

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**BAZI KİVİ (*Actinidia deliciosa*) ÇEŞİTLERİNDE
KARBONDİOKSİT BESLEMESİNİN
EX VITRO KÖKLENDİRME ÜZERİNE ETKİLERİ**

Hilal KANIK

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aynur GÜREL

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 612.01.00

Sunuş Tarihi: 27.10.2015

Bornova-İZMİR

2015

Hilal KANIK tarafından yüksek lisans tezi olarak sunulan “Bazı Kivi (*Actinidia deliciosa*) Çeşitlerinde Karbondioksit Beslemesinin *Ex Vitro* Köklendirme Üzerine Etkileri” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 27.10.2015 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği/oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri:

İmza

Jüri Başkanı	:	
Raportör Üye	:	
Üye	:	

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Yüksek Lisans Tezi / ~~Doktora Tezi~~ olarak sunduğum “Bazı Kivi (*Actinidia deliciosa*) Çeşitlerinde Karbondioksit Beslemesinin *Ex Vitro* Köklendirme Üzerine Etkileri” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

.... / / 20..

İmzası

Adı-Soyadı

ÖZET**BAZI KİVİ (*Actinidia deliciosa*) ÇEŞİTLERİNDE KARBONDİOKSİT BESLEMESİNİN *EX VITRO* KÖKLENDİRME ÜZERİNE ETKİLERİ**

KANIK, Hilal

Yüksek Lisans Tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aynur GÜREL

Ekim 2015, 67 sayfa

Bu projede, yüksek ticari değere sahip kivi (*Actinidia deliciosa*) çeşitlerinde, karbondioksit beslemesinin *ex vitro* köklendirme üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada, yüksek ticari öneme sahip dişi kivi çeşidi olan “Hayward” ile bu çeşidin tozlayıcısı olan erkek “Matua” kivi çeşitlerinden henüz uyanmamış olan gözler içeren çeliklerden izole edilen birkaç yaprak taslaklı meristemlerin, yarı katı besin ortamlarında rejenerasyonu ve elde edilen sürgünlerin *in vitro* çoğaltımı gerçekleştirilmiştir. İzolasyon için denenen farklı besin ortamları arasında en iyi sonuç; 1.5 mg/L BAP, 0.3 mg/L askorbik asit ve 30 g/L süktroz içeren MS ortamında elde edilmiştir. Sürgün gelişimi için denenen farklı besin ortamları arasından ise en iyi bulgu, 0.5 mg/L zeatin içeren MS besin ortamından sağlanmıştır. İzolasyon, sürgün oluşumu ve sürgün gelişimi çalışmaları sürecinde, rejenerasyon yüzdesi, sürgün sayısı, sürgün boyu, yaprak sayısı, çoğaltım katsayısı, vitrifikasyon yüzdesi, morfofizyolojik bozukluk durumu parametreleri incelenmiştir.

Elde edilen sürgünlerin *in vitro* köklendirilmesi ve aklimatizasyonu aşamasındaki kısıtların aşılması/azaltılması amacıyla, karbondioksit beslemeli ortamda fotoototrofik *ex vitro* köklendirilmesinin küçük ölçek (kültür kabı) ve büyük ölçek (sera) çalışmaları gerçekleştirilmiştir. *Ex vitro* köklendirme aşamasında yaşama yüzdesi, köklenme süresi, köklenme yüzdesi, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, gövde kalınlığı ve internod aralığı incelenmiştir.

Projede *in vitro* köklenme yapılmadığı için 15 gün ve *ex vitro* köklendirmenin de sera koşullarında 800 ppm karbondioksit beslemesi ile teşvik edilmesi ile de 10 gün olmak üzere, *in vitro* köklendirme ve aklimatizasyon prosedür toplam süresinin yaklaşık 25 gün kısaltılması sağlanmıştır.

Anahtar sözcükler: *Actinidia deliciosa*, Kivi, Mikroçoğaltım, *Ex Vitro*
Köklendirme, Karbondioksit Beslemesi.

ABSTRACT**IN SOME KIWI (*Actinidia deliciosa*) SPECIES EFFECTS OF CARBON DIOXIDE FEEDING ON *EX VITRO* ROOTING**

KANIK, Hilal

MSc in Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Aynur GÜREL

October 2015, 67 pages

In this project, carbon dioxide feeding effects on *ex vitro* rooting in some kiwi (*Actinidia deliciosa*) species, which have high commercial value, has been investigated.

In this study, meristems were isolated and regenerated from Hayward-higher commercial value- and Matua-Hayward's fertilizing- winter buds. Shoots were propagated in semi-solid medium. The best results among the different mediums tested for isolation; MS medium containing 1.5 mg/L BAP, 0.3 mg/L ascorbic acid and 30 g/L sucrose. On the other hand, the best results among the different mediums tested for multiplication; MS medium containing 0.5 mg/L zeatin. Regeneration rate in meristem cultures, shoot number, shoot height, leaf number, multiplication factor, vitrification rate, morphophysiologic abnormalities were investigated on regeneration and shoot proliferation phases. *Ex vitro* rooting in photoautotrophic conditions with CO₂ feeding (fertilization) are used together in lab scale (vessels) and large scale (greenhouse) for overcome *in vitro* rooting and acclimatization disadvantages and constraints. Survival rate, rooting time, rooting rate, shoot height, leaf number, thickness of the body and internodes range were investigated on *ex vitro* rooting phase. As a result of the project; *in vitro* rooting and acclimatization procedure was shortened totally 25 days. 15 days because of use *ex vitro* rooting instead of *in vitro* rooting phase and 10 days because of 800 ppm carbon dioxide feeding during greenhouse *ex vitro* rooting.

Keywords: *Actinidia deliciosa*, Kiwifruit, Micropropagation, *Ex Vitro* Rooting, Carbon Dioxide Fertilization.

TEŞEKKÜR

Çalışmaya sağladıkları her türlü destekten dolayı, SANTEZ AR-GE destek programı kapsamında Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı Bilim ve Teknoloji Genel Müdürlüğü'ne, EBİLTEM'e, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü'ne, Biyomühendislik Bölümü'ne ve Dikili Çiftlik Anonim Şirketi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamızda bana her türlü desteği sağlayan danışmanım Prof. Dr. Aynur GÜREL'e; bu çalışma süresince kıymetli görüşlerinden yaralandığım sayın Dr. Serpil ORHAN FEDAKAR'a; Ege Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nde gerçekleştirilen denemelerin kontrolündeki değerli katkılarından dolayı Berk ÜNAL, Münire EKMEKÇİGİL, Begüm AKYOL'a; çalışma süresince gerekli verilerin sağlanmasında kolaylık gösteren Dikili Çiftlik A.Ş. çalışanlarına; beni her zaman destekleyen aileme teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
TEŞEKKÜR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1 Bitkisel Özellikler	5
2.2 Besin Özellikleri ve Ticari Değeri	5
2.2.1 Kivi meyvesinin faydaları	6
2.2.2 Ticari kullanım alanları	7
2.3 <i>Actinidia deliciosa</i> Üzerinde Gerçekleştirilen Bitki Doku Kültürü Çalışmaları	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1 Materyal	15
3.2. Yöntem	15

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

3.2.1 Rejenerasyon ve çoğaltım besin ortamlarının hazırlanması	15
3.2.2 Meristem ucu izolasyonu ile bitki rejenerasyonunun sağlanması	17
3.2.3 Sürgünlerin <i>in vitro</i> çoğaltımı.....	18
3.2.4 Sürgünlerin <i>ex vitro</i> köklendirilmesi	18
3.2.5 Kültü koşulları	20
3.2.6 Denemenin kurulması ve verilerin değerlendirilmesi	20
4. BULGULAR	22
4.1 Meristem Ucu İzolasyonu ve Bitki Rejenerasyonunun Sağlanması	22
4.2 Sürgünlerin <i>In Vitro</i> Çoğaltımı	24
4.3 Sürgünlerin <i>Ex Vitro</i> Köklendirilmesi	29
4.3.1 Kültür kabında sürgünlerin <i>ex vitro</i> köklendirilmesi.....	29
4.3.2 Alıştıma serasında sürgünlerin <i>ex vitro</i> köklendirilmesi	35
5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR DİZİNİ	48
ÖZGEÇMİŞ	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Hayward ve Matua çeşitlerinde tekli sürgün veren ortalama meristem sayısı (adet) ve tekli sürgün oluşturma yüzdeleri (%)	23
4.2 <i>Actinidia deliciosa</i> bitkisinde sürgün gelişimleri.....	23
4.3 Hayward ve Matua çeşitlerinde incelenen mikroçoğaltım parametreleri ile ilgili ortalama değerler.....	25
4.4 Hayward ve Matua çeşitlerinde kültür kabı köklendirme denemeleri .	28
4.5 Farklı karbondioksit miktarları içeren kültür kaplarında altkültüre alınan Hayward ve Matua eksplantlarında elde edilen köklendirme parametreleri-1 ...	33
4.6 Farklı karbondioksit miktarları içeren kültür kaplarında altkültüre alınan Hayward ve Matua eksplantlarında elde edilen köklendirme parametreleri-2 .	34
4.7 Hayward ve Matua çeşitlerinde köklendirme denemeleri; (a) Serada karbondioksit beslenen ortamda yetiştirilen Hayward bitkisi, (b) Serada karbondioksit beslenmeyen ortamda yetiştirilen Hayward bitkisi, (c) Serada karbondioksit beslenen ortamda yetiştirilen Matua bitkisi, (d) Serada karbondioksit beslenmeyen ortamda yetiştirilen Matua bitkisi.....	35
4.8 Karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan sera koşullarında Hayward ve Matua çeşitlerinde elde edilen köklendirme parametreleri-1	40
4.9 Karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan sera koşullarında Hayward ve Matua çeşitlerinde elde edilen köklendirme parametreleri-2.....	41
5 <i>In vitro</i> ve karbondioksit beslemeli <i>ex vitro</i> koşullarda yetiştirilmiş Matua ve Hayward çeşitleri.....	46

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Kivi meyvesinin besin değeri	7
3.1 MS (1962) besin ortamının içerdiği maddeler ve miktarları	15
3.2 Rejenerasyon ve çoğaltım aşamalarında kullanılan besin ortamları	16
4.1 Kültüre alınan Hayward ve Matua meristem uçlarında rejenere olan eksplant sayısı (adet) ve rejenerasyon yüzdeleri (%)	21
4.2 Tekli sürgün veren meristem sayısına ait varyans analiz tablosu	22
4.3 Tekli sürgün veren meristem yüzdesine ait varyans analiz tablosu	22
4.4 Farklı çoğaltma besin ortamlarında altkültüre alınan Hayward ve Matua çeşitlerinde mikroçoğaltım parametreleri	24
4.5 Sürgün sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu	26
4.6 Sürgün boyuna (mm) ait varyans analiz tablosu	26
4.7 Yaprak sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu	27
4.8 Çoğaltma kat sayısına ait varyans analiz tablosu	27
4.9 Farklı karbondioksit miktarları içeren kültür kaplarında altkültüre alınan Hayward ve Matua eksplantlarında elde edilen köklendirme parametreleri ...	29
4.10 Kök sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu	30
4.11 Yaprak sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu	30
4.12 Kök uzunluğuna (mm) ait varyans analiz tablosu	31
4.13 Sürgün boyuna (mm) ait varyans analiz tablosu	31

ÇİZELGELER DİZİNİ (devam)

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.14 Gövde kalınlığına (mm) ait varyans analiz tablosu	32
4.15 İnternod aralığına (mm) ait varyans analiz tablosu	33
4.16 Karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan sera koşullarında Hayward ve Matua çeşitlerinde elde edilen köklendirme parametreleri	36
4.17 Kök sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu	37
4.18 Yaprak sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu	37
4.19 Kök uzunluğuna (mm) ait varyans analiz tablosu	38
4.20 Sürgün boyuna (mm) ait varyans analiz tablosu	39
4.21 Gövde kalınlığına (mm) ait varyans analiz tablosu	39
4.22 İnternod aralığına (mm) ait varyans analiz tablosu	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
*	önemi %5 alfa seviyesinde
**	önemi %1 alfa seviyesinde
<u>Kısaltmalar</u>	
MS	Murashige ve Skoog (1962) besin ortamı
BA	Benziladenin
BAP	6-Benzilamino purin
IBA	Indol-3-butirik asit
GA ₃	Giberellik asit
CPPU	N-(2-chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea)
CO ₂	Karbondiyoksit
Ppm	Milyonda bir
FAO	Gıda ve tarım örgütü
Psa	<i>Pseudomonas syringae</i> pv <i>actinidiae</i>
LSD	Asgari önemli fark
HKO	Hatanın kareler ortalaması
ns	önemsiz

1. GİRİŞ

Actinidia deliciosa, 110 taksona ve 60 çeşide sahip *Actinidia Lindl* ailesinin en iyi bilinen çeşididir (Adıyaman Akbaş vd., 2007).

Kivi bitkisinin anavatanı Çin olarak kabul edilmektedir. Ancak kültür çeşitleri olarak yetiştirilen kivi çeşitlerinin ticari amaçla üretimi 1930’lu yıllarda Yeni Zelanda’da gerçekleştirilmiştir. 1980’li yılların başından itibaren birçok ülkede yoğun bir şekilde yetiştirilmeye başlanmış ve 1980-1990 yılları kivinin altın yılı olarak kayıtlara geçmiştir. Kivinin dünyadaki bu gelişiminden en büyük payı ise Akdeniz ülkeleri almıştır (Ordu Ticaret Borsası, 2013).

Kivinin, üretilen ülkeler bazında milli ekonomilere katkısı açısından değerlendirildiğinde İtalya, Yeni Zelanda ve Çin başı çekmektedir. FAO’nun 2011 yılı kivi üretim verilerine göre Türkiye bu sıralamada %2’ lik payı ile 8. sırada yer almaktadır (Ordu Ticaret Borsası, 2013).

Kivi bitkisi, son 30-50 yılda üretimi hızla artmakta olan meyve türlerinden birisidir. Geniş adaptasyon yeteneği, bitki ve meyve özellikleri, depolama kolaylıkları, yüksek fiyatla alıcı bulması üretimdeki sıçramayı arttırmıştır (Adıyaman Akbaş vd., 2012). Türkiye’ de ilk adaptasyon denemeleri 1986-88 yıllarında yapılmış olan kivi bitkisinin ekonomik olarak Ege, Akdeniz, Marmara ve Karadeniz bölgelerinde yetiştirilebildiği belirtilmektedir (Ünye Ticaret Borsası, 2013).

Ünye Ticaret Borsasının 2013 yılı raporuna göre; Türkiye’nin kiviye olan ihtiyacının 50-60 bin ton olduğu tahmin edilmektedir. İhtiyacın karşılanması amacıyla Yunanistan, İtalya, Şili ve Yeni Zelanda’dan kivi ithal edilmektedir. Gerek meyvesi, gerekse fidanı düşünüldüğünde, yüksek

oranda yurt dışına bağlı olduğumuz bu çeşidin Türkiye’ de üretiminin yaygınlaştırılmasını gerektiren piyasa açığı bulunmaktadır.

Ayrıca kivi ithalatı yaptığımız ülkelerde Psa (*Pseudomonas syringae* pv *actinidiae*) bakterisinin büyük risk oluşturması ve bu hastalık etmeninin meyve ya da fidan ile ülke içine taşınma riskinin yüksek oluşu nedeniyle, bu çeşit ile ilgili dışa bağımlılığın gerekmeyeceği şekilde bir üretim programı ile Türkiye’ de üretimin arttırılması gerekliliği söz konusudur.

Kivinin yetiştiği doğal ortamlarda oransal nem % 70-80, yükseklik en az 300 m, çoğunlukla 800-1400 m’ dir. Yağış, kivi yetiştiriciliğinde en önemli iklimsel etmendir. Kivi bitkisi yaklaşık 8-9 ay süren vejetasyon dönemi içinde iklime göre topraktan 800-1400 mm su tüketir (Ünye Ticaret Borsası, 2013).

Yüksek vitamin içeriğine ve antioksidan kapasitesine sahip bir meyve olan kivi meyvesinden çok farklı şekillerde (taze meyve, konserve, dondurulmuş vb.) yararlanılmaktadır (Adıyaman Akbaş vd., 2012).

Kivi endüstrisindeki genişleme, çoğaltım materyallerine olan ilgiyi arttırmıştır. Geleneksel çoğaltım yöntemlerine ilave olarak bazı ülkelerde mikroçoğaltım yöntemi de kullanılmaktadır (Adıyaman Akbaş vd., 2007).

Kivi, generatif ya da vegetatif çoğaltım metotları ile çoğaltılabilmektedir. Ancak tohumla elde edilen populasyonda genetik varyasyonun yüksek olması ve bitkinin dioik yapısı gereği populasyonun yaklaşık %80’ ini erkek, %20’ sini dişi karakterli bitkilerin oluşturması, fidan üretiminde tohumla çoğaltımın tercih edilmemesine neden olmaktadır (Sivritepe ve Tuğ, 2011). Bu nedenle ticari kivi üretiminde vegetatif çoğaltım yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Mikroçoğaltım yönteminin ise büyük ölçek üretimi hızlı, ekonomik ve kolay olması nedeniyle ticari fidan üretimi

için en uygun/avantajlı yöntem olduğu düşünülmektedir (Adıyaman Akbaş vd., 2012).

Bu yöntemle istenilen sayıda fidan üretiminin kısa sürede yapılması, ortaya çıkan fidan talebinin kısa sürede karşılanması bakımından büyük avantaj sağlamaktadır. Ayrıca doku kültürü yoluyla oğaltılmış fidanlar standartlara uygun, hastalıksız ve kuvvetli kök yapısına sahip olduklarından daha kalitelidir ve daha çok talep görmektedir (Anonim 1).

Bitki doku kültürü ile gerçekleştirilen üretimlerde, mikroçoğaltımın tüm avantajlarına rağmen en büyük kayıplar aklimatizasyon (şaşırtma-*in vitro* bitkinin dış ortama alıştırılması) sırasında oluşmaktadır. Bunun yanında klasik aklimatizasyon yöntemleri ile köklendirme süresi uzamakta, canlılık oranı düşmekte, kullanılan kimyasalların ve srenin artmasına paralel olarak maliyet artmaktadır.

Ex vitro köklendirme; mikroçoğaltımı gerçekleştirilen bitkiciklerin doğrudan büyüme ortamına dikilerek bu ortamda köklendirilmesi ile dış ortama alıştırılması işlemidir. *In vitro* köklendirmeye oranla daha düşük maliyetli ve daha kısa süreli bir yöntemdir. *In vitro* köklendirme maliyetinin mikroçoğaltım maliyetinin %30-75' ini kapsadığı bildirilmektedir. *Ex vitro* köklendirme ile bu maliyetin %71' e kadar azaltılabileceği belirtilmiştir (Ranaweera et al., 2013).

Karbondioksit beslemesi; yetiştirilen bitkinin bulunduğu ortama belirli oranda hava ile karışık karbondioksitin enjekte edilmesi işlemidir. Karbondioksit bitkilerin fotosentez işlemini gerçekleştirebilmek için kullandıkları en önemli bileşiktir. Ortamdaki karbondioksit miktarındaki belirli orandaki artış bitkinin fotosentez hızının artmasına ve gelişiminin hızlanmasına olanak sağlamaktadır.

Projemizde; kivi bitkisinin artan ekonomik değeri ve çoğaltımındaki kısıtlar dikkate alındığında, bu bitkinin bitki doku kültürü teknikleri ile ticari boyutta üretiminin gerçekleştirilmesi amacıyla uygun prosedürün belirlenmesi hedeflenmektedir. Mikroçoğaltım prosedürünün sürgün oluşumu ve sürgün gelişimi kısımlarının oturtulmasının ardından, zaman ve maliyet kaybına neden olan *in vitro* köklendirme ve aklimatizasyon basamaklarının kaldırılarak, *ex vitro* köklendirmenin fotoototrofik olarak tek basamakta sağlanması ve karbondioksit besleme yöntemi ile *ex vitro* köklendirmenin hızlandırılması amaçlanmaktadır. Bu şekilde, ticari üretimleri gerçekleştirilen gerek kivi çeşitlerinde, gerekse de diğer farklı türlerin çeşitlerinde de uygulanabilir niteliğe sahip karbondioksit beslemesi ile *ex vitro* köklendirme ve aklimatizasyon süresinin kısaltılması sağlanarak üretim verimliliğinin artırılması hedeflenmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkisel Özellikler

Kivi bitkisinin gövdesi sarılıcı asma gövdesidir. Genç yaşlarda gevşek ve kırılıcı gövdeye sahip olan kivi fidanı kendi ağırlığını taşıyamadığından dikimden itibaren herak ile desteklenmelidir. Kivi bitkisinde budama, gövde şeklinin dik ve düzgün bir oluşum göstermesi için önemlidir. Saçak kök yapısına sahip olan kivi bitkisinin kökleri çoğunlukla toprağın 0-40 cm derinliğinde bulunmakla birlikte uygun koşullarda 1-1.5 m derine gidebilir (Sanayi ve Ticaret Bakanlığı, 2005).

Kivi bitkisi beyaz taç yapraklara sahiptir. Erkek ve dişi çiçekler ayrı bitkilerde bulunur. Bitkinin dioik yapısı nedeniyle, kurulumu gerçekleştirilen tesislerde erkek ve dişi çiçeklerin belirlenen dikim düzenine göre birlikte dikilmesi gereklidir (Sanayi ve Ticaret Bakanlığı, 2005).

Kivi, kışları ılık, yazları sıcak ve nemli iklim bölgelerinde iyi gelişim göstermektedir. Bol su isteyen, topraktan 800-1400 mm su tüketen kivi bitkisinin yetiştirilmesi için, derin ve geçirgen topraklar daha uygundur (Ordu Ticaret Borsası, 2013).

2. 2. Besin Özellikleri/Ticari Değeri

Kivi meyvesi, yüksek besleyiciliğe sahip bir besin olmasıyla ün kazanmıştır. En yaygın ticari çeşit olan *Actinidia deliciosa* ‘Hayward’ meyvesinin C vitamini içeriği 85 mg/100g’dır. Bu miktarın portakalın C vitamini içeriğinden %50 daha fazla, elmanınkinden ise 10 kat daha fazla olduğu belirtilmektedir. Kivi meyvesi aynı zamanda mükemmel bir potasyum, folik asit ve E vitamini kaynağıdır. Ayrıca yüksek antioksidan kapasitesine sahip meyveler arasındadır (Wang and Gleave, 2012). Kivi

meyvesinden çok farklı şekillerde (taze meyve, konserve, dondurulmuş vb.) yararlanılmaktadır. Bunun yanında gıda sanayinde, pasta, tatlı ve içecek yapımında kullanılmaktadır. Kivi meyvesinin besin değerinin yanında tıp alanında kullanımı da söz konusudur (Adıyaman Akbaş vd., 2012).

Ticari olarak yetiştirilen dişi kivi bitkilerinin tamamına yakını Hayward çeşididir. Erkek bitki (tozlayıcı) olarak ise daha çok Matua ve Tomuri çeşitleri kullanılmaktadır.

2. 2. 1. Kivi meyvesinin faydaları

A ve C vitaminleri ile potasyum açısından çok zengin bir meyve olan kivi, ayrıca kalsiyum, demir ve magnezyum gibi mineraller açısından da zengindir (Çizelge 2.1). Besleyici değeri yüksek bir besin olan kivin bir tanesi ile günlük A ve C vitamini ihtiyacı karşılanabilmektedir. Kivi meyvesinin insan sağlığı açısından bilinen faydaları şu şekilde sıralanabilir:

- Lif açısından da zengin bir besin olan kivi bağırsakları çalıştırarak sindirimi kolaylaştırmakta ve kabızlığı önlemektedir.
- Vücudu ve bağışıklık sistemini güçlendirir.
- Nezle ve grip gibi soğuk algınlıklarına iyi gelir.
- Nefes açıcı etkisi ile astımlılara faydalıdır.
- Başta göğüs kanseri olmak üzere, kanser oluşumuna ve ilerlemesine karşı koruyucudur.
- Kan basıncını dengeler.
- Tansiyonu ve kandaki kolesterol oranını düşürür.
- Karaciğeri çalıştırır ve kanı temizler.
- Kansızlığa ve mide rahatsızlıklarına iyi gelir.
- Yaşlanmanın ciltteki belirtilerini azaltır.

Çizelge 2. 1. Kivi meyvesinin besin değeri (Anonim 2)

Analizler	Taze	Konserve	Donmuş
Kalori	66	*	66
Rutubet	81.2 g	73.0 g	80.7 g
Protein	0.79 g	0.89 g	0.95 g
Yağ	0.07 g	0.06 g	0.08 g
Karbonhidrat	17.5 g	25.5 g	17.6 g
Kül	0.45 g	0.45 g	0.53 g
Kalsiyum	16 mg	23 mg	18 mg
Demir	0.51 mg	0.40 mg	0.51 mg
Magnezyum	30 mg	30 mg	27 mg
Fosfor	64 mg	48 mg	67 mg
Thiamine	0.02 mg	0.02 mg	0.01 mg
Niacin	0.50 mg	0.40 mg	0.22 mg
Riboflavin	0.05 mg	0.02 mg	0.03 mg
Vitamin A	175 I.U.	155 I.U.	117 I.U.
Ascorbic Acid	105 mg	103 mg	218 mg

100 g kiviinin gıda değeri

2. 2. 2. Ticari kullanım alanları

Kivi meyvesi ferahlatıcı ve hoş kokulu bir tada sahiptir. Taze olarak tek başına yenebildiği gibi tatlılarda, özellikle dondurma ve yağ pastalarda diğer meyvelerle birlikte meyve salatalarında tüketilebilmektedir. Ayrıca, gıda sanayinde konserve, marmelat, meyve sosu ve şekerlemelerde de kullanılmaktadır (Ordu Ticaret Borsası, 2013). Kivi meyve suyuna işlenmekte, sade veya diğer meyve sularıyla birlikte kokteyl olarak tüketilebilmektedir. Kivi, boya sanayinde ham madde (kivi aroması sıvı formda olup yağ bazlı aromadır-kötü kokuyu bastırma ve koku güzelleştirme amaçlı) olarak yer almakta, eczacılık (kivi aroması) ve

kozmetik sanayinde (sabun, şampuan, duş jeli, dudak kremi ve esans yapımında) kullanım alanı bulmaktadır (Adıyaman Akbaş vd., 2012).

2. 3. *Actinidia deliciosa* Üzerinde Gerçekleştirilen Bitki Doku Kültürü Çalışmaları

Shen et al. (1990) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, 2 μ M Benziladenin (BA) içeren MS besin ortamında tekli nod eksplantlarından kivi kültürleri başlatılmıştır. Aksiler tomurcuklardan sürgün gelişimleri, BA ya da zeatin (5-10 μ M) içeren besin ortamında sağlanmıştır. Aksiler sürgün oluşumunun, klonal özellikler, sitokinin tipi ve konsantrasyonu ile fotoperiyottan etkilendiği belirtilmiştir. 20 mm' den uzun mikrosürgünlerin % 60-90' ının 3-4 hafta içerisinde 3-indol asetik asit (IAA) ya da γ -indol bütirik asit (IBA) içeren besin ortamında köklendirildiği ve köklendirilen mikrosürgünlerin de yaklaşık %60 başarıyla saksılara aktarıldığı bildirilmiştir.

Hayward ve Tomuri kivi çeşitlerinde gerçekleştirilen diğer bir araştırmada, sürgün çoğaltımı açısından denenen üç sitokinin çeşidinden (BA, Zeatin ve Kinetin), BA'nın sürgün ve nod üretiminde daha etkili olduğu rapor edilmiştir. Çoğaltım ortamından indol-3-bütirik asit (IBA) içeren ortama aktarılan bitkilerin hepsinde 25 gün sonra çok sayıda kök gözlemlendiği ifade edilmiştir. Oksin içermeyen besin ortamında ise köklenme oranının daha düşük olduğu, ancak arada çok büyük bir oran farkı oluşmadığı bildirilmiştir. Aklimatizasyon aşamasında ise sıcaklık etmeninin oldukça etkili olduğu görülmüştür. Yaz mevsiminde gerçekleştirilen aklimatizasyon aşamasında 56 günde %75 başarı sağlanırken, ilkbaharda %90 başarı elde edilmiştir (Marino and Bertazza, 1990).

Moncalean et al. (1999) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, Sorbarod selüloz dolgu ile desteklenmiş, sıvı besin ortamında kültüre alınan *Actinidia deliciosa* apikal sürgün eksplantlarında kültürden 0, 0.5, 1, 2, 8 ve 16 saat

sonra, BA alımı ve kullanımı, zeatin tipi sitokininler ve makro besin elementlerinin ölçümü yapılmıştır. İlk 30 dakikada kültür ortamında kalan BA miktarı hızlı bir şekilde azalmıştır. BA' nın sıvı ortamda kültüre alınan köksüz kivi sürgünleri tarafından hızlı bir şekilde metabolize edilmesinin düşük oranda hiperhidrik sürgün oluşumuna neden olabileceği ifade edilmiştir. Zeatin tipi sitokininlerin miktarında ise ilk 16 saat değişme gözlenmemiştir. Bu durum, kivi eksplantlarının gelişiminde BA'nın endojen sitokininler ile birlikte değil tek başına etkili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Amonyum ve fosfat, çoğunlukla kültürün ilk saatlerinde tüketilmiş ve bu elementler 35 günlük kültür periyodu sonucunda en fazla tüketilen makroelementler olarak belirlenmiştir. Fosfat dışında (fosfat miktarı daha da arttırılabilir) MS besin ortamı içeriğinin kivi bitkisinin sıvı kültürleri için oldukça zengin olabileceği ifade edilmiştir.

Moncalean et al. (2001) gerçekleştirdiği bir başka araştırmada, *Actinidia deliciosa* apikal sürgünleri yine Sorbarod selüloz dolgu ile desteklenen sıvı MS ortamında kültüre alınmışlardır. Farklı BA (4.4 μ M) inkübasyon periyotlarında (0, 30 dk, 1 s, 4 s, 8 s, 1 gün, 2 gün, 4 gün, 8 gün, 15 gün, 35 gün) mikroçoğaltım sisteminin geliştirilmesi denemeleri gerçekleştirilmiştir. Ardışık 3 altkültürde her altkültür sonrasında, sürgün sayısı, sürgün boyu, sürgün ağırlığı, kallus oranı, çoğaltım indeksi gibi parametrelerin ölçümleri gerçekleştirilmiştir. En yüksek sürgün boyu; 1. alt kültür verilerine göre 2 gün BA uygulaması gerçekleştirilen ortamda (3.35 ± 0.46 cm), 2. (3.40 ± 0.24 cm) ve 3. (3.68 ± 0.25 cm) altkültürde ise 30 dk BA uygulaması gerçekleştirilen ortamda elde edilmiştir. Çoğaltım indeksi açısından yapılan ölçümlerde; 1. altkültürde 1 gün (2.10 ± 0.14) ve 2 gün (2.10 ± 0.17), 2. altkültürde 1 saat (2.30 ± 0.16) ve 3. altkültürde 30 dakika (2.16 ± 0.16) BA uygulaması gerçekleştirilen denemelerde en iyi sonuçlar elde edilmiştir. Mikroçoğaltım aşamasında farklı periyotlarda uygulanan BA'nın köklendirme ve aklimatizasyon aşamalarına olan etkisi ile ilgili gözlemler de gerçekleştirilmiştir. Mikroçoğaltım aşamasında BA uygulanmayan bitkilerde köklendirme aşamasında yaprak sayısı (2.84 ± 0.21), köklenme oranı (%100) ve sürgün boyunun (2.44 ± 0.12) daha yüksek olduğu

bildirilmiştir. Aklimatizasyon aşamasında ise, mikroçoğaltım aşamasında BA uygulanmayan ortamdan gelen bitkilerde yaprak sayısı (4.84 ± 0.11) en yüksek iken, sürgün boyu (3.71 ± 0.17 cm) 1 gün BA uygulanan bitkilerde daha yüksektir. Bununla birlikte, yapılan çalışmada çoğaltım aşamasında en iyi sonuçların alındığı bitkilerin, aklimatizasyon aşamasında en iyi verileri vermediği bildirilmiştir. En yüksek kaliteye sahip bitkilerin 1 gün süresince BA içeren ortamda kültürü yapılan bitkiler oldukları da ifade edilmiştir. Çalışmanın sonuçlarına göre, BA' nın mikroçoğaltımın farklı aşamalarında önemli etkiye sahip tek etmen olmadığı belirtilmektedir.

Moncalean et al. (2003) gerçekleştirdiği bir başka çalışmada, sıvı kültürdeki Hayward eksplantlarının makronutrient, karbon kaynağı ve giberellik asit kullanımlarının belirlenmesi amacıyla kültür süresince ölçümler gerçekleştirilmiştir. Çalışma, kivi mikroçoğaltımının arttırılması amacıyla BA ilavelerinin mümkün olabileceği otomatik kültür sistemleri için besin ortamı kompozisyonunun belirlenmesini hedeflemektedir. 35 günlük kültür periyodu sonunda amonyum ve fosfatın en çok tüketilmiş olan iyonlar olduğu belirtilmiştir. Sükroz ve bunların hidrolizinden elde edilen glukoz, bütün kültür süreci boyunca kivi bitkileri tarafından alınmıştır. Giberellik asit emilimi kültür süreci boyunca yavaş yavaş gerçekleşmiştir. Ancak 35 günlük kültür periyodu sonunda başlangıçta eklenen miktarın ($0,6 \mu\text{M}$) %67' si besin ortamında kalmıştır.

In vitro bitkilerde stoma yapısı genel olarak yuvarlak ve açıktır. Bu durumun *in vitro* ortamdaki yüksek nem oranına bağlı morfolojik ya da fizyolojik bir bozukluk olabileceği belirtilmektedir. *In vitro* bitkilerin dış koşullara aktarımındaki yüksek ölüm oranının da stomadaki fonksiyonel bozukluklardan dolayı gerçekleşen aşırı su kaybından kaynaklanıyor olabileceği ifade edilmiştir. Bir çok etmenin yanı sıra sitokininlerin stoma işlevine yüksek oranda etkisi olabileceği belirtilen çalışmada, 3 farklı BA konsantrasyonu ($4.4 \mu\text{M}$, $44 \mu\text{M}$, $440 \mu\text{M}$) uygulanan ve BA uygulanmayan *Actinidia deliciosa* sürgün kültürlerinde, çoğaltım, köklendirme ve aklimatizasyon aşamaları sonrasında, yapraklardaki stoma boyutu,

yoğunluğu ve açıklık oranı ölçümleri gerçekleştirilmiştir. BA inkübasyon süresinin 30 dakikadan 4 saate çıkarılması stoma enine eksen boyutunun artmasını sağlasa da, çoğaltım aşamasında kültür ortamında BA olmayışı ya da 4.4 μM BA bulunuşu stoma boyutunu etkilememiştir. Her şeye rağmen, BA (4.4 μM) uygulaması çoğaltım fazı sonunda stoma yoğunluğunun artışına sebep olmaktadır. Çoğaltım ortamında BA'nın yokluğunun ya da varlığının (4.4 μM), aklimatizasyon sonunda stoma boyutu, sayısı ya da açıklığı üzerine belirgin bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Çoğaltım aşamasında kültür ortamındaki BA konsantrasyonunun arttırılmasının, aklimatizasyon sonundaki ölçümlere göre stoma açıklığını düşürdüğü ifade edilmekle birlikte, çoğaltım aşamasında 44 μM ve 440 μM BA'ya maruz kalan bitkilerin aklimatizasyon davranışı ile ilişkisi olduğuna dair veri elde edilmediği bildirilmiştir (Moncalean et al., 2007).

Gerçekleştirilen bir çalışmada, olgun kivi (*Actinidia deliciosa*) tohumları kullanılarak, mikroçoğaltım metodu geliştirilmiştir. İlk aşamada, MS besin ortamının farklı kuvvetleri (1/4-1/2-1/1 ve 2/1) ve farklı karbon kaynağı (30 g/l sükroz, maltoz ve dekstroz) kullanımının kivi tohumlarından aksenik çimlendirme ile elde edilen mikro sürgünlerde, sürgün çoğaltımı üzerine etkisi incelenmiştir. Sürgün çoğaltımı için optimum sonuçlar, 30 g/l sükroz içeren tam doz MS besin ortamında elde edilmiştir. İkinci aşamada ise, 6-benzilamino pürin (BAP; 0.5-4.0 mg/l) ve kinetin (0.5-4.0 mg/l) 'in kivi bitkiciklerinde sürgün çoğaltımı üzerine etkileri incelenmiştir. En iyi sonuçların 0.5 mg/l BAP içeren ortamda elde edildiği (28. Günde 4.7 ± 1.08 çoğaltım katsayısı) belirtilmiştir. Elde edilen sürgünler 1.0 mg/l α -naftalenasetikasit içeren MS besin ortamında köklendirilmiş ve ardından başarıyla dış koşullara koşullara adaptasyonları sağlanmıştır (Adıyaman Akbaş vd., 2007).

Kivi bitkilerinin ekonomik olarak *in vitro* mikroçoğaltımlarının gerçekleştirilebilmesi için uygun prosedürün optimizasyonunun hedeflendiği bir başka çalışmada, MS besin ortamına farklı konsantrasyonlarda BAP ve Hindistan cevizi suyu ilavesi

gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde; bitkilerin sürgün sayısı, sürgün boyu ve nod sayıları göz önüne alındığında, en iyi sonuçların % 20 (v/v) Hindistan cevizi suyu ve 2.0 mg/L BAP içeren MS besin ortamında elde edildiği bildirilmektedir. Hindistan cevizi suyu içermeyen ortamlar için veriler karşılaştırıldığında ise MS besin ortamındaki BAP miktarı arttıkça sonuçların iyileştiği ve en iyi sonuçların 2.5 mg/L BAP içeren MS ortamında sağlandığı görülmektedir. Elde edilen sürgünler 0.02 mg/L IBA içeren ½ MS besin ortamında köklendirilmiş ve ardından %90 kum-%10 çiftlik gübresi içeren ortamlarda %95 canlılık oranı ile sera aklimatizasyonları gerçekleştirilmiştir (Nasib et al, 2008).

Actinidia deliciosa (Hayward ve Tomuri) ve *Actinidia chinensis* kivi çeşitlerinin mikroçoğaltım başarılarında, CPPU (N-(2-chloro-4-pyridyl)-N-phenylurea), BA ve Zeatin uygulamalarının etkilerinin gözlemlendiği bir çalışmada; *A. deliciosa* çeşitlerinde 2.2 mM CPPU ile 4.4 mM BA karşılaştırıldığında, CPPU' nun çoğaltım oranını arttırdığı belirtilmektedir. Bunun yanında, yüksek oranlardaki CPPU'nun bitki çoğaltımını olumsuz etkilediği ifade edilmektedir. *A. chinensis* çeşidi için ise, BA ve CPPU kullanımının çoğaltım oranı üzerine belirgin etkilerinin görülmediği bildirilmektedir. Ancak, CPPU'nun bulunduğu ortamda gelişen sürgünlerde, BA'nın bulunduğu ortamda gelişen bitkilerle kıyaslandığında, vitrifikasyon oluşumu, çok kısa internod aralığı, düşük klorofil içeriği, yüksek su, karotenoid ve fenol içeriği gözlemlendiği belirtilmiştir. Diğer yandan, düşük konsantrasyonlar (10 mM) kullanıldığında, *A. deliciosa* çeşidi için CPPU'nun adventif sürgün rejenerasyonunda BA ve zeatinden daha etkili olduğu; *A. chinensis* çeşitleri için ise, yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında CPPU' nun zeatin kadar etkili olduğu belirtilmiştir (Caboni et al., 2009).

Geleneksel *in vitro* kültürlerde, eksplantlar, sükrozun ana enerji kaynağı olduğu, fitohormonların sürekli ortamda bulunduğu, yüksek bağıl nem altında havalandırmasız kapalı kültür kaplarında yetişmektedir. Arigita et al., (2005) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, BA emiliminin kültürün ilk

30 dakikasında çok hızlı olduğu, emilimi gerçekleştirilen BA'nın %70'inin ilk 24 saatte metabolize edildiği belirtilmiş ve BA'nın 24 saatlik varlığının hücre bölünmesinin hormonal teşvikinin gerçekleştirilmesi için yeterli olabileceği ifade edilmiştir. Bu çalışmada, ilk 24 saat BA uygulanan ve 600 μL CO_2 ile zenginleştirilen ototrofik koşullarda yetiştirilen kivi bitkilerinde sürgün çoğaltımının arttırılması ve bitkilerin *ex vitro* ortama aktarımlarına karşı dayanıklılıklarının arttırılması amaçlanmıştır. Çalışmada, BA'nın farklı sürelerde kültüre uygulanmasının etkileri incelenmiştir. Bitkiler; BA (4.44 μM) ve GA_3 (2.89 μM) içeren MS besin ortamında, havalandırmalı ve havalandırmasız koşullarda, ayrıca ilk 24 saat BA ve GA_3 içeren daha sonra ise içermeyen MS besin ortamında havalandırmalı koşulda kültüre alınmıştır. Elde edilen sonuçlarda; ilk 24 saat BA uygulanan ve karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen 20 günlük kültürlerde, sürekli BA uygulanan ve de CO_2 beslemesi gerçekleştirilen ve gerçekleştirilmeyen ortamlara oranla bitki boyunun daha uzun ve kök oluşumunun daha güçlü olduğu belirtilmiştir.

In vitro kivi kültürlerinde, farklı süktroz konsantrasyonlarında (0, 10 ve 20 g/L), heterotrofik ve ototrofik (beslemesiz, 300, 600 ve 2.000 μL CO_2) koşullarda kurulan denemelerle, karbondioksitçe zenginleştirilmiş mikroçevrenin süktroz ve makronutrientlerin emilimi ve ototrofinin teşviki üzerine etkileri incelenmiştir. 20 g/l süktroz içeren ve havalandırma gerçekleştirilen sistemlerde süktroz kullanımının, havalandırma gerçekleştirilmeyen sistemlere oranla daha düşük olduğu bildirilmektedir. En düşük süktroz kullanım oranının, 20 g/l süktroz içeren ve 600 μL CO_2 beslenen ortamda kaydedildiği belirtilmektedir. Bitkilerin nitrat, fosfat ve magnezyum kullanımı göz önüne alındığında, maksimum nutrient kullanımının ilk 20 günü 20 g/l şeker içeren ortamda ve sonraki 20 günü şeker içermeyen ortamda gerçekleştirilen 40 günlük 600 μL CO_2 beslemeli sistemde gerçekleştiği ifade edilmektedir. Bu ototrofik koşulların bitki gelişimlerini (kuru ağırlık, taze ağırlık, sürgün sayısı, sürgün boyu, yaprak sayısı) en iyi şekilde desteklediği aynı zamanda bitki tarafından nitrat, fosfat ve magnezyum alımını da arttırdığı belirtilmiştir (Arigita et al., 2010).

Xiao et al. (2011)'ın gerçekleştirdikleri bir araştırmada, fotoototrofik mikroçoğaltım sistemlerinin uygulama ve geliştirilmeleri ile ilgili derleme bilgileri verilmektedir. Araştırmada, birçok *in vitro* bitkinin fotoototrofik olarak (kültür ortamında şeker olmadan) büyüme kabiliyeti olduğu, düşük fotosentez oranının sebebinin düşük fotosentez yeteneği değil, fotoperiyot süresince sızdırmaz kültür kabı içindeki düşük karbondioksit konsantrasyonu olduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte, 20 yıldan daha uzun süre önce geliştirilmiş olan fotoototrofik mikroçoğaltımla birlikte, çok sayıda çalışmada *in vitro* çevrenin zenginleştirilerek kültür gelişimi üzerine etkilerinin araştırıldığı ifade edilmektedir. Araştırmanın özetinde, birçok çeşitte *in vitro* fotoototrofik büyümenin; kültür kabı içindeki karbondioksit konsantrasyonu ve ışık yoğunluğu artırılarak, bağıl nem düşürülerek ve destekleyici materyal olarak agar gibi jelleştiriciler yerine, lifli ya da gözenekli materyaller kullanılarak önemli ölçüde desteklenebileceği/yükseltilebileceği belirtilmektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3. 1. Materyal

Yalova'dan temin edilen Hayward (dişi) ve Matua (erkek) kivi (*Actinidia deliciosa*) fidanları eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır.

3. 2. Yöntem

Araştırmada, Hayward ve Matua çeşitlerinden meristem ucu kültürü kullanılarak bitkilerin steril *in vitro* koşullara aktarımları gerçekleştirilmiştir. Birkaç yaprak taslaklı meristemler farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicisi ve şeker içeriklerine sahip MS besin ortamlarında kültüre alınmışlardır. Besin ortamlarının hazırlanması, meristem ucu izolasyonu, tekli sürgün oluşumu, sürgün çoğaltımı, sürgünlerin karbondioksit beslemeli ve karbondioksit beslemesiz ortamlarda *ex vitro* köklendirilmeleri ile ilgili yöntemler aşağıda ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur.

3. 2. 1. Rejenerasyon ve çoğaltım besin ortamlarının hazırlanması

Araştırmada mineral maddeler, vitaminler, bitki büyüme düzenleyicileri ve agar içeren MS (Murashige ve Skoog, 1962) besin ortamı kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. MS (1962) besin ortamının içerdiği maddeler ve miktarları

Maddeler	MS Besin Ortamındaki Miktarlar (mg/L)
CaCl₂	332.02
KH₂PO₄	170.00
KNO₃	1900.00
MgSO₄	180.54
NH₄NO₃	1650.00
CoCl₂.6H₂O	0.025
CuSO₄.5H₂O	0.025
FeNaEDTA	36.70
H₃BO₃	6.20
KI	0.83
MnSO₄.H₂O	16.90
Na₂MoO₄.2H₂O	0.25
ZnSO₄.7H₂O	8.60
Glycine	2.00
myo-Inositol	100.00
Nicotinic acid	0.50
Pyridoxine HCl	0.50
Thiamine HCl	0.10

Tekli sürgün oluşumu ve sürgün çoğaltımı için farklı sükroz miktarları ve bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı kombinasyonlarını içeren MS ortamları denenmiştir.

Meristem ucu kültüründen elde edilen eksplantların önce tekli ve sonra çoklu sürgün oluşumlarının sağlanması amacıyla kullanılan besin ortamlarını hazırlamak üzere, önceden oluşturulmuş stok solusyonlardan 1 litre için gerekli olan miktarlar erlenlere aktarıldıktan sonra ortamlara Çizelge 3.2’de gösterilen büyüme düzenleyicileri, askorbik asit ve sükroz

ilave edilmiştir. Tüm bileşikler tamamen eriyip homojen bir karışım elde edildikten sonra 1 N KOH (potasyum hidroksit) ve 1 N HCl (hidrojen klorür) kullanılarak ortam pH değerleri 6 olarak ayarlanmıştır. Jelleştirici ajan olarak kullanılan 5 g/L agar ilave edildikten sonra sürekli karıştırılarak kaynatılan ortamdan her bir tüpe 10 mL olacak şekilde aktarılmıştır. Ağızları kapatılan tüpler, otoklavda 121 °C’ de 15 dakika sterilize edilmişler ve otoklavdan çıkarılan tüpler tüplüklerde soğumaya bırakılarak dik konumda dondurulmuşlardır.

Çizelge 3.2. Rejenerasyon ve çoğaltım aşamalarında kullanılan besin ortamları

Ortam	Kullanım Amacı	Besin Ortamları	Bitki Büyüme Düzenleyicileri	Sükroz	Askorbik Asit
I-1	Başlangıç	MS	1.5 mg/L BAP	30 g/L	-
I-2	Başlangıç	MS	1.5 mg/L BAP	20 g/L	-
I-3	Başlangıç	MS	1.5 mg/L BAP	30 g/L	0.3 mg/L
M-1	Çoğaltım	MS	1 mg/L BAP + 0.25 mg/L GA ₃	30 g/L	-
M-2	Çoğaltım	MS	1 mg/L BAP + 0.1 mg/L GA ₃	30 g/L	-
M-3	Çoğaltım	MS	1 mg/L BAP + 0.5 mg/L GA ₃	30 g/L	-
M-4	Çoğaltım	MS	0.5 mg/L Zeatin	30 g/L	-
M-5	Çoğaltım	MS	1 mg/L Zeatin	30 g/L	-

3. 2. 2. Meristem ucu izolasyonu ve bitki rejenerasyonunun sağlanması

Hayward ve Matua fidanlarından alınan ve uyanmamış gözleri içeren sürgünler, yaprakları uzaklaştırıldıktan sonra akan çeşme suyu altında yıkanmıştır. Tek nod içerecek şekilde kesilen sürgün dallarının yüzeyleri,

sprey şişesi yardımıyla %100 etil alkol ile yıkanmıştır. Alkol ile yüzey sterilizasyonlarının gerçekleştirilmesinin ardından tek göz içeren sürgün dalları laminar akışlı güvenlik kabininin içine alınmıştır. Binoküler mikroskop altında bistüri ve pens kullanılarak gözler içinde bulunan birkaç yaprak taslaklı meristemler alınmış ve steril başlangıç ortamlarına aktarılmışlardır. Bitkilerin rejenerasyonunun sağlanması için 3 farklı MS besin ortamı (Çizelge 3.2: I-1, I-2 ve I-3) kullanılmıştır. Rejenere olan meristem uçlarından tekli sürgün oluşumunun sağlanması amacıyla, elde edilen sürgünler başlangıç aşamasında en iyi sonucu göstermiş olan I-3 (MS + 1.5 mg/L BAP + 0.3 mg/L askorbik asit) besin ortamında, 20 gün aralıklarla 3 defa altkültüre alınmışlardır.

3. 2. 3. Sürgünlerin *in vitro* çoğaltımı

Başlangıç ortamından elde edilmiş 1 cm' den büyük tekli sürgünler, gövde alt kısmında oluşan kallus dokuları 2-3 mm kesildikten sonra 5 farklı çoğaltım ortamında (Çizelge 3.2: M-1, M-2, M-3, M-4 ve M-5) kültüre alınmışlardır. Çoğaltımı gerçekleştirilen bitkilerin oluşturdukları; sürgün sayısı (adet), sürgün boyu (mm), yaprak sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, vitrifikasyon yüzdesi (%) ve morfolojik bozukluk durumları gözlenmiştir.

3. 2. 4. Sürgünlerin *ex vitro* köklendirilmesi

Elde edilen çoklu sürgünlerin karbondioksit beslemesi altında *ex vitro* köklendirilmesi denemeleri gerçekleştirilmiştir. Karbondioksit beslemesinin *ex vitro* köklendirme üzerine etkilerinin görülebilmesi için kontrol grubu olarak karbondioksit beslemesiz ortamda *ex vitro* köklendirme denemeleri kurulmuştur. Bitkilerin; yaşama yüzdesi (%), köklenme süresi (gün), köklenme yüzdesi (%), kök sayısı (adet), kök uzunluğu (mm), sürgün boyu (mm), yaprak sayısı (adet), gövde kalınlığı (mm) ve internod aralığı (mm) parametreleri kaydedilmiştir.

3. 2. 4. 1. Kültür kabında sürgünlerin ex vitro köklendirilmesi

In vitro çoğaltımı gerçekleştirilen bitkilerin, kültür kabında karbondioksit beslemesi yapılan koşullarda *ex vitro* köklendirme denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Çoğaltım ortamdaki 1 cm' den uzun çoklu sürgünler kültür kabından çıkarılarak makas yardımıyla kesilmiş ve *ex vitro* köklendirmeye uygun, tepe noktaları sağlıklı tekli sürgünler kök bölgeleri temizlenerek ayrılmıştır. Öncelikle distile su içine koyulan bitkiler burada agardan arındırıldıktan sonra fungusit çözeltisine (2 g/L Ridomyl) daldırılarak 30 saniye bekletilmi lerdir. Fungusit uygulamasının ardından fazla suyu peçete ile emdirilen sürgünler paper potlara dikilmi lerdir. Bitkilerin dikildi i paper pot viyol  karbondioksit beslemesinin ger ekle tirilece i kültür kabına (590x340x335 mm) yerleştirilmiştir. Kültür kabının kapağı kapatılmış, karbondioksit besleme hortumu bağlantısı yapılmış ve karbondioksit sensörü kabın içine yerleştirilmiştir. Gerçekleştirilen denemede farklı zamanlarda iki farklı karbondioksit besleme miktarı (600 ppm, 800 ppm) uygulaması gerçekleştirilmiştir. Sensör değeri istenilen karbondioksit değeri olarak ayarlanarak besleme sağlanmıştır. Kontrol grubu olarak aynı koşullarda ancak karbondioksit beslemesi ger ekle tirilmeyen bir deneme daha kurulmuştur.

3. 2. 4. 2. Alıştırma serasında sürgünlerin ex vitro köklendirilmesi

In vitro çoğaltımı gerçekleştirilen bitkilerin, alıştırma serasında karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan koşullarda *ex vitro* köklendirme denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Çoğaltım ortamındaki 1 cm' den uzun çoklu sürgünler kültür kabından çıkarılarak makas yardımıyla kesilmiş ve *ex vitro* köklendirmeye uygun, tepe noktaları sağlıklı tekli sürgünler kök bölgeleri temizlenerek ayrılmıştır. Öncelikle distile su içine koyulan bitkiler burada agardan arındırıldıktan sonra fungusit çözeltisine (2 g/L Ridomyl) daldırılarak 30 saniye bekletilmişlerdir. Fungusit uygulamasının ardından fazla suyu peçete ile emdirildikten sonra paper potlara dikilmişlerdir. Karbondioksit uygulaması gerçekleştirilen kültürlerdeki besleme 800 ppm oranında günde 10 saat gerçekleştirilmiştir.

3. 2. 5. Kültür koşulları

In vitro kültürler ve kültür kabında gerçekleştirilen *ex vitro* kültürler, florasan ışığında 3000 lux aydınlatma altında, 16 saat aydınlık / 8 saat karanlık fotoperiyot ve 25 ± 2 °C sıcaklıkta tutulmuşlardır. Cam alıştırma serasında gerçekleştirilen *ex vitro* kültürler, Kasım-Şubat döneminde 25 ± 10 °C sıcaklıkta ve %80-90 nemde tutulmuşlardır.

3. 2. 6. Denemenin kurulması ve verilerin değerlendirilmesi

Meristem ucu kültürü tekniği ile izole edilen ve 3 farklı besin ortamına aktarılan eksplantların rejenerasyon yüzdeleri incelenmiştir. Denemeler 3 tekerrürlü olarak tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve her bir tekerrür için 15 adet eksplant kullanılmıştır. Rejenerasyonu sağlanan sürgünlerin 5 farklı besin ortamında mikroçoğaltımları gerçekleştirilmiştir. Mikroçoğaltım denemelerinde her bir besin ortamı için; her bir tekerrürde 12 sürgün bulunan 3 tekerrürlü deneme deseni oluşturulmuştur. Bitkilerin; sürgün sayısı (adet), sürgün boyu (mm), yaprak sayısı (adet), sürgün çoğaltım katsayısı, vitrifikasyon yüzdesi (%) ve morfolojik bozukluk durumları gözlenmiştir. Kültür kabında gerçekleştirilen karbondioksit beslemesiz deneme, her bir tekerrürde 6 sürgün bulunan 3 tekerrür ile tesadüf parselleri deneme desenine göre oluşturulmuş ve değerlendirilmiştir.

Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen kültür kabı denemeleri, her bir tekerrürde 10 adet sürgün bulunan 3 tekerrürlü olarak, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş ve değerlendirilmiştir. Alıştırma serası denemeleri, her bir tekerrürde 60 bitki bulunan 3 tekerrürlü olarak, tesadüf parselleri deneme desenine göre oluşturulmuş ve değerlendirilmiştir. Bitkilerin; yaşama yüzdesi (%), köklenme süresi (gün), köklenme yüzdesi (%), kök sayısı (adet), kök uzunluğu (mm), sürgün boyu (mm), yaprak sayısı (adet), gövde kalınlığı (mm) ve internod aralığı (mm) parametreleri kaydedilmiştir.

Tüm denemeler Hayward ve Matua eşitleri için ayrı kurulmuştur. Her bir denemeden elde edilen veriler kaydedilerek, tablolar şeklinde derlenmiş ve grafikler ile görselleştirilerek sonuçlar değerlendirilmiştir. Varyans analizi ve çoklu t – testi tablolarının oluşturulmasında TARİST programından yararlanılmıştır. Tüm değerlendirmelerde farklılıkların önem düzeylerinin ve boyutlarının saptanabilmesi için asgari önemli fark ($A\ddot{O}F=LSD$) test yöntemi kullanılmıştır (Açıkgöz, 1998).

4. BULGULAR

4. 1. Meristem Ucu İzolasyonu ve Bitki Rejenerasyonunun Sağlanması

Çalışmamızda, 135 adedi Hayward ve 135 adedi Matua olmak üzere toplam 270 meristem eksplantı kültüre alınmıştır. Rejenerasyon sağlanması amacıyla kullanılan 3 farklı besin ortamında (Çizelge 3.2) en iyi sonuç (tekli sürgün veren meristem yüzdesi Hayward ve Matua çeşitleri için sırasıyla %33.3 ve %53.3'dür) I-3 (MS + 1.5 mg/L BAP + 0.3 mg/L askorbik asit) besin ortamında sağlanmıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.1).

Tekli sürgün veren meristem adedi için yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda, çeşitler ve ortamlar arasındaki fark %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (Hayward ve Matua çeşitleri için sırasıyla; F= 16.133-7.233) (Çizelge 4.2). Tekli sürgün veren meristem yüzdesi için yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda, çeşitler ve ortamlar arasındaki fark %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (Hayward ve Matua çeşitleri için sırasıyla; F= 16.280-7.265) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.1. Kültüre alınan Hayward ve Matua meristem uçlarında rejenere olan sürgün sayısı (adet) ve rejenerasyon yüzdeleri (%)

ÇEŞİT	TEKLİ SÜRGÜN VEREN MERİSTEM SAYISI (adet)						TEKLİ SÜRGÜN VEREN MERİSTEM YÜZDESİ (%)									
	BESİN ORTAMLARI															
	I-1		I-2		I-3		ORT.		I-1		I-2		I-3		ORT.	
HAYWARD	3.30		2.70		5.00		3.67	B	22.20		17.80		33.30		24.43	B
MATUA	5.30		5.00		8.00		6.10	A	35.60		33.30		53.30		40.73	A
ORT.	4.30	B	3.85	C	6.50	A			28.9	B	25.55	B	43.30	A		
BESİN ORTAMI İÇİN	HKO: 1.667 LSD: 2.276								HKO: 73.439 LSD: 15.111							
ÇEŞİT İÇİN	HKO: 1.667 LSD: 1.859								HKO: 73.439 LSD: 12.338							

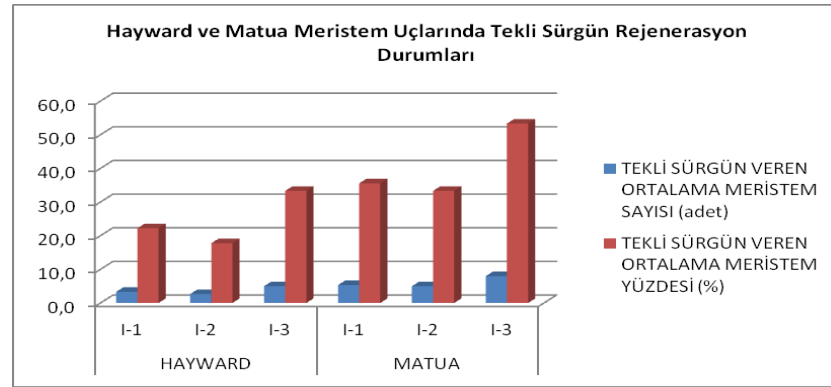
*Her bir tekerrürde 15 adet bitki bulunmaktadır.

Çizelge 4. 2. Tekli sürgün veren meristem sayısına ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	26.899	26.889	16.133**	4.75	9.33
Besin Ortamı	2	24.111	12.056	7.233**	3.89	6.93
Çeşit x Besin Ortamı	2	0.778	0.389	0.233ns	3.89	6.93
Hata	12	20	1.667			
Genel	17	71.778	4.222			

Çizelge 4. 3. Tekli sürgün veren meristem yüzdesine ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	1195.605	1195.605	16.280**	4.75	9.33
Besin Ortamı	2	1067.054	533.527	7.265**	3.89	6.93
Çeşit x Besin Ortamı	2	33.143	16.572	0.226ns	3.89	6.93
Hata	12	881.267	73.439			
Genel	17	3177.069	186.886			



Şekil 4. 1. Hayward ve Matua çeşitlerinde tekli sürgün veren ortalama meristem sayısı (adet) ve tekli sürgün oluşturma yüzdeleri (%)

4. 2. Sürgünlerin *In Vitro* Çoğaltımı

Rejenerasyon ortamında kültüre alınan eksplantlardan gelişen 1 cm'den büyük sürgünler birer nod içerecek şekilde kesilmiş ve sürgün gelişimi ortamlarına (Çizelge 3.2) aktarılmıştır. Bu sürgünlerde 20 gün sonra yapılan gözlemler sonucunda belirlenen sürgün sayıları bakımından yapılan istatistiki değerlendirmeye göre, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 5.597) (Çizelge 4.5). Çeşitler arasında ise farklılık bulunmamıştır. En yüksek sürgün sayısı değeri (Hayward: eksplant başına 2.67 adet; Matua: eksplant başına 2.92 adet), 0.5 mg/L zeatin içeren MS ortamından elde edilirken, en düşük değerler (Hayward: eksplant başına 1.61 adet; Matua: eksplant başına 1.44 adet), 1mg/L BAP ve 0.25 mg/L GA₃ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir (LSD: 0.890) (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Çizelge 4.4).



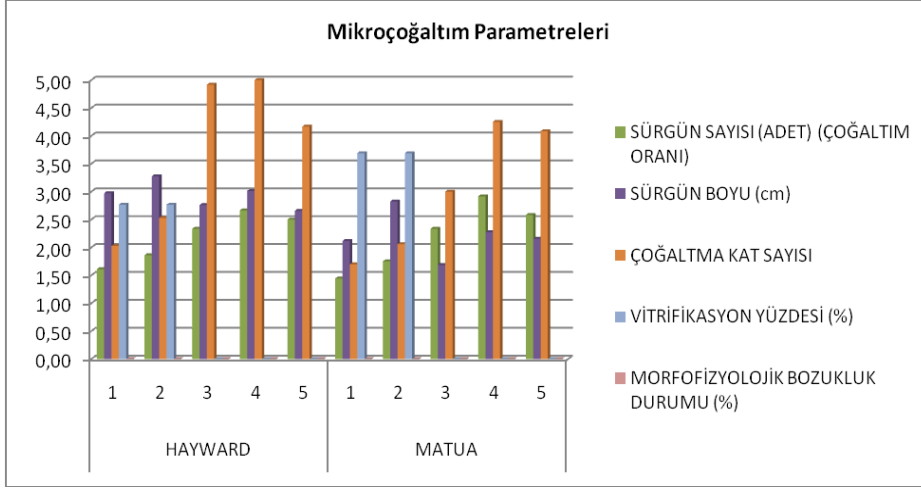
Şekil 4. 2. *Actinidia deliciosa* bitkisinde sürgün gelişimleri; (a) sürgün başlangıcı, (b, c) sürgün yığılı oluşumu

Çizelge 4.4. Farklı çoğaltma besin ortamlarında altkültüre alınan Hayward ve Matua çeşitlerinde mikroçoğaltım parametreleri

ÇEŞİT	SÜRGÜN SAYISI (adet)							SÜRGÜN BOYU (mm)							
	BESİN ORTAMLARI														
	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	ORT.		M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	ORT.		
HAYWARD	1.61	1.86	2.33	2.67	2.50	2.19		29.70	32.80	27.60	30.10	26.60	29.36	A	
MATUA	1.44	1.75	2.33	2.92	2.58	2.20		21.20	28.20	16.90	22.70	21.50	22.11	B	
ORT.	1.53	1.81	2.33	2.79	A	2.54		25.45	30.50	22.25	26.40	24.05			
BESİN ORTAMI İÇİN	HKO: 0.293 LSD:0.890							-							
ÇEŞİT İÇİN	-							HKO: 53.569 LSD: 5.579							

ÇEŞİT	YAPRAK SAYISI (adet)							ÇOĞALTMA KAT SAYISI										
	BESİN ORTAMLARI																	
	M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	ORT.		M-1	M-2	M-3	M-4	M-5	ORT.					
HAYWARD	8.92	10.83	11.58	12.33	11.42	11.02		2.03	2.53	4.92	5.00	4.17	3.73	A				
MATUA	6.39	8.94	10.00	12.58	12.33	10.05		1.70	2.06	3.00	4.25	4.08	3.02	B				
ORT.	7.66	9.89	10.79	12.46	11.88			1.86	E	2.29	D	3.96	C	4.63	A	4.13	B	
BESİN ORTAMI İÇİN	-							HKO: 0.752 LSD:1.424										
ÇEŞİT İÇİN	-							HKO: 0.752 LSD:0.661										

*Tekerrür başına 12' şer sürgün nod eksplantı kullanılmıştır.



Şekil 4. 3. Hayward ve Matua çeşitlerinde incelenen mikroçoğaltım parametreleri ile ilgili ortalama değerler

Kullanılan besin ortamlarının sürgün boyu üzerinde istatistiksel açıdan bir farkı bulunmamıştır. Öte yandan, kullanılan besin ortamlarındaki sürgün boyları açısından çeşitler arasındaki farklılık %5 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 7.366) (Çizelge 4.6). En yüksek sürgün boyu değeri (Hayward: 32.80 mm; Matua: 28.20 mm), 1 mg/L BAP ve 0.1 mg/L GA₃ içeren MS ortamından elde edilirken, en düşük değerler (Hayward: 27.60 mm; Matua: 16.90 mm), 1 mg/L BAP ve 0.5 mg/L GA₃ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir (LSD: 5.579) (Çizelge 4.4). Kullanılan besin ortamlarının yaprak sayısı (adet) üzerine etkileri istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.5. Sürgün sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	0.001	0.001	0.003ns	4.350	8.100
Besin Ortamı	4	6.564	1.641	5.597**	2.870	4.430
Çeşit x Besin Ortamı	4	0.163	0.041	0.139ns	2.870	4.430
Hata	20	5.863	0.293			
Genel	29	12.591	0.434			

Çizelge 4. 6. Sürgün boyuna (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	394.581	394.581	7.366*	4.35	8.1
Besin Ortamı	4	230.25	57.562	1.075ns	2.87	4.43
Çeşit x Besin Ortamı	4	39.275	9.819	0.183ns	2.87	4.43
Hata	20	1071.38	53.569			
Genel	29	1735.49	59.844			

Çizelge 4. 7. Yaprak sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	7.018	7.018	0.865ns	4.35	8.1
Besin Ortamı	4	85.64	21.41	2.638ns	2.87	4.43
Çeşit x Besin Ortamı	4	13.056	3.264	0.402ns	2.87	4.43
Hata	20	162.312	8.116			
Genel	29	268.026	9.242			

Kullanılan besin ortamlarının çoğaltım katsayısı bakımından yapılan istatistiki değerlendirmeye göre, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli (F: 11.825), çeşitler arasındaki farklılık ise %5 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 5.039) (Çizelge 4.8). En yüksek çoğaltım katsayısı değeri (Hayward: 5.00; Matua: 4.25), 0.5 mg/L zeatin içeren MS ortamından elde edilirken, en düşük değerler (Hayward: 2.03; Matua: 1.70), 1mg/L BAP ve 0.25 mg/L GA₃ içeren MS besin ortamından elde edilmiştir (LSD: 1.424) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4. 8. Çoğaltma kat sayısına ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	3.788	3.788	5.039*	4.35	8.1
Besin Ortamı	4	35.553	8.888	11.825**	2.87	4.43
Çeşit x Besin Ortamı	4	3.076	0.769	1.023ns	2.87	4.43
Hata	20	15.033	0.752			
Genel	29	57.45	1.981			

4. 3. Sürgünlerin *Ex Vitro* Köklendirilmesi

4. 3. 1. Kültür kabında sürgünlerin *ex vitro* köklendirilmesi

Araştırmada kök oluşumu ve aklimatizasyon için yapılan ön denemede karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen (600 ppm, 800 ppm) ve gerçekleştirilmeyen ortamlarda besin ortamı olarak torf:perlit (4:1) karışımı kullanılmıştır. Köklendirme ortamına alınan eksplantlarda 5 hafta sonra yapılan gözlemler sonucunda belirlenen kök sayıları bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 42.689) (Çizelge 4.10). En yüksek kök sayısı değerleri; Hayward çeşidi için (21.97 adet), 800 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda, Matua çeşidi için (6.11 adet) 600 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda elde edilmiştir. En düşük kök sayısı değerleri (Hayward: 2.39 adet; Matua: 1.23 adet) ise, karbondioksit beslemesi gerçekleştirilmeyen ortamda elde edilmiştir (LSD: 3.862) (Şekil 4.4, Şekil 4.6, Çizelge 4.9).



Şekil 4. 4. Hayward ve Matua çeşitlerinde kültür kabı köklendirme denemeleri

Çizelge 4.9. Farklı karbondioksit miktarı içeren kültür kaplarında altkültüre alınan Hayward ve Matua eksplantlarında elde edilen köklendirme parametreleri

ÇEŞİT	KÖK SAYISI (adet)						YAPRAK SAYISI (adet)						KÖK UZUNLUĞU (mm)					
	UYGULAMA						UYGULAMA						UYGULAMA					
	0 ppm	600 ppm	800 ppm	ORT.			0 ppm	600 ppm	800 ppm	ORT.			0 ppm	600 ppm	800 ppm	ORT.		
HAYWARD	2.39	19.66	21.97	10.30	A		7.77	6.67	8.70	7.71	-		74.11	38.16	38.67	50.31	-	
MATUA	1.23	6.11	4.83	4.06	B		6.89	8.28	6.00	7.06	-		75.23	38.44	23.13	45.60	-	
ORT.	1.81	C	6.33	B	13.40	A							74.67	A	38.30	B	30.90	C
ÇEŞİT İÇİN	HKO: 4.796 LSD: 3.153						-						-					
UYGULAMA İÇİN	HKO: 4.796 LSD: 3.862						-						HKO: 111.955 LSD: 18.657					

ÇEŞİT	SÜRGÜN BOYU (mm)						GÖVDE KALINLIĞI (mm)						İTERNOD ARALIĞI (mm)					
	UYGULAMA						UYGULAMA						UYGULAMA					
	0 ppm	600 ppm	800 ppm	ORT.			0 ppm	600 ppm	800 ppm	ORT.			0 ppm	600 ppm	800 ppm	ORT.		
HAYWARD	48.53	65	81.90	65.14	A		1.71	1.5	2.19	1.80	-		9.05	13.89	14.43	12.46	A	
MATUA	39.60	48.27	39.70	42.52	B		2.08	1.36	1.76	1.73	-		5.68	10.44	8.20	8.11	B	
ORT.	44.07	C	56.64	B	60.80	A							7.37	C	12.16	A	11.32	B
ÇEŞİT İÇİN	HKO: 66.266 LSD: 11.720						-						HKO: 4.057 LSD: 2.900					
UYGULAMA İÇİN	HKO: 66.266 LSD: 10.245						HKO: 0.040 LSD:0.351						HKO: 4.057 LSD: 3.552					

Çizelge 4.10. Kök sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	175.469	175.469	36.586**	4.75	9.33
Uygulama	2	409.487	204.743	42.689**	3.89	6.93
Çeşit x Uygulama	2	267.152	133.576	27.851**	3.89	6.93
Hata	12	57.553	4.796			
Genel	17	909.661	53.509			

Yaprak sayıları bakımından uygulanan ortamlar arasında istatistiki açıdan önemli bir fark görülmemektedir (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Yaprak sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	1.954	1.954	4.161ns	4.75	9.33
Uygulama	2	0.071	0.035	0.075ns	3.89	6.93
Çeşit x Uygulama	2	14.049	7.024	14.960**	3.89	6.93
Hata	12	5.634	0.47			
Genel	17	21.707	1.277			

Kök uzunluğu bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 29.416) (Çizelge 4.12). En yüksek kök uzunluğu (Hayward: 74.11 mm; Matua: 75.23 mm) değerleri; karbondioksit beslemesi gerçekleştirilmeyen ortamda elde edilirken, en düşük kök uzunluğu değerleri; Hayward çeşidi için (38.16 mm), 600 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda, Matua

çeşidi için (23.13 mm) 800 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda elde edilmiştir (LSD: 18.657) (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Çizelge 4.9).

Çizelge 4.12. Kök uzunluğuna (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	99.734	99.734	0.891ns	4.75	9.33
Uygulama	2	6586.506	3293.253	29.416**	3.89	6.93
Çeşit Uygulama ^x	2	264.217	132.108	1.180ns	3.89	6.93
Hata	12	1343.456	111.955			
Genel	17	8293.914	487.877			

Sürgün boyu bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %5 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 6.871) (Çizelge 4.13). En yüksek sürgün boyu değerleri; Hayward çeşidi için (81.90 mm), 800 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda, Matua çeşidi için (48.27 mm) 600 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda elde edilmiştir. En düşük sürgün boyu (Hayward: 48.53 mm; Matua: 39.60 mm) değerleri; karbondioksit beslemesi gerçekleştirilmeyen ortamda elde edilmiştir (LSD: 10.245) (Şekil 4.4, Şekil 4.5, Çizelge 4.9).

Çizelge 4.13.: Sürgün boyuna (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	2302.49	2302.49	34.746**	4.75	9.33
Uygulama	2	910.685	455.343	6.871*	3.89	6.93
Çeşit Uygulama x	2	908.149	454.074	6.852*	3.89	6.93
Hata	12	795.196	66.266			
Genel	17	4916.52	289.207			

Gövde kalınlığı bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 13.257) (Çizelge 4.14). En yüksek gövde kalınlığı değerleri; Hayward çeşidi için (2.19 mm), 800 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda, Matua çeşidi için (2.08 mm) karbondioksit beslemesi gerçekleştirilmeyen ortamda elde edilmiştir. En düşük gövde kalınlığı (Hayward: 1.5 mm; Matua: 1.36 mm) değerleri; 600 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda elde edilmiştir (LSD: 0.351) (Şekil 4.4, Şekil 4.6, Çizelge 4.9).

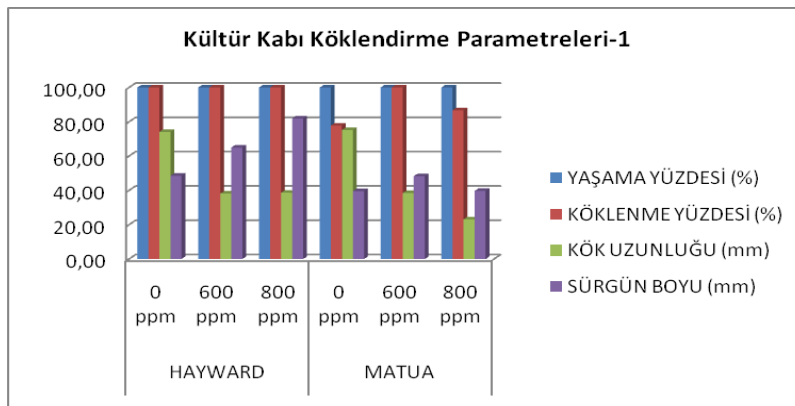
Çizelge 4.14. Gövde kalınlığına (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	0.019	0.019	0.489ns	4.75	9.33
Uygulama	2	1.049	0.525	13.257**	3.89	6.93
Çeşit Uygulama x	2	0.491	0.246	6.208*	3.89	6.93
Hata	12	0.475	0.04			
Genel	17	2.035	0.12			

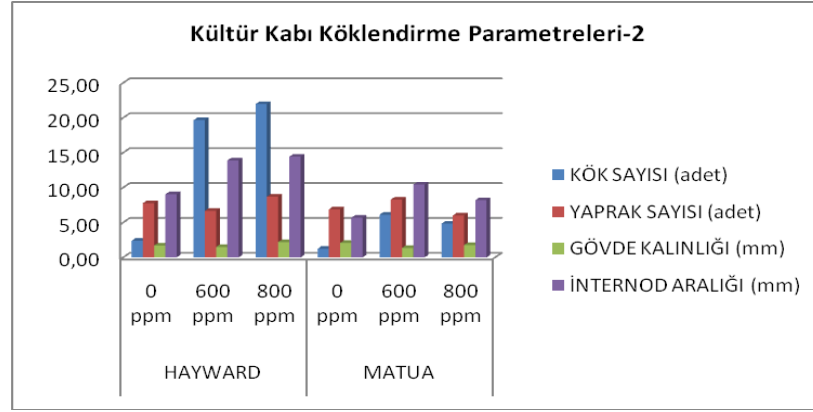
İnternod aralığı bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 9.686) (Çizelge 4.15). En yüksek internod aralığı değerleri; Hayward çeşidi için (14.43 mm), 800 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda, Matua çeşidi için (10.44 mm) 600 ppm karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda elde edilmiştir En düşük internod aralığı (Hayward: 9.05 mm; Matua: 5.68 mm) değerleri; karbondioksit beslemesi gerçekleştirilmeyen ortamda elde edilmiştir (LSD: 3.552) (Şekil 4.4, Şekil 4.6, Çizelge 4.9).

Çizelge 4.15. İnternod aralığına (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	85.151	85.151	20.988**	4.75	9.33
Uygulama	2	78.596	39.298	9.686**	3.89	6.93
Çeşit x Uygulama	2	7.985	3.993	0.984ns	3.89	6.93
Hata	12	48.685	4.057			
Genel	17	220.418	12.966			



Şekil 4.5. Farklı karbondioksit miktarları içeren kültür kaplarında kültüre alınan Hayward ve Matua sürgünlerinden elde edilen köklendirme parametreleri-1



Şekil 4.6. Farklı karbondioksit miktarları içeren kültür kaplarında kültüre alınan Hayward ve Matua sürgünlerinden elde edilen köklendirme parametreleri-2

4. 3. 2. Alıştırma serasında sürgünlerin *ex vitro* köklendirilmesi

Araştırmada kök oluşumu ve aklimatizasyon için yapılan sera denemesinde karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen (800 ppm) ve gerçekleştirilmeyen ortamlarda besin ortamı olarak torf:perlit (4:1) karışımı kullanılmıştır. Köklendirme ortamına alınan eksplantlarda 6 hafta sonra yapılan gözlemler sonucunda belirlenen kök sayıları bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 163.520) (Çizelge 4.17). Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamdaki değerlerin (Hayward: 40.48 adet; Matua: 31.80 adet), gerçekleştirilmeyen ortamdaki değerlere (Hayward: 22.19 adet; Matua: 21.81 adet) göre daha yüksek olduğu görülmektedir (LSD: 3.710) (Şekil 4.7, Şekil 4.9, Çizelge 4.16). Yaşama ve köklenme yüzdeleri karşılaştırıldığında istatistik açıdan fark bulunmamıştır.



Şekil 4.7. Hayward ve Matua çeşitlerinde köklendirme denemeleri; (a) Serada karbondioksit beslenen ortamda yetiştirilen Hayward bitkisi, (b) Serada karbondioksit beslenmeyen ortamda yetiştirilen Hayward bitkisi, (c) Serada karbondioksit beslenen ortamda yetiştirilen Matua bitkisi, (d) Serada karbondioksit beslenmeyen ortamda yetiştirilen Matua bitkisi.

Çizelge 4.16. Karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan sera koşullarında Hayward ve Matua çeşitlerinde elde edilen köklendirme parametreleri

ÇEŞİT	KÖK SAYISI (adet)					YAPRAK SAYISI (adet)					KÖK UZUNLUĞU (mm)				
	UYGULAMA					UYGULAMA					UYGULAMA				
	0 ppm		800 ppm		ORT.	0 ppm		800 ppm		ORT.	0 ppm		800 ppm		ORT.
HAYWARD	22.19		40.48		31.34 A	5.61		6.89		6.25 B	78.58		110.90		94.74 B
MATUA	21.81		31.80		26.81 B	6.60		8.93		7.77 A	82.08		137.85		109.96 A
ORT.	22.00	B	36.14	A		6.11	B	7.91	A		80.33	B	124.37	A	
HKO ve LSD	HKO: 3.667 LSD: 3.710					HKO:0.000 LSD: 0.038					HKO: 4.450 LSD: 4.087				

ÇEŞİT	SÜRGÜN BOYU (mm)					GÖVDE KALINLIĞI (mm)					İTERNOD ARALIĞI (mm)				
	UYGULAMA					UYGULAMA					UYGULAMA				
	0 ppm		800 ppm		ORT.	0 ppm		800 ppm		ORT.	0 ppm		800 ppm		ORT.
HAYWARD	44.60		71.60		58.10 B	2.27		2.48		2.38 A	7.00		15.00		11.00 B
MATUA	46.70		94.17		70.43 A	2.03		2.50		2.27 B	9.41		35.13		22.27 A
ORT.	45.65	B	82.88	A		2.15	B	2.49	A		8.21	B	25.07	A	
HKO ve LSD	HKO: 1.338 LSD: 2.241					HKO: 0.000 LSD: 0.037					HKO: 0.445 LSD: 1.292				

Yaprak sayıları bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 26064.200) (Çizelge 4.18). Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamdaki değerlerin (Hayward: 6.89 adet; Matua: 8.93 adet), gerçekleştirilmeyen ortamdaki değerlere (Hayward: 5.61 adet; Matua: 6.60 adet) göre daha yüksek olduğu görülmektedir (LSD: 0.038) (Şekil 4.7, Şekil 4.9, Çizelge 4.16).

Çizelge 4.17. Kök sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	61.517	61.517	16.775**	5.32	11.26
Uygulama	1	599.677	599.677	163.520**	5,32	11.26
Çeşit Uygulama ^x	1	51.709	51.709	14.100**	5.32	11.26
Hata	8	29.338	3.667			
Genel	11	742.242	67.477			

Çizelge 4.18. Yaprak sayısına (adet) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	6.886	6.886	18361.800**	5.32	11.26
Uygulama	1	9.774	9.774	26064.200**	5.32	11.26
Çeşit Uygulama ^x	1	0.827	0.827	2205.000**	5.32	11.26
Hata	8	0.003	0			
Genel	11	17.49	1.59			

Kök uzunluğu bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 1308.034)

(Çizelge 4.19). Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamdaki değerlerin (Hayward:110.90 mm; Matua: 137.85 mm), gerçekleştirilmeyen ortamdaki değerlere (Hayward: 78.58 mm; Matua: 82.08 mm) göre daha yüksek olduğu görülmektedir (LSD: 4.087) (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Çizelge 4.16).

Çizelge 4.19. Kök uzunluğuna (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	695.25	695.25	156.247**	5.32	11.26
Uygulama	1	5820.327	5820.327	1308.034**	5,32	11.26
Çeşit x Uygulama	1	412.31	412.31	92.661**	5.32	11.26
Hata	8	35.597	4.45			
Genel	11	6963.483	633.044			

Sürgün boyu bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 3107.569) (Çizelge 4.20). Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamdaki değerlerin (Hayward: 71.60 mm; Matua: 94.17 mm), gerçekleştirilmeyen ortamdaki değerlere (Hayward: 44.60 mm; Matua: 46.70 mm) göre daha yüksek olduğu görülmektedir (LSD: 2.241) (Şekil 4.7, Şekil 4.8, Çizelge 4.16).

Çizelge 4.20. Sürgün boyuna (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	456.333	456.333	340.971**	5.32	11.26
Uygulama	1	4158.963	4158.963	3107.569**	5.32	11.26
Çeşit Uygulama ^x	1	314.163	314.163	234.742**	5.32	11.26
Hata	8	10.707	1.338			
Genel	11	4940.167	449.106			

Gövde kalınlığı bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 945.818) (Çizelge 4.21). Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamdaki değerlerin (Hayward: 2.48 mm; Matua: 2.50 mm), gerçekleştirilmeyen ortamdaki değerlere (Hayward: 2.27 mm; Matua: 2.03 mm) göre daha yüksek olduğu görülmektedir (LSD: 0.037) (Şekil 4.7, Şekil 4.9, Çizelge 4.16).

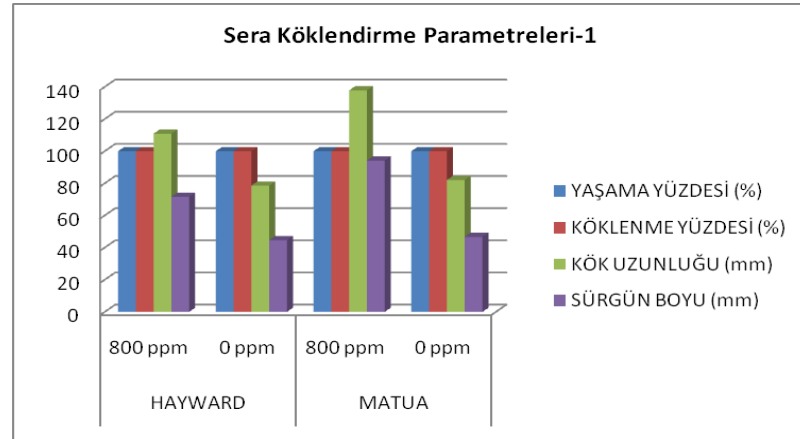
Çizelge 4.21. Gövde kalınlığına (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	0.036	0.036	99.000**	5.32	11.26
Uygulama	1	0.347	0.347	945.818**	5.32	11.26
Çeşit Uygulama ^x	1	0.048	0.048	131.273**	5.32	11.26
Hata	8	0.003	0			
Genel	11	0.434	0.039			

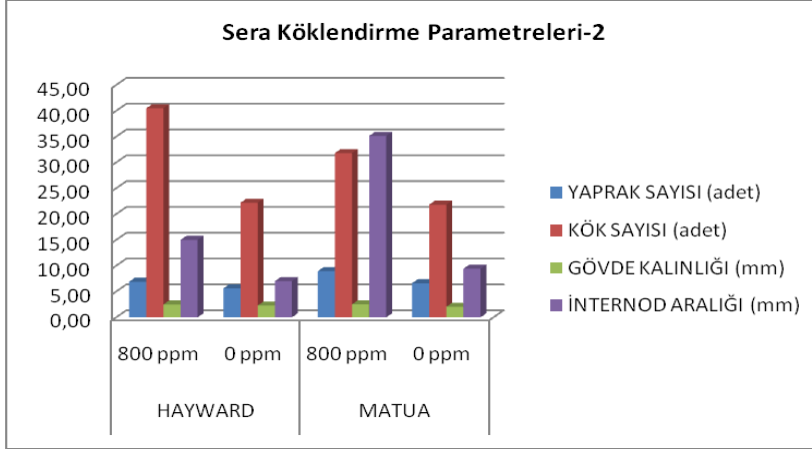
İnternod aralığı bakımından yapılan istatistiki değerlendirmede, ortamlar arasındaki farklılıklar %1 seviyesinde önemli bulunmuştur (F: 1916.608) (Çizelge 4.22). Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamdaki değerlerin (Hayward: 15.00 mm; Matua: 35.13 mm), gerçekleştirilmeyen ortamdaki değerlere (Hayward: 7.00 mm; Matua: 9.41 mm) göre daha yüksek olduğu görülmektedir (LSD: 1.292) (Şekil 4.7, Şekil 4.9, Çizelge 4.16).

Çizelge 4.22. İnternod aralığına (mm) ait varyans analiz tablosu

VARYANS ANALİZ TABLOSU						
Varyasyon Kaynağı	Serbes. Derece.	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F	Tablo Değeri	
					5%	1%
Çeşit (Hayward& Matua)	1	381.264	381.264	856.886**	5.32	11.26
Uygulama	1	852.779	852.779	1916.608**	5,32	11.26
Çeşit x Uygulama	1	235.676	235.676	529.678**	5.32	11.26
Hata	8	3.56	0.445			
Genel	11	1473.278	133.934			



Şekil 4. 8. Karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan sera koşullarında Hayward ve Matua çeşitlerinde elde edilen köklendirme parametreleri-1



Şekil 4. 9. Karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan sera koşullarında Hayward ve Matua çeşitlerinde elde edilen köklendirme parametreleri-2

5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

Kivi, tohum ya da çelik kullanılarak çoğaltılabilmektedir. Ancak tohumla elde edilen bitkilerde yüksek oranda genetik varyasyon oluşmakta ve her defasında istenilen özelliklerde bitki elde edilememektedir (Sivritepe ve Tuğ, 2011). Bu nedenle, ticari kivi üretiminde vegetatif yöntemler tercih edilmektedir. Geleneksel vegetatif çoğaltım yöntemlerine alternatif olarak mikroçoğaltım yönteminin büyük ölçek üretimlerde kullanımı önerilmiştir (Adıyaman Akbaş vd., 2012).

Hayward ve Matua çeşitlerinden alınan meristem ucu eksplantlarının aktarıldığı besin ortamlarında karşılaşılan en büyük problem kararma olarak belirlenmiştir. Bunun önüne geçilebilmesi için şeker oranının düşürüldüğü ve askorbik asidin eklendiği besin ortamları kullanılmıştır. Yapılan tez çalışmasında şeker oranının düşürülmesinin kararmanın engellenmesi üzerine etkisi olmazken, askorbik asit ilavesi (I-3) kararma miktarını düşürmüştür. Aynı zamanda kültürlerin sık altkültüre alınmasının da kararmanın engellenmesi ve sürgün gelişiminin teşviki üzerine olumlu etkisi olduğu görülmüştür. Başlangıç ortamında yaşama oranının en yüksek olduğu besin ortamı hem Hayward (%33.3), hem de Matua (53.3) çeşitlerinde, 30 g/L sükroz, 1.5 mg/L BAP ve 0.3 mg/L askorbik asit içeren MS besin ortamı olarak belirlenmiştir. Kültüre alınan eksplantlardan tekli sürgün oluşumu ve sürgün uzamasının sağlanması uzun sürmekle birlikte, sağlıklı tekli sürgün oluşumundan sonra bitkilerin çoğalması hız kazanmaktadır. Shen ve ark. (1990) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, aksiler tomurcuklardan sürgün gelişimleri, BA ya da zeatin (5-10 µM) içeren besin ortamında sağlanmıştır. Aksiler sürgün oluşumunun, klonal özellikler, sitokinin tipi ve konsantrasyonu ile fotoperiyottan etkilendiği belirtilmiştir.

Çalışmamızda, elde edilen mikrosürgünlerin çoğaltımı için farklı oranlarda BAP, GA₃ ve Zeatin içeren MS besin ortamları kullanılmıştır. En

yüksek ortalama sürgün sayısı (Hayward: 2.67 adet; Matua: 2.92 adet), ortalama yaprak sayısı (Hayward: 12.33 adet; Matua: 12.58 adet) ve çoğaltma katsayısı (Hayward: 5; Matua: 4.25) M-4 besin ortamında (MS + 0.5 mg/L Zeatin) elde edilirken, en yüksek sürgün boyu (Hayward: 32.80 mm; Matua: 28.20 mm) M-2 besin ortamında (MS + 1 mg/L BAP + 0.1 GA₃) elde edilmiştir. Bitkilerin hızlı bir şekilde çoğaltımının sağlanması için en uygun ortam 0.5 mg/L Zeatin içeren MS besin ortamı olarak belirlenmiştir. Sürgün boyu, köklendirme öncesi yapılan son altkültürde önem taşıyan bir etmendir. Elde edilen veriler göz önüne alındığında, bitkilerin köklendirme öncesinde uzatma amacıyla 1 mg/L BAP ve 0.1 GA₃ içeren MS besin ortamına alınması tercih edilebilir. Adıyaman Akbaş vd. (2007)'nin gerçekleştirmiş olduğu çalışmada ise 1 mg/L BAP içeren MS besin ortamında kivi bitkisi kültürü sonrası elde edilen sürgün sayısının 4.4 olduğu bildirilmiştir. Ayrıca farklı büyüme düzenleyicisi (kinetin), şeker (maltoz, dekstroze, süktroz) ve farklı MS kuvvetlerinin (1/4, 1/2, 1/1, 2/1) sürgün gelişimini etkilediği ve bu denemeler sonucunda elde edilen sürgün sayılarının 2.11 ile 4.7 arasında değiştiği belirtilmektedir. Çalışmamızda elde edilen sürgün sayılarının bu aralıkta yer almasına karşın iyileştirilebilir oldukları da görülmektedir. Bununla birlikte, Adıyaman Akbaş vd. (2007)'nin gerçekleştirmiş olduğu çalışmada elde edilen eksplant başına nod sayısının (2.1 adet ile 4.5 adet arasında değişmektedir) çoğaltım katsayısı ile ilişkilendirilmesi durumunda, elde edilen verilerin çalışmamız verileri ile uyumlu olduğu görülmektedir. Nasib et al. (2008)'in gerçekleştirdiği çalışmada ise, kivi sürgün çoğaltımının besin ortamına Hindistan cevizi suyu (%20) ve BA (2.0 mg/L) ilavesi ile sürgün sayısının 11.5±1.1' e ve sürgün boyunun 7.2±0.16 cm'ye kadar arttırılabildiği bildirilmiştir. Bunun yanında, Hindistan cevizi suyu eklenmese de ortamdaki BA miktarındaki artışın sürgün sayısını ve boyunu arttırdığı sonuçlar verilmiştir.

Klasik bitki doku kültürü tekniklerinde mikroçoğaltımlar, elde edilen sürgün yığınlarının öncelikle *in vitro* koşullarda köklendirilmesi ve ardından sera koşullarında kuvvetlendirilerek aklimatizasyonlarının yapılmasıyla gerçekleştirilmektedir. Bu durum oldukça zaman almakta ve üretim

maliyetini arttırmaktadır. Genellikle *in vitro* köklendirmenin yaklaşık 15 gün, viyolde alıştırmanın ise yaklaşık 45 gün olduğu sera koşullarımızda toplam 60 günlük bir süreç yaklaşık olarak 25 gün kısaltılarak 35 gün'e indirilebilmiştir. Elde edilen bitkilerin satışı viyollerle gerçekleşmekte, bu nedenle saksıya alıştırma gerekli olmadıkça yapılmamaktadır. Kivi bitkisi ile gerçekleştirilen bir başka çalışmada köklendirme ve aklimatizasyon süresi 140 gün (*in vitro* köklendirme: 20 gün, viyolde alıştırma: 31 gün, saksıda alıştırma: 90 gün) olarak verilmektedir (Moncalean et al., 2001). *In vitro* köklendirme ve aklimatizasyon basamaklarının yerine *ex vitro* köklendirme yönteminin kullanılması ile bu maliyetin azaltılabileceği belirtilmiştir (Ranaweera et al., 2013). Ayrıca karbondioksit beslemesi gerçekleştirilerek sağlanan ototrofik koşulların bitki gelişimlerini desteklediği ifade edilmiştir (Arigita et. al., 2010, Xiao et al., 2011).

Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ve gerçekleştirilmeyen kültür kaplarında kurulan köklendirme denemesi ölçümleri karşılaştırıldığında; hem Hayward, hem de Matua çeşidinde tüm denemelerde canlılık oranı %100 olarak devam etmektedir. Köklenme yüzdeleri karşılaştırıldığında, Hayward çeşidinde tüm ortamlarda %100 köklenme sağlanırken, Matua çeşidinde ise en yüksek köklenme oranı % 100 ile 600 ppm de sağlanmış, onu % 86,67 ile 800 ppm besleme gerçekleştirilen ortam takip etmiştir. Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilmeyen ortamda ise Matua çeşidinin köklenme oranı % 77,77' de kalmıştır. Bu köklenme ve yaşama oranları oldukça yüksek olmakla birlikte, bitkilerin uygulamalara verdiği yanıtların çeşide bağlı olarak değişiklik gösterebileceğini kanıtlamaktadır. İki çeşit arasındaki kök uzunlukları karşılaştırıldığında da karbondioksit beslemesinin kök uzunluğuna olumlu etkisinin diğer dış etmenlerden (bitki çeşidi, bitki genetik özellikleri, sıcaklık, nem vb.) yüksek oranda etkileniyor olabileceği görülmektedir. Karbondioksit beslemesinin oluşan kök sayısına etkisinin olumlu yönde olduğu ve Hayward çeşidi için 800 ppm beslemenin, Matua çeşidi için 600 ppm beslemenin gerçekleştirildiği ortamda en iyi sonuçların elde edildiği (Hayward: 21.97 adet; Matua: 6.11 adet) görülmektedir. Karbondioksit beslemesinin bitki üst aksamına olan etkileri

gözlendiğinde ise; ortalama sürgün boyunun Hayward çeşidi için 800 ppm, Matua çeşidi içinse 600 ppm de en yüksek olduğu (sırasıyla; 81.90 mm, 48.27 mm) görülmektedir. Kültür kabı denemelerinde, gerçekleştirilen karbondioksit beslemesinin genel olarak bitki gelişimi üzerine olumlu etkileri olduğu ifade edilebilir.

Karbondioksit beslemesi yapılan ve yapılmayan sera koşullarındaki *ex vitro* köklendirme denemesi ölçümleri karşılaştırıldığında; yaşama yüzdesi (%) ve köklenme yüzdesi (%) değerleri arasında hem Hayward ve Matua çeşitlerinde, hem de beslemeli ve beslemesiz ortamlar arasında farklılık görülmemiştir. Karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen koşullarda ilk kök çıkışı ilk hafta gerçekleşirken, karbondioksit beslemesi gerçekleştirilmeyen koşullarda ilk kök çıkışı 14 günde gerçekleşmiştir. 45 günlük deneme süresi sonucunda elde edilen veriler karşılaştırılmıştır. Karbondioksit beslenen ortamda elde edilen ortalama kök sayısı (Hayward: 40.48 adet; Matua: 31.80 adet), beslemesiz ortamda elde edilen ortalama kök sayısından (Hayward: 22.19 adet; Matua: 21.81 adet) daha yüksektir. Denemelerdeki 15. ve 30. gün ölçümleri de dikkate alındığında, karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda yetişen bitkilerde görülen kök sayısına besleme yapılmayan ortamdaki bitkilerin yaklaşık 10 gün sonra sahip olduğu görülmektedir. Benzer durum ortalama yaprak sayısı için de geçerlidir ve karbondioksit beslenen ortamda elde edilen ortalama yaprak sayısı (Hayward: 6.89 adet; Matua: 8.93 adet), beslemesiz ortamda elde edilen ortalama yaprak sayısından (Hayward: 5.61 adet; Matua: 6.60 adet) daha yüksektir. Deneme sonucunda elde edilen ortalama kök uzunluğu değerleri karşılaştırıldığında da karbondioksit beslemesi gerçekleştirilen ortamda elde edilen veriler (Hayward: 110.90 mm; Matua: 137.85 mm), beslemesiz ortamda elde edilen verilerden (Hayward: 78.58 mm; Matua: 82.08 mm) daha yüksektir. Bitkinin üst aksamının gelişimi ile ilgili ortalama değerleri (sürgün boyu-mm: sb, gövde kalınlığı-mm: gk, yaprak sayısı-adet: ys, internot aralığı-mm: ia) karşılaştırıldığında; hem Hayward, hem de Matua çeşitlerinde 800 ppm karbondioksit beslemesinin gerçekleştirildiği ortamda elde edilen değerler (Hayward; sb:71.60 mm; gk: 2.48 mm; ys: 6.89 adet; ia:

15 mm- Matua: sb: 94.20 mm; gk: 2.5 mm; ys: 8.93 adet; ia: 35.13 mm), beslemesiz ortamda elde edilen değerlerden (Hayward; sb:44.60 mm; gk: 2.27 mm; ys: 5.61 adet; ia: 7 mm- Matua: sb: 46.70 mm; gk: 2.03 mm; ys: 6.60 adet; ia: 9.41 mm) daha yüksek bulunmuştur.

Araştırmamızda farklı kivi çeşitlerinin (Hayward ve Matua) izolasyonu, *in vitro* çoğaltımı ve *ex vitro* köklendirilmeleri açısından faydalı bulgular edinilmiştir. Kivi çeşitleri için, izolasyon, sürgün oluşumu, sürgün gelişimi ve köklendirme protokolü oluşturulmuştur. Bu çalışma sonucunda, Hayward ve Matua çeşitlerinin (Şekil 5) bitki doku kültürü teknikleri ile mikroçoğaltımlarının ticari olarak gerçekleştirilmesini sağlayacak bilgi birikimi sağlanmıştır ve büyük ölçek üretimleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5. *In vitro* ve karbondioksit beslemeli *ex vitro* koşullarda yetiştirilmiş Matua ve Hayward çeşitleri

Tez çalışmasının bulguları ışığında, izolasyon başarısının ve mikroçoğaltım ile ilgili çoğaltım katsayısının artırılması ve prosedürlerin hızlandırılması için bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı kombinasyonları ile yeni denemeler kurulması ve değişik ortam sıcaklıklarında farklı sürelerde bitki gelişimlerinin gözlenmesi gerektiği önerilebilir. Ayrıca köklendirme prosedürünün hızlandırılması için bundan sonra yapılacak

Çalışmalarda, farklı karbondioksit konsantrasyonları, ışık şiddetleri, ortam sıcaklıkları ve nem değeri ile denemeler kurularak, değışik parametrelerle optimizasyon çalışmaları değeriendirilmelidir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Açıkgöz, N.**, 1988, Tarımda Araştırma ve Deneme Metodları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:478, İzmir, 181-189s
- Adıyaman Akbaş, F., Işıksalan, Ç., Namlı, S. ve Başaran, D.**, 2007. Micropropagation of Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*), International Journal Of Agriculture & Biology 1560-8530/09-3-489-493.
- Adıyaman Akbaş, F., Işıksalan, Ç., Başaran, D. ve Namlı, S.**, 2012. Kivi (*Actinidia deliciosa*) nın *In Vitro* Ortamda Çimlendirilmesi, Journal of Life Science, Volume 1, Number 2.
- Anonim 1.** Doku Kültürü Yöntemiyle Çoğaltma (<http://www.ziraatciyiz.net/yetitiricilik/2-yetitiricilik/82-kivi-bitkisi-ceitleri-ve-yetitiricilii-2.html>), Erişim Tarihi: Nisan 2014.
- Anonim 2.** 2011. Kivi Yetiştiriciliği, Bahçecilik, Milli Eğitim Bakanlığı, Erişim Tarihi: Nisan 2014
- Arigitta, L., Fernández, B., González, A. and Tamés, R. S.**, 2005. Effect of the application of benzyladenine pulse on organogenesis, acclimatisation and endogenous phytohormone content in kiwi explants cultured under autotrophic conditions, Plant Physiology and Biochemistry 43: 161-167.
- Arigitta, L., Cañal, M. J., Tamés, R. S. and González, A.**, 2010. CO₂-enriched microenvironment affects sucrose and macronutrients absorption and promotes autotrophy in the *in vitro* culture of kiwi (*Actinidia deliciosa* Chev. Liang and Ferguson), In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant 46: 312-322.
- Caboni, E., Biasi, R., Delia, G. and Tonelli, M.**, 2009. Effect of CPPU on *in vitro* axillary shoot proliferation and adventitious shoot regeneration in kiwifruit, Plant Biosystems, 143(3): 456-461.
- Marino, G. and Bertazza, G.**, 1990. Micropropagation of *Actinidia deliciosa* cvs. 'Hayward' and 'Tomuri', Scientia Horticulturae, 45: 65-74.
- Moncaleán, P., Cañal, M. J., Feito, I., Rodríguez, A. and Fernández, B.**, 1999. Cytokinins and Mineral Nutrition in *Actinidia deliciosa* (Kiwi) Shoots Cultured *In Vitro*, J. Plant Physiol. 155:606-612.
- Moncaleán, P., Rodríguez, A. and Fernández, B.**, 2001. *In vitro* response of *Actinidia deliciosa* explants to different BA incubation periods, Plant Cell, Tissue and Organ Culture 67: 257-266.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Moncaleán, P., Cañal, M. J., Fernández, H., Fernández, B. and Rodríguez, A.**, 2003. Nutritional and gibberellic acid requirements in kiwifruit vitroponic cultures, *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 39:49-55.
- Moncaleán, P., Fernández, B. and Rodríguez, A.**, 2007. *Actinidia deliciosa* leaf stomatal characteristics in relation to benzyladenine incubation periods in micropropagated explants, *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35: 159-169.
- Murashige, T., and Skoog, F.**, 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15(3): 473-497.
- Nasib, A., Ali, K. and Khan, S.**, 2008. An optimized and improved method for the in vitro propagation of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) using coconut water, *Pak. J. Bot.*, 40(6): 2355-2360.
- Ordu Ticaret Borsası**, Üretim Desenimizdeki Yeni Motif; Kivi, 2013. www.ordutb.org.tr
- Ranaweera, K. K., Gunasekara, M. T. K. and Eeswara, J. P.**, 2013. *Ex vitro* rooting: A low cost micropropagation technique for Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz) hybrids, *Scientia Horticulturae* 155: 8–14.
- Sanayi ve Ticaret Bakanlığı**, Sanayi Araştırma ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, Trabzon Yatırım Ortamı ve Yapılabilecek Yatırımlar Araştırması, 2005. <http://www.ttso.org.tr/index.php?link=haber&no=23>
- Shen, X. S., Wan, J. Z. and Luo, W. Y.**, 1990. Propagation *in vitro* of Chinese gooseberry (*Actinidia chinensis*) through the development of axillary buds, *Scientia Horticulturae*, 42:45–54.
- Sivritepe, N. ve Tuğ, Y.**, 2011. Hayward ve Matua Kivi Çeşitlerinde Mikro Çoğaltım, *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt 25, Sayı 1, 97-108.
- Ünye Ticaret Borsası**, Kivi Üretimi Araştırma Raporu, 2013. <http://www.unyetb.org.tr/post/show/275-kivi-uretimi-arastirma-raporu.html>
- Wang, T. and Gleave, A. P.**, 2012. Applications of Biotechnology in Kiwifruit (*Actinidia*), The New Zealand Institute for Plant & Food Research Limited New Zealand.
- Xiao, Y., Niu, G. and Kozai, T.**, 2011. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system, *Plant Cell Tiss Organ Cult* 105: 149-158.

ÖZGEÇMİŞ

26.09.1988 Burhaniye doğumlu Hilal Kanık orta ve lise öğrenimini Balıkesir’ de tamamladıktan sonra 2006 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümünü kazandı. 2011 yılında lisans öğrenimini tamamlayarak mezun oldu. 2012 yılında Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümünde yüksek lisansa başladı. 2011 yılında işe başladığı Dikili Çiftlik Anonim Şirketi’ nde Laboratuar ve ArGe Sorumlusu olarak çalışmaya devam etmekte.