



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÇAKILDAK FINDIK ÇEŞİDİNİN *IN VITRO* SÜRGÜN UCU
KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTILMASI**

NURAY KAPLAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ORDU 2020

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Nuray KAPLAN



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ÇAKILDAK FINDIK ÇEŞİDİNİN *IN VITRO* SÜRGÜN UCU KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTILMASI

NURAY KAPLAN

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 36 SAYFA

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. ALİ İSLAM

Bu çalışma, 2019 yılında, Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü laboratuvarında yürütülmüştür. Çalışmada eksplant olarak Çakıldak çeşidinin aktif büyüme dönemindeki sürgün uçları kullanılmıştır. Eksplantların bir kısmı %70 etil alkolde 10 sn süre ile bekletilmiş, diğer yarısına ise etil alkol uygulanmamıştır. Etil alkol uygulanmış ve uygulanmamış tüm eksplantlar, farklı dozlarda sodyum hipoklorid (%0, %5, %10 ve %15) çözeltilerinde farklı sürelerde (0, 10, 15 ve 20 dakika) bekletilerek yüzey sterilizasyonları yapılmıştır. Yüzey sterilizasyonu tamamlanan eksplantlar 2-3 cm uzunluğunda kesilerek hazırlanmıştır. Eksplantlar sürgün teşviki amacıyla farklı dozlarda hazırlanan BA (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/l) içeren MS ve DKW ortamlarında kültüre alınmıştır. Ayrıca DKW (5mg/l BA+100 µl IBA+ 50 µl GA₃) ve MS (1 mg/l BA+100 µl IBA+ 50 µl GA₃, 1 mg/l BA+100 µl IBA+ 50µl GA₃+0.05 g 138 Fe-EDDHA) kombinasyonları da test edilmiştir. Kültüre alınan eksplantlar dikimden 3 hafta sonra aynı dozlarda hazırlanan taze ortamlarda alt kültüre alınmışlardır. Deneme kapsamında uygulamaların karşılaştırılması amacıyla yüzey sterilizasyon aşamasında kararma oranı (%), enfeksiyon oranı (%), sağlıklı gelişen eksplant oranı (%); sürgün oluşumu aşamasında ise oluşan sürgünlerin eksplant canlılığı (%), sürgün uzunluğu (cm), sürgün yaş ağırlığı (g), sürgün kuru ağırlığı (g), nisbi klorofil içeriği (SPAD) özellikleri incelenmiştir.

Çalışma sonuçlarına göre Çakıldak çeşidi için sürgün oluşumu aşamasında en uygun ortam kombinasyonu MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA₃ (1.240 cm) ile MS 3 mg/l BA (1.200 cm) olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Corylus avellana*, Çakıldak, *In vitro*, Mikro çoğalma, Sürgün ucu.

ABSTRACT

MICROPROPAGATION OF ÇAKILDAK HAZELNUT CULTIVAR USING SHOOT TIP CULTURE

NURAY KAPLAN

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

HORTİCULTURE

MASTER THESIS, 36 PAGES

SUPERVISOR: PROF. DR. ALİ İSLAM

This study was carried out in tissue culture laboratory of Ordu University Faculty of Agriculture Department of Horticulture in 2019. In this study, shoot tips of Çakıldak cultivar were used as explant material during active period of growth. Some of the explants were submerged for 10 second in 70% ethyl alcohol, the other half were not treated with ethyl alcohol. Ethyl alcohol was treated and not treated explants were kept in different solutions of NaOCl (0%, 5%, 10% and 15%) for different periods (10, 15 and 20 minutes) and surface sterilization was performed. Explants sterilized were prepared by cutting 2-3 cm in length. The explants are cultured in DKW and MS nutrient medium containing different doses BA (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/l) prepared for shoot formation. The combinations of DKW (5 mg/l BA+100 µl IBA+ 50 µl GA₃) and MS (1 mg/l BA+100 µl IBA+ 50 µl GA₃, 1 mg/l BA+100 µl IBA+ 50µl GA₃+0.05 g 138 Fe-EDDHA) were also tested. Cultured explants were sub-cultured every three weeks after planting in fresh mediums. In order to compare the applications, in the surface sterilization stage; contamination rate (%), browning rate (%), explant survival rate (%) ; in the shooting stage shoot dry weight (g), shoot fresh weight (g), survival rate (%), shoot length (cm) was determined. In order to compare the applications, explant survival rate (%), shoot length (cm), shoot fresh weight (g), shoot dry weight (g), root fresh weight (g) and root dry weight (g) were determined.

The results of our study show that, the most suitable medium combination for Çakıldak cultivar was as MS 3 mg/l (1.200 cm) with MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA₃ (1.240 cm).

Keywords: *Corylus avellana*, Çakıldak, *In vitro*, Micropropagation, Shoot Tip.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi ve tüm aşamalar esnasında gösterdiği ilgi, katkı ve sabır için başta danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ali İSLAM'a teşekkür ederim. Çalışmanın yürütülmesi aşamasında desteklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Hatice BİLİR EKBİÇ'e, üniversite eğitimim boyunca desteğini her zaman hissettiren ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Atnan UĞUR'a, tezimin düzenlenmesi aşamasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Serkan UZUN ve Arş. Gör. Orhan KARAKAYA' ya, her zaman yanımda olan Zir.Yük.Müh. Gülbahar CEVAHİR'e, Zir.Yük.Müh. Yadigar AKIN'a, Zir.Yük.Müh. Ceylan Özlem OKAY'a, Zir.Yük.Müh. Ufuk UÇAN, Zir.Yük.Müh. Umut ATEŞ, Zir.Yük.Müh. Cenk ÇELİKBAŞ'a ve Arş. Gör. Selim KARAGÖL'e teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca manevi desteklerini her an üzerimde hissettiğim, deneyim, bilgi ve emekleriyle bana ışık tutan babam, annem ve kardeşlerime teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
ÇİZELGE LİSTESİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
3. MATERYAL ve YÖNTEM	13
3.1 Materyal.	13
3.2 Yöntem.	13
3.2.1 Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu.....	13
3.2.2 Besin Ortamlarının Hazırlığı ve Sterilizasyonu	13
3.2.3 Eksplantların Hazırlığı ve Kültüre Alınması.....	16
3.2.4 Kültür Koşulları.....	17
3.2.5 İncelenen Özellikler.....	17
3.2.5.1 Yüze Sterilizasyon Aşamasında	17
3.2.5.2 Sürgün Uçlarından Sürgün Oluşumu Aşamasında	17
3.2.6 Deneme Dizaynı ve İstatistiksel Analiz.....	18
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	19
4.1 Yüze Sterilizasyon Denemesi Bulguları	19
4.2 Eksplantlardan Sürgün Oluşturma Denemesi Bulguları.....	24
4.2.1 Eksplant canlılık oranı (%)	24
4.2.2 Eksplant Enfeksiyon Oranı (%).....	24
4.2.3 Eksplant Kararma Oranı (%).....	24
4.2.4 Sürgün Uzunluğu (cm).....	26
4.2.5 Sürgün Yaş Ağırlığı (g)	28
4.2.6 Sürgün Kuru Ağırlığı (g)	28
4.2.7 Yaprak Uzunluğu (cm)	29
4.2.8 Nisbi Klorofil İçeriği (SPAD).....	30
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	32
6. KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	36

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 3.1 Çakıldak Çeşidinin Çelik ve Sürgünlerinin Görünümü.....	13
Şekil 3.2 Ortam Hazırlığı	15
Şekil 3.3 Sürgünlerin yüzey Sterilizasyonundan Görünüm	16
Şekil 3.4 Eksplantların Kültüre Alınmasından Görünüm	17
Şekil 4.1 Farklı BA Dozlarının Sürgün Gelişim Üzerine Etkileri	31

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1 DKW Besin Ortamının İçeriği	14
Çizelge 3.2 MS Temel Besin Ortamının İçeriği	15
Çizelge 4.1 Uygulanan Sterilizantların Enfeksiyon Oranı (%) Üzerine Etkileri	19
Çizelge 4.2 Uygulanan Sterilizasyon ve sürelerinin Kararma Oranı (%) Üzerine Etkileri.....	21
Çizelge 4.3 Uygulanan Sterilizasyon ve sürelerinin Sağlıklı Gelişen Eksplant Oranı (%) Üzerine Etkileri.....	22
Çizelge 4.4 DKW ve MS Ortamlarında Farklı Ortam İçeriklerinin Sürgün Uçlarında Canlı Kalma Enfeksiyon ve Kararma Oranı Üzerine Etkileri.....	25
Çizelge 4.5 Farklı Hormon Dozlarının Bitkilerin Sürgün Gelişimi Üzerine Etkileri	31

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

%	:	Yüzde
µM	:	Mikro molar
atm	:	Atmosfer basıncı
BA	:	N ⁶ Benziladenin
BAP	:	Benzylamino purine
Ca	:	Kalsiyum
cm	:	Santimetre
DKW	:	Driver ve Kuniyuki Walnut ortamı
Fe EDDHA	:	Ferric ethylenediamine-N, N' –bis (2-hydroxyphenylacetic acid)
Fe EDTA	:	Ferric ethylenediaminetetraacetic acid
FeSO₄7H₂O	:	Demir Sülfat Heptahidrat; Sülfürik Asit Demir (II) tuzu
g	:	Gram
g/L	:	Gram/Litre
GA₃	:	Giberellik asit
HCl	:	Hidroklorik asit
IAA	:	Indol Asetik asit
IAA_{OX}	:	IAA Oksidaz
IBA	:	Indole-3-butyric acid
L	:	Litre
Mesos	:	MgSO ₄ ve KH ₂ PO ₄
mg	:	Miligram
mg/l	:	Miligram/Litre
mM	:	Milimolar
mm	:	Milimetre
MS	:	Murashige ve Skoog medium
NAA	:	Naftelen asetik asit
NaOCl	:	Sodyum hipoklorit
NaOH	:	Sodyum hidroksit
NCGR-COR	:	Yu ve Reed fındık ortamı
NN	:	Nitsch ve Nitsch
°C	:	Santigrat derece
TDZ	:	Thidiazuron
WPM	:	Woody Plant ortamı

1. GİRİŞ

Fındık botanik olarak Fagales takımı *Betulaceae* familyası Coryleae alt familyası ve *Corylus* cinsine dâhildir (Gökmen, 1973; İslam, 2018).

Fındık, Türkiye ekonomisinde önemli bir yere sahip sert kabuklu bir meyve türü olup (Özçağırın ve ark., 2014), anavatanlarından biri de Türkiye'dir. Türkiye'de ortalama 650.000 ton fındık üretimi ve 705.000 hektar alanda fındık yetiştirilmekte olup dünyanın en önemli fındık üreticisidir. Dünyada fındık üretiminin yaklaşık %70 ini Türkiye oluşturmaktadır (İslam ve ark., 2018).

TUIK 2019 yılı verilerine göre Karadeniz bölgesinde fındık yetiştiriciliğinin en fazla yapıldığı iller sırasıyla Ordu (217 226 ton), Samsun (137 841 ton), Sakarya (102 123 ton), Düzce (85 688 ton), Giresun (84 766 ton), Trabzon (53 946 ton) ve Zonguldak (45 025 ton)' dır (Anonim, 2020).

Fındık meyvesinin yaklaşık %90'ı kavrulmuş halde, fındık unu ve fındık püresi olarak çikolata, pasta, bisküvi, şekerleme, tatlı, pasta, dondurma yapımında kullanılmakta olup ayrıca odun, ev eşyası yapımında, hayvanlara yem olarak, kabukları yakacak olarak ve boya sanayinde de kullanılmaktadır. Ayrıca fındık meyve zürufu kompostu ve yaprakları gübre olarak kullanılmaktadır (Özçağırın ve ark., 2014).

Fındık ülkemizde yaygın olarak dip sürgünü ile çoğaltılmaktadır. Tohumla, daldırma, çelikle ve kısmen de aşı ile çoğaltılabilmektedir. *Corylus colurna*'nın odun çelikleri ile çoğaltılması konusunda yapılan bir çalışmada farklı IBA dozları kullanılmış olup sonuçlarda köklenme oranının yüksek olmadığı saptanmıştır (İslam ve ark., 2019). Fındığın yeşil çelikleri kullanılarak yapılan diğer bir çalışmada köklenme başarısı düşük bulunmuştur (Özçağırın ve ark., 2014). Bu yöntemler her zaman hızlı ve ekonomik çoğaltma için yeterli olmadığından meyve türlerinin üretiminde diğer bir kitlesel çoğaltım yöntemi olan doku kültürü üzerinde yoğun çalışmalara başlanmıştır. Doku kültürü çoğaltma yöntemi, dünyada son zamanlarda yaygın olarak kullanılan bir teknik olup, geleneksel fındık çoğaltma tekniklerine bir alternatif olarak kabul edilmiştir (Diaz-Sala ve ark., 1990; Yu ve Read, 1995; Nas ve Read, 2004).

Doku kültürü, steril şartlarda yapay besin ortamında bitkinin hücre, doku ve organlarından, çeşitli yöntemler kullanarak yeni hücre, doku, organ veya bitki üretilmesidir. Bitki doku kültürlerinin temel amacı yeni çeşit geliştirme veya var olan çeşitlerde genetik varyabilite sağlamaktır ve bu yöntemle bitki çoğaltımı daha kısa süreli ve kolaydır. *In vitro* tekniği ile üstün özelliklere sahip bitki çeşitlerinin seleksiyonu daha kısa sürmektedir. Ayrıca, kaybolma tehlikesi olan değerli türlerin korunması ve çoğaltılmasında doku kültürü teknikleri kullanılmaktadır. Yıl boyunca yapılabilir (Radojevic ve ark., 1975). Doku kültürü ile hastaliksız sağlam bitkiler elde edilebilir, küçük bir alanda kitlesel olarak bitki üretiminin yapılabilmesi gibi bitkisel üretimde birçok kolaylığı bulunmaktadır (Babaoğlu ve ark., 2001).

Fındığın *in vitro* çoğaltılması için ilk olarak embriyo kültürü kullanılmıştır (Radojevic ve ark., 1975). O zamandan beri yapılan araştırmalar, çeşitli bitki materyalleri ve ortamlarını kullanarak fındık doku kültürü için protokoller geliştirilmişlerdir (Hand, 2013). Daha sonra apikal meristem, kök, sürgün ucu, tomurcuk gibi bitki kısımları kullanılmıştır (Perez ve ark., 1987; Diaz-Sala ve ark., 1990; Bassil ve ark., 1990; Yu ve Reed, 1995; Bacchetta ve ark., 2008; Caboni ve ark., 2009).

Daha önce yapılan çalışmalarla Barcelona, Filbert, Dorris, Jefferson, Tonda Gentile Romana'da *in vitro* koşullarda bitkisel üretim gerçekleştirilmiştir. Yu ve Reed (1993), Nonpareil ve Tonda Gentile Romana sürgünlerini kullanarak yaptıkları çalışmada çoğalma için en iyi ortamın BA (1.5-3 mg/l) bulunan DKW olduğunu tespit etmiş ve Nonpareil sürgünlerinin Tonda Gentile Romana'dan daha uzun sürgünler ürettiğini tespit etmişlerdir. Hand ve ark. (2014)'nın Jefferson, Dorris ve Sacajawea fındık çeşitlerinde DKW ortamını kullanarak yaptıkları çalışmada en iyi sürgün uzunluğu 5 mg/l BA+4 μ M H₃BO₃ uygulamasından elde edilirken, en yüksek sürgün uzunlukları sırasıyla Dorris, Jefferson ve Sacajawea olarak tespit edilmiştir. Perez ve ark. (1985), Cheng's (Cheng's, 1975) ortamında Filbert fındık sürgünleri için en iyi sürgün gelişimini 25 μ M BAP içeren ortamdan elde edildiğini tespit etmişlerdir.

Ülkemizin fındık üretimi ve ihracatında dünya ülkeleri arasında çok önemli bir konumda yer aldığı düşünülürse bu kadar yüksek ticari öneme sahip Türk fındık çeşitlerinin *in vitro* çoğaltımına yönelik çalışmaların yeterli olmaması da oldukça manidardır.

Fındıkta yüksek verim elde etmek için kurulacak modern bahçe tesisinde, adına doğru ve bir örnek fidan kullanmanın yolu sertifikalı fidandan geçmektedir. Bu çalışmada, fidan üretiminde yaygın olarak kullanılan doku kültürü yönteminin söz konusu fındık çeşidi için protokolünün oluşturulması ve kitlesel üretimin yolunun açılması hedeflenmiştir. Çalışmada Çakıldak fındık çeşidinin sürgün ucu kullanılarak *in vitro* mikro çoğaltılması ve sürgün oluşunu teşvik edecek en uygun DKW ve MS gibi ortamlar ile BA dozları ve diğer ortam kombinasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Perez ve ark. (1985), fındıkta sürgün ucu ve kotiledon boğumlarını kullanarak yaptıkları çalışmada Cheng's ortamına sürgün gelişimi için 500 ml katı ortama BAP (25 µM) eklenildikten sonra bitkiler 15 gün kültüre alınmıştır. Daha sonra BAP konsantrasyonunu azaltarak (0.5 veya 2.5 µM) hazırladıkları ortamda bitkileri 20 gün kültüre alarak sürgün elde etmişlerdir. Sürgün elde edilmesinin ardından köklenmenin teşviki amacıyla 500 ml Cheng ortamına 50 µM IBA ilave edilmiş ve 5 gün kültüre alındıktan sonra 15 günde bir taze ortama transfer edilmiştir. Fonksiyonel köklerin oluştuğunu, eksplantların %80' inde köklenme başladığını ve gelişme sağladığını tespit etmişlerdir.

Yu ve Reed (1993), Nonpareil ve Tonda Gentile Romana çeşitlerinin sürgünlerini kullanarak çoğalma için en iyi ortamın BA (1.5-3 mg/l) eklenerek modifiye edilmiş DKW olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırmada, %3 glukoz veya fruktoz bulunan ortamda yetiştirilen sürgünlerin sukroz bulunduran ortamlara göre daha fazla ve daha uzun sürgünler ürettiğini saptamışlardır. Nonpareil sürgünleri Tonda Gentile Romana' dan daha uzun sürgünler üretmiştir. Çalışmada, Glukoz ile modifiye edilmiş DKW ortamında fazla genotip yayıldığını tespit etmişlerdir.

Yu ve Reed (1995), Barcelona, Gasaway, Willamette, Dundee ve Newberg (*Corylus avellana*) fındık çeşitlerinde mikro çoğaltma sistemi gerçekleştirilmiştir. Serada yetiştirilen aşılı bitkiler, bahçede yetiştirilen ağaçların üst dallarından çok daha canlı eksplantlar üretmiştir. Mart-Temmuz arasında toplanan aşılınmış serada yetiştirilen bitkilerden sürgünler ve Temmuz ayında toplanan bahçede yetiştirilen ağaçların sürgünleri en büyük eksplantları (%46 ile %80) üretmiştir. 0.04 µM IBA+6.7 µM BA ile desteklenmiş NCGR-COR ortamında 4 haftalık kültürden sonra üç ile beş kat arasında çoğaltma elde edilmiştir. Kökler, yarı kuvvetli NCGR-COR mineral tuzları üzerinde büyütülen sürgünlerin %64 ile %100'ünde ve 4 hafta boyunca 4.9 µM IBA'da üretilmiştir. 1 veya 5 µM IBA'da kısa bir daldırma ile *in vivo* köklenme eşit derecede başarılı olmuştur. Transferden sonra hayatta kalma oranının %78'in üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Gürel ve ark. (1998), badem sürgün ucu explantı kullanarak MS ortamında farklı seviyelerde IBA (0.0, 0.1 ve 0.5 mg/l) ve BAP'ın (0.0, 0.5, 1.0, 2.0 ve 3.0 mg/l) etkilerini araştırmışlardır. Çalışmanın başlangıç aşamasında düşük IBA'lı (0.1 mg/l) veya hormonsuz ortamın sürgün gelişimi açısından uygun olduğu görülmüştür. Araştırmada 0.1 mg/l IBA ve 1.0 mg/l BAP kombinasyonunun yeni sürgün üretimi ve gelişimi açısından en etkili kombinasyon olduğu tespit edilmiştir.

Ercisli ve ark. (2001), E-295-S, G-029-N ve S-182-C fındık genotiplerinin sürgünlerini kullanarak demir kaynağının ve ortamın fiziksel durumunun eksplant gelişimi ve kalitesi üzerine etkisi araştırmışlardır. Bitkiler iki ay 4 mg/l BA+0.01 mg/l IBA+B5 vitaminleri içeren WPM ortamında kültüre alınmıştır. Araştırmada farklı ortamlara (NN, DKW, MS, WPM) 5 mg/l BA+0.01 mg/l IBA +30 g sukroz ve 0.2 µm B5 vitaminleri, Sequestrene 138 Fe-EDDHA (200 mg/l), Sequestrene 330 Fe (120 mg/l), 33.8 mg/l demir sülfat eklenmiştir. Fe kaynağı olarak demir sülfat (33.8 mg/l) kullanıldığında sürgün uzunluğunda artış görülmekle birlikte yapraklarda büyük oranda kloroz olduğu da gözlemlenmiştir. 138 Fe içeren ortamlarda gelişen sürgünler koyu yeşil renkte ve sağlıklı görünürken, 330 Fe kullanılan ortamlarda gelişen sürgünlerde hiperhidrasyon gözlemlenmiştir. En fazla kloroz MS ortamında belirlenmiş olup, sonraki alt kültürlerde MS ortamı üzerinde klorozlu eksplantlar büyütüldüğünde, hayatta kalan eksplant sayısı önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir.

Nas ve Read (2001), D-295- S, G-029-N ve S-182-C genotiplerinde eksplant kaynağı olarak sürgün kullanmışlardır. Demir kaynağının ve ortamın fiziksel durumunun eksplant gelişimi ve kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bitkiler iki ay 4 mg/l BA+0.01 mg/l IBA+B5 vitaminleri içeren WPM üzerinde kültüre alınmıştır. Bütün ortamlara 5 mg/l BA +0.01 mg/l IBA+30 g sukroz+0.2 µm B5 vitamini+Sequestrene 138 Fe EDDHA (200 mg/l)+Sequestrene 330 Fe (120 mg/l)+ 33.8 mg/l demir sülfat eklenmiştir. Sıvı DKW besin ortamında kültüre alınan fındık bitkisinin eksplantları, agar kullanılan ortamda kültüre alınanlara göre daha uzun sürgünler ve daha büyük yapraklar üretmiştir. Demir kaynağı sürgün uzunluğu ve yaprak rengini etkilemiş, ancak üretilen sürgünlerin sayısında farklılık olmamıştır. Demir kaynağı olarak demir sülfat (33.8 mg/l)

kullanıldığında sürgün uzunluğu artmış ancak yapraklarda çoğunlukla sararma olmuştur. Sequestrene 138 Fe (200 mg/l) içeren ortamda oluşan sürgünler sağlıklı ve koyu yeşil iken, Sequestrene 330 Fe (120 mg/l) içeren ortamda hiperhidrasyon gözlenmiştir. B5 vitaminleri ile takviye edilmiş farklı ortam bileşimleri sürgün uzunluğu, sürgün sayısı, kallus miktarı ve yaprak rengini etkilemiştir. WPM ortamındaki sürgünler, Nitsch ve Nitsch (NN), DKW ve MS ortamlarından daha uzun olmuştur. WPM ve NN'de eksplant başına sürgün sayısı DKW ve MS' den daha fazla bulunmuştur. En yeşil yapraklar NN ortamında, en klorozlu yapraklar ise MS ortamında meydana gelmiştir. Sonraki alt kültürlerde MS ortamı üzerinde klorozlu eksplantlar büyüdüğü zaman, hayatta kalan eksplant sayısı önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. WPM ve NN ortamlarında kültürlenmiş eksplantlar, DKW ve MS ortamlarına göre daha fazla kallus ürettiği görülmüştür. Bu sonuçlar hibrid fındıkların mikro-çoğaltımında potansiyel pratik uygulamalara sahip olduğunu göstermiştir.

Nas (2004), *Corylus avellana* L. (E-093-S, E-295-S, G-029-N) genotiplerinde yaptıkları çalışmada poliaminlerin sürgün uzunluğu üzerine etkisini araştırmıştır. Bunun için taze sürgünlerin gözlerinden alınan sürgünleri BA 6.7, 11.1 veya 15.5 μ M) ile poliaminler (0.2 mM putresin+0.2 mM spermidin+0.05 mM spermin) içeren veya içermeyen MS ortamına ve modifiye DKW ortamında kültüre almışlardır. Ortama ilave edilen BA dozlarının bitki üzerine etkileri önemsiz bulunmuştur. Poliaminlerin ortalama sürgün uzunluğunu %83 ve ortalama her sürgün başına düşen ortalama tomurcuk sayısını %41 arttırdığını tespit etmişlerdir. Poliamin içeren ortamdaki sürgünler 4.0 cm'ye kadar, poliamin içermeyen ortamdaki sürgünler ise 2.0 cm'ye kadar büyüdükleri gözlemlenmiştir.

Bacchetta ve ark. (2008), Tonda Giffoni, Tonda Romana, Mortarella, Ghirara, Avellana Speciale, Napuletaneda fındık çeşitlerinde yerel İtalyan kaynaklarının değerlendirilmesi ve korunması amacıyla *in vitro*' da yürüttükleri çalışmada MS ve HM ortamlarını kullanmışlardır. Saksıda yetiştirilen çeşitlerin sürgünleri bir saat musluk suyunda yıkandıktan sonra %70 alkolde 5 saniye bekletilmiş ardından %0.05 Na Merthiolate ve bir miktar Tween-20' de 10 dakika bekletmişlerdir. Kış ayında toplanan sürgünler için ise %70 alkolde 5

saniye bekletilmiş ardından sodyum hipokloridde (1:5 v/v) bir miktar Tween-20'de 10 dakika bekletmişlerdir. Araştırmacılar bu yüzey sterilizasyon protokolü ile sürgünlerdeki kontaminasyon oranını %20 ve %30 azaltmışlardır. Sterilizasyonu yapılan bitkiler HM ve MS iki ortama 0.4 mg/l GA₃+0.05 mg/l IBA+0.5 mg/l BA ve HM ortamına MS vitaminleri eklenmiş ve kültüre alınmışlardır. İkinci alt kültür aşamasında HM ortamına 1.5 mg/l BA+1 mg/l zeatin ilave etmişlerdir. Köklendirme aşamasında ise bitkiler 20 saniye IBA çözeltilisine daldırılmış ve hormon içermeyen HM ortamında 20 gün kültüre alınmışlardır. Daha sonra bitkiler 2 mg/l IBA eklenen HM ortamında alt kültüre alınmıştır. En yüksek sürgün uzunluğu 2.7 cm ile Ghirara çeşidinde MS ortamından HM ortamında ise en yüksek sürgün uzunluğu 2.5 cm ile yine Ghirara çeşidinde oluştuğunu tespit etmişlerdir. Sürgün yaş ağırlığı açısından iki ortamda da en yüksek değerler Tonda Giffoni çeşidi ve HM ortamında 228 mg, MS ortamında 227 mg olduğunu belirlemişlerdir. Kuru ağırlık bakımından en yüksek değerler yine 80.3 mg ile Tonda Giffoni çeşidinde olduğunu tespit etmişlerdir.

Gao ve ark. (2006), Kuixiang, Dawei, Hybrid 88, Hibrid 73 ve 84-402 fındık hibritlerinde fındık sürgünleri Mart ve Mayıs arasında toplamışlardır. Toplanan sürgünler musluk suyu ile yıkandıktan sonra %75 etil alkolde 30 saniye dezenfekte edilmiştir. Eksplantlar daha sonra 7 dakika boyunca birkaç damla Tween-20 ve %1 HgCl₂ çözeltilisi ile dezenfekte edilmiş ve sonra steril diyonize su ile 3-5 defa durulanmıştır. Bitki materyali, temel ortam çalışması hariç 5.0 mg/l BA ve 0.01 mg/l IAA ilave edilmiş DKW ortamında kültüre alınmıştır. Üç sitokinin (1.0 mg/l BA, ZT ve TDZ), 0.02 mg/l IAA ile kombine olacak şekilde test edilmiştir. Dört TDZ konsantrasyonu (1.0, 1.5, 2.0 ve 3.0 mg/l), 0.01 mg/l IBA ile kombinasyonlarının etkisi incelenmiştir. Köklenmeyi uyarmak için sürgünler çeşitli ortamlarda kültüre alınmışlardır (1/2 MS, 1/2 MS + 0.1 mg/l NAA, MS ve MS+ 0.05 mg/l NAA). Mart ayı sonlarında ve Nisan ortasında alınan eksplantların kontaminasyon oranı Mayıs ortası ve sonunda alınan eksplantlardan daha fazla olduğu ve en yüksek filizlenme yüzdesinin (%68.67) Mayıs ortasında toplanan yan tomurcuklardan oluştuğunu tespit etmişlerdir. Filizlenme yüzdesi açısından en uygun ortam 1.5 mg/l TDZ+ 0.01

mg/l IBA ile DKW ortamı olmuş ve sürgünlerin daha yeşil yapraklar ürettiğini gözlemlemişlerdir. Çoğalma oranı ise genotipten etkilendiği belirlenmiştir. En iyi ve en fazla büyüme %68.67 oranla Kuixiang genotipinden; en erken filizlenme ise %7.55 oranla Dawei genotipinde tespit edilmiştir. Çoğalma oranı için ise en uygun dozun uygun 1.5 mg/l TDZ olduğunu saptamışlardır. En yüksek sürgün uzunluğunu 1/2 MS ortamından elde etmişlerdir. Farklılaşma için en uygun ortam 1.5 mg/l TDZ+0.01 mg/l IBA ilave edilen DKW ortamı, köklendirme için etkili ortam ise %90'a varan köklenme oranı ile 1/2 MS+NAA 0.1 mg/l olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmada bitkiler vermikülit ve turbadan oluşan bir ortama transfer edildiğinde hayatta kalma yüzdesinin %90 olduğu tespit edilmiştir.

Caboni ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada, *in vitro* yetiştirilen Montebello ve Tonda Gentile Romana İtalyan çeşitleri (*Corylus avellana* L.) DKW ortamı ile daha önce belirlenmiş bir bazal kültür ortamı kullanılarak geçici daldırma sisteminde (TIS) kültüre almışlardır. Sürgün çoğalması için en iyi kültürel koşulları belirlemek için farklı karbon kaynakları (sakkaroz veya glukoz) ve süreleri (günde 30, 60 veya 120 dakika daldırma) uygulanmıştır. Geçici daldırma sistemi, sürgün çoğalmasını arttırmış ve hiperhidrasyona uğramış ve sürgün vermemiştir. Bu sistemle elde edilen sürgünler, 80 mg/l IBA solüsyonunda 1 günlük daldırma ile köklendirilmiş ve kök, agar ve/veya vermikülit içinde gerçekleştirilmiştir. Köklenme ve iklime uyum açısından en etkili uygulama, vermikülit ve agar ilave edilmiş ortamın bir kombinasyonu olduğunu tespit etmişlerdir. Fındık, geçici daldırma sistemine iyi bir uyum göstermiş ve bu türlere TIS' in olası daha geniş bir uygulaması göz önüne alınarak protokolü optimize etmek için çalışmaların devam ettiğini belirtmişlerdir.

Contessa ve ark. (2011), yaptıkları çalışmada iki farklı IBA konsantrasyonunun (500 ve 1000 mg/l) ve IBA uygulamalarını iki etilen inhibitörü, 1 MCP (1-Metilsiklopropan) ve AgNO₃ kombinasyonu ile adventif kök oluşumu ve yarı sert ağaç kesimlerinin tomurcuk inhibisyonu üzerindeki etkisini, "Tonda Gentile delle Langhe" çeşidinde incelemişlerdir. 500 mg/l IBA uygulamasına ek olarak, 1000 mg/l IBA uygulaması benzer şekilde köklenme

yüzdesini (%70.0) desteklemiş, ancak tomurcuk absisyonunu azalttığı için, köklü kesimlerin %56.3'ünde en az bir tomurcuk ile sonuçlanmıştır. 1000 mg/l IBA uygulaması, 1-MCP ve AgNO₃ kullanımı, köklenmeyi değiştirmeden tomurcuk patlamasını azalttığını tespit etmişlerdir.

Thomson ve ark. (2011), Daviana fındık çeşidinin sürgünlerini (10-20 mm) Knoxfield2 ortamı kullanarak farklı sitokin tipleri ve konsantrasyonunun sürgün çoğalması üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmada Kinetin (1, 2.5, 5 mg/l), IPA (1, 2.5, 5 mg/l), Zeatin (1, 5, 10 mg/l), BAP (1, 5, 10 mg/l) kullanılmıştır. En yüksek sürgün sayısı (3.8 ve 3.5 ile) ve sürgün uzunluğunu (28.6 mm- 23.7 mm ile) sırasıyla 5 mg/l BAP ve 10 mg/l BAP eklenen ortamdanda elde edilmiştir. Yeni oluşan sürgünlerin uzunluğu açısından en iyi sonucu 1 mg/l zeatin (14.7 mm) eklenen ortamdanda elde etmişlerdir.

Nas ve Read (2013), yaptıkları çalışmada, Amerikan kestane, melez fındık ve asma çeşitlerini, Nas ve Read Kültür Ortamı'nda (NRM) kültüre almıştır. Mikro-çoğaltılmış sürgünler, *in vitro* çoğaltılmış kökleri sökülmemiş anaçlar üzerinde el ile mikro aşılama yapılmıştır. Sürgünler (2-4 cm) ve anaçlar (2-3 cm) elastik bir elektrik teli tüpü veya alginate jeli boncukları kullanılarak tespit edilmiştir. Aşılama sonrası, anaçlar, 5 s (asma) veya 10 s (Amerikan kestane ve melez fındık) için 1000 ppm BA solüsyonuna batırılmıştır. Aşılı bitkicikler daha sonra Jiffy turba tıkaçları (plug) içinde *in vitro* olarak kültürlenmiş veya Jiffy turba tıpaçları *ex vitro* içine yerleştirilmiş ve yavaş yavaş iklimlendirilmiştir. *In vitro* kültürlenmiş aşılı sürgünlerin hava kökleri geliştirilmiş ve aşılama başarısız olmuştur. Aşılama sonrası iki ay sonra, başarılı *ex vitro* aşılı olanların hayatta kalması yaklaşık olarak üzüm için %50, fındık için %70 ve kestane için %80 artmıştır. Sonuçlarda aşılama yapılmış bitkiler, kendi köklü bitkilere tercih edildiğinde, mikro çoğaltılmış sürgün ve anaçların aynı anda aşılama yapılabildiğini, köklendiğini ve iklime alışkın hale getirilebildiğini tespit etmişlerdir.

Ellena ve ark. (2014), *in vitro* ortamda köklenme aşaması için peroksidaz, polifenoloksidaz, IAA oksidaz aktivitesi ve etilen üretiminin belirlenmesi amacıyla bir çalışma yürütmüşlerdir. Çalışmada, pH 5.5 olacak şekilde ayarlanmış DKW ortamında (1 mg/l BA, 0.01 mg/l IBA, 0.5 mg/l

pyridoxine) Tonda Gentile Romana çeşidinin 20-25 mm'lik sürgünleri kullanılmıştır. Uzama aşamasında, uzayan explantlar IBA' sız DKW ortamına alınmıştır. Köklendirme IBA (0, 0.25, 0.5 ve 1 mg/l) ilave edilmiş DKW ortamı üzerinde gerçekleştirilmiştir. En iyi köklenme, 25. günde %60 köklenme ile IBA (1 mg/l) uygulamasında meydana gelmiştir. Ayrıca, daha yüksek IBA konsantrasyonu köklerin sayısını ve uzunluğunu önemli ölçüde etkilemiştir. Bununla birlikte, köklerin sayısı 0.5 mg/l IBA uygulamasında daha fazla bulunmuştur. Etilen üretimi ile ilgili olarak, ilk günden itibaren tüm köklenme uygulamaları, benzer bir aktivite göstermiş ve art arda kombinasyon, kontrolde köklenme işleminin sonuna kadar düşük olma eğiliminde olmuş, etilen aktivitesi eğrisi, 10. güne kadar 0.5 ve 1mg/l IBA uygulamaları ile önemli ölçüde artmıştır. Diğer taraftan, IAAox aktivitesi, IBA' nın yüksek dozda (1 mg/l) oksin kullanımı istatistik açısından önemli bulunmuştur. Yüksek değerde 0, 0.25 ve 0.5 mg/l IBA kullanımı 10. güne kadar çok karmaşık bir davranış göstermiştir. Ayrıca, POD aktivitesi, yüksek konsantrasyonda IBA (1 mg/l) uygulamasında 21. günde daha yüksek bir enzim aktivitesine sahip olan kompleks bir eğilim sergilemiş, kontrol için ise POD aktivitesi bütün köklenme aşamalarında sabit olduğu tespit etmişlerdir.

Hand ve ark. (2014), *C. avellana* çeşitlerinin mikro çoğaltılması için gerekli mineral besin konsantrasyonlarını belirlemek için araştırma yapmışlardır. DKW ortamında düşük minör besin maddesi mineral faktörünün, üç fındık çeşidinin büyümesi ve gelişimi üzerindeki etkisini belirlemek ve minör besin olan NiSO₄'ın fındık sürgün büyümesini teşviki için gerekli olup olmadığı üzerinde çalışılmıştır. Çalışmada H₃BO₃, CuSO₄.5H₂O, MnSO₄.H₂O, Na₂MoO₄.2H₂O, Zn (NO₃)₂.6H₂O ve NiSO₄.6H₂O' un farklı dozlarıyla uygulamalar yapılmıştır. Bunun için Dorris, Felix, Jefferson, OSU 880.054 ve Sacajawea, fındık çeşitlerinin sürgünleri materyal olarak kullanılmıştır. 30 g/L glukoz, 200 mg/l squestrene 138 (Fe-EDDHA), 2 mg/l tiamin, 2 mg/l nikotinik asit, 2 mg/l glisin, 1 mg/l myo-inositol, 22.2 µM BA+ 0.049 µM IBA ve %0.5 agar olan DKW ortamı kullanmıştır. En iyi sürgün kalitesi Ni yokluğunda yüksek B ve düşük Cu kombinasyonundan elde edilmiştir (%25.49). Jefferson için sadece B' un artması genel kaliteyi arttırmış ve diğer faktörlerin hiçbirini

anlamli olmamamıştır. Sacajawea için ortamda Ni olmadan, düşük Mn, yüksek Cu, Zn, B ve Mo içeren konsantrasyonları, sürgün kalitesini önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir. Üç genotipten en yüksek sürgün uzunluğunu B varlığında sırasıyla Dorris (19.03 cm), Jefferson (14.17 cm), Sacajawea (5.25 cm) vermiştir. Araştırmada Nikelin varlığı sürgün uzunluğunu düşürmüştür. “Dorris” için düşük Zn ve Cu seviyelerinde, yüksek B seviyesi ile en fazla sürgünü ürettiğini, Jefferson için Ni varlığında sürgün sayısında artış olduğunu tespit etmişlerdir.

Prando ve ark. (2014), Tonda Gentile delle Langhe fındık çeşidinin tomurcukları kullanarak yaptıkları çalışmada hindistan cevizi suyu, gibberellin ve sitokininlerle kombineli ortamın, fındığın *in vitro* çoğalması ve sürgün büyümesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bitkiler DKW ortamında yatay ve dikey olarak kültüre alınmıştır. %20 hindistan cevizi 2 mg/l BAP, 0.01 mg/l IAA ve 0.5 mg/l GA₃ kombinasyonu sürgünlerin çoğalmasını ve sürgün uzamasını arttırdığını tespit etmişlerdir. En yüksek sürgün uzunluğu yatay pozisyonda kültüre alınan bitkilerde meydana geldiği saptamışlardır.

Daryani ve ark. (2016), yaptıkları çalışmada farklı bazal ortam ve bitki büyüme düzenleyicilerinin *in vitro* koşullarda ve fındığın büyümesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bunun için, baharda verimli apikal ve aksilar tomurcuklar sterilize edilmiş ve 0.01 mg/l IBA ve farklı BAP (0, 1, 2, 3, 4, 5, 8 mg/l) seviyeleri içeren NRM, MS ve 1/2 MS bazal ortamında kültüre alınmıştır. Sonuçlar, eksplant büyüme yüzdesinin (sürgün), eksplant başına yaprak sayısı ve sürgün uzunluğunun, bazal ortam ve bitki büyüme düzenleyicisinin konsantrasyonu ile önemli ölçüde etkilendiğini göstermiştir. MS ortamı üzerinde en yüksek sürgün yüzdesi elde edilmesine rağmen, NRM bazal ortamı üzerinde kültürlenmiş eksplantların sürgün uzunluğu, MS ve 1/2 MS' den önemli ölçüde daha yüksek olduğu görülmüştür. Kuruluş aşamasında eksplantların en iyi büyüme yanıtı (%50 sürgün, sürgünde %5.33 yaprak ve 1.6 cm sürgün uzunluğu), 0.01 mg/l IBA ve 1 mg/l BAP ile desteklenmiş NRM ortamı ile elde edilmiştir. Kuruluş aşamasından elde edilen sürgünler, tek boğumlu eksplantlara ayrılmış ve 0.05 mg/l IBA ve farklı BAP ve TDZ seviyeleri ile takviye edilmiş NRM ortamı üzerine aktarılmıştır. En düşük eksplant kararma ile en yüksek

eksplant büyümesi yüzdesi, 0.05 mg/l IBA ve 5 mg/l BAP içeren NRM ortamı üzerinde elde etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışma, Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür. Materyal olarak Çakıldak fındık çeşidinin aktif büyüme dönemindeki sürgün uçları kullanılmıştır.

Çakıldak, adaptasyon yeteneği yüksek olmakla birlikte kurağa duyarlı, az verimli toprak ve yüksek alanlara da uyumlu bir çeşittir. Kendine tozlanmada meyve tutumu yüksektir. Buruşuk iç oranı yüksek, periyodisiteye eğilimi fazladır. Geç olgunlaşır ve ilkbahar geç donlarına daha dayanıklı bir çeşittir. Çeşidin randıman oranı %50.8, yağ oranı %60.6, protein oranı %19.4 olan bir çeşittir (Köksal, 2002). Çakıldak çeşidinin sürgünleri Şekil 3.1’de görülmektedir.



Şekil 3.1 Çakıldak Çeşidinin Çelik ve Sürgünlerinin Görünümü

3.2 Yöntem

3.2.1 Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu

Çalışmada kullanılan tüpler, bistüri, pens, kurutma kağıtlarının sterilizasyonları 121°C’de ve 1.05 atm basıncındaki otoklavda 15 dakika süreyle tutularak yapılmıştır.

3.2.2 Besin Ortamlarının Hazırlığı ve Sterilizasyonu

Çizelge 3.1 ve 3.2’ de içerikleri verilen DKW ve MS ortamları kullanılmıştır. Ortamlara gerekli olan tüm kimyasallar ilave edilip saf su ile hacim tamamlandıktan sonra pH düzeyi 1 N HCl asit ve 1 N KOH ile 5.8’e ayarlanmıştır. Son olarak da katılaştırıcı olarak ortama agar ilave edilip kaynatılmıştır (Şekil 3.2). Kaynamış olan ortam, her bir tüpe 10 ml olacak

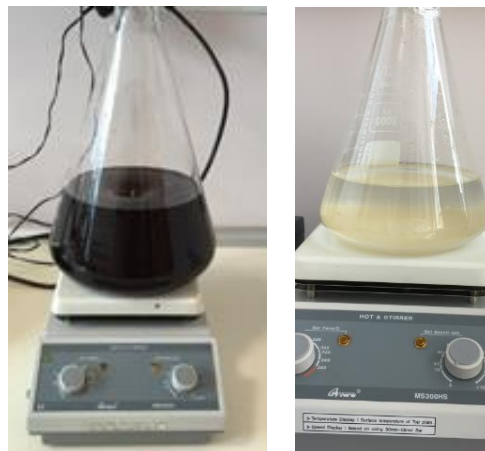
şekilde dağıtılıp tüplerin kapakları kapatılmış ve sonrasında 121°C ve 1.05 atm basıncındaki otoklavda 15 dakika süreyle tutularak sterilizasyonları gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1 DKW Besin Ortamının İçeriği (Driver and Kuniyuki, 1984)

Bileşik	Standart ortam konsantrasyonu (mg/l)
Makro elementler (x10)	
CaCl ₂	112.5
NH ₄ NO ₃	1416.0
KH ₂ PO ₄	265.0
MgSO ₄	361.49
K ₂ SO ₄	1559.0
Ca(NO ₃) ₂	1367.0
Mikro Elementler (x100)	
MnSO ₄ .H ₂ O	33.5
H ₃ BO ₃	4.8
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.39
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.25
Na ₂ -EDTA	45.4
FeSO ₄ .7H ₂ O	33.8
NiSO ₄ • 6H ₂ O	0.005
Zn(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	17.0
138 Fe-EDDHA sequestrene	200
Vitaminler (x100)	
Nicotinic acid (free acid)	1.0
Thiamine-HCl	10.0
Pyridoxine-HCl	1.0
Büyümeyi Düzenleyiciler	
BA (Benzil Adenin)	0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l, 4 mg/l, 5 mg/l
IBA	100 µl
GA ₃	50 µl
Organik Maddeler	
Myo- Inositol	100
Sukroz (g/l)	30
Agar	8
pH	5.8

Çizelge 3.2 MS Temel Besin Ortamının İçeriği (Murashige ve Skoog, 1962)

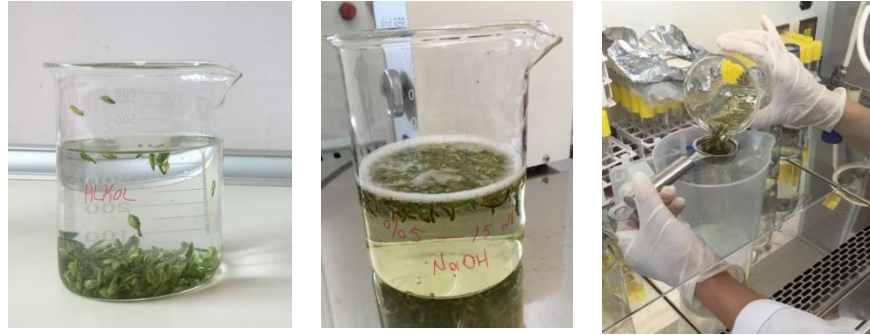
Bileşik	Standart ortam konantrasyonu (mg/l)
Makro elementler (x10)	
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
KH ₂ PO ₄	170
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
Mikro Elementler (x100)	
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3
H ₃ BO ₃	6.2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
KI	0.83
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
Fe- EDDHA	200
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Vitaminler (x100)	
Glycine	2.0
Nicotinic acid (free acid)	0.5
Thiamine-HCl	0.1
Pyridoxine-HCl	0.5
Büyümeği Düzenleyiciler	
BA (Benzil Adenin)	0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l, 4 mg/l, 5mg/l
IBA	100 µl
GA ₃	50 µl
Organik Maddeler	
Myo- Inositol	100
Sukroz (g/l)	30
Agar	8
pH	5.8



Şekil 3.2 Ortam Hazırlığı

3.2.3 Eksplantların Hazırlığı ve Kültüre Alınması

Çalışmada eksplant olarak Çakıldak çeşidine ait sürgün uçları çeliklerden elde edilmiştir. Eksplantların yüzey sterilizasyonları kapsamında ön deneme gerçekleştirilmiştir. Bunun için eksplantların bir kısmı kontrol grubu olarak saf suda (10, 15, 20 dakika) ve bir kısmı da %70 etil alkolde 10 sn süre ile bekletilmiştir. Etil alkol uygulanmış ve uygulanmamış tüm eksplantlar, farklı dozlarda sodyum hipoklorid (%5, %10 ve %15) çözeltilerinde farklı sürelerde (10, 15 ve 20 dakika) bekletilmiştir. Eksplantlar sonrasında steril kabin içinde steril saf su ile 3'er defa çalkalanmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Sürgünlerin yüzey sterilizasyonundan görünüm

Çalışmada yüzey sterilizasyonu tamamlanan eksplantlar 2-3 cm uzunluğunda kesilerek hazırlanmıştır. Kesilen eksplantlar sürgün uçlarının sürmesinin teşviki amacıyla steril kabin içerisinde farklı dozlarda hazırlanan BA (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/l), 5mg/l BA+100 µl IBA+ 50 µl GA₃ içeren DKW ortamının yer aldığı ve BA (0, 1, 2, 3, 4, 5 mg/l), 1 mg/l BA+100 µl IBA+ 50 µl GA₃, 1 mg/l BA+100 µl IBA+ 50µl GA₃+0.05 g 138 Fe-EDDHA içeren MS ortamının yer aldığı tüplerde (15 cm x 2.5 cm) kültüre alınmıştır. Ardından tüplerin kapakları hava almayacak şekilde streç film ile sıkıca kapatılmıştır.

Kültüre alınan eksplantlar dikimden 3 hafta sonra steril kabin içerisinde yukarıda belirtilen taze ortamlara transfer edilerek alt kültüre alınmışlardır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Eksplantların Kültüre Alınmasından Görünüm

3.2.4 Kültür Koşulları

Dikimi tamamlanan eksplantlar, sıcaklığı $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, fotoperiyodu 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık olacak şekilde ve ışıklanması 3000-4000 lüks şiddetinde olan beyaz floresan lambaların yer aldığı büyütme odalarında tutulmuştur.

3.2.5 İncelenen Özellikler

3.2.5.1 Yüzey Sterilizasyon Aşamasında

-Enfeksiyon Oranı (%): Farklı dozlarda BA, IBA ilaveli DKW ortamına dikimi yapılan sürgün uçlarından canlı kalanlarının sayısının toplam eksplant sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla bulunmuş ve % ile gösterilmiştir. % değerler istatistik analiz sırasında açı transformasyon değerine çevrilmiştir.

-Kararma Oranı (%): Farklı dozlarda BA, IBA ilaveli DKW ortamına dikimi yapılan sürgün uçlarından canlı kalanlarının sayısının toplam eksplant sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla bulunmuş ve % ile gösterilmiştir. % değerler istatistik analiz sırasında açı transformasyon değerine çevrilmiştir.

-Sağlıklı Gelişen Eksplant Oranı (%): Farklı dozlarda BA, IBA ilaveli DKW ortamına dikimi yapılan sürgün uçlarından canlı kalanlarının sayısının toplam eksplant sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla bulunmuş ve % ile gösterilmiştir. % değerler istatistik analiz sırasında açı transformasyon değerine çevrilmiştir.

3.2.5.2 Sürgün Uçlarından Sürgün Oluşumu Aşamasında

-Eksplant Canlılığı (%): Farklı dozlarda BA, IBA ilaveli DKW ortamına dikimi yapılan sürgün uçlarından canlı kalanlarının sayısının toplam eksplant

sayısına bölünüp 100 ile çarpılmasıyla bulunmuş ve % ile gösterilmiştir. % değerler istatistik analiz sırasında açı transformasyon değerine çevrilmiştir.

-Sürgün Uzunluğu(cm): Bu özellik oluşan sürgünlerin ortamdaki çıkarılması sırasında her bitkiciğin oluşturduğu sürgünlerin uzunluğunun cetvel yardımı ile ölçülmesiyle belirlenmiştir.

-Yaprak Uzunluğu(cm): Bu özellik oluşan sürgünlerin ortamdaki çıkarılması sırasında her bitkiciğin oluşturduğu sürgünlerin uzunluğunun cetvel yardımı ile ölçülmesiyle belirlenmiştir.

-Sürgün Yaş Ağırlığı (g): Bu özellik oluşan sürgünlerin ortamdaki çıkarılması sırasında her bitkiciğin oluşturduğu sürgünlerin yaş ağırlığının ± 0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımı ile gram cinsinden belirlenmiştir.

-Sürgün Kuru Ağırlığı (g): Bu özellik oluşan sürgünlerin ortamdaki çıkarılması sırasında her bitkiciğin oluşturduğu sürgünler, 65°C 'lik etüvde 72 saat tutulup kuruması sonrası ± 0.001 g duyarlılıktaki hassas terazi yardımı tartılıp gram cinsinden belirlenmiştir.

-Nisbi Klorofil İçeriği (SPAD): Bu özellik oluşan sürgünlerin ortamdaki çıkarılması sırasında her bitkiciğin oluşturduğu sürgünlerin orta kısmında yer alan yapraklarda SPAD yardımıyla nisbi klorofil içeriği saptanmıştır.

3.2.6 Deneme Deseni ve İstatistiksel Analiz

Çalışma 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 10'ar eksplant olacak şekilde Tesadüf Parselleri Deneme desenine göre düzenlenmiştir. Farklı grupların tespiti %5 önem seviyesinde LSD testinden yararlanılarak JMP 10.0 istatistikî paket programında gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Yüzey Sterilizasyon Denemesi Bulguları

Dikim öncesi uygulanan farklı sterilizasyon yöntemlerinin sürgün uçlarında enfeksiyon oranına ait sonuçlar Çizelge 4.1’de, kararma oranına ait sonuçlar Çizelge 4.2 de, sağlıklı gelişen eksplant oranına ait sonuçlar ise Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Yapılan yüzey sterilizasyon sonuçlarına göre Çizelge 4.1’de sodyum hipoklorid uygulamalarının enfeksiyon oranı üzerine etkisi istatistiki açıdan $P \leq 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Sodyum hipoklorid enfeksiyon oranlarına etkilerine bakıldığında tüm uygulamalar ayrı bir istatistik grupta yer almış ve en düşük enfeksiyon oranı %7.50 ile %15 NaOCl kullanımında belirlenmiştir. Enfeksiyon oranı üzerine uygulama süresinin etkileri de istatistiksel anlamda ($P \leq 0.01$) önemli bulunmuştur ve en düşük enfeksiyon oranının 15 ve 20 dakika uygulamalarında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1 Uygulanan Sterilizantların Enfeksiyon Oranı (%) Üzerine Etkileri

Sodyum hipoklorid oranı (%)	Süre (dakika)	Alkolsüz	Alkollü	Ortalama
Kontrol	10	90.00 a	90.00 a	90.00 a
	15	90.00 a	90.00 a	90.00 a
	20	90.00 a	90.00 a	90.00 a
	Ortalama	90.00 a	90.00 a	90.00 A
%5	10	90.00 a	45.00 bc	67.50 b
	15	90.00 a	0.00 e	45.00 c
	20	60.00 b	15.00 de	37.50 cd
	Ortalama	80.00 a	20.00 c	50.00 B
%10	10	90.00 a	0.00 e	45.00 c
	15	60.00 b	0.00 e	30.00 cde
	20	30.00 cd	15.00 de	22.50 def
	Ortalama	60.00 b	5.00 cd	32.50 C
%15	10	30.00 cd	0.00 e	15.00 efg
	15	15.00 de	0.00 e	7.50 fg
	20	0.00 e	0.00 e	0.00 g
	Ortalama	15.00 cd	0.00 d	7.50 D
Ortalama	10	75.00 a	33.75 bc	54.38 A
	15	63.75 a	22.50 c	43.13 B
	20	45.00 b	30.00 c	37.50 B
	Ortalama	61.25 A	28.75 B	
LSD	LSD alkol:7.84***; LSD hypo:11.23***; LSD süre:9.73**; LSD alkol x hypo:15.89***; LSD alkol x süre:13.76*; LSD hypo x süre:19.46 öd.;LSD alkol x hypo x süre:27.53*			

* 0.01 < P ≤ 0.05; ** 0.001 < P ≤ 0.01; *** P ≤ 0.001; öd. P > 0.05 (önemli değil)

Sterilizasyonda alkol kullanımı enfeksiyon oranını istatistiksel olarak etkilemiş ($P \leq 0.00$) ve alkol kullanımı enfeksiyon oranını yaklaşık %53 oranında azaltmıştır. Hypo*süre ikili interaksyonu önemsiz bulunmuştur. Hypo oranı ve süredeki artışlara bağlı olarak enfeksiyon oranında bir düşme görülmekle birlikte kontrol uygulamasında süreye bağlı enfeksiyon oranında bir değişim görülmemiştir. Hypo*alkol interaksyonu değerleri incelendiğinde NaOCl oranındaki artışa bağlı olarak enfeksiyon oranı azalma görülmüş olmakla birlikte bu etki alkol varlığında daha belirgin bulunmuştur. Alkol*süre interaksyonu istatistiksel anlamda $P \leq 0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Alkol enfeksiyon oranını azaltmış, süreye bağlı değişimde farklılıklar belirlenmiştir. Aynı durum 3'lü interaksyon değerlerini de etkilemiş ve hypo*süre*alkol interaksyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0.05$).

Çizelge 4.2 Sterilizasyon Uygulamaları ve Sürelerinin Kararma Oranı (%) Üzerine Etkileri

Sodyum hipoklorid oranı (%)	Süre (dakika)	Alkolsüz	Alkollü	Ortalama
Kontrol	10	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	15	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	20	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	Ortalama	0.00 d	0.00 d	0.00 D
%5	10	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	15	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	20	30.00 cd	75.00 ab	52.50 b
	Ortalama	10.00 cd	25.00 c	17.50 C
%10	10	0.00 d	90.00 a	45.00 b
	15	30.00 cd	90.00 a	60.00 b
	20	60.00 bc	45.00 bc	52.50 b
	Ortalama	30.00 b	75.00 a	52.50 B
%15	10	45.00 bc	75.00 ab	60.00 b
	15	75.00 ab	90.00 a	82.50 a
	20	90.00 a	90.00 a	90.00 a
	Ortalama	70.00 a	85.00 a	77.50 A
Sodyum hipoklorid	10	11.25 c	41.25 ab	26.25 B
	15	26.25 bc	45.00 a	35.63 B
	20	45.00 a	52.50 a	48.75 A
	Ortalama	27.50 B	46.25 A	
LSD	LSDalkol:8.70***; LSDhypo:12.31***; LSDsüre:10.66***; LSDalkolxhypo:17.41**; LSDalkolxsüre:15.07öd.; LSDhypoxsüre:21.32**; LSDalkolxhypoxsüre:30.15***			

* 0.01<P≤0.05; ** 0.001<P≤0.01; *** P≤0.001; öd. P>0.05 (önemli değil)

Çizelge 4.2 incelendiğinde farklı sürelerde sodyum hipoklorid ve alkol uygulamalarının kararma oranlarına etkilerine bakıldığında tüm uygulamalar ayrı bir istatistik grupta yer almış ($P \leq 0.001$) ve en düşük kararma oranı %17.50 ile %5 NaOCl kullanımında belirlenmiştir. Kararma oranı üzerine uygulama süresinin etkileri de istatistiksel anlamda önemli bulunmuş ($P \leq 0.001$) ve en düşük kararma oranının 10 ve 15 dakika uygulamalarında olduğu tespit edilmiştir. Sterilizasyonda alkol kullanımının kararma oranını istatistiksel olarak etkilemiş ve alkol kullanımı ile kararma oranı artmış ve alkolsüz uygulamada %27.50 olan kararma oranı alkollü uygulamada %46.25'e çıkmıştır. Hypo*süre ikili interaksiyonu istatistiksel açıdan $P \leq 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Sodyum hipoklorid oranı ve süredeki artışlara bağlı olarak kararma oranında bir artma görülmekle birlikte kontrol uygulamasında süreye bağlı kararma oranında bir değişim görülmemiştir. Hypo*alkol interaksiyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.01$). Değerler incelendiğinde NaOCl oranındaki artışa bağlı olarak kararma oranı artma görülmüş olmakla birlikte bu etki alkol varlığında daha belirgin bulunmuştur. Alkol*süre interaksiyonu istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur. Hypo*alkol*süre üçlü interaksiyon istatistiksel açıdan

$P \leq 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Genel bir ifade ile NaOCl dozu ve süre artışına bağlı bir kararmada artış olduğu görülmüştür. Alkol kullanımı ile kararmaların bir miktar artış gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.3’de sodyum hipoklorid ve alkol uygulamalarının sağlıklı gelişen eksplant oranlarına etkileri istatistiksel olarak $P \leq 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur. En yüksek sağlıklı gelişen eksplant oranı %22.50 ile %5 NaOCl kullanımında belirlenmiş, diğer uygulamalar aynı grupta yer almıştır. Sağlıklı gelişen eksplant oranı üzerine uygulama süresinin etkileri istatistiksel anlamda önemsiz olduğu belirlenmiştir. Sterilizasyonda alkol kullanımının sağlıklı gelişen eksplant oranını istatistiksel olarak etkilemiş ($P \leq 0.001$) ve alkol kullanımı sağlıklı gelişen eksplant oranını arttırmıştır. Alkolsüz uygulamada %1.25 olan sağlıklı gelişen eksplant oranı alkol uygulamasında %15.00’e kadar çıkmıştır.

Çizelge 4.3 Sterilizasyon Uygulamaları ve Sürelerinin Sağlıklı Gelişen Eksplant Oranı (%) Üzerine Etkisi

Sodyum hipoklorid oranı (%)	Süre (dakika)	Alkolsüz	Alkollü	Ortalama
Kontrol	10	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	15	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	20	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	Ortalama	0.00 b	0.00 b	0.00 b
%5	10	0.00 d	45.00 b	22.50 b
	15	0.00 d	90.00 a	45.00 a
	20	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	Ortalama	0.00 b	45.00 a	22.50 a
%10	10	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	15	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	20	0.00 d	30.00 bc	15.00 bc
	Ortalama	0.00 b	10.00 b	5.00 b
%15	10	15.00 cd	15.00 cd	15.00 bc
	15	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	20	0.00 d	0.00 d	0.00 c
	Ortalama	5.00 b	5.00 b	5.00 b
ORTALAMA	10	3.75 bc	15.00 ab	9.38 A
	15	0.00 c	22.50 a	11.25 A
	20	0.00 c	7.50 bc	3.75 A
	Ortalama	1.25 B	15.00 A	
LSD	LSD _{alkol} :7.53***; LSD _{hypo} :10.66*** ; LSD _{süre} : öd.; LSD _{alkolxhypo} :15.07*** ; LSD _{alkolxsüre} : öd.; LSD _{hypoxsüre} :18.46*** ; LSD _{alkolxhypoxsüre} :25.93**			

* 0.01 < $P \leq 0.05$; ** 0.001 < $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$; öd. $P > 0.05$ (önemli değil)

Hypo*süre ikili interaksiyonu istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Sodyum hipoklorid oranı ve süredeki artışlara bağlı olarak %5 NaOCl’nin 15 dakika uygulaması ile sağlıklı gelişen eksplant oranında en yüksek değer elde edilmiştir (%45). Kontrol uygulamasında ve %5 sodyum

hipokloridin 20 dakikası, %10 sodyum hipokloridin 10-15 dakikası ile %15 sodyum hipokloridin 15-20 dakikasında süreye bağlı sağlıklı gelişen eksplant oranında bir değişim görülmemiştir. Hypo*alkol interaksiyonu istatistiksel açıdan önemli bulunmuş ($P \leq 0.001$). Değerler incelendiğinde NaOCl oranındaki artışa bağlı olarak sağlıklı gelişen eksplant oranında artma görülmüş ve bu etki alkol varlığında daha belirgin bulunmuştur. Alkol*süre interaksiyonu istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. Hipo*süre*alkol interaksiyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuş olup ($P \leq 0.01$) sağlıklı gelişen eksplant oranını %1.25'ten %15'e kadar çıkarmıştır.

Bu yüzden sürgünler için en uygun doz ile enfeksiyon oranı ve kararma oranı %0, sağlıklı gelişen eksplant oranı ise %90 olan alkol uygulanmış (10 saniye) %5 sodyum hipoklorid ve 1-2 damla Tween-20 bulunan çözelti içinde 15 dakika tutularak yüzey sterilizasyon uygulaması yapılmış ve steril kabin içerisinde 3 defa steril saf su ile çalkalanmıştır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda bazı araştırmacılar fındık eksplantların yüzey sterilizasyonu aşamasında fındık sürgünlerini musluk suyu ile yıkadıktan sonra ve %75 etil alkolde 30 saniye beklettikten sonra 7 dakika boyunca birkaç damla Tween-20 ile %1 HgCl₂ çözeltisi ile dezenfekte edilmiş ve sonra steril saf su ile 3-5 defa durulamışlardır (Gao ve ark., 2006), kimi araştırmacılar Thomson ve ark. (2011), bir yaşındaki sürgün ve dalları %70 etanolde 1 dakika boyunca beklettikten sonra biraz Tween-20 damlatılmış %2.5'lik sodyum hipoklorid çözeltisinde 15 dakika bekletilmiş ve ardından steril saf su ile durulamışlardır. Silvestri ve ark. (2019) fındık boğumlarını 1 saat boyunca 250 mg/l askorbik asit, 250 mg/l sitrik asit, 5 mg/l GA₃ ve %0.1 PPM içeren sulu çözeltiliye daldırdıktan sonra birkaç damla Tween-20 bulunan %20'lik ticari ağartıcıda 30 dakika boyunca bekletildikten sonra hızlı bir şekilde iki kez steril su ile durulamışlardır. Hand ve ark. (2016), fındık eksplantlarını 10 dakika musluk suyunda yıkadıktan sonra 4 damla Tween-20 bulunan %20'lik sodyum hipoklorid çözeltisinde 10 dakika bekletildikten sonra iki kez steril su ile durulamışlardır. Perez ve ark. (1985), fındık sürgün ve kotiledonlarını önce musluk suyunda yıkamış ve ardından %95 etanolde 5 dakika beklettikten sonra saf su ile duruladıktan sonra %1.05 sodyum hipoklorid çözeltisinde 30 dakika

bekletmiş ve birkaç kez steril saf su ile durulamışlardır. Ellena ve ark. (2014), fındık sürgün ucu eksplantlarını 20 dakika musluk suyunda yıkadıktan sonra %95 etil alkolde 20 saniye bekletmiş ve saf su ile duruladıktan sonra %9 NaOCl ve 20 damla Tween-20 bulunan çözeltide 20 dakika tutulduktan sonra 4 kez steril saf su ile durulamışlardır. Yu ve Reed (1993), fındık sürgün ucu eksplantlarını 10 dakika boyunca sabunlu suda yıkadıktan sonra musluk suyu ile durulamıştır. Ardından %5 NaOCl+Tween-20 bulunan çözelti içinde 10 dakika bekletilmiş ardından 2-3 defa steril saf su ile çalkalamışlardır.

4.2 Eksplantlardan Sürgün Oluşturma Denemesi Bulguları

4.2.1 Eksplant canlılık oranı (%)

MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA (100 µl), 138-Fe EDDHA (0.05 g) ve GA₃ (50 µl) dozlarının denemede kullanılan Çakıldak sürgün ucunun bitki canlılığı üzerine etkisi istatistiki açıdan $P \leq 0.001$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çizelge 4.4' de izlenebileceği gibi en yüksek eksplant canlılık oranı %66.1'lik oranla MS 1mg/l BA+100µl IBA+50µl GA₃ uygulamasında belirlenmiştir. Bunu takiben en yüksek eksplant canlılık oranı aynı istatistiki grupta yer alan DKW+5 mg/l BA (%57.8), DKW+5mg/l BA+100µl IBA+50µl GA₃ (%55), MS+ 3mg/l BA (%53.9), DKW+ 4 mg/l BA (%50.9), DKW+3mg/l BA (%48.9), MS+4mg/l BA (%48.9) ortamlarından elde edilmiştir. En düşük eksplant canlılık oranı ise %0.0 oranla MS+1mg/l BA uygulamasında tespit edilmiştir.

4.2.2 Eksplant Enfeksiyon Oranı (%)

MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA, 138-Fe EDDHA ve GA₃ dozlarının denemede kullanılan Çakıldak sürgün ucu enfeksiyon oranı üzerine etkisi istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0.001$). Çizelge 4.4 incelendiğinde en yüksek enfeksiyon oranı %35.2 oranla MS 4 mg/l BA ve MS 1mg/l BA+100µl IBA+50µl GA₃ uygulamalarında belirlenirken en düşük enfeksiyon oranı ise %0.0 oranla MS (1 ve 2 mg/l BA) uygulamalarında tespit edilmiştir.

4.2.3 Eksplant Kararma Oranı (%)

MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA, 138 Fe-EDDHA ve GA₃ dozlarının kararma oranı üzerine etkisi

istatistiksel açıdan önemli ($P \leq 0.001$) bulunmuştur (Çizelge 4.4). Sürgün oluşturma aşamasında sürgün uçlarında görülen en önemli sorun kararma problemi olmuştur. Sürgün uçlarının alt kültüre alındıktan yaklaşık 3. haftanın sonlarına doğru bitkilerde kararma sorunundan dolayı sürgünlerin çoğu gelişmeden ya da geliştikten sonra karamışlardır. Çizelge 4.4 incelendiğinde en yüksek kararma oranı %90 oranla MS 1 mg/l BA uygulamasında belirlenirken %72.8 oranla MS 2 mg/l BA ile %71.6 oranla MS 0 mg/l uygulamalarında tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4 DKW ve MS Ortamlarında Farklı Ortam İçeriklerinin Sürgün Uçlarında Canlı Kalma Enfeksiyon ve Kararma Oranı Üzerine Etkileri

Ortamlar	Canlı Kalma Oranı (%)	Enfeksiyon Oranı (%)	Kararma Oranı (%)
MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA ₃	66.1 a	12.3 cd	18.4 fg
DKW 5 mg/l BA	57.8 ab	15.0 bc	28.1 defg
DKW 5 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA ₃	55 ab	21.1 abc	26.1 defg
MS 3 mg/l BA	53.9 ab	12.3 cd	28.1 defg
DKW 4 mg/l BA	50.9 ab	12.3 cd	34.9 def
MS 4 mg/l BA	48.9 ab	35.2 a	11.1 g
DKW 3 mg/l BA	48.9 ab	12.3 cd	37.1 de
MS 5 mg/l BA	45.0 b	23.9 abc	35.2 def
MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA ₃ +0.05 g Fe	45.0 b	35.2 a	23.9 efg
DKW 1 mg/l BA	40.9 b	28.3 ab	37.1 de
DKW 2 mg/l BA	40.8 b	12.3 cd	43.1 cd
MS 2 mg/l BA	17.2 c	0.0 c	72.8 ab
DKW 0 mg/l BA	17.2 c	17.7 bc	59.0 bc
MS 0 mg/l BA	12.3 c	0.0 c	71.6 b
MS 1 mg/l BA	0.0 c	0.0 c	90.0 a
LSD	18.47***	14.45***	18.20***

* 0.01 < P ≤ 0.05; ** 0.001 < P ≤ 0.01; *** P ≤ 0.001; ö.d. P > 0.05 (önemli değil)

Nas ve Read (2001), E-295-S, G-029-N ve S-182-C fındık genotiplerinin sürgünlerini kullanarak demir kaynağının ve ortamın fiziksel durumunun eksplant gelişimi ve kalitesi üzerine etkisi araştırmışlardır. Demir kaynağı olarak demir sülfat (33.8 mg/l) kullanıldığında sürgün uzunluğunda artış görülmekle birlikte yapraklarda büyük oranda kloroz olduğunu gözlemlenmiştir. 138 Fe içeren ortamlarda gelişen sürgünler koyu yeşil renkte ve sağlıklı görünürken. 330 Fe kullanılan ortamlarda gelişen sürgünlerde hiperhidrasyon gözlemlenmiştir. En klorotik yapraklar MS ortamında belirlenmiş olup, sonraki

alt kültürlerde MS ortamı üzerinde klorotik eksplantlar büyütüldüğünde hayatta kalan eksplant sayısı önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır.

Gao ve ark. (2006), Kuixiang, Dawei, Hybrid 88, Hibrid 73 ve 84-402 hibrit fındık eksplantlarını MS ortamında kültüre alınan bitkilerde bir miktar kloroz gözlemlemiştir. Bizim çalışmamızda ise kararırma oranı açısından en yüksek değer 1 ve 2 mg/l BA ilave edilen MS ortamlarında olduğu tespit etmişlerdir.

DKW ortamlarında kültüre alınan sürgünler belli bir sürgün boyuna ulaştıktan kararırma nedeniye ölmüşlerdir ve aynı şekilde kullanılan diğer canlılık oranının düşük olmasının nedeni eksplantların sürgün oluşturamaması yada belli bir seviyede sürgün oluşturduktan sonra kararırıp ölmesidir. Yapılan bir çalışmada fındık bitkisinin dokularındaki kararırmanın nedeni fenolik bileşiklerin üretiminden kaynaklandığı bildirilmiştir (Yu ve Reed, 1995). Yine bazı araştırmacılar *Corylus* türlerinin doku kültüründe çoğaltımının çok zor olduğunu ve yüksek oranda mikrobiyal kontaminasyon, eksplantların kararırması, düşük çoğalma hızı, yetersiz sürgün uzaması ve hiperhidrasyon, mikro çoğalma başarısını sınırlayan faktörler olarak bildirilmiştir (Diaz-Sala ve ark., 1990; Yu ve Read, 1995; Nas ve Read, 2001).

4.2.4 Sürgün Uzunluğu (cm)

MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA, 138 Fe-EDDHA ve GA₃ dozlarının sürgün uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemli ($P \leq 0.001$) bulunmuştur (Çizelge 4.5). Ancak çalışmada yapılan gözlemlere bakıldığında, en yüksek sürgün uzunluğu MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA₃ (1.240 cm) ile MS 3 mg/l BA (1.200 cm) uygulamalarında belirlenirken en düşük sürgün uzunluğu MS 4 mg/l BA (0.650 cm) ile MS 5 mg/l BA (0.600 cm) uygulamalarında saptanmıştır.

Bugüne kadar birçok fındık çeşidi üzerine yapılan literatür çalışmalarına bakıldığında farklı ortamlar ve farklı oksin ve sitokin hormonları kullanıldığı görülmektedir. Garrison ve ark. (2013), Geneva çeşidinin boğum eksplantlarını kullanarak farklı demir kaynaklarının *in vitro* sürgün çoğalması üzerine etkisini araştırmışlardır. Eksplantları 100 mg/l tiamin+17.6 µM BA+0.014 µM

IBA+0.029 μM GA₃ ve 0, 230, 460, 690 μM Fe-EDDHA ve Fe-EDTA bulunan NCGR-COR ortamında kültüre almışlardır. En yüksek sürgün uzunluğunu 26.2-22.3 mm ile sırasıyla 230, 460 μM Fe-EDDHA bulunan ortamlardan, en düşük sürgün uzunluğu ise Fe-EDTA içeren ortamlarında görüldüğünü tespit etmişlerdir.

Hand ve ark. (2014), Jefferson, Dorris ve Sacajawe fındık çeşitlerinde DKW ortamını kullanarak yapmış oldukları çalışmada farklı minör elementlerin sürgün ucuna etkilerini araştırmışlardır. En yüksek sürgün uzunluğunu 5 mg/l BA+4 μM H₃BO₃ uygulamasından elde etmişlerdir. En yüksek sürgün uzunluğu sırasıyla Dorris (19.03 cm), Jefferson (14.17 cm) çeşitlerinden elde edilmiştir. Ancak Sacajawe (9.10 cm) için 4 μM MnSO₄.H₂O ve Na₂MoO₄.2H₂O varlığında elde edildiği belirlenmiştir. Gentile ve ark., (2017)' nin *C. colurna*' da yaptıkları çalışmada 4.1 ve 8.2 μM BA kullandıkları DKW ortamında sürgün uzunluğu açısından istatistiksel anlamda farklılık olmadığını tespit etmişlerdir.

Buna karşın Thomson ve ark. (2011), yaptıkları bir çalışmada Daviana fındık çeşidinin sürgünlerini Knoxfield2 ortamı kullanarak farklı sitokinin tipleri ve konsantrasyonunun sürgün çoğalması üzerine etkisini incelemiştir. Çalışmada sürgün uzunluğunu (28.6 mm- 23.7 mm ile) sırasıyla 5 mg/l BAP ve 10 mg/l BAP eklenen ortamdan elde etmişlerdir. Yeni oluşan sürgünlerin uzunluğu açısından en iyi sonucu 1 mg/l zeatin (14.7 mm) eklenen ortamdan elde etmişlerdir. Yine Bacchetta ve ark. (2005)' nin yaptıkları çalışmada sürgün uzaması için 1 mg/l zeatinin 0.5 mg /l BAP 'dan daha uygun olduğu sonucuna varmışlardır. Nas (2004), *Corylus avellana*'nın farklı genotiplerinde yaptıkları çalışmada poliaminlerin MS ve DKW sürgün uzunluğu üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda BA (6.7. 11.1 veya 15.5 μM) dozlarının bitkilerin sürgün uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Poliaminlerin ise ortalama sürgün uzunluğunu %83 arttırdığını tespit etmişlerdir. Perez ve ark. (1985), Cheng's ortamında Filbert fındık sürgünleri için en iyi sürgün gelişimini 25 μM BAP içeren ortamdan elde edildiğini tespit etmişlerdir. Prando ve ark. (2014), Tonda Gentile delle Langhe fındık çeşidinin aksiller tomurcukları kullanarak yaptıkları çalışmada eksplantları %20 hindistan cevizi+2 mg/l BAP+0.01 mg/l IAA+0.5 mg/l GA₃ içeren DKW

ortamında yatay ve dikey olarak kültüre almışlardır ve bu kombinasyonun sürgünlerin uzamasını arttırdığını en yüksek sürgün uzunluğunu ise yatay pozisyonda kültüre alınan bitkilerde oluştuğunu tespit etmişlerdir. Gao ve ark. (2006), Kuixiang, Dawei, Hybrid 88. Hibrid 73 ve 84-402 hibrit fındıklarında yaptıkları çalışmada en yüksek sürgün uzunluğunu 1/2 MS (4.60 cm) ortamından elde etmişlerdir. Ortalama sürgün uzunlukları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark görülmemekle birlikte en yüksek sürgün uzunluğu 1.0 mg/l BA ilave edilen ortamdaki sürgün uzunluğunu 1.5 mg/l TDZ bulunan ortamdaki sürgün uzunluğundan elde etmişlerdir.

Nas ve Read (2001), E-295-S. G-029-N ve S-182-C genotiplerinin sürgünlerini kullanarak demir kaynağının eksplant gelişimi ve kalitesi üzerine etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada demir kaynağının sürgün uzunluğunu önemli ölçüde etkilediğini tespit etmişlerdir. Sequestrene 330 Fe (120 mg/l) bulunan ortamlarda sürgünler genellikle daha kısa ve genotiplerin sürgün uzunlukları arasındaki farkın oldukça fazla FeSO₄ kullanıldığında sürgünlerin daha uzun ancak yapraklarında çoğunlukla kloroz gözlendiğini tespit etmişlerdir. WPM ortamındaki sürgünler NN, DKW ve MS ortamlarından daha uzun olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmanın bulguları göz önüne alındığında sürgün uzunluğu değerlerinin literatür bulgularından daha düşük olduğu ifade edilebilir.

4.2.5 Sürgün Yaş Ağırlığı (g)

MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA 138-Fe-EDDHA ve GA₃ dozlarının sürgün yaş ağırlığı üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemli ($P \leq 0.05$) görülmüştür (Çizelge 4.5). Çalışmada yapılan gözlemlere bakıldığında en yüksek sürgün yaş ağırlığı MS 3 mg/l BA (0.050 cm) ile bu uygulamayı takiben MS 1mg/l BA+100 µl IBA+50 µl GA₃ (0.040 cm) uygulamalarında belirlenirken en düşük sürgün yaş ağırlığı MS 4 mg/l BA (0.017 cm) ile MS 5 mg/l BA (0.017 cm) uygulamalarından elde edilmiştir.

4.2.6 Sürgün Kuru Ağırlığı (g)

MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA 138 Fe-EDDHA ve GA₃ dozlarının sürgün kuru ağırlığı üzerine etkisi

istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). Çalışmada yapılan gözlemlerde en yüksek sürgün kuru ağırlığı MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA₃ (1.20 g) ile MS 2 mg/l BA (0.013 g) uygulamalarında belirlenirken en düşük sürgün kuru ağırlığı MS 4 mg/l BA (0.004 g) ile MS 5 mg/l BA (0.003 g) uygulamalarında gözlenmiştir. Silvestri ve ark. (2019), Tonda Gentile Romana çeşidinin boğumlarını kullanarak yaptıkları çalışmada 1/2 MS (20 mg/l BAP+0.1 mg/l TDZ) ayrıca demir kaynağı olarak 100 ve 200 mg/l Sequestrene 138 Fe-EDTA veya Fe-EDDHA formunda olarak eklemiştir. Yapılan çalışma sonucunda uygulanan dozların sürgün kuru ağırlığı üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Ancak Garrison ve ark. (2013), Geneva çeşidinin boğum eksplantların kullanarak farklı demir kaynaklarının *in vitro* sürgün çoğalması üzerine etkisini araştırmışlardır. Eksplantları 100 mg/l tiamin+17.6 µM BA+0.014 µM IBA+0.029 µM GA₃ ve demir. 0, 230, 460, 690 µM Fe-EDDHA ve Fe-EDTA bulunan NCGR-COR oratmında kültüre almışlardır. En yüksek sürgün kuru ağırlığı sırasıyla 230, 460, 690 µM Fe-EDDHA; en düşük ise 690 µM Fe-EDTA kullanıldığında tespit etmişlerdir. Bu çalışmalar dikkate alındığında elde edilen sonuçlar, kullanılan ortamlar ile karşılaştırıldığında sürgün kuru ağırlığının önemli derecede düşük olduğu saptanmıştır.

4.2.7 Yaprak Uzunluğu (cm)

MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA, 138-Fe EDDHA ve GA₃ dozlarının yaprak uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel açıdan P≤0.05 düzeyinde önemli etki göstermiştir (Çizelge 4.5). Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA₃ (1.033 cm) ile MS 3 mg/l BA (0.933 cm) en yüksek yaprak uzunluğuna sahip olurken en düşük yaprak uzunluğu MS 4 mg/l BA (0.400 cm) ile MS 5 mg/l BA (0.450 cm) uygulamalarında tespit edilmiştir. Gentile ve ark. (2017)’de *C. colurna* yaptıkları çalışmada 4.1 ve 8.2 µM *meta*-topolin kullandıkları DKW ortamında yaprak uzunluğu açısından istatistiksel anlamda fark görülmediğini tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise bu fark önemli bulunmuştur.

4.2.8 Nisbi Klorofil İçeriği (SPAD)

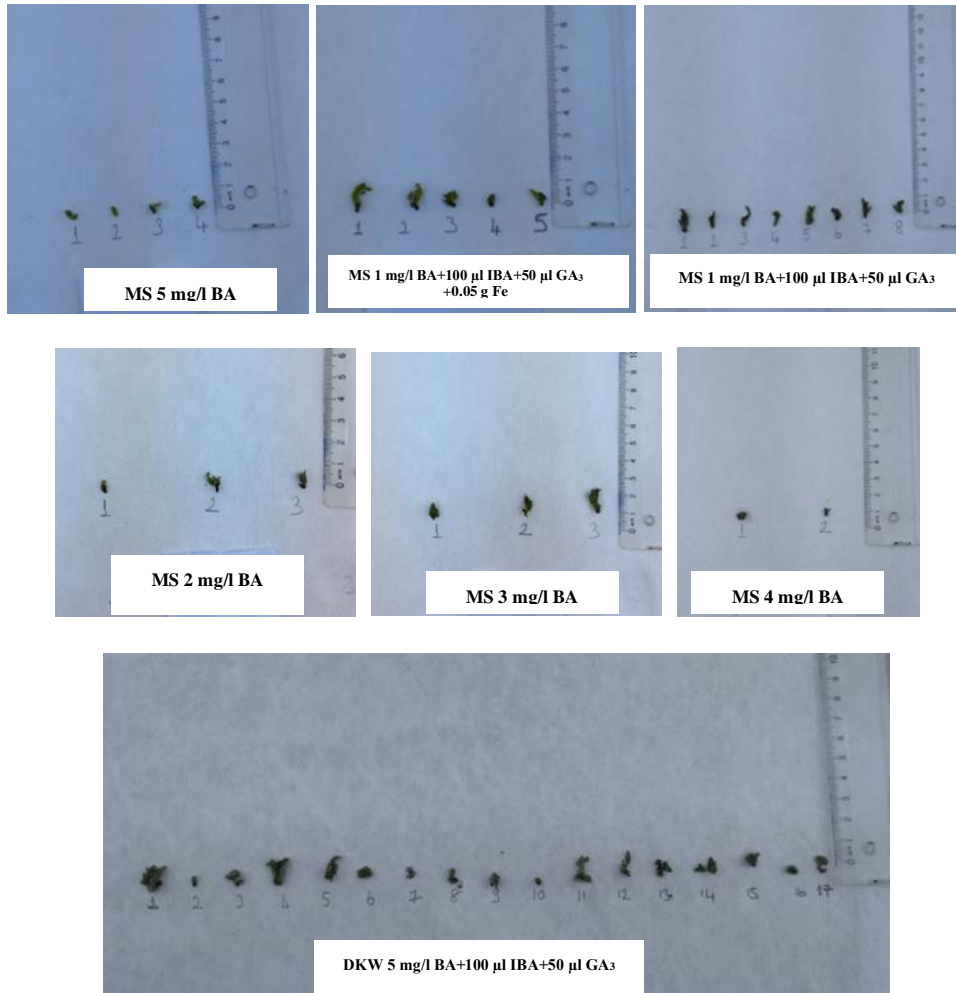
MS ve DKW ortamlarında uygulanan farklı BA ile ayrıca uygulanan IBA, 138 Fe-EDDHA ve GA3 nisbi klorofil içeriği üzerine etkisi istatistiksel açıdan $P \leq 0.05$ düzeyinde önemli etki göstermiştir (Çizelge 4.5). En yüksek nispi klorofil içeriği 23.033 oranla MS 3 mg/l BA ve 17.433 oranla MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA3 dozlarında görülmüştür. En düşük nispi klorofil içeriği ise 4.600 oranla MS 2 mg/l BA dozunda saptanmıştır. Gentile ve ark., (2017)' de *C. colurna* yaptıkları çalışmada 8.2 µM meta-topolin ve 8.2 µM BA kullandıkları DKW ortamında en yüksek klorofil içeriğini 8.2 µM meta-topolin uygulandığında verdiğini tespit etmişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada ise klorofil içeriği daha yüksek çıkmıştır.

Nas ve Read (2001), E-295-S, G-029-N ve S-182-C genotiplerinin sürgünlerini kullanarak demir kaynağının eksplant gelişimi ve kalitesi üzerine etkisi araştırdıkları çalışmada farklı ortamlara (NN, DKW, MS, WPM) demir kaynağı olarak Sequestrene 138 Fe EDDHA (200 mg/l), Sequestrene 330 Fe (120 mg/l), FeSO₄ 33.8 mg/l ve büyüme düzenleyicileri olarak 5 mg/l BA + 0.01 mg/l IBA + 0.2 µM B5 vitaminleri eklemiştir. Sequestrene 200 mg/l 138 Fe-EDDHA içeren ortam üzerinde oluşan sürgünlerin sağlıklı görümlü ve koyu yeşil olduğunu belirlemiş ve en yeşil yaprakların NN ortamında olduğunu saptamışlardır.

Garrison ve ark. (2013), Geneva çeşidinin boğum eksplantların kullanarak farklı demir kaynaklarının *in vitro* sürgün çoğalması üzerine etkisini araştırmışlardır. Eksplantları 100 mg/l tiamin+17.6 µM BA+0.014 µM IBA+0.029 µM GA3 ve 0, 230, 460, 690 µM Fe-EDDHA ve Fe-EDTA bulunan NCGR-COR ortamında kültüre almışlardır. Çalışma sonucunda en yüksek klorofil içeriği 230 µM ile Fe-EDDHA; en düşük klorofil içeriği ise 230 Fe-EDTA bulunan ortamlardan elde etmişlerdir. Bu çalışma sonuçları mevcut çalışmamızı klorofil içeriği Fe-EDDHA bulunmayan MS 3 mg/l ve MS 1 mg/l BA+100 µl IBA+50 µl GA3 bulunan ortamlardan elde edildiğinden çalışmamızı desteklememektedir.

Çizelge 4.5 Farklı Hormon Dozlarının Sürgün Gelişimi Üzerine Etkileri

Ortamlar	Sürgün yaş ağırlığı (g)	Sürgün kuru ağırlığı (g)	Sürgün uzunluğu (cm)	SPAD	Yaprak uzunluğu (cm)
DKW 5 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA ₃	0.037 abc	0.004 ab	0.743 bc	17.433 ab	0.557 bc
MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA ₃	0.040 ab	0.020 a	1.240 a	19.433 ab	1.033 a
MS 1 mg/l BA +100 µl IBA+50 µl GA ₃ +0.05 g Fe	0.037 abc	0.004 ab	0.813 abc	12.767 bc	0.643 abc
MS 2 mg/l BA	0.020 bc	0.013 b	0.800 abc	4.600 c	0.467 c
MS 3 mg/l BA	0.050 a	0.004 ab	1.200 ab	23.033 a	0.933 ab
MS 4 mg/l BA	0.017 c	0.004 b	0.600 c	13.267 bc	0.400 c
MS 5 mg/l BA	0.017 c	0.003 b	0.650 c	12.433 bc	0.450 c
LSD	0.02*	0.016*	0.468*	9.60*	0.41*



Şekil 4.1 Farklı BA Dozlarının Sürgün Gelişim Üzerine Etkileri

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapılan çalışmada yüzey sterilizasyon aşamasında %0 enfeksiyon ve kararma oranı ve %90 eksplant canlılık oranı açısından en uygun dozun alkol uygulanmış (10 saniye) %5 sodyum hipoklorid ve 1-2 damla TWEEN-20 bulunan çözelti içinde 15 dakika tutularak yüzey sterilizasyonu yapılması ile elde edildiği gözlenmiştir.

Sürgün gelişimi aşamasında ise elde edilen sonuçlara göre sürgün yaş ağırlığı açısından en üstün sonuç 3 mg/l MS ortamdan alınırken; sürgün kuru ağırlığı, sürgün uzunluğu, yaprak uzunluğu açısından en iyi sonuç MS 1 mg/l+100 µl IBA+ 50 µl GA₃ ortamından elde edilmiştir. En yüksek klorofil içeriği ise 3 mg/l MS ortamından elde edilmiştir.

Araştırmada kullanılan eksplantlarda farklı ortamlarda kültüre alınan sürgünlerde belli bir boya ulaştıktan sonra kararma da görülmüştür. Düşük çoğalma hızı, yetersiz sürgün uzaması saptanmıştır.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışma Çakıldak fındık çeşidinde konu ile ilgili ilk çalışma niteliğindedir. Bu nedenle bulguları itibariyle önem arz etmektedir.

Doku kültürü ile çoğaltma çalışmaları aynı zamanda bitkinin genetik yapısı ve çeşit ile de ilgilidir. Bu yüzden elde edilen bulgular literatür ile az çok benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmanın farklı büyüme düzenleyicileri, doz ve kombinasyonlar ile zenginleştirilerek devam ettirilmesi önerilmektedir. Yine diğer kültür çeşitleri ile doku kültürü ile çoğaltma denemelerinin devam ettirilmesi de önem arz etmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Anonim, (2020). Türkiye İstatistik Kurumu. www.tuik.gov.tr Erişim tarihi (06.01.2020).
- Babaoğlu, M., Yorgancılar, M., & Akbudak, M.A. (2001). Doku kültürü: temel laboratuvar teknikleri. (Editörler M. Babaoğlu, E. Gürel, S. Özcan), Bitki Biyoteknolojisi Cilt I Doku Kültürü ve Uygulamaları, S.Ü. Vakfı Yayınları, Konya, 1-35s.
- Bacchetta, L., Bernardini, C., Di Stefano, G., Pelliccia, O., Cavicchioni, G., & Di Bonito, R. (2005). Molecular characterization by RAPDS and Micropropagation of Italian hazelnut cultivars. *Acta Horticulturae*. 686, 99-104.
- Bacchetta, L., Aramini. M., Bernardini, C., & Rugini. E. (2008). *In vitro* propagation of traditional Italian hazelnut cultivars as a tool for the valorization and conservation of local genetic resources. *HortScience*, 43(2), 562-566.
- Bassil, N. V., Rebhuhn, B. J., Mok, D. W., & Mok, M. C. (1990). Micropropagation of the hazelnut, *Corylus avellana*. *HortScience*, 25(9), 1100.
- Caboni, E., Frattarell, A., Meneghini, M., Giorgioni. M., & Damiano. C. (2009). Micropropagation of hazelnut Italian cultivars. *Italus Hortus*, 16(2), 102-105.
- Cheng, T. Y. (1975). Adventitious bud formation in culture of Douglas (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco). *Plant Science Letters*, 5(2), 97-102.
- Contessa., C., Valentini. N., & Botta, R. (2011). Decreasing the concentration of IBA or combination with ethylene inhibitors improve bud retention in semi-hardwood cuttings of hazelnut cultivar 'Tonda Gentile delle Langhe'. *Scientia horticulturae*. 131, 103-106.
- Çalışkan, T. (1995). Fındık Çeşit Kataloğu, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü. Bitkisel Üretim Geliştirme Daire Başkanlığı Mesleki Yayınlar Serisi, Ankara. 72s.
- Daryani, P., Zare, N., Chamani, E., Mossadeg, P. E., & Mojaddad, D. J. (2016). Evaluation of the effects of different basal medium and plant growth regulators on *in vitro* growth of hazelnut. *Journal of Horticulture Science*, 30(3), 417-422.
- Driver, J. A., & Kuniyuki, A. H. (1984). *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock. *HortScience*, 19(4), 507-509.
- Diaz-Sala, C., Rey, M., & Rodríguez, R. (1990). *In vitro* establishment of a cycloclonal chain from nodal segments and apical buds of adult hazel (*Corylus avellana* L.). *Plant Cell. Tissue and Organ Culture*. 23(3), 151-157.

- Ercisli, S., Read, P. E., & Nas, M. N. (2001). Effect of forcing solution composition on budbreak and shoot elongation of four hybrid hazelnut genotypes. *Acta Horticulturae*, 556, 259-262.
- Ellena, M., Masia, A., & Marino, G. (2014). Physiological and biochemical aspect associated with the rizogenetics of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Acta Horticulturae*, 1052, 157-165.
- Gao, X. H., Liu, J. N., & Ling, Q. (2006). Tissue Culture and Rapid Propagation of Hybrid Hazelnut (*Corylus heterophylla* × *C. avellana*). In *XXVII International Horticultural Congress-IHC2006: International Symposium on Seed Enhancement and Seedling Production* 771 (pp. 207-211).
- Garrison, W., Dale, A., & Saxena, P. K. (2013). Improved shoot multiplication and development in hybrid hazelnut nodal cultures by ethylenediamine di-2-hydroxy-phenylacetic acid (Fe-EDDHA). *Canadian journal of plant science*, 93(3), 511-521.
- Gentile, A., Frattarelli, A., Not, P., Condello, E., & 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 (PCTOC)*. 128(3). 693-703.
- Gökmen, H. (1973). Kapalı tohumlular (Angiospermae). *Orman Bakanlığı Yayınları*, 564, 208-210.
- Gürel, S., & Gülşen, Y., (1998). The Effect of IBA and BAP on *In vitro* Shoot Production of Almond (*Amygdalus commmunis* L.) *Turkish Journal of Botany*. 22, 375-379.
- Hand, C. R. (2013). Improving initiation and mineral nutrition for hazelnut (*Corylus avellana*) micropropagation. Oregon State University.
- Hand, C., Maki, S., & Reed, B. M. (2014). Modeling optimal mineral nutrition for hazelnut micropropagation. *Plant Cell Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 119(2), 411-425.
- Hand, C. R., Wada, N, Stockwell, V., & Reed, B. M. (2016). Node position influences viability and contamination in hazelnut shoot explants. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. 52(6), 580-589.
- İslam, A. (2018). Hazelnut culture in Turkey. *Akademik Ziraat Dergisi* 8(2), 176-184.
- İslam, E., Özkutlu, F., & Tonkaz, T. (2018). Avrupa’da Fındık Yetiştiriciliği. (Editörler A. İslam, M. Rovira, V. Cristofori), MKB Halk Kütüphanesi yayınevi. ISBN: 9786058099005. Ordu. 191s.
- İslam, A., Öger, İ., Karagöl, S., Turan, A., (2019). Farklı IBA uygulamalarının *Corylus colurna* L.’nin odun çelikleriyle köklenmesi üzerine etkisi. *Akademik Ziraat Dergisi* 8(Özel Sayı), 45-48. ISSN: 2147-6403 DOI: <http://dx.doi.org/10.29278/azd.655495>
- Köksal, İ. (2002). Türk Fındık Çeşitleri. Fındık Tanıtım Grubu Yayınları, Ankara. 136s.

- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15(3), 473-497.
- Nas, M. N., & Read, P. E. (2001). Micropropagation of hybrid hazelnut: medium composition, physical state and iron source affect shoot morphogenesis, multiplication and explant vitality. *Acta Horticulturae*, 556, 251-258.
- Nas, M. N. (2004). Inclusion of polyamines in the medium improves shoot elongation in hazelnut (*Corylus avellana* L.) micropropagation. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 28(3). 189-194.
- Nas, M.N., & Read. P.E. (2013). Simultaneous Micrografting. Rooting and Acclimatization of Micropropagated American Chestnut. Grapevine and Hybrid Hazelnut. *European Journal of Horticultural Science*, 68 (5), 234–237. ISSN 1611-4426.
- Prando, M. S., Chiavazza, P., Faggio, A., & Contessa, C. (2014). Effect of coconut water and growth regulator supplements on *in vitro* propagation of *Corylus avellana* L. *Scientia Horticulturae*, 171, 91-94.
- Özçağiran, R., Ünal, A., Özeker, E., & İsfendiyaroğlu. M. (2014). Ilıman İklim Meyve Türleri Cilt III. Ege Üniversitesi Yayınları Ziraat Fakültesi Yayın. No 566.
- Pérez, C., Rodríguez, R., & Tamés, R. S. (1985). "In vitro" filbert (*Corylus avellana* L.) micropropagation from shoot and cotyledonary node segments. *Plant cell reports*, 4(3), 137-139.
- Perez. C., Rodriguez. A., Revilla. A., Rodriguez. R., & Sanchez-Tames. R. (1987). Filbert plantlet formation through "in vitro" culture. Symposium on *In vitro* Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants 212. *Acta Horticulturae*, 212, 505-510.
- Radojević, L., Vujičić, R., & Nešković, M. (1975). Embryogenesis in tissue culture of *Corylus avellana* L. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*, 77(1), 33-41.
- Silvestri, C., Rugini, E., & Cristofori, V. (2019). The effect of CuSO₄ for establishing *in vitro* culture, and the role nitrogen and iron sources in *in vitro* multiplication of *Corylus avellana* L. cv. Tonda Gentile Romana. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-7.
- Thomson. G. E., & Deering. T. D. (2011). Effect of cytokinin type and concentration on *in vitro* shoot proliferation of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *New Zealand journal of crop and horticultural science*. 39(3), 209-213.
- Yu, X., & Reed. B. M. (1993). Improved shoot multiplication of mature hazelnut (*Corylus avellana* L.) *in vitro* using glucose as a carbon source. *Plant cell reports*. 12(5), 256-259.
- Yu, X., & Reed, B. M. (1995). A micropropagation system for hazelnuts (*Corylus species*). *HortScience*, 30(1), 120-123.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Nuray KAPLAN
Doğum Yeri	KURTALAN/SİİRT
Doğum Tarihi	24.02.1992
Uyruğu	<input checked="" type="checkbox"/> T.C. <input type="checkbox"/> Diğer:
Telefon	05385429247
E-Posta Adresi	nuray.kpln72@gmail.com



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Bahçe Bitkileri
Mezuniyet Yılı	11.06.2017
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı