/L IBA uygulamasında kaydedilmiştir (Şekil 4.58b). Bunu 2.00 puan ile 1 ve 2 mg/L NAA uygulamaları takip etmiştir. En düşük kök gelişimi ise 3 mg/L IBA ve NAA uygulamalarında belirlenmiştir. Kontrol grubunda, 0.5 mg/L IBA ve NAA uygulamalarında kök gelişimi gözlenmemiştir (Şekil 4.58a).

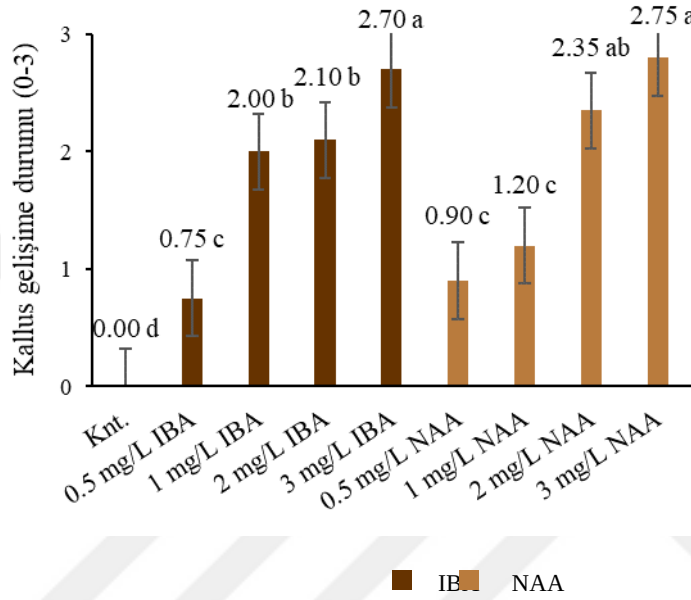


Şekil 4.58. ‘Toro Canyon’ klonal anacında a) kontrol; b) 2 mg/L IBA uygulaması ile *in vitro* koşullarda köklendirilmiş mikro çeliklerin görünimleri

Kallus gelişme durumu (0-3)

Bu parametre değerlendirilirken, köklenmiş her bir mikro çeliğin dip kısmında oluşan kallus miktarı görsel olarak 0–3 skalasına (0= yok, 1=az, 2= orta, 3=yüksek) göre puanlanmıştır.

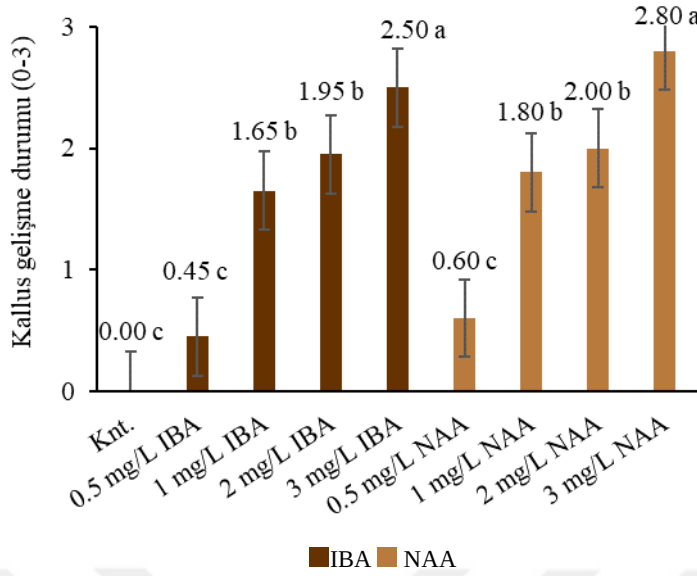
‘Duke 7’ klonal anacında, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının mikro çeliklerde saptanan kallus gelişme durumu üzerine etkileri Şekil 4.59’da gösterilmiştir.



Şekil 4.59. ‘Duke 7’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kallus gelişme durumu üzerine etkileri

‘Duke 7’ klonal anacına ait mikro çeliklerde, farklı oksin tipleri/konsantrasyonların kallus gelişme durumu üzerine etkileri istatistiksel olarak önemli derecede etkili olduğu Çizelge 4.35’ten izlenebilir ($p < 0.05$). Mikro çeliklere uygulanan oksin tiplerinin konsantrasyonu arttıkça, kallus gelişiminde de artış gözlenmiştir. Oksin tipleri/konsantrasyonları göz önüne alındığında, en yüksek kallus gelişimi 3 mg/L NAA (2.75 puan) ve 3 mg/L IBA (2.70 puan) konsantrasyonlarında saptanmıştır. En düşük değerler ise 0.75 puan ile 0.5 mg/L IBA ve 0.90 puan ile 0.5 mg/L NAA uygulamalarında kaydedilmiştir. Kontrol uygulamasında kallus oluşumu gözlenmemiştir.

‘Toro Canyon’ klonal anacına ait mikro çeliklerde, farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarının kallus gelişme durumu üzerindeki etkileri Şekil 4.60’da gösterilmiştir.



Şekil 4.60. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri/konsantrasyonlarında mikro çeliklerin kallus gelişme durumu üzerine etkileri

‘Toro Canyon’ klonal anacında, mikro çeliklerin kallus gelişme durumu üzerine oksin tipleri/konsantrasyonlarının etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.36). IBA konsantrasyonlarında kallus gelişme durumu 0.45 ile 2.50 puan arasında değişmiş; en yüksek kallus oluşumu 2.50 puan ile 3 mg/L IBA konsantrasyonunda kaydedilmiştir. NAA konsantrasyonlarında kallus oluşumu daha belirgin olup, en yüksek değer 2.80 puan ile 3 mg/L NAA uygulamasında elde edilmiştir. En düşük kallus gelişim durumu değerleri ise 0.45 puan ile 0.5 mg/L IBA ve 0.60 puan ile 0.5 mg/L NAA uygulamasında kaydedilmiştir. Kontrol uygulamasında kallus oluşumu gözlenmemiştir.

4.4. Bitkiciklerin Dış Koşullara Alışma (Aklimatizasyon) Sürecindeki Performansları

4.4.1. *In vitro* bitkiciklerin dış koşullara alışma oranı (%)

Çizelge 4.37’de görüldüğü üzere *in vitro* bitkiciklerin dış koşullara alıştırılmasındaki başarı oranları anaçlara göre değişim göstermiştir. *Ex vitro* koşullara alındıktan 2 hafta sonra Jiffy-7 üzerinde gelişen bitkiciklerden dış koşullara alışanların oranı ‘Duke 7’ klonal anacında %87.50, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise %81.25 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.37). Dikimden 6 hafta sonra yapılan gözlemlerde ise aklimatizasyon başarı oranı ‘Duke 7’ klonal anacında %43.75, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise %31.25 olarak kaydedilmiştir (Şekil 4.61a ve b).

Çizelge 4.37. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait *in vitro* bitkiciklerinin dış koşullara alıştırılmasındaki başarı oranları

Klonal anaçlar	Dış koşullara alışma oranı (%)	
	Dikimden 2 hafta sonra	Dikimden 6 hafta sonra
‘Duke 7’	87.50	43.75
‘Toro Canyon’	81.25	31.25



(a)



(b)

Şekil 4.61. Dış koşullara alındıktan 6 hafta sonra Jiffy-7 üzerinde gelişen a) ‘Duke 7’ klonal anacına; b) ‘Toro Canyon’ klonal anacına ait bitkicikler

5. TARTIŞMA

Dünyada, başta Amerika, Güney Afrika ve Avustralya olmak üzere ticari avokado yetiştiriciliğinde klonal anaç kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Klonal anaçlar, genetik olarak homojen bireyler elde edilmesini sağlamanın yanı sıra, biyotik ve abiyotik stres koşullarına karşı dayanıklı olmaları ve yüksek verim potansiyeline sahip olmaları gibi özellikleri nedeniyle günümüzde kullanım açısından vazgeçilmez hâle gelmiştir (De Villiers ve Ernst 2015). Ülkemizde ise klonal anaç kullanımına henüz geçilmemekle beraber, artan üretim alanları ve iklim değişikliğinin olumsuz etkileri dikkate alındığında, biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı dayanıklılıkları nedeniyle klonal anaçların kullanımı yakın gelecekte ülkemiz açısından kaçınılmaz hale gelecektir. Bu doğrultuda, bu tez çalışmasında materyal olarak dünyada yaygın olarak kullanılan ve yüksek ticari değere sahip ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçları seçilmiştir. Bununla birlikte bu klonal anaçların doku kültürü ile hızlı ve etkin çoğaltımı konularında hâlen önemli sorunlar bulunmaktadır. Nitekim avokado için geliştirilen mikro çoğaltım protokollerinin başarı düzeyi oldukça sınırlı kalmaktadır (Barrera-Guerra vd. 1998; Castro vd. 1995). Bu nedenle planlanan bu tez çalışmasında, söz konusu iki klonal anacın mikro çoğaltım olanakları araştırılmıştır. Bu kapsamda öncelikle en uygun temel besin ortamlarının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bölüm 4.1’de belirtildiği üzere; I., II. ve III. alt kültür aşamalarında canlılık oranı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, sürgün gelişme durumu, kararma oranı, kallus oranı ve camlaşma oranı gibi morfolojik parametreler değerlendirilmiştir. Yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ve SPAD değeri gibi fizyolojik parametrelerin değerlendirilmesi ise yalnızca III. alt kültür aşamasında gerçekleştirilmiştir.

İncelenen morfolojik parametreler arasında canlılık oranı açısından yapılan değerlendirmede, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında, alt kültür sayısındaki artışa bağlı olarak eksplantların canlılık oranının azaldığı saptanmıştır. Vujović ve Cerović (2012) farklı meyve anaçlarının mikro çoğaltımında, tekrarlanan alt kültür sırasında sürgün oluşum kapasitesinin azaldığını bildirmişlerdir. Bulgularımız, bu araştırmacıların bulguları ile uyum içerisinde gözükmektedir. Denenen temel besin ortamlarının, her iki klonal anaç üzerindeki canlılık oranına etkileri değerlendirildiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacında her alt kültür aşamasında en yüksek canlılık oranı WPM besin ortamında elde edilirken, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise MS besin ortamında kaydedilmiştir (Çizelge 4.1 ve 4.2). Bulgularımız, Cooper (1987) ve Harty (1985)’nin ‘Duke 7’ klonal anacı üzerine yürüttükleri çalışmalar ile uyumludur. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise yapılan herhangi bir çalışma bulunmaması nedeni ile karşılaştırma yapılamamıştır. WPM besin ortamı, düşük tuz içeriği ve özel bir iyon dengesine sahip bir besin ortamı olduğundan, avokadonun mikro çoğaltımına yönelik birçok çalışmada tercih edilmiştir (Taah vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2015; Osorio vd. 2018; Hiti Bandaralage vd. 2019; Qasrawi ve Sholi 2022). Ancak MS besin ortamının toplam tuz içeriği WPM ortamına göre daha yüksek olmasına rağmen, avokadonun mikro çoğaltımına yönelik çalışmalarda MS ortamı da yaygın olarak kullanılmaktadır (Zirari ve Lionakis 1994; Wessels 1996; Barrera-Guerra vd. 1998; Nhut vd. 2008; Rabuma vd. 2020; El-Fadl vd. 2022). Bu farklılığın, genotiplerin tuz konsantrasyonlarına verdikleri spesifik tepkilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. En düşük canlılık oranı değerleri ise her iki klonal anaçta da DKW besin ortamında kaydedilmiştir. ‘Duke 7’ klonal anacında, III. alt kültür aşamasında DKW besin ortamındaki tüm eksplantların yaşamını yitirdiği,

‘Toro Canyon’ klonal anacında ise eksplantların yalnızca %25’nin canlılığını sürdürebildiği tespit edilmiştir. DKW besin ortamında ölüm oranlarının yüksek olmasının, ortamın yüksek düzeyde toplam tuz içeriğine sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Tulecke ve McGranahan, 1985; Pinto vd. 2008). Literatürde, avokadonun mikro çoğaltımı konusunda, DKW ortamının kullanıldığına dair bir çalışmaya rastlanmaması nedeniyle, bu ortam ile doğrudan bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Bir diğer değerlendirme kriteri olan sürgün uzunluğu açısından, her iki klonal anaçta da alt kültür sayısındaki artışa paralel olarak sürgün uzunluğu değerlerinde artış eğilimi gözlenmiştir. Hiti-Bandaralage (2018), farklı avokado çeşitlerinin mikro çoğaltımında, alt kültür sayısındaki artışa bağlı olarak sürgün uzunluğunun da arttığını bildirmiştir. Bu durum, elde ettiğimiz bulgularla paralellik göstermektedir. ‘Duke 7’ klonal anacında, en yüksek sürgün uzunluğu değeri 11.40 mm ile III. alt kültür aşamasında WPM besin ortamında kaydedilmiştir (Çizelge 4.3). Bu durumun, WPM ortamının daha düşük düzeyde mineral tuz ve özellikle amonyum ile nitrat formundaki azot içeriğine sahip olmasının, *in vitro* koşullarda fizyolojik stresi azaltarak sürgün uzamasını desteklemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Hiti-Bandaralage (2018), ‘Kidd’ çeşidi ve ‘Velvick’ anacında III. alt kültür aşamasında en yüksek sürgün uzunluğu değerlerinin sırasıyla 14.33 ve 19.03 mm ile WPM besin ortamında elde edildiğini bildirmiştir. İlgili değerler çalışmamızda daha düşük düzeyde saptanması, kullanılan genotipler arasındaki genetik ve fizyolojik farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek sürgün uzunluğu MS besin ortamında kaydedilmiştir (Çizelge 4.4). George vd. (2008) mikro çoğaltım çalışmalarında MS besin ortamının yüksek oranda makro ve mikro element içeriğine sahip olması, bazı genotiplerde hücre bölünmesini ve metabolik faaliyetleri artırarak sürgün uzamasını desteklediği bildirilmişlerdir. Bu sonuçlar, ‘Toro Canyon’ klonal anacı ile ilgili elde ettiğimiz bulgularla da uyumluluk göstermektedir. En düşük sürgün uzunluğu değerleri ise canlılık oranı değerlerinde olduğu gibi her iki anaç için DKW besin ortamlarında elde edilmiştir. DKW besin ortamında yetiştirilen eksplantlarda büyümenin olumsuz etkilenmesi, bu ortamda bitki gelişimini sınırlayan bir veya birden fazla stres faktörünün bulunduğunu ve bu stresin alt kültür sayısının artmasıyla birlikte birikerek eksplant gelişimini engellediğini düşündürmektedir.

Çalışmada değerlendirilen bir diğer morfolojik özellik olan yaprak sayısı, sürgün uzunluğuna benzer şekilde, alt kültür sayısının artmasıyla birlikte her iki klonal anaçta da artış göstermiştir. Hiti-Bandaralage (2018) tarafından yürütülen çalışmada, farklı avokado genotiplerinin *in vitro* çoğaltımı sırasında alt kültür sayısındaki artışa paralel olarak yaprak sayısında da artış gözlemlendiği rapor edilmiştir. Bulgularımız bu araştırma sonuçları ile uyum içerisindedir. ‘Duke 7’ klonal anacında, WPM besin ortamında diğer ortamlara kıyasla daha yüksek yaprak sayısı elde edilmiş ve III. alt kültür aşamasında ortalama 2.30 adet yaprak sayısı kaydedilmiştir (Çizelge 4.5). Hiti-Bandaralage (2018) ‘Kidd’ çeşidi ve ‘Velvick’ anacının mikro çoğaltımında III. alt kültür aşamasında en yüksek yaprak sayısı değerlerinin sırasıyla 4.00 ve 6.00 adet ile WPM besin ortamında elde edildiğini rapor etmiştir. Araştırmacının bulguları, bu çalışmadaki ‘Duke 7’ klonal anacının sonuçları ile uyumludur. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek yaprak sayısı 2.04 adet ile MS besin ortamında elde edilmiştir (Çizelge 4.6). Bu farklılık, genotiplerin farklı makro ve mikro element kompozisyonlarına karşı gösterdiği fizyolojik

yanıtlarla açıklanabilir. En düşük yaprak sayısı değerleri, sürgün uzunluğu bulgularıyla paralel olarak her iki klonal anaç için de DKW besin ortamında kaydedilmiştir. Bu durum, ortamın yüksek iyonik gücünün eksplantlar üzerinde ozmotik stres oluşturmaya ya da iyon toksisitesine neden olmasıyla ilişkilendirilmektedir (Page vd. 2021). Nitekim bazı çalışmalarda da benzer şekilde, yüksek tuz konsantrasyonlarının yaprak oluşumunu baskıladığı ve bitki gelişimini sınırladığı bildirilmiştir (Bairu vd 2009; Page vd 2021).

Sürgün gelişme durumu 0-4 puan skalasına (0=gelişim yok, 1=zayıf, 2=orta, 3=iyi ve 4=kuvvetli) göre değerlendirilmiştir. Bu değerlendirme, Hiti-Bandaralage (2018) tarafından geliştirilen 0-5 ölçekli sürgün kalite skalasının, çalışmanın ihtiyaçlarına uygun olarak modifiye edilmiş bir versiyonudur. Bu değerler alt kültür sayılarına ve temel besin ortamlarına göre farklılık göstermiştir.

‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında alt kültür sayısının artmasıyla birlikte sürgün gelişimi kademeli olarak artış göstermiş ve en yüksek sürgün gelişimi III. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir. Bu durumun, artan alt kültür sayısının eksplantların besin ortamına adaptasyonunu kolaylaştırması ve buna bağlı olarak metabolik aktivitenin artmasıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Debnath 2004; Grant ve Hammat 1999). ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek sürgün gelişimi 2.30 puan (orta düzey) ile III. alt kültür aşamasında WPM besin ortamında belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Hiti-Bandaralage (2018) ‘Kidd’ çeşidi ve ‘Velvick’ anacında III. alt kültür aşamasında WPM ortamında sürgün gelişme durumunun her iki çeşitte de 0-5 skalası üzerinden en yüksek puan olan 5 (çok iyi) olarak saptandığı bildirilmiştir. Bu sonuçlar, ‘Duke 7’ klonal anacında elde ettiğimiz bulgulardan belirgin şekilde daha yüksektir. Bu farklılığın, kullanılan genotipler arasındaki fizyolojik ve genetik farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise 1.98 puan (orta düzey) ile MS besin ortamında kaydedilmiştir (Çizelge 4.8). Kaviani vd. (2023) tarafından Pyrodwarf armut anaçlarında yürütülen bir çalışmada, en iyi sürgün gelişiminin WPM besin ortamı yerine MS besin ortamında sağlandığı bildirilmiştir. Araştırmacıların bulguları, ‘Toro Canyon’ klonal anacından elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. MS besin ortamının içerdiği toplam tuz miktarı, WPM ortamına kıyasla daha yüksek olmasına rağmen, ‘Toro Canyon’ klonal anacı bu ortamda daha iyi bir gelişim göstermiştir. Bu farklılığın, genotiplerin tuz konsantrasyonlarına karşı verdikleri fizyolojik tepkilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. En zayıf sürgün gelişimi, her iki klonal anaç için de DKW besin ortamında kaydedilmiştir. Nitekim ortamın toplam tuz içeriği (iyonik gücü), özellikle odunsu bitkilerin büyüme ve gelişimi üzerinde doğrudan etkili bir faktör olarak değerlendirilmektedir (Hemmati-Gougeh vd. 2024). Bu bağlamda, yüksek tuz içeriğine sahip DKW ortamı, her iki klonal anaçta da sürgün gelişimini olumsuz yönde etkilemiştir.

Temel besin ortamlarının canlılık oranı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı ve sürgün gelişme durumu gibi olumlu parametrelerin yanı sıra, kararma, kallus ve camlaşma gibi olumsuz parametreler üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Avokadonun *in vitro* çoğaltımındaki başarıyı doğrudan etkileyen faktörler arasında kararma, kallus ve camlaşma gibi sorunlarında yer aldığı, daha önceki çalışmalarda da belirtilmiştir (Pliego-Alfaro ve Murashige, 1988; Castro vd. 1995; Zulfiqar vd. 2009). Temel besin ortamlarının kararma sorunu üzerine etkileri değerlendirildiğinde, her iki anaçta da alt kültür sayısı arttıkça kararma oranının da arttığı belirlenmiştir. George vd. (2008) gerçekleştirdikleri mikro çoğaltım çalışmalarında, eksplantların kesilen bölgelerinden salgılanan fenolik bileşiklerin alt kültür sayısındaki artışla birlikte hücre dışına daha fazla

geçtiğini ve bunun sonucunda ortamda artan oksidatif stresin kararma sorununu tetiklediğini rapor etmişlerdir. Bu tez çalışmasında elde edilen kararmaya ilişkin bulgular, söz konusu araştırmacıların sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Her iki anaçta da en düşük kararma oranı WPM ortamında gözlemlenirken, en yüksek kararma oranı DKW ortamında belirlenmiştir (Çizelge 4.9 ve 4.10). Bazı araştırmacılar, avokadonun mikro çoğaltımında, WPM ortamının diğer besin ortamlarına kıyasla kararma problemini minimum düzeyde oluşturduğunu bildirmişlerdir (Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro, 1999; Nhut vd. 2008; Osorio vd. 2018). Bu sonuçlar, bulgularımız ile örtüşmektedir. Her iki klonal anaçta da DKW besin ortamında kararma oranının diğer besin ortamlarına göre yüksek olması, ortamın yüksek düzeydeki toplam tuz içeriğinin ozmotik dengeyi bozarak hücre içinde fenolik bileşik birikimini artırması ve bunun sonucunda doku nekrozu gelişimini tetiklemesiyle ilişkilendirilmektedir (Tulecke ve McGranahan 1985; Pinto vd. 2008).

İncelenen diğer parametrelerden kallus oluşumu da sürgün gelişimini olumsuz etkilemektedir. Temel besin ortamlarının kallus oluşumu üzerindeki etkileri, kararma oranında olduğu gibi, alt kültür sayısındaki artışa paralel olarak artış göstermiştir. Bunun nedeni alt kültür sayısındaki artışla birlikte hücre bölünmesi ile farklılaşmasında düzensizliklerin ortaya çıkması olarak bildirilmiştir (George vd. 2008). Kallus oluşumu açısından yapılan değerlendirmelerde, ‘Duke 7’ klonal anacında WPM besin ortamında kallus oluşumu gözlenmezken, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise %8.33 oranı ile sınırlı kalmış ve her iki anaç için de en düşük kallus oluşum değeri bu ortamda kaydedilmiştir (Çizelge 4.11 ve 4.12). WPM besin ortamı, düşük tuz içeriği ve dengeli iyonik yapısı sayesinde, her iki klonal anaçta da kallus oluşumunu minimal düzeyde tutarak istenmeyen doku farklılaşmalarını azaltmıştır. Avokadonun *in vitro* çoğaltımına yönelik pek çok çalışmada kallus oluşumunun yaygın bir sorun olduğu bildirilmiştir (Young 1983; Schaffer vd. 1999; Mansoor 2018). Schroeder (1973), avokado eksplantlarının dip kısmında oluşan aşırı kallus dokusunun sürgün rejenerasyonunu engellediğini saptamıştır. Bulgularımızda, en yüksek kallus oluşumu, ‘Duke 7’ klonal anacında DKW besin ortamında, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise DKW ile MS besin ortamlarında kaydedilmiştir. Avokadonun mikro çoğaltımında DKW besin ortamının kullanıldığına dair daha önce başka bir çalışmaya rastlanmaması nedeniyle, bu ortam ile doğrudan bir karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak Mohamadzadeh ve Hamidi (2016), bazı elma anaçlarının mikro çoğaltımında, eksplantlarda kallus oluşumunun en fazla MS besin ortamında gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Zeytin (*Olea europaea* L.) üzerine yapılan bir diğer çalışmada, MS ve DKW gibi yüksek tuz içeriğine sahip ortamların bazı genotiplerde kallus baskınlığını arttırdığı ve sürgün gelişimini olumsuz etkilediğini bildirilmiştir (Rugini 1984). Bu araştırma sonuçları bulgularımızla paralellik göstermektedir.

Çalışmada ele alınan bir diğer önemli olumsuz parametre olan camlaşma oluşumu bakımından temel besin ortamlarının etkileri değerlendirildiğinde, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında alt kültür sayısı arttıkça, camlaşma oranında da artış kaydedilmiştir. Mansoor (2018), ‘Edranol’ çeşidinin mikro çoğaltımı sırasında alt kültür sayısının artmasına bağlı olarak camlaşma oranının da arttığını bildirmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, Mansoor (2018) tarafından rapor edilen bulgularla uyumludur. ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek camlaşma oranı %5.00 ile MS besin ortamında kaydedilirken, ‘Toro Canyon’ klonal anacında %7.50 ile DKW besin ortamında saptanmıştır (Çizelge 4.13 ve 4.14). Bu durumun, kültür ortamlarında yüksek amonyum ve nitrat konsantrasyonları, aşırı

su mevcudiyeti ve dengesiz hormon bileşimleri gibi etmenlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Daguin ve Letouzé 1986; Gaspar vd. 1987). Elde edilen bulgular, Zirari ve Lionakis (1994) ile Hiti-Bandaralage vd. (2015) tarafından rapor edilen sonuçlarla da örtüşmektedir.

Çalışmada değerlendirilen bir diğer önemli parametre grubu; yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ile SPAD (klorofil yoğunluğu) gibi fizyolojik ölçütlerdir. Bu ölçütler, bitkinin fotosentetik kapasitesini, metabolik aktivitesini ve genel gelişim düzeyini yansıtan temel biyometrik göstergeler olarak kabul edilmektedir. Bu kriterlerin analizi, temel besin ortamlarının yalnızca sürgün gelişimine değil, aynı zamanda yaprak yapısının oluşumu ve fonksiyonelliğine etkilerini değerlendirmek açısından büyük önem taşımaktadır (George vd. 2008). Yapılan ölçümler sonucunda, ‘Duke 7’ klonal anacında yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ile SPAD değeri açısından en yüksek değerler WPM besin ortamında elde edilmiştir (Çizelge 4.15). Bu bulgularımız, *Prunus africana* üzerinde benzer sonuçlar bildiren Komakech vd. (2020) tarafından yürütülen çalışmanın verileriyle paralellik göstermektedir. WPM besin ortamı, düşük amonyum ve nitrat konsantrasyonları ile birlikte toplam tuz içeriğinin düşük olması sayesinde, hücre düzeyinde iyon toksisitesine bağlı oluşabilecek metabolik stresleri azaltmaktave fizyolojik dengeyi koruyarak klorofil biyosentezini ve yaprak gelişimini desteklemektedir (George vd. 2008). Buna karşılık, ‘Toro Canyon’ klonal anacında en başarılı yaprak gelişimi ve klorofil birikimi MS besin ortamında kaydedilmiştir (Çizelge 4.16). Araştırma bulgularımız, Kaplan vd. (2020), Ko vd. (2010) ile Hameg vd. (2020) tarafından bildirilen, MS besin ortamındaki yüksek NH_4NO_3 ve KNO_3 içeriğinin klorofil biyosentezini ve fotosentezi teşvik ederek yaprak alanı ve yaprak ağırlığı gibi parametreleri anlamlı düzeyde artırdığı yönündeki sonuçlarla uyumludur. Ayrıca MS ortamının zengin makro ve mikro element profili, hücre bölünmesi, protein sentezi ve fotosentetik pigment üretimi gibi temel fizyolojik süreçleri teşvik etmiş ve bu sayede yaprak morfolojisi ile klorofil birikimini anlamlı düzeyde artırmıştır (George vd. 2008). Her iki klonal anaçta da yaprak gelişimi ve klorofil içeriği açısından sınırlı etki gösteren DKW besin ortamının, içerdiği yüksek düzeydeki toplam tuz içeriği nedeniyle ozmotik dengeyi bozarak iyon toksisitesini arttırdığı, bu durumun ise bitki gelişimini olumsuz yönde etkilediği bildirilmektedir (Munns ve Tester 2008; Avilés vd. 2009).

Tüm parametreler birlikte değerlendirildiğinde, temel besin ortamlarının optimizasyonuna yönelik olarak yürütülen bu bölümde, her iki klonal anaç için en uygun besin ortamı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, incelenen morfo-fizyolojik parametreler doğrultusunda ‘Duke 7’ klonal anacı WPM besin ortamında, ‘Toro Canyon’ klonal anacı ise MS besin ortamında daha yüksek performans sergilediği belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçları için en uygun temel besin ortamının belirlenmesinin hemen akabinde, sürgün çoğaltma aşamasında her iki klonal anaç için başarılı bulunan besin ortamına, farklı sitokinin tipleri (BAP ve mT) ile konsantrasyonları (1 ve 2 mg/L) ilave edilerek, sürgün gelişimi ve çoğaltımı üzerine araştırmalar yürütülmüştür. Bölüm 4.2’de belirtildiği üzere; temel besin ortamları denemesinde olduğu gibi bu bölümde de morfolojik parametrelere ait veriler I., II. ve III. alt kültür aşamalarında değerlendirilmiş; fizyolojik parametrelere ilişkin ölçümler ise yalnızca III. alt kültür aşamasında gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu aşamada morfolojik parametrelere sürgün sayısı da dâhil edilmiştir.

Bu aşamada, öncelikle morfolojik parametrelerden biri olan canlılık oranı incelenmiştir. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait eksplantlarda, farklı sitokinin tipi ve konsantrasyonlarının etkisiyle birlikte alt kültür sayısındaki artışa bağlı olarak canlılık oranında düşüş gözlenmiştir. Benzer sonuçlar ‘Edranol’ avokado çeşidi için Mansoor (2018) tarafından bildirilmiştir. Ayrıca diğer odunsu bitki türlerinden *Ananas comosus* L. (Hamad ve Taha 2008) ve *Salvadora persica* (Fathy 2017) türlerinin mikro çoğaltımında alt kültür sayısındaki artışla canlılık oranında düşüş olduğu belirtilmiştir. Araştırmacıların bu sonuçları, bulgularımız ile uyumludur. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının canlılık oranı üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde, her iki klonal anaç için de en yüksek canlılık oranı 1 mg/L BAP uygulamasında belirlenmiştir (Çizelge 4.17 ve 4.18). Avokado çeşitlerine ait eksplantların *in vitro* koşullarda gelişimi üzerine yapılan çalışmalarda, canlılık oranı BAP konsantrasyonlarına göre farklılık göstermiştir. Mansoor (2018), 1 mg/L BAP içeren ortamda en yüksek canlılık oranının elde edildiğini bildirirken, El-Fadl vd. (2022) bu oranın 2 mg/L BAP uygulamasında sağlandığını belirtmişlerdir. Bulgularımız, canlılık oranı açısından (Mansoor 2018)’un sonuçları ile uyumlu, El-Fadl vd. (2022)’in sonuçları ile uyumsuz bulunmuştur. Bunlara ilave olarak diğer odunsu bitki türlerinden ‘OHF-333’ armut anacının mikro çoğaltımında mT içeren besin ortamlarında eksplantlarda saptanan canlılık oranının BAP’a kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Dimitrova vd. 2024). Bu sonuçlar, avokado eksplantlarında canlılık oranı ile ilgili olarak sitokinin tiplerinden elde ettiğimiz bulgular ile farklılık göstermektedir. Bu farklılık, türün temel besin ortamı ve sitokinlere farklı reaksiyon göstermeleri ile ilişkilendirilebilir.

‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarının diğer bir kriter olan sürgün sayısı üzerine etkileri alt kültür sayısı açısından değerlendirildiğinde, alt kültür sayısındaki artışa paralel olarak sürgün sayısında da artışlar olduğu görülmektedir (Çizelge 4.19 ve 4.20). Hiti-Bandaralage (2018) ‘Kidd’ avokado çeşidi ve ‘Velvick’ anacında, III. alt kültür aşamasına kadar sürgün sayısında artış sağlandığını, ‘Reed’ ve ‘Hass’ çeşitlerinde ise düşüş meydana geldiğini rapor etmiştir. Bulgularımız, ‘Kidd’ ve ‘Velvick’ ile yapılan çalışmalarla uyumlu, ‘Reed’ ve ‘Hass’ çeşitlerine ait sonuçlarla uyumsuzluk göstermektedir. Bu farklılığın, kullanılan genotiplerin sürgün çoğaltımına verdiği tepkilerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının sürgün sayısı üzerine etkileri değerlendirildiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek sürgün sayısı 2.78 adet ile sitokinin olarak 2 mg/L BAP ve alt kültür olarak III. alt kültür aşamasında elde edilmiştir (Çizelge 4.19). Cooper (1987) da ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek sürgün sayısını 2-3 adet ile 0.3 mg/L BAP içeren WPM ortamında elde ettiğini bildirmiştir. Zirari ve Lionakis (1994) ise 1.63 adet sürgünü, 0.1 mg/L BAP + 0.65 mg/L BAP içeren çift fazlı MS ortamında sağladıklarını rapor etmişlerdir. Mevcut araştırmamızda 1 mg/L’nin altındaki BAP konsantrasyonları denenmemiş, bu nedenle karşılaştırma yapılamamıştır. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek sürgün sayısı 2.61 adet ile sitokinin olarak 2 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında elde edilmiştir (Çizelge 4.20). ‘Toro Canyon’ klonal anacı üzerine literatürde karşılaştırma yapılabilecek bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak diğer avokado çeşitlerinde yürütülen çalışmalarda, benzer sonuçlar elde edilmiştir (Nel vd. 1983; Ibarra-López vd. 2016; El-Fadl vd. 2022). Ayrıca bazı çalışmalarda çoğaltma aşamasında farklı konsantrasyonlarda kullanılan BAP uygulamalarının, elde edilen sonuçlarda çeşitliliğe neden olduğu bildirilmektedir (Nel 1983; Osorio vd. 2018; Rabuma vd. 2020; Qasrawi ve Sholi 2022). Mikro çoğaltımın sürgün çoğaltma aşamasında kullanılan yüksek BAP

konsantrasyonlarının, hücre bölünmesini önemli ölçüde teşvik ederek sürgün sayısında artışa yol açtığı bildirilmiştir (Ashraf vd. 2014). Çalışmamızda her iki anaçta da sürgün sayısı açısından BAP içeren besin ortamları, mT içeren besin ortamlarına kıyasla daha yüksek çoğaltım performansı göstermiştir. BAP'ın bu etkisi, bitki hücrelerinin mitotik aktivitesini arttırması ve aksiller tomurcukların uyanmasını sağlayarak yeni sürgün oluşumunu desteklemesiyle açıklanmaktadır (Ashraf vd. 2014). BAP, özellikle hücre bölünmesi ve sürgün çoğaltımı üzerinde mT'den daha belirgin etkiler göstermektedir. Bu durumun temel nedeni, BAP'ın yapısal olarak adenin bazına bağlı sentetik bir sitokinin olması ve hücre bölünmesini (mitozu) doğrudan uyaran güçlü bir etki göstermesi ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca BAP, bitki dokularında daha uzun süre aktif kalabilmekte ve bu da daha kalıcı ve yoğun hücre bölünmesi sinyallerinin oluşmasına olanak tanımaktadır (Aremu vd. 2012a). Avokado üzerine yapılan çalışmalarda, sitokinin tipi olarak mT'nin sürgün çoğaltımı üzerindeki etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bazı bitki türlerinde mT'nin sürgün çoğaltımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmalarda Dimitrova vd. (2016) besin ortamına 2.70 mg/L mT ilavesi ile yüksek sürgün sayısına ulaştıklarını, Gentile vd. (2017) ise en yüksek sürgün sayısını 1.8 mg/L mT içeren besin ortamında elde ettiklerini belirtmişlerdir. Bulgularımız, araştırmacıların bulguları ile örtüşmemektedir.

'Duke 7' ve 'Toro Canyon' klonal anaçlarında, farklı sitokinin tipleri ile konsantrasyonlarının sürgün uzunluğu üzerine olan etkileri Çizelge 4.21 ve 4.22'de verilmiştir. Her iki klonal anaçta da III. alt kültürde elde edilen sürgün uzunluğu değerleri, diğer alt kültür aşamalarına göre daha yüksek belirlenmiştir. Bulgularımız, Mansoor (2018) tarafından avokado üzerinde yürütülen çalışmalarda elde edilen sonuçlar ile uyumsuz, Fathy (2017) tarafından misvak ağacı üzerinde yapılan araştırma bulgularıyla uyumlu bulunmuştur. 'Duke 7' klonal anacında en yüksek sürgün uzunluğu 18.67 mm ile sitokinin olarak 1 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında sağlanmıştır. Cooper (1987), 'Duke 7' klonal anacında en yüksek sürgün uzunluğunu 10.00–20.00 mm ile 0.3 mg/L BAP içeren ortamda elde etmiştir. Ancak bu tez çalışmasında daha düşük BAP konsantrasyonları denenmediğinden, Cooper (1987) ile doğrudan bir karşılaştırma yapılamamaktadır. 'Toro Canyon' klonal anacında en yüksek sürgün uzunluğu 35.47 mm ile sitokinin olarak 1 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında belirlenmiştir. Rabuma vd. (2020) Etiyopya avokado çeşitlerinin mikro çoğaltımı için *in vitro* çoğaltım denemelerinde en yüksek sürgün uzunluğu değerlerini 1 mg/L BAP içeren MS ortamından elde etmişlerdir. Bu bulgular çalışmamızda 'Toro Canyon' klonal anacında elde ettiğimiz bulgular ile büyük ölçüde uyuşmaktadır. Farklı avokado genotiplerinde *in vitro* koşullarda sürgün gelişimi amacıyla çok sayıda araştırmacının çalışmalarında BAP'ı esas aldıkları ve sürgün uzunluğu üzerine olumlu etkilerini belirledikleri görülmektedir. Bu araştırmalarda sürgün uzunluğunun 15.35 ile 48.00 mm arasında değiştiğini bildirmişlerdir (Cortés-Rodríguez vd. 2011; Hiti-Bandaralage 2018; El-Fadl vd. 2022; Qasrawi ve Sholi 2022). Ancak bu sonuçlar bizim bulgularımızdan farklılık göstermektedir. Bu farklılığın, kullanılan genotiplerin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada, 1 mg/L BAP konsantrasyonunun, 2 mg/L BAP konsantrasyonuna kıyasla daha yüksek sürgün uzunluğu değerleri sağladığı gözlenmiştir. Yüksek sitokinin konsantrasyonlarının, büyümeyi düzenleyici fizyolojik mekanizmalar üzerinde olumsuz etkilere yol açarak fizyolojik stres oluşturduğu ve bu durumun sürgün uzunluğunu baskıladığı bildirilmektedir (Ashraf vd. 2014). Ayrıca sürgün uzunluğu değerlerinin BAP içeren

ortamlarda, mT içeren ortamlara kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum, BAP'ın hücre bölünmesi ve büyümesini doğrudan teşvik eden güçlü bir sentetik sitokinin olmasından kaynaklanmaktadır (Aremu vd. 2012a). Parris vd. (2012) *Magnolia 'Ann'* türünde yaptıkları çalışmada BAP'ın, mT'ye kıyasla sürgün uzunluğu üzerinde daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar bizim bulgularımızla uyumludur.

'Duke 7' ve 'Toro Canyon' klonal anaçlarında yaprak sayısı, alt kültür aşamalarında uygulanan farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarına bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Sürgün uzunluğunda olduğu gibi alt kültür sayısı arttıkça eksplantlardaki yaprak sayısı da artış göstermektedir. Hiti-Bandaralage (2018) farklı avokado çeşitlerinin mikro çoğaltımı üzerine yürüttükleri çalışmada, alt kültür sayısının artmasının, yaprak sayısını pozitif yönde etkilediğini bildirmiştir. Bulgularımız, bu araştırıcı ile uyum içerisinde bulunmuştur. Farklı sitokinin tipleri ile konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerine etkileri değerlendirildiğinde, 'Duke 7' klonal anacında en yüksek yaprak sayısı 6.72 adet ile sitokinin olarak 2 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında sağlanmıştır (Çizelge 4.23). Wessels (1996), 'Duke 7' klonal anacının *in vitro* koşullarda sürgün gelişiminde en yüksek yaprak sayısının (4.5 adet) 1 mg/L BAP uygulamasında elde edildiği rapor edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara kıyasla, bulgularımızda 1 mg/L BAP içeren besin ortamında daha yüksek yaprak sayısı değerleri elde edilmiştir. 'Duke 7' klonal anacı üzerine yürütülen bu çalışmada, BAP uygulamalarında yaprak sayısı mT uygulamalarına kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu durumun, BAP'ın hücre bölünmesini teşvik ederek yaprak oluşumunu doğrudan arttırmasıyla ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Aremu vd. 2012a). 'Toro Canyon' klonal anacında ise en yüksek yaprak sayısı 4.45 adet ile sitokinin olarak 1 mg/L mT ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında sağlanmıştır (Çizelge 4.24). Hiti-Bandaralage vd. (2015) ve Hiti-Bandaralage (2018), farklı avokado çeşitleri üzerinde yürüttükleri çalışmada mT uygulamalarında daha yüksek yaprak sayısı elde edildiğini bildirmektedirler. 'Toro Canyon' klonal anacında elde ettiğimiz bulgular, bu araştırma sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Aromatik bir sitokinin olan mT, yaprak gelişimini BAP'a kıyasla daha etkin şekilde desteklemektedir. Bu etkinin, mT'nin klorofil bozulmasını geciktirici ve yaprak yaşlanmasını yavaşlatıcı özellikleri sayesinde, yaprakların daha uzun süre canlı kalmasını ve sağlıklı gelişimini teşvik etmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (George vd. 2008; Aremu vd. 2012a; Ahmad ve Anis 2019).

Sürgün gelişme durumu 0-4 puan skalasına (0=gelişim yok, 1=zayıf, 2=orta, 3=iyi ve 4=kuvvetli) göre değerlendirilmiştir. Bu değerler, alt kültür sayılarına ve sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarına göre farklılık göstermiştir. Her iki klonal anaçta da sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının etkileri alt kültür sayısının artmasıyla birlikte sürgün gelişimini kademeli olarak arttırmıştır. Hiti-Bandaralage (2018), sürgünlerin gelişiminin alt kültür sayısı arttıkça yükseldiğini bildirmiştir. Araştırmacının bu bulgusu, çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ile uyumlu gözükmektedir. Araştırmamızda 'Duke 7' klonal anacında en yüksek sürgün gelişimi 3.53 puan (kuvvetli düzey) ile sitokinin olarak 1 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında sağlanmıştır (Çizelge 4.25). 'Toro Canyon' klonal anacında ise en yüksek sürgün gelişimi 3.42 puan ile sitokinin olarak 1 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında sağlanmıştır (Çizelge 4.26). 'Duke 7' ve 'Toro Canyon' klonal anaçlarında sürgün gelişme durumu üzerine sitokinin tipi ve konsantrasyonlarının etkisini değerlendiren herhangi bir çalışmanın

bulunmaması nedeniyle, doğrudan bir karşılaştırma yapılamamıştır. Hiti-Bandaralage (2018) ‘Velvick’ anacında, en yüksek puanın mT-A ve BAP+ NAA içeren besin ortamlarında elde edildiği bildirilmiştir. Bulgularımız Hiti-Bandaralage (2018)’un sonuçları ile kısmen uyumudur. Gentile vd. (2017) *Corylus colurna* L. türünün *in vitro* çoğaltımında sürgün gelişimi açısından mT’nin, BAP’a kıyasla daha etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar, avokadonun sürgün gelişimi ile ilgili olarak mT uygulamalarından elde ettiğimiz bulgular ile uyuşmamaktadır.

Sitokinin tipleri/konsantrasyonlarının, canlılık oranı, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı ve sürgün gelişme durumu gibi olumlu parametrelerin yanı sıra, kararma, kallus ve camlaşma gibi olumsuz parametreler üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait eksplantlarda, tüm sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarında alt kültür sayısının artmasıyla birlikte doku kararmasında belirgin şekilde artış kaydedilmiştir (Çizelge 4.27 ve 4.28). Mansoor (2018), ‘Edranol’ avokado çeşidinde kararma oranının alt kültür sayısına bağlı olarak azaldığını bildirmiştir. Bulgularımız, Mansoor (2018)’in sonuçlarıyla örtüşmemektedir. ‘Duke 7’ klonal anacında, en yüksek kararma oranı %20.00 ile 2 mg/L BAP ve alt kültür olarak II. ve III. alt kültür aşamalarında gözlenmiştir. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek kararma oranı %20.00 ile 1 ve 2 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise II. ve III. alt kültür aşamalarında kaydedilmiştir. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında kararma oranı üzerine sitokinin tipi ve konsantrasyonlarının etkisini değerlendiren herhangi bir çalışmaya rastlanmadığından, doğrudan bir karşılaştırma yapılamamaktadır. Nhut vd. (2008) ‘Hass’ avokado çeşidinde BAP içeren besin ortamında kararma oranının diğer uygulamalara kıyasla daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu durumun, BAP’ın bazı genotiplerde fenolik bileşiklerin oksidasyonunu teşvik ederek, doku kararmasını arttırabileceğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Öte yandan Hiti-Bandaralage vd. (2015), ‘Velvick’ avokado anacının mikro çoğaltımında mT içeren besin ortamlarında fenolik kararmanın azaldığını rapor etmiştir. Bu doğrultuda, çalışmamızda her iki klonal anaçta da 1 mg/L mT uygulamasının en düşük kararma oranlarını sağlaması, literatürde bildirilen bu bulgularla uyumlu bulunmuştur. Ayrıca diğer bitki türlerinden *Harpagophytum procumbens* (Bairu vd. 2009), *Ulmus glabra* (Mirabbasi ve Hosseinpour 2014) ve *Corylus colurna* L. (Gentile vd. 2017) *in vitro* koşullarda çoğaltımında kararma oranının mT içeren ortamlarda daha düşük olduğu bildirilmiştir. Araştırmacıların bu sonuçları bulgularımız ile uyumludur. mT’nin *in vitro* koşullarda BAP’a kıyasla daha düşük doku kararmasına neden olması, genellikle bu sitokininin yüksek metabolik stabilitesine, fenolik bileşiklerin oksidasyonunu indüklemeye potansiyelinin daha düşük olmasına ve yapısal özellikleri nedeniyle bazı bitki türlerinde daha az toksik metabolit üretmesine bağlanmaktadır (Aremu vd. 2012a; Bairu vd. 2011).

İncelenen bir diğer kriter olan kallus oluşum oranı, uygulanan sitokinin tipi ve konsantrasyonuna bağlı olarak her alt kültür aşamasında farklılık göstermiştir. Her iki klonal anaçta da alt kültür sayısındaki artışa bağlı olarak kallus oranında da artış sağlanmıştır. Mansoor (2018) ‘Edranol’ çeşidinin mikro çoğaltımı üzerine yaptığı çalışmada, artan alt kültür sayısının sadece doku kararmasını değil, aynı zamanda kallus oluşum oranını da azalttığını rapor etmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızdan elde edilen bulgularla uyumsuz bulunmuştur. Bu farklılığın, kullanılan avokado genotiplerinin farklı fizyolojik tepkiler vermesine, besin ortamı bileşimleri veya kültür koşullarındaki (ışık şiddeti, sıcaklık, alt kültür süresi vb.) farklılıklardan kaynaklanabileceği

düşünülmektedir. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında, en yüksek kallus oluşum oranı %30.00 ile 2 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında gözlenmiştir (Çizelge 4.29 ve 4.30). Her iki klonal anaçta da kallus oranı üzerine sitokinin tipi ve konsantrasyonlarının etkisini doğrudan değerlendiren herhangi bir çalışmaya ulaşılamadığından, karşılaştırma yapılamamıştır. BAP’ın yüksek konsantrasyonlarda (4 mg/L ve üzeri) kullanımı, *in vitro* koşullarda avokadonun sürgün gelişimini baskılayarak anormal büyüme ve aşırı kallus oluşumuna neden olduğu, bazı çalışmalar ile desteklenmiştir (Gaba 2005; Zulfiqar vd. 2009; Hiti-Bandaralage vd. 2017). Diğer bitki türlerinden *Harpagophytum procumbens* türüne ait genotipin mikro çoğaltımında, eksplantların dip kısmında gözlenen kallus oluşumunun kültür ortamına BAP eklenmesiyle ilişkili olduğunu bildirilmiştir (Bairu vd. 2011). Gentile vd. (2017) ise *Corylus colurna* L.’nin türünün mikro çoğaltımı üzerine yaptıkları çalışmada, sürgünlerde kallus oluşumunun özellikle BAP içeren besin ortamlarında gözlendiğini belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında *in vitro* çoğaltımda karar ma oranı üzerine BAP ve mT uygulamaları arasında önemli bir farklılık ortaya çıkmış ve mT uygulamalarının daha düşük kallus oluşumuna neden olduğu gözlenmiştir. Bu durum, mT’nin bitki dokularında BAP’a kıyasla daha hızlı taşınması ve bu özelliği sayesinde hormon birikimini engelleyerek kallus oluşumunu baskılamasından kaynaklandığı çeşitli araştırmalarda belirlenmiştir (Kamínek vd. 1997; Esteves vd. 2014).

Camlaşma oranı açısından değerlendirildiğinde, her iki anaçta da sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının etkilerinin alt kültür sayısındaki artışla birlikte arttığı belirlenmiştir. Mansoor (2018), ‘Edranol’ avokado çeşidinin *in vitro* koşullarda gelişiminde karar ma ve kallus oranlarının aksine, camlaşma oranının alt kültür sayısındaki artışla birlikte yükseldiğini bildirmiştir. Söz konusu çalışma bu yönü ile bulgularımızla örtüşmektedir. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarının camlaşma oranı üzerine etkileri değerlendirildiğinde, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında en yüksek camlaşma oranı, sitokinin olarak 2 mg/L BAP ve alt kültür olarak ise III. alt kültür aşamasında kaydedilmiştir (Çizelge 4.31 ve 4.32). Her iki klonal anaçta da camlaşma oranı üzerine sitokinin tipi ve konsantrasyonlarının etkisini doğrudan değerlendiren herhangi bir çalışmaya ulaşılamadığından, karşılaştırma yapılamamıştır. Avokado da farklı çeşitlerde yapılan *in vitro* çalışmalarda, 2 mg/L ve üzeri BAP konsantrasyonlarında camlaşma oranının arttığı bildirilmiştir (Barceló-Munoz ve Pliego-Alfaro 2003; Mansoor 2018). Bulgularımız, bu araştırmacıların bulguları ile uyumludur. Diğer bitki türlerinde yapılan çalışmalarda ise BAP içeren besin ortamlarında camlaşma oranı diğer sitokininlere kıyasla daha yüksek olduğu ve bu etkinin konsantrasyonla birlikte belirgin şekilde arttığı bildirilmiştir (Bairu vd. 2007 ve Gentile vd. 2017). Yüksek konsantrasyonlardaki BAP uygulamaları, hücre bölünmesini teşvik etmekle birlikte, hücre duvarı kalınlığının yeterince oluşmamasına neden olarak mekanik zayıflık, doku bütünlüğünde bozulma ve camlaşma gibi sorunlara yol açmaktadır (Gantait ve Mahanta 2022). Çalışmamızda her iki klonal anaçta da en düşük camlaşma oranı 1 mg/L mT içeren besin ortamlarında gözlenmiştir. Diğer bitki türlerinden, *Golden Delicious* ve *Royal Gala* (Dobránszki vd. 2005; Poisson vd. 2016), *Sisyrinchium laxum* (Ascough vd. 2011), *Huernia hystrix* (Amoo ve Van Staden 2013) ve *Eucalyptus* türlerinin (Van der Westhuizen 2014) *in vitro* çoğaltımında yapılan çalışmalarda da mT uygulamalarında daha düşük camlaşma oranlarının meydana geldiği belirtilmiştir. Bulgularımız, bu araştırmacıların sonuçları ile uyumludur.

‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında değerlendirilen bir diğer önemli parametre grubu; yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ile SPAD (klorofil yoğunluğu) değeri gibi fizyolojik ölçütlerdir. Yapılan ölçümler sonucunda, ‘Duke 7’ klonal anacında yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ile SPAD değeri açısından en yüksek değerler sitokinin olarak 1 mg/L mT uygulamasında kaydedilmiştir (Çizelge 4.33). Buna karşılık ‘Toro Canyon’ klonal anacında en başarılı yaprak gelişimi ve klorofil yoğunluğu sitokinin olarak 2 mg/L mT uygulamasında gözlenmiştir (Çizelge 4.34). Avokado çeşitlerinde, özellikle ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarında söz konusu fizyolojik parametreler üzerine sitokinin tipi ve konsantrasyonlarının etkilerini değerlendiren herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmadığından, doğrudan bir karşılaştırma yapılamamıştır. Farklı bitki türlerinden Türk fındığı (*Corylus colurna*) (Gentile vd. 2017), erik anaçları (Monticelli vd. 2017; Gentile vd. 2014), kiraz (*Prunus avium*) (Kumar vd. 2024), Williams muz (Musa spp.) (Aremu vd. 2012b) ve *Artocarpus lakoocha* (Gupta ve Biraji 2022) türlerinin *in vitro* çoğaltımında mT uygulamalarının sürgünlerde yaprak morfolojisini iyileştirdiği ve klorofil içeriğini arttırdığı bildirilmiştir. Bulgularımız, bu araştırmacıların bulguları ile uyumlu buluşmuştur. Benzer şekilde, odunsu olmayan bitki türleri üzerinde yapılan *in vitro* çoğaltım çalışmalarında da *Coleonema album* (Fajinmi vd. 2014), *Merwillaplumbea* (Amoo vd. 2015) ve *Spathiphyllum floribundum* (Werbrouck vd. 1996) türlerinde mT uygulamalarının klorofil içeriğini arttırdığı ve fotosentetik kapasiteyi iyileştirdiği bildirilmiştir. Literatürde yer alan bu bulgular, mT’nin yaprak gelişimi, yaş ve kuru yaprak ağırlığı, klorofil içeriği ve fotosentetik kapasite gibi önemli fizyolojik parametreler üzerinde anlamlı iyileşmeler sağladığını ortaya koymaktadır. Ayrıca klorofil kaybının azaltılması, poliamin düzeylerinin artırılması ve dokulardaki azot içeriğinin yükseltilmesi gibi derinlemesine fizyolojik süreçler üzerinde de olumlu etkiler gösterdiği rapor edilmiştir (Palavan-Unsal vd. 2004; Aremu vd. 2012b; Amoo vd. 2015; Ahmad ve Anis 2019). Tüm bu literatür verileri değerlendirildiğinde, topolin türevlerinin *in vitro* koşullarda gösterdiği etkilerin bitki türleri ve genotipler arasında önemli farklılıklar gösterebildiği anlaşılmaktadır. Bu durum, optimal mT konsantrasyonunun belirlenmesinde hem tür düzeyindeki fizyolojik ve morfolojik farklılıkların hem de genotipik özelliklerin dikkate alınması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmanın üçüncü aşamasında, ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait mikro çeliklerin *in vitro* koşullarda köklenmesi üzerine farklı oksin tipleri (IBA ve NAA) ile konsantrasyonlarının (0, 0.5, 1, 2 ve 3 mg/L) etkileri araştırılmıştır. Bölüm 4.3’te belirtildiği üzere köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, kök gelişme durumu ve kallus gelişme durumunları değerlendirilmiştir. (Çizelge 4.35 ve 4.36). ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarına ait mikro çeliklerde farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarının köklenme oranı üzerine etkileri değerlendirildiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacı için en yüksek köklenme oranı %45.00 ile 1 mg/L IBA içeren besin ortamında belirlenmiştir (Çizelge 4.35). Bu çalışmada elde edilen köklenme oranı, ‘Duke 7’ klonal anacı için Pliego-Alfaro ve Murashige (1987) tarafından bildirilen değere kıyasla daha düşük (%50) ancak Wessels (1996) tarafından bildirilen orana göre daha yüksek (%20) bulunmuştur. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek köklenme oranı %25.00 ile 2 mg/L IBA uygulamasında saptanmıştır. ‘Toro Canyon’ klonal anacında farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarının *in vitro* koşullarda mikro çeliklerin köklenmesi üzerindeki etkileri, literatürde daha önceden değerlendirilmemiş olup, bu tez çalışmasında ilk kez araştırılmıştır. Avokadonun *in vitro* koşullarda köklenmesi, mikro çoğaltım sürecinin en karmaşık ve başarıyı sınırlandıran aşamalarından biri olarak değerlendirilmektedir (Nel ve

Kotzé 1984; Zulfiqar vd. 2009). Köklenmede elde edilen sınırlı başarının, olgun avokado materyallerinin *in vitro* koşullarda köklendirilmesindeki zorluklardan ve köklenme başarısının büyük ölçüde genotipik farklılıklara bağlı olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Avokado da olgun materyaller ile yapılan köklendirme çalışmaları oldukça sınırlıdır. ‘Barceló-Muñoz vd. (1999) ‘Mexican (IV-8)’ çeşidinin *in vitro* köklendirilmesinde besin ortamına 1 mg/L IBA ilavesiyle %90 oranında köklenme elde ettiklerini belirtmişlerdir. Cortés-Rodríguez vd. (2011) ise *in vitro* koşullarda Meksika soyu genotipine (773) ait mikro çeliklerde en yüksek köklenme oranını 0.5 mg/L IBA içeren ortamda %57.5 olarak belirlemişlerdir. El-Fadl vd. (2022) tarafından, avokado genotipine ait mikro çelikler 4 mg/L IBA ve 0.5 mg/L NAA kombinasyonunu içeren besin ortamında kültüre alınmış ve %80 oranında köklenme elde edilmiştir. Araştırmacılar, farklı avokado genotiplerinde IBA’nın 0.5-4 mg/L arasında değişen konsantrasyonlarında %50’nin üzerinde köklenme sağladıklarını bildirmişlerdir. Bu bulgular, çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile kısmen uyushmaktadır. Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda, IBA uygulamasının her iki genotipte de NAA’ya kıyasla daha yüksek köklenme oranı sağladığı belirlenmiştir. IBA’nın kök rejenerasyonu üzerindeki üstün etkisinin yalnızca avokado ile sınırlı olmadığı, farklı bitki türlerinde yürütülen çalışmalarda da ortaya konmuştur. Diğer bitki türlerinde yürütülen *in vitro* köklendirme çalışmalarında da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Nitekim badem (*Prunus dulcis*) (Ainsley vd. 2001), stevia (*Stevia rebaudiana*) (Hassanen ve Khalil 2013), zeytin (*Olea europaea*) (Ali vd. 2009) ve muz (*Musa spp.*) (Rahman vd. 2013) türlerinde yapılan araştırmalarda, IBA uygulamasının adventif kök oluşumunu teşvik etme açısından NAA’ya kıyasla daha etkili olduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, çalışmamızda elde edilen sonuçları destekler niteliktedir.

İncelen diğer bir kriter olan kök sayısı üzerine, farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarının etkileri incelendiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek kök sayısı 2.33 adet ile 1 mg/L IBA uygulamasında kaydedilmiştir (Çizelge 4.35). Pliego-Alfaro ve Murashige (1987) aynı klonal anacın *in vitro* koşullarda köklendirilmesi sürecinde ortalama kök sayısını 2–3 adet olarak bildirmişlerdir. Sonuçlarımız, bu araştırmacıların bulguları ile uyumlu bulunmuştur. ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek kök sayısı 2.20 adet ile 2 mg/L IBA uygulamasında kaydedilmiştir (Çizelge 4.36). Avokadonun farklı çeşitlerinin *in vitro* koşullarda köklendirilmesi üzerine yapılan çalışmalarda kök sayısı, oksin tipi ve konsantrasyonuna göre değişkenlik göstermektedir. Cortés-Rodríguez vd. (2011) 0.5 mg/L IBA ilave edilmiş besin ortamında, ortalama kök sayısını 2.25 adet; Qasrawi ve Sholi (2022) 1 mg/L IBA içeren ortamda 3.2 adet; El-Fadl vd. (2022) 4 mg/L IBA + 0.5 mg/L NAA kombinasyonunda ise 5.1 adet olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen bulgular, araştırmacıların sonuçlarından farklılık göstermektedir. Bu farklılığın, kullanılan genotip, uygulanan oksin tipi ve konsantrasyonlarının yanı sıra kültür koşullarındaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Nhut vd. (2008) ‘Hass’ avokado çeşidinin mikro çoğaltımı sürecinde köklenmenin teşviki amacıyla %2.0 pepton ve 0.5 mg/L NAA içeren besin ortamını kullanmış ve bu kombinasyonun ortalama 2.3 adet kök oluşumuna olanak sağladığını rapor etmişlerdir. Bulgularımız, bu araştırma bulguları ile örtüşmemektedir. IBA, yalnızca köklenme oranı açısından değil, aynı zamanda oluşan kök sayısı bakımından da NAA’ya kıyasla daha etkili bir oksin olarak öne çıkmaktadır. Bu etkinlik, IBA’nın daha stabil bir kimyasal yapıya sahip olması ve adventif kök primordiumlarının oluşumunu destekleyici etkileriyle ilişkilendirilmektedir (De Klerk vd. 1999; Ludwig-Müller 2000).

Bir diğer köklendirme parametresi olan kök uzunluğu açısından, her iki klonal anaçta uygulanan farklı oksin tipleri ve konsantrasyonlarının etkileri incelendiğinde, ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek kök uzunluğu 18.27 mm ile 1 mg/L IBA uygulamasında elde edilmiştir. (Çizelge 4.35). ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek kök uzunluğu 20.16 mm ile 2 mg/L IBA uygulamasında kaydedilmiştir (Çizelge 4.36). El-Fadl vd. (2022) avokado genotipinin mikro çoğaltımında *in vitro* koşullarda köklenmesinde 4 mg/L IBA + 0.5 mg/L NAA kombinasyonunun kullanıldığı ortamda kök uzunluğunu 93.00 mm olarak bildirilmiştir. Bulgularımız araştırmacıların bulguları ile uyumlu bulunmamıştır. ‘Duke 7’ klonal anacında kök uzunluğu üzerinde IBA’nın yanı sıra NAA uygulamalarının da olumlu etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Her iki oksin tipi de kök uzamasını teşvik etmiş ancak etki derecesi değişiklik göstermiştir. Nhut vd. (2008) ise ‘Hass’ avokado çeşidinin mikro çoğaltımı sürecinde köklenmenin teşviki amacıyla %2.0 pepton ve 0.5 mg/L NAA içeren besin ortamı kullanmış ve bu koşullarda kök uzunluğunu 140.00 mm olarak rapor etmişlerdir. ‘Toro Canyon’ klonal anacında yapılan IBA uygulamasında, kök uzunluğu bakımından NAA uygulamasına kıyasla daha yüksek değerler elde edilmiştir. IBA, kök oluşumuna yönelik hücre içi sinyal iletim mekanizmalarını NAA’ya kıyasla daha etkili bir şekilde aktive ederek, kök gelişimi sürecinde daha uzun ve sağlıklı köklerin oluşumunu desteklemektedir (Simon ve Petrášek 2011). Ainsle vd. (2001) bademin *in vitro* koşullarda köklendirilmesinde IBA uygulamalarının genellikle daha uzun ve sağlıklı köklerin oluşumunu teşvik ettiğini bildirmiştir. Benzer şekilde De Klerk vd. (1999) elmanın *in vitro* köklenme sürecinde IBA’nın, NAA’ya kıyasla daha etkili olduğunu raporlamıştır. ‘Toro Canyon’ klonal anacında elde ettiğimiz bulgular da bu araştırmacıların sonuçları ile uyum göstermektedir.

Çalışmamızda, kök gelişme durumu Dumanoglu vd. (2009) tarafından geliştirilen köklenme derecelendirme sistemi temel alınarak görsel değerlendirme yöntemiyle belirlenmiştir. Söz konusu sistemde; 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi ve 4 = çok iyi olacak şekilde puanlama yapılmış ve bu sayede kök gelişimi standart bir ölçek üzerinden nesnel olarak değerlendirilmiştir. Mevcut literatürde, bu standart ölçek veya benzeri bir sistemin avokadonun *in vitro* köklendirme çalışmalarında daha önce kullanılmadığı ve ilk kez bu çalışmada uygulandığı tespit edilmiştir. ‘Duke 7’ klonal anacının *in vitro* köklenmesinde en yüksek kök gelişimi 3 puan ile 1 mg/L IBA uygulamasında iyi düzeyde belirlenmiştir (Çizelge 4.35). ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise en yüksek kök gelişimi 2.20 puan ile 2 mg/L IBA uygulamasında orta düzeyde kaydedilmiştir (Çizelge 4.36). Bu parametre, farklı bitki türlerinde yapılan çalışmalarda belirli sınırlar dahilinde değerlendirilmiştir. Dumanoglu vd. (2009), farklı elma genotiplerinde (*Malus × domestica* Borkh.) *in vitro* köklenme üzerine yaptıkları çalışmada, 3 mg/L IBA içeren ortamda köklenme düzeyini 0.2 puan, 0.25 mg/L IBA içeren ortamda ise 2.5 puan olarak bildirmişlerdir. Ancak elde ettiğimiz bulgular, söz konusu araştırmanın sonuçlarıyla örtüşmemektedir.

Kallus gelişme durumu derecelendirme ölçeği, Ahmed vd. (2001) tarafından avokadonun ‘Hass’ avokado çeşidinde köklendirme aşamasında kullanılmıştır. Bu yöntemde kallus gelişimi; 0 = yok, 1 = az, 2 = orta ve 3 = yüksek olmak üzere dört düzeyde sınıflandırılmakta ve kallus oluşumu, standart bir ölçek aracılığıyla yarı-nicel olarak değerlendirilebilmektedir. Söz konusu derecelendirme, Aygun ve Dumanoglu (2015) tarafından tanımlanan görsel değerlendirme yöntemiyle de uyumlu bulunmuştur. ‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarının *in vitro* köklenmesinde en yüksek kallus gelişimi 2.80 puan ile 3 mg/L NAA uygulamasında yüksek düzeyde belirlenmiştir

(Çizelge 4.35 ve 4.36). Her iki klonal anaçta da IBA ve NAA'nın yüksek konsantrasyonlarında kallus gelişiminin arttığı belirlenmiştir. Wessels (1996) 'Duke 7' klonal anacının *in vitro* köklenmesinde NAA uygulamalarının, kök oluşumuna ek olarak belirgin düzeyde kallus oluşumunu da teşvik ettiği bildirilmiştir. Ahmed vd. (2001) *in vitro* koşullarda avokado mikro çeliklerinden kök elde edilmesi sürecinde, NAA'nın, özellikle kallus oluşumunu artırıcı yönde etkili olduğunu belirtmişlerdir. Rabuma vd. (2020) farklı avokado genotiplerine ait mikro çeliklerin köklendirilmesinde, yüksek konsantrasyonda IBA (≥ 2.0 mg/L) ve NAA (≥ 3.0 mg/L) içeren ortamların belirgin kallus oluşumunu teşvik ettiğini, ancak bu koşullar altında kök oluşumunun belirgin şekilde baskılandığını bildirmişlerdir. Bulgularımız bu araştırmacıların bulguları ile uyumlu bulunmuştur. Yüksek konsantrasyonlarda uygulanan oksinler, hücrelerde aşırı hormon birikimine ve kallus oluşumunun artmasına yol açabilmekte; bu durum, kök gelişimi için gerekli olan vasküler bağlantının oluşumunu engelleyerek bitkinin sağlıklı köklenmesini olumsuz etkileyebilmektedir (Williams ve Smith 1991; Mokotedi vd. 2000; Gaba 2005). De Klerk vd. (1997), *Malus* 'Jork 9' mikro çeliklerinin *in vitro* köklenmesi sırasında NAA uygulamasının, köklenme üzerindeki olumsuz etkilerinin yanı sıra, belirgin düzeyde kallus oluşumunu teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Hammerschlag vd. (1987) şeftali çeşitlerinin *in vitro* köklenmesi üzerine yaptıkları çalışmada, yüksek konsantrasyonda uygulanan NAA'nın istenmeyen düzeyde kallus oluşumuna yol açtığını bildirmişlerdir. NAA uygulamasının kallus oluşumu üzerindeki etkileri De Klerk vd. (1997) ile Hammerschlag vd. (1987) tarafından bildirilen bulgularla uyumlu bulunmuştur.

Çalışmanın son aşaması olan dış koşullara alıştırma aşamasında, her iki klonal anaçtan elde edilen köklenmiş mikro çeliklerin *ex vitro* koşullarda gösterdikleri hayatta kalma performansları araştırılmıştır. Bölüm 4.4'te belirtildiği üzere hayatta kalma performansları dış koşullara aktarımdan 2 ve 6 hafta sonra yapılan gözlemler doğrultusunda değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede 'Duke 7' klonal anacında dış koşullara aktarımdan 2 hafta sonra başarı oranı %87.50, 'Toro Canyon' klonal anacında ise %81.25 olarak belirlenmiştir. Ancak altıncı haftanın sonunda bu oranlar 'Duke 7' klonal anacı için %43.75'e, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise %31.75'e kadar gerilemiştir (Çizelge 4.37). Hiti-Bandaralage vd. (2018), avokadonun mikro çoğaltımı sonrasında bitkiciklerin dış koşullara adaptasyonunu sağlamak amacıyla bitkicikler 2–3 gün boyunca steril deiyonize suda bekletildikten sonra, plastik örtüyle kaplanmış saksılarda 4 hafta süreyle inkübe edilmesi gerektiğini belirtmiş ve bu yöntemin %97.00 oranında başarı sağladığını bildirmiştir. Bulgularımız ile söz konusu araştırmacıların sonuçları arasında farklılık saptanmıştır. Bu farklılığın en önemli nedeninin, çalışmamızda kullanılan genotiplerin farklı olması ve alışma sürecine ilişkin gözlemlerimizin daha uzun bir döneme (6 hafta) ait olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

El-Fadl vd. (2022) ve Barceló-Muñoz ve Pliego-Alfaro, (1999) tarafından yürütülen çalışmalarda, mikro çoğaltılmış avokado genotiplerinin dış koşullara adaptasyonunda sekizinci haftanın sonunda yaklaşık %70 oranında başarı elde edilmiştir. Bu oran, çalışmamızda altıncı haftanın sonunda 'Duke 7' klonal anacında elde edilen en yüksek adaptasyon oranı olan %43.75'ten daha yüksektir. Buna ek olarak Cortés-Rodríguez vd. (2011) farklı avokado genotipleri ile yürüttükleri çalışmalarında, *in vitro* koşullarda elde edilen bitkiciklerin dış koşullara kademeli olarak alıştırıldığını bildirmiştir. Alıştırma ortamı olarak 1:1 oranında torf ve perlit karışımı kullanılmış olup,

bu uygulama sonucunda %70 oranında adaptasyon başarısı elde edilmiştir. Bu bulgu da çalışmamızda elde edilen değerlerden daha yüksek olup, söz konusu farklılıkların kullanılan genotipler ve alıştırma ortamı koşullarından kaynaklandığı düşünülmektedir.



6. SONUÇLAR

‘Duke 7’ ve ‘Toro Canyon’ klonal anaçlarının mikro çoğaltım olanaklarının araştırıldığı bu çalışma, dört aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada, WPM, MS, B5 ve DKW olmak üzere 4 temel besin ortamı denenmiş, sürgün gelişimi açısından en uygun temel besin ortamı belirlenmiştir. İkinci aşamada, sürgün gelişimi ve çoğaltımı amacıyla en uygun sitokinin tipleri (BAP ve mT) ve konsantrasyonlarının (1 ve 2 mg/L) belirlenmesi hedeflenmiştir. Üçüncü aşamada, mikro çeliklerin köklenmesini sağlamak amacıyla en uygun oksin tipleri (IBA ve NAA) ve konsantrasyonlarının (0, 0.5, 1, 2 ve 3 mg/L) belirlenmesi amaçlanmıştır. Dördüncü ve son aşamada ise *in vitro* bitkiciklerin dış koşullara adaptasyon performansları incelenmiştir.

Araştırmadan elde edilen sonuçlara, aşamalar göz önüne alınarak aşağıda yer verilmiştir.

1. Temel besin ortamları ile ilgili denemede, ‘Duke 7’ klonal anacında canlılık oranı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı ve sürgün gelişme düzeyi bakımından en yüksek değerler WPM besin ortamında, ‘Toro Canyon’ klonal anacında bu parametreler açısından en iyi sonuçlar MS besin ortamında kaydedilmiştir.
2. Temel besin ortamları ile ilgili denemede, her iki klonal anaçta morfolojik açıdan olumsuzluk olarak değerlendirilen kararma ve kallus oluşumu, DKW besin ortamında en yüksek düzeyde gözlenmiştir. Camlaşma ise ‘Duke 7’ klonal anacında MS ortamında, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise DKW besin ortamında en yüksek oranda tespit edilmiştir.
3. Temel besin ortamlarına ilişkin yürütülen denemede, fizyolojik parametreler açısından yaprak alanı, yaprak yaş ve kuru ağırlığı ile SPAD değeri, ‘Duke 7’ klonal anacında WPM besin ortamında, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise MS besin ortamında en yüksek düzeyde tespit edilmiştir.
4. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarına yönelik yürütülen denemede, ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek canlılık oranı BAP’ın 1 mg/L konsantrasyonunda, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise BAP ve mT’nin 1 mg/L konsantrasyonunda belirlenmiştir.
5. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonları ile ilgili denemede, her iki anaçta da ortalama sürgün sayısı bakımından en yüksek değerler, BAP’ın 2 mg/L konsantrasyonunda, ortalama sürgün uzunluğu değerleri ise 1 ve 2 mg/L BAP konsantrasyonlarında kaydedilmiştir.
6. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarına yönelik yürütülen denemede, ‘Duke 7’ klonal anacında en yüksek ortalama yaprak sayısı değerleri, BAP’ın 1 ve 2 mg/L konsantrasyonlarında, ‘Toro Canyon’ klonal anacında ise mT’nin 1 mg/L konsantrasyonunda saptanmıştır.
7. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarına yönelik yürütülen denemede, her iki klonal anaçta da en yüksek sürgün gelişim değeri, BAP’ın 1 mg/L konsantrasyonunda kaydedilmiştir.

8. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonlarına yönelik yürütülen denemede, her iki klonal anaçta da morfolojik açıdan olumsuz olarak değerlendirilen kararma, kallus oluşumu ve camlaşma bakımından en yüksek değerler, BAP'ın 2 mg/L konsantrasyonunda saptanmıştır.
9. Sitokinin tipleri ve konsantrasyonları ile ilgili denemede, fizyolojik parametrelerin tamamı açısından en yüksek değerler, 'Duke 7' klonal anacında mT'nin 1 mg/L konsantrasyonunda, 'Toro Canyon' klonal anacında ise mT'nin 2 mg/L konsantrasyonunda belirlenmiştir.
10. Oksin tipleri ve konsantrasyonları ile ilgili denemede, 'Duke 7' klonal anacında köklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu ve kök gelişme durumu açısından en yüksek değerler IBA'nın 1 mg/L konsantrasyonunda elde edilmiş, 'Toro Canyon' klonal anacında ise bu parametreler bakımından en başarılı sonuçlar IBA'nın 2 mg/L konsantrasyonunda kaydedilmiştir.
11. Oksin tipleri ve konsantrasyonları ile ilgili denemede, her iki klonal anaçta da kallus gelişimi açısından en yüksek değerler, NAA'nın 3 mg/L konsantrasyonunda kaydedilmiştir.
12. Dış koşullara alışma oranı açısından yapılan değerlendirmede, büyüme kabine alındıktan iki hafta sonra aklimatizasyon başarı oranları, 'Duke 7' klonal anacı için %87.50, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise %81.25 olarak belirlenmiştir.
13. Dış koşullara alışma oranı açısından yapılan değerlendirmelerde, zaman ilerledikçe bitkiciklerin dış koşullara adaptasyon oranlarında azalma gözlenmiş ve altıncı haftanın sonunda bu oranlar 'Duke 7' klonal anacı için %43.75'e, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise %31.75'e kadar gerilemiştir.

Sonuç olarak, 'Duke 7' klonal anacı için en uygun temel besin ortamının WPM, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise MS ortamı olduğu belirlenmiştir. Sürgün gelişimi ve çoğaltımında her iki klonal anaç için en uygun sitokininin BAP olduğu belirlenmiş, sürgün gelişiminin teşvik edilmesinde 1 mg/L, sürgün çoğaltımının artırılmasında ise 2 mg/L konsantrasyonu en uygun düzey olarak tespit edilmiştir. Sürgünlerin morfolojik bütünlüğünün korunması ve kararma, kallus oluşumu ile camlaşma gibi bozuklukların en aza indirilmesinde her iki klonal anaç için sitokinin olarak mT, konsantrasyon olarak 1 mg/L en başarılı sonuçları vermiştir. Tüm fizyolojik parametreler için her iki klonal anaçta da en etkili sitokinin mT olarak belirlenmiş; optimum mT konsantrasyonu 'Duke 7' klonal anacı için 1 mg/L, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise 2 mg/L olarak tespit edilmiştir. Mikro çeliklerin köklendirilmesi çalışmalarında, her iki klonal anaç için de en etkili oksin tipinin IBA olduğu belirlenmiş ve optimum IBA konsantrasyonu, 'Duke 7' klonal anacı için 1 mg/L, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise 2 mg/L olarak tespit edilmiştir. Dış koşullara alıştırma aşamasında ise ikinci hafta sonunda her iki klonal anacın da dış koşullara alışma oranları %80'in üzerinde gerçekleşmişken, altıncı hafta sonunda bu oranların anlamlı düzeyde azaldığı ve 'Duke 7' klonal anacı için %43.75'e, 'Toro Canyon' klonal anacı için ise %31.75'e kadar gerilediği belirlenmiştir.

Araştırma sonucuna göre; gelecekte yürütülecek çalışmalarda, temel besin ortamı, büyüme düzenleyici tipleri ve konsantrasyonlarının genotipe göre optimize edilmesi

önerilmiştir. Benzer şekilde, aklimatizasyon aşamasında da çevresel koşulların kullanılan genotipe göre optimize edilmesi, bitkilerin dış ortama adaptasyonunda başarısı açısından büyük önem taşıdığı sonucuna varılmıştır.



7. KAYNAKLAR

- Acemi, A. 2011. Farklı konsantrasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicilerinin *Amsonia orientalis* Decne. (Apocynaceae)'in doku kültürü ile çoğaltılmasına olan etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli, 96 s.
- Aghaye, R.N.M., Yadollahi, A., Moeini, A. and Sepahvand, S. 2013. *In vitro* Culture of Gisela Semi-dwarf Rootstock. *Journal of Biological and Environmental Science*, 7(20): 57-64.
- Ahloowalia, B.S., Maluszynski, M. and Nichterlein, K. 2004. Global Impact of Mutation-Derived Varieties. *Euphytica*, 135: 187–204.
- Ahmad, A. and Anis, M. 2019. Meta-topolin improves *in vitro* morphogenesis, rhizogenesis and biochemical analysis in *Pterocarpus marsupium* Roxb.: a potential drug-yielding tree. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38(3): 1007–1016.
- Ahmad, N. and Strnad, M. 2021. Meta-topolin: A Growth Regulator for Plant Biotechnology and Agriculture (eBook), Springer, Singapore pp. 345.
- Ahmed, M.F., Kantharajah, A.S. and Holford, P. 2001. Factors affecting adventitious shoot and root formation from the avocado cultivar 'Hass' (*Persea americana* Mill.) *in vitro*. *Gartenbauwissenschaft*, 66(6): 293–297.
- Ainsley, P.J., HamMerschlag, F.A., Bertozzi, T., Collins, G.G. and Sedgley, M. 2001. Regeneration of Almond from Immature Seed Cotyledons. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 67: 221-226.
- Ali, A., Ahmad, T., Abbasi, N. A. and Hafiz, I.A. 2009. Effect of different concentrations of auxins on *in vitro* rooting of olive cultivar 'Moraiolo'. *Pakistan Journal of Botany*, 41(3): 1223-1231.
- Alizadeh, S. 2020. Elmada mikro çeliklerin *in vitro* köklenmesi üzerine IAA ve IBA ile stabilize edilmiş çinko oksit nanoparçacıkların etkileri. Ankara Üniversitesi Doktora Tezi, 91 sayfa.
- Amoo, S.O., Aremu, A.O., Moyo, M., Sunmonu, T.O., Plíhalová, L., Doležal, K. and Van Staden, J. 2015. Physiological and biochemical effects of a tetrahydropyranyl-substituted meta-topolin in micropropagated *Merwillia plumbea*. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 121: 579–590.
- Amoo, S.O. and Van Staden, J. 2013. Influence of plant growth regulators on shoot proliferation and secondary metabolite production in micropropagated *Huernia hystrix*. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 112(2): 249–256.
- Amoo, S., Finnie, J.F. and Van Staden, J. 2011. The role of meta-topolins in alleviating micropropagation problems. *Plant Growth Regulation*, 63: 197–206.
- Anderson, W.C. 1984. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of *Rhododendron*. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109: 343–347.
- Anis, M., Faisal, M. and Singh, S.K. 2003. Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through *in vitro* culture of shoot tip and nodal explants. *Plant Tissue Culture*, 13: 47–51.

- Anonim 1: Türkiye İstatistik Kurumu. www.tuik.gov.tr [Son erişim tarihi: 06.01.2025].
- Anonymous 1: Agricultural statistics. Food and Agricultural Organization of the United Nations. <http://www.faostat.fao.org/site> [Son erişim tarihi: 14.10.2025].
- Anonymous 2: Colorado State University/Food Source Information: Avocado. Available online at: <https://www.chhs.colostate.edu/fsi/food-articles/produce-2/avocados/> [Son erişim tarihi: 01.01.2025].
- Anonymous 3: Viveros Brokaw online. <http://viverosbrokaw.com/products/avocado/avocadorootstocks/?lang=en#:~:text=Toro%20Canyon&text=It%20has%20high%20tolerance%20to,efficient%20volume%20of%20fruit%20production> [Son erişim tarihi: 10.05.2024].
- Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C. and Papadakis, I. 2007. The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on *in vitro* rooting of the peach rootstock GF-677 explants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29(6): 559-561.
- Aremu, A.O., Bairu, M.W., Doležal, K., Finnie, J.F. and Van Staden, J. 2012a. Topolins: a panacea to plant tissue culture challenges? *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 108: 1–16.
- Aremu, A.O., Bairu, M.W., Szucova, L., Dolezal, K., Finnie, J.F. and Van Staden, J. 2012b. Assessment of the role of meta-topolins on *in vitro* produced phenolics and acclimatization competence of micropropagated ‘Williams’ banana. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34: 2265–2273.
- Ascough, G.D., Swart, P.A., Finnie, J.F. and Van Staden, J. 2011. Micropropagation of *Romulea minutiflora*, *Sisyrinchium laxum*, and *Tritonia gladiolaris* – Iridaceae with ornamental potential. *South African Journal of Botany*, 77(2): 216–221.
- Ashraf, M.F., Aziz, A.M., Kemat, N. and Ismail, I. 2014. Effect of cytokinin types, concentrations and their interactions on *in vitro* shoot regeneration of *Chlorophytum borivillianum* Sant. and Fernandez. *Electronic Journal of Biotechnology*, 17(6): 275–279.
- Avilán, L., Rengifo, C. and Leal, F. 1986. El cultivo del aguacate (Avocado cultivation). Fundación Servicio para el Agricultor, Caracas, Venezuela.
- Avilés, F., Ríos, D. and González, R. 2009. Effect of culture medium in callogenesis from adult walnut leaves (*Juglans regia* L.). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69(3): 460-467.
- Ayala-Silva, T. and Ledesma, N. 2014. Avocado history, biodiversity and production. In: Nandwani, D. (Ed.), *Sustainable Horticultural Systems, Sustainable Development and Biodiversity*, Springer International Publishing, Switzerland, pp. 157–205.
- Aydin, S. and Celik, I. 2018. The effect of organic additives on *in vitro* plant regeneration. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 28(1): 45-53.
- Aygun, A. and Dumanoglu, H. 2015. *In vitro* shoot proliferation and *in vitro* and *ex vitro* root formation of *Pyrus elaeagrifolia* Pallas. *Frontiers in Plant Science*, 6: 225.
- Azcón-Aguilar, C., Barcelo, A., Vidal, M.T. and De La Vina, G. 1992. Further studies on the influence of mycorrhizae on growth and development of micropropagated avocado plants. *Agronomie*, 12: 837-840.

- Babaoğlu, M., Yorgancılar M. ve Akbudak M.A. 2001. Doku kültürü temel laboratuvar teknikleri. In: Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. (Ed.) Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, ss. 1-35.
- Bairu, M.W., Jain, N., Stirk, W.A., Doležal, K. and Van Staden, J. 2009. Solving the problem of shoot-tip necrosis in *Harpagophytum procumbens* by changing the cytokinin types, calcium and boron concentrations in the medium. *South African Journal of Botany*, 75(1): 122–127.
- Bairu, M.W., Novák, O., Doležal, K. and Van Staden, J. 2011. Changes in endogenous cytokinin profiles in micropropagated *Harpagophytum procumbens* in relation to shoot-tip necrosis and cytokinin treatments. *Plant Growth Regulation*, 63(1): 105–114.
- Bairu, M.W., Stirk, W.A., Dolezal, K. and Van Staden, J. 2007. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered *Aloe polyphylla*: Can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90: 15–23.
- Baker, C.M. and Wetzstein, H.Y. 1994. Influence of auxin type and concentration on peanut somatic embryogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 36: 361–368.
- Barceló-Muñoz, A. and Pliego-Alfaro, F. 2003. Micropropagation of avocado (*Persea Americana*). In: Jain S.M. and Ishii K. (Eds.), The Netherlands: Springer Science and Business Media. Micropropagation of Woody Trees and Fruits. pp. 519–542.
- Barceló-Muñoz, A., Encina, C.L., Simón-Pérez, E. and Pliego-Alfaro, F. 1999. Micropropagation of adult avocado. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58(1): 11–17.
- Barrera-Guerra, J.L., Ramirez-Malagon, R. and Martinez-Jaime, O.A. 1998. *In vitro* propagation of avocado (*Persea drymifolia* Ness.) proceedings of the induced mutations in connection with biotechnology for crop improvement of the FAO/IAEA Division of Nuclear techniques in food and agriculture, Peru, pp. 63-69.
- Barringer, S.A., Mohamed-Yasseen, Y. and Splittstoesser, W.E. 1996. *In vitro* multiplication and plantlet establishment of avocado. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 32(2): 119–121.
- Ben-Ya'acov, A. and Michelson, E. 1995. Avocado rootstocks. *Horticultural Reviews*, 17: 381–429.
- Beyl, C.A. 2008. Getting started with tissue culture — media preparation, sterile technique, and laboratory equipment. In: Ammirato, M.K., Evans, D., Sharp W.R. and Yamada, Y. (Eds.), *Plant Tissue Culture: Concepts and Laboratory Exercises*, CRC Press, pp. 29-44.
- Bhat, S.R. and Chandel, K.P.S. 1991. A novel technique to overcome browning in tissue culture. *Plant Cell Reports*, 10: 358-361.

- Bhat, S.N., Mir, M.A. and Wani, A.A. 2024. *In vitro* prevention of browning in Persian walnut (*Juglans regia* L.) cv. Sulaiman. *International Journal of Plant Biology*, 13(1): 27.
- Biasi, L.A. 1995. Phytotoxicity of three antibiotics to avocado tissue culture. *Fitoquímica e Fisiologia Vegetal Bragantia*, 54(2): 251–256.
- Biasi, L.A., Koller, O.K. and Kampf, A.N. 1994. Micropropagation of the avocado Ouro Verde through culture of nodal segments. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* (Brazil), 27(7): 1051–1058.
- Bosela, M.J. and Michler, C.H. 2008. Media effects on black walnut (*Juglans nigra* L.) shoot culture initiation and proliferation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 44: 326–332.
- Buyukdemirci, H. 2008. The effects of medium ingredients on shoot propagation and rooting of cherry rootstocks *in vitro*. *Acta Horticulturae*, 795: 419–422.
- Carpenter, W.J. and Cornell, J.A. 1992. Auxin application duration and concentration govern rooting of *Hibiscus* stem cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(1): 68–74.
- Carvalho, R.F., Piotto, F.A. and Peters, J.A. 2015. Light quality and its effects on plant growth and development. *Journal of Plant Physiology*, 171(7): 1–12.
- Cassells, A. C. and Curry, R.F. 2001. Heat therapy, chemotherapy and pathogen-tested plants. In: Loebenstein, G. and Thottappilly, G. (Ed.), *Virus and Virus-like Diseases of Major Crops in Developing Countries*, Springer. pp. 11–26.
- Castro, M., Oyanedel, E. and Cautín, R. 1995. *In vitro* shoot proliferation in avocado (*Persea americana* Mill.) induced by CPPU. In *Proceedings of the World Avocado Congress*, pp. 223–226.
- Cavallaro, V., Pellegrino, A., Muleo, R. and Forgione, I. 2022. Light and plant growth regulators on *in vitro* proliferation. *Plants*, 11: 844.
- Chandra, S., Bandopadhyay, R., Kumar, V. and Chandra, R. 2010. Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. *Biotechnology Letters*, 32: 1199–1205.
- Chong, E.W.T., Sinclair, A.J. and Guymer, R.H. 2006. Facts on fats. *Clin. Exp. Ophthalmol*, 34(5): 464–71.
- Clapa, D., Fira, A., Simu, M., Vasu, L.B. and Buduroi, D. 2014. Improved *in vitro* propagation of *Paulownia elongata*, *P. fortunei* and its interspecific hybrid *P. elongata* x *P. fortunei*. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Horticulture*, 71: 422–427.
- Cohen, D. 1995. The culture medium. *Acta Horticulturae*, 393: 15–24.
- Cooper, P.A. 1987. Advances in the micropropagation of avocado (*Persea americana* Mill.). *Acta Horticulturae*, 212: 571–576.
- Cortés-Rodríguez, M.A., López-Gómez, R., Martínez-Pacheco, M. M., Suárez-Rodríguez, L.M., Hernández-García, A. and Salgado-Garciglia, R., Vidales Fernández, I. and Ángel Palomares, M.E. 2011. *In vitro* propagation of Mexican race avocado (*Persea americana* Mill. var. *drymifolia*). In: Fabbri, A. and Rugini,

- E. (Ed.), Proceedings of the XXVIIIth International Horticultural Congress, IS on Micro and Macro Technologies for Plant Propagation. *Acta Horticulturae*, 923: 47-52.
- Daguin, F. and Letouzé, R. 1986. Hyperhydricity of *in vitro* plantlets: a general survey. *Acta Horticulturae*, 212: 243-252.
- Debergh, P.C. and Maene, L.J. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae*, 14(4): 335-345.
- Debnath S.C. 2004. Clonal propagation of dwarf raspberry (*Rubus pubescens* Raf.) through *in vitro* axillary shoot proliferation. *Plant Growth Regulation*, 43: 179-186.
- De Klerk, G.J. Van der Krieken, W. and De Jong, J.C. 1999. The formation of adventitious roots: New concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 35(3): 189-199.
- De la Viña, G., Barceló-Muñoz, A. and Pliego-Alfaro, F. 2001. Effect of culture media and irradiance level on growth and morphology of *Persea americana* Mill microcuttings. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 65(3): 229-237.
- De Villiers, A.I. and Ernst, A.A. 2015. Avocado rootstock research: principles and practices. Proceedings of the VIII World Avocado Congress, Lima, pp. 40-45.
- Dimitrova, N., Nacheva, L. and Berova, M. 2016. Effect of meta-topolin on the shoot multiplication of pear rootstock OHF-333 (*Pyrus communis* L.). *Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus*, 15(2): 43-53.
- Dixon, R. and Fuller, K. 1976. Effects of synthetic auxin levels on phaseolina production and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity in tissue cultures of *Phaseolus vulgaris* L. *Physiological Plant Pathology*, 11: 287 - 292.
- Dobránszki, J., Jámor-Benczúr, E., Reményi, M. L., Szalai, J., and Magyar-Tábori, K. 2005. Effects of aromatic cytokinins on structural characteristics of leaves and their post-effects on subsequent shoot regeneration from *in vitro* apple leaves of 'Royal Gala'. *International Journal of Horticultural Science*, 11: 41-46.
- Dobránszki, J. and Da Silva, J.A.T. 2010. Micropropagation of Apple. A Review. *Biotechnology Advances*, 28(4): 462- 488.
- Doğan, A., Kurubaş, M.S. ve Erkan, M. 2017. Farklı dozlarda 1-metilsiklopropan (1-mcp) uygulamalarının 'Hass' avokado çeşidinin depolanması üzerine etkileri. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 30(2): 71-78.
- Dreher, M.L. and Davenport, A.J. 2013. Hass Avocado composition and potential health effects. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53: 738-750.
- Duhoky, M.M.S.S., Omar, M.S. and Yaseen, S.A.H. 2012. *In vitro* rooting of apple MM106 (*Malus domestica* Borkh.) and pear (*Pyrus calleryana*) rootstocks. Athens Institute for Education and Research, Athens, pp. 15.
- Dumanoglu, H., Aygün, A. and Erdoğan, V. 2009. Elma genotiplerinin mikro çoğaltımında farklı amonyum nitrat düzeylerinin sürgün ve kök oluşumu üzerine etkileri. *Tarım Bilimleri Araştırma Dergisi*, 2(1): 177-182.

- Dunlap, J. R. and Robacker, K.M. 1988. Nutrient salts promote light-induced degradation of indole-3-acetic acid in tissue culture media. *Plant Physiology*, 88(2): 379–382.
- Eggers, E.R. and Halma, F.F. 1937. Factors influencing the rooting of Guatemalan avocado cuttings. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 34: 24-26.
- El-Fadl, A., Reda, E., Manal, E., Ahmad, R.A.M. and Alhady A. 2022. *In vitro* propagation of avocado (*Persea americana* Mill.). *Egyptian Journal of Desert Research*, 72(1): 73-87.
- Eliášová, K. and Balla, S. 2023. Plant growth regulation in cell and tissue culture *in vitro*. *Plants*, 13(2): 327-351.
- Ernst, A.A. 1999. Micro cloning: a multiple cloning technique for avocados using micro containers. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5: 217–220.
- Ernst, A.A., Whiley, A.W. and Bender, G.S. 2013. Propagation. In: Schaffer, B., Wolstenholme, B.N. and Whiley, A.W. (Eds.), *The Avocado. Botany, Production and Uses*. 2nd Edition, CAB International, Wallingford, UK, pp. 234-268.
- Escobedo, V. and Escobedo, J.A. 2010. Adventitious root formation without rooting medium in etiolated shoots of ‘Duke’ avocado (*Persea americana* Mill.) growing on nurse plants. In: *Micro and Macro Technologies for Plant Propagation. Acta Horticulturae*, 923: 227–232.
- Esteves, P., Clermont, I. and Marchand, S. 2014. Improving the efficiency of isolated microspore culture in six-row spring barley: II—Exploring novel growth regulators to maximize embryogenesis and reduce albinism. *Plant Cell Reports*, 33: 871–879.
- Fajinmi, A., Finnie, J. F. and Van Staden, J. 2014. Optimization of *in vitro* propagation of *Coleonema album*, a highly utilized medicinal and ornamental plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 117(3): 393–402.
- Fathy, H.M. 2017. *In vitro* clonal production of *Salvadora persica* plantlets. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 95(4): 1599–1614.
- Ferreira, W.M., Suzuki, R.M., Pescador, R., Figueiredo-Ribeiro, R.C.L. and Kerbauy, G.B. 2011. Propagation, growth, and carbohydrates of *Dendrobium* Second Love (Orchidaceae) *in vitro* as affected by sucrose, light, and dark. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 47(3): 420–427.
- Ford, N.A., Spagnuolo, P., Kraft, J. and Bauer, E. 2023. Nutritional composition of ‘Hass’ avocado pulp. *Foods*, 12(13): 2516.
- Frolich, E.F. and Platt R.G. 1972. Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 55: 97–109.
- Gaba, V. 2005. Plant growth regulators in plant tissue culture and development. In: Pua, E.C. and Davey, M.R. (Ed.), *Plant Developmental Biology - Biotechnological Perspectives*, Springer. pp. 87-100.

- Galindo-Tovar, M.E., Ogata-Aguilar, N. and Arzate-Fernández, A.M. 2008. Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(3): 441–450.
- Gamborg, O.L., Miller, R. and Ojima, K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50(1): 151–158.
- Gamborg, O.L. and Phillips, G.C. 1995. Plant Cell, Tissue and Organ Culture: Fundamental Methods. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 359.
- Gantait, S. And Mahanta, M. 2022. Hyperhydricity-induced changes among *in vitro* regenerants of gerbera. *South African Journal of Botany*, 149: 496–501.
- García-Gómez, M.L., Sánchez-Romero, C., Barceló-Munoz A., Heredia, A. and Pliego-Alfaro, F. 1994. Levels of endogenous indole 3-acetic acid and indole-3-acetyl-aspartic acid during adventitious rooting in avocado microcuttings. *Journal of Experimental Botany*, 45: 865–870.
- Gaspar, T., Kevers, C. and Penel, C. 1996. Auxins and Cytokinins: Effects on *In Vitro* Propagation. In *Plant Growth Regulation* Springer, Dordrecht, pp. 115-125.
- Gaspar, T., Kevers, C., Penel, C., Greppin, H., Reid, D. M. and Thorpe, T.A. 1987. Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *Plant Growth Regulation*, 6: 87–103.
- Gentile, A., Gutierrez, M.J., Martinez, J., Frattarelli, A., Nota, P. and Caboni, E. 2014. Effect of meta-Topolin on micropropagation and adventitious shoot regeneration in *Prunus* rootstocks. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 118: 373–381.
- Gentile, A., Frattarelli, A., Nota, P., Condello, E. and Caboni, E. 2017. The aromatic cytokinin meta-topolin promotes *in vitro* propagation, shoot quality and micrografting in *Corylus colurna* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 128(3): 693–703.
- George, E.F. and Debergh, P.C. 2008. Micropropagation: Uses and methods. In: George, E.F., Hall, M.A. and De Klerk, G.J. (Ed.), *Plant Propagation by Tissue Culture*. Springer, pp. 29-64.
- George, E.F., Puttock, D.J.M. and George, H.J. 1987. Plant culture media. Formulations and Uses. Exegetics Limited, pp. 567.
- George, E.F., Hall, M.A. and De Klerk, G.J. 2008. *Plant propagation by tissue culture* (3rd ed., Vol. 1). Springer, The Netherlands, 540 p.
- Gonzalez-Rosas, H. and Salazar-Garcia, S. 1984. Root induction and vegetative development from avocado plantules (*Persea americana* Mill). *California Avocado Society Yearbook*, 68: 167-169.
- Gonzalez-Rosas, H., Salazar-Garcia, S. and Valdivia, V.Y. 1985. Propagation *in vitro* of Chinini (*Persea schiedeana* Nees). *California Avocado Society Yearbook*, 69: 125-13.
- Grant, N.J. and Hammat N. 1999. Increased root and shoot production during micropropagation of cherry and apple rootstocks: effect of subculture frequency. *Tree Physiology*, 19: 899–903.

- Guler, G., Gubbuk, H. and Arslan, M.A. 2021. The effect of antioxidants on micropropagation of avocado by nodal segments. *Horticultural Studies*, 38(1): 50-55.
- Gupta, S. and Biraji, V.K. 2022. *In vitro* propagation of Artocarpus lakoocha Roxb.: Effect of meta-topolin on shoot parameters. In: Thammasiri K. (Eds.), Proceedings of the IX International Scientific and Practical Conference on Biotechnology as an Instrument for Plant Biodiversity Conservation. *Acta Horticulturae*, 1339: 27–36.
- Hamad, A.M. and Taha, R.M. 2008. Effect of sequential subcultures on *in vitro* proliferation capacity and shoot formation pattern of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) over different incubation periods. *Scientia Horticulturae*, 117(4): 329–334.
- Hameg, R., Arteta, T.A., Landin, M., Gallego, P.P. and Barreal, M.E. 2020. Modeling and optimizing culture medium mineral composition for *in vitro* propagation of Actinidia arguta. *Frontiers in Plant Science*, 11: 554905.
- Hammami, A.M., Huang, K.M., and Guan, Z. 2024. An overview of the avocado market in the United States. UF/IFAS Extension Service, University of Florida, pp. 6.
- Hammerschlag, F.A., Bauchan, G.R. and Scorza, R. 1987. Factors influencing *in vitro* multiplication and rooting of peach cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 8(3): 235–242.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. and Geneve, R.L. 2011. Plant Propagation: Principles and Practices. (8th Edition), Prentice-Hall, Boston, pp. 915.
- Harty, P.A. 1985. Propagation of avocado by tissue culture: development of a culture medium for multiplication of shoots. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 8: 70–71.
- Hassanen, S.A. and Khalil, R.M.A. 2013. Biotechnological studies for improving of Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) *in vitro* plantlets. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 14(1): 93-106.
- Hathaway, N.A., Love, S.L. and Tripepi, R.R. 2023. *In vitro* propagation of Douglas maple (*Acer glabrum* var. *douglasii*): Role of basal medium formulation and concentrations of supplemental minerals and cytokinin on optimization of shoot multiplication. *Native Plants Journal*, 24(3): 244–257.
- Hemmati-Gougeh, R., Fatahi, R., Shokrpour, M., Naghavi, MR., Varshochi A. and Sallom A. 2024. Developing a new culture medium to optimize the micropropagation of six commercial hazelnuts (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Journal of Plant Growth Regulation*, 44: 943–958.
- Hendry, N.S. and Van Staden, J. 1982. Attempts at propagation of avocado using various techniques. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 5: 71–73.
- Hiti-Bandaralage, J.C.A., Hayward, A., O'Brien, C. and Mitter, N. 2015. Gibberellin and cytokinin in synergy for a rapid nodal multiplication system of avocado. Actas – Proceedings: Recursos Genéticos y Manejo de Viveros – Genetic Resources and Nursery Management, VIII Congreso Mundial de la Palta, pp. 95-98.

- Hiti-Bandaralage, J.C.A., Hayward, A. and Mitter, N. 2017. Micropropagation of avocado (*Persea americana* Mill.). *American Journal of Plant Sciences*, 8(11): 2898-2921.
- Hiti-Bandaralage, J.C.A. 2018. Micropropagation as an Alternative for Avocado Clonal Propagation. PhD Thesis, The University of Queensland, Queensland Alliance for Agriculture and Food Innovation (QAAFI), Brisbane, Australia, pp. 266.
- Hiti-Bandaralage, J.C.A., Hayward, A., O'Brien, C., Beveridge, C. and Mitter, N. 2018. Acclimatization of micropropagated mature avocado. In: Paiva R. (Eds.), Proceedings of the VII International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants, *Acta Horticulturae*, 1224: 13–20.
- Holub, J., Hanuš, J., Hanke, D.E. and Strnad, M. 1998. Biological activity of cytokinins derived from ortho- and meta-hydroxybenzyladenine. *Plant Growth Regulation*, 26: 109–115.
- Howell, S.H., Lall, S., Che, P. 2003. Cytokinins and shoot development. *Trends in Plant Science*, 8: 453–459.
- Héctor, E., Cevallos, D., Corozo, L., Macías, F. and Fosado, O. 2024. Development of a protocol for the micropropagation of two forest species threatened with extinction in Ecuador. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 159: 2.
- Hürkan, Y.K. 2020. Bitki Biyoteknolojisinde Doku Kültürü Yöntemleri. In: Hürkan, K. (Ed.), Tarımsal ve Endüstriyel Biyoteknoloji Uygulamaları. IKSAD Publishing House, Ankara, pp. 92-93.
- Ibarra-López, A., Ojeda-Zacarías, M.C., García-Zambran, E.A., Gutiérrez-Diez, A., 2016. *In vitro* induction seedlings to two cultivars Mexican race avocado *Persea americana* var. *drymifolia* Schltdl. and Cham. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(2): 337-347.
- Kadman, A. and Ben-Ya'acov, A. 1965. Rooting avocado cuttings in different growth media. *California Avocado Society Yearbook*, 49: 67-70.
- Kadman, A. 1976. Effect of the Age of Juvenile Stage Avocado Seedlings on the Rooting Capacity of Their Cuttings. *California Avocado Society Year Book*, 59: 58-60.
- Kamínek, M., Motyka, V. and Vaňková, R. 1997. Regulation of cytokinin content in plant cells. *Physiologia Plantarum*, 101: 689–700.
- Kane, M.E., Sheehan, T.J., Dehgan, B. and Philman, N.L. 1989. *In vitro* propagation of Florida native plants: *Styracoc americana* and *Persea palustris*. Proceedings of the Florida State *Horticultural Society*, 102: 264-268.
- Kaplan, N., İslam, A. and Bilir Ekbiç, H. 2020. Çakıldak fındık çeşidinin *in vitro* sürgün ucu kültürü ile çoğaltılması. *Akademik Ziraat Dergisi*, 9(2): 193-200.
- Kassim, N.E., Abou Rayya, S.M. and Ali, E.A.M. 2010. Effect of explant types and different basal nutrient media on *in vitro* growth of bitter almond cuttings during establishment and proliferation stages. *Journal of American Science*, 6(10): 408-411.

- Kataeva, N.V., Alexanandrova, I.G., Butenko, R.S. and Dragavtcera, E.V. 1991. Effect of applied and internal hormones on vitrification and apical necrosis of different plants cultured *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 14: 31–40.
- Kaviani, B., Barandan, A., Tymoszek, A. and Kulus, D. 2023. Optimization of *in vitro* propagation of pear (*Pyrus communis* L.) ‘Pyrodwarf(S)’ Rootstock. *Plants*, 12(5): 1024.
- Kim, S.H., Zebro, M., Jang, D.C., Sim, J.E., Park, H.K., Kim, K.Y., Bae, H.M., Tilahun, S. and Park, S.M. 2023. Optimization of plant growth regulators for *in vitro* mass propagation of a disease-free Shine Muscat grapevine cultivar. *Current Issues in Molecular Biology*, 45: 7721–7733.
- Knight, J.R.J. 2002. History, Distribution and Uses. In: Whitley, A.W., Schaffer, B., Wolstenholme, B.N. (Ed.), *The Avocado: Botany, Production and Uses* (1-14). Cabi Publishing, London, 416 p.
- Ko, C.Y., Lin, T.Y., Ho, C.W. and Shaw, J.F. 2010. *In Vitro* Regeneration of *Cephalotus follicularis*. *Horticultural Science*, 45(2): 260-264.
- Komakech, R., Kim, Y.G., Kim, W.J., Omujal, F., Yang, S., Moon, B.C., Okello, D., Rahmat, E., Kyeyune, G.N., Matsabisa, M.G. vb. 2020. A micropropagation protocol for the endangered medicinal tree *Prunus africana* (Hook f.) Kalkman: Genetic fidelity and physiological parameter assessment. *Frontiers in Plant Science*, 11: 548003.
- Kozai, T., Kubota, C. and Chun, C. 1997. Closed systems with artificial lighting for micropropagation. In: Altman, A. (Ed.), *Micropropagation of Woody Trees and Fruits*, Springer. pp. 213-230.
- Krikorian, A.D. 1995. Hormones in tissue culture and micropropagation. In: Davies, P.J. (Ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, pp. 774-796.
- Kubalakova, M. and Strnad, M. 1992. The effects of aromatic cytokinins (populins) on micropropagation and regeneration of sugar beet *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 34: 578–579.
- Kumar, S., Singh, S. and Banerjee, M. 2024. Comparative analysis of the effect of 6-benzylaminopurin versus meta-Topolin on *in vitro* regeneration, chlorophyll and protein contents in winter cherry *Withania somnifera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 158: 43.
- Lane, W.D., Iketani, H. and Hayashi, T. 1998. Shoot regeneration from cultured leaves of Japanese pear (*Pyrus pyrifolia*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 54: 9–14.
- Lightfoot, D.A., Dubois, A.M. and Krause, S. 2010. Plant stress management for crop improvement. Springer. Science and Business Media, pp. 305–326.
- Litz, R.E., Raharaj, S.H.T. and Gomez Lim, M.A. 2007. Avocado. In: Widholm, J.M., Kumlehn, J. and Nagata, T. (Ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 167–87.

- Lu, C. 1993. The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 29(2): 92-96.
- Ludwig-Müller, J. 2000. Indole-3-butyric acid in plant growth and development. *Plant Growth Regulation*, 32(2-3): 219–230.
- Machakova, I., Zazimalova, E. and George, E.F. 2008. Plant growth regulators I: Introduction; auxins, their analogues and inhibitors. In: George, E.F., Hall, M.A. and De Klerk G.J (Ed.). *Plant Propagation by Tissue Culture*. Vol. 1. The Background, 3rd ed. Dordrecht, Springer, pp. 175-204.
- Mansoor, F. 2018. Development of a protocol for the proliferation of *in vitro* axillary buds in avocado (*Persea americana*) cv. 'Edranol'. Master's dissertation, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa, 96 p.
- Mansuroğlu, S. ve Gürel E. 2001. Mikroçoğaltım. In: Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. (Ed.) *Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları*, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, ss. 262-281.
- Martinez-Pacheco, M.M., Suarez-Rodriguez, L.M., Hernández-García, A., Salgado-Garciglia, R., Fernández, I.V., Palomares, M.E.A., Cortés-Rodríguez, M.A. and Lopez-Gomez, R. 2010. *In Vitro* propagation of mexican race avocado (*Persea americana* Mill. var *drymifolia*). *Acta Horticulturae*, 923: 47-52.
- McCown, B.H. and Lloyd, G. 1981. Woody plant medium (WPM) a mineral nutrient formulation for microculture of woody plant-species. *American Society for Horticultural Science*, 16: 453–453.
- McCown, B.H. and Sellmer, J.C. 1987. General media and vessels suitable for woody plant culture. In: Bonga, J.A. and Durzan, D. (Ed.), *Cell and Tissue Culture in Forestry*, Springer pp. 4–16.
- Menge, J.A., Guillemet, F.B., Campbell, S., Johnson, E. and Pond, E. 1992. The performance of rootstocks tolerant to root rot caused by *Phytophthora cinnamomi* under field conditions in southern California. *Proceedings of the Second Avocado World Avocado Congress*, Orange. pp. 53–59.
- Mickelbart, M.V. and Arpaia, M.L. 2002. Rootstock influences changes in ion concentrations, growth, and photosynthesis of 'Hass' avocado in response to salinity. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127: 649–655.
- Mihaljević, I., Dugalić, K., Tomaš, V., Viljevac, M., Pranjić, A., Čmelik, Z., Puškar, B. and Jurković, Z. 2013. *In vitro* sterilization procedures for micropropagation of 'Oblačinska' sour cherry. *Journal of Agricultural Sciences*, 58(2): 117-126.
- Miller, C.O. 1963. Kinetin and kinetin-like compounds. In: Linskens, H.F. and Tracey, M.V. *Modern Methods of Plant Analysis / Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Springer, pp. 194–202.
- Mirabbasi, S. M. and Hosseinpour, B. 2014. Prevention of shoot tip necrosis, hyperhydricity and callus production associated with *in vitro* shoot culture of *Ulmus glabra*. *Journal of Novel Applied Sciences*, 3(2): 683–689.
- Mohamadzadeh M.N. and Hamidi, H. 2017. Investigating the effects of medium, sterilization and hormonal treatment on micropropagation of some apple (*malus*

- domestica* borkh.) rootstocks. *The Plant Production, Agronomy, Breeding and Horticulture*, 40(1): 5-6.
- Mohamed-Yasseen, Y. 1993. *In vitro* Propagation of Avocado (*Persea americana* Mill.). *California Avocado Society Yearbook*, 77: 107–111.
- Mokotedi, M.E.O., Watt, M.P., Pammenter, N.W. and Blakeway, F.C. 2000. *In vitro* rooting and subsequent survival of two clones of a cold-tolerant *Eucalyptus grandis* × *E. nitens* hybrid. *HortScience*, 35(6): 1163–1165.
- Molassiotis, A.N., Dimassi, K., Therios, I. and Diamantidis, G. 2003. Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF-677 (*P. amygdalus* × *P. persica*) explants *in vitro*. *Biologia Plantarum*, 46(1): 141–144.
- Montalbán, I.A., De Diego, N. and Moncaleán, P. 2011. Testing novel cytokinins for improved *in vitro* adventitious shoots formation and subsequent *ex vitro* performance in *Pinus radiata*. *Forestry*, 84: 363–373.
- Monticelli, S., Gentile, A., Frattarelli, A. and Caboni, E. 2017. Effects of the natural cytokinin meta-topolin on *in vitro* shoot proliferation and acclimatization of *Prunus* spp. In: Beruto, M. and Ozudogru, E.A. (Eds.), Proceedings of the VI International Symposium on Production and Establishment of Micropropagated Plants. *Acta Horticulturae*. 1155, pp. 351–356.
- Mora-Aviles, M.A. 1994. Vegetative propagation *in vitro* of Mexican race rootstocks of *Persea americana*, Memorias, II Congreso Latinoamericano de Genética y XV Congreso de Fitogenética. *Sociedad Mexicana de Fitogenética*. 561 p.
- Morton, J.F. 1987. Avocado. In: Morton, J.F. (Ed.) Fruits of warm climates, Miami, Florida, pp. 91-102.
- Moshkov, I.E., Novikova, G.V., Hall, M.A. and George, E.F. 2008. Plant growth regulators III: gibberellins, ethylene, abscisic acid, their analogues and inhibitors; miscellaneous compounds, In: George, E.F., Hall, M.A. and De Clark, G.J. (Ed.), Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition Volume 1. The Background Springer, Dordrecht, The Netherlands. pp. 227-281.
- Muller, D. and Leyser, O. 2011. Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. *Annals of Botany*, 107(7): 1203–1212.
- Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651–681.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3): 473–497.
- Nel, D.D. 1983. Progress in tissue culture of avocado. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 6: 90-91.
- Nel, D.D. and Kotzé, J.M. 1984. The role of tissue culture in the avocado plant improvement scheme. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 7: 25–26.
- Nhut, D.T., Thi, N.N., Khiet, B.L.T. and Luan, V.Q. 2008. Peptone stimulates *in vitro* shoot and root regeneration of avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 115(2): 124–128.

- Nitsch, J.P. 1969. Experimental androgenesis in *Nicotiana*. *Phytomorphology*, 19: 389–404.
- Nourafcan, H. and Ansari, F. 2017. The effect of MS and B5 media on growth indices of lemon verbena in *in vitro*. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 48(1): 249–252.
- Ornellas, T.S., Werner, D., Holderbaum, D.F., Scherer, R.F. and Guerra, M.P. 2017. Effects of vitrofur, BAP and meta-Topolin in the *in vitro* culture of *Dendrocalamus asper*. *Acta Horticulturae*, pp. 285–292.
- Osman, S.İ.A. and Dumanoglu, H. 2020. Ümitvar ahlat klonlarının (*Pyrus elaeagnifolia* Pallas) *in vitro* köklenmesi üzerine IBA uygulamalarının etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 9(1): 11–16.
- Osorio, C.R., Velásquez, G.F.A., Correal, G.A., Bonilla, J.M.T. and Trujillo, A.I.U. 2018. *In vitro* propagation of avocado (*Persea americana* Mill. cv. 'Hass') through morphogenesis. *Acta Agronómica*, 67: 162–169.
- O'Brien, C., Constantin, M., Walia, A., Lim Yuan Yiing, J. and Mitter, N. 2016. Cryopreservation of somatic embryos for avocado germplasm conservation. *Scientia Horticulturae*, 211: 328–335.
- Özzambak, M., Zeybekoğlu, E., İzzet, G. ve Kılıç, T. 2018. *Spathiphyllum*'un *in vitro* mikro çoğaltımı üzerine şeker konsantrasyonlarının etkileri. *Sakarya University Journal of Science*, 22(3): 1015–1023.
- Pacurar, D.I., Perrone, I. and Bellini, C. 2014. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. *Physiologia Plantarum*, 151(1): 83–96.
- Page, S.R.G., Monthony, A.S. and Jones, A.M.P. 2021. DKW basal salts improve micropropagation and callogenesis compared with MS basal salts in multiple commercial cultivars of *Cannabis sativa*. *Botany*, 99(5): 269–279.
- Palanisamy, K. and Kumar, P. 1977. Effect of position, size of cuttings and environmental factor on adventitious rooting in neem (*Azadirachta indica* A. Juss). *Forest Ecology and Management*, 98(3): 277–280.
- Palavan-Unsal, N., Cag, S. and Cetin, E. 2004. The role of meta-topolin in senescence of wheat leaf segments. *Journal of Molecular and Cellular Biology*, 3: 23–31.
- Parris, J.K., Touchell, D.H., Ranney, T.G. and Adelberg, J. 2012. Basal salt composition, cytokinins, and phenolic binding agents influence *in vitro* growth and *ex vitro* establishment of *Magnolia* 'Ann'. *HortScience*, 47(11): 1625–1629.
- Pate, J.S. 1973. Uptake, assimilation and transport of nitrogen compounds by plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 5: 109–119.
- Pawlicki, N. and Welander, M. 1994. Adventitious shoot regeneration from leaf segments of *in vitro* cultured shoots of the apple rootstock. *Journal of Horticultural Science*, 69(4): 687–696.
- Persley, G.J., Langhe, E.A., Langhe, E.F., 1987. Banana and plantain breeding strategies: proceedings of an International Workshop. Canberra, Australia, 187 p.

- Peñaloza-Remigio, C.J., Arellano-Ostoa, G., García-Villanueva, E., Barrientos-Priego, A.F. and Sierra-Zurita, J.F.C. 2020. Use of triacontanol and thidiazuron in the growth of avocado sprouts (*Persea americana* Mill.) ‘Velvick’ and ‘Duke 7’. *Ciencia e Innovación Revista Científica Semestral Investigación, Desarrollo e Innovación*, 3(2): 565–574.
- Pham, P.L., Perret, S., Cass, B., Carpentier, E., St-Laurent, G., Bisson, L., A. and Durocher, Y. 2005. Transient gene expression in HEK293 cells: peptone addition posttransfection improves recombinant protein synthesis. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(3): 332–334.
- Phillips, G.C. and Garda, M. 2019. Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular and Developmental Biology- Plant*, 16 p.
- Pinto, G., Silva, S., Park, Y. S., Neves, L., Araújo, C. and Santos, C. 2008. Factors influencing somatic embryogenesis induction in *Eucalyptus globulus* Labill.: basal medium and anti-browning agents. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95(1): 79–88.
- Platt, R.G. 1976. Current techniques of avocado propagation. In *Proceedings of the First International Tropical Fruit Short Course: The Avocado*. Gainesville (FL): Florida Cooperative Extension Service and Institute of Food and Agricultural Services, University of Florida, pp. 92–95.
- Pliego-Alfaro, F. 1988. Development of an *in vitro* rooting bioassay using juvenile-phase stem cuttings of *Persea americana* Mill. *Horticultural Science*, 63: 295–301.
- Pliego-Alfaro, F. and Bergh, B.O. 1992. Avocado. In: Hammerschlag, F.A. and Litz, R.E. (Ed.), *Biotechnology of Perennial Fruit Crops*. CAB International, Wallingword. pp. 323–333.
- Pliego-Alfaro, F. and Murashige, T. 1987. Possible rejuvenation of adult avocado by graftage onto juvenile rootstocks *in vitro*. *HortScience*, 22: 1321–1324
- Poisson, A.S., Berthelot, P., Le Bras, C., Grapin, A., Vergne, E. and Chevreau, E. 2016. A droplet-vitrification protocol enabled cryopreservation of doubled haploid explants of *Malus x domestica* Borkh. ‘Golden Delicious’. *Scientia Horticulturae*, 209:187–191.
- Pop, T.I., Pamfil, D. and Bellini, C. 2011. Auxin control in the formation of adventitious roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1): 307–316.
- Popenoe, W. 1920. *Manual of tropical and subtropical fruit*. Chapter 2. The Avocado. Hafner Press, New York, 474 p.
- Popenoe, W. 1939. Looking forward. *California Avocado Society*, 24: 31–43.
- Popenoe, W. and Zentmyer, G.A. 1997. Early history of the avocado. *California Avocado Society Yearbook*, 81: 163–174.
- Premkumar, A., Barceló-Muñoz, A., Pliego-Alfaro, F., Quesada, M.A. and Mercado, J.A. 2002. Influences of exogenous sucrose on juvenile avocado during *in vitro* cultivation and subsequent ex vitro acclimatization. *Trees*, 16(8): 569–575.

- Qasrawi, H. and Sholi, N. 2022. *In vitro* regeneration of avocado (*Persea americana*) West Indian rootstock cv. Lula via tissue culture. *Lestine Technical University Research Journal*, 10(1): 11-21.
- Quiroz, K.A., Berríos, M., Carrasco, B., Retamales, J.B., Caligari, P.D.S. and García-González, R. 2017. Meristem culture and subsequent micropropagation of Chilean strawberry (*Fragaria chiloensis* (L.) Duch.). *Biological Research*, 50(20): 11.
- Rabuma, T., Kassaye, E., Asfere, Y. and Abera, G. 2020. Optimization of efficient protocol for *in vitro* mass propagation of selected accessions of avocado (*Persea americana* Mill.) by auxiliary and apical buds culture. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 21(71, 72): 75-87.
- Raharjo, S.H. and Litz, R.E. 2005. Micrografting and ex vitro grafting for somatic embryo rescue and plant recovery in avocado (*Persea americana* Mill.). *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 82: 1–9.
- Rahman, S., Biswas, N., Hassan, M.M., Ahmed, M.G., Mamun, A.N.K., Islam, M.R., Moniruzzaman, M. and Haque, M.E. 2013. Micro propagation of banana (*Musa* spp.) cv. Agnishwar by *in vitro* shoot tip culture. *International Research Journal of Biotechnology*, 4: 83-88.
- Rashid, A. and Street, H.E. 1973. The development of haploid embryoids from anther cultures of *Atropa belladonna* L. *Planta* (Berl.), 113: 263–270.
- Renner, C. 1999. Circumscription and phylogeny of the Laurales: evidence from molecular and morphological data. *American Journal of Botany*, 86(9): 1301-1315.
- Reuveni, O. and Raviv, M. 1980. Importance of leaf retention to rooting of avocado cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 105(1): 40-43.
- Rohim, F.M., Wanas, W.H., Aziz, A.B. and Eman, A. 2013. *In vitro* rescue and regeneration of zygotic embryos of Avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(7): 4132–4141.
- Romberger, J.A. 1980. Meristems, growth, and development in woody plants: An analytical review of anatomical, physiological, and morphogenic aspects. Department of Agriculture and Forset Services, The United States
- Rose, L.S. 2003. Horticultural characteristics of Hass avocado on commercial clonal and seedling rootstocks in California. Proceedings V World Avocado Congress, pp. 171-175.
- Royandazagh, D.S. 2019. Potential of flow cytometry in sex determination and *in vitro* micropropagation of *laurus nobilis* l. applied ecology and environmental research. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(3): 5953-5964.
- Rugini, E. 1984. *In vitro* propagation of some olive cultivars with different rooting ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos. *Scientia Horticulturae*, 24(2): 123–134.

- Sánchez-Romero, C., Pliego-Alfaro, F. and Barceló-Muñoz, A. 2007. Factors affecting maturation of avocado somatic embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 90(1): 1-10.
- Sarikhani, H. and Sarikhani-Khorami, H. 2021. Effect of light quality on micropropagation and some morphological properties of Cadaman Avimag (*Prunus persica* × *P. davidiana*) rootstock. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 8(1): 51–65.
- Schaffer, B.A., Colls, A.M., Litz, R.E. and Moon, P.A. 1999. Avocado shoot culture, plantlet development and net CO₂ assimilation in an ambient and CO₂ enhanced environment. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 35(3): 238–244.
- Schall, S. 1987. Propagation of avocado (*Persea americana* Mill) Fuerte by *in vitro* micro cuttings. *Fruits (France)*, 42(3): 171–176.
- Schlaeger, E.J. 1996. The protein hydrolysate, Primatone RL, is a cost-effective multiple growth promoter of mammalian cell culture in serum-containing and serum-free media and displays anti-apoptosis properties. *Journal of Immunological Methods*, 194(2): 191–9.
- Schroeder, C.A. 1968. The Longevity of Avocado Tissue *In Vitro*. *California Avocado Society Yearbook*, 52: 128-130.
- Schroeder, C.A. 1973. Apical and other responses of tissues of avocado in aseptic culture. *California Avocado Society Yearbook*, 57: 138–141.
- Schroeder, C.A. 1976. Responses of avocado stem pieces in tissue culture. *California Avocado Society Yearbook*, 60: 60–163.
- Schroeder, C.A. 1979. Etiolation and avocado bud elongation *in vitro*. *California Avocado Society Yearbook*, 63: 86–89.
- Schroeder, C.A. 1980. Avocado tissue *in vitro*. *California Avocado Society Yearbook*, 64: 139-141.
- Scora, R.W., Wolstenholme, B.N. and Lavi, U. 2002. Taxonomy and Botany. In: Whitley A.W., Schaffer, B., Wolstenholme, B.N. (Ed.), *The Avocado: Botany, Production and Uses*. Cabi Publishing, London, 416 p.
- Sedgley, M. 1985. Some effects of daylength and flower manipulation on the floral cycle of two cultivars of avocado (*Persea americana* Mill.), a species showing protogynous dichogamy. *Journal of Experimental Botany*, 36: 823–832.
- Shahzad, A., Akhtar, R., Bukhari, N.A. and Perveen, K. 2017. High incidence regeneration system in *Ceratonia siliqua* L. articulated with SEM and biochemical analysis during developmental stages. *Trees*, 31: 1149–1163.
- Sharma, S., Sharma, S. and Kumar, P. 2025. *In vitro* establishment of walnut (*Juglans regia* L.) from the embryonic axis with customized nutrient media and synergy of growth regulators. *South African Journal of Botany*, 177: 598-603.
- Shekhawat, N.S., Rathore, T.S., Singh, R.P., Deora, N.S. and Rao, S.R. 1993. Factors affecting *in vitro* clonal propagation of *Prosopis cineraria*. *Plant Growth Regulation*, 12: 273–280.

- Silva, T.A. and Ledesma, N. 2014. Avocado history, biodiversity and production. In: Nandwani, D., (Ed.), Sustainable Horticultural Systems, Sustainable Development and Biodiversity, Springer International Publishing, Switzerland, pp. 157-205.
- Simon, S. And Petrášek, J. 2011. Why plants need more than one type of auxin. *Plant Science*, 180(3): 454–460.
- Smith, R.H. and Drew, R.A. 1997. Micropropagation of tropical and subtropical fruits. In Biotechnology of Perennial Fruit Crops. CAB International, pp. 215-227.
- Stevens, M.E. and Pijut, P.M. 2018. Rapid *in vitro* shoot multiplication of the recalcitrant species *Juglans nigra* L. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 54: 309–317.
- Storey, W.B., Bergh, B. and Zentmyer, G.A. 1986. The origin, indigenous range and dissemination of the avocado. California Avocado Society Yearbook, 70: 127–133.
- Sujatha, M. and Reddy, T.P. 1998. Differential cytokinin effects on the stimulation of *in vitro* shoot proliferation from meristematic explants of castor (*Ricinus communis* L.). *Plant Cell Reports*, 17: 561–566.
- Sivanesan, I., Muthu, M., Gopal, J., Tasneem, S., Kim, D.-H. and Oh, J.W. 2021. A fumigation-based surface sterilization approach for plant tissue culture. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5): 2282.
- Siwach, P. and Gill, R.A. 2011. Enhanced shoot multiplication in *Ficus religiosa* L. in the presence of adenine sulphate, glutamine, and phloroglucinol. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 17: 271–280.
- Taah, K.J., Alderson, P.G., Power, J.B. and Mayes, S. 2009. Effects of auxin type, root length and shoot size on ex vitro survival of micropropagated avocado shoots. *Ghana Journal of Horticulture*, 7: 18-25.
- Thorpe, T. A. 2007. The role of vitamins in plant tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 43(6): 628-637.
- Tulecke, W. and McGranahan, G. 1985. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cotyledons of walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science*, 40: 57–63.
- Valero-Aracama, C., Kane, M., Wilson, S. and Philman, N. 2010. Substitution of benzyladenine with meta-topolin during shoot multiplication increases acclimatization of difficult- and easy-to acclimatize sea oats (*Uniola paniculata* L.) genotypes. *Plant Growth Regulation*, 60: 43–49.
- Van der Westhuizen, A. 2014. The use of meta-topolin as an alternative cytokinin in the tissue culture of Eucalyptus species. *Acta Horticultural*, 1055: 25–28.
- Van Nieuwkerk, J.P., Zimmerman, R.H. and Fordham, I. 1986. Thidiazuron stimulation of apple shoot proliferation *in vitro*. *HortScience*, 21(2): 516-518.
- Van Staden, J., Zazimalova, E. and George, E.F. 2008. Plant growth regulators II: cytokinins, their analogues and antagonists, In: George, E.F., Hall, M.A. and De Clark, G.J. (Ed.), *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition Volume 1. The Background*, Dordrecht, The Netherlands. pp. 205- 226.

- Vega, D.E.S. 1989. Propagation *in vitro* of rootstocks of avocado. *California Avocado Society Yearbook*, 73: 196–199.
- Vidal, M.T., Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M. and Pliego-Alfaro, F. 1992. Mycorrhizal inoculation enhances growth and development of micropropagated plants of avocado. *HortScience*, 27(7): 785–7.
- Vidales-Fernández, I. 2002. Efecto de los reguladores de crecimiento en los procesos de organogénesis y embriogénesis somática de aguacate (*Persea americana* Mill.). Thesis. Universidad de Colima, Tecomán, Colima, México, pp. 62-119.
- Vujović, T., Ružić, D. and Cerović, R. 2012. *In vitro* shoot multiplication as influenced by repeated subculturing of shoots of contemporary fruit rootstocks. *Horticultural Science*, 39(3): 101–107.
- Walkey, D.G. 1972. Production of apple plantlets from axillary-bud meristems. *Canadian Journal of Plant Science*, 52: 1085–1087.
- Warschefsky, E.J., Klein, L.L. and Frank, M.H., 2016. Rootstocks: Diversity, domestication, and impacts on shoot phenotypes. *Trends in Plant Science*, 21: 418–437.
- Webber, H.J. 1926. The avocado stock problem. Annual reports 1925 and 1926. California Avocado Association. pp. 37-41.
- Werbrouck, S.P.O., Strnad, M., Van Onckelen, H.A. and Deberegh P.C. 1996. Meta-topolin, an alternative to benzyladenine in tissue culture. *Physiol Plant*, 98:291–297.
- Werbrouck, S.P.O., Strnad M., Van Onckelen H.A. and Deberegh, P.C. 2010. Merits and drawbacks of new aromatic cytokinins in plant tissue culture, *Acta Horticulturae*, 865: 103–108.
- Wessels, H. 1996. *In vitro* clonal propagation of avocado rootstocks. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 19: 59–60.
- Whiley, A.W., Kohne, J.S., Arpaia, M.L. and Bender, G.S. 1990. Future prospects with new avocado cultivars and elite rootstocks. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 13: 16-20.
- Williams, L.E. and Smith, R.J. 1991. The effect of rootstock on rooting and callus formation in grapevine cuttings. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 31(5): 651–654.
- Witjaksono, Litz, R.E. and Pliegro-Alfaro, F. 1999. Somatic embryogenesis in avocado (*Persea americana* Mill.). In: Jain, S.M., Gupta, P.K. and Newton, R.J. (Ed.). Somatic Embryogenesis in Woody Plants, Vol. 5. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. pp. 197-214.
- Wojtania, A. 2010. The effect of meta-topolin on micropropagation of *Pelargonium* cultivars. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 52(1): 68-74.
- Yasuda, T., Fujii, Y. and Yamaguchi, T. 1985. Embryogenic callus induction from *Coffea arabica* leaf explant by benziladenine. *Plant and Cell Physiology*, 26(3): 595-597.

- Young, M.J. 1983. Avocado callus and bud culture. Proceedings of the Florida State. *Horticultural Society*, 96: 181–182.
- Yıldırım, H. ve Çalar, N. 2017. Odunsu bitki türlerinde *in vitro* aşılama II (Amaçları). *YYÜ Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(2): 292-298.
- Zentmyer, G.A. 1972. Expansion of avocado root rot resistance program. *California Avocado Society Yearbook*, 55: 87–89.
- Zentmyer, G.A. 1978. Origin of root rot resistant rootstocks. *California Avocado Society Yearbook*, 62: 87–89.
- Zentmyer, G.A., Menge, J.A. and Ohr, H.D. 1994. Phytophthora root rot. In: Ploetz, R.C., Zentmyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach, K.G. and Ohr, H.D. (Ed.) Compendium of Tropical Fruit Diseases. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, pp. 77–79.
- Zirari, A. and Lionakis, S.M. 1994. Effect of cultivar, explant type, etiolation pretreatment and the age of plant material on the *in vitro* regeneration ability of avocado (*Persea americana* Mill.). *Acta Horticultural*, 365: 69–76.
- Zulfiqar, B., Abbasi, N.A., Ahmad, T. and Hafiz, I.A. 2009. Effect of explant sources and different concentrations of plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation and rooting of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. ‘Fuerte’. *Pakistan Journal of Botany*, 41(5): 2333–2346.

ÖZGEÇMİŞ

Gizem GÜLER

ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Doktora 2019-2025	Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Antalya
Yüksek Lisans 2010-2012	Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara
Lisans 2006-2010	Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ankara

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırmacı 2017-Devam Ediyor	T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Antalya
Ziraat Mühendisi 2013-2017	T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulaş İlçe Tarım Müdürlüğü, Sivas

ESERLER

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Balkıç, R., Balcı-Torun, F., Güngör, K. K., Güler, G. and Gübbük, H. (2023). Physical and chemical characterization of guava (*Psidium guajava* L.) genotypes grown in subtropical conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 52(2): 13353. (SCI-Expanded)

2- Guler, G., Gubbuk, H. and Arslan, M.A. (2023). The effect of antioxidants on micropropagation of avocado by nodal segments. *Horticulture Science*, 38(1): 50-55.

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

1- Güler, G., Şimşek, M., ve Gübbük, H. (2021). Farklı arbusküler mikorizal fungus türlerinin guava (*Psidium guajava* L.) çöğürlerinin büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri. *Bahçe*, 50(2): 87-93.

2- Güler, G., Gübbük, H., ve Çelik, B. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) yetiştiriciliğine genel bir bakış. *Meyve*, 8(2): 23-29.

3- Selvi, T., Turgutoğlu, E., Eşitken, A., Güler, G., ve Dönmez, M. F. (2021). Rizobakteri uygulamalarının bazı turuncgil çöğürlerinin büyüme ve gelişme performansı üzerine etkileri. *Meyve*, 8(2): 30-33.

4- Güler, G., Gübbük, H. ve Arslan, M.A. (2020). Avokadoda dünyada yaygın olarak kullanılan klonal anaçlar ve kullanım nedenleri. *Türk Dünyası Fen ve Teknoloji Dergisi*, 9: 115-119.

5- Dumanoğlu, H., Aygün, A., Erdoğan, V., Serdar, Ü., Kalkışım, Ö., Pakyürek, M. A., Güler, G., Baştaş, K., & Maden, S. (2016). Doğu Karadeniz Bölgesi Sahil Kuşağındaki Elma Genetik Materyalinin Mikro Çoğaltım Potansiyelinin Belirlenmesi. *Bahçe Özel Sayı: VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi Bildirileri*, 45:80-90.

Bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Kurt, S., Turgutoğlu, E., Demir, G., Topkaya, B., Çelik, N., Güler, G. and Selvi, T. (2024). The Citrus Variety Improvement Program in Turkey. *Acta Horticulturae*, 1399: 117-122.

2- Guler, G. and Gubbuk, H. (2020). Current situation of carob in Turkey. *Acta Horticulturae*. 1280:247-254.

Projeler

1- Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü tarafından desteklenen ‘Avokadoda *In Vitro* Çoğaltım Olanaklarının Araştırılması’ isimli proje

Proje Yürütücüsü, 2019-Devam Ediyor.

Proje Koordinatörü: Gizem GÜLER

2- Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel M¼d¼rl¼ę¼ tarafından desteklenen ‘Akdeniz B¼lgesinde Açıktaki ve Ört¼altında Kahve Yetiştiriciliği’ isimli projede yardımcı araştırıcı

Proje Koordinat¼r¼: Dr. Dilek G¼VEN

3- Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel M¼d¼rl¼ę¼ tarafından desteklenen ‘T¼rkiye Turunçgil Çeşit Geliřtirme Programı’ isimli projede yardımcı araştırıcı

Proje Koordinat¼r¼: Dr. řenay KURT

4- Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel M¼d¼rl¼ę¼ tarafından desteklenen ‘Avokado Yetiştiriciliğinin Geliştirilmesi- Hass Avokado Çeřidinden Mutasyon Islahı ile Yeni Genotiplerin Elde Edilmesi’ isimli projede yardımcı araştırıcı

Proje Koordinat¼r¼: Mahmut Alper ARSLAN

