

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ORMAN MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI

ISTRANCA MEŞESİ (*Quercus hartwissiana* Stev.)' NİN DOKU KÜLTÜRÜ
TEKNİKLERİ İLE ÜRETİLMESİ

Orm.Yük. Müh. Fatma FEYZİOĞLU

727563

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"Doktor"
Ünvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

127563

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 25.03.2002
Tezin Savunma Tarihi : 29.05.2002

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Ali Ömer ÜÇLER
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Hüseyin DİRİK
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zeki YAHYAOĞLU

Enstitü Müdürü: Prof. Dr. Asım KADIOĞLU

Trabzon 2002

ÖNSÖZ

“Istranca Meşesi (*Quercus hartwissiana* Stev.)’nin Doku Kültürü Teknikleri İle Üretilmesi” adlı bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Anabilim Dalı’nda doktora tezi olarak hazırlanmıştır.

Karadeniz Ormanları açısından son derece önemli olan ve bilimsel bir boşluğu dolduracağına inandığımız bu konuyu bana öneren, çalışmanın her aşamasında destek ve tecrübelerini benden esirgemeyerek tezin oluşmasında büyük katkısı olan sayın hocam Doç. Dr. Ali Ömer ÜÇLER’e teşekkürü bir borç bilirim.

Doktora ders aşamasında doku kültürü çalışmalarına ilgi duymamı ve bu konuya yönelmemi sağlayan sayın hocam Prof. Dr. Zeki YAHYAOĞLU’na teşekkür ederim. Ayrıca çalışmalarım süresince Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü (D.K.O.A.E.) olanaklarından yararlanmamı sağlayan Enstitü müdürleri sayın Hasret ATASOY ve sayın Dr. Mahir KÜÇÜK’e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında sterilizasyon ile ilgili karşılaştığım sorunların çözülmesindeki önerileri nedeniyle Oregon State University, National Clonal Germplasm Repository’den Dr. Barbara REED’e ve bu öneriler doğrultusunda sterilizasyonla ilgili materyalin teminindeki yardımlarından dolayı K.T.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Faruk AYDIN’a teşekkür ederim.

Manevi desteğini yakından hissettiğim Dr. Nüket SİVRİ’ye ve yazım aşamasında yapıcı eleştirilerinden dolayı D.K.O.A.E. araştırmacılarından; Volkan AKSU, Lale AKGÜN ve Süleyman ALKAN’a ve çoğaltma aşamasındaki yardımlarından dolayı kütüphane sorumlusu Güven DEMİR’e teşekkür ederim.

Bana büyük bir aile içerisinde yaşama zevkini ve mutluluğunu tattıran kardeşlerim, eşleri (manevi kardeşlerim) ve yeğenlerime her an yanımda bulunmaları nedeniyle teşekkürlerimi sunarım.

Sonsuz sevgi ve sabırla tüm çalışmalarımdaya yanı başımda bulunan, destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, bilimselliğine ve kişiliğine daima hayran olduğum sevgili eşim Yrd. Doç. Dr. Ali Muzaffer FEYZİOĞLU’na sonsuz teşekkür ederim.

İnsan üstü iyilik ve şefkatleri için annem ve babam Feride ve İsmet YILMAZ’a.....

Fatma FEYZİOĞLU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ.....	XIII
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Literatür Özeti.....	6
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	18
2.1. Materyal ve Yöntem.....	18
2.1.1. Materyalin Alınması.....	18
2.1.2. Besin Ortamının Belirlenmesi.....	18
2.1.2.1. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Belirlenmesi.....	21
2.1.3. Sterilizasyon.....	23
2.1.3.1. Besin Ortamının Sterilizasyonu.....	23
2.1.3.2. Bitkisel Materyalin Sterilizasyonu.....	23
2.1.3.3. Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu.....	24
2.1.3.4. Diğer Sterilizasyon İşlemleri.....	25
2.1.4. Materyalin Kültüre Alınması.....	25
2.1.5. Besin Ortamının pH'sının Ayarlanması.....	25
2.1.6. Eksplantların Gelişme Koşulları.....	26
2.1.6.1. Sıcaklık İsteği.....	26
2.1.6.2. Işık İsteği.....	26
2.1.6.2.1. Işık Yoğunluğu.....	27
2.1.6.2.2. Aydınlanma Süresi.....	27
2.1.7. Gelişme Süresince Yapılan Ölçüm ve Gözlemler.....	27

2.1.7.1. Eksplantların Gelişimi ve Sürgün Oluşumu.....	27
2.1.7.2. Farklı Genotiplere Ait Eksplantların Gelişimi ve Sürgün Oluşumu.....	28
2.1.7.3 Farklı Eksplant Kaynaklarının Sürgün Oluşumu ve Gelişimi.....	28
2.1.7.4. Sürgünlerin Köklendirilmesi.....	28
2.1.8. Köklü Fideciklerin Şaşırtılması.....	29
2.2.9. Verilerin Değerlendirilmesi.....	29
3. BULGULAR.....	30
3.1. Sürgün Çoğaltma Denemeleri.....	30
3.1.1. Farklı ortam (GD ve WPM) ve Sitokinin (BA) Dozlarının Sürgün Oluşumu ve Gelişimine Etkisi.....	31
3.1.1.1. Sürgün Sayısına Etkisi.....	32
3.1.1.2. Sürgünlerdeki Nod Sayısına Etkisi.....	41
3.1.1.3.Sürgün Uzunluğuna Etkisi.....	47
3.1.2. Farklı Genotiplere Ait Eksplantların Sürgün Gelişimi.....	52
3.1.2.1. Sürgün Sayısına Etkisi.....	54
3.1.2.2. Nod Sayısına Etkisi.....	56
3.1.2.3. Sürgün Uzunluğuna Etkisi.....	58
3.1.3. Farklı Eksplant Kaynaklarının Sürgün Oluşumu ve Çoğalmasına Etkisi.....	61
3.1.3.1. Sürgün Sayısına Etkisi.....	62
3.1.3.2. Nod Sayısına Etkisi.....	65
3.1.3.3. Sürgün Uzunluğuna Etkisi.....	67
3.2. Mikroçeliklerin Köklendirme Denemeleri.....	69
3.2.1 Mikroçelikleri Farklı IBA Dozlarına Batırma İşleminin Köklenme Üzerine Etkileri.....	69
3.2.2 Mikroçelikleri 25 mg/l IBA Dozu Ekli Ortamlarda 24 ve 48 Saat Bekletme İşleminin Köklenme Üzerine Etkileri.....	72
4. TARTIŞMA.....	82
4.1. Sürgün Büyüme ve Çoğaltma Aşaması.....	82
4.2. Mikroçeliklerin Köklendirilmesi Aşaması.....	88
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	92
6. KAYNAKLAR.....	95
ÖZGEÇMİŞ.....	103

ÖZET

Mikro üretim teknikleri, seçilen orman ağacı genotiplerinin kitlesel üretiminde son derece önemlidir. Bu çalışmada Istranca meşesi (*Quercus hartwissiana*)'nin koltuk altı tomurcuk kültürü ile çoğaltılması amaçlanmıştır.

Eksplantlar GD ve WPM temel besin ortamlarında 10 hafta boyunca sürgün çoğalması oluşuncaya kadar kültüre alınmıştır. Çalışma sonunda en iyi besin ortamının sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından GD ortamı olduğu ortaya konulmuştur. Her ortama farklı dozlarda BA uygulanması sonunda, en iyi BA dozunun büyüme ortamı için 1 mg/l ve sürgün çoğaltma ortamı için 0,2 mg/l olduğu bulunmuştur.

Farklı 7 genotipe ait eksplantlar 0,2 mg/l BA ilaveli GD ortamında kültüre alınmıştır. Genotiplere bağlı olarak sürgün ve nod sayılarında farklılık bulunmamasına karşılık sürgün uzunluklarında farklılıklar gözlenmiştir.

Eksplant kaynağının sürgün oluşumu ve çoğalmasına etkileri farklıdır. En düşük sürgün çoğalması sürgün uç tomurcuklarından alınan eksplantlarda gözlenmiştir. Buna karşılık koltuk altı tomurcuklarının sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından daha etkili olduğu ortaya konmuştur.

Köklendirme için iki ayrı deney uygulanmıştır. İlk deneyde sürgünlerin dip kısımları 0.5 - 1 mg/l IBA konsantrasyonuna 2-6 dakika batırıldıktan sonra 1/3 yoğunluktaki GD ortamına alınmışlardır. Denemeler sonunda köklenme oranı %13 olarak bulunmuştur. İkinci köklendirme denemesinde sürgünler 25 mg/l IBA eklenmiş ortamında 48 saat ve 24 saat tutularak daha sonra % 1 aktif karbon içeren hormonsuz ortama alınarak kök gelişimleri gözlenmiştir. Denemeler sonucunda 48 saat IBA muameleli ortamda %100, 24 saat muameleli ortamda ise % 80 başarı sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Organ Kültürü, *Quercus hartwissiana*, İn Vitro, Bitki Büyüme Düzenleyiciler

SUMMARY

Propagation of Hartwissian Oak (*Quercus hartwissiana* L.) Using by Tissue Culture Techniques

Micropropagation techniques are very important methods for clonal propagation of selected forest trees. In this study, producing of hartwissiana oak (*Quercus hartwissiana*) with axillary bud culture was aimed.

Explants were cultured in GD and WPM for ten weeks until the shoot multiplication was observed. Different doses of BA were applied to each nutrient medium. The best nutrient medium was GD medium in respect to shoot number, nod number and shoot length. The best doses of BA were found to be 1 mg/l for initial culture and 0,2 mg/l for shoot multiplication.

The explants belonging to 7 different genotypes were cultured into GD medium supplement with 0,2 mg/l BA. Shoot and the nod number even not different but differences were observed in shoot length depending on the genotype.

Influence of explants source were different on shoot development and shoot multiplication. Explants from apical bud have the lowest multiplication rate. However Axillary bud was more effective in shoot number, nod number and shoot length.

The two separate experiment were carried out for the propos of rooting. In the first Microshoots placed in 1/3 straight GA medium after their base had been dipped in 0,5 –1 mg/l BA for 2-6 minutes. 35 days later rooting rate were found as 13 %. In the second experiment, shoots were keep in nutrient medium containing 25 mg/l BA for 24 and 48 hours and subsequently transfer to auxin-free medium containing % 1 activate charcoal. As a result the best rooting was observed as 100 % and 80 % for 48 hour and 24 hour treatment in media with BA respectively.

Key Words: Organ Culture, *Quercus hartwissiana*, In Vitro, Plant Growth Regulators

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

- Şekil 1. GD ve WPM + 0.2 mg/l BA ortamında kültürden 3 hafta sonra eksplantlardaki gelişim durumları (soldan ilk iki örnek WPM, son iki örnek GD) 31
- Şekil 2. GD + 0.2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 8. haftadaki gelişimleri..... 32
- Şekil 3. GD + 0.2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 33
- Şekil 4. GD + 0.5 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 33
- Şekil 5. GD + 1 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 34
- Şekil 6. GD + 2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 34
- Şekil 7. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD ve WPM temel besin ortamlarındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının sürgün sayıları 35
- Şekil 8. Farklı BA dozları ilaveli GD temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün sayıları..... 36
- Şekil 9. Farklı BA dozları ilaveli WPM temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün sayıları..... 37
- Şekil 10. WPM + 0.2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 38
- Şekil 11. WPM + 0.5 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 39
- Şekil 12. WPM + 1 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 39
- Şekil 13. WPM + 2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantların 10 hafta sonraki gelişim durumları..... 40
- Şekil 14. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD ve WPM temel besin ortamlarındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının nod sayıları..... 42

Şekil 15. Farklı BA dozları ilaveli GD temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgünlerin nod sayıları.....	43
Şekil 16. Farklı BA dozları ilaveli WPM temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgünlerin nod sayıları.....	44
Şekil 17. 0.2 mg/l BA + GD ortamındaki eksplantlar üzerindeki her bir noddan çıkan yeni sürgünler.....	45
Şekil 18. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD ve WPM temel besin ortamlarındaki <i>Quercus hartwissiana</i> eksplantlarının sürgün uzunlukları	47
Şekil 19. Farklı BA dozları ilaveli GD temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün uzunlukları.....	48
Şekil 20. Farklı BA dozları ilaveli WPM temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün uzunlukları.....	49
Şekil 21. GD + 1 mg/l BA ortamındaki sürgün gelişimi.....	50
Şekil 22. WPM + 1 mg/l BA ortamındaki sürgün gelişimi.....	51
Şekil 23. GD + 0.2 mg/l BA ortamında 4 nolu genotipe ait eksplantlarda sürgün gelişimi.....	53
Şekil 24. GD + 0.2 mg/l BA ortamında 2 nolu genotipe ait eksplantlarda sürgün gelişimi.....	54
Şekil 25. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı genotiplerin sürgün sayıları.....	55
Şekil 26. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı genotiplerin nod sayıları.....	57
Şekil 27. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı genotiplerin sürgün uzunlukları.....	59
Şekil 28. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki koltuk altı tomurcuklarında kültürden 8 hafta sonra sürgün gelişimi.....	61
Şekil 29. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki sürgün uç tomurcuklarında kültürden 8 hafta sonra sürgün gelişimi.....	62
Şekil 30. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu sürgün sayıları.....	63
Şekil 31. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının sürgün sayıları.....	64
Şekil 32. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu nod sayıları.....	65
Şekil 33. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu nod sayıları.....	66

Şekil 34. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu sürgün uzunlukları.....	67
Şekil 35. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının sürgün uzunlukları.....	68
Şekil 36. Dip kısımları 1 g/l IBA'ya 2 dakika batırılan mikroçeliklerin köklenme durumları.....	70
Şekil 37. Dip kısımları 1 g/l IBA'ya 6 dakika batırılan mikroçeliklerde oluşan kök anomalilikleri.....	70
Şekil 38. 25 mg/l BA içerisinde 48 saat bekletilen mikroçeliklerin 15. günde kök gelişimleri.....	72
Şekil 39. 25 mg/l BA içerisinde 24 saat bekletilen mikroçeliklerin 15. günde kök gelişimleri.....	73
Şekil 40. 1/3 GD + 25 mg/l IBA ortamında 48 saat bekletilen mikroçeliklerin köklenme durumları.....	74
Şekil 41. 1/3 GD + 25 mg/l IBA ortamında 24 saat bekletilen mikroçeliklerin köklenme durumları.....	75
Şekil 42. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletilen mikroçeliklerin kök sayıları.....	76
Şekil 43. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme süresinin mikroçeliklerin kök sayılarına etkileri.....	76
Şekil 44. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletilen mikroçeliklerin kök uzunlukları.....	78
Şekil 45. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme süresinin mikroçeliklerin kök uzunluklarına etkileri.....	78
Şekil 46. Toprağa transfer edilen rejenere fideciklerin görünümleri	79
Şekil 47. Toprağa transfer edilen rejenere fidecikler.....	80
Şekil 48. <i>Quercus hartwissiana</i> 'nın doku kültürü ile üretilmesine ait akış şeması...	81

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.	GD ve WPM temel besin ortamlarının bileşimleri.....	19
Tablo 2.	GD ve WPM temel besin ortamlarının hazırlanışı.....	20
Tablo 3.	Büyüme ve çoğalma ortamlarında kullanılan BA konsantrasyonları.....	22
Tablo 4.	Köklendirme ortamlarında mikroçeliklerin batırıldığı IBA'nın dozları ve işlem süreleri.....	22
Tablo 5.	Köklendirme ortamlarında kullanılan IBA ilaveli ortamlarda mikroçeliklerin kalış süreleri.....	23
Tablo 6.	BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD temel besin ortamındaki <i>Quercus hartwissiana</i> eksplantlarının sürgün sayılarının gelişimi	35
Tablo 7.	BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği WPM temel besin ortamındaki <i>Quercus hartwissiana</i> eksplantlarında oluşan sürgün sayılarının gelişimi ...	37
Tablo 8.	<i>Quercus hartwissiana</i> 'da GD ve WPM ortamlarına ilave edilen BA dozlarının sürgün sayısı üzerine etkisini gösterir varyans analizi sonuçları..	40
Tablo 9.	<i>Quercus hartwissiana</i> 'da GD ve WPM temel besin ortamlarına ilave edilen BA dozlarının sürgün sayısı üzerine etkisine ait duncan testi sonuçları.....	41
Tablo 10.	BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD temel besin ortamındaki <i>Quercus hartwissiana</i> eksplantlarının nod sayılarının gelişimi	42
Tablo 11.	BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği WPM temel besin ortamındaki <i>Quercus hartwissiana</i> eksplantlarından oluşan nod sayıları.....	44
Tablo 12.	<i>Quercus hartwissiana</i> 'da GD ve WPM ortamlarına ilave edilen BA dozlarının nod sayısı üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları.....	46
Tablo 13.	<i>Quercus hartwissiana</i> 'da GD ve WPM temel besin ortamlarına ilave edilen BA dozlarının nod sayısı üzerine etkisine ait duncan testi sonuçları..	46
Tablo 14.	BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD temel besin ortamındaki <i>Quercus hartwissiana</i> eksplantlarının sürgün uzunlukları gelişimi	47
Tablo 15.	BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği WPM temel besin ortamındaki <i>Quercus hartwissiana</i> eksplantlarının sürgün uzunlukları gelişimi.....	49
Tablo 16.	<i>Quercus hartwissiana</i> 'da GD ve WPM ortamlarına ilave edilen BA	

dozlarının sürgün uzunluğu üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları....	51
Tablo 17. <i>Quercus hartwissiana</i> 'da GD ve WPM temel besin ortamlarına ilave edilen BA dozlarının sürgün uzunluğu üzerine etkisine ait duncan testi sonuçları.....	52
Tablo 18. <i>Quercus hartwissiana</i> genotiplerine ait Farklı eksplantlarının sürgün sayılarının gelişimi (kültürden 6 hafta sonra).....	54
Tablo 19. Farklı <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı genotiplerin sürgün sayılarının varyans analizi sonuçları.....	56
Tablo 20. Farklı <i>Quercus hartwissiana</i> genotiplerine ait eksplantlarındaki nod sayılarının gelişimi.....	56
Tablo 21. Farklı <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı genotiplerin nod sayılarının varyans analizi sonuçları.....	58
Tablo 22. Farklı <i>Quercus hartwissiana</i> genotiplerine ait eksplantlardaki sürgün uzunlukları gelişimi.....	58
Tablo 23. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı genotiplerin sürgün uzunluklarının varyans analizi sonuçları.....	60
Tablo 24. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı genotiplerin sürgün uzunluklarının duncan testi sonuçları.....	60
Tablo 25. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı eksplant kaynaklarının 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamındaki sürgün sayısı gelişimleri	62
Tablo 26. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı eksplant kaynaklarının sürgün sayılarına ait T testi sonuçları.....	64
Tablo 27. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı eksplant kaynaklarının GD temel besin ortamındaki nod sayısı gelişimleri.....	65
Tablo 28. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı eksplant kaynaklarının nod sayılarının T testi sonuçları.....	66
Tablo 29. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı eksplant kaynaklarının GD temel besin ortamındaki sürgün uzunlukları gelişimleri.....	67
Tablo 30. <i>Quercus hartwissiana</i> 'ya ait farklı eksplant kaynaklarının sürgün uzunluklarının T testi sonuçları.....	68
Tablo 31. Köklendirme denemelerinde farklı doz ve bekletme sürelerinin mikroçeliklerin köklenme durumuna etkisi.....	71
Tablo 32. Mikroçeliklerin 25 mg/l IBA + 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48	

saat bekletme işleminin köklenme durumları.....	73
Tablo 33. Mikroçeliklerin 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme işleminin köklenme sayıları.....	75
Tablo 34. <i>Quercus hartwissiana</i> mikroçeliklerinin IBA ilaveli 1/3 GD ortamında bekletme sürelerinin kök sayısı üzerine etkisine ait T testi sonuçları.....	77
Tablo 35. Mikroçeliklerin 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme işlemindeki kök uzunluklarının gelişim durumları.....	77
Tablo 36. <i>Quercus hartwissiana</i> mikroçeliklerinin IBA ilaveli 1/3 GD ortamında bekletme sürelerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait T testi sonuçları.....	79



SEMBOLLER DİZİNİ

1/2	:	Yarım yoğunlukta besin içeren ortam
1/3	:	Üçte bir yoğunlukta besin içeren ortam
2,4 – D	:	Diamin tetra asetik asit
BA	:	Benziladenin
BPA	:	N-benzil –9- (2-tetrahidrofrasil) adenin
BTM	:	Broad – Leaved Tree Medium (1983) Besin Ortamı
g	:	Gram
GD	:	Gresshoff ve Doy (1972) Besin Ortamı
H	:	Heller (1953) Besin Ortamı
IAA	:	İndol -3- asetik asit
IBA	:	Indol –3- butrik asit
IS	:	Ide ve Saito (1985) Besin Ortamı
l	:	Litre
M	:	Mol
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
MS	:	Murashige ve Skoog (1962) Besin Ortamı
NAA	:	Naftalin asetik asit
SH	:	Shenk ve Hidebrant (1972) Besin Ortamı
subsp	:	Alttür
UV	:	Ultra Viole
var	:	Varyete
WPM	:	Woody Plant Medium (1981) Besin Ortamı
WSW	:	Wolter Plant Medium (1981) Besin Ortamı
Z	:	Zeatin

1. GENEL BİLGİLER

1.1.Giriş

İnsanoğlu varolduğu günden beri çevresini kuşatan doğal kaynaklardan ve zenginliklerden, faydalanmaya çalışmıştır. Bu faydalanma sürecinde insanlar yer altı zenginliklerinden petrol ve madenlerden çok daha önce ormanlarla ilişki kurmuş ve onlardan faydalanma yollarını aramışlardır.

Dünya nüfusu ve insanların gereksinimlerinin artmasına paralel olarak kolay ulaşılabilir olması nedeniyle orman ürünlerinin tüketimi de artmıştır. Ülkemizde bu kullanımın yanında ormanlar yıllardan beri süre gelen yangın, aşırı hayvan otlatmaları, usulsüz kesimler vb. nedenlerle geniş ölçüde tahrip olmuş, alanları daralmış, nitelikleri bozulmuş ve verimsizleşmiştir. Ormanlarımız kendisinden beklenen ekonomik ve kollektif fonksiyonları istenilen ölçüde gerçekleştiremeyecek durumda, gerek nicelik gerekse nitelik olarak yetersiz hale gelmiştir. Ormancılık ana planı verilerine göre, odun hammaddesi açığı 2000 yılı itibarıyla 7 milyon m³ olduğu düşünöldüğünde (Aslankara, 2000), ormanların yeniden imarı, ıslahı ve alanlarının genişletilmesinin önemi gündeme gelmektedir.

Odun hammaddesi gereksiniminin yeterli düzeyde karşılanabilmesi, bunun yanında çıplak alanlarda erozyonun durdurulabilmesi için yapılması gerekenlerden biri de hızlı çoğaltma yöntemleri ile ıslah edilmiş materyalleri ağaçlandırmalarda kullanmaktır. Ancak ağaçlandırma çalışmalarında monokültürün engellenmesi ve genetik çeşitliliğin korunması büyük önem arz etmektedir. Ormancılıkta genetik çeşitliliğin sürdürülebilmesi için çeşitli in situ ve ex situ teknikleri geliştirilmiştir (Işık vd., 1997).

Günümüzde ormancılık çalışmalarının önemli bir kısmını ağaçlandırmalar oluşturmaktadır. Vejetatif yöntemlerle kitle halinde üretilen fidanların da ağaçlandırmalara sokulmasıyla odun ve odun ürünlerine duyulan gereksinimin karşılanmasında önemli mesafeler alınmış olacaktır. Öte yandan, ağaçlandırma çalışmalarında genetik rezervleri korumak ve bunları çoğaltmak amacıyla ıslah edilmiş materyaller kullanılarak genetik özellik bakımından üstün bireylerden oluşan meşçereler elde edilebilecektir .

Ülkemiz ormancılığında ıslah çalışmaları çok geç başlamakla birlikte yıllarca ormanlarımızdan sürekli olarak en hızlı büyüyen, en düzgün form gösteren fertler çeşitli faydalanmalar sonucu uzaklaştırılmıştır. Bunun sonucunda da ormanlarımızın genetiksel yapıları şiddetli derecede bozulmuştur. Bu aşamada devreye orman ıslahı girmektedir. Orman ağaçları ıslahının ana görevleri; birim alandan daha fazla hacimde odun üretmek, üretilen odunun kalitesini artırmak ve türlerin biotik ve abiotik etkenlere karşı mukavemetlerini yükseltmektir (Şimşek, 1993). Genetik ıslah çalışmalarının başarısı her şeyden önce mevcut genetik çeşitliliğe ve kullanılan ıslah yöntemlerinin kalitesine bağlıdır.

Geleneksel olarak orman ağaçlarının ıslah programlarında vejetatif çoğaltmanın rolü büyüktür. Sadece aseksüel yöntemler kullanılarak üretilen bireylerin hepsi ortetin kalıtsal özelliklerini birebir taşımaktadır (Ürgeç, 1982).

Vejetatif üretim yöntemlerinin geleneksel metodu çelikle üretimdir. Odunu türlerin vejetatif yolla çoğaltılmasını geniş bir şekilde gerçekleştirebilmek için, çelikle üretim ve doku kültürü ile üretim gibi iki teknikten söz edilebilmektedir (Üçler, 1995). Orman gen kaynaklarının korunmasında gen kaynaklarının doğal yetişme ortamlarının dışına transfer edilmesini esas alan ex situ yöntemlerinden birini de genetik materyalin in vitro koşullarda uzun süre saklanabilmesi oluşturmaktadır (Dirik, 1994).

Orman ağaçlarında doku kültürü yöntemleri sayesinde kontrollü tozlaşma programları ile elde edilen üstün nitelikli ve az miktardaki tohumlardan, bitki rejenerasyonu yoluyla çok fazla sayıda fidan elde edilebilmektedir (Üçler, 1995).

Bitki doku kültürleri; bir üretim yöntemi olmakla beraber, bilinen diğer klasik üretim yöntemlerinden farklı olarak bitkinin çeşitli kısımlarından alınan küçük bir parçanın sterilize edildikten sonra çeşitli organik ve inorganik maddeleri içeren steril gıda ortamında (in vitro) ve uygun çevre koşullarında (ışık ve sıcaklık) kültüre alınması işlemidir (Gönülşen, 1987). Doku kültürü deyimi bitki parçalarının laboratuarda kontrollü koşullar altında steril kültür ortamında yetiştirilmesi için kullanılır. Cam kaplar içerisinde (in vitro) yapılması nedeniyle bu tip teknik in vitro olarak adlandırılır. Birçok araştırmacı doku kültürü, mikroüretim ve in vitro kültür deyimlerini birbiri yerine kullanmaktadır (Vyapari, 1995).

İzole edilen organların canlı olarak kapalı bir kap içerisinde saklanması girişimleri yaklaşık 130 yıl öncesine dayanmaktadır. İn vitro kültürüne gerçek anlamda ilk yaklaşan kişi 1902 yılında Alman araştırmacı Haberlandt olmuştur. Araştırmacı bir grup hücreyi besin ortamında tutmuş ancak çoğaltmayı başaramamıştır. 1912 yılında Carrei, ilk defa hayvan hücrelerini steril ortama almış ve başarı sağlamıştır. Bitki doku kültürü konusunda ilk

uygulama ise 1922 yılında, Amerika Birleşik Devletleri'nden Robbin ve Almanya'dan Kott tarafından gerçekleştirilmiştir. Fide kök uçlarını kullanan araştırmacılar, 6 ay sonra büyümenin durması ile başarısızlığa uğramışlardır. 1934 yılında White, ilk defa şeker, inorganik tuz ve bira mayası bulunan gıda ortamında domates köklerinin uçlarından kök kültürü yapmayı başarmıştır. Aynı yıl Fransa'da Gautheret ağaçların kambiyumlarından yaptığı kültürlerde gelişmeler saptamıştır. 1939 yılında Nobecourt havuçta kallus kültürü çalışmaları yapmıştır. Bu çalışmalar doku kültürünün temelini oluşturmuştur. Gautheret 1940 yılında doku kültürü çalışırken karaağacın kambiyum dokularından yararlanmıştır. 1943 yılında Camus ve 1944 yılında Skoog tütün bitkisinde aynı şeyi denemişlerdir (Auge vd., 1995). 1960 yılında Morel virüssüz bitki elde etmek amacıyla orkidelerde meristem kültürü yapmıştır. 1964 yılında ise Guha ve Maheswari tarafından anter kültürü ile ilk haploid bitki elde edilmiştir (Gönülşen, 1987).

Genetikçilerin doku kültürü tekniklerinden; seçilen genotiplerin değerlendirilmesinde, hızlı büyüyen fertlerin ortaya çıkarılmasında, soğuğa, kuraklığa, hastalıklara, tuzluluğa ve herbisitlere dayanıklı bireylerin seçilmesinde etkin bir şekilde yararlanacakları düşünülmektedir. Bunun sonucunda bu tür bireyleri ağaçlandırma çalışmalarında kullanmak suretiyle hektardaki artım büyük ölçüde artacaktır (Kaya, 1988).

Doku kültürü tekniklerinin ıslah çalışmalarının gerçekleştirilmesinde sağladığı avantajlar aşağıda sıralanmaktadır.

- Kısa sürede üretim yapılabilmesi
- Virüssüz bitki elde etme olanağı
- Vejetasyon peryoduna bağlı kalmaksızın tüm yıl üretim yapılabilmesi
- Genetik çeşitliliğin sağlanması (soğuk saklama ve dondurarak saklama)
- Sınırsız üretim olanağı
- Az alanda çok sayıda fidan elde edebilmesi
- Dayanıklılık için in vitro'da erken seleksiyon
- Somatik embriyo oluşumu ve yapay tohum üretimi
- Gen transferi yapılabilmesi
- Poliploid birey elde edilebilmesi
- Haploid birey elde edilebilmesi
- Protoplast kültürü ile in vitro'da somatik hibridizasyon yapılabilmesi
- Çelikle üretimi zor olan türlerin üretilebilmesi

- Tohumunda çimlenme engeli bulunan veya tohumunun saklanması güç olan türlerin üretilebilmesi
- Bilimsel çalışmalarda çok çabuk veri elde edilebilmesi
- Genetik materyali nadir bulunan türlerin koruma programına alınmasına yardımcı olması
- Bitkilerin başka ülkelere gönderilmesinde az yer tutması ve karantina kapsamı dışında olması (steril ortamda olmasından dolayı) nedeniyle tercih edilir (Şimşek, 1989; McDonald, 1999).

Son zamanlarda doku kültürü çalışmaları odunsu bitkilere yönelmiştir. Bu çalışmalar; daha iyi odun veren üstün nitelikli, hastalıklara karşı dayanıklı orman ağaçlarının elde edilmesi amacıyla önemlidir. Bu tip çalışmalar daha çok gelişmekte olan ülkelerde yeniden ormanlaştırma amacıyla uygulanmaktadır. Dünya üzerinde büyük bir hızla gelişen ve çeşitli alanlarda uygulamaları olan bu tekniğe karşı duyulan ilgi ülkemizde de son yıllarda artmıştır (Gönülşen, 1987). Yurdumuzda orman ağaçlarının doku kültürü ile üretimine yönelik temel araştırmalar yeni olmakla birlikte giderek artmaktadır. Üçler (1994), önemli orman ağacı türlerimizden olan Titrek kavak ve Kafkas ıhlamurunun in vitro koşullarda organ ve embriyo kültürü teknikleri ile üretilebilme olanaklarını araştırmıştır. Ülkemizdeki orman ağaçları ile ilgili diğer çalışmalarda Genç (1999) *Liquidambar orientalis* (Anadolu sığlaağacı)'in doku kültürü ile üretilmesini araştırmıştır. *Pinus nigra* subsp. *pallasiana*'nın in vitro üretimini çalışan Gökçe (1993) ve *Betula medwediewii* ile *Zelkova carpinifolia* subsp. *yomraensis* ile yine doku kültürü tekniklerini deneyen Hangişi (1998) diğer örnekler olarak verilebilir.

Son 30 yıl içerisinde önemli gelişmeler kaydeden doku kültürlü çoğaltma metotları odunsu bitkilerin çoğaltılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu da ana bitki materyaline benzeyen çok sayıda yeni bitkiciğin kısa sürede çoğaltılmasına imkan tanımaktadır (Çetiner, 1992).

Meşeler kıymetli yapacak ve yakacak odun veren ağaçlardır. Odunlarından başta fiçi yapımı, içki sanayi, soyma sanayi, kaplamacılık, mobilyacılık, gemi inşaatı, parke sanayi gibi çok geniş alanlarda yararlanılmaktadır (Anşin, Özkan, 1993). Kıymetli odunları dışında iyi bir hayvan yemi olan meyve ve yaprakları; tanence zengin kabuk ve meyve kadehleri diğer özelliklerindedir. Tür zenginliği, kapladığı alan, odunu ve yan ürünlerinin kullanım çeşitliliği bakımından ülkemiz için çok değerli olan meşelerin yetiştirilmesinin önemi büyüktür (Yaltırık, 1984).

Kuzey yarımkürenin çeşitli bölgelerine dağılmış olan yaklaşık 450 meşe türü bulunmaktadır (Kasaplıgil, 1992). Ülkemizde doğal olarak bulunan meşe taksonu sayısı 20'nin üzerindedir (Anşin, Özkan, 1993). Step dahil Türkiye'nin hemen her tarafında bir veya birkaç taksonuna rastlanan, çok geniş alanlarda saf veya karışık ormanlar kuran meşe, Türkiye ormancılığının üzerinde durması gereken bir türdür (Kayacık, 1985).

Ülkemizde; 1999 yılı sonu itibarı ile 20.7 milyon ha orman alanlarımızın 6.088.379 ha'ı meşe orman alanlarını oluşturmaktadır.(Anonim, 2000).

Meşe türleri içerisinde çalışmamıza konu olan *Quercus hartwissiana* (Istranca meşesi), 25 m'ye kadar boylanabilen, düzgün gövdeli dar tepeli birinci sınıf orman ağacıdır. Meyve açısından saplı meşeye, yaprak bakımından da sapsız meşeye benzemektedir (Anşin, Özkan, 1993). Genel yayılışını Bulgaristan Istrancaları, Türkiye ve Batı Kafkasya'da yapmaktadır. Ülkemizde ise; Trakya, Batı ve Doğu Karadeniz ve çok lokal olarak Erzurum ve Tunceli'de yayılış göstermektedir (Özer, Bul,1998).

Yurdumuzda ormanlarda karışım yapan ağaç türleri içerisinde genelde yavaş büyüyen meşe türleri arasında *Quercus hartwissiana* daha hızlı büyümesi ile dikkati çekmektedir. Sınırlı ve dar bir yayılış alanında bulunması nedeniyle bu tür üzerinde yeterli araştırma yapılmamıştır (Ertaş, 1996). Ekonomik önemi yüksek olan bu türün bir ıslah programına alınması, kitle halinde üretilerek yaygınlaştırılması gerekmektedir.

Çalışılan bu türün kitlesel üretim için generatif ve vejetatif üretim yöntemleri incelenerek en uygununun seçilmesi gerekmektedir. Meşe tohumlarında önemli bir çimlenme engelinin olmaması (Beşkök, 1956) yanında sonbaharda toplanan tohumların hemen ekilmesi ya da ilkbahara kadar 0-5°C'de 2-3 ay kumda soğuk – ıslak katlamaya alınması gerektiği ifade edilmektedir (Ürgeç, 1986). Istranca meşesi palamutlarının uzun süre saklanmalarının da fidan oluşumunu azalttığı ve bu oranın % 10'a indiği belirtilmiştir (Ertaş, 1996).

Bol tohum yıllarının çok seyrek olması, tohumlarının uzun süre saklanma sorunlarının olması (Aslan, 1988, Tolay, 1987, Şimşek, 1996) ve generatif çoğaltma yönteminde yeni bitkilerin ana bitkiden farklı özelliklere sahip olması nedeniyle bu yöntem ıslah programında kitlesel üretime uygun görülmemektedir (Ürgeç, 1992). Meşe türlerinin vejetatif üretme çalışmalarında çeliklerin köklenmelerinde bazı sorunlarla karşılaşmakta (Ürgeç,1992) ve bu yöntem de kitlesel üretim için pek pratik olmamaktadır. Islah edilmiş kaliteli tohumlardan üretim ve doku kültürü ile çoğaltma çok

önemlidir. Doku kültürü teknikleri ile istenilen üstün bireylerden, vejetasyon dönemine bağlı kalmadan, sınırsız sayıda ve kısa sürede üretim yapılabilir.

Sonuç olarak bu çalışmada, ekonomik değeri yüksek, önemli orman ağaç türlerimizden olan Istranca meşesi ile ilgili yeterli araştırmaların yapılmaması ve özellikle çoğaltma yöntemlerinin ortaya biran önce konulabilmesi amacıyla, günümüzde önemi artmakta olan doku kültürü yöntemlerinden yararlanılarak; bu türün in vitro koşullarda, tomurcuk kültürü ile zamana bağlı kalmaksızın daha hızlı ve daha seri üretim sisteminin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

1.2. Literatür Özeti

Seckinger vd. (1978), 2 ile 4 aylık *Quercus rubra* fideciklerinin internodal gövde segmentlerini BA (0, 0.01, 0.1, 1 ve 5 mg/l) ve NAA (0, 0.1, 1.3, 5 ve 10 mg/l)'nın farklı konsantrasyonlarında kültüre almışlardır. Bazı kültürlerde kallus oluşumunun gerçekleştiği ve bunun alt kültürlerde arttığını rapor etmişlerdir. Kök oluşumunun ise ortama 1-5mg/l IBA ilavesi sonucunda gerçekleştiği ifade edilmiştir.

Chalupa (1984), *Quercus robur* ve *Quercus petraea* ile ilgili yaptığı çalışmada in vitro koşullarda koltuk tomurcuğu ve sürgün ucu kültürü denemiştir. Araştırmacı temel besin ortamı olarak BTM ve WPM ortamlarında düşük sitokin konsantrasyonlarını kullanmıştır. En iyi sürgün gelişiminin 0.4 – 0.6 mg/l BA ilaveli ortamlarda ve genç fidanlarda daha yüksek oranda gerçekleştiğini belirtmiştir. Genç fidanlardan elde edilen mikro çeliklerin 0.3 mg/l IBA ve 0.1 mg/l NAA ilaveli ½ GD ve ½ WPM ortamlarında köklendiği ortaya konulmuştur. Köklenme yüzdesinin ise klonlara bağlı olarak farklılık gösterdiğini ancak genç bireylerin yaşlı bireylere göre daha yüksek köklenme yüzdesine sahip olduğunu ifade etmiştir.

Chalupa (1984), *Quercus robur*'un 2 aylık ve 1 yaşındaki bireylerinin koltuk tomurcuklarını 0.2 ve 1.0 mg/l BA içeren ortamlarda kültüre alarak hızlı çoğaltılmasını sağlamıştır. Daha sonra araştırmacı sürgün oluşumu ve çoğalması için kinetinin etkilerini incelemiş ve bu etkinin çok düşük olduğunu belirtmiştir. Uzunlukları 2-4 cm olan mikro sürgünleri 0.3 mg/l IBA ve 0.1 mg/l NAA ilaveli ortamlarda köklenmeye almış ve köklenme oranı % 70-95 olarak elde edilmiştir.

San-Jose vd. (1985), genç ve yaşlı *Quercus robur* ve *Quercus rubra* ağaçlarından alınan eksplantları in vitro'da sürgün kültürü ile çoğaltmaya çalışmışlardır. Birçok temel besin ortamı denenmiş ve *Quercus robur* için en iyi ortamın 0.1 ya da 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamı olduğu ifade edilmiştir.

Vieitez vd. (1985), genç ve yaşlı *Quercus robur* ağaçlarından aldıkları materyalleri kullanarak in vitro koşullarda sürgün kültürleri kurmuşlardır. Eksplant kaynağı olarak 3 – 4 aylık fidecik sürgünleri ve kütük sürgünlerinden yararlanıldığı belirtilmiştir. Temel besin ortamı olarak BM, Heller, Lepoivre, GD ve MS ortamlarının denendiği fakat en tatminkar etkiyi Heller ortamına ekli 1mM (NH₄)₂SO₄ ve GD ortamının gösterdiği ortaya konulmuştur. Ortama ilave edilen BA'nın 1 mg/l dozunun büyüme safhasında; 0.1 mg/l dozunun ise çoğaltma safhasında iyi sonuç verdiğini belirtmişlerdir. Köklenme aşamasında in vitro'da elde edilen sürgünlerin dip kısımlarının IBA'in konsantre solüsyonlarına batırılarak köklendirme ortamına alındıkları belirtilmiştir. Köklenme oranının genç bireylerde % 83, yaşlı bireylerde ise % 63 olduğu ortaya konulmuştur.

İspanya'da *Quercus robur* ile ilgili San-Jose (1986) bir çalışma yapmıştır. Araştırmacı in vitro koşullarda *Quercus robur*'u çoğaltırken iki farklı faktörü etkisini incelemiştir. Bu faktörler; alınan eksplantın yeri ve kullanılan test tüpünün boyutudur. Nodal ve alt parçaların üst parçalardan daha iyi sonuç verdiği ve test tüplerinden ise 30 X 150 mm büyüklüğün en iyi sonucu verdiği ifade edilmiştir.

Ide, Yamamoto (1986), *Quercus acutissima*'nın genç fideciklerinin koltuk tomurcuklarından in vitro'da bitki gelişimini incelemişlerdir. Başlangıç materyali olarak fideciklerin nodal segmentlerini kullanmışlardır. 3 dakika alkol ve 15 dakika hidrojen peroksit kullanılarak yüzeysel sterilizasyon yapılmasına karşın bulaşmanın çok olduğu ifade edilmiştir. Denemelerde IS (Ide and Saito) temel besin ortamına eklenen dört farklı BA (0, 0.4, 0.8 ve 1.2 mg/l) dozunun kullanıldığı ve en iyi sürgün çoğalmasının 0.4 mg/l BA dozunda gerçekleştiği belirtilmiştir. Ayrıca köklendirme ortamına aktarılan sürgünlerde kök gelişiminin de meydana geldiği ortaya konulmuştur.

Ide, Yamamoto (1987), genç *Quercus acutissima* fidanlarının in vitro'da çoğaltılmasında bitki hormonları ve gümüş iyonlarının etkilerini incelemişlerdir. En iyi sürgün çoğalmasının 0.8 mg/l BA ilaveli IS (Ide and Saito) ortamında gerçekleştiği belirtilmiştir. Eksplantların dip kısımlarını 1 mg/l gümüş nitrat (AgNO₃) solüsyonunda 3 saniye bekletme işleminden sonra yapraklarda hızlı gelişmeler olduğunun farkına varıldığı ortaya konulmuştur. Köklenme için 0.5 mg/l IBA ve 0.0002 mg/l NAA ilaveli ortamlara

aktarılan mikrosürgünlerde % 82 köklenme oranının gerçekleştiği ifade edilmiştir. Köklenmenin, mikrosürgünler köklendirme ortamına alınmadan önce 5 saniye STS (gümüş thiosulfat)'a batırılmasının ardından gerçekleştiği belirtilmiştir.

Ide, Yamamoto (1987), in vitro koşullarda genç *Quercus serrata* fideciklerine ait eksplantların gelişimi üzerine, bitki hormonları ve gümüş iyonlarının etkilerini incelemiştir. 2 aylık fideciklerden izole edilen koltuk tomurcuklar içeren kısa nodal parçalar materyal olarak kullanılmıştır. Yüzeysel sterilizasyonu için eksplantların dip kısımlarını 1g gümüş nitrat (AgNO₃) solüsyonunda 3 saniye bekletme işleminden sonra farklı BA dozları ilaveli ya da BA içermeyen IS (Ide and Saito) ortamında kültüre alınma işleminin yapıldığı ve BA'nın sürgün büyümesini etkilediği ifade edilmiştir. Beş hafta sonra mikrosürgünler köklendirme ortamına alınmadan önce 5 saniye STS (gümüş thiosulfat)'a batırıldığı, ardından uyarlanmış IS ortamında köklenmeye alındığı ve köklendirme ortamına alındıktan yedi hafta sonra % 44.4 oranında köklenme gerçekleştiği ortaya konulmuştur.

Almanya'da *Quercus robur* ve *Quercus petraea* ile yapılan bir çalışmada Meier-Dinkel (1987), 10 aylık fidecikler ile 25-55 yaş arasında 4 klon üzerinde çalışmıştır. 0.5 mg/l BA ilaveli GD ortamında sürgün uçlarını kültüre almıştır. Araştırma sonuçlarına göre çoğalma oranının genotipe bağlı olarak değiştiği ifade edilmektedir. 10000'in üzerinde mikrosürgün elde edilerek kurulan köklendirme denemelerinde ortalama köklenme oranı %57 olarak tespit edilmiş ve bunlardan 2000 tanesi serada toprağa transfer edilmiştir.

İtalya'da Deidda vd. (1988) tarafından yapılan çalışmada *Quercus suber* fidanlarından in vitro'da bitkicik gelişimi incelenmiştir. Sürgün oluşumu ve kök gelişimi için Durzan ortamının kullanıldığı çalışmada başlangıç eksplantları ve alt kültürler 2.25 mg/l BA ilaveli ortamlara, üç alt kültürden sonraki alt kültürler ise 0.5mg/l BA ilaveli ortamlara alınmışlardır. Köklenme çalışmalarında ise 2 cm'lik sürgünler 1 mg/l IBA ve 0.01 mg/l NAA ilaveli ½ yoğunluktaki Durzan ortamında kültüre alınmışlardır. 10 gün sonra köklenmenin gözlemlendiği ve toplam köklenme oranının %70 olduğu belirtilmiştir.

Jørgensen (1988), *Quercus petraea* ve *Fagus sylvatica*'nın çiçekli dallarından eksplant olarak anter kültürü çalışmıştır. Farklı sitokinin ve oksin miktarları içeren kültür ortamlarında anter eksplantları kültüre alınmışlardır. Kültüre alınma işleminden iki ay sonra meşede embriyonik kallus ve kayında ise bir embriyo gelişmiştir. Kallus ve embriyo oluşturan meşelerin hızlı büyüme ile kendi kendilerine tekrar çoğaldıkları ancak kayın embriyolarının enfeksiyondan öldüğü tespit edilmiştir.

San-Jose vd. (1988), in vitro koşullarda *Quercus robur*'un üretimini etkileyen faktörleri araştırmışlardır. Genç ve yaşlı ağaçlardan oluşan 5 klonu 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamında kültüre almışlardır. Sürgün oluşumuna hem klonların hem de eksplant tipinin etkisi olduğu belirtilmiştir. Çoğalma oranının ikinci alt kültürde arttığı ancak üçüncü ve dördüncü alt kültürlerde azaldığı, likit ortamların ise diğer ortamlara göre sürgün gelişimini daha olumsuz etkilediği belirtilmiştir. Köklenmenin 0.1 ve 1 mg/l IBA ilaveli likit ortamlarda arttığı ifade edilmiştir.

Quercus petraea'nın 2 ve 5 aylık fidecikleri ile 55 yaşındaki bir ağacının doku kültürü teknikleri ile klonal üretilmesine çalışıldığı San-Jose vd. (1988)'nin yaptıkları bir çalışmada; beş farklı besin ortamı (GD, H, SH, Gupta ve Durzan) ve eksplant kaynağı olarak sürgün ucu, bazal ve nodal yan sürgünler kullanılmıştır. En iyi ortamın GD ortamı olduğu ifade edilmiştir. Eksplant tipinin çoğalma oranları üzerinde önemli bir etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir. Sürgün oluşumu için ortama 0.2 mg/l BA ilavesinin en etkili işlem olduğu ortaya konulmuştur. Ayrıca araştırmacılar köklenme için ½ yoğunluktaki GD ortamında; genç bireyleri 6 dakika 0.5 mg/l IBA solüsyonunda, yaşlı bireyleri 2 dakika 1 mg/l IBA solüsyonunda beklettikten sonra hormonsuz ortama aktarmışlardır. Köklenme yüzdesinin yaşlı materyallerde % 39; genç materyallerde ise % 57 – 100 arasında olduğunu gözlenmiştir.

Johnson (1989), *Quercus lobata*'nın koltuk tomurcuklarından sürgün çoğalması gerçekleştirmeye çalışmıştır. Bu amaçla BTM, GD ve WPM temel besin ortamlarını kullandığını ifade eden araştırmacı, bitki büyüme düzenleyicilerden BA'nın farklı konsantrasyonlarını denemiştir. En iyi sonucu GD ve BTM ortamlarının verdiği çalışma sonucunda rapor etmiştir.

Volkaert vd. (1990) yaptıkları bir araştırmada, genç *Quercus robur* fidanlarının in vitro'da karbon ilaveli WPM ortamında sürgün gelişim oranlarının sürgün ucu eksplantlarında, nodal eksplantlardan daha yavaş olduğunu rapor etmişlerdir. Maksimum köklenmenin ½ yoğunluktaki WPM ortamına aktif karbon ilavesinde gerçekleştiği ve eksplant kaynağının kök gelişimini etkilemediğini ifade etmişlerdir.

Volkaert (1990), *Quercus robur* fidanlarının in vitro ortamında çoğaltılmasında eksplant kaynağının etkisini araştırmıştır. Gelişim dönemleri olarak; yeni büyümeye başlamış, büyüme döneminde, büyüme döneminin sonlarında, duraklama dönemine girmek üzere ve duraklama döneminde olmak üzere 5 büyüme dönemi ile ağaç üzerindeki konumları olarak; 3-4 yaprak ve koltuk tomurcuk içeren sürgün ucu, bir yaprak ve koltuk

tomurcuk içeren nodal segment, yaprak içermeyen ikinci nodal segment ve 2-3 koltuk tomurcuk içeren yapraksız alt segment olmak üzere toplam 9 adet etken üzerinde çalışılmıştır.

Pevalek (1991), *Q. robur*'un klonal üretimi ile ilgili yaptığı çalışmada materyallerini fidan ve genç ağaçlardan almıştır. Nodal segmentleri eksplant olarak kullanmıştır. En iyi sürgün gelişiminin düşük sitokinin içeren (0.9 mg/l BA) GD ortamında gerçekleştiğini ifade etmiştir. Köklenmenin ise ½ yoğunluktaki GD ortamına düşük şeker konsantrasyonu (20 g/l), NaFeEDTA (30 mg/l) ve IBA (1.5 mg/l) eklenmesiyle meydana geldiğini ve köklenme üzerine genotipin etkisinin olduğunu belirtmiştir.

Sanchez-Fernandez (1991), yaşlı meşe ve kestane materyallerinin in vitro'da gençleştirilmesi üzerine doktora çalışması yapmıştır. Çalışma sonucunda genellikle aynı ağaca ait kök sürgünü ve kütük sürgünleri, yüksekteki dallardan alınan materyallerden daha iyi çoğalma gerçekleştirmiştir.

Ballester, Meier-Dinkel (1992), değişik ülkelerdeki laboratuvarlarda ortak olarak yapılan çalışmaların sonucunda 0.5 mg/l BA ilaveli GD ortamında elde edilen meşe sürgünlerinin IBA solüsyonuna batırıldıktan sonra hormonsuz ortamlarda kültüre alındıklarında daha iyi köklenmenin meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Yaşlı bireylerden alınan sürgünlerin köklenme oranlarının da çok zayıf olduğu ifade edilmiştir.

Curculio robustus larvalarına karşı rezistant olan *Quercus acutissima* tohumlarının doku kültüründe en iyi kallus oluşumunun 5.37×10^{-6} M NAA ve 4.43×10^{-6} M BA içeren ortamlarda gerçekleştiği Honma vd. (1992) tarafından ortaya konulmuştur. Epikotil parçalarından sürgün farklılaşması ve alt kültür gelişimi için en iyi ortamın 4.43×10^{-6} M BA ilaveli ortam olduğu belirtilmiştir. Kültürden 40 gün sonra ortalama sürgün sayısının 8.2 ve sürgün uzunluğunun 20 mm olduğu belirtilmiştir.

Romano vd. (1992), *Quercus suber*'in yan ve terminal tomurcuklarının in vitro koşullarda gelişimine bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla düşük tuz konsantrasyonuna sahip GD ve WPM temel besin ortamlarını kullanarak denemeler yapmışlardır. Bitki büyüme düzenleyicilerden BA, Z, IBA, IAA ve NAA ve bunların farklı kombinasyonlarını denemişlerdir. Çoğaltma ortamında en iyi sonucun 1 mg/l BA ilaveli GD ortamında gerçekleştiği ve en iyi kök gelişiminin ise IBA içeren ortamlarda meydana geldiği ortaya konulmuştur.

Vieitez vd. (1992), *Quercus rubra*'nın yaşlı ve genç bireylerinden sürgün kültürü oluşturmuşlardır. Araştırmacılar gövdenin orta kısımlarından alınan eksplantların tepe

dallardan alınanlardan daha yüksek çoğalma kapasitesine sahip olduklarını tespit etmişlerdir. En yüksek sürgün gelişiminin yatay sürgünlerin uç kısmı kesilerek yapılan kültürlerde ve 0.2mg/l BA içeren WPM ortamında gerçekleştiği belirtilmiştir. Tepenin kesilmesi, yatay sürgünlerin kullanılması ve sitokinin ilavesinin sürgün verimini artıran üç faktör olduğunu ifade etmişlerdir. Genotip ve yaştan sürgün çoğalma performansını etkilediğini belirtmişlerdir. Kök oluşumu için ortama IBA ilavesinin köklenmeyi azalttığı fakat IBA'e batırma işleminin köklenmeyi artırdığı ve bu işlemten sonra 7 gün karanlıkta bekletmenin de olumlu sonuç verdiği araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur.

Chalupa (1993) ise, *Quercus robur* ve *Quercus petraea*'nın koltuk sürgünlerinin çoğaltılmasında düşük tuz konsantrasyonuna sahip WPM ve BTM temel besin ortamlarının ve bitki büyüme düzenleyicilerden BA ve BPA'nın düşük konsantrasyonlarının kullandığını belirtmiştir. Genç bireylerin köklenme kapasitelerinin yaşlı bireylere göre daha yüksek olduğunu tespit etmiştir.

Evers vd. (1993), 100 yaşın üzerindeki *Quercus robur* ağaçlarının fizyolojik gençleştirilmesi üzerine yaptıkları çalışmada 30 cm uzunluğundaki dal parçalarından yararlanmışlardır. Özellikle köklenmenin gençlik karakteristikleri taşıyan bireylerde daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Gebhardt vd. (1993), *Quercus robur* ve *Quercus petraea* materyallerinin uzun süreli saklanmasında büyümeyi yavaşlatmak amacıyla alt kültürlerde 15, 10 ve 4°C gibi farklı sıcaklıklar denediklerini ifade etmişlerdir. Bu çalışmalarda temel besin ortamı olarak WPM ve GD ortamlarından yararlandıklarını ve 1200 günlük bir çalışma ile farklı genotip ve farklı pozisyonlardan alınan eksplantları kullandıklarını rapor etmişlerdir.

Meier-Dinkel vd. (1993), seçilen on bir adet *Quercus robur* ağaçlarının yeşil palamutlarını eksplant olarak kullanmışlardır. 60 adet palamuttan sürgün oluşturacak 45 klon tespit etmişlerdir. Sekiz ay içerisinde bir anne ağaçtan 490 adet mikroçelik, geri kalan 10 ağaçtan ise klon başına 11-188 adet mikroçelik ürettiklerini ve elde ettikleri bu mikroçelikleri daha sonra 5 mg/l IBA veya 1 mg/l IAA ile muamele ettikten sonra in vitro dışında köklendirdiklerini rapor etmişlerdir.

Meier-Dinkel vd. (1993), *Quercus robur* ve *Quercus petraea*'nın in vitro koşullarda çoğaltılması ve gelişimi üzerine çalışmışlardır. Genç ve yaşlı bireyler üzerinde incelemeler yaparak orman gen kaynaklarını koruma stratejilerini araştırmışlardır.

Schwarz, Schlarbaum (1993), *Quercus alba* ve *Quercus rubra*'ya ait tomurcuk ve embriyo eksplantlarının in vitro'da bitkicik gelişimini incelemişlerdir. En yüksek sürgün

çoğalmasının BA'nın tek başına ya da düşük dozlarda NAA ilaveli ortamlarda gerçekleştiği ifade edilmiştir.

Juncker, Favre (1994), genç ve yaşlı *Quercus robur* materyalleri kullanarak sürgün ucu ve nodal eksplantlardan in vitro'da kültür oluşturmaya çalışmışlardır. Yaşlı ve genç bireyler ile sürgün ucu ve nodal eksplantların gelişiminin incelendiğini, sürgün oluşumu için birçok temel besin ortamı ve birçok bitki büyüme düzenleyicilerden faydalandığı belirtilmiştir.

Quercus suber kültürlerinin in vitro koşullarda saklanması araştıran Romano, Louçao (1994), bu konuda iki yöntem tanımlamışlardır. Birinci metodun *Quercus suber* kültürleri bir yıl boyunca standart in vitro koşullar altında saklanarak, her ay çoğaltma kapasitelerini kaybetmeden taze ortamlara aktarılma şekli olduğu belirtilmiştir. Ancak bu metod pahalı ve laboratuarda yoğun bir çalışma gerektirmektedir. Diğer metodun ise alt kültürler ortaya çıkmadan in vitro'da saklamak olduğu ifade edilmiştir. Kültürler +5 °C'de 1 yıl karanlıkta standart koşullarda kültüre alındıklarında yeniden üretim kapasitelerini kaybetmeden saklanabildikleri belirtilmiştir. Karanlıkta saklanan kültürlerin köklenme kapasitelerinin ise depolanmayan kontrollerle benzer sonucu verdiği tespit edilmiştir.

Altı adet yaşlı *Quercus robur* klonlarından alınan eksplantların in vitro koşullarda köklendirilmesini Sanchez (1994) araştırmıştır. Sürgün çoğaltılması aşamasında sürgünlerin horizontal yerleştirilmesinin daha etkili olduğu belirlenmiştir. Köklenme aşamasında ise en erken kök oluşumu beş gün karanlık ortamda bekletilen 3 mg/l IBA ilaveli ortamda 7 gün işlem gördükten sonra hormonsuz ortama aktarılan eksplantlarda görülmüştür. Ancak karanlığın sürgün nekrozlarına neden olduğu ve yeni üretilen bitkilerin yaşamasını negatif etkilediği ifade edilmiştir. Alternatif olarak 5-50 mg/l IBA ilaveli ortamda mikro sürgünlerin aktif kömür ilaveli ve ilavesiz olarak 24 saat bekletildikten sonra hormonsuz ortamlara aktarıldıkları belirtilmiştir. En iyi sonucun ise aktif karbon ilaveli ortamda gerçekleştiği ortaya konulmuştur.

Toth vd. (1994), meşe eksplantlarında in vitro'da oluşan kararmaları azaltmak için bazı kimyasal ön işlemler denemişlerdir. Bu işlemlerin; polyvinyl, pyrolidone (polyvidone), askorbik asit, cysteine ve sitrik asit solüsyonları olduğu ve en iyi sonucu askorbik asit (10 mg/l)'in verdiği belirtilmiştir.

Vieitez vd. (1994), fizyolojik genç karakterleri kaybolmakta olan yaşlı *Quercus robur* ağaçlarının mikro üretim yöntemi ile yeniden aktif duruma gelmesini amaçlamışlardır. 70 – 300 yaşındaki ağaçlardan yan dallar alınarak eksplant olarak

kullanılmıştır. Eksplantlar yatay ve dikey olarak yerleştirilmiş, dikey yerleştirilen eksplantların çoğalma kapasitesinin birinci kültürden sonra düştüğünü buna karşın yatay olarak yerleştirilen eksplantların iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. En iyi çoğalmanın 0.89 mg/l BA ilaveli GD ortamına yatay olarak yerleştirilen eksplantlarda gerçekleştiğini ve iki haftalık kısa alt kültür dönemleri ile çok yüksek çoğalma oranına sahip olduklarını ifade etmişlerdir. 5 günlük karanlık periyot sonunda köklenme kapasitesinin arttığını ve bu oranın klonlara bağlı olarak % 15 - % 46 arasında olduğunu belirtmişlerdir.

Zago, Gorian (1994), *Quercus robur*'un doku kültürü ile üretiminde, genç materyallerin kullanılmasının uygulanan hormonlara karşı daha iyi cevap verdiğini ve daha düşük mantar enfeksiyonuna sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Belaizi, Boxus (1995), yaptıkları çalışmada in vitro koşullarda *Quercus suber*'in sürgün çoğalmasında farklı karbonhidratların etkisini araştırmışlardır. Glikoz, sakkaroz, hidrolize sukroz, fruktoz, sorbitol ve galaktoz'un karşılıklı etkilerini incelemişlerdir. Her bir karbonhidrattan 15 ve 30 g/l oranında kullanmışlardır. Sürgün kalitesi ve sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu 30 g/l oranında kullanılan glikoz'un verdiği ifade edilmiştir. 30 g/l oranında glikoz, sakkaroz ve hidrolize sukroz içeren ortamlarda sürgün ucu ve nodal eksplantların fruktoz içeren ortamlara göre daha fazla ve uzun sürgün verdiği belirtilmiştir.

Collin, Badot (1995), *Quercus rubra* fidanlarının doku kültürü yöntemleri ile üretilmesinde eksplantların tepe kısımlarında bazı nekrozlar oluştuğunu belirtmişlerdir. Bu nekrozların büyüme ortamındaki farklı mineral besinler, ortamın pH'sı ve değişen bitki su miktarı ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Dujickova, Mala (1995), Geniş yapraklı orman ağaçlarının in vitro koşullarda yeniden üretimini araştırmışlardır. Orman ağaçlarından *Quercus petraea* ve *Fagus sylvatica*'ın somatik embriyo oluşumu metodunu tanımlamaya çalışmışlardır.

Janeiro vd. (1995), in vitro koşullarda meşe ve kestanenin düşük sıcaklıklarda saklanma olanaklarını araştırmışlardır. Bir yıl boyunca 3, 6, 9 ve 12 ay süreyle sürgün kültürlerinin 2°C'de bekletilmesinin eksplantların yaşama ve çoğalma kapasitelerine etkilerini incelemişlerdir.

Karbonhidratların in vitro üretimdeki rollerini ortaya koymak amacıyla Romano vd. (1995) *Quercus suber* üzerinde çalışmışlardır. Karbon kaynağı olarak fruktoz, glikoz, sorbitol ve sakkaroz kullanıldığı belirtilmiş ve bunların farklı konsantrasyonlarının (10-60 g/l) sürgün oluşumu ve köklenme safhalarında denendiği ifade edilmiştir. En büyük sürgün

sayısının glikoz ilaveli ortamda gerçekleştiği ortaya konulmuştur. 30 g/l'lik sakkarozun aynı derecede sürgün sayısını artırdığı halde sürgün uzunluğunu daha fazla artırması ve alt kültürlere alınırken daha fazla sayıda sürgün vermesi nedeniyle tercih edildiği bildirilmiştir. Sorbitol ve fruktozun ise sürgün oluşumunu etkilemediği ve köklenmeyi düşürdüğü tespit edilmiştir. En iyi köklenmeyi glikoz ve onu takiben sakkaroz ve filtre ile sterilize edilmiş fruktoz içeren ortamların gerçekleştirdiği belirlenmiştir. En yüksek yan kök sayısının ise glikoz ve sakkaroz içeren ortamlarda olduğu ifade edilmiştir. Araştırmacılar sonuç olarak sakkaroz (30 g/l) ve glikoz (40 g/l)'u en iyi karbon kaynağı olarak tespit etmişlerdir.

Simpson , Marks (1995), yine aynı konuda şekerin genç ve yaşlı *Quercus robur* sürgünlerine etkisi ile ilgili bir araştırma yapmışlardır. Farklı sakkaroz konsantrasyonlarının genç ve yaşlı *Quercus robur* eksplantlarının in vitro'da sürgün yaşama gücü ve köklenmesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Genç klonlarda sakkaroz konsantrasyonunun artırılmasının kök taslağı ve köklenme üzerine olumlu etki yaptığını, yaşlı klonlarda benzer davranışlar gözlemlendiği, ancak genç klonlarda daha iyi sonuç alındığını belirtmişlerdir.

Vieitez vd. (1995) çalışmalarında, *Quercus robur*'un iki orijininin köklenme kapasitelerini karşılaştırmışlardır. Sürgün oluşumu için GD ortamına 0.2 mg/l BA ilave edildiği belirtilmiştir. İn vitro'da oluşan mikro sürgünlerin 25 ve 15 mg/l IBA ilaveli ortamda 24 saat bekletildiği ve daha sonra hormonsuz 1/3 yoğunluktaki GD ortamına aktarıldığı ifade edilmiştir. Bir ay sonra köklenme yüzdeleri, kök sayıları ve kök uzunluklarının ölçüldüğü ve köklenme kapasitesinin iki türde de benzer çıktığı ortaya konulmuştur.

Vyapari (1995), yaptığı doktora çalışmasında *Quercus muehlenbergii*'nin nodal ve sürgün ucu eksplantlarının doku kültürü yöntemleri ile üretilmesi üzerinde araştırma yapmış, WPM ortamında sürgün çoğalmasının MS ortamından daha iyi olduğunu ayrıca 1.0 – 5.0 mg/l BA ya da kinetin ilavesinin 2,4 D ve NAA ilavesinden daha yüksek sayıda ve daha uzun sürgün verdiğini ifade etmiştir.

Yamada, Miyaura (1995), *Quercus acutissima*'nın in vitro'da fidecik gelişimi ile ilgili yaptıkları çalışmada, BTM (Broadleaved Tree Medium) ve WSM (Wolter ve Skoog Medium) kültür ortamları kullanılmıştır. Kök gelişiminin 0.2 mg/l IBA ve 0.05 mg/l NAA ilaveli ½ yoğunluktaki BTM ortamında gerçekleştiği ifade edilmiştir.

Almanya’da Araştırma ve Teknoloji Bakanlığı’nın girişimi ile 1987 yılında yedi araştırma enstitüsünün katılımı ile orman ağaçlarının doku kültürü ile üretilmeleri araştırılmıştır (Weisgerber, Gebhardt, 1995). *Quercus robur* ve *Quercus petraea*’nın başında bulunduğu bu türlerin in vitro koşullarda sürgün ucu kültürleri, somatik embriyo oluşumu, protoplast kültürü teknikleri ve bunların uzun süre saklanma olanakları araştırılmıştır.

Puigderrajolls vd. (1996), in vitro koşullarda *Quercus suber*’in ikinci embriyolarının gelişimini ve orijinleri inceledikleri bir çalışma yapmışlardır.

Sanchez vd (1996), yaşlı *Quercus robur* ve *Quercus rubra* ağaçlarının in vitro koşullarda köklenmesini araştırmışlardır. Beş günlük karanlık periyodun köklenmeyi artırdığını ancak fidan kalitesine zarar verdiğini ifade etmişlerdir. IBA’in konsantrasyonunun her iki türün köklenmesi için de önemli olduğunu, en iyi sonucun 25 mg/l IBA konsantrasyonunun bulunduğu ortamda 24 saat bekletildikten sonra 10 mg/l aktif karbon içeren hormonsuz ortamda kültüre alma işleminde gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. Aktif karbon içeren ortamlardaki köklenmenin karbonsuz ortamlardan daha iyi olduğunu, bunun nedeninin ise karbonun karartma işlemi yanında ortam ya da eksplant ile ilgili engelleri ortadan kaldırmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Başka bir doktora tezinde Vanquez-Janerio (1996), bazı ağaç türlerinin in vitro koşullarda soğuk saklama yöntemlerini araştırmıştır. Bu amaçla içlerinde meşenin de bulunduğu beş ağaç türünü farklı zamanlarda soğuk depolama işlemine tabi tutmuş ve bir yıl boyunca alt kültüre almadan eksplantların yaşama kabiliyetlerini koruyabilme özelliklerini ortaya koymaya çalışmıştır.

Pierik vd. (1997), genç ve yaşlı (30 yaş) *Quercus robur* ‘fastigiata’ eksplantlarının yan kök vermesini etkileyen faktörleri incelemişlerdir. Köklenmenin sadece genç ve sukkulent eksplantlarda gerçekleştiği ve yaşlı sürgünlerin uzun alt kültürlerinin köklenme göstermediği belirtilmiştir. Karanlıkta bırakmanın köklenme için esas önemi taşıdığı da vurgulanırken, köklenme ortamında IBA hormonundan yararlanıldığı ortaya konulmuştur.

Puddephat vd. (1997)’nin *Quercus robur* ile yaptıkları bir çalışmada; eksplant kaynağının, bitki büyüme düzenleyicilerinin ve kültür koşullarının in vitro’da sürgün oluşumu ve gelişimine etkisini araştırmışlardır. Nodal eksplantlardan yan tomurcukların gelişmesi için kültür ortamında BA (benziladenin)’nın farklı dozlarını denemişlerdir. En yüksek sayıda gövde oluşumunun 1.0 mg/l BA içeren ortamda 56. gün sonunda gerçekleştiğini ifade etmişlerdir. Sürgün gelişmesi ve çoğalmasını; nodal eksplantların

fidan üzerindeki yerinin, kültür ortamının sıcaklığının ve ışık koşullarının etkilediği belirtilmiştir. Ağacın üst ve yan bölgelerinden alınan eksplantlarda sürgün çoğalmasının en düşük degerde gerçekleştiğini ve birçoğunun da hareketsiz kaldığını ifade edilirken gövdenin ortasından alınan nodal eksplantlarda yan tomurcukların en yüksek çoğalmayı verdiği belirtilmiştir. Yüksek sıcaklığın ise sürgün boyutunu ve sürgün sayısını artırdığı ve kültürlerin çoğalmaya başlaması için 25°C kültür sıcaklığının olması gerektiğini ve yan sürgün gelişimini artırmak için 16 saat ya da daha fazla ışığa gereksinim olduğunu ifade etmişlerdir.

Mcgowran vd. (1998), genç ve yaşlı *Quercus robur* ve *Quercus petraea* eksplantlarının sürgün kültürlerindeki morfolojik ve fizyolojik farklılıkları incelemişlerdir. Eksplantların yatay olarak yerleştirilmesinin fidan ve kütük sürgünlerinde elde edildiğinde yaşlı ağaçlara göre daha iyi sonuç verdiği, eksplantlarda oluşan yaprak sayısı, sürgün uzunluğu ve çapının farklılık göstermediği ve eksplantlardaki sürgün sayısının fidan ve kütük sürgünlerinde yaşlı ağaçlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Polanya'nın önemli ağaç türlerinden olan meşelerin varolan popülasyonlarını ve genotiplerini korumak amacıyla Olszewska, Wesoly (1998) denemeler yapmışlardır. Araştırmacılar köklenmesi güç olan meşe sürgünlerinin in vitro tekniklerinden yararlanılarak üretilmesi üzerinde çalışmışlardır.

Quercus robur örneklerinin nod araları ve yaprak parçalarını Cuenca vd. (1999) somatik embriyo oluşumu için kullanmışlardır. Altı hafta sonra eksplantların 0.1 mg/l BA ve 0.1mg/l NAA ilaveli ortamlara aktarıldığı ve 4 hafta sonra bitki büyüme düzenleyicilerinin olmadığı ortamlarda alt kültüre alındıkları ifade edilmiştir.

Quercus robur'un sitokinin ilaveli sürgün çoğaltma ortamında elde edilen mikro sürgünlerin köklendirilmesi Puddephat vd. (1999) tarafından araştırılmıştır. Mikroçeliklerde kök oluşumunun, IBA ilaveli kök ortamında NAA ilaveli ortamdan daha yüksek olduğu belirtilmiştir. 1.0 mg/l IBA ilaveli ortamda 35 gün sonra köklenmenin %80 düzeyinde gerçekleştiği ifade edilmiştir. Düşük IBA konsantrasyonlarının köklenme oranını düşürdüğü, yüksek konsantrasyonların (3 mg/l) ise kök oluşumunu artırdığı fakat aynı zamanda kallus oluşumunu da teşvik ettiğini bu nedenle yüksek ve düşük IBA konsantrasyonlarının tercih edilmediğini belirtmişlerdir. Ayrıca 7 gün oksin ilaveli ortamda bekletildikten sonra hormonsuz ortama aktarılan mikrosürgünlerin köklenme oranının % 84 olduğu araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur.

Romano vd. (1999), doku kültürü yöntemini soğuk depolama amaçlı kullanarak *Quercus suber* eksplantlarını +5 °C'de iki yıl muhafaza etmişlerdir. Karanlık ortamda bekletilen bitkilerin % 50'sinin iki yıl sonunda yaşama kabiliyetini koruduğunu ancak ışığın bu depolama yönteminde negatif etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Sonuç olarak +5 °C'de in vitro koşullarda karanlık ortamda depolamanın daha iyi sonuç verdiğini ifade etmişlerdir.

Mala vd. (2000), *Quercus petraea*'nın olgunlaşmış tohumlarından yararlanarak somatik embriyo çalışmışlardır. Tohumlar kullanılmadan önce + 4 °C'de saklanmışlardır. WPM ortamı ile bunun uyarlanmış ortamları kullanılmıştır. Denemelerde koyu yeşil ve açık yeşil olmak üzere iki tip tohum kullanılmıştır. Koyu yeşil kotiledonlu embriyolarda fidecik gelişimi olmamasına karşın açık yeşil kotiledonlara sahip embriyolarda % 56 fidecik gelişiminin olduğu belirtilmiştir.

Kiraly, vd. (2001), genç *Quercus robur* bireylerinin mikro üretiminde en önemli sorunun eksplantların köklenmesi olduğunu belirterek bu konuda bir çalışma yapmışlardır. Genç bireylerden alınan eksplantlarda IBA konsantrasyonunun ve bitki büyüme düzenleyicilerinin muamelesinin köklenme yeteneği, peroksidaz seviyeleri ve fotosentetik aktivitesine etkisini araştırmışlardır.

Racchi vd. (2001), *Quercus robur*'un tohumlarından elde ettikleri fidanları 0.2 mg/l BA ilaveli WPM temel besin ortamında her ay alt kültüre almışlardır. Köklenme için ise 25 mm uzunluktaki mikrosürgünler 2 mg/l IBA ilaveli 1/3 yoğunluktaki WPM ortamında 1 ile 5 gün arasında bekletildikten sonra hormonsuz ortamlara aktarılmışlardır. En iyi kök oluşumunun 3 günlük IBA işleminde gerçekleştiği ortaya konulmuştur.

Meşelerin olgunlaşmış ve olgunlaşmamış embriyolarından yararlanılarak elde edilen kallus dokuları üzerinde somatik embriyo oluşumu ile bitki rejenerasyonu ile ilgili; Gonzalez – Benito vd. (1988), *Quercus suber* L. ve *Quercus ilex* L.'de; Manzanera (1992), *Quercus robur* L. 'da; Manzanera vd. (1993), *Quercus suber* L.'de; Kim vd. (1995), *Quercus acutissima*'da; Hünber vd. (1995), *Quercus robur* L.'da; Rancillac vd. (1996), *Quercus rubra* L.'da ; Endenman, Wilhelm (1999) *Quercus robur* L. 'da çalışmışlardır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal ve Yöntem

Araştırma kapsamında gerçekleştirilen tüm denemelerde *Quercus hartwissiana* Stev. palamutlarından elde edilen 4-5 aylık fidelikler eksplant olarak kullanılmıştır. Tohumlar, Trabzon – Yalıncağ mevkiinde bulunan 50 yaşındaki meşe ağacından toplanmıştır. Palamutların çimlendirilmesiyle oluşan fideliklerden alınan materyaller denemelerde kullanılmıştır.

2.1.1. Materyalin Alınması

Trabzon – Yalıncağ mevkiinde bulunan 50 yaşındaki *Quercus hartwissiana*'nın palamutları 1999 ve 2000 yılı Ekim ayında toplanmışlardır. Gonzalez - Benito vd. (1988)'nin uyguladığı yöntem uygun olarak mantar bulaşmasını engellemek için palamutların üzerlerine fungisit (Benlate 4 g/l) tatbik edilmiş ve Kasım ayına kadar +4 °C'de bekletilmişlerdir. Palamutlar Kasım ayında seraya ekilmiş ve elde edilen 4 - 5 aylık meşe fideleri doku kültürü çalışmalarında kullanılmaya hazır duruma gelmişlerdir. Her bir fideden, 1-2 tomurcuk içerecek şekilde 2 – 4 cm uzunluğunda parçalar kesilmiştir. Alınan bu eksplantlar aynı gün içerisinde doku kültürü çalışmalarında kullanılmıştır.

2.1.2. Besin Ortamının Belirlenmesi

Doku kültürü tekniklerinde en önemli faktörlerden bir tanesi, mineral madde ve vitaminlerden oluşan besin ortamlarıdır. Doku kültürü tekniklerinin başlamasıyla bir çok besiyeri denenmiş ve günümüze kadar birçok besin ortamı geliştirilmiştir. Bunlar bitkilerin türüne ve kültür çeşidine göre değişiklik göstermektedir. Meşelerin doku kültürlerinde genellikle GD (Greshoff ve Doy) (Chalupa 1984; San-Jose vd. 1985; Vieitez vd. 1985; Meier-Dinkel 1987; San-Jose vd. 1988; San-Jose vd. 1988; Pevalek 1991; Ballester, Meier Dinkel 1992; Vieitez vd. 1994; Vieitez vd. 1995) ve Llyod ve McCown tarafından geliştirilen WPM (Woody Plant Medium) (Chalupa 1984; Volkaert vd. 1990) ortamları

daha iyi sonuç verdiği belirtilmektedir. Bu araştırmada da WPM (Llyod, McCown, 1981) ve GD (Gresshoff, Doy, 1972) temel besin ortamları kullanılmıştır. Belirtilen temel besin ortamlarının içerikleri ve hazırlanışları Tablo 1 ve 2’de verilmiştir.

Tablo 1. GD ve WPM temel besin ortamlarının bileşimleri

Besin Maddeleri	GD Temel Besin Ortamı (mg/l)	WPM Temel Besin Ortamı (mg/l)
NH_4NO_3	--	400
KNO_3	1000	--
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250	370
KH_2PO_4	--	170
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	150	96
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	--	556
Na_2HPO_4	30	--
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	200	--
KCl	300	--
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	90	--
K_2SO_4	--	990
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3	8.6
H_3BO_3	3	6.2
KI	0.75	--
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1	22.3
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.25	0.25
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.25
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.25	--
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8	27.8
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	40	37.3
Nicotinik acid	0.1	0.5
Thiamin. HCl	1.0	0.1
Pyridoxin. HCl	0.1	0.5
Glycine	0.4	2.0
Myo-Inositol	100	100

Tablo 2. GD ve WPM temel besin ortamlarının hazırlanışı

Besin Maddeleri	GD Temel Besin Ortamı (mg/l)	WPM Temel Besin Ortamı (mg/l)
Makro stok		
NH ₄ NO ₃	--	400
KNO ₃	1000	370
MgSO ₄ .7H ₂ O	250	170
KH ₂ PO ₄	--	96
(NH ₄) ₂ SO ₄	200	--
Na ₂ HPO ₄	30	--
KCl	300	--
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	90	--
K ₂ SO ₄	--	990
CaCl ₂ .2H ₂ O	150	556
Mikro stok		
MnSO ₄ .4H ₂ O	1	22.5
ZnSO ₄ .7H ₂ O	3	8.6
H ₃ BO ₃	3	6.2
KI	0.75	--
Na ₂ MoO ₂ H ₂ O	0.25	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.25	0.025
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.25	0.025
Na-Fe EDTA Stok		
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8	27.8
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37.3	37.3
Vitamin Stok	GD vitamin s.	MS vitamin s.
Nicotinik acid	0.5	0.5
Thiamin. HCl	0.1	0.1
Pyridoxin. HCl	0.5	0.5
Glycine	2.0	2.0
Myo-Inositol	100	100

Çalışmada kullanılan besin ortamları daha önceden yapılmış olan stok eriyiklerden belirli miktarlarda alınarak hazırlanmıştır. 1 litre GD temel besin ortamı için Makro I stoktan 100 ml, Mikro II stoktan 10 ml, Na-Fe-EDTA stoktan 100 ml, GD vitamin stoktan 10 ml, Myo-Inositol'den 100 mg alınmıştır. 1 litre WPM temel besin ortamı için, Makro I stoktan 100 ml, Makro II stoktan 100 ml, Mikro III stoktan 10 ml, Mikro IV stoktan 10 ml, Na-Fe-EDTA stoktan 100 ml, MS vitamin stoktan 10 ml, Myo-Inositol'den 100 mg alınmıştır. Bir litre besiyeri hazırlamak için her iki ortamda istenilen miktarda sakkaroz ve bitki büyüme düzenleyicileri ilave edilerek destile su ile hacmi bir litre olacak şekilde tamamlanmıştır. Besiyeri daha sonra çalkalayıcı üzerine konulup manyetik karıştırıcı ile karıştırılmış ve pH'sı 0.1N NaOH ve 0.1N HCl ilavesiyle 5.7'ye ayarlanmıştır. pH'sı ayarlanan ortamlara en son olarak agar ilave edilmiştir. Agarın tamamen ortama karışıp erimesi için ortam berrak renk alıncaya kadar manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak ısıtıcı üzerinde kaynatılmıştır. Kaynama işleminden sonra ortam soğuyup katılaşmadan önce kullanılacak bitki materyalinin özelliğine göre 15 x 150 mm'lik kültür tüplerine ya da, 60 x 120 mm'lik kültür kavanozlarına aktarılmıştır. Kültür kavanozlarının ağzı ısıya ve basınca dayanıklı plastik kapaklarla, kültür tüplerinin ağzı ise alüminyum folyodan hazırlanan kapaklarla kapatılmıştır.

2.1.2.1. Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Belirlenmesi

Bitki büyüme düzenleyicileri ya da diğer adlandırma ile hormonlar besin değildirler fakat büyümeyi ve gelişmeyi düzenlerler. Genellikle bitkilerde doğal olarak bulunmalarına karşın, kültürlerde yeterli miktarda sentezlenemezler. Bu nedenle kültür ortamına dışarıdan eklenirler. Oksin, sitokinin, giberalin ve etilen, büyüme düzenleyici olarak kullanılırlar. Genellikle oksin hücre genişlemesini ve kök gelişmesini buna karşın sitokinin sürgün büyümesini ve hücre bölünmesini teşvik etmektedir. Doku kültürü ortamlarında her bir bitki için doğru hormon çeşidinin ve doğru oranların seçilmesi çok önemlidir (KYTE, Kleyn, 1999).

Quercus türlerinde yapılan çalışmalarda sürgün oluşumu için ortama ilave edilen sitokinin grubu hormonlardan BA'nın daha olumlu sonuç verdiği (Chalupa 1984; San-Jose vd. 1985; Ide, Yamamoto 1987; Meier-Dinkel 1987; Deidda vd. 1988; San-Jose vd. 1988;

Ballester, Meier-Dinkel 1992; Vieitez vd. 1994; Vieitez vd. 1995; Puddephat vd. 1997) ifade edilmiştir.

Kök oluşumu için ise oksin grubundan IBA'nın olumlu etkilere sahip olduğu belirtilmiştir (Chalupa 1984; San-Jose vd. 1986; Ide, Yamamoto 1987; San-Jose vd. 1988; Pevalek 1991; Ballester, Meier-Dinkel 1992; Vieitez vd. 1992; Vieitez vd. 1995; Yamada, Miyavra 1995; Sanchez 1996; San-Jose 1996; Puddephat vd. 1997). Mikroçeliklerin bazen IBA'nın yüksek dozlarına batırıldıktan sonra (Vieitez 1992; San-Jose 1988) bazen de yüksek konsantrasyonda IBA içeren ortamlarda 24 saat bekletildikten sonra hormonsuz ortamlarda köklenmeye alınmalarının (Vieitez 1995; Sanchez 1996) kök oluşumunu artırdığı da bildirilmiştir.

Bu sonuçlar ışığında denemelerde sürgün oluşumu ve çoğalması için BA'nın, kök oluşumu ve gelişimi için ise IBA etkilerini ortaya koymak amacıyla farklı dozları kullanılmıştır. Tablo 3, 4 ve 5'de çalışmada kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve konsantrasyonları verilmiştir.

Tablo 3. Büyüme ve çoğalma ortamlarında kullanılan BA konsantrasyonları

Ortamlar	BA konsantrasyonları (mg/l)
1	0.2
2	0.5
3	1.0
4	2.0

Tablo 4. Köklendirme ortamlarında mikroçeliklerin batırıldığı IBA'nın dozları ve işlem süreleri

Ortamlar	BA konsantrasyonları (g/l)	Bekleme süresi (dak.)
1	0.5	2
2	0.5	6
3	1.0	2
4	1.0	6

Tablo 5. Köklendirme ortamlarında kullanılan IBA ilaveli ortamlarda mikroçeliklerin kalış süreleri

Ortamlar	IBA konsantrasyonları (mg/l)	Bekleme süresi (saat)
1	25	24
2	25	48

2.1.3. Sterilizasyon

2.1.3.1. Besin Ortamının Sterilizasyonu

Hazırlanan besin ortamları 15 x 150 ml'lik kültür tüplerine ve 60 x 120 ml'lik kültür kavanozlarına aktarılmıştır. Besin ortamının sterilizasyon süresi ortamın hacmine göre değişmektedir. Genellikle 121 °C'de 1.05 Kg/cm² basınç altında minimum 15 dakika, bazen de 20-30 dakika bekletilerek sterilizasyon tamamlanmaktadır (Dodds, Roberts, 1986). Bu çalışmada kültür tüpleri ve kavanozları otoklavda 121 °C'de ve 1.05 Kg/cm² basınç altında 20 dakika tutularak sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.1.3.2. Bitkisel Materyalin Sterilizasyonu

Bitkisel materyal izole edilmeden önce bitki yüzeyindeki zengin mikrofloranın elimine edilmesi gerekmektedir. Eksplantların sterilizasyonu doku kültürlerinde çok önemli bir sorun oluşturmaktadır. Sterilizasyon için en iyi sterilant maddenin, bunun konsantrasyonunun ve işlem süresinin üzerinde çalışılan materyalde yapılacak gözlemler sonucunda belirlenmesi uygun görülmektedir. Kalsiyum ve sodyum hipoklorit (NaOCl, CaOCl) solüsyonları, hidrojen peroksit (H₂O₂), gümüş nitrat (AgNO₃) ve cıva klorür (HgCl), sterilizasyon için kullanılabilen maddelerdir (Gönülşen, 1987). Bazı durumlarda izole edilen bitki parçasının % 70'lik etanol içerisinde 30 sn süre daldırılıp sonradan diğer bir sterilant madde ile sterilize edilmesi yararlı olmaktadır. Çünkü alkol, materyallerin dışındaki mumsu tabakanın kalkmasını ve böylece sterilant maddenin daha etkili olmasını

sağlamaktadır. Bitki yüzeyindeki mikroorganizmalar bu yöntemle elimine edilmekle birlikte, mikroorganizmaların dokuların içine de girdikleri bir gerçektir. Bu nedenle kültür sırasında bazen bulaşmaya engel olunamadığı ancak antibiyotiklerle bulaşmanın kontrol altına alındığı belirlenmiştir (Gönülşen, 1987). Ayrıca bazı durumlarda mantar bulaşmasını engellemek için besin ortamına fungusit olarak Amphotericin B ilave edilmektedir (Watt vd. 1995). Meşelerde Benito vd. (1998)'nin yaptıkları bir çalışmada mantarlara karşı palamutların üzerine fungusit (4 g/l Benlate) tatbik edildiği belirtilmiştir. Spethman (1986) ise *Quercus robur* ve *Quercus petraea*'nın köklendirme işlemlerinde IBA ve IAA hormonları ile birlikte mantar bulaşmasına karşı % 15 oranında Benomyl kullanmıştır.

Bu çalışmada *Quercus hartwissiana*'dan alınan palamutların üzerine seraya ekilmeden önce fungusit (4 g/l Benlate) uygulanmıştır. Bu işlem fideler oluştuktan sonra serada buldukları süre içerisinde de iki ayda bir tekrarlanmıştır. Yüzey sterilizasyonu için meşe eksplantları 2-4 cm uzunluğunda kesilmişlerdir. Sürgünlerdeki yapraklar kopararak ortamdan uzaklaştırılmıştır. Eksplantlar önce musluk suyunda bol su ile çalkalanmışlardır. Daha sonra % 70'lik alkol solüsyonunda 20 sn bekletilmişlerdir. Bu işlemin ardından steril su ile çalkalanmışlardır. İçerisinde % 0.5 Tween – 20 ilave edilmiş, % 2.5'lik NaOCl solüsyonunda sürgünler 15 dakika süreyle çalkalayıcıda bekletilmişlerdir. Bu süre sonunda steril kabin içerisinde 3 defa, 3 dakika steril saf su ile durularak sterilizasyon işlemi tamamlanmıştır.

2.1.3.3. Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu

Kullanılacak metal ve cam malzemeler bulaşık makinesinde yıkandıktan sonra saf su ile işleme tabi tutulmuşlardır. Daha sonra etüvde 105 °C'de yaklaşık 1-2 saat bekletilmişlerdir. Cam malzemeler otoklavda 1.05 Kg/cm² basınç altında ve 121 °C'de 20 dakika sterilize edilmişlerdir. Eksplantların yüzeysel sterilizasyonunda kullanılacak saf su da otoklavda sterilize edilmiştir. Steril çalışma kabini çalışma yapılmadığı zamanlarda UV ışınları ile steril edilmiştir. Çalışmaya başlamadan 30 dakika önce ise UV ışınları kapatılmış ve steril kabin çalıştırılmıştır. Daha sonra steril kabinin iç yüzeyi % 70'lik alkol ile silinmiştir. Kültüre alınma işleminde kullanılacak pens, iğne ve bisturiler çalışmaya başlamadan önce % 96'lık alkole batırılarak ateşle muamele edilmiştir.

2.1.3.4. Diğer Sterilizasyon İşlemleri

Steril kabinde çalışmadan önce laboratuvar elbisesi giyilmiştir. Eller; sabun, su ve alkolle steril hale getirilmiştir. Bone ve yüz maskesi kullanılmıştır. Dış yüzeyleri steril edilmemiş tüp ve kavanozlar steril kabine alkollü pamuk ile silindikten sonra alınmıştır. Bir defa kullanılan bisturi, pens ve petri kapları alkolden geçirildikten sonra ateşle muamele edilerek yeniden kullanıma hazır hale getirilmiştir. Paketleri açılan petri kapları ve su şişeleri sadece o gün için steril olduğundan, ertesi gün kullanılmamıştır. Eksplantlardaki bulaşmayı önlemek amacıyla yapılan tüm bu sterilizasyon işlemlerinin yanında, laboratuvar da daima temiz tutulmuştur.

2.1.4. Materyalin Kültüre Alınması

Yüzey sterilizasyonundan sonra steril hale gelen *Quercus hartwissiana* eksplantları steril çalışma kabininde kültüre alınmıştır. Eksplantlar binoküler mikroskop altında bisturi ve pens yardımıyla dış pullarından arındırılmıştır. 1-2 yaprak taslağı taşıyacak şekilde bölünen, 6-8 mm uzunluğundaki eksplantlar; içerisinde steril besin ortamının bulunduğu kültür tüplerine alınmıştır. Yatay olarak yerleştirilen eksplantların düşey olarak yerleştirilmiş eksplantlardan daha iyi gelişim gösterdiği Vieitez vd. (1993) tarafından ortaya konulmuştur. Çalışmamızda eksplantlar; 2/3'ü ortam içerisinde kalacak şekilde, yatay olarak besin ortamına alınmışlardır. Tüplerin ağız kısmı ve alüminyum folyodan yapılmış kapaklar ateşten geçirilerek tüplerin ağız sıkıca kapatılmıştır. Eksplantlar, ilk 5 gün bakteri veya mantar bulaşmasını engellemek için her gün taze ortamlara aktarılmıştır. Daha sonra 4 haftada bir taze steril ortamlara aktarılmıştır. Eksplantların gelişim durumlarına göre daha geniş alan gereken durumlarda eksplantlar kavanozlar içerisindeki taze ortamlara aktarılmıştır.

2.1.5. Besin Ortamının pH'sının Ayarlanması

Doku kültürlerindeki besin ortamlarının asidik veya bazik olması çok önemlidir. Her bitki türünün ihtiyaç duyduğu pH değeri farklıdır. Örneğin *Rhododendron*'lar doku kültürü koşullarında asidik ortamı isterken (pH 4.5-5.0), çilek az asidik ortamı ister (pH

EC YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOĞUMANIZYON MENKATZ

Genellikle besin ortamlarında pH'nun 5.5-5.8 arasında olması tercih edilir (Kyte, Kleyn, 1999). Bu çalışmada besin ortamlarının pH'sı 5.7 olarak ayarlanmıştır.

2.1.6. Eksplantların Gelişme Koşulları

Doğal yetiştirme ortamlarında olduğu gibi doku kültürlerinde de eksplantların normal gelişimlerini sağlayabilmeleri için çevre koşullarının uygun olması gereklidir. Işık, sıcaklık ve rutubet bu çevre faktörlerinin en önemlilerindedir. Kültür kapları içerisinde genellikle % 100'e varabilen yüksek bir rutubet sağlandığı için eksplantların gelişmesinde özellikle rutubetin ayarlanmasına gerek yoktur. Ortam rutubeti % 80-90 seviyesinde tutulmalıdır (Kyte, Kleyn, 1999). Bu nedenle kültürlerin gelişmesi için ışık ve sıcaklığı ayarlanabilen yetiştirme ortamlarına gereksinim duyulmaktadır.

2.1.6.1. Sıcaklık İsteği

Eksplantlar sıcaklığın uygun olduğu ortamlarda tutulmalıdır. Genellikle doku kültürleri için yetiştirme ortamı sıcaklıkları 25°C'dir (Gönülşen, 1987). Sıcaklığın meşe eksplantlarında sürgün boyutunu ve sürgün sayısını artırdığı ve kültürlerin çoğalmaya başlaması için sıcaklık değerinin 25°C olması gerektiği belirtilmektedir (Puddephat vd.,1996). *Quercus hartwissiana* türü ile yapılan denemelerde ortam sıcaklığı 25°C olarak kullanılmıştır.

2.1.6.2. Işık İsteği

Bitki doku kültürlerinde kullanılan ışığın yoğunluğu ve aydınlanma süresi önemlidir. Eksplantların ışık isteği ototrof olarak gelişen bitkilere benzememektedir. Kültürler için gerekli karbonhidratlar sağlandığından, kültürün son devresi dışında fotosentez yapılması gerekli değildir. Ancak ışığa, bazı morfogenetik işlemleri regüle etmek için gereksinim duyulmaktadır (Gönülşen, 1987). Mikro üretimde ışığın etkisinin başarısı üç parametreden geçmektedir. Bunlar; süreklilik (fotoperiyot ve gün uzunluğu), aydınlanma (şiddeti ya da ışık akımı) ve spektral kalite (dalga uzunluğu)'dir (Economou, Read, 1987).

2.1.6.2.1. Işık Yoğunluğu

Kullanılan bitki türüne, izole edilen eksplantın cinsine ve besin ortamına bağlı olarak 300-10000 lükse kadar değişen ışık yoğunluğuna gereksinim vardır (Murashige, Skoog, 1962). *Quercus hartwissiana* türü ile yapılan denemelerde ışık yoğunluğu 2000 lüks olarak ayarlanmıştır.

2.1.6.2.2. Aydınlanma Süresi

Uygulanan günlük aydınlanma süresi, kullanılan bitki türü, ışık kalitesi ve amaca göre değişebilmektedir (Murashige, Skoog, 1962). Puddephat vd. (1996) yaptıkları araştırma sonucunda meşelerde sürgün gelişimini artırmak için kültürlerin 16 saat ışığa ihtiyaç duyduklarını ifade etmişlerdir. Diğer birçok araştırmada benimsenen aydınlanma süresi değerlerine uygun olarak *Quercus hartwissiana* kültürleri 8 saat karanlık 16 saat aydınlık koşullarda saklanmıştır.

2.1.7. Gelişme Süresince Yapılan Ölçüm ve Gözlemler

2.1.7.1. Eksplantların Gelişimi ve Sürgün Oluşumu

Kültüre alınma işleminden sonra eksplantlardaki değişimler, canlılık durumları ve sürgün oluşturmaları düzenli bir şekilde incelenmiştir. İki temel besin ortamı ve dört farklı sitokinin konsantrasyonuna ait toplam 8 işlem gerçekleştirilmiştir. Her bir işlem için başlangıç materyali olarak 10'ar adet eksplant kullanılmıştır. Dört haftada bir taze ortamlara aktarılan eksplantların başlangıçtan 10 hafta sonra elde edilen sürgün sayıları belirlenmiştir. Bu mikroçelikler köklendirme ortamına alınırken her eksplantta meydana gelen sürgün sayıları, nod sayıları ve sürgün uzunlukları belirlenmiştir.

2.1.7.2. Farklı Genotiplere Ait Eksplantların Gelişimi ve Sürgün Oluşumu

Kültüre alınma işleminden sonra farklı genotiplere ait eksplantlardaki değişimler, canlılık durumları ve sürgün oluşturmaları düzenli bir şekilde incelenmiştir. Besin ortamı olarak ilk denemede kullanılan 8 ortamdan en iyi sürgün çoğalması gösteren ortam kullanılmıştır. Denemeler 7 adet genotip üzerinde gerçekleştirilmiştir. Her bir işlem için başlangıç materyali olarak 10'ar adet eksplant kullanılmıştır. Dört haftada bir taze ortamlara aktarılan eksplantların başlangıçtan 6 hafta sonra meydana gelen sürgün sayıları, nod sayıları ve sürgün uzunlukları belirlenmiştir.

2.1.7.3. Farklı Eksplant Kaynaklarının Sürgün Oluşumu ve Gelişimi

Kültüre alınma işleminden sonra farklı eksplant kaynaklarının sürgün oluşumu ve gelişimleri, canlılık durumları düzenli bir şekilde incelenmiştir. Besin ortamı olarak ilk denemede kullanılan 8 ortamdan en iyi sürgün çoğalması gösteren ortam kullanılmıştır. eksplant kaynağı olarak koltuk ve sürgün uç tomurcuğu kullanılmıştır. Her bir işlem için başlangıç materyali olarak 10'ar adet eksplant kullanılmıştır. Dört haftada bir taze ortamlara aktarılan eksplantların başlangıçtan 8 hafta sonra meydana gelen sürgün sayıları, nod sayıları ve sürgün uzunlukları belirlenmiştir.

2.1.7.4. Sürgünlerin Köklendirilmesi

Çalışma ortamında 15-20 mm uzunluğundaki sürgünler besin ortamı artıklarından temizlendikten sonra tek tek kök ortamına aktarılmışlardır. Her iki köklendirme denemelerinde de temel besin ortamları 1/3 oranlarında kullanılarak fakir ortamlar elde edilmiştir. 4 hafta sonra köklenen mikroçelikler sayılarak sürgünlerin köklenme oranları belirlenmiştir. Ayrıca her bir mikroçelikün kök sayısı tespit edilmiştir.

2.1.8. Köklü Fidiciklerin Şaşırtılması

İn vitro'da köklenen eksplantlar besin ortamı artıklarından arındırılarak 1:1:1 oranında hazırlanan toprak: perlit: turba karışımına şaşırtılmıştır. Bu ortamda 4 hafta 20 – 25 °C'de normal gün ışığında % 80 - 90 rutubette bekletildikten sonra seraya aktarılmıştır. Toprağa transferin ilk başlangıcında fidiciklerin dış ortama adaptasyonu için dikim saksılarının üzeri hava deliklerine sahip şeffaf malzemeye kapatılmıştır. Daha sonra bu örtü kademeli olarak açılmış ve dış ortama adaptasyon sağlanmış ve fidicikler seraya aktarılmıştır.

2.1.9. Verilerin Değerlendirilmesi

Sürgün büyümesi ve çoğaltılması denemeleri sonucunda elde edilen veriler , iki faktörlü varyans analizi yöntemi ile değerlendirilmiştir. F testi ile 0.01 yanılmayla kontrol edildikten sonra, farklı grupların tespitinde Duncan testi 0.05 ve 0.01 yanılma esas alınarak kullanılmıştır. Sayı değerlerinde $\sqrt{X} + 0.5$ dönüşümü uygulanmıştır (Kalıpsız,1988).

Genotipler arasındaki farklılıkların ortaya konulması amacıyla yapılan denemelerde ise yine aynı istatistik yöntemler kullanılmıştır.

Eksplant kaynakları arasındaki farklılıkları ortaya koymak için yapılan denemelerin istatistiki değerlendirmeleri t testi ile yapılmıştır.

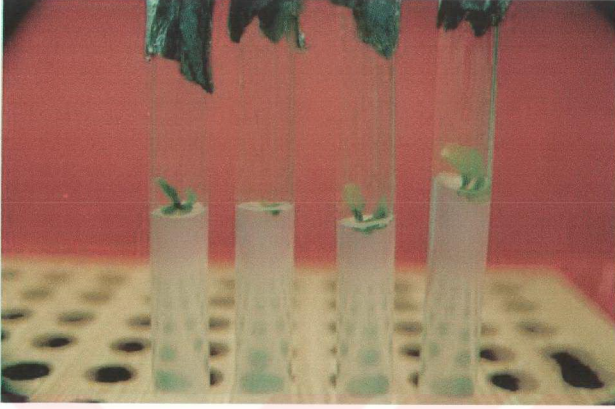
Elde edilen mikroçeliklerin köklendirme çalışmalarında da yine istatistiki değerlendirmeler t testi ile gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

Quercus hartwissiana'nın doku kültürü teknikleriyle üretilebilme olanaklarının araştırıldığı bu çalışma kapsamında, farklı temel besin ortamları ile farklı oksin ve sitokinin konsantrasyonlarının etkileri incelenmiştir. Materyal olarak *Quercus hartwissiana*'nın tomurcukları kullanılmıştır.

3.1. Sürgün Çoğaltma Denemeleri

Quercus hartwissiana'nın in vitro'da üretimi için koltuk tomurcuk eksplantları büyüme düzenleyicilerin eklendiği GD ve WPM olmak üzere iki temel besin ortamında kültüre alınmışlardır. Kurulan ilk denemelerin 7. gün sonundaki gözlemlerinde eksplantların tümünün enfekte olduğu belirlenmiştir. Bunun üzerine, bulaşmaları önlemek amacıyla başlangıç ortamlarına mantar enfeksiyonu için fungusit (40 mg/l Amphotericin-B) ve bakteri enfeksiyonu için antibiyotik (100 000 U/l Penisilin) ilave edilmiştir. Bunun yanı sıra eksplantların ilk 5 gün boyunca her gün taze ortamlara aktarılmasından sonraki incelemelerde mantar ve bakteri bulaşmaları gözlenmemiştir. Her iki temel besin ortamındaki eksplantlarda gelişmeler olmakla birlikte, besin ortamları aralarında farklılıklar gözlenmiştir. BA'nın 0.2 mg/l dozu ilaveli GD ve WPM ortamlarında kültüre alınan eksplantların 3 hafta sonraki durumları Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. GD ve WPM + 0.2 mg/l BA ortamında kültürden 3 hafta sonra eksplantlardaki gelişim durumları (soldan ilk iki örnek WPM, son iki örnek GD)

3.1.1. Farklı Ortam (GD ve WPM) ve Sitokinin (BA) Dozlarının Sürgün Oluşumu ve Gelişimine Etkisi

BA'nın farklı dozları (0.2, 0.5, 1 ve 2 mg/l) kullanılarak hazırlanan GD ve WPM temel besin ortamlarında kültüre alınan eksplantlar, her dört haftada bir taze ortamlara aktarılmışlardır. Kültüre alma işleminden sonra bulaşmaları önlemek için eksplantlar 5 gün boyunca her gün taze ortamlara aktarılmışlardır.

Başlangıçtan bir hafta sonra denenen tüm ortamlarda tomurcuklar patlamaya başlamıştır. Eksplantların kültüre alınmalarından 4 hafta sonra yapılan gözlemlerde temel besin ortamları arasında gelişme farklılıkları olmakla birlikte her ikisinde de sürgün gelişiminin meydana geldiği ortaya konmuştur. BA'nın tüm dozlarında sürgün gelişmelerinin GD ortamında, WPM ortamına kıyasla daha iyi olduğu gözlenmiştir. Kültür çalışmalarının başlangıcından on hafta sonra eksplantlar köklendirme ortamına alınmadan önce ölçüm ve gözlemler yapılmıştır. Sürgün sayıları, nod sayıları ve sürgün uzunlukları ölçülmüştür. Uygulanan farklı BA dozlarının sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğunu etkilediği gözlenmiştir. Farklı temel besin ortamları ve BA dozlarındaki farklılıklar; sürgün sayıları, nod sayıları ve sürgün uzunluklarının değişimine neden

olmuştur. Başlangıçtan sekiz hafta sonra yapılan gözlemlerde 0.2 mg/l BA + GD ortamındaki eksplantlardan sürgün gelişimi Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. GD + 0.2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 8. haftadaki sürgün gelişimleri

3.1.1.1. Sürgün Sayısına Etkisi

Denemelerde kullanılan iki temel besin ortamına konulan eksplantların gelişimleri önce GD daha sonra WPM ortamlarında ayrı ayrı incelenmiştir. Farklı BA dozlarının eklendiği GD ortamında kültüre alınan eksplantlardaki gelişim durumları Şekil 3, 4, 5 ve 6’da gösterilmiştir.



Şekil 3. GD + 0.2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları



Şekil 4. GD + 0.5 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları

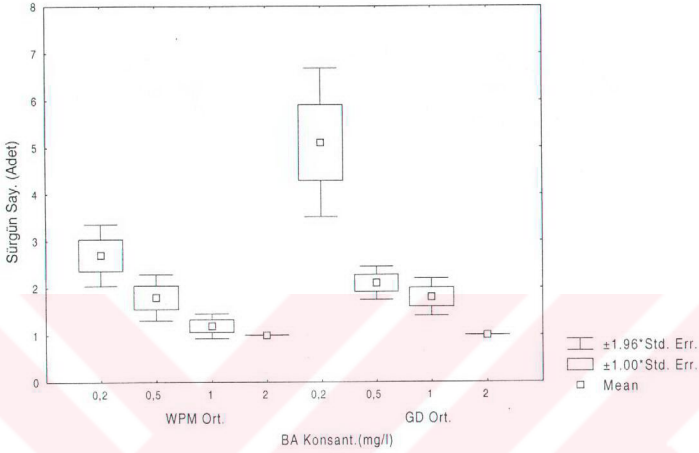


Şekil 5. GD + 1 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları



Şekil 6. GD + 2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları

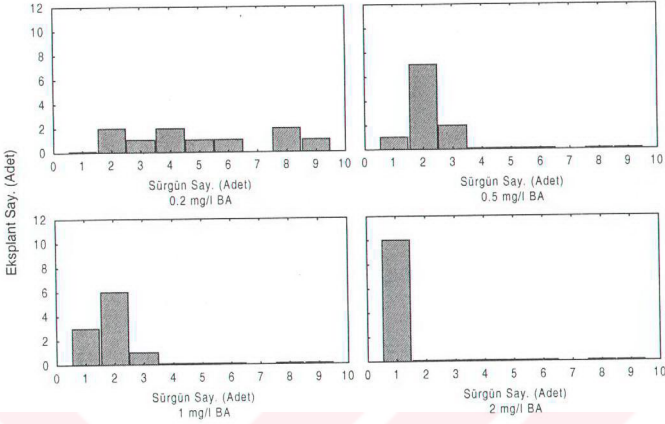
BA'nın farklı dozları ilaveli GD temel besin ortamında kültüre alınan eksplantlardaki sürgün sayılarının gelişimleri Tablo 6 ve Şekil 7 ve 8'de verilmiştir.



Şekil 7. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD ve WPM temel besin ortamlarındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının sürgün sayıları

Tablo 6. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD temel besin ortamındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlardan gelişen sürgün sayıları

Ortam No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Sür. Say. (adet)	Maksimum Sür. Say. (adet)	Minimum Sür. Say. (adet)
1	0.2	5.10±2.56	9	2
2	0.5	2.10±0.57	3	1
3	1.0	1.80±0.63	3	1
4	2.0	1.00±0	1	1



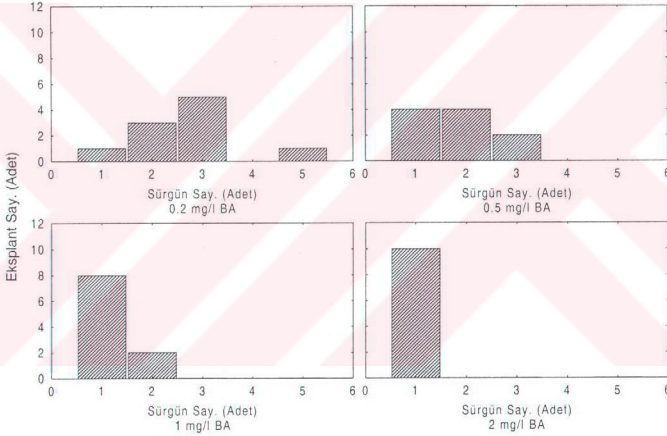
Şekil 8. Farklı BA dozları ilaveli GD temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün sayıları

Tablo 6 ve Şekil 7 ve 8 incelendiğinde görüleceği gibi, GD ortamındaki en yüksek ortalama sürgün sayısı 5.1 adetle 0.2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Bunu 2.1 adet ile 0.5 mg/l BA ilaveli ortam izlemiştir. BA dozunun artmasıyla birlikte sürgün sayısında azalmalar gözlenmiştir. En düşük ortalama sürgün sayısı ise 1 adetle 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Maksimum sürgün sayısı en yüksek, 9 adetle 0.2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşirken bunu 3 adetle 0.5 ve 1 mg/l BA içeren ortamlar takip etmiştir. En düşük değer ise yine 2 mg/l BA ilaveli ortamda 1 sürgün ile gerçekleşmiştir. Minimum sürgün sayılarının ele alınrsa, 2 adetle 0.2 mg/l BA ilaveli ortamda en iyi değerde bulunurken diğer ortamlarda değişmeyerek 1 adetle aynı kalmıştır.

WPM ortamında farklı BA dozlarında kültüre alınan eksplantların gelişimleri incelendiğinde GD ortamındaki eksplantlardan farklılık gösterdikleri gözlenmiştir. WPM temel besin ortamında kültüre alınan eksplantlardaki sürgün sayılarının gelişimleri Tablo 7 ve Şekil 7 ve 9'da verilmiştir.

Tablo 7. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği WPM temel besin ortamındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarında oluşan sürgün sayılarının gelişimi

Ortam No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Sür. Say. (adet)	Maksimum Sür. Say. (adet)	Minimum Sür. Say. (adet)
1	0.2	2.70±1.06	5	1
2	0.5	1.80±0.79	3	1
3	1	1.20±0.42	2	1
4	2	1.00±0	1	1



Şekil 9. Farklı BA dozları ilaveli WPM temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün sayıları

Tablo 7 ve Şekil 7 ve 9 incelendiğinde görüleceği gibi, WPM ortamında en yüksek ortalama sürgün sayısı 2.7 adetle 0.2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Bunu 1.8 ile 0.5 mg/l BA ilaveli ortam izlemiştir. BA dozunun artmasıyla birlikte sürgün sayısında ters orantılı olarak azalmalar gözlenmiştir. En düşük ortalama sürgün sayısı ise 1 adetle 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Maksimum sürgün sayısı en yüksek; 5 adetle 0.2 mg/l

BA ilaveli ortamda gerçekleşirken bunu 3 adetle 0.5 mg/l BA ve 2 adetle 1mg/l BA içeren ortamlar takip etmiştir. En düşük değer ise yine 2 mg/l BA ilaveli ortamda 1 adet ile gerçekleşmiştir. Minimum sürgün sayılarını incelendiğinde; bütün ortamlarda değişmeyerek 1 adetle aynı kaldığı görülmüştür.

0.2, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/l BA eklenerek eksplantların kültüre alındığı WPM ortamlarında kültürden 10 hafta sonra eksplantlardaki gelişmeleri gösterir resimler Şekil 10, 11, 12 ve 13’de verilmiştir.



Şekil 10. WPM + 0.2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları



Şekil 11. WPM + 0.5 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları



Şekil 12. WPM + 1 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları



Şekil 13. WPM + 2 mg/l BA ortamında kültüre alınan eksplantlardan 10 hafta sonraki sürgün gelişim durumları

Ortalara ilave edilen BA'nın farklı dozlarının, *Quercus hartwissiana* eksplantlarının sürgün sayısı gelişimine etkilerini ortaya koymak için istatistik analizler yapılmıştır. Varyans analizi ile farklılık test edilmiş ve Duncan testi ile de bu farklılığı yaratan gruplar ortaya konulmuştur. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 8 ve 9'da verilmiştir.

Tablo 8. *Quercus hartwissiana*'da GD ve WPM ortamlarına ilave edilen BA dozlarının sürgün sayısı üzerine etkisini gösterir varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Belirlilik
Faktör A (Ortam)	1	0.642	0.642	8.165	***
Faktör B (Hormon)	3	7.785	2.595	33.013	***
A*B	3	0.630	0.210	2.671	ns
Hata	72	5.680			
Toplam	79	14.7337			

*** $p < 0.01$

ns fark yok

Yapılan varyans analizi sonucunda, BA dozları ile GD ve WPM temel besin ortamları arasında eksplantların sürgün sayıları bakımından fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Duncan testinden yararlanılmıştır.

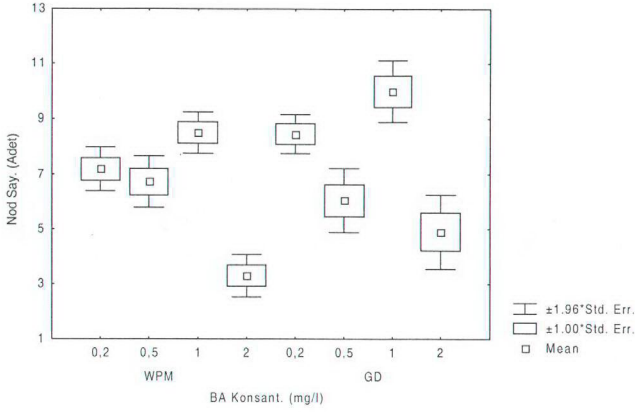
Tablo 9. *Quercus hartwissiana*'da GD ve WPM temel besin ortamlarına ilave edilen BA dozlarının sürgün sayısı üzerine etkisine ait Duncan testi sonuçları

Hormon Konsant.	Homojen Gruplar		
0.2 mg/l BA	X		
0.5 mg/l BA		X	
1 mg/l BA		X	
2 mg/l BA			X

Tablo 9 incelendiğinde görüleceği gibi, sürgün sayısı bakımından karşılaştırıldığında en yüksek sürgün sayısını 0.2 mg/l BA dozuna ait olduğu ve diğer dozlardan istatistik açıdan farklı olduğu belirlenmiştir. 0.5 mg/l BA dozu ile 1 mg/l BA dozu arasında istatistik açıdan farklılık bulunmazken, en düşük sürgün sayısı 2 mg/l BA dozunda gerçekleşmiştir.

3.1.1.2. Sürgünlerdeki Nod Sayısına Etkisi

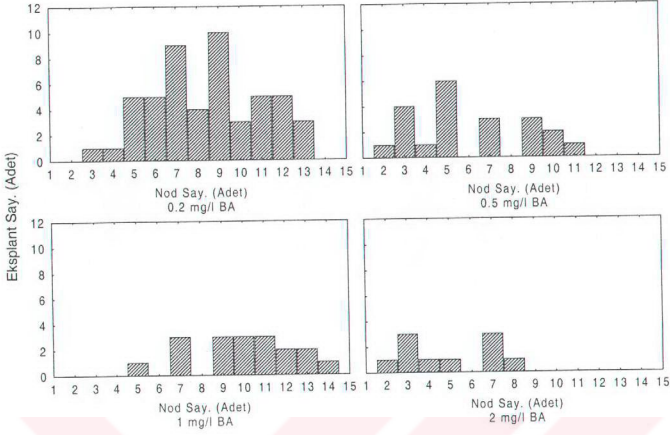
BA'nın farklı dozları ilave edildiği GD ve WPM ortamlarında kültüre alınan eksplantlardan oluşan sürgünlerin nod sayıları incelendiğinde yine hem temel besin ortamları hem de BA dozları arasında belirli farklılıkların ortaya çıktığı belirlenmiştir. Öncelikle GD ortamlarındaki sürgünlere ait nod sayılarının gelişimi Tablo 10 ve Şekil 14 ve 15'de verilmiştir.



Şekil 14. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD ve WPM temel besin ortamlarındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının nod sayıları

Tablo 10. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD temel besin ortamındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının nod sayılarının gelişimi

Ortam No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Nod Sayı. (adet)	Maksimum Nod Sayı. (adet)	Minimum Nod Sayı. (adet)
1	0.2	8.45±2.56	13	3
2	0.5	6.05±2.73	11	2
3	1.0	10.00±2.43	14	5
4	2.0	4.90±2.18	8	2



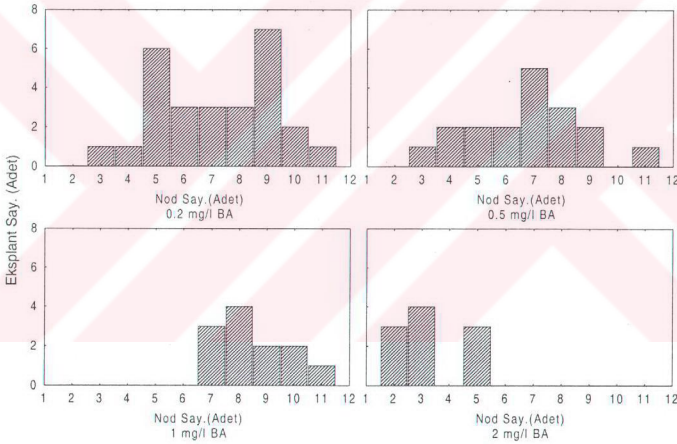
Şekil 15. Farklı BA dozları ilaveli GD temel besin ortamındaki eksplantlardan oluşan sürgünlerin nod sayıları

GD ortamındaki eksplantların sürgünlerine ait nod sayılarını içeren Tablo 10 ve Şekil 14 ve 15 incelendiğinde, en yüksek ortalama nod sayısı 10 nod ile 1 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Bunu 8.45 nodla 0.2 mg/l BA içeren ortam takip etmiştir. En düşük ortalama nod sayısı ise 4.9 nodla 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Maksimum nod sayısı 14 nod ile 1 mg/l BA ilaveli ortamda en yüksek gerçekleşirken bunu 13 adetle 0.2 mg/l BA ilaveli ortam takip etmiştir. Maksimum nod sayıları içerisinde en düşük değer ise 8 adet ile 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Minimum nod sayılarına bakıldığında en iyi değer 5 adet ile yine 1 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleştiği gözlenmiştir. Bunu 3 adetle 0.2 mg/l BA ilaveli ortam takip etmiştir. Minimum nod sayılarından en düşüğü ise 2 adetle 0.5 ve 2 mg/l BA içeren ortamlarda gerçekleşmiştir.

WPM ortamlarındaki eksplantların sürgünlerine ait nod sayıları incelendiğinde benzer durumlar ortaya çıkmıştır. Tablo 11 ve Şekil 14 ve 16'da nod sayılarının durumu gösterilmiştir.

Tablo 11. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği WPM temel besin ortamındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlardan oluşan sürgünlerin nod sayıları

Ortam No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Nod Say. (adet)	Maksimum Nod Say. (adet)	Minimum Nod Say. (adet)
1	0.2	7.18±2.11	11	3
2	0.5	6.55±1.75	9	3
3	1.0	8.50±1.31	11	7
4	2.0	3.50±1.35	5	2



Şekil 16. Farklı BA dozları ilaveli WPM temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgünlerin nod sayıları

Tablo 11 ve Şekil 14 ve 16 incelendiğinde, WPM ortamlarındaki nod sayılarına baktığımızda, en yüksek ortalama nod sayısı 8.5 nodla 1 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Bunu 7.18 nodla 0.2 mg/l BA içeren ortam takip etmiştir. En düşük ortalama nod sayısı ise 3.5 nodla 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. En iyi

maksimum nod sayısı 11 nodla 0.2 ve 1 mg/l BA ilaveli ortamlarda gerçekleşirken bunları 9 nodla 0.5 mg/l BA ilaveli ortam takip etmiştir. En düşük değer ise 5 nodla 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Minimum nod sayılarına baktığımızda en iyi değer 7 nodla yine 1 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleştiği gözlenmiştir. Bunu 3 nodla 0.2 ve 0.5 mg/l BA ilaveli ortamlar takip etmiştir. En düşük değer ise 2 nodla 2 mg/l BA içeren ortamda gerçekleşmiştir.

Yukarıda açıklanmaya çalışıldığı üzere, gerek WPM ve gerekse GD ortamlarında kültüre alınan tomurcuk eksplantlarında BA dozlarına da bağlı olarak yeni sürgünler ve bu sürgünlerde yeni nodlar oluşmaktadır. Bir eksplanttaki sürgün çoğalması ve bu sürgünlerdeki nod oluşumları Şekil 17’de verilmiştir.



Şekil 17. 0.2 mg/l BA + GD ortamındaki eksplantlar üzerindeki her bir noddan çıkan yeni sürgünler

Ortamlara ilave edilen BA'nın farklı dozlarının *Quercus hartwissiana* eksplantlarının nod sayıları oluşumuna etkilerini ortaya koymak için istatistik analizler yapılmıştır. Varyans analizi ile farklılık ortaya konulmuş ve Duncan testi ile bu farklılığı yaratan gruplar test edilmiştir. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 12 ve 13’de verilmiştir.

Tablo 12. *Quercus hartwissiana*'da GD ve WPM ortamlarına ilave edilen BA dozlarının nod sayısı üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Belirlilik
Faktör A (Ortam)	1	0.882	0.882	5.104	***
Faktör B (Hormon)	3	13.993	4.664	26.992	**
A*B	3	1.083	0.363	2.088	ns
Hata	159	27.476	0.173		
Toplam	166	43.434			

** p < 0.05

*** p < 0.01

ns fark yok

Yapılan varyans analizi sonucunda, GD ve WPM temel besin ortamları arasında eksplantların nod sayıları bakımından fark olduğu tespit edilmiştir(P< 0.01). BA dozları arasında ise 0.05 yanılma ile farklılıklar belirlenmiştir. Farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Duncan testinden yararlanılmıştır.

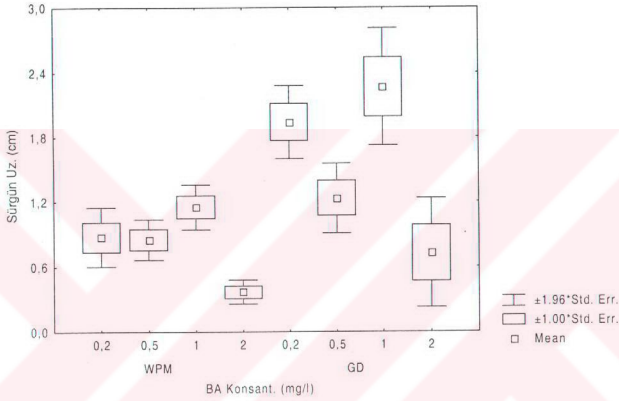
Tablo 13. *Quercus hartwissiana*'da GD ve WPM temel besin ortamlarına ilave edilen BA dozlarının nod sayısı üzerine etkisine ait Duncan testi sonuçları

Hormon Konsant.	Homojen Gruplar			
1 mg/l BA	X			
0.2 mg/l BA		X		
0.5 mg/l BA			X	
2 mg/l BA				X

Tablo 13 incelendiğinde görüleceği gibi, nod sayısı bakımından ortamlar karşılaştırıldığında en yüksek nod sayısının 1 mg/l BA dozuna ait olduğu ve diğer dozlardan istatistik açıdan farklı olduğu belirlenmiştir. Bunu 0.2 mg/l BA dozu izlemiştir. Daha sonra bunları 0.5 mg/l BA dozu izlemiştir. En düşük nod sayısı ise 2 mg/l BA dozunda gerçekleşmiştir.

3.1.1.3.Sürgün Uzunluğuna Etkisi

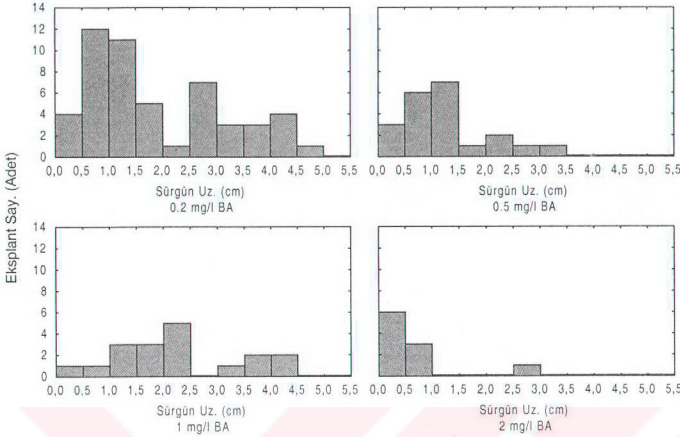
Sürgün uzunlukları incelendiğinde; BA'nın farklı dozları ilaveli GD ve WPM ortamlarına konulan eksplantlara ait gelişimler yine hem temel besin ortamları hem de BA dozları arasında farklılıklar ortaya çıkarmıştır. GD ortamlarındaki sürgünlere ait sürgün uzunlukları Tablo 14 ve Şekil 18 ve 19'de verilmiştir.



Şekil 18. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD ve WPM temel besin ortamlarındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının sürgün uzunlukları

Tablo 14. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği GD temel besin ortamındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının sürgün uzunlukları gelişimi

Ortam No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Sür. Uzun. (cm)	Maksimum Sür. Uzun. (cm)	Minimum Sür. Uzun. (cm)
1	0.2	1.94±1.24	4.8	0.4
2	0.5	1.23±0.76	3.2	0.4
3	1	2.26±1.17	4.3	0.5
4	2	0.73±0.81	2.9	0.2



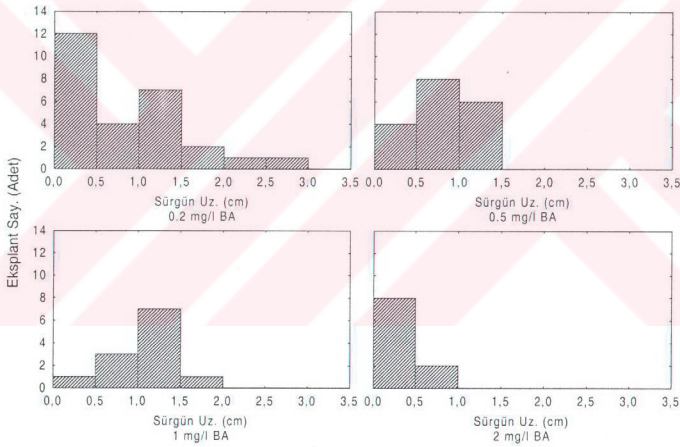
Şekil 19. Farklı BA dozları ilaveli GD temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün uzunlukları

Tablo 14 ile Şekil 18 ve 19 incelendiğinde görülebileceği gibi, GD temel besin ortamında en yüksek ortalama sürgün uzunluğu 2.26 cm ile 1mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Bunu 1.94 cm ile 0.2 mg/l BA ilaveli ortam ve 1.23 cm ile 0.5 mg/l ilaveli ortamlar takip etmişlerdir. En düşük ortalama sürgün uzunluğu ise 0.73 cm ile 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Maksimum sürgün uzunlukları incelendiğinde, en uzun sürgün 4.8 cm ile yine 0.2 mg/l BA ilaveli ortamda meydana gelmiştir. Bunu çok yakın bir şekilde 4.3 cm ile 1 mg/l BA ilaveli ortam takip etmiştir. Maksimum sürgünler içerisinde en düşük sonuçlar ise 3.2 cm ile 0.5 mg/l BA ilaveli ortamda ve 2.9 cm ile 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Minimum sürgün uzunlukları genellikle birbirine yakın olmakla birlikte en iyi sonucu 0.5 cm ile 1 mg/l BA ilaveli ortam vermiştir. 0.4 cm sürgün uzunluğuna sahip 0.2 ve 0.5 mg/l BA ilaveli ortamları 0.2 cm ile 2 mg/l BA ilaveli ortam takip etmiştir.

WPM ortamında farklı BA dozlarında kültüre alınan eksplantların sürgün uzunlukları incelendiğinde GD ortamındaki eksplantlardan farklılık gösterdikleri gözlenmiştir. WPM temel besin ortamında kültüre alınan eksplantlardaki sürgün uzunluklarının gelişimleri Tablo 15 ve Şekil 18 ve 20'de verilmiştir.

Tablo 15. BA'nın farklı dozlarının ilave edildiği WPM temel besin ortamındaki *Quercus hartwissiana* eksplantlarının sürgün uzunlukları gelişimi

Ortam No	BA Dozları (mg/l)	Ortalama Sür. Uzun. (cm)	Maksimum Sür. Uzun. (cm)	Minimum Sür. Uzun. (cm)
1	0.2	0.87±0.72	2.9	0.1
2	0.5	0.85±0.40	1.4	0.1
3	1	1.15±0.37	2	0.5
4	2	0.37±0.18	0.7	0.2



Şekil 20. Farklı BA dozları ilaveli WPM temel besin ortamındaki eksplantlarda oluşan sürgün uzunlukları

Tablo 15 ve Şekil 18 ve 20 incelenmesinde görüleceği gibi, WPM temel besin ortamındaki en uzun ortalama sürgün 1.15 cm ile 1 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Bunu 0.87 cm ile 0.2 mg/l BA ilaveli ortam ve 0.85 cm ile 0.5 mg/l ilaveli ortamlar takip etmişlerdir. En kısa ortalama sürgün uzunluğu ise 0.37 cm ile 2 mg/l BA

ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Maksimum sürgün uzunluklarından en uzun sürgünü 2.9 cm ile 0.2 mg/l BA ilaveli ortam gerekleşirmiştir. Bunu 2 cm ile 1 mg/l BA ilaveli ortam takip etmiştir. En düşük sonuçlar ise 1.4 cm ile 0.5 mg/l BA ilaveli ortamda ve 0.7 cm ile 2 mg/l BA ilaveli ortamda gerekleşirmiştir. Minimum sürgün uzunlukları ise 0.5 cm ile 1 mg/l BA ilaveli ortamda en yüksek gözlenmiştir. Bunu 0.2 cm ile 2mg/l BA ilaveli ortam ve 0.1 cm ile ise 0.2 ve 0.5 mg/l BA ilaveli ortamlar takip etmiştir.

Tablo 14 ve 15’de görüldüğü üzere sürgün uzunlukları, uygulanan BA dozlarına göre farklılık gösterebildiği gibi kullanılan besin ortamları bakımından da bu farklılık daha belirgin olarak ortaya çıkmıştır. Bu bağlamda her iki kültür ortamında sürgün uzunluğu bakımından en etkili BA dozunun 1.0 mg/l olduğu söylenebilir (Şekil 21 ve 22).



Şekil 21. GD + 1 mg/l BA ortamındaki sürgün gelişimi



Şekil 22. WPM + 1 mg/l BA ortamındaki sürgün gelişimi

Ortama ilave edilen BA'nın farklı dozlarının *Quercus hartwissiana* eksplantlarının sürgün uzunluklarının gelişimine etkilerini ortaya koymak için istatistik analizler yapılmıştır. Varyans analizi ile farklılık ortaya konulmuş ve Duncan testi ile bu farklılığı yaratan gruplar test edilmiştir. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 16 ve 17'de verilmiştir.

Tablo 16. *Quercus hartwissiana*'da GD ve WPM ortamlarına ilave edilen BA dozlarının sürgün uzunluğu üzerine etkisine ait varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	Hesaplanan F Değeri	Belirlilik
Faktör A (Ortam)	1	17.180	17.180	20.127	***
Faktör B (Hormon)	3	19.255	6.418	7.519	***
A*B	3	4.618	1.539	1.803	ns
Hata	159	135.719	0.854		
Toplam	166	176.772			

*** $p < 0.01$

ns fark yok

Yapılan varyans analizi sonucunda, BA dozları ile GD ve WPM temel besin ortamları arasında eksplantların sürgün uzunluğu bakımından farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Duncan testinden yararlanılmıştır.

Tablo 17. *Quercus hartwissiana*'da GD ve WPM temel besin ortamlarına ilave edilen BA dozlarının sürgün uzunluğu üzerine etkisine ait Duncan testi sonuçları

Hormon Konsant.	Homojen Gruplar		
1 mg/l BA	X		
0.2 mg/l BA	X		
0.5 mg/l BA		X	
2 mg/l BA			X

Tablo 17 incelendiğinde görüleceği gibi, sürgün uzunluğu, bakımından karşılaştırıldığında en yüksek sürgün uzunluğunun 1 mg/l BA ve 0.2 mg/l BA dozlarına ait olduğu ve bu dozlar arasında istatistik açıdan farklılığa rastlanmadığı belirlenmiştir. Bu dozları 0.5 mg/l BA dozu takip etmiş ve en düşük sürgün uzunluğu 2 mg/l BA dozunda gerçekleşmiştir.

3.1.2. Farklı Genotiplere Ait Eksplantların Sürgün Gelişimi

Serada ekilen palamutlardan oluşan fidanlardan yedi tanesine ait tomurcuk eksplantları kullanılarak genotipler arasındaki gelişim durumları ortaya konulmaya çalışılmıştır. Temel besin ortamı olarak sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu veren GD temel besin ortamı kullanılmıştır. BA konsantrasyonu olarak ise yine sürgün oluşumu ve gelişiminin en iyi gözleendiği 0.2 mg/l BA dozu kullanılmıştır.

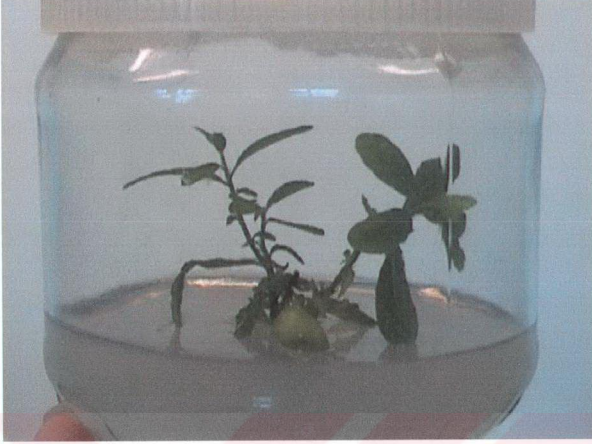
BA'nın 0.2 mg/l dozu ilaveli GD ortamında kültüre alınan genotiplere ait tomurcuk eksplantları mantar ve bakteri bulaşmasının engellenmesi için ilk beş gün, her gün taze

ortamlara aktarılmışlardır. Ayrıca eksplantlarda meydana gelebilecek olası bir enfeksiyonu engellemek için başlangıç ortamına fungusid ve antibiyotik ilave edilmiştir. Eksplantlar kültüre alındıktan 10 gün sonra sürmeye başlamıştır. Önce yaprak taslakları görülmeye, daha sonra ise sürgün oluşmaya başlamıştır. 6 hafta sonra başlangıç eksplantlarından oluşan sürgünlerdeki yeni nodlar eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. 4 nolu genotipe ait eksplantlar diğer genotiplere göre daha erken sürmüştür. Sürgün farklılaşması 15 – 16. günlerde gerçekleşmiştir. En geç sürgün farklılaşması ise 7 nolu genotipde görülmüştür. 7 nolu genotipe ait eksplantlardaki sürgün farklılaşması 24. günde gerçekleşmiştir. Diğer genotiplerdeki sürgün farklılaşması bu iki dönem içerisinde gözlenmiştir. Denemelerdeki bütün eksplantlar her dört haftada bir taze ortamlara aktarılmıştır.

Eksplantların kültüre alınmalarından 4 hafta sonra yapılan incelemelerde sürgün farklılaşmasının gerçekleştiği ve genotipler arasında farklılıklar meydana geldiği belirlenmiştir. Başlangıçtan 6 hafta sonra ise eksplantlar üzerinde ölçüm ve gözlemler yapılmıştır. Sürgün sayıları, nod sayıları ve sürgün uzunlukları ölçülerek, farklı genotiplere ait gelişim durumları ortaya konulmuştur. Farklı genotiplere ait gelişim durumları Şekil 23 ve 24'de görülmektedir.



Şekil 23. GD + 0.2 mg/l BA ortamında 4 nolu genotipe ait eksplantlarda sürgün gelişimi



Şekil 24. GD + 0.2 mg/l BA ortamında 2 nolu genotipe ait eksplantlarda sürgün gelişimi

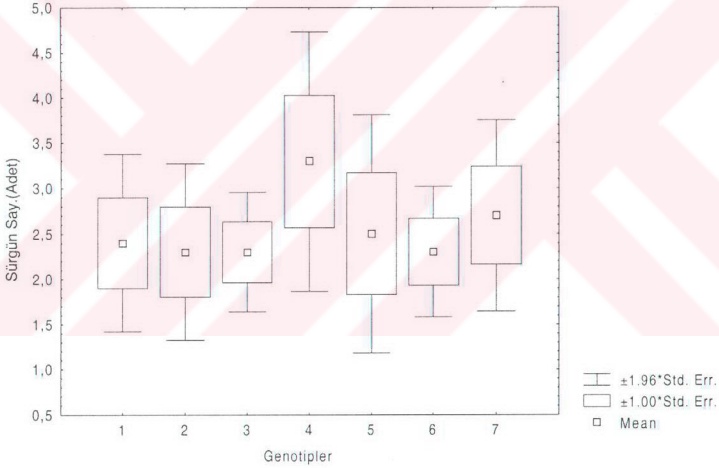
3.1.2.1. Sürgün Sayısına Etkisi

GD temel besin ortamına ilave edilen 0.2 mg/l BA dozunda kültüre alınan bütün genotiplerin sürgün sayılarının gelişimleri Tablo 18 ve Şekil 25'de gösterilmiştir.

Tablo 18. Farklı *Quercus hartwissiana* genotiplerine ait eksplantlarının sürgün sayılarının gelişimi (kültürden 6 hafta sonra)

Genotip No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Sür. Say. (adet)	Maksimum Sür. Say. (adet)	Minimum Sür. Say. (adet)
1	0.2	2.4±1.58	6	1
2	0.2	2.3±1.56	5	1
3	0.2	2.3±1.05	4	1
4	0.2	3.3±2.3	9	1
5	0.2	2.5±2.12	8	1
6	0.2	2.3±1.15	5	1
7	0.2	2.7±1.70	6	1

Tablo 18 ve Şekil 25'in incelenmesinden de görüleceği gibi; genotipler arasında sürgün sayısı bakımından çok büyük farklar olmamasına karşın en yüksek ortalama sürgün sayısı 3.3 adetle 4 nolu genotipde gerçekleşmiştir. Bunu 2.7 adetle 7 nolu genotip, 2.5 adetle 5 nolu genotip, 2.4 adetle 1 nolu genotip izlemiştir. En düşük ortalama sürgün sayısı 2.3 adetle 2, 3 ve 6 nolu genotiplerde gerçekleşmiştir. Maksimum sürgün sayısı ise 9 adetle yine 4 nolu genotipde gözlenmiştir. Bunu 8 adetle 5 nolu genotip, 6 adetle 1 ve 7 nolu genotip ve 5 adetle 2 ve 6 nolu genotip takip etmiştir. En düşük değer ise 4 adetle 3 nolu genotipde belirlenmiştir. Minimum sürgün sayıları ise bütün genotiplerde 1 adet olarak tespit edilmiştir.



Şekil 25. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı genotiplerin sürgün sayıları

Tablo 19. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı genotiplerin sürgün sayılarının varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-Oranı	Güven Düzeyi
Gruplar Arası	6	0.506	0.084		
Gruplar İçi	63	12.135	0.192	0.438	0.850
Toplam	69	12.641	0.276		

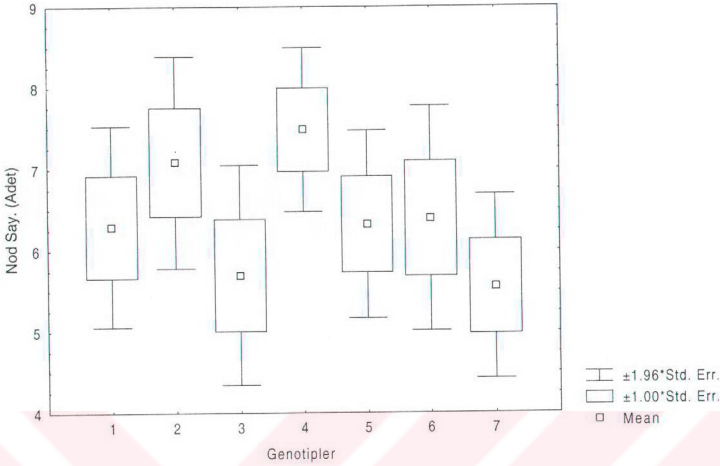
Farklı genotipler arasında sürgün sayısı bakımından elde edilen verilerin anlamlı olup olmadıklarının ortaya koymak için varyans analizi yapılmış ve istatistiki açıdan genotipler arasında sürgün sayıları bakımından bir farklılığa rastlanmamıştır (Tablo 19).

3.1.2.2. Nod Sayısına Etkisi

Denemelerde kullanılan tüm genotiplere ait eksplantların sürgünlerindeki nod sayısı gelişimleri ise aşağıdaki Tablo 20 ve Şekil 26'da açıklanmaya çalışılmıştır.

Tablo 20. Farklı *Quercus hartwissiana* genotiplerine ait eksplantlarındaki nod sayılarının gelişimi

Genotip No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Nod Say (adet)	Maksimum Nod Say. (adet)	Minimum Nod Say. (adet)
1	0.2	6.29±3.08	13	2
2	0.2	7.08±3.18	13	2
3	0.2	5.69±3.30	12	2
4	0.2	6.60±3.23	13	2
5	0.2	6.32±2.93	12	2
6	0.2	6.39±3.38	11	2
7	0.2	5.62±3.11	11	2



Şekil 26. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı genotiplerin nod sayıları

Tablo 20 ve Şekil 26'nın incelenmesinden de anlaşılacağı gibi; genotipler arasında nod sayısı bakımından da çok büyük farklar görülmemiştir. Ortalama nod sayıları incelendiğinde en yüksek nod sayısı 7.08 nodla 2 nolu genotipde gerçekleşmiştir. Bunu 6.60 nodla 4 nolu genotip, 6.39 nodla 6 nolu genotip, 6.32 nodla 5 nolu genotip ve 6.29 nodla 1 nolu genotip izlemiştir. Ortalama nod sayılarının en düşüğü ise 5.69 nodla 3 nolu genotip ve 5.62 nodla 7 nolu genotiplerde gerçekleşmiştir. Eksplantlardaki maksimum nod sayıları ise 13 nodla 1, 2 ve 4 nolu genotiplerde gözlenmiştir. Bunu 12 nodla 3 ve 5 nolu genotipler takip etmiştir. Maksimum nod sayılarının en düşük değeri ise 11 nodla 6 ve 7 nolu genotiplerde belirlenmiştir. Minimum nod sayıları ise bütün genotiplerde 2 adet olarak tespit edilmiştir.

Tablo 21. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı genotiplerin nod sayılarının varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-Oranı	Güven Düzeyi
Gruplar Arası	6	1.613	0.387	0.692	0.655
Gruplar İçi	171	66.347	0.268		
Toplam	177	67.960	0.655		

Farklı genotipler arasında nod sayıları bakımından elde edilen verilerin anlamlı olup olmadıklarını ortaya koymak için varyans analizi yapılmış ve istatistiki açıdan genotipler arasında nod sayıları bakımından bir farklılığa rastlanmamıştır (Tablo 21).

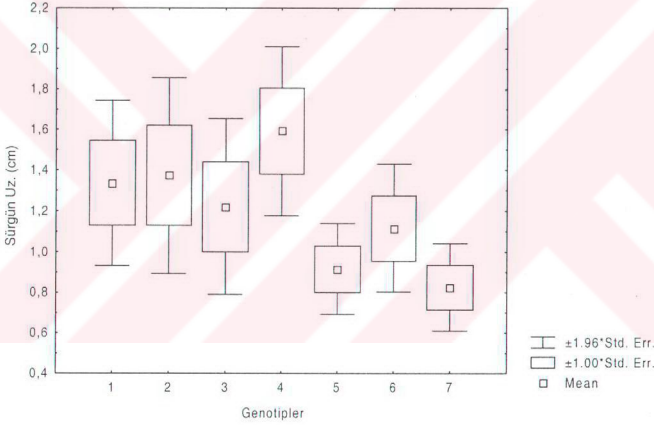
3.1.2.3. Sürgün Uzunluğuna Etkisi

Bütün genotiplerde 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamında kültüre alınan eksplantlarda 6. hafta sonunda yapılan gözlemlerde sürgün uzunluklarına ait gelişimler Tablo 22 ve Şekil 27'de verilmiştir.

Tablo 22. Farklı *Quercus hartwissiana* genotiplerine ait eksplantlardaki sürgün uzunlukları gelişimi

Genotip No	BA Dozları (mg/l)	Ort. Sür. Uzun. (cm)	Maksimum Sür. Uzun. (cm)	Minimum Sür. Uzun. (cm)
1	0.2	1.33±1.01	3.2	0.2
2	0.2	1.37±1.17	4	0.1
3	0.2	1.22±1.05	4.1	0.2
4	0.2	1.48±1.28	4.8	0.2
5	0.2	0.91±0.57	2.7	0.2
6	0.2	1.11±0.76	2.9	0.1
7	0.2	0.82±0.57	2.1	0.1

Tablo 22 ve Şekil 27'nin incelenmesinden de görüleceği gibi; genotipler arasında sürgün uzunlukları bakımından ortalama sürgün uzunlukları en iyi 1.48 cm ile 4 nolu genotipte gerçekleşmiştir. Bunu 1.37 cm ile 2 nolu genotip, 1.33 cm ile 1 nolu genotip , 1.22 cm ile 3 nolu genotip, 1.11 cm ile 6 nolu genotip ve 0.91 cm ile 5 nolu genotip izlemiştir. Ortalama sürgün uzunluklarından en kısıtı ise 0.82 cm ile 7 nolu genotipte olmuştur. Maksimum sürgün uzunluğu ise 4.8 cm ile 4 nolu genotipte belirlenmiştir. Bunu 4.1 adetle 3 nolu genotip, 4 cm ile 2 nolu genotip, 3.2 cm ile 1 nolu genotip, 2.9 cm ile 6 nolu genotip, 2.7 cm ile ise 5 nolu genotip izlemiştir. En düşük değer ise 2.1 cm ile 7 nolu genotipte belirlenmiştir. Minimum sürgün sayıları 1, 3, 4 ve 5 nolu genotiplerde 0.2 cm; 2, 6 ve 7 nolu genotiplerde ise 0.1 cm olarak tespit edilmiştir.



Şekil 27. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı genotiplerin sürgün uzunlukları

Farklı genotipler arasındaki sürgün uzunlukları gelişimlerini ortaya koymak için istatistik analizler yapılmıştır. Varyans analizi ile farklılık ortaya konulmuş ve Duncan testi ile bu farklılığı yaratan gruplar test edilmiştir. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 23 ve 24'de verilmiştir.

Tablo 23. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı genotiplerin sürgün uzunluklarının varyans analizi sonuçları

Varyans Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F-Oranı	Güven Düzeyi
Gruplar Arası	6	12.216	2.036	2.235	0.042
Gruplar İçi	171	155.777	0.910		
Toplam	177	167.993	2.946		

Yapılan varyans analizi sonucunda, genotipler arasında sürgün uzunlukları bakımından fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Farklılığın hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için Duncan testinden yararlanılmıştır.

Tablo 24. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı genotiplerin sürgün uzunluklarının Duncan testi sonuçları

Genotipler	Homojen	Gruplar
4	X	
2	X	X
1	X	X
3	X	X
6	X	X
5		X
7		X

Tablo 24 incelendiğinde görüldüğü gibi, 4 nolu genotipe ait eksplantlar sürgün uzunluğu bakımından 5 ve 7 nolu genotiplere ait eksplantlardan 0.05 yanılma ile farklı bulunmuştur. Diğer genotipler arasında istatistiki açıdan bir farklılığa rastlanamamıştır.

3.1.3. Farklı Eksplant Kaynaklarının Sürgün Oluşumu ve Çoğalmasına Etkisi

Quercus hartwissiana'ya ait koltuk ve sürgün uç tomurcukları; sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu veren 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamında kültüre alınmışlardır.

Tomurcuk eksplantları ilk beş gün boyunca diğer denemelerde olduğu gibi bulaşmayı engellemek için her gün taze ortamlara aktarılmıştır. Denemelerde meydana gelebilecek olası bir enfeksiyonu engellemek için başlangıç ortamına fungusit ve antibiyotik ilave edilmiştir. Kültüre alınma işleminden bir hafta sonra tomurcuklar açılmaya başlamış, daha sonra genç yaprakları görülmüş ve sürgün farklılaşması gerçekleşmiştir. Eksplantların kültüre alınmasından 4 hafta sonra yapılan gözlemlerde koltuk ve sürgün uç tomurcuklarına ait eksplantlarda sürgün farklılaşması ve çoğalmasının gerçekleştiği belirlenmiştir.

Kültür başlangıcından 8 hafta sonra yapılan gözlem ve ölçümlerde ; koltuk ve sürgün uç tomurcuklarında sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluklarında farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Eksplant kaynağının farklılığı; sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğunda değişimlere neden olmuş ve bu değişimler ölçümler sonucu belirlenmiştir. Bu eksplantların gelişim durumları Şekil 28 ve 29'da görülmektedir.



Şekil 28. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki koltuk tomurcuklarında kültürden 8 hafta sonra sürgün gelişimi



Şekil 29. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki sürgün uç tomurcuklarında kültürden 8 hafta sonra sürgün gelişimi

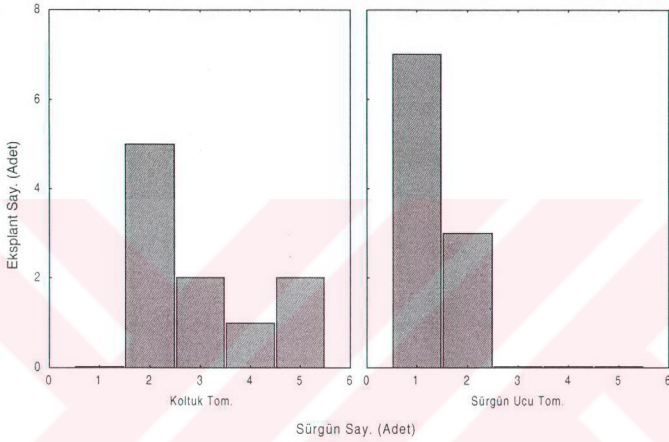
3.1.3.1. Sürgün Sayısına Etkisi

GD temel besin ortamına ilave edilen 0.2 mg/l BA konsantrasyonunda kültüre alınan koltuk ve sürgün uç tomurcuklarının; sürgün sayılarının gelişimleri Tablo 25 ve Şekil 30 ve 31'de verilmiştir.

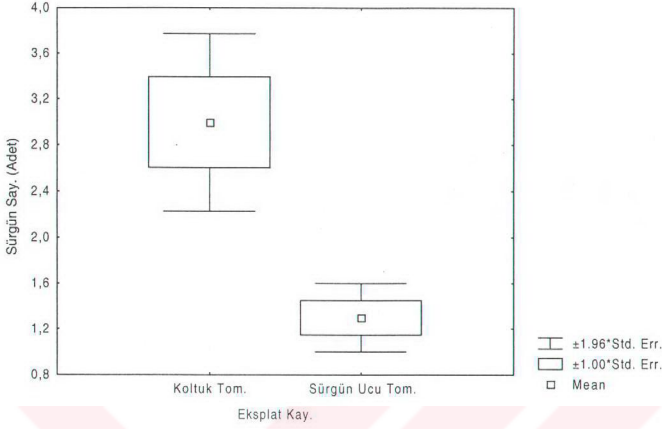
Tablo 25. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı eksplant kaynaklarının 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamındaki sürgün sayısı gelişimleri

Eksplant Kaynağı	BA Dozları (mg/l)	Ort. Sür. Say. (adet)	Maksimum Sür. Say. (adet)	Minimum Sür. Say. (adet)
Koltuk T.	0.2	3±1.24	5	2
Sürgün Uç T.	0.2	1.3±0.48	2	1

Tablo 25'in incelenmesinde koltuk tomurcukların sürgün uç tomurcuklara kıyasla daha fazla sürgün verdiği anlaşılmaktadır. Koltuk tomurcukları ortalama 3 adet sürgün verirken sürgün uç tomurcukları ortalama 1.3 adette kalmıştır. Yine koltuk tomurcukları maksimum 5, minimum 2 adet sürgün verirken; sürgün uç tomurcukları maksimum 2 ve minimum 1 adet sürgün vermiştir (Şekil 28 ve 29) .



Şekil 30. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu sürgün sayıları



Şekil 31. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının sürgün sayıları

Farklı eksplant kaynakları arasındaki sürgün sayılarının gelişimlerini ortaya koymak için T testi yapılmış ve farklılık ortaya konulmuştur. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 26'da verilmiştir.

Tablo 26. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı eksplant kaynaklarının sürgün sayılarına ait T testi sonuçları

I. Grup ortalaması (koltuk)	II. Grup ortalaması (sürgün uç)	T Değeri	Serbestlik Derecesi	P
1,845	1,331	4,466	18	0,01

Yapılan T testi sonucunda, eksplant kaynakları arasındaki sürgün sayıları bakımından fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$).

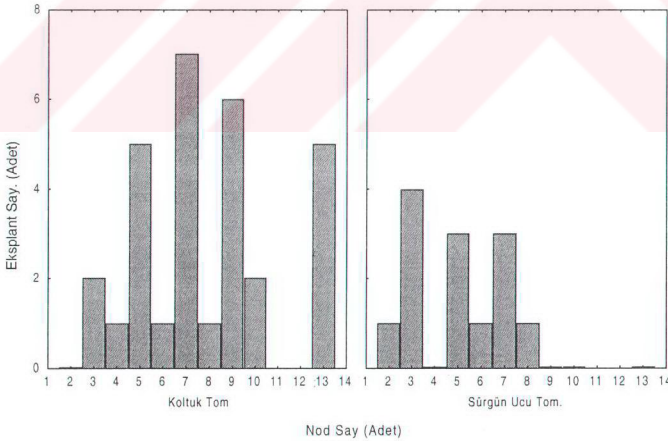
3.1.3.2. Nod Sayısına Etkisi

Koltuk ve sürgün uç tomurcuklarından alınan eksplantlarda oluşan sürgünlerdeki nod sayılarının gelişimleri Tablo 27 ve Şekil 32 ve 33'de verilmiştir.

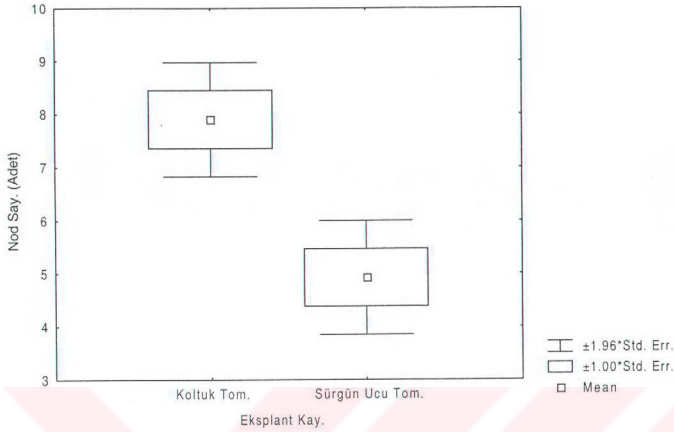
Tablo 27. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı eksplant kaynaklarının GD temel besin ortamındaki nod sayısı gelişimleri

Eksplant Kaynağı	BA Dozları (mg/l)	Ort. Nod Say. (adet)	Maksimum Nod Say. (adet)	Minimum Nod Say. (adet)
Koltuk T.	0.2	7.90±2.99	13	3
Sürgün Uç T.	0.2	4.92±1.97	8	2

Tablo 27'nin incelenmesinde koltuk tomurcuklarının sürgün uç tomurcuklara kıyasla daha fazla nod sayısına sahip olduğu anlaşılmaktadır. Koltuk tomurcukları ortalama 7.90 adet nod sayısına sahipken sürgün uç tomurcukları ortalama 4.92 adette kalmıştır. Yine koltuk tomurcukları maksimum 13, minimum 3 adette noda sahipken, sürgün uç tomurcukları maksimum 8 ve minimum 2 adet nod oluşturmuşlardır (Şekil 32 ve 33).



Şekil 32. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu nod sayıları



Şekil 33. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu nod sayıları

Koltuk ve sürgün uç tomurcuklarına ait eksplantlar arasındaki nod sayılarının gelişimlerini ortaya koymak için istatistik analizler yapılmış ve T testi ile farklılıklar belirlenmiştir. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 28'de verilmiştir.

Tablo 28. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı eksplant kaynaklarının nod sayılarının T testi sonuçları

I. Grup ortalaması (koltuk)	II. Grup ortalaması (sürgün uç)	T Değeri	Serbestlik Derecesi	P
2,852	2,290	3,389	41	0,01

Yapılan T testi sonucunda, eksplant kaynakları arasındaki nod sayıları bakımından fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$).

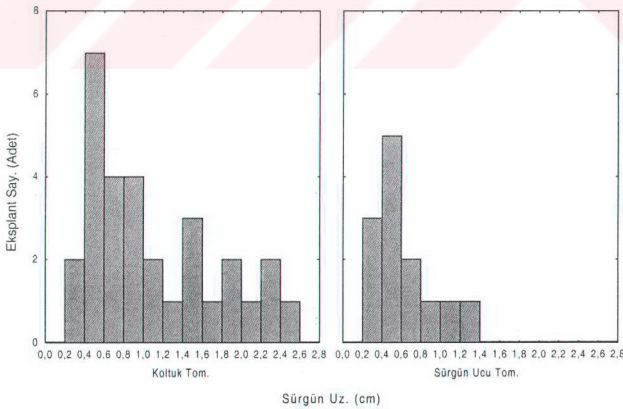
3.1.3.3. Sürgün Uzunluğuna Etkisi

Koltuk ve sürgün uç tomurcuklarına ait eksplantların in vitro'da oluşan sürgün uzunluklarını belirlemek amacıyla kültürlerden iki ay sonra yapılan ölçümlerde koltuk ve sürgün uç tomurcukları bakımından elde edilen veriler Tablo 29 ve Şekil 34 ve 35'de verilmiştir.

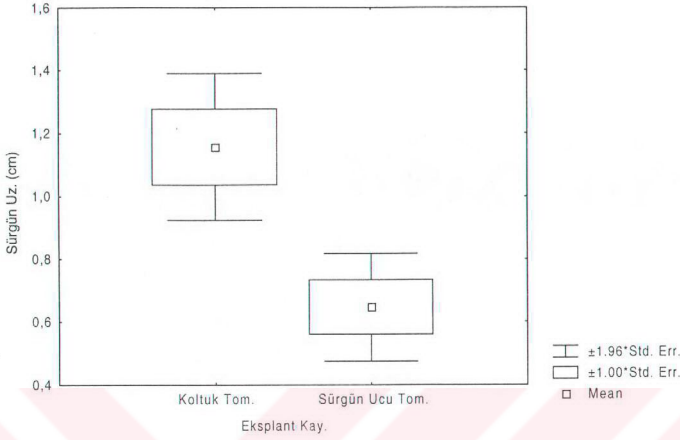
Tablo 29. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı eksplant kaynaklarının GD temel besin ortamındaki sürgün uzunlukları gelişimleri

Eksplant Kaynağı	BA Dozları (mg/l)	Ort. Sür. Uzun. (cm)	Maksimum Sür. Uzun. (cm)	Minimum Sür. Uzun. (cm)
Koltuk T.	0.2	1.15±0.65	2.5	0.4
Sürgün Uç T.	0.2	0.64±0.32	1.3	0.3

Tablo 29'un incelenmesinde koltuk tomurcukların sürgün uç tomurcuklara kıyasla daha fazla sürgün uzunluğuna sahip oldukları anlaşılmaktadır. Koltuk tomurcukları ortalama 1.15 cm sürgün uzunluğu verirken sürgün uç tomurcukları ortalama 0.64 cm sürgün uzunluğuna sahip olmuştur. Yine koltuk tomurcukları maksimum 2.5 cm, minimum 0.4 cm sürgün uzunluğu verirken; sürgün uç tomurcukları maksimum 1.3 cm ve minimum 0.3 cm sürgün uzunluğu göstermişlerdir (Şekil 34 ve 35).



Şekil 34. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının oluşturduğu sürgün uzunlukları



Şekil 35. GD + 0.2 mg/l BA ortamındaki farklı eksplant kaynaklarının sürgün uzunlukları

Farklı eksplant kaynakları arasındaki sürgün uzunlukları gelişimlerini ortaya koymak için istatistik analizler yapılmış ve T testi ile farklılıklar ortaya konulmuştur. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 30'da verilmiştir.

Tablo 30. *Quercus hartwissiana*'ya ait farklı eksplant kaynaklarının sürgün uzunluklarının T testi sonuçları

I. Grup ortalaması (koltuk)	II. Grup ortalaması (sürgün uç)	T Değeri	Serbestlik Derecesi	P
1,156	0,646	2,684	41	0,01

Yapılan T testi sonucunda, koltuk ve sürgün uç tomurcuk eksplantları arasındaki sürgün uzunluklarının gelişimlerinde fark olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.01$).

3.2. Mikroçeliklerin Köklendirme Denemeleri

Çoğaltma ortamlarında elde edilen mikroçelikler köklendirme denemeleri için köklendirme ortamlarına aktarılmışlardır. Köklendirme denemelerinde temel besin ortamı olarak çoğaltma ortamında sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından en iyi sonucu veren GD ortamından yararlanılmıştır. Bu temel besin ortamı köklendirme denemelerinde 1/3 yoğunlukta kullanılmıştır.

Köklendirme denemelerinde oksin grubu hormonlardan IBA ile çalışılmıştır. Denemeler iki şekilde yapılmıştır. Bunların ilki mikroçeliklerin dip kısmını farklı IBA konsantrasyonlarında, farklı sürelerde bekletme ve daha sonra bunları hormonsuz 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklendirmeye alma işlemidir. Diğer deneme ise yüksek IBA konsantrasyonu ilaveli 1/3 yoğunluktaki GD ortamlarında mikroçelikleri farklı sürelerde kültüre alma ve daha sonra hormonsuz 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklendirmeye alma işlemidir.

3.2.1. Mikroçelikleri Farklı IBA Dozlarına Batırma İşleminin Köklenme Üzerine Etkileri

Kök ortamına alınmadan önce mikroçeliklerin dip kısımlarını IBA ile işleme tabi tutmanın mikroçeliklerin köklenmeleri üzerine etkisini belirlemek için in vitro'da elde edilen mikroçelikler 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklendirme ortamına alınmışlardır. Mikroçelikler 0.5 ve 1 g/l IBA konsantrasyonuna 2 ve 6 dakika batırılmış ve daha sonra hormonsuz GD ortamında köklenmeye alınmışlardır. Kültür başlangıcından 7 – 10 gün sonra, 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklenmeye alınan mikroçeliklerde bazal kısımlarda şişmeler ve kallus oluşumları gözlenmiştir. Köklenme ortamına alınma işleminden 35. günde bir - iki mikroçelikte kök oluşumu gözlenmiş, diğer mikroçeliklerde ise köklenme gözlenmemiştir (Şekil 36). 10 hafta sonra yapılan gözlemlerde köklenmenin çok düşük olduğu ve köklenen mikroçeliklerde bazı kök anormallikleri olduğu belirlenmiştir (Şekil 37). IBA'nın farklı dozlarına farklı sürelerde mikroçeliklerin dip kısımlarını batırma işlemindeki köklenme durumları Tablo 31 'de verilmiştir.



Şekil 36. Dip kısımları 1.0 g/l IBA'ya 2 dakika batırılan mikroçeliklerin köklenme durumları



Şekil 37. Dip kısımları 1.0 g/l IBA'ya 6 dakika batırılan mikroçeliklerde oluşan kök anormallikleri

Tablo 31. Köklendirme denemelerinde farklı doz ve bekleme sürelerinin mikroçeliklerin köklenme durumuna etkisi

Ortamlar	IBA konsant. (g/l)	Bekleme süre. (dak.)	Köklenme Oranı (%)
1/3 GD	0.5	2	--
1/3 GD	0.5	6	--
1/3 GD	1.0	2	13.33
1/3 GD	1.0	6	0.66

Tablo 31'in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi denemeler sonucunda köklenmenin çok geç gerçekleşmesinin yanında; köklenme oranları da çok düşük gerçekleşmiştir. 0.5 g/l IBA'ya 2 ve 6 dakika batırılan ve daha sonra 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklenmeye alınan mikroçeliklerin hiç birinde köklenme gözlenmemiştir. 1 g/l IBA'ya 2 dakika batırılan ve daha sonraki 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklenme gözlenmiştir. Köklenme oranı % 13.33 ile bu denemedeki en yüksek değer olmakla birlikte çok düşük bulunmuştur. 1 g/l IBA'ya 6 dakika batırılan ve daha sonraki 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklenmeye alınan mikroçeliklerden ise köklenme oranı çok daha düşük bir değerle % 0.66 olarak tespit edilmiştir Bu işlemde gövdenin uç kısmına yakın yerinden kök çıkmış ve kök anormallikleri oluşturmuştur. IBA'nın farklı konsantrasyonlarına farklı süreler mikroçeliklerin dip kısımlarını batırma denemelerindeki başarı oranı çok düşük bulunmuştur. Çok az sayıda köklenen mikroçeliklerin kök sayıları da her eksplantta birer adet olarak gerçekleşmiştir.

3.2.2 Mikroçelikleri 25 mg/l IBA Dozu Ekli Ortamlarda 24 ve 48 Saat Bekletme İşleminin Köklenme Üzerine Etkileri

Yüksek konsantrasyonlu IBA ortamlarının mikroçeliklerin köklenmesi üzerine etkilerini belirlemek için in vitro koşullarda elde edilen mikroçelikler 1/3 yoğunluktaki GD ortamında kültüre alınmışlardır. 25 mg/l IBA konsantrasyonlu 1/3 yoğunluktaki GD ortamında mikroçelikler 24 saat ve 48 saat kaldıktan sonra, hormonsuz 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklendirmeye alınmışlardır. Mikroçeliklerde 4. günden itibaren bazal kısımlarda şişmeler ve kallus oluşumu gözlenmiştir. kök farklılaşması ise 7. günde gözlenmiş ve 15. günde köklenme tamamen gerçekleşmiştir (Şekil 38 ve 39). Mikroçeliklerin köklendirme ortamına alınmasından bir ay sonra yapılan gözlem ve ölçümler sonucunda mikroçeliklerin köklenme oranları, kök sayıları ve kök uzunlukları belirlenmiştir.



Şekil 38. 25 mg/l BA içerisinde 48 saat bekletilen mikroçeliklerin 15. günde kök gelişimleri



Şekil 39. 25 mg/l BA içerisinde 24 saat bekletilen mikroçeliklerin 15. günde kök gelişimleri

Tablo 32. Mikroçeliklerin 25 mg/l IBA + 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme işleminin köklenme oranları

Ortamlar	IBA konsant. (mg/l)	Bekleme süre. (saat)	Köklenme Oranı (%)
1/3 GD	25	24	80
1/3 GD	25	48	100

Mikroçeliklerin 24 saat ve 48 saat 25 mg/l IBA dozları ilaveli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında bekletme işleminin köklenme oranları, kök sayısı ve kök uzunluğunu etkilediği gözlenmiştir. Farklı sürelerde bekletilen *Quercus hartwissiana* mikroçeliklerinin bir ay sonraki kök gelişimine ait resimler Şekil 40 ve 41'de görülmektedir. Köklenme 48 saat IBA'lı ortamda bekletilen mikroçeliklerde 7. günde başlamıştır ve bu işlemde kültüre alınan bütün mikroçeliklerde köklenme gözlenmiştir. Köklenme oranı % 100 olarak tespit edilmiştir. 24 saat IBA'lı ortamda bekletilen mikroçeliklerde ise köklenme 10. günde

başlamıştır. Kök ortamına alınan mikroçeliklerde köklenme oranı % 80 olarak tespit edilmiştir.

IBA'nın 25 mg/l dozu ilaveli GD temel besin ortamında 24 ve 48 saat bekletilen ve daha sonra hormonsuz 1/3 yoğunluktaki GD ortamında kültüre alınan eksplantlardaki köklenme durumları Tablo 32 ve Şekil 42 ve 43'de verilmiştir.



Şekil 40. 1/3 GD + 25 mg/l IBA ortamında 48 saat bekletilen mikroçeliklerin köklenme durumları

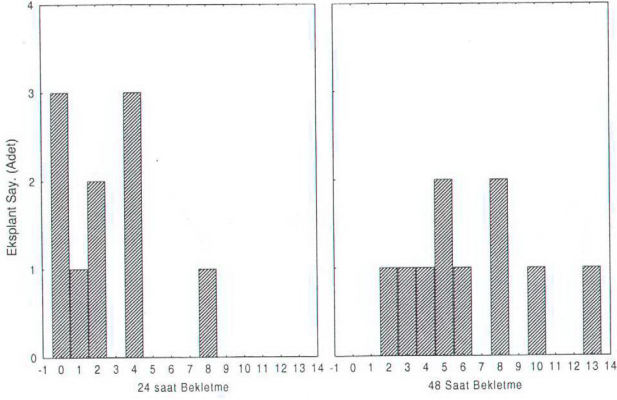


Şekil 41. 1/3 GD + 25 mg/l IBA ortamında 24 saat bekletilen mikroçeliklerin köklenme durumları

Tablo 33. Mikroçeliklerin 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme işleminin köklenme sayıları

Ortam No	IBA Dozları (mg/l)	Bekleme Sür. (saat)	Ort. Kök Say. (adet)	Maks. Kök Say. (adet)	Min. Kök Say. (adet)
1/3GD	25	24	2.5±2.55	8	1
1/3 GD	25	48	6.4±3.37	10	2

Köklendirme ortamında 25 mg/l IBA + 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 saat bekletilen mikroçeliklerden ortalama 2.5 adet kök sayısı gerçekleşmiştir. Bu işlemde maksimum 8 adet kök meydana gelirken minimum kök sayısı ise 1 olarak gerçekleşmiştir. Aynı ortam koşullarında 48 saat bekletilen mikroçeliklerin ortalama kök sayıları 6.4 adet olarak belirlenmiştir. Bu işlemde de maksimum kök sayısı 10 adet ve minimum kök sayısı 2 adet olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 42. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletilen mikroçeliklerin kök sayıları



Şekil 43. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme süresinin mikroçeliklerin kök sayılarına etkileri

Farklı sürelerde IBA'lı ortamlarda bekletmenin, *Quercus hartwissiana* mikroçeliklerinin kök sayısı gelişimi üzerine etkilerini ortaya koymak için istatistik

analizler yapılmış ve T testi ile farklılık test edilmiştir. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 34'de verilmiştir.

Tablo 34. *Quercus hartwissiana* mikroçeliklerinin IBA ilaveli 1/3 GD ortamında bekletme sürelerinin kök sayısı üzerine etkisine ait T testi sonuçları

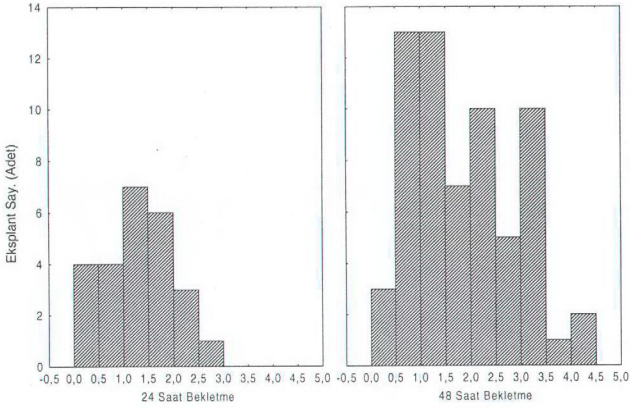
I. Grup ortalaması (48 saat)	II. Grup ortalaması (24 saat)	T Değeri	Serbestlik Derecesi	P
2,549	1,885	2,345	24	0,05

Yapılan T testi sonucunda, IBA ilaveli 1/3 GD ortamında bekletme sürelerinin kök sayısı bakımından farklılık olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

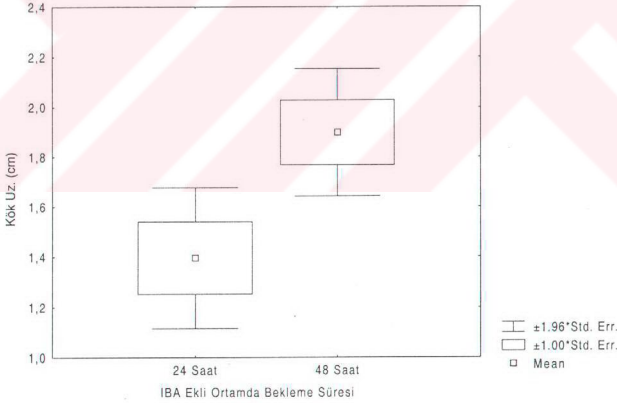
24 ve 48 saat 25 mg/l IBA ilaveli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında bekletilen *Quercus hartwissiana* mikroçeliklerinin kök uzunluklarının gelişimleri Tablo 35 ve Şekil 44 ve 45'de verilmiştir.

Tablo 35. Mikroçeliklerin 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme işlemindeki kök uzunluklarının gelişim durumları

Ortam No	IBA Dozları (mg/l)	Bekleme Süresi (saat)	Ort. Kök Uz. (cm)	Maksimum Kök Uz. (cm))	Minimum Kök Uz. (cm)
1/3 GD	25	24	1.39±0.71	2.9	0.3
1/3 GD	25	48	1.89±1.04	4.5	0.3



Şekil 44. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletilen mikroçeliklerin kök uzunlukları



Şekil 45. 25 mg/l IBA dozu ekli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 ve 48 saat bekletme süresinin mikroçeliklerin kök uzunluklarına etkileri

Köklendirme ortamınlarından 25 mg/l IBA + 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 saat bekletilen mikroçeliklerde ortalama 1.39 cm kök uzunluğu gerçekleşmiştir. Bu işlemden

maksimum 2.9 cm kök uzunluğu meydana gelirken minimum kök uzunluğu ise 0.3 cm olarak gerçekleşmiştir. Aynı ortam koşullarında 48 saat bekletilen mikroçeliklerin ortalama kök uzunlukları 1.89 cm olarak belirlenmiştir. Bu işlemde de maksimum sürgün uzunluğu 4.5 cm ve minimum kök uzunluğu 0.3 cm olarak gerçekleşmiştir

Farklı sürelerde IBA'lı ortamlarda bekletmenin, *Quercus hartwissiana* mikroçeliklerinin kök uzunluğuna etkilerini ortaya koymak için istatistik analizler yapılmış ve T testi ile farklılık test edilmiştir. İstatistik analizlerin sonuçları Tablo 36'da verilmiştir.

Tablo 36. *Quercus hartwissiana* mikroçeliklerinin IBA ilaveli 1/3 GD ortamında bekletme sürelerinin kök uzunluğu üzerine etkisine ait T testi sonuçları

I. Grup ortalaması (48 saat)	II. Grup ortalaması (24 saat)	T Değeri	Serbestlik Derecesi	P
1,898	1,396	2,215	87	0,05

Yapılan T testi sonucunda, IBA ilaveli 1/3 GD ortamında bekletme sürelerinin kök uzunluğu bakımından farklı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0.05$).



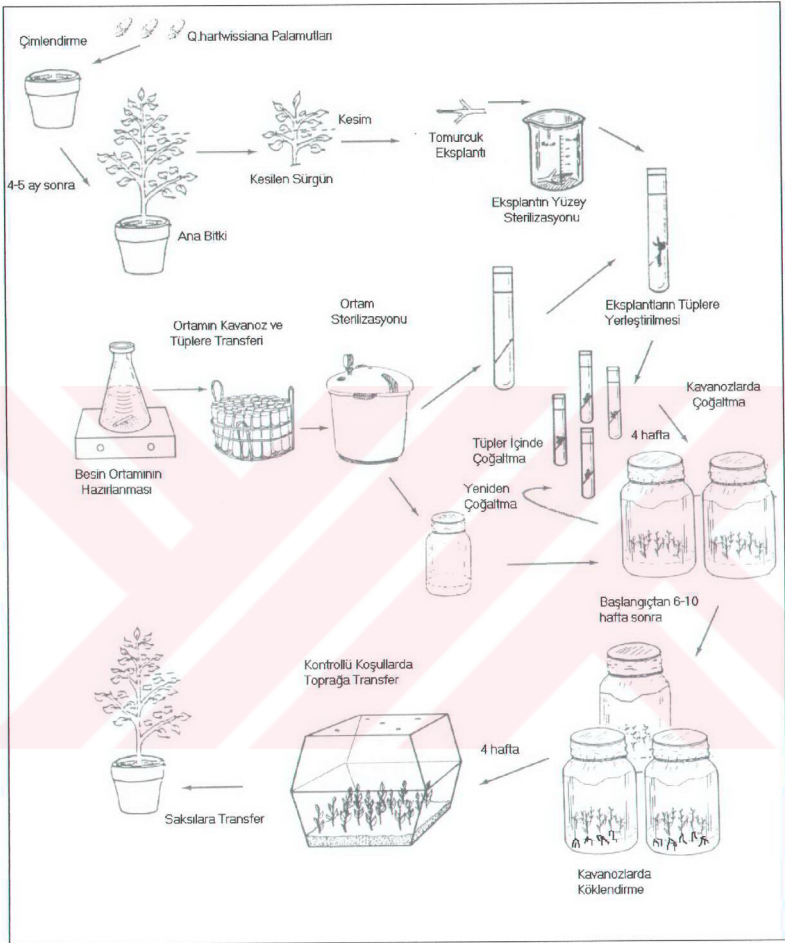
Şekil 46. Toprağa transfer edilen rejenera fideciklerin görünümüleri



Şekil 47. Toprağa transfer edilen rejenerer fidelik

Köklenmesi gerçekleşen mikroçelikler kök ortamında kültüre alındıktan 1 ay sonra köklenme ortamından alınıp agar ve ortam artıklarından arındırılarak 1: 1: 1 toprak, perlit ve turba karışımına şaşırtılmıştır (Şekil 46 ve 47). Toprağa transfer edilen köklü fidelerin dış ortama adaptasyonu için üzerleri cam ile kapatılmıştır. Bu işlemi takip eden 10 gün boyunca üzerlerindeki cam kapak kademeli olarak açılmış ve köklü fideler sera koşullarına aktarılmışlardır.

Quercus hartwissiana eksplantlarının kültüre alınmasından, köklenmiş fidan elde edilinceye kadar geçen aşamaları gösteren akış şeması Şekil 48'de verilmiştir.



Şekil 48. *Quercus hartwissiana*'nın doku kültürü ile üretilmesine ait akış şeması

4. TARTIŞMA

Doku kültürü yöntemi gelecekte birçok türün kitlesel üretimi için potansiyel konumdadır. Bitki doku kültürleri ile bitkinin herhangi bir parçasından yada tek bir hücreden bütün bir bitkinin yetiştirilmesi için her bitkiye ait uygun ortamın bulunması gerekmektedir. Araştırma tomurcuk eksplantlarının büyüme ve çoğalması ile mikroçeliklerin köklendirilmesi aşamalarından meydana gelmiştir.

4.1. Sürgün Büyüme ve Çoğaltma Aşaması

Doku kültürü tekniklerinde en önemli faktörlerden bir tanesi de mineral madde ve vitaminlerden oluşan besin ortamlarıdır. Doku kültürü tekniklerinin başlamasıyla bir çok besiyeri denenmiş ve günümüze kadar birçok besin ortamı geliştirilmiştir. Bunlar bitkilerin türüne ve kültür çeşidine göre değişiklik göstermektedir. Temel besin ortamlarının seçiminde genellikle benzer araştırma sonuçlarından faydalanılmaktadır.

Meşelerin doku kültürü çalışmaları ele alındığında, genellikle GD (Chalupa 1984; San-Jose vd. 1985; Vieitez vd. 1985; Meier-Dinkel 1987; San-Jose vd. 1988; San-Jose vd. 1988; Pevalek 1991; Ballester, Meier-Dinke 1992; Vieitez vd. 1994; Vieitez vd. 1995) ve WPM (Woody Plant Medium) (Chalupa 1984; Volkaert vd. 1990) temel besin ortamlarının daha iyi sonuç verdiği belirtilmektedir. Bu çalışmada da Llyod ve McCown tarafından geliştirilen WPM (Woody Plant Medium) ve Gresshof ve Doy tarafından geliştirilen GD temel besin ortamları kullanılmıştır.

Doku kültürü çalışmalarının en temel problemlerinin başında kültür ortamında bakteri ve mantar oluşumu gelmektedir (Dots, Roberts, 1986). WPM ve GD olmak üzere iki temel besin ortamlarında ilk denemelerde kültüre alınan *Quercus hartwissiana* tomurcuk eksplantlarında 7. gün sonunda yapılan gözlemlerde eksplantların tümünün bakteri ve mantarlar tarafından enfekte olduğu belirlenmiştir. Enfeksiyonlar konusunda Gönülşen (1987) kültür sırasında antibiyotiklerle bulaşmanın kontrol altına alındığını ifade etmiştir. Ayrıca Watt vd. (1995), bazı durumlarda mantar bulaşmasını engellemek için besin ortamına fungusit olarak Amphotericin B ilave ettiklerini belirtmişlerdir. Reed vd.

(1999)'de Bakteri El Kitabı'nda doku kültürü yöntemlerinde mantar ve bakteri bulaşmalarını önlemek için ortamlara antibiyotik ve fungusit ilavesinin uygun olacağını ifade etmişlerdir. Literatürdeki bilgiler ışığında çalışmamızda enfeksiyonların ortadan kaldırılması amacıyla ortamlara mantar bulaşmasını engellemek için fungusit (40mg/l Amphotericin B) eklenmiştir. Bakteri bulaşmasının engellemek için ise antibiyotik (100 000 U/l Penisilin) ilave edilmiştir. Buna ilave olarak eksplantların kültür başlangıcından itibaren 5 gün boyunca her gün taze ortamlara alınma işlemi de enfeksiyonlara karşı olumlu sonuç vermiştir. Daha sonraki denemelerde ise enfeksiyonların oluşmadığı gözlenmiştir.

Çalışmada yapılan gözlemler sonucunda tomurcuk eksplantlarının sürme zamanları bakımından ortamlar arasında bir farklılığa rastlanmamıştır. Her iki ortamda da başlangıçtan bir hafta sonra tomurcuk eksplantları patlamaya, genç yaprak taslakları büyümeye başlamıştır. Kültüre alınma işleminden 4 hafta sonra yapılan gözlemlerde her iki temel besin ortamında sürgün farklılaşması gözlenmiştir. 10 hafta sonra yapılan ölçüm ve gözlemlerde sonucunda sürgün sayıları, nod sayıları ve sürgün uzunlukları bakımından ortamlar arasında gelişim farklılıkları belirlenmiştir.

Deneme kapsamında farklı BA dozlarına sahip GD ortamlarında sürgün çoğalması, WPM ortamlarından daha iyi sonuç vermişlerdir (Şekil 7). 0.2 mg/l BA ilaveli ortamlarda en yüksek çoğalma 5.1 adet sürgün sayısı ile GD ortamında olmuştur. Nod sayıları bakımından temel besin ortamları 0.2 mg/l BA ilavesinde incelendiğinde ; GD ortamı 8.45 adet ve WPM ortamından 7.18 adet bulunmuştur. Eksplantlardaki sürgünlere ait nod sayılarını incelediğimizde genellikle GD ortamı, WPM ortamından daha iyi sonuç vermiştir. WPM ortamı sadece 0.5 mg/l BA ilavesinde GD ortamının üzerinde (6.05 adet) sonuç vermiştir (Şekil 14). Sürgün uzunluğu bakımından yine GD ortamı BA'nın tüm dozlarında WPM ortamından daha uzun sürgün büyümesi gerçekleştirmiştir (Şekil 18). Bu konu ile ilgili bazı çalışmalar incelenirse; Romano vd (1992), *Quercus suber* ile yaptıkları benzer çalışmada GD ve WPM temel besin ortamlarını kullanmışlar ve GD ortamının sürgün çoğalması ve kök gelişimi için en uygun ortam olduğunu belirtmişlerdir. Rachi (2001), *Quercus robur* ile yaptığı çalışmada eksplantların WPM ortamına gelişimlerinin iyi olduğunu belirtmiştir. Johnson (1989)'da *Quercus lobata* ile yaptığı doku kültürü çalışmalarında GD temel besin ortamının WPM ortamından daha iyi sonuç verdiğini ifade etmiştir. Daha önce yapılmış olan bu kapsamdaki çalışmalarla elde edilen sonuçlara benzer

sonuçlar bu çalışmada da ortaya çıkmış ve sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından GD ortamı WPM ortamından daha iyi sonuç vermiştir.

Bitki büyüme düzenleyicileri ya da diğer adlandırma ile hormonlar büyümeyi ve gelişmeyi düzenlerler. Genellikle sürgün büyümesini ve hücre bölünmesini sitokinin grubu hormonlar teşvik eder. Doku kültürü ortamlarında her bir bitki için doğru hormon çeşidinin ve doğru oranların seçilmesi çok önemlidir(KYTE, Kleyn, 1999). *Quercus* türlerinde yapılan çalışmalarda sürgün oluşumu için ortama ilave edilen sitokinin grubu hormonlardan BA'nın daha olumlu sonuç verdiği ifade edilmiştir (Chalupa 1984; San-Jose vd. 1985; Ide, Yamamoto 1987; Meier-Dinkel 1987; Deidda vd. 1988; San-Jose vd. 1988; Ballester, Meier-Dinkel 1992; Vieitez vd. 1994; Vieitez vd. 1995; Puddephat vd. 1997).

Araştırmamızın büyüme ve çoğaltma aşamasında; daha önce yapılan benzer çalışmalar ışığında eksplantlarda tomurcuk patlaması, sürgün gelişimi ve çoğalması için BA'nın farklı konsantrasyonlarından yararlanılmıştır. BA'nın tüm dozlarında WPM ve GD temel besin ortamlarında 4 hafta sonra yapılan gözlemlerde sürgün farklılaşması belirlenmiştir. Kültür başlangıcından 10 hafta sonra yapılan ölçüm ve gözlemler sonucu BA'nın farklı dozlarının sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, Chalupa (1984) *Quercus robur*'a ait koltuk eksplantlarının sürgün gelişimine ortama ilave edilen 0.2 mg/l BA dozunun büyük etkisi olduğunu ve kinetin ilavesinin sürgün çoğalmasına etkisinin çok az olduğunu rapor etmiştir. San-Jose vd (1985) 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamında *Quercus robur* ve *Quercus rubra* eksplantlarının en iyi sürgün çoğalmasını gerçekleştirdiklerini ifade etmişlerdir. Ide, Yamamoto (1986), *Quercus acutissima*'nın genç fidiciklerinin koltuk tomurcuklarından in vitro'da bitki gelişimini inceledikleri çalışmalarında BA'nın denenen en düşük konsantrasyonunun en yüksek sürgün oluşumunu gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir. San-Jose vd. (1988), *Quercus robur*'un yine San-Jose vd. (1988), *Quercus petraea*'nın in vitro koşullarda üretilmesini etkileyen faktörleri inceledikleri çalışmalarında 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamının sürgün oluşumunda en iyi sonucu verdiğini ifade etmişlerdir. Pevalek (1991), ise yine *Quercus robur* ile çalışmasında en iyi sürgün gelişiminin düşük dozlarda BA içeren ortamlarda gerçekleştiğini ifade etmiştir. Vieitez vd. (1992), WPM ortamında sürgün kültürü çalışmaları *Quercus rubra*, Rachi (2001) ise *Quercus robur* eksplantlarının en iyi sürgün gelişiminin 0.2 mg/l BA ilaveli ortamlarda gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir. Vieitez vd. (1995) tarafından *Quercus robur*'da yapılan benzer çalışmada GD

ortamına ilave edilen 0.2 mg/l BA dozunun en iyi sürgün çoğalmasını verdiğini belirtmişlerdir.

Mevcut araştırmamızda da; sürgün sayısı bakımından en iyi sonucu 5.10 adetle GD ortamına ilave edilen 0.2 mg/l BA dozu vermiştir. GD temel besin ortamında olduğu gibi WPM ortamında da BA'nın konsantrasyonlarının düşmesine bağlantılı olarak sürgün sayılarında bir artış gözlenmektedir. En iyi sürgün oluşumları her iki ortamda da 0.2 mg/l BA dozunda gerçekleşmiş, bunu 0.5 , 1 ve 2 mg/l BA dozları takip etmiş ve bu farkların istatistiksel olarak da anlamlı olduğu ortaya konulmuştur (Tablo 8 ve 9). Bu durumda, meşelerde tür farklılıklarının doku kültürü ile üretim çalışmalarında bitki büyüme düzenleyicilerine verdikleri tepkinin çok genel olarak benzer olduklarını söylemek olasıdır. En iyi sürgün çoğalmasının gerçekleştiği 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamında kültüre alınan bir tomurcuk eksplantından 2 ay sonunda ortalama 5 adet yeni sürgün elde edileceği düşünülürse, 4. ay sonunda $5 \times 5 = 25$ sürgün, 6. ay sonunda $25 \times 5 = 125$ sürgün, 8. ay sonunda $125 \times 5 = 625$ sürgün, 10. ay sonunda $625 \times 5 = 3125$ sürgün ve 12. ay sonunda $3125 \times 5 = 15625$ sürgün elde edilebilir. Diğer bir deyişle, belirlenen en iyi sürgün çoğaltması ortamında kültüre alınan bir tomurcuk eksplantından 1 yıl sonunda 15625 adet mikroçelik elde edilebilir. Bu da ıslah çalışmalarının önem kazandığı ülkemizde asli ağaç türlerimizden olan Istranca meşesinin üstün nitelikli fertlerinin kitlesel üretimi için çok büyük bir potansiyeldir.

Sürgün çoğaltması aşamasında ölçülen nod sayıları incelendiğinde (Tablo 10 ve 11 ile Şekil 14); en yüksek nod sayısının 1 mg/l BA ilaveli GD ortamında gerçekleştiği görülmektedir. WPM ortamında da en yüksek nod sayısı yine aynı BA konsantrasyonunda gerçekleşmiştir. GD ve WPM ortamları ayrı ayrı incelenirse nod sayısı bakımından ikinci sırada 0.2 mg/l BA dozunun geldiği görülmektedir. Bunu 0.5 mg/l BA dozu takip etmiştir. En düşük nod sayıları ise sürgün sayılarında olduğu gibi 2 mg/l BA dozunda gerçekleşmiştir.

Eksplantların sürgün uzunlukları incelendiğinde nod sayıları ile benzer sonuçlar ortaya çıkmaktadır. En yüksek sürgün uzunluğunun 1 mg/l BA ilaveli GD ortamında ortalama 2.26 cm ile gerçekleştiği görülmüştür. Tablo14 ve 15 ile Şekil 18 incelendiğinde GD ve WPM ortamlarını farklı farklı ele alınırsa; en yüksek sürgün uzunluğunun her iki ortamda da 1 mg/l BA ilavesinde gerçekleştiği görülmektedir. İkinci sırada 0.2 mg/l BA ilaveli ortamlar gelirken bunu 0.5 mg/l BA ilaveli ortamlar takip etmiştir. Tüm ortamları bir bütün olarak incelersek; en iyi sürgün uzunluğunun 1 mg/l BA ilaveli GD ortamında

olduğu, bunu 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamının ve daha sonrada 0.5 mg/l BA ilaveli GD ortamının takip ettiği; WPM ortamındaki en iyi sürgün uzunluğunun ise bunlardan sonra geldiği belirlenmiştir. Doku kültürü çalışmalarında sürgün oluşumu ve gelişimi safhası kendi içinde büyüme ve çoğaltma olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bu iki aşama bazı türlerde aynı ortamda gerçekleşirken bazı türler için iki farklı ortam gerektirmektedir. Çalışmamıza konu olan *Quercus hartwissiana*'nın ise büyüme ve çoğaltma aşamalarını farklı ortamlarda gerçekleştirdiği elde edilen sonuçlar ışığında belirlenmiştir. Bu sonuçlardan anlaşılacağı gibi *Quercus hartwissiana*'nın büyüme ortamı için 1 mg/l BA ilaveli ve çoğaltma ortamı için ise 0.2 mg/l BA ilaveli ortamlar en iyi sonucu vermişlerdir. Bu sonuçlar meşe türleriyle yapılan diğer çalışmalarla paralellik göstermektedir. Deidda vd. (1988), *Q. robur* ve *Quercus petraea*'nın in vitro koşullarda çoğaltılma safhasında önce yüksek BA konsantrasyonlarında, daha sonra alt kültürlerde ise düşük BA konsantrasyonlarından olumlu sonuçlar alındığını belirtmişlerdir. Vieitez vd. (1985), *Quercus robur* eksplantlarının çoğaltılmasında GD ortamına ilave edilen 1 mg/l BA dozunun büyüme safhasında; 0.2 mg/l BA dozunun ise çoğaltma safhasında en iyi sonucu verdiğini ifade etmişlerdir. Evers vd. (1993) *Quercus robur*'un fidanlarını doku kültürü yönteminde kullanırken büyüme ortamı için ortama 1 mg/l BA ilavesinin ve sürgün çoğaltması için ise 0.1 mg/l BA ilavesinin gerekli olduğunu belirtmişlerdir. Meier-Dinkel (1987) *Quercus robur* ve *Quercus petraea*'da yapmış olduğu çalışmada 0.5 – 1 mg/l BA ilaveli GD ortamının büyüme safhası için, 0.1 – 0.5 mg/l BA ilaveli GD ortamının ise çoğaltma safhasında iyi sonuç verdiğini ifade etmiştir. San-Jose vd. (1988), *Quercus robur*'un in vitro koşullarda çoğaltılmasında büyüme safhasında 1mg/l BA ve çoğaltma safhasında ise 0.2 mg/l BA dozlarının uygun olduğunu rapor etmiştir. *Quercus robur*'un koltuk tomurcuklarını kullanan Chalupa (1984) ise büyüme ortamı için 1 mg/l BA ve çoğaltma ortamı için 0.2 mg/l BA ilavesinin gerekli olduğunu ifade etmiştir.

Meşelerin doku kültürü çalışmalarında genotipler arasındaki farklı tepkileri ortaya koymak amacıyla birçok çalışmalar yapılmıştır. San-Jose vd. (1988), *Quercus robur* ile yaptıkları çalışmada sürgün oluşumunda klonların etkili olduğunu ifade etmişlerdir. Vieitez vd. (1992) genotipin *Quercus robur* ekplantlarının sürgün çoğalmasını etkilediğini belirtmişlerdir. Meier-Dinkel (1987)' de *Quercus robur* ve *Quercus petraea* ile yaptığı çalışmada, genotipin sürgün çoğalmasında önemli rol oynadığını belirtmiştir. Chalupa (1984) *Quercus robur* ve *Quercus petraea*'nın in vitro koşullarda çoğaltılmasında klonlara bağlı olarak farklılıklar gözlemlendiğini ifade etmiştir. Meier-Dinkel (1993) *Quercus*

robur'un farklı klonlarının bazıları arasında sürgün çoğalması bakımından farklılıklar olduğunu ifade etmiştir. Gebhardt vd. (1993) yine *Quercus petraea* ve *Quercus robur* ile yaptıkları çalışmada farklı genotiplerin etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu araştırma kapsamında farklı genotiplere ait eksplantlar, in vitro'da ortet farklılıklarını ortaya koymak amacıyla 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamında kültüre alınmışlardır. Denemeler sonucunda elde edilen bulgular, farklı genotiplerin sürgün sayılarının birbirinden çok az farklı olduğu fakat istatistiksel açıdan genotiplerin sürgün sayıları arasında fark bulunmadığı belirlenmiştir. Genotiplerin nod sayıları da sürgün sayıları gibi birbirine yakın değerlerde bulunurken aralarında istatistiksel olarak bir farklılığa rastlanmamıştır. Genotiplerin sürgün uzunlukları incelendiğinde ise; genotipler arasındaki farkın istatistiksel düzeyde anlamlı olduğu görülmektedir. En iyi ortalama sürgün uzunluğu; 4 nolu ortetde gerçekleşirken, en düşük sürgün uzunluğu 7 nolu ortetde gözlenmiştir. Diğer genotiplerin sürgün uzunlukları ise bu iki ortet arasında gerçekleşmiştir. Çalışmamız sonucunda; genotipler arasında sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından farklılıklar olduğu ancak istatistik düzeyde anlamlı farklılığın sadece sürgün uzunluklarında meydana geldiği görülmektedir (Tablo 21 ve 22). Bunun nedeni eksplantların tek ağaca ait palamutlardan meydana gelen fidanlardan alınması ve bu fidanların genotipik olarak birbirine benzerlik göstermesi olabilir.

Kültüre alınacak olan eksplantların ana bitkiden alındığı yerin, kültür başarısını etkileyebileceği bilinmektedir. Volckaert vd. (1990), genç *Quercus robur* fidanlarından aldığı sürgün ucu eksplantlarının koltuk eksplantlarına göre daha yavaş sürgün gelişimi gösterdiğini ve daha düşük sürgün çoğalması gerçekleştirdiğini bildirmişlerdir. Chalupa (1984) *Quercus robur* ve *Quercus petraea*'nin in vitro'da üretiminde koltuk ve sürgün uç tomurcuğunu kullanmış ve koltuk tomurcuklarının daha yüksek çoğalma oranına sahip olduğunu ifade etmiştir. Juncker, Farve (1994), *Quercus robur*'un koltuk ve sürgün uç tomurcuklarını kullanmışlar ancak denemeler sonucunda bu iki eksplant kaynağının benzer sonuçlar verdiğini ifade etmişlerdir. San-Jose vd. (1988), *Quercus robur*'un koltuk ve sürgün uç tomurcuklarını karşılaştırdıkları çalışmalarında, koltuk tomurcuklarının çoğalma katsayılarının daha yüksek olduğunu belirtmiştir. Vyapari (1995) *Quercus muehlenbergii* ve *Quercus palustris*'in doku kültürü çalışmasında koltuk ve sürgün uç tomurcuklarından en iyi sonucu koltuk tomurcuklarının verdiğini belirtmiştir. San-Jose (1986) yaptığı başka bir çalışmada yine gövdenin alt nodal kısımlarından alınan eksplantların üst parçalardan alınan eksplantlardan daha iyi gelişim gösterdiğini rapor etmiştir.

Çalışmamızda eksplant kaynağı farklılıklarını ortaya koymak amacıyla, koltuk ve sürgün uç tomurcuklarından elde edilen eksplantlar, *in vitro*'da 0.2 mg/l BA ilaveli GD ortamında kültüre alınmışlardır. Yapılan denemelerin gözlem ve ölçüm sonuçlarında, eksplant kaynağının sürgün sayısı bakımından büyük farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Bu farklılıklar istatistiki açıdan da anlamlı bulunmuştur. Koltuk tomurcuklarında oluşan sürgün sayıları sürgün uç tomurcuklarına göre daha yüksek bulunmuştur. Sürgün sayısında olduğu gibi nod sayısında da koltuk tomurcukları lehinde bir farklılık gözlenmiştir. Sürgün uzunlukları da benzer sonuçlar vererek farklılıklar ortaya konulmuştur. Eksplant kaynaklarının sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunlukları bakımından farklılıkları istatistiksel açıdan da anlamlı bulunmuştur. Koltuk tomurcukları sürgün uç tomurcuklarına göre daha iyi gelişim göstermiştir. Bu sonuçlar ışığında meşelerin doku kültürlerinde eksplant materyali seçilirken *in vitro*'daki gelişim farklılıklarından dolayı eksplantın kaynağına dikkat edilmelidir.

4.2. Mikroçeliklerin Köklendirilmesi Aşaması

Kültür koşullarında besin ortamları tek başlarına köklenmeyi sağlayamamaktadırlar. Köklenmeyi teşvik edici çeşitli hormonlarla muamele edilmesi gerekmektedir (Gönülşen, 1987). Çalışmanın köklendirme aşamasında temel besin ortamı olarak GD temel besin ortamı kullanılmıştır. Köklenmenin teşviki amacıyla kök ortamı olarak fakir ortamlar kullanılmaktadır. Burada da 1/3 yoğunluktaki GD ortamı kullanılmıştır. Kök ortamlarında genellikle köklenmeyi teşvik eden oksin grubu hormonlar kullanılmaktadır. Meşelerin mikro üretiminde kök oluşumu için oksin grubundan IBA'nın olumlu etkilere sahip olduğu (Chalupa 1984; San-Jose vd. 1986; Ide, Yamamoto 1987; San-Jose vd. 1988; Pevalek 1991; Ballester, Meier-Dinkel 1992; Vieitez vd. 1992; Miyavra 1995; Vieitez vd. 1995; Sanchez 1996; Yamada, San-Jose 1996; Puddephat vd. 1997) belirtilmektedir. Bu çalışmanın köklendirme aşamasında da bitki büyüme düzenleyicilerinden IBA'dan yararlanılmıştır. *In vitro*'da çoğaltma aşamasında elde edilen mikroçelikler 1/3 yoğunluktaki GD ortamında iki farklı yöntem kullanılarak köklendirilmeye çalışılmışlardır.

Birinci yöntemde mikroçelikler köklendirme ortamına alınmadan önce 0.5 ve 1 g/l IBA solüsyonuna dip kısımları 2 ve 6 dakika batırıldıktan sonra hormonsuz 1/3 yoğunluktaki GD ortamında kültüre alınmışlardır. Kök ortamına alındıktan 7 – 10 gün

sonra, mikroçeliklerde bazal kısımlarda şişmeler ve kallus oluşumları gözlenmiştir. Köklenme ortamındaki 35. günde bir - iki mikroçelikte kök oluşumu gözlenmiş, diğer mikroçeliklerde ise köklenme gözlenmemiştir (Tablo 29, Şekil 45 ve 46). 4 hafta sonra yapılan gözlemlerde en yüksek köklenme %13.33 ile 1 g/l IBA'da 2 dakika bekletme işleminde; diğer köklenme oranının ise %0.66 ile 1 g/l IBA'da 6 dakika bekletme işleminde gerçekleştiği anlaşılmıştır. Diğer işlemlerde ise köklenme gözlenmemiştir. Buna benzer bir çalışma ile San-Jose vd. (1988) *Quercus robur* ve *Quercus petraea*'nın mikroçeliklerini 0.5 ve 1 g/l IBA içerisinde 2 ve 6 dakika beklettikten sonra GD ortamında kültüre almışlardır. Köklenme yüzdesinin % 39 ile % 100 arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Vieitez vd. (1985)'de mikroçelikleri köklendirmek için dip kısımlarının IBA solüsyonuna batırması ve köklenme oranını % 63 - % 83 arasında bulmuşlardır. Ballester, Meier-Dinkel (1992), meşelerin mikroçeliklerinin IBA solüsyonuna batırma işleminin köklenmeyi artırdığını ifade etmişlerdir. Vieitez vd. (1992) meşenin mikroçeliklerinin dip kısmının IBA'ya batırılmasının köklenmeyi artırdığını belirtmişlerdir.

Hormon ile direk olarak muamele işleminde literatürde belirtilen değerler ile elde edilen verilerin karşılaştırılması sonucunda köklenme oranlarının oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle tekrarlanan literatür çalışmasından sonra ikinci bir yöntem test edilmiştir. İkinci yöntemde ise; yüksek konsantrasyonlu IBA ortamlarının mikroçeliklerin köklenmesi üzerine etkilerini belirlemek için in vitro koşullarda elde edilen mikroçelikler 1/3 yoğunluktaki GD ortamında kültüre alınmışlardır. 25mg/l IBA konsantrasyonlu 1/3 yoğunluktaki GD ortamında mikroçelikler 24 ve 48 saat kaldıktan sonra, hormonsuz ve % 1 aktif karbon içeren 1/3 yoğunluktaki GD ortamında köklendirmeye alınmışlardır. Mikroçeliklerde 4. günden itibaren bazal kısımlarda şişmeler ve kallus oluşumu gözlenmiştir. 7. günde ise kök farklılaşması gözlenmiştir. Mikroçeliklerin köklendirme ortamına alınmasından bir ay sonra yapılan gözlem ve ölçümler sonucunda 24 ve 48 saat 25 mg/l IBA dozlarında bekletme işleminin mikroçeliklerin köklenme oranları, kök sayısı ve kök uzunluğunu etkilediği gözlenmiştir. 24 saat 25 mg/l IBA'lı ortamda bekletildikten sonra hormonsuz 1/3 yoğunluktaki GD ortamında kültüre alınan mikroçeliklerin köklenme oranı % 80 olarak belirlenmiştir. Aynı koşullarda 48 saat bekletilen mikroçeliklerin ise tümü köklenerek; köklenme oranı % 100 olarak tespit edilmiştir. Mikroçeliklerin köklenme oranları, kök sayıları ve kök uzunlukları birbirinden farklı gerçekleşmiştir. 24 ve 48 saat 25 mg/l IBA'lı ortamlarda bekletme işlemleri arasındaki fark istatistiki açıdan da anlamlı

bulunmuştur. Buna benzer çalışmalarda Sanchez vd. (1996), *Quercus robur* ve *Quercus rubra* mikroçeliklerinin 25 mg/l IBA ilaveli ortamda 24 saat bekletme işleminden sonra hormonsuz ortama alınmasının köklenmeyi artırdığını belirtmişleridir. Vieitez vd. (1995), 25 ve 15 mg/l IBA ilaveli 1/3 yoğunluktaki GD ortamında 24 saat beklettikleri mikroçelikleri hormonsuz ortamlarda köklenmeye alma işleminin köklenmeyi olumlu etkilediği ve köklenmenin her iki işlemde de benzer olduğunu belirtmişlerdir. Puddephat vd. (1999), *Quercus robur*'un mikroçeliklerini 7 gün IBA'lı ortamda beklettikten sonra hormonsuz kök ortamına alma işleminin köklenmeyi artırdığını ve köklenme oranının % 84 olduğunu ifade etmişlerdir. Sanchez (1994), yine benzer bir çalışma ile 3 mg/l IBA'lı ortamda mikroçelikleri 7 gün beklettikten sonra hormonsuz ortama aktarma işleminin en erken köklenmeyi sağladığını, aynı çalışmasında alternatif olarak 5-50 mg/l IBA ilaveli ortamlarda mikroçelikleri 24 saat bekletmenin de köklenmeyi artırdığını belirtmiştir. Rachi vd. (2001), *Quercus robur*'a ait mikroçelikleri 2 mg/l IBA ilaveli 1/3 yoğunluktaki WPM ortamında 1-3 gün beklettikten sonra hormonsuz ortamlarda kültüre almışlar ve en iyi kök oluşumunun 3 gün IBA ilaveli ortamda bekletme işleminde gerçekleştiği bildirilmişlerdir.

Köklendirme çalışmalarında köklenmeyi teşvik amacıyla karanlık uygulamaları yapılmaktadır. Vieitez vd. (1992) *Quercus rubra*'nın mikroçeliklerinin köklendirilmesinde 7 günlük karanlık işleminin yararlı olduğunu ifade etmişlerdir. Yine, Vieitez vd. (1994) *Quercus robur* mikroçeliklerini köklendirmede 5 günlük karanlık periyodun köklenmeyi teşvik ettiğini belirtmişlerdir. Pierik vd. (1997), *Quercus robur*'un köklendirme ortamında aynı şekilde karalıktaki bırakmanın pozitif etkiye sahip olduğunu rapor etmiştir. Sanchez (1994) ise *Quercus robur* mikroçeliklerini köklendirmek için 5 günlük karanlık ortamda bekletmiştir. Ancak karanlığın sürgün nekrozlarına neden olduğu ve yeni köklenen bitkilerin yaşamasını negatif etkilediğini belirtmiştir. Daha sonra yaptığı bir denemede ise mikroçelikleri aktif karbon ilaveli ortamlarda köklendirmeye almış ve en iyi sonucu bu denemelerde elde ettiğini belirtmiştir. Yine Sanchez vd. (1996) *Quercus robur* ve *Quercus rubra* ile yaptıkları köklendirme çalışmalarında % 1 aktif karbon kullanmışlar ve aktif karbon içeren ortamlardaki köklenmenin karbonsuz ortamlardan daha iyi olduğunu, bunun nedeninin ise karbonun karartma işlemi yanında ortamdan yada eksplanttan kaynaklanan engelleri ortadan kaldırdığını ifade etmişlerdir. Volckaert vd. (1990), *Quercus robur*'un mikroçeliklerinin köklendirilmesinde aktif karbon ilavesinin pozitif etki yaptığını ve aktif karbonun kök gelişimini engelleyen koşulları absorbe ettiğini belirtmişlerdir. Bizim

çalışmamızda da köklendirme ortamında % 1'lik aktif karbon ilavesi kullanılmış ve olumlu sonuçlar alınmıştır.

Köklendirme çalışmalarımızdan birincisinin kök oluşum zamanı çok geç ve köklenme oranı da çok düşük gerçekleşmiştir. İkinci denemelerde ise köklenme çok erken dönemde (7.gün) gerçekleşmiştir. Oysa Kiraly, vd. (2001) meşelerin mikro üretimlerindeki en önemli sorunun eksplantların köklenmesi olduğunu belirtmiştir. Araştırmamızın ikinci köklenme denemelerinde, köklenme oranı birinde % 80 değerinde % 100 olarak tespit edilmiştir. Literatür incelemesinde diğer çalışmalarda bu değer genellikle daha düşük olarak gerçekleşmiştir. Deidda vd. (1988) köklenme oranını % 70 ; Meier-Dinkel (1987), % 57; Ide, Yamamoto (1987), % 82; San-Jose vd. (1988), % 39 - % 100; Vieitez vd. (1994), % 15 - % 46; Puddephat vd. (1999), % 84; Chalupa (1984), % 70 - % 95 olarak bulmuşlardır. Bizim çalışmamız ışığında mikroçeliklerde daha kısa sürede ve % 100 köklenme gerçekleştiği düşünüldüğünde elde edilen yüksek köklenme oranının büyüklüğü daha iyi anlaşılabilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Doktora tezi olarak hazırlanan bu çalışmada önemli orman ağacı türlerimizden olan *Quercus hartwissiana*'nın doku kültürü yöntemlerinden organ kültürü ile çoğaltılabilecek olanakları araştırılmıştır. Çalışma, sürgün oluşumu ve gelişimi ve oluşan mikroçeliklerin köklendirilmesi olmak üzere iki aşamadan meydana gelmiştir. Birinci aşamada, sürgün oluşumu ve gelişimi için sitokinin (BA)'lerin değişik dozlarının etkileri; farklı genotiplerin in vitro'da gösterdikleri gelişimler ve farklı eksplant kaynağının sürgün oluşumu ve gelişimine etkileri araştırılmıştır. İkinci aşamada ise mikroçeliklerin kök oluşumu ve gelişimi için, köklenmeyi uyaran oksin grubu hormonlardan IBA ile gerçekleştirilen farklı işlemlerin etkileri incelenmiştir. Çalışma sonunda elde edilen sonuçlar ışığında oluşan öneriler aşağıdaki şekilde ifade edilebilir.

Doku kültürü çalışmalarında sterilizasyon çok önemlidir. *Q. hartwissiana*'nın in vitro'da üretilmesinde klasik sterilizasyon yöntemleri kullanılmış ancak enfeksiyonlar engellenememiştir. Bulaşmaları engellemek için başlangıç ortamına ilave edilen antibiyotik ve fungusitler ve ilk 5 gün eksplantları taze ortamlara aktarma işlemi sonucunda başarı sağlanmıştır. Bu nedenle meşelerin doku kültürü çalışmalarında bulaşmaları engellemek için başlangıç ortamında antibiyotik ve fungusit kullanılmalıdır.

Denemelerde kullanılan eksplantlar diğer araştırmaların sonuçlarına bağlı kalarak kültür ortamına yatay olarak yerleştirilmiş ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu durum bize eksplantların kültür ortamında yatay pozisyonda olmasının sürgün gelişimini olumlu etkilediğini göstermiştir.

Çalışmamızda temel besin ortamı olarak WPM ve GD ortamları kullanılmıştır. Sürgün oluşumu ve gelişimi bakımından her iki ortamda da gelişmeler gözlenmiştir. Fakat GD ortamındaki eksplantlar sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından WPM ortamındaki eksplantlardan çok daha iyi gelişimler göstermiştir. Yapılacak olan çalışmalarda GD temel besin ortamı kullanılmalıdır.

WPM ve GD ortamlarında sürgün oluşumu ve gelişimini teşvik amacıyla test edilen BA'nın farklı dozlarında sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından farklılıklar gözlenmiştir. Doku kültürlerinde sürgün oluşumu ve gelişimi safhası kendi içinde ikiye ayrılmaktadır. Bunlar sürgün büyümesi ve sürgün çoğaltması aşamalarıdır. Bu

iki aşama bazı türlerde aynı ortamda gerçekleşirken bazılarında ise farklı iki ortamda gerçekleşmektedir. Çalışmamızda sürgün uzunluğu ve nod sayısı bakımından en iyi gelişme 1 mg/l BA ilaveli ortamda gerçekleşmiştir. Yapılacak olan bundan sonraki çalışmalarda sürgün büyümesi için BA'nın bu dozunun kullanılması daha uygun olacaktır. Yine bizim çalışmamızda en yüksek sürgün sayısı her iki temel besin ortamında da 0.2 mg/l BA ilaveli ortamlarda gerçekleşmiştir. Bu denemeler ışığında bundan sonraki çalışmalarda sürgün çoğaltması aşamasında 0.2 mg/l BA dozunun kullanılması yararlı olacaktır. Bu ortamda kültüre alınacak bir tomurcuk eksplantından 1 yıl sonunda 15625 adet mikroçelik üretilebileceği düşünüldüğünde, bu yöntemin kitle halinde fidan üretimi için alternatif bir yol olduğunu söylemek mümkündür.

Bu noktadan hareketle kitlesel üretimin yanı sıra, üstün nitelikli fertlerden alınan palamutlardan (=tohumlardan) elde edilecek fidanlar doku kültürü ile çoğaltılarak, irsel nitelikleri üstün fidanların üretimi de yapılmalıdır. Böylece hem meşe tohumlarının özelliklerinden kaynaklanan sonbaharda hasat edildiklerinde hemen ekilme zorunluluğu yada saklama koşullarının zor olması sebebiyle katlamaya alınması zorunluluğundan kaynaklanan sorunlar ve zorluklar ortadan kalkmış olacaktır. Aynı zamanda kontrollü tozlaşmayla elde edilmiş hibrit tohumların fidanlarının eksplant kaynağı olarak kullanılmasıyla genotipik olarak kaliteli fidan üretimi mümkün olabilecektir.

Farklı genotiplere ait tomurcuk eksplantlarının in vitro'daki gelişimlerine baktığımızda; genotipler arasında sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunluğu bakımından farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Bu farklılıkların bir iki genotip dışında genellikle çok küçük olduğu anlaşılmıştır. Bunun nedenini genotiplerin aynı ağaçtan alınan palamutlardan meydana gelen fidanlardan oluşması şeklinde açıklamak olasıdır. Farklı genotiplerin gelişimi de farklı olacağından bu türün doku kültürü ile üretilmesinde başlangıç materyali çok geniş tutularak en iyi gelişim gösteren genotipler belirlenmeli ve kitlesel üretim çalışmaları onlarla devam ettirilmelidir.

Mevcut çalışmada başlangıç materyali olarak 4-5 aylık fideciklerin sürgün ucu ve koltuk tomurcukları kullanılarak üretim tekniklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Yaşlı ağaçlardan elde edilecek eksplantların da in vitro ortamında gösterecekleri tepkiler dolayısıyla üretim tekniklerini belirleyecek araştırmalar yapılmalıdır. Bu şekilde fenotipik seleksiyonla elde olunacak üstün fertler de klonal üretime sokulabilecekler ve bu şekilde vejetatif yolla üretimde köklenme tepkileri zayıf ve zor olan *Q. hartwissiana*'nın da dahil olduğu meşe türleri mikrovejetatif olarak üretilebilecektir.

Eksplant kaynağının sürgün oluşumu ve gelişimine etkilerini incelediğimizde; koltuk ve sürgün uç tomurcuklarının sürgün sayısı, nod sayısı ve sürgün uzunlukları bakımından farklı olduğu anlaşılmaktadır. Koltuk tomurcukları sürgün uç tomurcuklarına göre çok daha iyi gelişim göstermişlerdir. *Q. hartwissiana* ile ilgili bundan sonra yapılacak doku kültürü çalışmalarında eksplant kaynağı olarak koltuk tomurcuklarının kullanılması uygun olacaktır.

Çalışmamızın ikinci aşaması olan köklendirme aşamasında ise çoğaltma aşamasında elde edilen mikroçeliklerden yararlanılmıştır. Köklendirme aşamasında IBA'nın iki farklı kullanım şekliyle çalışılmıştır. Birinci yöntemde mikroçeliklerin dip kısımları farklı dozlardaki IBA'ya farklı süreler daldırılmıştır. Ancak bu yöntemde başarı çok düşük gerçekleşmiştir. İkinci yöntemde ise mikroçelikler yüksek dozda IBA ilaveli ortamlarda belirli süreler kültüre alındıktan sonra hormonsuz ortamlarda köklenmeye alınmışlardır. Bu ikinci yöntem kök oluşumu, kök sayısı ve kök uzunluğu bakımından olumlu gelişmeler göstermiştir. 25 mg/l BA ilaveli ortamda 48 saat bekletilen mikroçeliklerin köklenme oranları % 100 olarak tespit edilmiştir. Yine bu ortamda kök sayısı ve kök uzunlukları en yüksek bulunmuştur. Meşelerin in vitro'da köklendirilmelerinde bu işlemin kullanılması uygun olacaktır.

6. KAYNAKLAR

Anonim, 2002, <http://www.ogm.gov.tr>

- Anşin, R., Özkan, Z.C., 1993, Tohumlu Bitkiler (Spermatophyta), Odunsu Taksonlar, KTÜ Orman Fak, Genel Yay No:167, Fak. Yay No:19, Trabzon, 512 s.
- Aslan, S., 1988, Meşede Tohum Ekimi ve Fidan Dikimi, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi No: 67, 7-19.
- Aslankara, M.S., 2000, Cumhuriyetimizin 75. Yılında Ormancılığımız, Orman Bakanlığı Yayın No: 120, Ankara, 480 s.
- Auge, R., Beauchesne, G., Boccon-Gibon, J., Decourtye, L., Digat, B., Jalouzot, R., Minier, R., Morand, J. Cl., Reynoird, J.P., Strullu, D.G., Vidalie, H., 1995, In Vitro Culture and Ist Applications in Horticulture, Science Publishers, Lebanon USA, 231 p.
- Ballester, A., Meier-Dinkel, A., 1992, Micropropagation of *Quercus* Species, Woody Plant Working Group Commission of European Communities, 39-75.
- Belaizi, M., Boxus, P., 1995, In Vitro Shoot Multiplication of Cork Oak (*Quercus suber* L.) Influence of Different Carbohydrates, Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux, 30, 39-46.
- Beşkök, T., 1956, Orman Ağaç ve Ağaçcık Türleri Tohumlarında Uyuklama ve Giderilmesi Çareleri, Ormancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi No:4, 11-23.
- Chalupa, V., 1984, In Vitro Propagation of *Larix*, *Picea*, *Pinus*, *Quercus*, *Fagus* and Other Species Using Adenine - Type Cytokinins and Thidiazuron, Institut Forestalis Cechosloveniae, 14, 65 - 90.
- Chalupa, V., 1984, In Vitro Propagation of Oak (*Quercus robur* L.) and Linden (*Tilia cordata* Mill.), Biologia Plantarum, 26, 374 - 377.
- Chalupa, V., 1993, Vegetative Propagation of Oak (*Quercus robur* and *Q. petraea*) by Cutting and Tissue Culture, Ann. Sci. For. , 50 (Suppl. 1), 295-307.
- Collin, P., Badot, P.M., 1995, Contribution to the Study of Apical Necrosis of Red Oak (*Quercus rubra*) Grown In Vitro, Annales Scientifiques de l' Université de France - Comte, Biologie - Ecologie, 3, 29-36
- Cuenca, B., San-Jose, M.C., Martinez, M.T., Ballester, A., Vieitez, A.M., 1999, Somatic Embryogenesis from Stem and Leaf Explant of *Quercus robur* L., Plant Cell Reports, 18 (7/8), 538-543.

- Çetiner, S., 1992, Mikro Çoğaltma, Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniği, Ç.Ü. Basımevi, Adana, 151 s.
- Deidda, P., Azzena, M., Coinu, G., 1988, In Vitro Plantlet Regeneration from *Quercus suber* L. Seedlings, Acta Horticulture, 227, 393-395.
- Dirik, H., 1994, Genetik Çeşitlilik ve Orman Gen Kaynaklarının Korunması, İ.Ü. Orm. Fak. Dergisi, Seri B, Cilt: 44, Sayı: 3-4, 113-121.
- Dodds, J.H., Roberts, L.W., 1986, Experiments in Plant Tissue Culture, Cambridge University Press, 232 p.
- Dujickova, M., Mala, J., 1995, Reproduction In Vitro of Forest Broadleaves, Oak (*Quercus petraea*) and Beech (*Fagus sylvatica*), Prace Vyzkumneho Ustavu Lesniho Hospodarstvi a Myslivosti, 80, 41-51.
- Economou, A.S., Read, P.E., 1987, Light Treatments to Improve Efficiency of In Vitro Propagation System, Hortscience, 22 (5), 751-754.
- Endemann, M., Wilhelm, E., 1999, Factor Influencing the Induction and Viability of Somatic Embryos of *Quercus robur* L., Biologia Plantarum, 42 (4), 499-504.
- Ertaş, A., 1996, *Quercus hartwissiana* Steven. (Istranca Meşesi)'nin Silvikültürel Özellikleri Üzerine Araştırmalar, Doktora Tezi, İ.Ü., İstanbul, 121 s.
- Evers, P., Vermeer, E., Eaden, S., 1993, Rejuvenation of *Quercus robur*, Ann. Sci. For. , 50 (Suppl. 1), 330-335.
- Gebhardt, K., Frühwacht-Wims, U., Weisgerber, H., 1993, Micropropagation and Restricted-Growth Storage of Adult Oak Genotypes, Ann. Sci. For., 50 (Suppl. 1), 323-329.
- Genç, A., 1999, Sığla Ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill.)'nin Doku Kültürü Tekniği ile Üretilmesi, Orman Bakanlığı Ege Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Teknik Bülten, Orm. Bak. Yay No: 99, Müdürlük Yay No : 14, İzmir, 41 s.
- Gonzalez – Benito, M.E., Herradon, E., Martin, C., 1988, The Development of a Protocol for the Encapsulation – Desiccation and In Vitro Culture of Embryonic Axes of *Quercus suber* L. and *Q. ilex* L., Silvia Genetica, 48 (1), 25- 28.
- Gökçe, F., 1993, In Vitro Regeneration of Anatolian Pine (*Pinus nigra* subsp. *Pallasiana*) from Embryo Tissues, Yüksek Lisans Tezi, Middle East Technical University, Ankara, 58 s.
- Gönülşen, N., 1987, Bitki Doku Kültürü Yöntemleri ve Uygulama Alanları, Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Ege Tar. Arş. Ens. Müd., Yayın No: 78, İzmir, 128 s.
- Gresshoff, P.M., Doy, C.H., 1972, Development and Differentiation of Haploid *Lycopersicon esculentum*, Planta, 107, 161-170.

- Hangişi, G., 1998, *Betula medvediewii* Reg. ve *Zelkova carpinifolia* (Pall.) C. Koch. subsp. *Yomraensis* Anşın & Gerçek Türlerinin Doku Kültürü Teknikleri ile Üretilmesi, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Trabzon, 34 s.
- Honma, T., Kunimitsu, T., Nakata, G., Migita, K., 1992, Tissue Culture of *Quercus acutissima* Resistant to *Curculio robustus*, Journal of Agricultural Science, Tokyo Nogyo Daigaku, 37 (3), 224-230.
- Hünber, V.E., Müller, K., Heyder, J., Schmit, H.P., 1995, Somatische Embryogenese und Spro Bentwicklung in Abhängigkeit von 2,4-D- und BAP – Konzentrationen an Zygotischen Embryonen der Spataustreibenden Stieleiche (*Quercus robur* L.), Silvae Genetica, 44 (5-6), 225-229.
- Ide, Y., Yamamoto, S., 1986, In Vitro Plantlet Regeneration from Axillary Buds of Juvenile Seedlings of Kunugi (*Quercus acutissima*), Journal of the Japanese Forestry Society, 68 (11), 471-474.
- Ide, Y., Yamamoto, S., 1987, Effects of Plant Hormones and Silver-ion Treatments on In Vitro Multiplication from Juvenile Kunugi (*Quercus acutissima*) Seedlings, Journal of the Japanese Forestry Society, 69 (2), 69-73.
- Ide, Y., Yamamoto, S., 1987, In Vitro Plantlet Regeneration from Axillary Buds of Juvenile Seedlings of Konara (*Quercus serrata*) Journal of the Japanese Forestry Society, 69 (3), 109-112.
- Işık, K., Yaltırık, F., Akesen, A., 1997, Ormanlar, Biyolojik Çeşitlilik ve Doğal Mirasın Korunması, XI. Dünya Ormanlık Kongresi Bildirileri, Cilt 2, Antalya, 3-29.
- Janeiro, L.V., Vicitez, A.M., Ballester, A., 1995, Cold Storage of In Vitro Cultures of Wild Cherry, Chestnut and Oak, Ann. Sci. For., 52, 287-293.
- Johnson, K.R., 1989, Micropropagation of Valley Oak for Planting Stock Production and Genetic Preservation, Yüksek Lisans Tezi, University of Nevada, Reno, 32 p.
- Jörgensen, J., 1988, Embryogenesis in *Quercus petraea* and *Fagus sylvatica*, J. Plant Physiol, 132, 638-640.
- Juncker, B., Favre, J.M., 1994, Long –Term Effect of Culture Establishment from Shoot-Tip Eksplants in Micropropagation Oak (*Quercus robur* L.), Ann. Sci. For., 51, 581-588.
- Kalıpsız, A., 1988, İstatistik Yöntemler, İ.Ü. Orman Fakültesi Yayın No:394/3522, İstanbul, 558 s.
- Kasaplıgil, B., 1992, Türkiye'nin Geçmişteki ve Bugünkü Meşe Türleri, Orm. Bak. OGM Yay No: 675, Seri No: 70, Ankara, 64 s.

- Kaya, Z., 1988, Doku Kültürünün Orman Ağaçları Islah Çalışmalarındaki Yeri, Orman Mühendisliği Dergisi, 25, 5, 12-19.
- Kayacak, H., 1985, Türkiye Ormanlarında Meşenin Yeri ve Önemi, Orman Mühendisliği Dergisi, Sayı No: 4, 70-77.
- Kiraly, I., Balla, I., Jakab, J., Tamas, L., Sarvari, E., 2001, Responses of the Photosynthetic System and Peroxidase Activity to the Rooting Conditions of Oak Micropropagation, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 66, 155-158.
- Kim, Y.W., Lee, B.C., Lee, S.K., Jang, S.S., 1994, Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Quercus acutissima*, Plant Cell Reports, 13 (6), 315-318.
- Kyte, L., Kleyn, J., 1999, Plants from Test Tubes, Third Edition, Timber Press, Oregon, 240 p.
- Llyod, G., McCown, B., 1980, Commercially Feasible Micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia*, by Use of Shoot – Tip Culture, Comb. Proc. Intl. Plant Soc., 30, 421-427.
- Macdonald, B., 1999, Practical Woody Plant Propagation for Nursery Growers, Timber Press, Oregon, 669 p.
- Mala, J., Cvrckova, H., Brezinova, A., Hrubcova, M., Eder, J., Vagner, M., Cvirckova, M., 2000, Endogenous Contents of Phytohormones and Phenylpropanoids in Sessile Oak Somatic Embryos in Relation to Their Conservation Potential, Journal of Forest Science, 46 (5), 197-204.
- Manzanera, J.A., 1992, Induction of Somatic Embryogenesis in Oak (*Quercus robur*), Investigacion Agraria, Sistemas y Recursos Forestales, 1 (1), 73-81.
- Manzanera, J.A., Astorga, R., Bueno, M.A., 1993, Somatic Embryo Induction and Germination in *Quercus suber* L., Silvae Genetica, 42 (2-3), 90-93.
- Mcgowran, E., Douglas, G.C., Parkinson, M., 1998, Morphological and Physiological Markers of Juvenility and Maturity in Shoot Cultures of Oak (*Quercus robur* and *Q. petraea*), Tree Physiology, 18, 251-257.
- Meier-Dinkel, A., Becker, B., Duckstein, D., 1993, Micropropagation and Ex Vitro Rooting of Several Clones of Late-Flushing *Quercus robur* L., Ann. Sci. For. , 50 (Suppl. 1), 31 9-322.
- Meier-Dinkel, A., Schute, G., Kim, T.S., Kleinschmit, J., 1993, Contributionson the In - Vitro Propagation and Root Development of Pedunculate and Sessile Oak and the Preservation of Forest Gene Resources, Frankfurt am Main , Germany; J.D. Sauerlander's Verlag Schrihten aus der Forstlichen Fakultat der Universitat Göttingen und der Niedersachsischen Forstlichen Versu, 111, 212 p.

- Meier-Dinkel, A., 1987, In Vitro Vermehrung und Weiterkultur von Stieleiche (*Quercus robur* L.) und Traubeneiche (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), Allgemeine Forst und Jagdzeitung, 158 (11/12), 199-204.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962, Arevised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures, Physiologia Plantarum, 15, 473-497.
- Olszewska, A., Wesoly, W., 1998, New Trends in Silviculture - Oak in In Vitro Cultures, Sylvan, 142 (11), 87-93.
- Ostrolucka, M.G., Krajmerova, D., 1996, Manifestation of Embryogenic Potential in Culture of Zygotic Embryos of *Quercus robur*, Lacta Socieatis Botanicorum Poloniae, 65 (1/2), 37-41.
- Özer, E., Bul, M., 1998, Meşe ve Meşe Ağaçlandırması, TEMA, İstanbul, 38 s.
- Pevalek, B., 1991, Clonal Propagation of Comman Oak (*Quercus robur* L.), Acta Horticulture, 289, 143-144.
- Pierik, R.L.M., Oosterkamp, J., Ebing, M.A.C., 1997, Factors Controlling Adventitious Root Formation of Explants from Juveline and Adult *Quercus robur* 'Fastigiata', Scientia Horticulturæ, 71(1/2), 87-92.
- Puddephat, I.J., Alderson, P.G., Wright, N.A., 1997, Influence of Explant Source, Plant Growth Regulators and Culture Environment on Culture Initiation and Establishment of *Quercus robur* L. In Vitro, The Journal of Experimental Botany, Volume 48, Issue 309, 951-962.
- Puddephat, I.J., Alderson, P.G., Wright, N.A., 1999, In Vitro Root Induction in Axillary Microshoots of *Quercus robur* L., Annals of Applied Biology, 134 (2), 233-239.
- Puigderrajols, P., Fernandez-Guijarro, B., Torribio, M., Molinas, M., 1996, Origin and Early Development of Secondary Embryos in *Quercus suber* L., International Journal of Plant Sciences, 157 (6), 674 - 684.
- Racchi, M.L., Bagnoli, F., Balla, I., Danti, S., 2001, Differential Activity of Catalase and Superoxide Dismutase in Seedlings and In Vitro Micropropagated Oak (*Quercus robur* L.), Plant Cell Reports, 20, 169-174.
- Rancillac, M., Klinguer, A., Klinguer S., Millet, B., 1996, Preliminary Investigations on Somatic Embryogenesis from Leaf Discs of Red Oak (*Quercus rubra* L.), Plant Growth Regulation, 20 (1), 67-73.
- Reed, B.M., Burckley, P.M., 1999, Bacteriology Handbook, National Clonal Germplasm Repository Corvallis, Or, 42 p.
- Romano, A., Nofonha, C., Martins-Loucao, M.A., 1992, Influence of Growth Regulators on Shoot Proliferation in *Quercus suber* L., Annals of Botany, 70 (6), 531-536.

- Romano, A., Loução, M.A.M., 1994, In Vitro Conservation of Cork Oak (*Quercus suber*) Germplasm, *Revista de Biologia*, 15 (1/4), 29-42.
- Romano, A., Noronha, C., Marthis-Loução, M.A., 1995, Influence of Growth Regulators on Shoot Proliferation in *Quercus suber* L., *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 40 (2), 159-167.
- Romano, A., Martins-Loução, M.A., 2000, In Vitro Cold Storage of Cork Oak Shoot Cultures, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59, 155-157.
- Sanchez Fernandez, M.C., 1991, In Vitro Propagation of Adult Material of Chestnut and Oak: Development of Rejuvenation Methods, *Doktora Tezi, Universidad de Santiago de Compostela, Spain*, 135 p.
- Sanchez, M.C., Ballester, A., Vieitez, A.M., 1994, Optimization of In Vitro Rooting of Mature *Q. robur*: Evaluation of the Root System by Image Analysis, Applications of Biotechnology to Tree Culture Protection and Utilization, The Second International Symposium, 2 – 6 October, 85 – 86, USA.
- Sanchez, M.C., San-Jose, M.C., Ballester, A., Vieitez, A.M., 1996, Requirments for In Vitro Rooting of *Quercus robur* and *Quercus rubra* Shoots Derived from Mature Trees, *Tree Physiology*, 16, 673-680.
- San-Jose, M.C., 1986, Influencia de la Situacion del Explanto en la Planta y del Tamano del Tubo de Cultivo en la Multiplicacion In Vitro de *Quercus robur* L., *Phyton*, 46 (1), 33-38.
- San-Jose, M.C., Ballester, A. and Vieitez, A.M., 1988, Factors Affecting In Vitro Propagation of *Quercus robur* L., *Tree Physiology*, 4, 281-290.
- San-Jose, M.C., Vieitez, A.M., Ballester, A., 1988, Clonal Propagation of Juvenile and Adult Trees of Sessile Oak by Tissue Culture Techniques, *Silvia Genetica*, 39 (2), 50-55.
- San-Jose, M.C., Vieitez, A.M., Vieitez, E., 1985, Establecimiento Multiplicacion In Vitro de Brotes del Genero *Quercus*, *Phyton*, 45 (1), 31-40.
- Schwarz, O.J., 1987, Plant Growth Regulator Effects in the In Vitro Propagation of Three Hardwood Tree genera: *Castanea*, *Juglans* and *Quercus*, *Plant Growth Regulation*, 6, 113-135
- Schwarz, O.J., Schlarbaum, S.E., 1993, Axillary Bud Proliferation of 2 North American Oak Species: *Quercus alba* and *Quercus rubra*, *Ann. Sci. For.*, 50 (Suppl. 1), 340-343.
- Seckinger, G.R., McCown, B.H., Struckmeyer, B.E., Durbin, R.D., 1978, Production and Rapid Multiplication of Organoids from Callus Cultures of *Quercus rubra* L. (Red Oak), *Hortscience*, 13, 135-137.

- Simpson, S. E., Marks, T. R., 1995, The Role of Sucrose in Shoot Development Leading to Rhizogenesis In Vitro in Juvenile and Mature Pedunculate Oak (*Quercus robur* L.), Bulletin des Recherches Agronomiques de Gembloux, 30, 77-85.
- Spethmann, W., 1986, Stecklingsvermehrung von Stiel- und Traubeneiche (*Quercus robur* L. und *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.), Schriften aus der Forstlichen Fakultat der Universitat Göttingen und der Niedersachsischen Forstlichen Versuchsanstalt, Frankfurt, 99 p.
- Şimşek, Y., 1989, Vejetatif Üretimdeki Son Gelişmeler ve Doku Kültürü, O.A.E. Yayınları, Dergi Serisi, Cilt 35, Sayı; 1, 69, 30-46.
- Şimşek, Y., 1996, Saplı Meşe (*Quercus robur* L.) ile Sapsız Meşe (*Quercus petraea* (Matt) Lieb.) Türlerinin Doku Kültürü Yardımı ile Çoğaltılması, O.A.E. Yayınları, Dergisi, 80, 7-33.
- Tolay, U., 1987, Yapraklı Tür Orman Ağaçları Fidanlık Tekniği, Kavak ve Hızlı Gelişen Yabancı Tür Orman Ağaçları Araştırma Enstitüsü Teknik Bülten No:140, İzmit, 68 s.
- Toth, K., Hapala, T., Hohtola, A., 1994, Alleviation of Browning in Oak Explants by Chemical Pretreatments, Biologia Plantarum, 36 (4), 511-517.
- Üçler, A.Ö., 1994, Titrek Kavak (*Populus tremula* L.) ve Kafkas İhlamuru (*Tilia rubra* DC.)'nun Doku Kültürü Teknikleri ile Üretilmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 114 s.
- Üçler, A.Ö., 1995, Fidan Üretiminde Doku Kültürü ve Uygulaması, K.T.Ü. Orm. Fak. Bahar Yarıyılı Seminerleri, Fak. Yay. No: 49, 115-119.
- Ürgenç, S., 1982, Orman Ağaçları Islahı, İ. Ü. Orman Fakültesi, Yay.No:293 / 2836, İstanbul, 414 s.
- Ürgenç, S., 1986, Ağaçlandırma Tekniği, İ. Ü. Orman Fakültesi, Yay. No: 375 / 3314, İstanbul, 525 s.
- Ürgenç, S., 1992, Ağaç ve Süs Bitkileri Fidanlık ve Yetiştirme Tekniği, İ. Ü. Orman Fakültesi, Yay. No: 418 / 3676, İstanbul, 569 s.
- Vanquez, J.L., 1996, Cold Storage of Micropropagated Woody Species, Technology of Synthetic Seeds and Cryopreservation Applied to Camellia Species, Doktora Tezi, Universidad de Santiago de Compostela, Spain, 110 p.
- Vieitez, A.M., Piston, F., San-Jose, M.C., Ballester, A., 1992, In Vitro Shoot Proliferation Determined by Explant Orientation of Juvenile and Mature *Quercus rubra* L., Tree Physiology, 12, 107-117.
- Vieitez, A.M., Sanchez, C., Ballester, A., 1995, Micropropagation of *Quercus robur* ML 100A and NL 100R, Second Meeting of the COST 822 Working Group 3

'Identification and Control of Phase Changes in Rejuvenation'
Eisentadt7Burgenland, 28-31 October, 203 – 211, Austria.

- Vieitez, A.M., San-Jose, M.C., Amo-Marko, J.B., Ballester, A., 1994, Forced Flushing of Branch Segments as a Method for Obtaining Reactive Explants of Mature *Quercus robur* Tree for Micropropagation, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 37, 287-295.
- Vieitez, A.M., San-Jose, M.C., Vieitez, E., 1985, In Vitro Plantlet Regeneration from Juvenile and Mature *Quercus robur* L., Journal of Horticultural Science, 60 (1), 99-106.
- Volkaert, H., 1990, Influence of Explant Source on In Vitro Axillary Shoot Formation in Oak (*Quercus robur* L.) Seedlings, Plant Aging: Basic and Applied Approaches, Plenum Press, New York, 25 p.
- Volkaert, H., Schoofs, J., Pieters A., Langhe, E., 1990, Influence of Explant Source on In vitro Axillary Shoot Formation in Oak Seedlings, Tree Physiology, 6, 87-93.
- Vyapari, S., 1995, In Vitro Studies in *Asclepias* and *Quercus* species, Doktora Tezi, Department of Horticulture, Forestry, and Recreation Resources College of Agriculture, Kansas State University Manhattan, Kansas, 113 p.
- Wann, S.R., 1994, Cloning Famous Trees, Applications of Biotechnology to Tree Culture Protection and Utilization, The Second International Symposium, 2 – 6 October, 88-89, USA.
- Watt, M.P., Gauntlett, B.A., Blakeway, F.C., 1995, Effect of Anti-Fungal Agent In Vitro Cultures of *Eucalyptus grandis*, South African Forestry Journal , 175, 23-27.
- Weisgerber, H., Gebhardt, K., 1995, In Vitro Culture of Forest Trees: Research and Forestry Perspectives, Allgemeine Forst – und Jagdzeitung, 166 (5), 99-105.
- Yalırık, F., 1984, Türkiye Meşeleri Teşhis Klavuzu, Tarım Orman ve Köyişleri Bak. Genel Müd. Yayınları,, İstanbul, 74 s.
- Yamada, H., Miyaura, T., 1995, In Vitro Plantlet Regeneration from Axillary Buds and the Growth of Acclimated Plantlet of Kunugi (*Quercus acutissima*), Bulletin of the National Forest Tree Breeding Center, 13, 45-52.
- Zago, L., Gorian F., 1994, In Vitro Propagation of Seedlings of *Quercus robur* L., Monti e Boschi, 45, 31-35.

7. ÖZGEÇMİŞ

1970 Yılında Trabzon'da doğan Fatma FEYZİÖĞLU, 1987 yılında Trabzon Affan Kitapçıoğlu Lisesi'ni bitirdi. Aynı yıl K.T.Ü. Orman Fakültesi Orman Mühendisliği Bölümünü kazandı. 1991 yılında " Orman Mühendisi" ünvanı alarak lisans öğrenimini tamamladı. 1991 yılında aynı üniversitenin Fen Bilimleri Enstitüsü Orman Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans programına kaydoldu. 1992 yılında Orman Bakanlığı Bünyesinde, Antalya Orman İşletme Müdürlüğünde Orman Mühendisi olarak göreve başladı. 1994 yılından sonra Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü'nde araştırmacı olarak çalışmalarına devam etti. Aynı yılın Aralık ayında Yüksek Lisans öğrenimini tamamlayarak "Orman Yüksek Mühendisi" ünvanı aldı. 1995 yılında yine aynı enstitünün Orman Mühendisliği Anabilim Dalı'nda doktora programına kaydoldu. Halen Doğu Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü"de araştırmacı olarak görev yapmaktadır.

Evlü olan Fatma FEYZİÖĞLU İngilizce bilmektedir.

İ.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ