



Tarım Bilimleri Dergisi
Tar. Bil. Der.

Dergi web sayfası:
www.agri.ankara.edu.tr/dergi

Journal of Agricultural Sciences

Journal homepage:
www.agri.ankara.edu.tr/journal

Erkenci Şeftali Embriyolarının Farklı Kültür Ortamlarında Gelişimi

Zeynep ÖZDEMİR EROĞLU^a, Ayşe FİDANCI^a, Adalet MISIRLI^b

^a Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Yalova, TÜRKİYE

^b Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bütükleri Bölümü, Bornova, İzmir, TÜRKİYE

ESER BİLGİSİ

Araştırma Makalesi—Bitkisel Üretim

Sorumlu Yazar: Zeynep ÖZDEMİR EROĞLU, e-posta: zozdemir@hotmail.com, Tel: +90 (226) 8142520/1214

Geliş Tarihi: 28 Mayıs 2010, Düzeltmelerin gelişi: 25 Aralık 2012, Kabul: 8 Ocak 2013

ÖZET

Embriyo kültürü, çiçeklenmeden meyvelerin olgunlaşmasına kadar geçen sürenin kısa (<100-120 gün) olduğu erkenci şeftali ve nektarin çeşitlerinin tohumlarının çimlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Erkenci çeşitlerde embriyo, meyve olgunlaşma zamanına kadar tam olarak gelişmediği için standart katlama uygulamalarıyla çimlenmemektedir. Bu nedenle, erkenci genotiplerin tohum ebeveyni olarak kullanıldığı ıslah çalışmalarında gelişmeyen embriyoların aborsiyona uğramadan önce *in vitro* koşullarda çimlendirilmesi gerekmektedir. Bu çalışmada, 'Spring Lady' x 'Silver King' melezlemesinden elde edilen embriyoların çimlenmesi üzerine farklı bitki büyüme düzenleyici maddelerin (BA, IBA, IAA, GA₃) ilave edildiği Murashige & Skoog (MS), ½ MS ve Woody-Plant Medium (WPM) kültür ortamlarının etkisi incelenmiştir. Ortamlara bağlı olarak embriyo çimlenmesi bakımından değişim görülmemiş, ancak bitki boyu, yaprak sayısı, yan kök sayı ve uzunluğu bakımından farklılık saptanmıştır. Ortamlara ilave edilen BA'daki artış çimlenmeyi artırmıştır. Ancak bitki gelişim özellikleri (bitki boyu, yan kök sayı ve uzunluğu) açısından WPM + 0.5 mg L⁻¹ BA + 0.1 mg L⁻¹ GA₃ ortamı daha iyi sonuç vermiştir. Kültüre alınan embriyolardan %40.8-71.1 oranlarında bitki elde edilmiştir. Serada iki ay süreyle tutulan bitkilerde, canlı bitki oranı, ortamlara bağlı olarak %8.6-38.4 arasında değişim göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Şeftali; Embriyo kültürü; Bitki büyüme düzenleyicileri

Growth of Immature Embryos on Different Media

ARTICLE INFO

Research Article—Crop Production

Corresponding Author: Zeynep ÖZDEMİR EROĞLU, e-mail: zozdemir@hotmail.com, Tel: +90 (226) 8142520/1214

Received: 28 May 2010, Received in revised form: 25 December 2012, Accepted: 8 January 2013

ABSTRACT

Embryo culture is a method used to improve seed germination of early maturing peach and nectarine cultivars which have short fruit development period (<100-120 days). In these varieties the embryos generally are not mature by the time the fruit matures, therefore immature embryos do not germinate after regular stratification procedures. Thus, when early maturing cultivars are used as seed parent in breeding programs, the immature embryos are needed to germinate at *in vitro* conditions. In this study, the effects of embryo rescue media of Murashige & Skoog (MS), ½ MS and Woody-Plant Medium (WPM) supplemented with plant growth regulators (BA, IBA, IAA, GA₃) on germination of immature embryos from fruits of 'Spring Lady' x 'Silver King' hybrids were investigated. There were no significant differences for embryo germination among the media, however differences for seedling height, leaf number, lateral root number and length were observed. Increased levels of BA resulted in increased the germination rate. Seedling development was better on WPM + 0.5 mg L⁻¹ BA + 0.1 mg L⁻¹ GA₃ than the other media. While 40.8-71.1% of cultured immature embryos gave seedlings, survival ratio of the seedlings after growing in greenhouse for 2 months were between 8% and 38% depending on the media.

Keywords: Peach; Embryo rescue; Plant growth regulators

1. Giriş

Şeftali [*Prunus persica* (L.) Batsch], Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan en önemli sert çekirdekli meyve türlerinden biridir ve 534,903 ton üretim miktarı ile ülkemiz dünyada 6. sırada yer almaktadır (FAO 2010). Yetiştirilen çeşitlerin çoğunluğunu Temmuz ayında olgunlaşan orta mevsim çeşitleri oluşturmaktadır. Marmara Bölgesi’nde Haziran, Akdeniz ve Ege Bölgeleri’nde ise Nisan-Mayıs aylarında piyasaya sunulan çeşitlerin pazar değerinin yüksek olması nedeniyle erkenci şeftali-nektarin çeşitlerinin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Birçok ülkede yürütülen ıslah programlarında turfanda meyve yetiştiriciliğinin ekonomik getirisinden yararlanabilmek amacıyla çok erken olgunlaşan çeşitler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Nitekim İtalya, İspanya, Makedonya, İsrail, Meksika, Güney ve Kuzey Afrika, Brezilya ve Amerika Birleşik Devletleri gibi birçok ülkede bu konuda çok sayıda ıslah programı yürütülmektedir (Byrne 2003; Sansavini et al 2006).

Mezleme çalışmalarında erken olgunlaşan çeşitler ebeveyn olarak kullanıldığında popülasyonda erkencilik özelliği taşıyan bireylerin bulunma olasılığı daha yüksektir. Ancak, tam çiçeklenme-meyve olgunluğu arasında geçen sürenin 100-120 günden daha kısa olduğu erkenci genotiplerde embriyo gelişimi tamamlanmadan meyveler olgunlaşmakta ve embriyo aborsiyonu ortaya çıkmaktadır. Abortif embriyoya sahip tohumların katlama vb. gibi çimlenmeyi uyarıcı uygulamalar ile çimlendirilmesi mümkün olmamaktadır. Bu nedenle meyvelerin olgunlaşmadan hasat edilmesi ve embriyoların aborsiyona uğramadan önce *in vitro* koşullarda kültüre alınması gerekmektedir (Hesse 1975; Ramming 1983 & 1990; Byrne 2003; Bassi & Monet 2008). Bu amaçla tam olarak gelişmemiş embriyonun tohumdan izole edilerek aseptik bir ortamda kültüre alındığı embriyo kültürü (embryo rescue) tekniği kullanılmaktadır. Bu yöntem erkenci şeftali ve nektarin çeşitlerinin geliştirildiği ıslah programları açısından büyük önem taşımaktadır (Loreti & Morini 2008).

Embriyo kültüründe başarı; kültür ortamına, embriyonun gelişim durumuna ve kültür şartlarına bağlı olarak değişim göstermektedir (Jeengol & Boonprakob 2004). Erkenci çeşitlerin yetiştirildiği lokasyonların iklim koşullarının değişkenliği embriyoların farklı gelişim aşamalarında aborsiyona uğramasına yol açmaktadır. Bu nedenle, farklı ekolojik koşullarda gerçekleştirilen embriyo kültürü araştırmalarından elde edilen bulgular arasında paralellik görülmektedir (Scorza & Sherman 1996). Embriyo büyüklüğü çimlenme oranını etkileyen önemli faktörlerden biridir (Rizzo et al 1998). Bitki büyüme düzenleyicilerinin embriyo gelişimini artırdığı bildirilmektedir (Jeengol &

Boonprakob 2004; Loreti & Morini 2008). Embriyoların kültüre alınması amacıyla Murashige & Skoog (MS), ½ MS, Smith, Bailey & Hough (SBH) ve Woody Plant Medium (WPM) gibi farklı ortamlar başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Murashige & Skoog 1962; Emershad & Ramming 1994).

Erkenci şeftali çeşitlerine ait embriyoların farklı ortamlarda çimlendirme denemelerinde %12-100 arasında değişen sonuçlar elde edilmiştir (Ognjanow et al 1994; Ledbetter et al 1998; Kuden et al 1999). Şeftali x erik melezi embriyolarının çimlenme oranının MS, ½ MS ve Tukey ortamlarında %35 (Tukey)-%70 (½ MS) arasında değiştiği belirlenmiştir (Liu et al 2007). Benzer şekilde, Brooks & Hough, WPM, Monet ve Gilmore gibi ortamların karşılaştırıldığı bir çalışmada %80 (Monet)-88 (WPM) arasında çimlenme elde edildiği, WPM ortamına farklı dozlardaki Benzil Adenin (BA) ve Gibberellik asit (GA₃) ilavesinin de çimlenme oranını %86-%100’e yükselttiği bildirilmiştir (Jeengol & Boonprakob 2004). Ülkemizde embriyo kültürü çalışmaları oldukça yetersiz olup erkenci şeftali genotiplerinin geliştirilmesi konusunda bu teknikle ilgili daha fazla araştırmaya gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışma, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü’nde 2008 yılında başlatılan şeftali mezleme ıslahı programı kapsamında erkenci şeftali ve nektarin çeşitlerinin ebeveyn olarak kullanıldığı ‘Spring Lady’ x ‘Silver King’ mezleme kombinasyonundan elde edilen embriyoların çimlenme ve gelişimleri üzerine farklı bitki büyüme düzenleyici maddeler ilave edilmiş değişik kültür ortamlarının etkilerini incelemek amacıyla yürütülmüştür.

2. Materyal ve Yöntem

Denemede ana ebeveyn olarak erkenci şeftali çeşidi ‘Spring Lady’ ve tozlayıcı ebeveyn olarak erkenci nektarin çeşidi ‘Silver King’ mezlemesinden elde edilen embriyolar materyal olarak kullanılmıştır. ‘Spring Lady’ şeftali çeşidi, Yalova şartlarında Haziran ayının üçüncü haftasında olgunlaşan, meyve tutumu yüksek, kırmızı üst renk oluşumu ve meyve eti sertliği gibi meyve kalite özellikleri yüksek olan sarı etli bir çeşittir. ‘Silver King’ ise Haziran ayının son haftasında hasat olgunluğuna gelen, sıvama kırmızı üst renge sahip ve suda çözünebilir kuru madde miktarı ve albenisi oldukça yüksek olan erkenci bir nektarin çeşididir.

‘Silver King’ çeşidinde pembe tomurcuk döneminde toplanan çiçeklerden erkek organlar (anterler) çıkarılmış ve kağıt üzerine alınarak 6-12 saat süre ile oda sıcaklığında bekletilmiştir. Anterlerin patlaması ile elde edilen çiçek tozları kullanım zamanına kadar ağzı kapalı şişelerde, desikatör içinde ve +4 °C’de muhafaza edilmiştir (Bassi & Monet 2008). ‘Spring Lady’ çeşidinin balon aşamasındaki

çiçekleri emasküle edilmiş ve aynı gün (15 Mart 2008) tozlanmış ve dişi organlar sayılarak kaydedilmiştir. Genel olarak, arılar emasküle edilmiş çiçekleri ziyaret etmediklerinden (Hesse 1975; Layne 1983; Bassi & Monet 2008) bu çiçeklerde izolasyon yapılmamıştır. Toplam 1767 adet çiçekte melezleme yapılmıştır. Melezlemelerden yaklaşık iki ay sonra (11-13 Haziran 2008) gelişen 588 adet meyve sert olgunluk aşamasında hasat edilmiştir. Meyveler sıvı bulaşık deterjanı ile yıkanarak musluk suyu ile durulanmıştır. Çekirdekler meyve etinden ayrılmış ve %70'lik alkolde 1 dakika, %10'luk sodyum hipoklorit çözeltisinde 15 dakika bekletildikten sonra 3 kez saf su ile yıkanarak yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. Tohumlar aseptik ortamda endokarptan ayrılmış ve embriyolar çıkarılmıştır. Bu embriyoların 540 adedi çalışmada kullanılmıştır.

Çalışmada kullanılan kültür ortamları ve ilave edilen hormon konsantrasyonları aşağıda yer almaktadır;

- I. ortam: MS + 35 g L⁻¹ şeker + 7 g L⁻¹ agar + 1 mg L⁻¹ BA + 1 mg L⁻¹ IBA
- II. ortam: MS + 35 g L⁻¹ şeker + 7 g L⁻¹ agar + 0.5 mg L⁻¹ BA + 1 mg L⁻¹ IBA
- III. ortam: ½ MS + 35 g L⁻¹ şeker + 7 g L⁻¹ agar + 4 mg L⁻¹ BA + 0.5 mg L⁻¹ IBA
- IV. ortam: ½ MS + 35 g L⁻¹ şeker + 7 g L⁻¹ agar + 4 mg L⁻¹ BA + 0.5 mg L⁻¹ IAA
- V. ortam: WPM + 20 g L⁻¹ şeker + 6.5 g L⁻¹ agar + 1 mg L⁻¹ BA + 0.1 mg L⁻¹ GA₃
- VI. ortam: WPM + 20 g L⁻¹ şeker + 6.5 g L⁻¹ agar + 0.5 mg L⁻¹ BA + 0.1 mg L⁻¹ GA₃

MS ortamlarının pH'sı 5.8'e ve WPM ortamlarının pH'sı 5.7'ye ayarlanmıştır. Ortamlar 10 ml olacak şekilde 2.5 x 15 cm cam tüplere dağıtılmış ve 121 °C'de 1 atmosfer basınçta 20 dakika sterilize edilmiştir. Melez embriyolar içinde ortam bulunan tüplere, her tüpe bir embriyo olacak şekilde dikilmiştir. Oluşturulan kültürler 4 °C'de 8 hafta karanlıkta katlamaya alınmış ve çimlenen embriyolar sayılmıştır. Bu embriyolar 24-25 °C'de 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık iklim odası koşullarında 4 hafta süreyle gelişmeye bırakılarak normal gelişen ve rozetleşme gösteren bitki sayısı kaydedilmiştir. Her tekerrürden 7 bitki (ortam başına 21 bitki) seçilerek bitki boyu, yaprak sayısı, yan (lateral) kök sayısı ve kök uzunluğu ölçülmüştür (Jeengool & Boonprakob 2004). Daha sonra bitkilerin tamamının kök kısmı ılık musluk suyu ile yıkanarak temizlenmiştir. Bitkiler fungusit (%0.1, Captan) uygulamasından sonra içinde torf bulunan vıyollere dikilerek dış koşullara alıştırılmak üzere seraya alınmıştır. Serada su kaybını azaltmak için bitkilere iki gün aralıklarla su püskürtülmüş ve haftalık periyotlarla %1'lik koruyucu fungusit uygulanmıştır. İki aylık gelişme periyodu sonunda canlı bitki sayısı

belirlenmiştir. Deneme tesadüf parselleri deneme deseninde, her tekerrürde 30 embriyo olmak üzere 3 tekerrürlü olarak (her ortam için toplam 90 embriyo) yürütülmüştür.

MS ortamına ilave edilen 0.5 mg L⁻¹ ve 1.0 mg L⁻¹ BA, ½ MS ortamına ilave edilen 0.5 mg L⁻¹ IBA ve 0.5 mg L⁻¹ IAA ile WPM ortamına ilave edilen 0.5 mg L⁻¹ ve 1 mg L⁻¹ BA konsantrasyonlarının bitki boyu, yaprak sayısı, yan kök uzunluğu ve sayısına etkisi karşılaştırılmıştır.

Elde edilen verilere JMP 5.0.1 istatistik paket programı (SAS institute, Cary, NC) kullanılarak F testi (p=0.05) uygulanmış ve ortamların etkinliğinin belirlenmesinde LSD çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Düzgüneş et al 1987).

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Ortamların embriyo çimlenmesi ve bitki oluşumuna etkisi

'Spring Lady' x 'Silver King' melezleme kombinasyonundan elde edilerek kültüre alınan embriyoların büyüklüğü 4-13 mm arasında değişim göstermiştir (Şekil 1a).

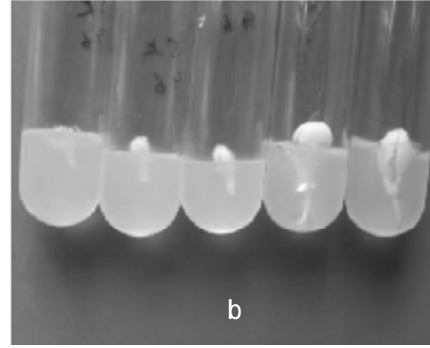
Ramming (1985), aynı dönemde hasat edilen aynı çeşide ait meyvelerin embriyo büyüklüklerinin farklı olabileceğini belirtmiştir. Toplam embriyo sayısının yaklaşık %15'ini 6 mm'den daha küçük embriyolar oluşturmuştur. Bu embriyolar çok düşük oranda (%3.1) çimlenme göstermiş, kotiledon yaprakları yeşil renge dönerek açılmış, ancak kök ve sürgün oluşmamıştır. Embriyo büyüklüğünün çimlenmeyi etkileyen önemli faktörlerden biri olduğunu gösteren bu sonuç, diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Antonelli et al 1988; Ramming 1990; Alberto et al 1994; Krishna et al 2004).

Araştırmada, embriyoların değişik büyüme düzenleyici madde içeren kültür ortamlarındaki çimlenme oranı %76.1-97.6 arasında değişim göstermiş, ancak ortamlar arasındaki fark istatistiki olarak önemli (P>0.05) bulunmamıştır (Çizelge 1 ve Şekil 1b). Smith-Bailey-Hough (SBH) ve WPM ortamlarının kullanıldığı benzer bir çalışmada da çimlenme oranının ortamlara göre değişmediği ifade edilmiştir (Hamill et al 2005).

İklim odası koşullarında dört haftalık gelişme periyodu sonucunda bitki oluşum oranları kültür ortamlarına göre %40.8-71.1 sınırlarında değişim göstermiştir (Çizelge 1). Bitki oluşumu bakımından 4 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ IBA içeren ½ MS ortamı %71.1 ile ilk sırada yer almış ve bunu %70.8 ile 4 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ IAA içeren ½ MS ortamı izlemiştir. Ramming et al (2003) tarafından yapılan çalışmada şeftali ve nektarin embriyolarında %60-91 arasında bitki oluşumu sağlanmış ve yüksek

konsantrasyondaki BA'nın embriyo çimlenmesi ve bitki oluşumu üzerine olumlu etkisi olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, yüksek konsantrasyonlarda sitokinin (BA) uygulamasının çimlenmeyi uyardığı ve absizik asidin (ABA) inhibe edilmesinde önemli role sahip olduğu ifade edilmiştir (Liu et al 2007). Bu araştırmadan elde edilen bulgular diğer araştırmacıların

bulguları ile paralellik göstermiş olup 4 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ IBA ilave edilen ½ MS ortamı çimlenme ve bitki oluşumu bakımından en yüksek değerlere (sırasıyla %97.6 ve % 71.1) sahip olmuştur. Bitkilerde rozetleşme oranının %2.4 (III. ortam)-36.8 (IV. ortam) arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 2a).



Şekil 1- 'Spring Lady' x 'Silver King' melez embriyolarının büyüklüğü a; çimlenme durumları b

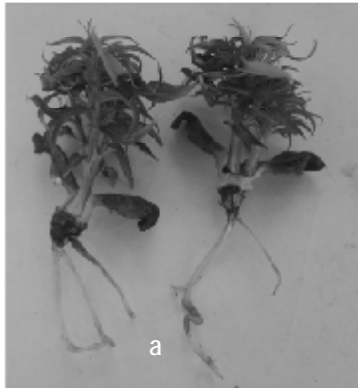
Figure 1- Size variation of immature embryos from 'Spring Lady' x 'Silver King' hybridization a; germination of immature embryos in different sizes b

Çizelge 1-Spring Lady' x 'Silver King' melez embriyolarının çimlenme oranı, toplam bitki oranı, rozetleşen bitki oranı ve canlı bitki oranı

Table 1-Rate of germination of 'Spring Lady' x 'Silver King' immature embryos, and rate of total, rosetted and survived seedlings.

Ortam	Büyüme düzenleyici				Çimlenme oranı (%)	Toplam bitki oranı (%)	Rozetleşen bitki oranı (%)	Canlı bitki oranı (%)
	BA (mg L ⁻¹)	IBA (mg L ⁻¹)	GA ₃ (mg L ⁻¹)	IAA (mg L ⁻¹)				
MS	I	1.0	1.0	0.0	80.5	40.8 c	4,8c	12.9 cd
	II	0.5	1.0	0.0	84.6	49.9 bc	5,1c	15.6 cd
½ MS	III	4.0	0.5	0.0	97.6	71.1 a	2.4c	8.6 d
	IV	4.0	0.0	0.0	87.5	70.8 a	36.8a	23.7 b
WPM	V	1.0	0.0	0.1	79.6	49.9 bc	15.0b	18.6 bc
	VI	0.5	0.0	0.1	76.1	61.9 ab	8.3c	38.4 a
LSD					öd	19.92	6.17	8.03

öd, önemli değil; * P<0.05



Şekil 2- Rozetleşmiş a; normal gelişen b 'Spring Lady' x 'Silver King' melez bitkileri

Figure 2- Rosetted a; normal growing b 'Spring Lady' x 'Silver King' seedlings

Rozetleşen bitkilerde, boğum arası mesafe, normal gelişen bitkilere göre daha kısa olmaktadır (Topp et al 2008). Ortamlara ilave edilen BA miktarındaki artış rozetleşme görülen bitki sayısında artışa neden olmuştur. Ancak bu etki BA ve IBA'nın birlikte kullanılması durumunda oldukça azalış göstermiştir. Buna karşılık yüksek konsantrasyonda BA ile birlikte IAA içeren ortamda rozetleşmenin arttığı tespit edilmiştir. GA₃ kullanımının ise BA'nın rozetleşme üzerine olan etkisini pozitif veya negatif yönde etkilemediği belirlenmiştir (Çizelge 1). Benzer bir çalışmada Jeengool and Boonprakob (2004), WPM ortamına ilave edilen BA konsantrasyonundaki artışa paralel olarak rozetleşmede artış olduğunu bildirmektedir. Rozetleşen bitkiler sürgün ucunun kırılması ile büyümeye teşvik edilmiş ve bazılarının sürgün oluşturmaya sağlanmış (Topp et al 2008). Serada alıştırma ortamında, bu bitkilerde yaklaşık %86'lık bir ölüm oranı tespit edilmiştir.

3.2. Bitki büyüme düzenleyicilerin bitki gelişimine etkisi
MS ortamına ilave edilen BA'nın 1 mg L⁻¹ (I. ortam) ve 0.5 mg L⁻¹ (II. ortam) konsantrasyonlarının bitki boyu, yaprak sayısı ile yan kök uzunluğu ve sayısı bakımından istatistiksel önemde farklılık (P>0.05) göstermediği tespit edilmiştir (Çizelge 2).

½ MS ortamına 0.5 mg L⁻¹ IBA (III. ortam) ve 0.5 mg L⁻¹ IAA (IV. ortam) ilave edildiğinde bitki boyunda (1.6-1.9 cm) önemli farklılık oluşmamıştır (P>0.05). Ancak ortalama yaprak sayısı, yan kök sayısı ve uzunluğu bakımından IV. ortamda daha yüksek değerler (sırasıyla 14.5 adet, 4.2 adet ve 3.1 cm) saptanmıştır (Çizelge 3).

Benzer şekilde IAA'nın yan kök sayısı ve uzunluğu üzerine pozitif etkisi olduğu bildirilmiştir (Liu et al 2007). IAA'nın bu pozitif etkisine karşılık rozetleşme gösteren bitki oranında artış (%36.8) görülmüştür (Çizelge 1).

MS ve ½ MS ortamlarında kültüre alınan embriyolarda, yoğun bir kallus oluşumu gözlenmiştir.

Ayrıca bu iki ortamda kültüre alınan embriyoların bazılarında kotiledon yaprakları açılarak yeşil renk almış, kök oluşumu gerçekleşmiş ancak sürgün (hipokotil) uzaması olmamıştır.

WPM ortamına ilave edilen 0.5 mg L⁻¹ BA + 0.1 mg L⁻¹ GA₃ bitki boyu, yan kök sayısı ve uzunluğu bakımından, 1 mg L⁻¹ BA ilavesine göre daha iyi sonuç vermiştir (Çizelge 4 & Şekil 2b). WPM ortamında BA miktarının artışı (V no'lu ortam) bitki boyunun, yan kök sayının ve uzunluğunun azalmasına neden olurken rozetleşme gösteren bitki sayısında artışa yol açmıştır. BA konsantrasyonunun artışı ile ortaya çıkan bu tip olumsuz durumlara ilişkin benzer bulgular diğer araştırmacılar tarafından da rapor edilmiştir (Rizzo et al 1998; Jeengool & Boonprakob 2004).

3.3. Ortamların canlı bitki sayısına etkisi

Sera koşullarında iki aylık gelişme periyodu sonunda canlı bitki oranı %8.6 (III. ortam)-38.4 (VI. ortam) arasında değişim göstermiştir (Çizelge 1). Şeftalide yapılan diğer çalışmalarda bu oran %22-54 (Jeengool & Boonprakob 2004) ve %28-92 (Hamill et al 2005) arasında belirlenmiş, *Prunus* türleri arasında yapılan melezlemede ise %2 olarak rapor edilmiştir (Kukharchyk & Kastrickaya 2006).

Çizelge 2- MS+1.0 mg L⁻¹ IBA ortamında 0.5-1.0 mg L⁻¹ BA'nın bitki gelişim özelliklerine etkisi

Table 2- Effects of BA (0.5 -1.0 mg L⁻¹) in MS+1.0 mg L⁻¹ IBA medium on seedling growth parameters

Ortam	Bitki boyu (cm)	Yaprak sayısı (adet)	Yan kök	
			Sayısı (adet)	Uzunluğu (cm)
MS	I	2.1	6.9	4.7
	II	2.2	7.5	2.3
LSD	öd	öd	öd	öd

öd: önemli değil,

Çizelge 3- ½ MS+4 mg L⁻¹ BA ortamında IBA ve IAA'nın bitki gelişim özelliklerine etkisi

Table 3- Effects of IBA and IAA in ½ MS+4 mg L⁻¹ BA medium on seedling growth parameters

Ortam	Büyüme düzenleyici			Bitki boyu (cm)	Yaprak* sayısı (adet)	Yan kök	
	BA (mg L ⁻¹)	IBA (mg L ⁻¹)	IAA (mg L ⁻¹)			Sayısı* (adet)	Uzunluğu* (cm)
½ MS	4.0	0.5	0.0	1.9	7.1 b	1.2 b	1.1 b
	4.0	0.0	0.5	1.6	14.5 a	4.2 a	3.1 a
LSD				öd	4.47	1.04	1.47

öd: önemli değil; *P<0.05

Çizelge 4- WPM + 1.0 mg L⁻¹ GA₃ ortamında 1.0 ve 0.5 mg L⁻¹ BA konsantrasyonlarının bitki gelişim özelliklerine etkisiTable 4- Effects of BA (0.5 - 1.0 mg L⁻¹) in WPM + 1.0 mg L⁻¹ GA₃ medium on seedling growth parameters

Ortam	Büyüme düzenleyici		Bitki boyu* (cm)	Yaprak sayısı (Adet)	Yan kök	
	BA (mg L ⁻¹)	GA ₃ (mg L ⁻¹)			Sayısı* (Adet)	Uzunluğu* (cm)
WPM	1.0	0.1	1.5 b	18.1	1.2 b	2.5 b
	0.5	0.1	2.9 a	11.2	6.8 a	8.7 a
LSD			0.39	öd	2.23	4.03

öd: önemli değil; * P<0.05

4. Sonuç

Erkenci şeftali ve nektarin çeşitlerinin melezlenmesi ile elde edilmiş olan embriyoların *in vitro*'da kültüre alınmasında embriyo büyüklüğünün önemli olduğu ve embriyo büyüklüğündeki artışın (>6 mm) çimlenme oranını yükselttiği tespit edilmiştir. Ortamlara yüksek konsantrasyonda BA ilavesinin embriyo çimlenmesini artırmasına karşın bitki boyu, kök sayısı ve rozetleşme olumsuz yönde etki yaptığı belirlenmiştir. Diğer yandan, IAA kök gelişimini artırırken yüksek konsantrasyondaki BA ile birlikte kullanıldığında rozetleşen bitki sayısının yükselmesine neden olmuştur. IBA, BA'nın bitki gelişimi üzerindeki olumsuz etkisini azaltmıştır. Araştırmadan elde edilen bulgular, şeftali embriyolarının 4 mg L⁻¹ BA ve 0.5 mg L⁻¹ IBA içeren ½ MS ortamında çimlendirilmesinin ve 0.5 mg L⁻¹ BA ve 0.1 mg L⁻¹ GA₃ içeren WPM ortamında alt kültüre alınmasının, bitki gelişimi için önerilebileceğini ortaya koymuştur.

Simgeler Dizini

BA	6-benzyladenine
IBA	indole-3-butyric acid
IAA	indole-3-acetic acid
GA ₃	gibberellic acid

Kaynaklar

- Alberto C Q P, Pinto Q, Suzanne M & David H (1994). Growth of immature peach embryos in response to media, ovule support method, and ovule perforation. *HortScience* **29**: 1081-1083
- Antonelli M, Quarta R & Chiariotti A (1988). *In vitro* germination of early ripening peach immature embryos. *Acta Horticulturae* **227**: 421-424

- Bassi D & Monet R (2008). Botany and Taxonomy. In D R Layne & D Bassi (Eds.), *The Peach: Botany, Production and Uses*, CAB International, pp. 1-37
- Byrne D H (2003). Breeding peach and nectarines for mild-winter climate areas: State of the art and future directions. In: *1st Mediterranean Peach Symposium*, 102-109. September 10, Italy
- Düzgüneş O, Kesici T, Kavuncu O & Gürbüz F (1987). Araştırma ve Deneme Metotları. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1021, Ders Kitabı, Ankara
- Emershad R L & Ramming D W (1994). Effect of media on embryo enlargement in early-ripening genotypes of *Prunus* grown *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **37**: 55-59
- FAO (2010). Statistical database. Available: <http://www.fao.org>
- Hamil S D, Beppu K, Topp B L, Russell D M & DeFaveri J (2005). Effects of media and fruit ripeness on germination and transplanting of *in vitro* cultured embryos from low-chill peach and nectarine. *Acta Horticulturae* **694**: 145-148
- Hesse C O (1975). Peaches. In: Janick & J N Moore (Eds.), *Advances in Fruit Breeding*, Purdue University Press, West Lafayette, Indiana, pp. 285-335
- Jeengool N & Boonprakob U (2004). Rescue of peach embryo in culture media with additional of 6-benzyladenine and gibberellic acid. *Kasetsart Journal (Natural Science)* **38**: 468-474
- Krishna B, Arora J & Arora R L (2004). Embryo rescue: an approach to recover plantlets in early maturing subtropical peach. *Indian Journal of Horticulture* **61**: 199-205
- Kuden AB, Tanrıver E, Gulen H & Buyukalaca S (1999). Embryo rescue of peach hybrids. *Acta Horticulturae* **484**: 531-533
- Kukharchyk N & Kastrickaya M (2006). Embryo techniques in *Prunus* L. breeding. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* **14**(1): 129-135
- Layne R E C (1983). Hybridization. In: JN Moore & J Janick (Eds.), *Methods in Fruit Breeding*, Purdue Univ. Pres, West Lafayette, Indiana, pp. 48-73

- Ledbetter C A, Palmquist D E & Peterson S J (1998). Germination and net *in vitro* growth of peach, almond and peach-almond hybrid embryos in response to mannitol inclusion in the nutrient medium. *Euphytica* **103**: 243-250
- Liu W, Chen X, Liu G, Liang Q, He T & Feng J (2007). Interspecific hybridization of *Prunus persica* with *P. armeniaca* and *P. salicina* using embryo rescue. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **88**: 289-299
- Loreti F & Morini S (2008). Propagation Techniques. In: D R Layne & D Bassi (Eds.), *The Peach: Botany, Production and Uses*, CAB International, pp. 221-244
- Murashige T & Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* **15**: 473-497
- Ognjanov V, Varga D V & Macet K (1994). Tissue culture approaches to peach improvement. In: H Schmidt & M Kellerhals (Eds.), *Developments in Plant Breeding: Progress in Temperate Fruit Breeding*, Kluwer Academic Publishers, pp. 389-393
- Ramming D W (1983). Embryo culture. In: J N Moore & J Janick (Eds.), *Methods in Fruit Breeding*, Purdue Univ. Press, West Lafayette, Indiana, pp. 136-144
- Ramming D W (1985). In ovule embryo culture of early-maturing *Prunus*. *HortScience* **20**: 419-420
- Ramming D W (1990). The use of embryo culture in fruit breeding. *HortScience* **25**: 393-398
- Ramming D, Emershad R L & Foster C (2003). In vitro factors during ovule culture affect development and conversion of immature peach and nectarine embryos. *HortScience* **38**: 424-428
- Rizzo M, Bassi D, Byrne D & Porte K (1998). Growth of immature peach [*Prunus persica* (L.) Batsch.] embryos on different media. *Acta Horticulturae* **465**:141-144
- Sansavini S, Gamberini A & Bassi D (2006). Peach breeding, genetics and new cultivar trends. *Acta Horticulturae* **713**:23-48
- SAS Institute (2008). JMP version 5.0.1. Cary, NC
- Scorza R & Sherman W B (1996). Peach. In: J Janick and J N Moore (Eds.), *Fruit Breeding, Tree and Tropical Fruit* **1**: 325-440
- Topp B L, Sherman W B & Raseira C B (2008). Low-chill cultivar development. In: D R Layne and D Bassi (Eds.), *The Peach: Botany, Production and Uses*, CAB International, pp. 106-138