

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YÜZEN PERLİT YATAĞINDA FARKLI İNKÜBASYON SÜRELERİNDE  
EX VİTRO KÖKLENDİRİLMİŞ ARONYA MİKRO ÇELİKLERİNİN  
YAPRAK ANATOMİSİ VE KLOROFİL KAPSAMINDAKİ DEĞİŞİMLER

Aml Abdelnaby Younus MOHAMMED

BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2025

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### YÜZEN PERLİT YATAĞINDA FARKLI İNKÜBASYON SÜRELERİNDE EX VİTRO KÖKLENDİRİLMİŞ ARONYA MİKRO ÇELİKLERİNİN YAPRAK ANATOMİSİ VE KLOOROFİL KAPSAMINDAKİ DEĞİŞİMLER

Aml Abdelnaby Younus MOHAMMED

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU

Bu tez çalışmasında, 'Viking' ve 'Nero' aronya çeşitlerinde mikro çeliklerin yüzen perlit yatağında farklı sürelerde inkübasyonunun (2, 3, 4, 5 ve 6 hafta), ex vitro köklenme ve eş zamanlı dış koşullara alışmasında canlılık ve köklenme, kök ve sürgün gelişmesi, yaprak anatomik özellikleri ve klorofil miktarı üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu incelemeler, yüzen perlit yatağında inkübasyon sürelerinin ve serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda yapılmıştır. Ayrıca bitkilerin vejetasyon sonunda gelişimleri değerlendirilmiştir. Çalışmada, ex vitro köklenme oranları, inkübasyon süresi 4, 5 ve 6 hafta olan bitkilerde (%94.0-%97.2), 2 ve 3 hafta olanlara (%78.8-%89.0) göre daha yüksek bulunmuştur. Köklenmiş mikro çeliklerde mezofil ve kütikül kalınlıkları inkübasyon süresinin ilerlemesi ile birlikte önemli düzeyde artmış, epidermis hücre sayısı azalmıştır. İnkübasyon süresi 4, 5 ve 6 hafta olan bitkilerde mezofil ( $101.3 \pm 7.5$ - $121.6 \pm 2.2$   $\mu$ m) ve kütikül ( $2.0 \pm 0.3$ - $2.7 \pm 0.1$   $\mu$ m) kalınlıkları daha yüksek bulunmuştur. Bitkilerin sera koşullarına taşınmasından 4 hafta sonra inkübasyon süreleri arasında önemli bir farklılık olmaksızın canlılık oranları 'Viking'de ortalama %98.6 ve 'Nero'da %96.7 olmuştur. Serada bitkilerin yaprak anatomik özellikleri 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde, yüzen perlit yatağındakilere benzerdir. Ancak, klorofil kapsamı serada artışını sürdürmüştür. 'Viking'de inkübasyon sürelerinin ortalaması olarak toplam klorofil miktarı yüzen perlit yatağından çıkartılan bitkilerde  $0.34 \pm 0.02$  mg/g ve serada 4 hafta gelişmiş bitkilerde ise  $0.54 \pm 0.03$  mg/g'dır. 'Nero'da bu değerler, yüzen perlit yatağında ortalama  $0.31 \pm 0.02$  mg/g, serada ise en yüksek 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde sırasıyla  $0.64 \pm 0.04$  ve  $0.72 \pm 0.04$  mg/g'dır. Sonuç olarak, yüzen perlit yatağında mikro çeliklerin 2 ve 3 hafta inkübe edilmesi ex vitro köklenme ve eş zamanlı olarak dış koşullara alıştırmada yetersizdir.

Temmuz 2025, 82 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** *Aronia melanocarpa*, *Aronia mitschurinii*, mikro çoğaltım, aklimatizasyon, stoma, mezofil

## ABSTRACT

Master Thesis

### CHANGES IN LEAF ANATOMY AND CHLOROPHYLL CONTENT OF CHOKEBERRY MICRO CUTTINGS EX VITRO ROOTED AT DIFFERENT INCUBATION DURATIONS USING FLOATING PERLITE BED

Aml Abdelnaby Younus MOHAMMED

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Horticulture

Supervisor: Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU

In this study, the effects of incubation durations on the survival and rooting percentages, root and shoot development, anatomical features and chlorophyll contents of plants in ex vitro rooting and simultaneous acclimatization of micro cuttings using floating perlite beds were investigated in 'Viking' and 'Nero' chokeberry cultivars. The examinations were carried out at the end of 2, 3, 4, 5 and 6 weeks of incubation on the floating perlite bed and after 4 weeks of development period in the greenhouse. In addition, the development of the plants at the end of vegetation was evaluated. Ex vitro rooting percentages were higher in plants with 4, 5 and 6 weeks incubation (94.0%-97.2%) than in those with 2 and 3 weeks (78.8%-89.0%). Mesophyll and cuticle thicknesses increased significantly with the advancement of incubation duration and epidermis cell number decreased. Mesophyll ( $101.3 \pm 7.5$ - $121.6 \pm 2.2$   $\mu\text{m}$ ) and cuticle ( $2.0 \pm 0.3$ - $2.7 \pm 0.1$   $\mu\text{m}$ ) thicknesses were higher in plants with 4, 5 and 6 weeks of incubation. Four weeks after transfer to greenhouse, the average survival percentages were 98.6% in the 'Viking' and 96.7% in the 'Nero', without any significant differences between incubation durations. The leaf anatomical features of plants in the greenhouse were similar to those on the floating perlite bed at 4, 5 and 6 weeks of incubation. However, chlorophyll content continued to increase in the greenhouse. In 'Viking', total chlorophyll amount as an average of incubation durations was  $0.34 \pm 0.02$  mg/g on the floating perlite bed, while it was  $0.54 \pm 0.03$  mg/g in the greenhouse. In 'Nero', these values were  $0.31 \pm 0.02$  mg/g as an average of incubation durations in the floating perlite bed. In greenhouse, the highest values were  $0.64 \pm 0.04$  mg/g and  $0.72 \pm 0.04$  mg/g in 5 and 6 weeks incubations, respectively. Finally, incubating micro cuttings in a floating perlite bed for 2 and 3 weeks is insufficient for ex vitro rooting and simultaneous acclimatization.

July 2025, 82 pages

**Key Words:** *Aronia melanocarpa*, *Aronia mitschurinii*, micropropagation, acclimatization, stomata, mesophyll

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince engin bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, çalışmamın her aşamasında bilgi, öneri ve rehberliğiyle akademik ve kişisel gelişimime eşsiz katkılar sağlayan, desteğini ve emeğini hiçbir zaman esirgemeyen, her zaman yanımda olan kıymetli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Hatice DUMANOĞLU'na en içten duygularıyla sonsuz saygı, şükran ve teşekkürlerimi sunarım. Yüksek Lisans çalışmalarım boyunca kendisiyle çalışma fırsatına sahip olmak, mesleki ve kişisel açıdan benim için büyük bir onur ve şanstır.

Tezimin anatomik çalışmalarını laboratuvarında yapmamı sağlayan ve her aşamada beni yönlendiren Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nurhan BÜYÜKKARTAL'a ve klorofil analizlerimde yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Özge ŞAHİN'e çok teşekkür ederim.

Tezimin ilk dönemlerinde ve laboratuvar çalışmalarında adaptasyon sürecimi kolaylaştıran, pratik konularda bana yol gösteren ve tecrübesini cömertçe paylaşan Farangis NAWANDİSH'e teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi akademik yolculuğumda da sevgi, sabır ve desteklerini benden esirgemeyen, sevgileriyle beni ayakta tutan, duaları ve destekleriyle bu süreci aşmamı sağlayan, üzerimde büyük emeği olan kıymetli anneme, babama, kardeşlerime ve rahmetli annaneme, her biriyle varlıklarından güç aldığım, varlıklarıyla bana her zaman güç veren tüm aileme ve arkadaşlarıma gönülden teşekkür ederim.

Aml Abdelnaby Younus MOHAMMED

Ankara, Temmuz 2025

## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAY SAYFASI

|                                                                                                                                                                                          |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ETİK .....                                                                                                                                                                               | i    |
| ÖZET .....                                                                                                                                                                               | ii   |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                           | iii  |
| TEŞEKKÜR .....                                                                                                                                                                           | iv   |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                                                                                                                     | vii  |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                                                                                                                                                    | viii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                                                                                                                  | ix   |
| 1. GİRİŞ .....                                                                                                                                                                           | 1    |
| 1.1 Aronyanın Sistematikteki Yeri ve Biyolojik Özellikleri .....                                                                                                                         | 1    |
| 1.2 Aronyanın Sağlık Üzerine Etkileri .....                                                                                                                                              | 2    |
| 1.3 Aronya Üretimi, Çeşitleri ve Yetiştiriciliği .....                                                                                                                                   | 3    |
| 1.4 Aronyanın Çoğaltımı .....                                                                                                                                                            | 4    |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                                                                                                                                                 | 7    |
| 2.1 Aronyanın Mikroçoğaltımında İn Vitro Köklendirme ve Dış Koşullara<br>Alıştırma Çalışmaları .....                                                                                     | 7    |
| 2.2 Aronyanın Mikroçoğaltımında Ex Vitro Köklendirme ve Eş Zamanlı Dış<br>Koşullara Alıştırma Çalışmaları .....                                                                          | 13   |
| 2.3 Mikroçoğaltımın Dış Koşullara Alıştırma Aşamasında Bitkilerde Yaprak<br>Anatomisi ve Klorofil Kapsamındaki Değişimler Konusundaki Çalışmalar                                         | 16   |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM .....                                                                                                                                                              | 25   |
| 3.1 Materyal .....                                                                                                                                                                       | 25   |
| 3.2 Yöntem .....                                                                                                                                                                         | 26   |
| 3.2.1 İn vitro kültürlerin oluşturulması ve mikro sürgünlerin çoğaltılması .....                                                                                                         | 26   |
| 3.2.2 Yüzen perlit yatağında mikro çeliklerin ex vitro köklendirilmesi ve eş<br>zamanlı dış koşullara alıştırılması, bitkilerin seraya taşınması,<br>büyütülmesi ve geliştirilmesi ..... | 27   |
| 3.2.3 Bitkilerde morfolojik incelemeler .....                                                                                                                                            | 29   |
| 3.2.4 Yapraklarda anatomik incelemeler .....                                                                                                                                             | 30   |
| 3.2.5 Yapraklarda klorofil analizleri .....                                                                                                                                              | 33   |
| 3.2.6 Deneme planı ve verilerin istatistik analizi .....                                                                                                                                 | 34   |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....                                                                                                                                                             | 35   |
| 4.1 ‘Viking’ Aronya Çeşidinde Yüzen Perlit Yatağında Farklı İnkübasyon<br>Sürelerinde Ex Vitro Köklendirme ve Eş Zamanlı Dış Koşullara Alıştırma<br>Aşamasındaki Bulgular .....          | 35   |

|                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2 ‘Viking’ Aronya Çeşidinde Bitkilerin Serada Büyüme ve Gelişmesi Aşamasındaki Bulgular .....                                                                         | 42 |
| 4.2.1 ‘Viking’ aronya çeşidinde ex vitro köklendirmeden sonra sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilere ait bulgular .....                                      | 42 |
| 4.2.2 ‘Viking’ aronya çeşidinde serada bitkilerin vejetasyon sonundaki bulguları .....                                                                                  | 44 |
| 4.3 ‘Nero’ Aronya Çeşidinde Yüzen Perlit Yatağında Farklı İnkübasyon Sürelerinde Ex Vitro Köklendirme ve Eş Zamanlı Dış Koşullara Alıştırma Aşamasındaki Bulgular ..... | 46 |
| 4.4 ‘Nero’ Aronya Çeşidinde Bitkilerin Serada Büyüme ve Gelişmesi Aşamasındaki Bulguları .....                                                                          | 54 |
| 4.4.1 ‘Nero’ aronya çeşidinde ex vitro köklendirmeden sonra sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilere ait bulgular .....                                        | 54 |
| 4.4.2 ‘Nero’ aronya çeşidinde serada bitkilerin vejetasyon sonundaki bulguları .....                                                                                    | 57 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....                                                                                                                                              | 60 |
| KAYNAKLAR .....                                                                                                                                                         | 72 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                                                                                          | 82 |

## SİMGELER DİZİNİ

|                 |                                          |
|-----------------|------------------------------------------|
| %               | : Yüzde                                  |
| °C              | : Santigrat derece                       |
| µm              | : Mikrometre                             |
| cm              | : Santimetre                             |
| g               | : Gram                                   |
| kg              | : Kilogram                               |
| L               | : Litre                                  |
| m               | : Metre                                  |
| m/v             | : Mass/volume (kütle/hacim)              |
| mg              | : Miligram                               |
| mL              | : Mililitre                              |
| mm              | : Milimetre                              |
| mm <sup>2</sup> | : Millimetre kare                        |
| MPa             | : Megapaskal                             |
| nm              | : Nanometre                              |
| ppm             | : Parts per million (milyonda bir kısım) |
| v               | : Volume (hacim)                         |

## **Kısaltmalar**

|                 |                                                                       |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------|
| ABA             | Absizik asit                                                          |
| ABD             | Amerika Birleşik Devletleri                                           |
| BAP             | Benzil amino pürin                                                    |
| GA <sub>3</sub> | Gibberellik asit                                                      |
| IAA             | İndol asetik asit                                                     |
| IBA             | İndol bütirik asit                                                    |
| MS              | Murashige ve Skoog                                                    |
| NAA             | Naftalen asetik asit                                                  |
| PPFD            | Photosynthetic Photon Flux Density (Fotosentetik foton akı yoğunluğu) |
| TBA             | Tert-bütanol                                                          |
| WPM             | Woody Plant Medium                                                    |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1  | ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde ex vitro köklendirme için yüzen perlit yatağına dikilmiş mikro çelikler (A) ve köklenme sonrası viyole dikilmiş bitkiler (B) .....                                                                                                                             | 28 |
| Şekil 4.1  | ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranı ve köklenme düzeyi .....                                                                                                                                                      | 37 |
| Şekil 4.2  | ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta gelişmiş bitkilerin görünümü .....                                                                                                               | 38 |
| Şekil 4.3  | ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yaprakları ile birlikte bazı yaprak anatomik özelliklerindeki değişim ..... | 39 |
| Şekil 4.4  | ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarının enine kesitlerinde dokuların görünümü (40x) .....             | 40 |
| Şekil 4.5  | ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarında stomaların görünümü (40x) .....                               | 41 |
| Şekil 4.6  | ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki görünümleri .....                                                                                                                                       | 45 |
| Şekil 4.7  | ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranı ve köklenme düzeyi .....                                                                                                                                                        | 48 |
| Şekil 4.8  | ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta gelişmiş bitkilerin görünümü .....                                                                                                                 | 49 |
| Şekil 4.9  | ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yaprakları ile birlikte bazı yaprak anatomik özelliklerindeki değişim ...     | 50 |
| Şekil 4.10 | ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarının enine kesitlerinde dokuların görünümü (40x) .....               | 52 |
| Şekil 4.11 | ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarında stomaların görünümü (40x) .....                                 | 53 |
| Şekil 4.12 | ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki görünümleri .....                                                                                                                                         | 58 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|             |                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1 | Murashige ve Skoog besin ortamının içeriği .....                                                                                                                                                                          | 27 |
| Çizelge 3.2 | Ex vitro köklendirme için mikro çeliklerin yüzen perlit yatağına dikim tarihi, inkübasyon sürelerine göre bitkilerin seraya taşınma tarihi, serada büyüme ve gelişme periyodu ve vejetasyon sonunda inceleme tarihi ..... | 29 |
| Çizelge 4.1 | ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin bu aşamada köklenme, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri .....                               | 36 |
| Çizelge 4.2 | ‘Viking’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin seraya taşındıktan 4 hafta sonra morfolojik, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri .....                                    | 43 |
| Çizelge 4.3 | ‘Viking’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki bazı morfolojik özellikleri .....                                                                  | 45 |
| Çizelge 4.4 | ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin bu aşamada köklenme, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri .....                                 | 47 |
| Çizelge 4.5 | ‘Nero’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin seraya taşındıktan 4 hafta sonra morfolojik, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri .....                                      | 55 |
| Çizelge 4.6 | ‘Nero’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki bazı morfolojik özellikleri .....                                                                    | 57 |

## 1. GİRİŞ

### 1.1 Aronyanın Sistematikteki Yeri ve Biyolojik Özellikleri

Aronyanın dâhil olduğu *Aronia* cinsi Rosales takımı, Rosaceae familyasının bir üyesidir. Bu cins, Kuzey Amerika'ya özgü *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott (siyah aronya), *A. arbutifolia* (L.) Pers. (kırmızı aronya) ve *A. prunifolia* (Marshall) Rehder (mor aronya) ile hibrit takson *A. mitschurinii* A.K. Skvortsov and Maitul. türlerini kapsamaktadır (Leonard vd. 2013, Brand vd. 2022).

*Aronia* cinsi, türler arasındaki sınırların belirsiz olduğu taksonomik bakımdan çok karışık bir bitki grubu olarak kabul edilmektedir (Brand vd. 2022). Aronya kültür çeşitleri çoğu kaynakta *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott türü içerisinde tanımlanmakta ise de son yıllardaki moleküler çalışmalar bu çeşitlerin cinsler arası bir hibrit tür olan *A. mitschurinii* A.K. Skvortsov and Maitul.'in üyeleri olduğunu göstermiştir (Leonard vd. 2013, Brand vd. 2022, Mahoney vd. 2019, 2023, Sharma vd. 2025). *A. melanocarpa* ve *A. mitschurinii* arasındaki fenotipik görünüm benzer olsa da *A. mitschurinii* daha büyük meyvelere, daha yuvarlak şekilli yapraklara ve daha hızlı bir büyüme hızına sahiptir (Leonard vd. 2013, Sharma vd. 2025). *A. mitschurinii*, gen merkezi Kuzey Amerika olan siyah aronya türü *A. melanocarpa* ile *Sorbus aucuparia* (kuş üvezi) arasında 20. yüzyılın başlarında Rus meyve bilimci Ivan Michurin tarafından gerçekleştirilen melezleme çalışmaları sonucunda ya da doğal yollarla cinsler arası bir hibrit tür olarak ortaya çıkmıştır. Bu hibrit tür Rusya ve Kanada'dan dünyaya yayılmıştır (Jeppsson 2000, Leonard vd. 2013).

Rosaceae familyası altında elma, armut, ayva, aronya gibi bitki türlerini kapsayan Maleae tribusunda (oymak) basal kromozom sayısı  $x=17$ 'dir (Sun vd. 2018). *A. mitschurinii* türünün ebeveynlerinden birisi olan siyah aronya *A. melanocarpa* doğada diploid ve tetraploid olarak bulunabilmekte, eşeyli ve diplospori apomiksiz yoluyla eşeysiz olarak üreyebilmektedir. Cinsler arası hibrit olan *A. mitschurinii* ise sadece tetraploid bir aronya türüdür (Brand 2010, Leonard vd. 2013, Sun vd. 2018, Mahoney vd. 2019, 2023, Brand vd. 2022).

*Aronia* cinsine dâhil türler morfolojik olarak çok gövdeli çalı formunda odunsu bitkilerdir. Yaprakları yumurta şeklinde, parlak yeşil, kenarları ince dişli ve sürgün üzerindeki dizilişi almasıktır. Salkım şeklinde olan çiçeklerde beş adet beyaz veya pembemsi beyaz taç yaprak, çok sayıda erkek organ ve bir diş organ bulunmaktadır. Böceklerle tozlanan bu meyve türü kendine verimlidir. Meyve yapısı yumuşak çekirdekli. Meyvedeki çekirdek sayısı 1-5 adet arasındadır. Bir salkımda 30'dan fazla meyve bulunabilmektedir. Aronya pomolojik olarak üzüksü meyveler grubunda yer almaktadır. Kuzey Amerika orijinli üç aronya türü (*A. melanocarpa*, *A. arbutifolia*, *A. prunifolia*) rizomatöz (rizom oluşturan) yapıya sahipken ebeveynlerinden birisinin *Sorbus* cinsinin bir üyesi olmasından dolayı *A. mitschurinii* rizomatöz bir tür değildir (Ekiert vd. 2021, Brand vd. 2022).

## 1.2 Aronyanın Sağlık Üzerine Etkileri

Terapötik etkilerinden eski çağlarda hastalıklardan korunmak ve tedavi amacıyla yararlanılmış olan aronya günümüzde de süper meyve olarak isimlendirilmekte ve genel olarak tıbbi meyveler grubunda yer almaktadır (Valcheva-Kuzmanova ve Belcheva 2006, Kokotkiewicz vd. 2010, Sharma vd. 2025). Meyvelerinde ve yapraklarında yoğun miktarda bulunan polifenoller (proantosiyanidinler, antosiyaninler, flavonoidler ve fenolik asitler) sayesinde antioksidan, anti-inflamatuar, antiviral, antikanser, antiaterosklerotik (damar sertliğini önleyici), hipotansif (kan basıncını düşüren), antiplatelet (kan sulandırıcı), antidiyabetik ve hepatoprotektif (karaciğeri koruyucu) özelliklere sahip olan aronya karbonhidratlar, organik asitler, amino asitler, mineral maddeler, vitaminler, aroma bileşikleri gibi çeşitli biyoaktif bileşenler yönüyle de zengindir (Borowska ve Brzoska 2016, Szopa vd. 2017, Jurikova vd. 2017, Jurendic ve Scetar 2021, Negreanu-Pirjol vd. 2023).

Ekşi ve buruk tadından dolayı aronya meyveleri taze tüketimden ziyade (Borowska ve Brzoska 2016) kurutularak ya da meyve suyu, içki, enerji içecekleri, sirke, çay, reçel, jöle, sos, yoğurt, dondurma, atıştırmalık, sakız gibi işlenmiş gıdaların üretiminde değerlendirilmektedir (Kulling ve Rawel 2008, Jurikova vd. 2017, Zhang vd. 2021). Ayrıca antosiyanin seviyesi yüksek koyu renkli meyvelerinden dolayı aronya doğal bir

renklendiricidir ve gıda sektöründe güvenli ve işlevsel bir bileşen olarak kabul edilmektedir (Li vd. 2017).

Aronya meyvelerinin kimyasal bileşimi çeşit, yetiştirildiği yerin iklim ve toprak özellikleri, kültürel uygulamalar yanında meyvenin olgunluk düzeyi, hasat tarihi ve yöntemi, depolama koşulları gibi faktörler tarafından etkilenmektedir (Kulling ve Rawel 2008, Jurendic ve Scetar 2021). Boyacı vd. (2023), iki aronya çeşidinde meyvelerin fitokimyasal bileşiminin üç farklı hasat tarihinde (ağustosun son haftası, eylülün ilk ve ikinci haftaları) önemli miktarda değiştiğini bildirmiştir. Çeşitlerde çoğu bileşik en yüksek değerlerini ilk hasat döneminde (ağustos sonu) göstermiştir. Bu tarihte ‘Nero’ çeşidinde toplam monomerik antosiyanin (794.6 mg/100 g) ve toplam fenolik (5006.6 mg gallik asit eşdeğeri/100 g) içerikleri ve antioksidan aktivitesi (%79.3) en yüksek seviyede belirlenmiştir. Aynı zamanda glikoz (%6.9), malik asit (2302.8 mg/100 g) ve C vitamini (36.9 mg/100 g) içerikleri de en yüksek olmuştur. ‘Viking’ çeşidinde ise olgunluk ilerledikçe bazı bileşikler artmaya devam etmiş, toplam monomerik antosiyanin (597.4 mg/100 g) ve C vitamini (35.3 mg/100 g) üçüncü hasat tarihinde (eylül ortası) en yüksek olmuştur. Bu çeşitte toplam fenolikler (3749.6 mg gallik asit eşdeğeri/100g), antioksidan aktivitesi (%80.3) ve toplam şeker (%10.1) ise birinci hasat tarihinde en yüksek gerçekleşmiştir (Boyacı vd. 2023).

### 1.3 Aronya Üretimi, Çeşitleri ve Yetiştiriciliği

Günümüzde Polonya, dünya aronya üretiminin %75’ini karşılamakta ve en büyük üretici rolünü üstlenmektedir. Bu ülkeyi Almanya, ABD, Finlandiya, Norveç ve Rusya izlemektedir. Ülkemizde yaklaşık 10 yıl önce yetiştirilmeye başlanan bu meyve türünün tarımı günümüzde en fazla Kırklareli ve Bursa illerinde yapılmakta olup Yalova ve Tekirdağ bu illeri takip etmektedir (Şahin ve Erdoğan 2022, Coşkun 2024). Dünyada en fazla yetiştirilen çeşitler arasında Fin ‘Viking’, Çek ‘Nero’, Danimarka ‘Aron’, Polonya ‘Galicjanka’, İsveç ‘Hugin’, Rus ‘Rubina’ ve Macar ‘Fertodi’ yer almaktadır (Jurikova vd. 2017, Sharma 2025).

Aronya bitkileri her ne kadar farklı topraklara uyum sağlayabilmekte ise de nötr ya da hafif asidik toprakları tercih etmektedir. Dinlenme döneminde -35°C'ye kadar dayanabilmektedir. Nispeten geç çiçeklendiği için ilkbahar geç donlarından etkilenme riski daha azdır. Soğuklama isteği 900 saatten fazladır (Anonim 2022, Mahoney vd. 2023). Yoğun bakım istemeyen, olumsuz koşullara karşı daha dayanıklı, yetiştiriciliği nispeten kolay olan (Brand 2010, Sharma vd. 2025) bu meyve türünde gübre uygulamaları meyvelerde pigment oluşum seviyelerini, verimi ve büyümeyi iyileştirmektedir (Skupien ve Oszmianski 2007). Genç bahçelerde yabancı otlara karşı iyi bir mücadele yapılmalıdır. Bunun için başlangıçta malçlama uygulamaları önerilebilmekte ise de sonraki yıllarda dip sürgünü oluşumu nedeniyle malçın kaldırılması gerekmektedir (McKay 2001). Bu meyve türünün çok az hastalık ve zararlı sorunu bulunmaktadır. Mantar hastalıklarına karşı bahçelerde güneşlenme ve hava sirkülasyonu gerekmektedir (Knudson 2009). Aronya bahçelerinde dikim mesafesi 4-4.5 m sıralar arası ve 1-1.5-2 m sıra üzeri olarak uygulanabilmektedir. Makinalı hasadın ve geniş alanlarda yoğun üretimin yapıldığı bahçelerde sıra üzeri mesafe 0.6-0.8 m'ye kadar inebilmektedir (Hornig 2020, Sharma vd. 2025). Aronya bitkileri 2-3 yaşından itibaren meyve vermeye başlamaktadır. Dikimden sonra 3. yılda dekara 750 kg, 4. yılda 1.500 kg ve 5. yılda 1.800 kg meyve alınabilmektedir (Anonim 2022).

Aronyada çiçeklenme ve hasat dönemleri coğrafyaya ve iklim özelliklerine göre değişmektedir. Kuzey yarımkürede çiçeklenme nisan ortasından mayıs başına kadar yaklaşık on gün devam etmektedir. Hasat, yetiştiriciliğin yapıldığı yere göre genel olarak temmuz sonu ile eylül başı arasında gerçekleşmektedir. Hasat zamanında meyveler 1-1.5 cm çapında ve suda çözünür kuru madde miktarı %16 ile %19, titre edilebilir asitlik %0.6-0.7'dir (Poyraz Engin 2020, Sharma vd. 2025).

#### **1.4 Aronyanın Çoğaltımı**

Tetraploid aronya türleri *A. mitschurinii* ve tetraploid *A. melanocarpa*, apomiksiz tohum üretmeleri nedeniyle vejetatif olarak tohumla çoğaltılabilmektedir. Ancak bu yolla çoğaltılmış aronya bitkilerinin generatif aşamaya geçebilmeleri uzun zaman almakta, 3-5

yıl sürebilmektedir. Bu nedenle genetik açılım olmasa dahi tetraploid aronya çeşitlerinin tohumla çoğaltımı önerilmemektedir (Mahoney vd. 2019).

Rizom oluşturabilen aronya türlerinde (*A. melanocarpa*, *A. arbutifolia*, *A. prunifolia*) rizomla çoğaltma mümkün ancak kültür çeşitlerinin dâhil olduğu hibrit takson *A. mitschurinii* rizomatöz olmadığından bu yolla çoğaltım mümkün değildir. Rizomla çoğaltım yapılabilen türlerde bu metot nispeten az sayıda bitkiye ihtiyaç duyulduğunda kullanılabilen kolay ve oldukça başarılı bir yöntemdir (Brand 2017).

*A. mitschurinii* ve diğer aronya türleri yeşil, yarı odun ve odun çelikleriyle %100'e ulaşan oranlarda başarıyla çoğaltılabilmektedir. Yarı odun ve yeşil çelikler mist sistemine ihtiyaç duymaktadır. Yeşil çelikler 10-15 cm uzunlukta, odun çelikleri 15-20 cm uzunlukta hazırlanmakta, köklenme için dip kısımda yaralama ve talk içerisinde 3000 ppm IBA (indol bütirik asit) uygulamaları önerilmektedir (Brand 2017).

Aronya aşısı ile de çoğaltılabilmektedir. Bunun için masabaşı yongalı göz aşısı ya da kakma aşısı uygulanabilmektedir. *A. mitschurinii* kültür çeşitleri *Sorbus aucuparia* anacı üzerine başarıyla aşılanabilmektedir. Aşısı başarısı düşmekle birlikte aronya çeşitleri alıç, armut ve diğer üvezler üzerine de aşılanabilmektedir. Aronyada aşısı ile çoğaltım, hasatı kolaylaştırmak üzere aşının yerden 60 cm'den yapılarak bitkinin taç sistemini yukarıdan oluşturmak, gençlik dönemini kısaltmak, meyvenin olgunlaşma tarihini ve meyvelerin biyokimyasal içeriğini değiştirmek amacıyla kullanılabilmektedir (Brand 2017).

Aronyada en etkili ve hızlı çoğaltım yöntemi ise mikroçoğaltımdır (Litwinczuk 2013). Son yıllarda katma değeri hızla yükselen aronyanın yetiştiriciliğine olan ilginin artması ile birlikte fidan talebindeki büyüme, mikroçoğaltım yönteminin bu meyve türünde fidan üretiminde yaygın olarak kullanılmasını gerekli kılmaktadır (İmrak vd. 2021, Coşkun 2024). Aronyanın mikroçoğaltımında kolay, ucuz ve ticari anlamda uygulanabilirliği ve başarı oranı yüksek yeni protokollerin geliştirilmesinin önemi büyüktür. Tamamen in vitro koşullar yerine mikroçoğaltımın sadece sürgün çoğaltma aşamasının in vitro koşullarda yapıldığı, ex vitro köklenmeyi ve eş zamanlı aklimatizasyonu esas alan yüzen perlit yönteminin aronyanın mikroçoğaltımında da başarıyla kullanılabileceği yakın

zamanda gösterilmiştir (Coşkun 2024). Bu yöntem ile yüzen perlit yatağında mikro sürgünler oksin uygulamasına gerek kalmadan dört haftalık periyotda ex vitro köklendirilebilmekte ve aynı zamanda dış koşullara alıştırılabilmektedir (Clapa vd. 2013a ve b, 2014, 2015, 2016, Fira vd. 2014, 2015, 2016, Borsai vd. 2017, Nawandish vd. 2024, Coşkun 2024). Ancak yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinin köklenme ve aklimatizasyon başarısı ile bitkilerin büyüme ve gelişmesi üzerine etkileri, bu tekniğin uygulandığı diğer bitki türlerinde (böğürtlen, taşarmudu, yaban mersini, gül, sert çekirdekli, pavlonya, elma, gojiberi, leylak, armut) olduğu gibi aronyada da henüz araştırılmamıştır.

Bu tez çalışmasının hedefi, aronyanın mikroçoğaltımında ex vitro köklendirme ve eş zamanlı olarak dış koşullara alıştırmada yüzen perlit yatağı yönteminde farklı inkübasyon sürelerinin mikroçoğaltılmış bitkilerin morfolojik, anatomik ve fizyolojik parametreleri üzerine etkilerini belirleyerek yöntemi optimize etmektir. Bu hedefe yönelik olarak çalışmanın amaçları,

- 1) ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirme ve eş zamanlı dış koşullara alıştırmada hâlihazırda uygulanmakta olan 4 haftalık inkübasyon süresinden (Coşkun 2024) daha kısa ve daha uzun sürelerin (2, 3, 4, 5 ve 6 hafta) köklenme, yaprak anatomisi ve klorofil miktarı üzerine etkilerini saptamak,
- 2) Köklenme aşamasında uygulanan farklı inkübasyon sürelerinin, sera koşullarına taşınmasından 4 hafta sonra bitkilerin morfolojik özellikleri, yaprak anatomisi ve klorofil miktarı üzerine etkilerini ortaya çıkartmak ve
- 3) Vejetasyonun başında sürgün ucu tekniği ile kültüre alma dâhil, tüm aşamaların aynı yılda gerçekleştirildiği durumda aronyanın mikroçoğaltımında yüzen perlit yatağında köklenme aşamasında uygulanan farklı inkübasyon sürelerinin vejetasyon sonunda bitkilerin gelişimi üzerine etkilerini belirlemektir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

İn vitro koşullarda köklendirilmiş bitkilerin yapraklarında stomaların işlevsel olmaması, kütikulanın ve epikütikular mum tabakasının yeterli düzeyde gelişmemesi, fotosentetik etkinliğin düşük olması ve kök sisteminin zayıf ve fonksiyonel olmaması gibi morfolojik, fizyolojik ve anatomik anormallikleri aklimatizasyon aşamasında büyük kayıplara neden olmaktadır. Bu anormalliklerin başlıca nedenleri in vitro koşullardaki yüksek bağıl nem ve düşük ışık yoğunluğu, genellikle CO<sub>2</sub> desteğinin bulunmaması ve yapay besin ortamının sakaroz gibi hazır bir enerji kaynağı ile desteklenmiş olmasıdır (Rohr vd. 2003, Hazarika 2006, Pospisilova vd. 2007, Indravathi 2024). Bu koşullarda köklendirilmiş mikro sürgünlerin dış koşullara alıştırılmasında in vitro aklimatizasyon, su kültürleri, CO<sub>2</sub> uygulama, biyostimülantlar ve bitki büyümeyi düzenleyiciler gibi aklimatizasyonun etkinliğini artıracak uygulamalar bildirilmektedir. Işıklanma koşullarını optimize etme, nemi kademeli olarak azaltma ve antioksidan savunma sistemini güçlendirme gibi stratejilerin in vitro bitkilerin hayatta kalma oranlarını iyileştirmek için kritik olduğu belirtilmektedir (Kumar ve Rao 2012, Grzelak vd. 2024). Ex vitro köklendirmede ise bitkilerin kök yapısı, in vitro köklerden farklı ve fonksiyonel olduğu için bitkiler çevrenin düşük bağıl nemine daha kolay adapte olabilmektedir. Ex vitro köklendirme ile mikroçoğaltım protokolü basitleşmekte, iş gücü ve üretim maliyeti azalmakta ve bu teknoloji laboratuvarlardan araziye kolayca uyarlanabilmektedir (Hazarika 2006, Indravathi 2024).

### 2.1 Aronyanın Mikroçoğaltımında İn Vitro Köklendirme ve Dış Koşullara Alıştırma Çalışmaları

Aronyanın mikroçoğaltımında in vitro köklendirme ortamına farklı dozlarda IBA (0.5-2.0 mg/L) ilave eden Petrovic ve Jacimovic-Plavsic (1992), en yüksek değerleri 1.5 mg/L IBA dozunda %66.7 köklenme oranı, 2.8 adet kök sayısı ve 7.8 mm kök uzunluğu ile belirlemişlerdir. IBA ilave edilmeyen ortamlarda ise köklenmenin olmadığını bildirmişlerdir.

Brand ve Cullina (1992), *A. arbutifolia* ve *A. melanocarpa* aronya türlerinin mikroçoğaltımında in vitro köklendirme için 1 mg/L IBA içeren ½ MS (Murashige ve Skoog) ortamında *A. arbutifolia*'da %87 ve *A. melanocarpa*'da %83 köklenme oranı belirlemişlerdir. Bitkileri serada başarıyla dış koşullara alıştırmışlardır.

Aronyada in vitro köklenme için farklı oksinlerin etkisini araştıran Staniene vd. (1999), 0.5 mg/L IAA (indol asetik asit), NAA (naftalen asetik asit) ya da IBA uygulanmış mikro sürgünlerde %90-94 köklenme oranı, köklenmiş sürgün başına 5-9 adet kök sayısı ve 1-2 cm kök uzunluğu saptamışlardır. Köklenmiş mikro sürgünlerde dış koşullara alışma oranı %100 olarak bildirilmiştir.

Colon-Guasp vd. (1996), *A. arbutifolia* mikro çeliklerinin in vitro koşullarda köklendirildiği besin ortamına 2 mg/L IBA'nın yanında aklimatizasyona yardımcı olmak amacıyla sürgünleri pişkinleştirecek bir ön uygulama olarak ABA (absizik asit) (0-4 mg/L) ilave etmişlerdir. Bununla birlikte ABA uygulamaları bitkilerin dış koşullara alışmasını kolaylaştıracak fizyolojik bir fayda sağlayamamıştır.

Litwinczuk (2002), iki aronya çeşidinin ('Nero' ve 'Galicjanka') mikroçoğaltımında in vitro köklendirmede 0.05 mg/L IBA'nın yanında 100-200 mg/L arginin, prolin ya da kazein hidrolizat ilave edilmiş ½ MS ortamının etkilerini araştırmıştır. Uygulamaların ortalaması olarak köklenme oranı 'Galicjanka' çeşidinde %89.0 ile 'Nero' çeşidinden (%80.0) daha yüksek belirlenmiştir. Kök sayısı ve uzunluğu çeşitlere göre sırasıyla 3.9 ve 4.3 adet ile 0.9 ve 1.0 cm arasında değişmiştir. Her iki çeşitte de 200 mg/L kazein hidrolizat dışındaki uygulamalarda genel olarak köklenme oranı, kök sayısı ve uzunluk değerleri yüksek bulunmuş ise de en iyi sonuçlar 200 mg/L arginin uygulamasından elde edilmiştir. İn vitro bitkiler eşit oranda torf+perlit karışımına dikilerek yüksek nem,  $21\pm3^{\circ}\text{C}$  sıcaklık ve  $64.4\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  ışık yoğunluğunda 16 saat aydınlık koşullarda aklimatizasyona tabi tutulmuştur. Bu bitkilerin dış koşullara alışma oranları 'Galicjanka' ve 'Nero' çeşitlerinde sırasıyla %50.7 ve %57.5'dir. Bu durumda in vitro köklendirme ile çoğaltım başarısı çeşitlere göre %51.2 ('Galicjanka') ve %40.6 ('Nero') olarak beyan edilmiştir.

Kwak vd. (2015), ‘Nero’ ve ‘Viking’in de aralarında bulunduğu beş aronya çeşidinde in vitro köklenme ve bitki gelişimi üzerine ½ WPM (Woody Plant Medium) temel besin ortamına ilave edilen farklı dozlarda (0, 0.5, 1, 3 ve 5 mg/L) iki oksin grubunun (IBA ve NAA) etkilerini araştırmışlardır. Altı hafta inkübasyon süresinin sonunda her iki oksinde de 3 mg/L dozunda en yüksek köklenme oranının (%98) belirlendiği çalışmada kök sayısı IBA için 8.8 adet, NAA için 4.4 adet olarak saptanmış, IBA daha etkin bulunmuştur. Besin ortamına oksin ilave edilmediğinde köklenme oranı %80, kök sayısı ise 1.6 adet olmuştur. Daha sonra bitkiler torf:perlit:vermikulit (1:1:1, v/v/v) ortamına aktarılmış, ilk iki haftası %90 yüksek nem koşullarında olmak üzere 4 haftalık sürede dış koşullara alıştırılmıştır. Bu aşamada bitkilerde canlılık oranı %92.0 ile %100 arasında bulunmuştur. Sürgün uzunluğu, kalınlığı ve yaprak sayısı çeşitlere göre değişmiş, ‘Nero’ ve ‘Viking’ çeşitlerinde sürgün uzunluğu sırasıyla 10.4 cm ve 10.6 cm, sürgün kalınlığı 2.6 mm ve 2.7 mm, yaprak sayısı 16.2 adet ve 15.3 adet olarak bildirilmiştir. Köklenmede oksin uygulanan bitkilerin gelişimi daha iyi olmuştur.

Sivanesan vd. (2016) ise aronyanın in vitro köklendirilmesinde oksin ilave edilmemiş besin ortamında köklenmenin meydana gelmediğini ve ½ MS ortamına farklı dozlarda (0.25, 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/L) katılan IBA ve NAA’dan IBA’nın daha etkin olduğunu bildirmişlerdir. İn vitro köklenme oranı (%100), bitki başına kök sayısı (10.6 adet) ve uzunluğu (5.4 cm) 30 günün sonunda en yüksek 1.0 mg/L IBA’da belirlenmiş, torf:perlit:vermikulit (1:1:1, v/v/v) ortamında 4 haftada bitkilerin tamamı dış koşullara alışmıştır.

Mikroçoğaltım yoluyla aronyanın başarıyla çoğaltılabildiğini ifade eden Brand (2017), in vitro koşullarda köklendirmenin 1 mg/L IBA içeren ½ MS ortamında yapılabileceğini ve dış koşullara alıştırmanın 14 gün veya daha uzun sürede gerçekleşebileceğini belirtmiştir.

Shuang vd. (2018), aronyanın in vitro köklenmesi için mikro sürgünleri 0.05 mg/L IBA ilave edilmiş ½ MS ortamında kültüre almışlardır. Köklenme oranını %100 ve in vitro bitkilerin torf:çam yaprağı:iri kum (2:1:1) ortamı üzerinde yaşama oranını %96 olarak belirtmişlerdir.

Almokar ve Pırlak (2018), ‘Viking’ aronya çeşidinin mikroçoğaltımı konusunda yaptıkları çalışmada mikro sürgünleri kontrol dışında 1, 2 ve 3 mg/L IBA ilave ettikleri MS besin ortamında 30 günlük periyotda in vitro koşullarda köklendirmişlerdir. Çalışmada en yüksek kök sayısı 8.0-9.5 adet arasında kontrol, 1 ve 2 mg/L IBA uygulamalarında belirlenmiştir. Kök uzunluğu, kontrol ve 1 mg/L uygulamalarında sırasıyla 22.6 mm ve 18.0 mm ile diğer uygulamalardan önemli bir farklılık ile daha yüksek bulunmuştur. İn vitro bitki boyu ise kontrol (29 mm) ve 2 mg/L IBA uygulamasında (33 mm) en yüksek belirlenmiştir.

Üç *Aronia* türünde mikro sürgünlerin in vitro köklenmesi ile ilgili çalışmalarında Brandova vd. (2019), ½ MS ortamına 1 mg/L dozunda katılmak üzere *A. melanocarpa* türünde IBA’yı, *A. arbutifolia* ve *A. prunifolia* türlerinde NAA’yı önermektedirler. Bu oksinler kullanılarak türlere göre köklenme oranı sırasıyla %80, %100 ve %80, kök sayısı ise 2.3, 3.8 ve 2.3 adet olarak bildirilmektedir.

Petrova vd. (2019), ‘Amit’, ‘Nero’, ‘Viking’, ‘Hugin’ ve ‘Brilliant’ aronya çeşitlerinin mikroçoğaltımında köklenme aşamasında kontrol uygulaması dışında 0.5 ve 1 mg/L dozlarında iki oksinin (IAA ve IBA) etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar in vitro kök oluşumunun ‘Nero’ çeşidinde 0.5 mg/L IAA, ‘Viking’ ve ‘Brilliant’ çeşitlerinde 0.5 mg/L IAA veya IBA, ‘Hugin’ çeşidinde 1 mg/L IAA veya IBA, ‘Amit’ çeşidinde 0.5 ya da 1 mg/L IBA uygulamalarında sağlandığını bildirmişlerdir. Steril olmayan koşullara adaptasyon bakımından bitkilerde yüksek canlılık oranlarına (%97-99) dikkat çekilmiştir.

Çelebi Toprak ve Alan (2020) tarafından aronya çeşitlerinin mikroçoğaltımında in vitro köklendirmede IBA, 1/1 WPM ortamına 1 mg/L (R1) ve ½ WPM ortamına 3 mg/L (R2) ilave edilerek denenmiştir. İn vitro bitkilerde ortalama sürgün uzunluğu R1 ortamında ‘Eastland’ çeşidinde 2.1 cm, ‘Viking’ çeşidinde 1.4 cm ve ‘Nero’ çeşidinde 1.9 cm, R2 ortamında sırasıyla 1.5 cm, 1.4 cm ve 1.2 cm olarak belirlenmiştir. ‘Eastland’, ‘Viking’ ve ‘Nero’ çeşitlerinde her iki ortamda da köklenme oranı %100 olmuştur. İn vitro bitkilerin sera koşullarına taşınmasından 12 ay sonra bitki boyu çeşitlerde sırasıyla 52.0 cm, 59.2 cm ve 48.3 cm, çapı 1.4 cm, 1.5 cm ve 1.2 cm ve dal sayısı 9.4 adet, 8.8 adet ve 7.3 adet olarak bildirilmiştir.

Borsai vd. (2021), 'Nero' aronya çeşidinin mikro sürgünlerinde in vitro köklenme başarısını 1 mg/L IBA ilave edilmiş MS ortamında %94.6 olarak bildirmişlerdir. Laboratuvarında mini serada eşit oranlarda torf ve perlit karışımına dikilen in vitro bitkilerin %68.2 oranında dış koşullara alıştığı belirtilmiştir.

Imrak vd. (2021), iki aronya çeşidinde ('Viking' ve 'Nero') mikro sürgünleri ½ MS ortamında kontrol ve 0.1 mg/L GA<sub>3</sub> (gibberellik asit) varlığında IBA (1, 2, 3 mg/L) veya NAA (0.5, 1, 2, 3 mg/L) ya da IBA+NAA kombinasyonunda (2 mg/L IBA ve 0.5 mg/L NAA) araştırmışlardır. En yüksek köklenme oranı (%80), IBA+NAA kombinasyonunda saptanmıştır.

Isac ve Plopa (2022), 'Nero' and 'Melrom' aronya çeşitlerinin mikroçoğaltımında in vitro köklenme için 0.7 mg/L IBA ilave edilmiş MS besin ortamını kullanmışlardır. Bu ortam üzerinde köklenme oranı çeşitlere göre sırasıyla %97 ve %80.2 olarak bildirilmiştir. Bitki başına kök sayısı ise 2.8 adet olarak belirtilmiştir. İn vitro bitkiler perlite dikilmiş, yüksek nem ve gölgeleme koşulları sağlanmıştır. Dış koşullara alışan bitki oranı 45 gün sonra %90-93 olarak kaydedilmiştir.

Jakab vd. (2022), üç aronya çeşidinin ('Nero', 'Melrom', 'Galicjanka') mikro sürgünlerinin in vitro köklendirilmesinde 40 mg/L phloroglucinol ilave edilmiş WPM ortamını kullanmışlardır. Çalışmada, 1.2 g/L aktif kömür ile birlikte 0.5 mg/L IBA veya sadece 1 mg/L IBA'nın kök uzunluğu üzerine etkisi araştırılmış ve en yüksek değerler her iki uygulamada da (sırasıyla 2.8 cm ve 2.7 cm) 'Nero' çeşidinde kaydedilmiştir. IBA'nın 0.5 mg/L dozu aktif kömür ile birlikte kök uzunluğunu artırmıştır. İn vitro bitkiler başlangıçta perlit ve daha sonra eşit oranlarda toprak:perlit:kum içeren ortamda dış koşullara alıştırılmıştır.

'Nero' aronya çeşidinin mikroçoğaltımında in vitro köklenme aşamasında farklı IBA dozlarının (0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L) etkilerini ½ MS ortamında araştıran Polat ve Eskimez (2022), 4 hafta sonunda bu aşamada en iyi sonuçlara 1 mg/L IBA dozunda ulaşıldığını belirlemişlerdir. Diğer uygulamalarda %30-%60 arasında değişen köklenme oranı 1 mg/L IBA uygulamasında %90 olarak kaydedilmiştir. Bu uygulamada bitki başına

kök sayısı (13 adet), kök uzunluğu 2.3 cm, sürgün uzunluğu 2.7 cm olarak bildirilmiştir. İn vitro bitkilerin dış koşullara uyumu, torf:perlite (2:1) karışımı üzerinde yüksek nem koşulları oluşturularak sağlanmıştır.

Rusea vd. (2022), 'Nero' aronya çeşidinde 1, 2. ve 3. alt kültürlerinden alınmış mikro sürgünlerin in vitro köklendirilmesinde 0.2 veya 0.7 mg/L IBA dozlarının etkilerini araştırmışlardır. IBA dozları, MS ortamının makro elementleri ve vitaminleri ile LF ortamının mikro elementlerini içeren 0.1 mg/L GA<sub>3</sub> ile desteklenmiş besin ortamına ilave edilmiştir. Dört hafta sonra köklenme oranları (%79.8-%95) bakımından uygulamalar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Araştırmacılar, 3. alt kültürden gelen ve 0.7 mg/L IBA'da köklendirilen mikro sürgünlerin yüksek köklenme oranı (%95) ve kök sayısına (6.1 adet) sahip olduğunu, en uzun kök değerinin (3.2 cm) ise 0.2 mg/L IBA uygulamasından elde edildiğini bildirmişlerdir. İn vitro bitkilerin dış koşullara alıştırmada gölgeleme ile birlikte perlite, kokopit, mineral yün ve torf:çiftlik gübresi:kum (1:2:1, v/v) karışımının etkilerinin araştırıldığı çalışmada en iyi aklimatizasyon oranı (%90), sürgün uzunluğu (5.7 cm) ve yaprak sayısının (10.1 adet) perlite ortamından alındığı belirtilmiştir.

Demirel vd. (2023), 'Nero' aronya çeşidinde in vitro koşullarda köklendirmeye tabi tutulmuş mikro sürgünlerde 60 gün sonra kök ve sürgün gelişmesiyle ilgili çoğu bulgunun WPM ortamında, MS ortamına göre daha yüksek değerlere sahip olduğunu bildirmişlerdir. WPM ve MS ortamlarında ortalama kök sayısı sırasıyla 25.7 adet ve 20.3 adet olurken sürgün uzunluğu 5.8 cm ve 4.9 cm bulunmuştur. Ortalama kök sayısı, denemede yer alan IBA dozları (0, 0.5, 1, 1.5, 2 mg/L) arasında en yüksek 1 ve 2 mg/L IBA dozlarında belirlenmiştir. Bu değer belirtilen uygulamalarda sırasıyla 29.3 adet ve 31.7 adet olarak kaydedilmiştir. Sürgün uzunluğu ise 6.7 cm ile en yüksek 2 mg/L IBA'da saptanmıştır.

Bayhan ve Yucesan (2024), aronyanın mikroçoğaltımında sürgün çoğaltım aşamasında 30 g/L sakaroz ve 0.5 mg/L BAP (benzil amino pürin) ya da 10 g/L veya 20 g/L sakaroz 1 mg/L BAP içeren MS ortamının en az camlaşma riski ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Camlaşmanın, mikro sürgünlerin köklenme ve in vitro bitkilerin dış

koşullara alışma aşamalarındaki olumsuzluklarına dikkat çekilen çalışmada mikroskopik gözlem sonuçlarının, camlaşma seviyesi yükseldikçe stoma hücrelerinin ortalama sayısı, genişliği ve uzunluğunda önemli artışlar olduğunu gösterdiği belirtilmiştir. Camlaşma olmadığında in vitro sürgünlerin yapraklarında 76.12 stoma/mm<sup>2</sup> olan stoma sayısı, düşük camlaşma oranında 106.27 mm<sup>2</sup>, şiddetli camlaşma durumunda ise 135.43 stoma/mm<sup>2</sup> olarak saptanmıştır. Şiddetli camlaşmada yapraklarda stoma genişliği (35.52 µm) ve uzunluğu (45.13 µm) da, camlaşmanın olmadığı duruma göre (sırasıyla 27.92 µm ve 42.21 µm) daha yüksek bulunmuştur. Araştırmacılar dış koşullara alışma aşamasında camlaşma ile stoma özellikleri arasında net bir ilişki olduğunu vurgulamıştır.

Nas vd. (2025) çalışmalarında ‘Viking’ aronya çeşidinde 1/1 ve 1/2 kuvvetindeki MS ortamına kontrol dışında ilave edilen 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg/L IBA dozlarının ya da 0.5 ve 1.0 g/L aktif kömürün in vitro köklenme üzerine etkilerini araştırmışlardır. Tüm uygulamalarda mikro çeliklerin tamamının köklendiği çalışmada en yüksek kök sayısı 1/1 ve 1/2 MS ortamına 1 mg/L dozunda ilave edilen IBA uygulamasında sırasıyla 7.7 ve 10.2 adet/ekplant olarak belirlenmiştir. En yüksek kök uzunluğu değerleri ise her iki MS ortamında da 0.5 g/L (7.3-5.8 cm) veya 1.0 g/L (6.2 cm) aktif kömür uygulamalarında saptanmıştır. İn vitro köklendirilmeden sonra torf ve perlit karışımı doldurulmuş plastik bardaklara dikilen ve üzeri yine plastik bardakla kapatılan in vitro bitkiler iklim odasına alınmış, iki haftadan sonra üstteki bardakta kademeli olarak delikler açılmış ve 2 hafta sonra üstteki bardak kaldırılmıştır. Bitkiler 2 ay laboratuvar koşullarında tutulmuş, 20-25 cm uzunluğa ulaşınca sera koşullarına taşınmış, 2-3 hafta sonra saksılara dikilerek dış ortama alınmıştır. Aklimatizasyon aşamasında 1/2 MS ortamında köklendirilmiş in vitro bitkilerin %98’inin, 1/1 MS ortamında köklendirilmiş olanların %92’sinin hayatta kaldığı bildirilmiştir.

## **2.2 Aronyanın Mikroçoğaltımında Ex Vitro Köklendirme ve Eş Zamanlı Dış Koşullara Alıştırma Çalışmaları**

Brand ve Cullina (1992), iki aronya türü *A. arbutifolia* ve *A. melanocarpa*’da mikro sürgünleri in vitro köklendirmenin yanında ex vitro koşullarda da 3 kısım sfagnum yosunu ve 1 kısım perlit ortam üzerinde köklendirmiş ve aynı zamanda dış koşullara

alıştırmışlardır. Araştırmacılar in vitro koşullarda *A. arbutifolia*'da %87 ve *A. melanocarpa*'da %83 olarak bildirdikleri köklenme oranlarını ex vitro koşullarda daha yüksek düzeyde sırasıyla %96 ve %95 olarak belirtmişlerdir.

Litwinczuk (2002) da iki aronya çeşidinin ('Nero' ve 'Galicjanka') mikro sürgünlerini in vitro köklendirmenin yanında 0, 1500 ve 3000 ppm IBA uygulamalarını esas alarak ex vitro koşullarda, eşit oranlarda perlit ve torf karışımı üzerinde köklendirmiştir. Köklenme oranları 'Nero' çeşidinde %68.5 ve 'Galicjanka' çeşidinde %77.0 olarak bildirilmiştir. Çeşitlerin ortalaması olarak köklenme oranları, IBA'nın bulunmadığı kontrol uygulamasında (%70.4), 1500 ppm (%76.9) ve 3000 ppm (68.5) uygulamalarına istatistiksel anlamda benzer gerçekleşmiştir. 'Nero' ve 'Galicjanka' çeşitlerinde bitki boyu 7 hafta sonra 2.5 cm, 18 hafta sonra 5.9 cm olarak bildirilmiştir. Oksin uygulamaları bitkilerin büyümesini uyarmıştır. IBA'nın 0, 1500 ve 3000 ppm dozları için bitki boyu 7. haftada sırasıyla 2.2 cm, 2.7 cm ve 2.6 cm, 18. haftada ise 5.5 cm, 6.2 cm ve 6.0 cm olarak ölçülmüştür. IBA uygulamaları ile bitki boyu yaklaşık %11 artmıştır. İn vitro ve ex vitro köklendirme sonrasında bitki üretim başarıları karşılaştırıldığında, in vitro köklendirmede 'Nero' çeşidinde %40.6 ve 'Galicjanka' çeşidinde %51.2 olan başarı oranı, ex vitro köklendirmede yaklaşık %25 daha yüksek gerçekleşmiştir. Çalışmasının sonunda araştırmacı, aronyanın mikroçoğaltımı için daha kolay ve ucuz olan ex vitro köklendirmeyi önermiştir.

Litwinczuk (2013) da aronyada in vitro koşullarda mikro sürgünlerde köklenme oranının %90'ın üzerinde olmasına rağmen bu yöntemle köklendirmenin ve daha sonra in vitro bitkileri dış koşullara alıştırmanın pahalı ve güç olduğunu belirtmiştir. Ex vitro koşullarda köklendirmede ise yüksek köklenme etkinliği yanında köklenme ile aynı zamanda bitkiler dış koşullara alıştığı için canlılık oranının %100'e yakın olduğunu belirtmiştir.

Brand (2017), aronya mikro sürgünlerinin ex vitro koşullarda 10 ile 21 gün arasında değişen bir periyotda köklenebildiğini, talk formunda 1000 ppm IBA uygulamasının köklenme oranını artırdığını ve ex vitro koşulların bitki üretimi için daha uygun olduğunu belirtmiştir.

Borsai vd. (2021), 'Nero' aronya çeşidinde in vitro koşullarda köklenme oranını %94.6 ve aklimatizasyon oranını %68.2 olarak bildirirlerken, ex vitro koşullarda torf ve perlit karışı üzerinde mikro sürgünlerin %94 oranında köklenebildiğini ve aynı zamanda dış koşullara da alışabildiğini belirtmişlerdir.

Araştırmacılar aronyada ex vitro köklendirme ve aynı zamanda dış koşullara alıştırma çalışmalarında genellikle geleneksel yöntemleri kullanmışlardır (Brand ve Cullina 1992, Litwinczuk 2002, Brand 2017, Borsai vd. 2021). Bu yöntemlerde ex vitro koşullarda mikro çelikler kök oluşturunca kadar kurumamaları için yüksek nem koşullarında tutulmaktadır. Bu amaçla mikro çeliklerin dikili olduğu kaplar plastik örtü altına alınmakta ya da iklim odası, mist, fog gibi otomatik sistemler kullanılarak ortam sık aralıklarla veya sürekli nemlendirilmektedir. Kök oluşumuyla birlikte ortamın nemi kademeli olarak düşürülmekte ve aklimatizasyon tamamlanmaktadır (Grzelak vd. 2024). Bilinen geleneksel yöntemler ile ex vitro köklendirme ve dış koşullara alıştırma çoğu zaman zahmetli ve otomatik sistemler kullanıldığında ise kurulum ve işletme maliyeti yüksektir. Buna karşılık bu geleneksel yöntemlerden farklı olarak yüzen perlit yatağı tekniğinde, başlangıçta ihtiyaç duyulan yüksek nem plastik örtü, iklim odası, mist, fog gibi sistemlere gerek duyulmadan oda koşullarında dahi gerçekleştirilebilmektedir. Bu yöntemde plastik leğenlere konulan su ve üzerine serilen eşit miktardaki perlit ile hazırlanan "yüzen perlit yatağı"nın altındaki su, mikro çeliklerin dikili olduğu seviyede yüksek bağıl nem koşulları oluşturmaktadır. Böylece dikimden itibaren mikro çelikler kurumadan canlılıklarını sürdürebilmekte, perlit ortamın gözenekli yapısı sayesinde su ve oksijenden yoksun kalmadan başarıyla köklendirilebilmektedir. Ex vitro köklendirme ve aklimatizasyonda başarı oranı yüksek ve aynı zamanda düşük maliyetli bu yöntem ile mikroçoğaltımda üretim maliyeti bir hayli düşürülebilmektedir (Clapa vd. 2013a, b, 2014, 2015, 2016, Fira vd. 2014, 2015, 2016, Borsai vd. 2017, Nawandish vd. 2024, Coşkun 2024).

Coşkun (2024), 'Viking' ve 'Nero' aronya çeşitlerinde yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirme ve aynı zamanda dış koşullara alıştırma çalışmasında farklı IBA dozlarının (0, 25, 50, 100, 200, 500, 1000 ve 1500 mg/L) 4 haftalık süreçte köklenme üzerine etkilerini araştırmıştır. İlk denemede 500 mg/L ve üzerindeki IBA dozlarının özellikle

‘Viking’ çeşidinde mikro çeliklerin canlılık oranını %70’in altına düşürdüğünü belirten araştırmacı sonraki denemelerinde IBA’nın 0-200 mg/L dozlarını kullanmıştır. Çalışmada köklenme parametreleri bakımından IBA dozları arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur. IBA dozlarının ortalaması olarak, ‘Viking’ çeşidinde canlılık oranı %97.7, köklenme oranı %99.7, mikro çelik başına kök sayısı 6.2 adet, yaş ve kuru ağırlıklar 23.9 mg ve 2.4 mg, en uzun kökün uzunluğu 4.8 cm ve köklenme düzeyi (1-4) 3.4 olarak belirlenmiştir. ‘Nero’ çeşidinde ise canlılık oranı %94.6, köklenme oranı %99.3, mikro çelik başına kök sayısı 4.3 adet, yaş ve kuru ağırlıklar 25.2 mg ve 2.3 mg, en uzun kökün uzunluğu 6.1 cm ve köklenme düzeyi (1-4) 3.4 olarak kaydedilmiştir.

### **2.3 Mikroçoğaltımın Dış Koşullara Alıştırma Aşamasında Bitkilerde Yaprak Anatomisi ve Klorofil Kapsamındaki Değişimler Konusundaki Çalışmalar**

Mikroçoğaltımda bitkiciklerde in vitro koşulların neden olduğu gövde, yaprak ve köklerdeki anatomik anormallikler fotosentez, terleme, su ve mineral alımı gibi önemli fizyolojik süreçleri etkileyebilmekte, bu nedenle ex vitro koşullara aktarılan in vitro bitkiciklerde özellikle aşırı terleme, yetersiz su alımıyla birleşerek ciddi su stresine neden olmaktadır. Kütikül ve stomalar, yapraklardan su kaybının birincil yollarıdır. Su alımı, kök sisteminin verimliliğine bağlıdır ve bu sorunlar göz önüne alınarak başarılı bir aklimatizasyon için in vitro bitkiciklerin tamamen ototrofik hale gelmesinin teşvik edilmesi ve su stresinin azaltılması önemlidir. İn vitro bitkiciklerin dış koşullara aktarıldığında kurumaları, kütikül yapısı, düzensiz stoma kontrolü ve doğal gelişmiş bir kök sistemlerinin olmamasına bağlıdır. İn vitro bitkiciklerde yaprakların yüzeyindeki epikütikular mumun kristal yapısı ve kalitesi, sera veya bahçede yetiştirilen bitkilerinkinden önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Epikütikular mum tabakasının olmaması aşırı terlemeye yol açmakta ve bu durum aklimatizasyon sürecini engelleyebilmektedir. Histolojik çalışmalar, in vitro bitkiciklerin yapraklarının sera veya bahçede yetiştirilen bitkilere göre çok daha az gelişmiş bir palizat mezofil tabakasına sahip bulunduğunu, stomalarının sıklıkla diğer bitkilerin stomalarından daha uzun ve geniş olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışmalar kültür kabındaki yüksek bağıl nem ve düşük ışık seviyelerinin stoma morfolojisini, yapısını ve yoğunluğunu etkilediğini ortaya koymuştur (Rohr vd. 2003).

Fuchigami vd. (1981), Pixy (*Prunus insititia*) erik anacının in vitro ve sera koşullarına alıştırmış bitkilerinden alınan yaprak örneklerinde epikütikular mumun gelişimini taramalı elektron mikroskop ile incelemişlerdir. Araştırmacılar serada 2 hafta aklimatize edilmiş bitkilerin yapraklarının üst yüzeyinde, in vitro bitkilerin yapraklarından daha fazla mum içeriği belirlemişlerdir. Aklimatize olmuş bitkilerde yaprak üst yüzeyinin mum içeriği, alt yüzeyin mum içeriğinden daha fazla bulunmuştur. İn vitro bitkilerin yapraklarının alt yüzeyinde mum gözlenmemiştir. Stomalar in vitro ve sera bitkilerinin herikisinde de yaprakların sadece alt yüzeyinde saptanmıştır. Epikütikular mum tabakaları aklimatize olmuş bitkilerin yapraklarında stoma bekçi hücrelerini sararken in vitro bitkilerde bu gözlenememiştir. Araştırmada nem kaybıyla ilgili çalışmaların, yapraklardan su kaybının sadece alt yüzeyden gerçekleştiğini gösterdiğini, bu bulguya göre bitkilerde aklimatizasyon sürecinde meydana gelen su kaybının yaprak alt yüzeyinin kütikul tabakası ve stomalarından kaynaklandığını düşündürdüğü ileri sürülmüştür.

Marin vd. (1988) çalışmalarında 'Masto de Montanana' (*Prunus cerasus*) kiraz anacının mikroçoğaltılmış bitkilerinin aklimatizasyonu sürecinde çevresel değişiklere tepki kapsamında yapraklarda stoma yapısı ve fonksiyonunu araştırmışlardır. Serada düşük nem koşullarında stomaların hemen kapandığını oysa in vitro koşullarda bu kapanmanın oldukça yavaş seyrettiğini (%75'inin 15 dakikada), bu tepkinin aklimatize olmuş bitkilerde yeni gelişmiş yapraklarda düzeldiğini, in vitro bitkilerde stomaların bekçi hücrelerinin aklimatizasyon sırasında özelliklerini değiştirerek yeni çevre koşullarına uyum sağladığını bildirmişlerdir. İn vitro yapraklarda stomalar belirgin olarak daha büyük ve daha yuvarlakken normal, yeni ve aklimatize olmuş yaprakların stomaları elips şeklinde gözlenmiştir. Düşük nem koşullarına bağlı bitki kayıpları üzerine stomaların fonksiyonundan ziyade aklimatizasyonun başlangıcında in vitro yapraklardaki yüksek stoma yoğunluğunun neden olabileceği öne sürülmüştür.

Noe ve Bonini (1996) çalışmalarında 'Bluetta' maviyemiş çeşidinin (*Vaccinium corymbosum*) mikroçoğaltılmış bitkilerinde in vitro ve ex vitro koşullarda yaprak anatomilerini incelemişlerdir. İn vitro koşullarda yaprak hücrelerinin yuvarlak ve küçük olduğunu, palizat ve sünger parankimasının hücreler arası boşlukları büyük olan 1-2 sıra

hücre tabakasından oluştuğunu, palizat/sünger mezofil kalınlık oranının 1:1.5 olduğunu bildirmişlerdir. İklim odasında yapay ışık altında ex vitro bitkilerde yeni oluşmuş yaprakların daha büyük olmasına rağmen in vitro koşullardakiler ile aynı anatomik özellikler gösterdiğini ifade etmişlerdir. Araştırmacılar iklim odasında ya da serada in vitro veya ex vitro olmasına bakılmaksızın yaprak gelişimini ışık yoğunluğu (şiddeti) ve spektrumunun etkilediğini öne sürmüşlerdir. Soğuk beyaz ışık yayan lambalar altında gelişen yaprakların, doğal ışık altında gelişenlere kıyasla daha ince palizat (27-29  $\mu\text{m}$ ) ve sünger (40-42  $\mu\text{m}$ ) mezofiline sahip olduğunu, doğal ışık altında oluşan ilk yaprakların yaprak (111  $\mu\text{m}$ ), palizat (34  $\mu\text{m}$ ) ve sünger (45  $\mu\text{m}$ ) mezofil kalınlıklarında önemli artışlar gösterdiğini belirtmişlerdir. Bitkilerin bahçede yetiştirilen bitkilere benzer yapraklar üretmeye başlamasının oldukça uzun zaman aldığını, palizat hücrelerinin tipik olarak dikdörtgen şekilli, düzenli ve sürekli bir dağılım gösterdiğini, sünger parankimasının 3-4 sıra hücre tabakasından oluştuğunu ve boş alanların sadece stomaların civarında bulunduğunu gözlemlemişlerdir. Stomaların, yaprakların sadece alt yüzeyinde, in vitro ise alt ve üst yüzeylerde bulunduğu ifade etmişlerdir. İn vitro yapraklardaki stoma sayısı (361 adet/ $\text{mm}^2$ ), doğal koşullara maruz yapraklardakilerden (195 adet/ $\text{mm}^2$ ) çok daha yüksek bulunmuştur. Doğal koşullarda stoma boyutu artmış olmasına rağmen yaprak boyutunun aynı olduğu, iklim odasında ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerden elde edilen yapraklarda stomaların dairesel şeklini koruduğu, ancak stoma sıklığının düştüğü (170 adet/ $\text{mm}^2$ ) belirlenmiştir. Bahçede yetiştirilen yapraklarda ölçülen stoma yoğunluğu 241  $\text{mm}^2$  ve bekçi hücreleri elips şekilli olarak bildirilmiştir.

Khan vd. (1999), saplı meşe (*Quercus robur*) türünde in vitro koşullarda bitkilerin yapraklarında stoma yoğunluğunun ve indeksinin, ex vitro koşullara alıştırılmış ve serada geliştirilmiş bitkilere göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Her iki özellik de dış koşullara alışmayla birlikte düşüş göstermiştir.

Barry-Etienne vd. (2002), kahvede (*Coffea arabica*) somatik embriyolardan geliştirilmiş in vitro ve ex vitro bitkilerin özelliklerini karşılaştırdıkları çalışmalarında ex vitro bitkilerin yapraklarında stoma sayısının (167 ve 100 adet/ $\text{mm}^2$ ), in vitro bitkilerin stoma sayısından (233 adet/ $\text{mm}^2$ ) daha düşük olduğu belirlemişlerdir. Ayrıca, in vitro bitkilerin yapraklarında stomaların yuvarlak ve daha büyük, ex vitro bitkilerin ise elips şeklinde

olduğunu gözlemişlerdir. Stomalarda uzunluk ve genişlik değerleri in vitro bitkilerde sırasıyla 31  $\mu\text{m}$  ve 25  $\mu\text{m}$ , ex vitro bitkilerde 30.5  $\mu\text{m}$  ve 18.5  $\mu\text{m}$  olarak ölçülmüştür. İn vitro bitkilerde sünger ve palizat parankimasının daha az geliştiği gözlenmiştir.

Chen vd. (2006), *Bupleurum kaoi* (tıbbi bir bitki) bitki türünün in vitro mikroçoğaltımı ve ex vitro aklimatizasyonu ile ilgili çalışmalarında en yüksek epidermal hücre sayısını in vitroda kültür kaplarının 2 kat alüminyum folyo ile sarıldığı uygulamada in vitro bitkilerde 2720 adet/ $\text{mm}^2$  ile yaprağın alt yüzeyinde belirlemişlerdir. Bu hücrelerin genişliği 19.6  $\mu\text{m}$ , uzunluğu 40.5  $\mu\text{m}$  olarak ifade edilmiştir. Ex vitro bitkilerde epidermal hücre yoğunluğunun azaldığı (642 adet/ $\text{mm}^2$ ), genişliği (35.3  $\mu\text{m}$ ) ve uzunluğunun (58.7  $\mu\text{m}$ ) ise arttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar in vitro bitkilerde stoma ile ilgili bulguları kültür kaplarının 2 kat alüminyum folyo ile sarıldığı uygulamada yaprağın alt yüzeyinde 576 adet/ $\text{mm}^2$  yoğunluk, 3.94  $\mu\text{m}$  genişlik ve 9.05  $\mu\text{m}$  uzunluk olarak belirtmişlerdir. Ex vitro bitkilerde bu değerler sırasıyla 133 adet/ $\text{mm}^2$  yoğunluk, 1.68  $\mu\text{m}$  genişlik ve 6.81  $\mu\text{m}$  uzunluk olarak bildirmişlerdir.

Faisal ve Anis (2009) çalışmalarında *Rauvolfia tetraphylla* türünde (tropik bir çalı türü) in vitro bitkilerin ex vitro koşullara alıştırılması sürecinde fotosentetik aktivite, pigment kompozisyonu ve diğer bazı fizyolojik özelliklerindeki değişimleri araştırmışlardır. İn vitro bitkiler iklim odasında kontrollü koşullarda farklı sürelerde (0, 7, 14, 21, 28 gün) 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (düşük ışık) veya 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (yüksek ışık) fotosentetik foton akı yoğunluğunda (PPFD) dış koşullara alıştırılmıştır. Her iki ışık yoğunluğunda da aklimatizasyon sürecinde klorofil a ve b seviyelerinde artış gözlenmiştir. Başlangıçta mikro çoğaltılmış bitkiler fotosentetik olarak aktif değilken aklimatizasyon sırasında yeni oluşan yapraklarda net fotosentetik oranların arttığı gözlenmiştir. Bitkilerin hem 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , hem de 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PPFD'de aklimatizasyonu sırasında pigment konsantrasyonunda artış tespit edilmiştir. Aklimatizasyon periyodunun 0, 7, 14, 21 ve 28. günlerinde klorofil a değeri 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 'de yaklaşık 0.16, 0.20, 0.26, 0.30 ve 0.40 mg/g yaş ağırlık olarak verilmiştir. Klorofil a, 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 'de ise 7, 14, 21, 28. günlerde yaklaşık 0.19, 0.32, 0.30 ve 0.41 mg/g yaş ağırlık olarak belirlenmiştir. Bu değerler klorofil b için 50  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 'de yaklaşık 0.08, 0.09, 0.15, 0.18 ve 0.20 mg/g yaş ağırlık, 300  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 'de 0.09, 0.16, 0.15 ve 0.17 mg/g yaş ağırlık olarak

bildirilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında klorofil a'daki artış oranı düşük ışıktaki %15-56, yüksek ışıktaki %6-57, klorofil b'de ise sırasıyla %11-60 ve %11-53 olarak belirtilmiştir. Pigment içeriklerinde gözlenen farklılıkların, bitkilerin aklimatizasyonu sırasında heterotrofikten ototrofik beslenmeye geçişini ve dış koşullara uyum sağladığını düşündürdüğü dile getirilmiştir.

Batagin-Piotto vd. (2012), bir palmiye türü olan *Bactris gasipaes* bitkisinde aklimatizasyon sürecinde yaşanan güçlüklerin nedenlerini belirlemek üzere in vitro ve ex vitro bitkiler ile tohumdan üretilmiş in vivo bitkilerin yapraklarının anatomik özelliklerini incelemişlerdir. İn vitro bitkiler aseptik koşullarda, ex vitro bitkiler ise in vitro bitkilerin torbalara dikildikten sonra iklim odasında 50 gün ve daha sonra sera koşullarında %50 yoğunlukta doğal ışık altında 130 gün tutularak 180 günde dış koşullara alıştırılmasıyla elde edilmiştir. Tüm bitki gruplarında yaprağın üst ve de alt yüzeylerinde düz duvarlı ve her iki hücre ucu sivri, yan yana ve yaprak damarlarının ana eksenine hizalanmış, düzensiz ve farklı boyutlu tek sıradan oluşmuş epidermal hücrelerin varlığı gösterilmiştir. Tohumdan yetişmiş in vivo bitkilerin yaprakları ile karşılaştırıldığında in vitro ve ex vitro bitkilerde her iki yüzeyde de epikütikular mumun yokluğu veya daha az biriktiği görülmüştür. Kalın bir mum tabakasının oluşmaması, kültür kaplarında nemin sürekli yüksek kaldığı çevre koşulları ile ilişkilendirilmiştir. Stoma yoğunluğu özellikle yaprakların alt yüzeyinde in vitro, ex vitro ve tohumdan elde edilmiş in vivo bitkilerde sırasıyla 55.5, 57.8 ve 58 adet/mm<sup>2</sup>, üst yüzeyde ise sadece 7.5, 8.5 ve 11 adet/mm<sup>2</sup> olarak bulunmuştur. Bu türde stoma yoğunluğu bakımından bitki grupları arasında önemli bir farklılık gözlenmemişken üç bitki grubunda da stoma sayısının yaprağın alt yüzeyinde, üst yüzeyden önemli düzeyde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Tohumdan elde edilmiş in vivo bitkilerde yaprağın alt yüzeyinin, in vitro ve ex vitro bitkilere göre daha geniş stomalara sahip olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılar, *Bactris gasipaes* türünde in vitro, ex vitro ve tohumdan yetişmiş in vivo bitkilerin yapraklarında incelenen özelliklerin genellikle farklılık göstermediğini ve in vitro bitkilerin dış koşullara alıştırılmasında karşılaşılan zorlukları açıklayamayacağı sonucuna ulaşmışlardır.

Chirinea vd. (2012), incirin bahçede, sera koşullarında aklimatizasyon için 20, 40 ya da 60 gün tutulmuş ya da in vitrodan çıkartılmış bitkilerinde yaprak anatomisindeki

değişimleri incelemişlerdir. Stoma yoğunluğunun en yüksek bahçedeki bitkilerin yapraklarında bulunduğu (336 adet/mm<sup>2</sup>), bu değerin sera koşullarında 20, 40 ya da 60 gün tutulan bitkilerde sırasıyla 197, 130 ve 107 adet/mm<sup>2</sup> ve in vitro bitkilerde ise 206 adet/mm<sup>2</sup> olduğu belirlenmiştir. Stoma yoğunluğu bakımından in vitro bitkiler ile aklimatizasyon için 20 gün serada tutulmuş bitkiler arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Stoma uzunluğu bahçe koşullarındaki bitkilerde (27.5 µm) genel olarak in vitro (22.3 µm) ve serada aklimatize edilmiş bitkilerden daha yüksek olmuştur. Stoma genişliği bakımından benzer bir farklılık kaydedilmemiştir. İn vitro bitkilerde, serada aklimatizasyon için 20 ve 40 gün tutulmuş bitkilerde yaprakların epidermis, mezofil ve yaprak kalınlıkları genel olarak serada 60 gün tutulmuş veya bahçe koşullarındaki bitkilerden daha düşük bulunmuştur. Araştırmacılar sonuç olarak in vitro bitkilerin yaprak dokularının, dış koşullara alıştırılmış bitkilere göre çok az farklılaşma gösterdiğini ve yüksek stoma sayısına sahip olduğunu, aklimatizasyon sırasında stoma sayısının azaldığını bildirmişlerdir.

Rodrigues vd. (2014) çalışmalarında *Jatropha curcas* L. türünün (tropik ve subtropik iklimde yetişen herdem yeşil bir çalı veya küçük ağaç) in vitro ve sera koşullarındaki bitkilerinin anatomisini araştırmışlardır. İn vitro bitkilere (4.1) göre sera bitkilerinin yapraklarında stoma indeksinin (12.5) daha yüksek olduğunu, mezofil kalınlığının farklılık göstermediğini, parankima hücrelerinin daha büyük kloroplastlara sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Dragolova vd. (2015), *Nepeta nuda* ssp. *nuda* türünde (ballıbabagiller familyasından) in vitro ve serada ex vitro bitkiler ile bahçe koşullarındaki in vivo bitkilerin yapraklarında anatomik ve pigment analizleri yapmışlardır. Bahçede gelişen bitkilerde stoma yoğunluğu yaprak alt yüzeyinde daha yüksek bulunmuştur. Asimilasyon parankimasının çift sıra palizat parankiması ve 3-4 sıra sünger parankimasından oluştuğu, üst sıradaki palizat hücrelerinin alt sıradakilerden daha uzun ve düzenli, silindirik, sünger parankiması hücrelerinin ise tipik olarak düzensiz bir şekle sahip olduğu ve sadece yaprağın alt yüzeyindeki epidermis hücrelerine bitişik olanların hafifçe uzun olduğu bildirilmiştir. İn vitro bitkilerin yaprak ayasının in vivo bitkilere kıyasla yaklaşık iki kat daha ince olduğu ve asimilasyon parankiması farklı organizasyona sahip yapraklar oluşturduğu tespit

edilmiştir. İn vitro bitkilerde yaprak ayası, bir sıra çok kısa palizat hücrelerinden ve iki sıra sık sünger hücrelerinden oluşmuştur. Ex vitro bitkilerin asimilasyon parankimasının tipik olarak yapılandığı, iki sıra düzenli silindirik palizat hücrelerinden ve üç sıra sünger hücrelerinden oluştuğu, bu bitkiler ile in vivo bitkiler arasında yapraklardaki epidermal dokuların yapısal organizasyonunda hiçbir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir. Yaş ağırlık başına yapraklarda klorofil a miktarı in vivo bitkilerde (1.05 mg/g), in vitro (1.27 mg/g) ve seradaki ex vitro (1.60 mg/g) bitkilerden daha düşük bulunmuştur. Klorofil b bakımından da in vivo bitkilerde (0.07 mg/g), in vitro (0.15 mg/g) ve seradaki ex vitro (0.16 mg/g) bitkilerden daha düşük değerler kaydedilmiştir.

Baklagiller grubunda tıbbi amaçlı kullanılan *Bauhinia racemosa* bitki türünün (bir ağaç ya da çalı) in vitro çoğaltımında maliyeti düşürmek ve zamandan tasarruf sağlamak için ex vitro köklendirme ve aklimatizasyon protokolü geliştiren Sharma vd. (2017), in vitro sürgün ve ex vitro bitkilerin yaprak mikromorfolojilerini de incelemişlerdir. Alt kültürlerden alınan in vitro sürgünlerin ve köklenmeden 6-7 hafta sonra dış koşullara alışmış bitkilerin yapraklarının stomaları karşılaştırıldığında, dış koşullara alışmış bitkilerin yapraklarında stomaların daha az sayıda ve seyrek, bununla birlikte in vitro sürgünlerde çok yoğun, sık ve sürekli açık, ancak işlevsel olmadığını bulmuşlardır. Çalışmada, in vitro kültürlerden seraya transfer edildikten sonra bitkiciklerin yaprak morfolojisi ve anatomisinde özellikle epidermal karakterlerin önemli değişikliklere uğradığı bildirilmiştir.

Hiti-Bandaralage vd. (2020), 'Reed' (aklimatizasyonu kolay) ve 'Velvick' (aklimatizasyonu zor) avokado çeşitlerinde in vitro ve dış koşullara alıştırılmış bitkilerin yapraklarında mikromorfolojik özelliklerdeki değişimleri araştırmışlardır. Bu amaçla çalışmada in vitro bitkilerde kültür kabından çıkartma sırasında, aklimatizasyonun 5. gününde ve 1. ayında yapraklarda stoma indeksi ve stoma yoğunluğu belirlenmiş ve epidermal gözlemler yapılmıştır. Parazitik stomaların her iki avokado çeşidinde de yaprakların alt yüzeyinde bulunduğu bildirilmiştir. 'Reed' çeşidinde aklimatizasyonun 5. gününde ve 1. ayında, gözenek boyutuna ve bekçi hücrelerinin eğrilğine dayanarak stomaların işlevsel görüldüğü belirtilmiştir. 'Velvick' stomalarında bekçi hücrelerinde eğikliğinin, in vitro koşullarda, aklimatizasyonun 5. gün ve 1. ayına kıyasla daha fazla

olduğu görülmektedir. Her aşamada, daha az sayıda ve daha büyük epidermal hücrelere sahip olan 'Reed' çeşidine kıyasla 'Velvick' çeşidinde çok sayıda daha küçük epidermal hücreler gözlenmiştir. Çalışmada yapraklarda daha küçük epidermal hücrelerin varlığı ve yüksek stoma yoğunluğu düşük aklimatizasyon başarısıyla ilişkilendirilmiştir.

Wang vd. (2020), çok yıllık otsu tıbbi bir bitki türü olan *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax'ın in vitro köklendirilmiş bitkilerinde stoma kompleksinde (stoma açıklığı, bekçi hücreleri ve yardımcı hücreler) anormallikler kaydetmişlerdir. In vitro köklendirilmiş bitkilerde stomalar açık, ex vitro köklendirilmiş bitkilerin stomaları ise kapalı, boyut ve dağılımı bir örnek olarak gözlenmiştir. Stoma yoğunluğu in vitro bitkilerin yapraklarında (58.4 adet/mm<sup>2</sup>), ex vitro bitkilerin yapraklarından (26.9 adet/mm<sup>2</sup>) daha yüksek bulunmuştur. Ex vitro köklendirilmiş bitkilerde stoma kompleksinin normal ve stoma yoğunluğunun daha az olmasının, bitkilerin dış koşullara alışma olasılığındaki yüksekliğin göstergesi olduğu belirtilmiştir.

Shekhawat vd. (2021) çalışmalarında Hint sandal ağacının (*Santalum album* L.) mikroçoğaltımında in vitro ve ex vitro koşullarda bitkilerde morfo-anatomik ve fizyolojik değişimleri incelemişlerdir. Yaş ağırlık başına toplam klorofil miktarı in vitro bitkilerde (0.34 mg/g), sera ortamında 4 hafta süreyle pişkinleştirilmiş (0.47 mg/g) ve 12 hafta süreyle aklimatize edilmiş bitkilere (0.58 mg/g) göre daha düşük tespit edilmiştir. İn vitro bitkilerin yapraklarında az gelişmiş kütikul tabakası, düzensiz doku sistemleri, ince mezofil dokuları, daha az vasküler eleman ve mekanik dokular, gevşek ve ince duvarlı parankimatik dokular gibi yapısal anormallikler gözlenmiştir. Yaprak ayası, fotosentetik açıdan yetersiz palizat dokularından (tek katlı) ve az katlı sünger parankimasından oluşmuştur. Serada 4 haftalık pişkinleştirme sürecinde bitkilerin yapraklarında kütikul kalınlaşması, palizat ve sünger parankima hücrelerinin farklılaşması ile klorofilli mezofil hücreleri meydana gelmiştir. Sera koşullarında 12 haftalık aklimatizasyon sürecinde yaprakların geliştiği, kütikul birikimin, epidermal hücrelerdeki gelişimin ve yaprak ayasındaki yoğun kloroplastlara sahip mezofil hücrelerin artış gösterdiği gözlenmiştir. Mezofil dokuda iki kat palizat parankiması ve 5-6 kat sünger parankima hücresi tespit edilmiştir. Serada ex vitro koşullarda pişkinleştirme ve aklimatizasyon süreçlerinde dokular onarılmış ve sonunda canlılık oranı %98 olarak bildirilmiştir.

Okello vd. (2021), *Aspilia africana* türünde (papatyagiller familyasından otsu bir bitki) in vitro bitkilerin 4 haftalık aklimatizasyonundan sonra 1. haftada klorofil içeriğini ( $32.5 \pm 1.7$ ), dış koşullardaki ana bitkilerinkinden ( $37.8 \pm 1.7$ ) çok daha düşük bulmuşlardır. Düşük klorofil içeriğinin *A. africana*'da in vitro yaprakların aklimatizasyonun ilk haftalarında azalan fotokimyasal aktivitesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Ancak 4. haftaya gelindiğinde mikroçoğaltılmış bitkilerin klorofil içeriği, ana bitkilere göre daha hızlı artmış ve seviyeleri birbirine yaklaşmıştır. Beşinci haftadan sekizinci haftaya kadar mikroçoğaltılmış bitkilerin klorofil içeriği  $43.3 \pm 1.38$ 'den  $45.7 \pm 1.3$ 'ye, ana bitkilerin ise  $43.7 \pm 1.5$ 'den  $45.6 \pm 1.4$ 'e hafif bir artış göstermiştir. İn vitro bitkilerin yapraklarında palizat hücrelerinin düzensiz ve zayıf bir şekilde geliştiği, mezofil dokusunun, çok geniş boşluklu, zayıf bir şekilde farklılaşmış parankima hücrelerinden oluştuğu bildirilmiştir.

Gautam vd. (2024), *Moringa concanensis* (tıbbi amaçlı kullanılan bir ağaç) türünde mikroçoğaltımda mikro-morfo-anatomik gelişmeler konusundaki çalışmalarında bu türde stomaların yalnızca yaprağın alt yüzeyinde anomositik stoma kompleksi şeklinde (yardımcı hücrelerin epidermisin diğer hücrelerinden ayırt edilemediği, düzensiz hücre yapısına sahip stomata tipi) bulunduğunu bildirmişlerdir. İn vitro bitkilerin yapraklarındaki stoma kompleksinin, in vitro sürgünlerin heterotrofik yapısını yansıtan biçimde açık ve işlevsiz, dış koşullara taşınmış bitkilerin ise işlevsel olduğunu, bu durumun bitkinin dış koşullarda hayatta kalma yeteneğini yansıttığını belirtmişlerdir.

Tisarum vd. (2025), beyaz zerdeçalın (*Curcuma zedoaria*) in vitro bitkilerini %3 sakaroz (kontrol), %6 sakaroz, %4 manitol ya da %3 sakaroz+%2.5 manitol ilave ettikleri MS besin ortamında 6 hafta kültüre alarak in vitro koşullarda izo-osmotik aklimatizasyon uygulaması yapmışlardır. Daha sonra bu uygulama ile aklimatize olmuş in vitro bitkileri, ilk 2 haftası %80 nispi neme sahip serada olmak üzere 6 hafta ex vitro aklimatizasyona tabi tutmuşlardır. Çalışmada izo-osmotik aklimatizasyonu %3 sakaroz + %2.5 manitol uygulamasıyla yapılan bitkilerin daha sonra sera koşullarına çok iyi adapte olduğu, toprak altı ve toprak üstü morfolojik ve fizyolojik özellikleri ve fotosentetik kabiliyetlerinin en üst düzeye çıktığı belirlenmiştir.

### 3. MATERİYAL VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü ve Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarlarında 2024-2025 yıllarında yürütülmüştür.

#### 3.1 Materyal

Tez çalışmasında bitkisel materyal olarak ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinin (*A. mitschurinii* A.K. Skvortsov and Maitul.) in vitro kültürlerinden sağlanan mikro sürgünler kullanılmıştır. Dünyada aronyanın en tanınmış kültür çeşitleri arasında yer alan, orijin yerleri Finlandiya (‘Viking’) ve Çekya (‘Nero’) olan bu çeşitler (Ochmian vd. 2012), Türkiye’de yetiştiriciliği en fazla yapılan iki aronya çeşitidir (Poyraz Engin 2020). ‘Viking’ genel olarak çok sayıda (30-40 adet) dip sürgünü oluşturan, dik gelişen, 2.2-2.5 m yükseklikte çalı formunda bitkiler oluşturmaktadır. ‘Nero’ ise ‘Viking’ çeşidine göre daha yatay gelişen, daha kısa boylu (1.8-2.0 m), daha az dip sürgününe sahip çalı formunda bitkilere sahiptir. ‘Viking’ çeşidinde meyvelerin şekli basık, rengi mor siyah, ‘Nero’ çeşidinde ise meyveler yuvarlak ve siyah renktedir. Yalova koşullarında bu çeşitler nisan ayının sonu, mayıs ayının başında çiçeklenmekte, değerlendirme şekillerine göre meyveler ağustos ayı ortasından ekim ayının sonuna kadar hasat edilebilmektedir. Tam çiçeklenmeden hasada kadar geçen gün sayısı yaklaşık 140 gün ise de kurutularak değerlendirilecek üründe hasat geciktirilebilmektedir. Hasat, suda çözünabilir kuru madde miktarı %16-18’e ulaştığında yapılabilir (Poyraz Engin 2020). Çoğu kaynakta aronya kültür çeşitleri bilimsel olarak *A. melanocarpa* (Michx.) Elliott olarak adlandırılmakta ise de son yıllarda yapılan moleküler ve biyolojik çalışmaların bulgularına göre aronya kültür çeşitleri, hibrit takson *A. mitschurinii* A.K. Skvortsov and Maitul. altında tanımlanmaktadır (Indravathi 2024, Sharma vd. 2025).

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 İn vitro kültürlerin oluşturulması ve mikro sürgünlerin çoğaltılması

Mikroçoğaltımın başlangıç aşamasında ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitleri, sürgün ucu kültürü prensiplerine göre 04 Mayıs 2024 tarihinde kültüre alınmıştır. Bahçe koşullarındaki 4 yaşlı saksılı ana bitkilerin aktif büyüme döneminde bulunan sürgünlerinin uç kısmından ~2 cm uzunlukta toplanan sürgün uçları önce akan musluk suyu altında 30 dakika yıkanmıştır. Ardından sterilizasyon işlemine başlanmış ve sürgün uçları 2 damla Tween 20 ilave edilmiş %15’lik sodyum hipoklorit çözeltisinde yatay çalkalayıcı üzerinde 15 dakika süreyle çalkalanmıştır. Sodyum hipoklorit çözeltisi, %15 aktif klor (m/v) içeren ticari sodyum hipoklorit çözeltisinden hazırlanmıştır. Aseptik koşullarda laminar hava akışı sağlayan kabinde sodyum hipoklorit çözeltisinden çıkartılan sürgün uçları otoklavlanmış deiyonize su ile 3 kez 5’er dakika süreyle durulanmıştır. Laminar kabinde sürgün uçları yaklaşık 1.5-2 cm uzunlukta hazırlanarak besin ortamına dikilmiştir. Altı hafta sonra tüplerde gelişen sürgünler yine aseptik koşullarda tüplerden çıkartılarak sürgün çoğaltma aşaması için erlenmeyer kaplarında 1. alt kültüre alınmıştır. Alt kültürler 4-5 hafta arayla tekrarlanmıştır.

Kültürler,  $25\pm1^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki, fotosentetik foton akı yoğunluğu  $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  olan 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotun uygulandığı iklim odasında 4-5 hafta süreyle inkübe edilmiştir.

Başlangıç aşaması için besin ortamı olarak 0.5 mg/L BAP, 0.3 mg/L GA<sub>3</sub> ve %3 sakaroz ilave edilmiş MS temel besin ortamı (Sigma-Aldrich, M5519) kullanılmıştır (Çizelge 3.1) (Anonymous 2025). Ortamın pH’sı 5.7’ye ayarlanmış ve %0.8 agar (Sigma-Aldrich, 05039) ile katılaştırılmıştır. Besin ortamı, 2.5 cm çap ve 15 cm uzunluktaki cam tüplere 10’ar mL döküldükten sonra otoklavlanmıştır. Alt kültürlerde sürgün çoğaltma aşamasında ise amonyum nitrat içeriği 1/3 olan MS temel besin ortamı esas alınmıştır (Murashige ve Skoog 1962). Bu ortama yine 0.5 mg/L BAP, 0.3 mg/L GA<sub>3</sub> ve %3 sakaroz ilave edilmiş, ortamın pH’sı 5.7’ye ayarlanmış ve %0.8 agar ile katılaştırılmıştır. Bu besin ortamı 250 mL’lik erlenmeyer kaplara 50’şer mL dökülmüş ve otoklavlanmıştır. Besin

ortamları, otoklavda 121°C sıcaklıkta ve 0.12 MPa (megapaskal) basınçta 20 dakika sürede steril hale getirilmiştir.

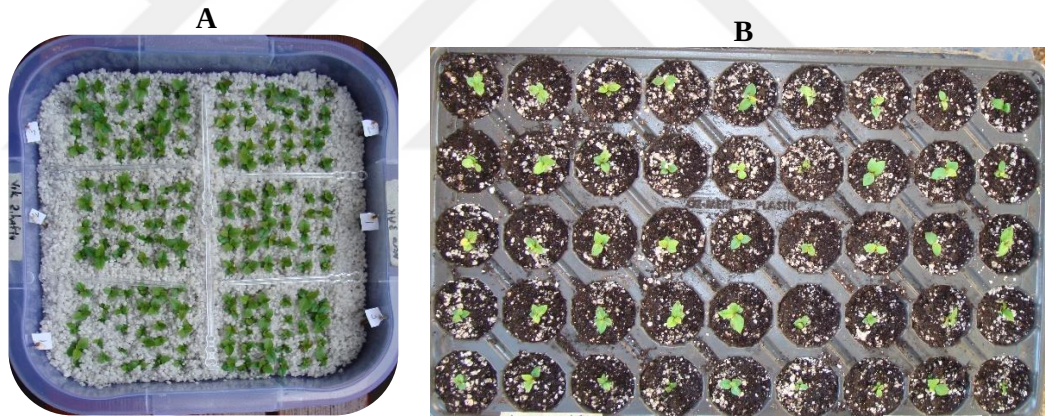
Çizelge 3.1 Murashige ve Skoog besin ortamının içeriği (Sigma-Aldrich, M5519)

| <b>Mineral Maddeler</b>             | <b>mg/L</b> |
|-------------------------------------|-------------|
| Amonyum nitrat                      | 1650.0      |
| Potasyum nitrat                     | 1900.0      |
| Kalsiyum klorür (susuz)             | 332.2       |
| Monopotasyum fosfat                 | 170.0       |
| Magnezyum sülfat                    | 180.7       |
| Na <sub>2</sub> -EDTA               | 37.26       |
| Demir sülfat · 7H <sub>2</sub> O    | 27.8        |
| Mangan sülfat · H <sub>2</sub> O    | 16.9        |
| Çinko sülfat · 7H <sub>2</sub> O    | 8.6         |
| Borik asit                          | 6.2         |
| Potasyum iyodür                     | 0.83        |
| Sodyum molibdat · 2H <sub>2</sub> O | 0.25        |
| Kobalt klorür · 6H <sub>2</sub> O   | 0.025       |
| Bakır sülfat · 5H <sub>2</sub> O    | 0.025       |
|                                     |             |
| <b>Organik Maddeler</b>             | <b>mg/L</b> |
| Glisin                              | 2.0         |
| Myo-inositol                        | 100.0       |
| Nikotinik asit                      | 0.5         |
| Piridoksin · HCl                    | 0.5         |
| Tiamin · HCl                        | 0.1         |

### 3.2.2 Yüzen perlit yatağında mikro çeliklerin ex vitro köklendirilmesi ve eş zamanlı dış koşullara alıştırılması, bitkilerin seraya taşınması, büyütülmesi ve geliştirilmesi

Köklendirme denemeleri kapsamında mikro sürgünler 1. deneme için 2. alt kültürün sonunda (17 Ağustos 2024), 2. deneme için 3. alt kültürün sonunda (14 Eylül 2024) erlenmeyerlerdeki sürgün demetlerinden sağlanmıştır. Sürgün demetleri laboratuvarında aseptik olmayan koşullarda alt kültürlerden çıkartılmış ve su ile yıkanarak agar kalıntılarından arındırılmıştır. Daha sonra bu demetlerden 2 cm ve daha uzun sürgünler kesilerek ayrılmış ve su ile doldurulmuş bir beher içerisinde biriktirilmiştir. Mikro çelikler, bu mikro sürgünlerin uç kısmından ~2 cm uzunlukta ve 3-4 yapraklı olarak hazırlanmış, dikim işlemine kadar kurumaması için su dolu beher içinde kısa bir süre muhafaza edilmiştir. Ex vitro köklendirme amacıyla mikro çelikler bekletilmeden

yarısına kadar yüzen perlit yatağına dikilmiştir (Şekil 3.1 A). Dikimden önce mikro çeliklere herhangi bir uygulama yapılmamıştır. Yüzen perlit yatağı, 6 L'lik plastik bir leğene (25 cmx25cmx11 cm) önce 3 L çeşme suyu konulması ve ardından su yüzeyine 3 L tarım perlitinin yavaşça serilmesiyle hazırlanmıştır (Clapa vd. 2013a, Coşkun 2024). Mikro çelikler dikildikten sonra yüzen perlit yatakları 2, 3, 4, 5 ya da 6 haftalık 5 farklı inkübasyon süresi boyunca  $25\pm1^{\circ}\text{C}$  sıcaklıktaki, fotosentetik foton akı yoğunluğu  $75\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  olan 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık fotoperiyotun uygulandığı iklim odasında inkübe edilmiştir. İklim odasında bir nemlendirme işlemi yapılmamıştır. İnkübasyon sırasında buharlaşmaya bağlı olarak perlit yatağının hafifçe içe çöktüğü durumda leğenin bir köşesinden alt kısma bir huni yardımıyla sadece çeşme suyu ilavesi yapılmıştır. İklim odasında her köklendirme (inkübasyon) süresinin sonunda mikro çelikler yüzen perlit yatağından çıkartılmış, köklenme durumu incelendikten sonra torf:perlit (2:1, v/v) karışımı ile doldurulmuş göz çapı 5 cm olan 45'lik viyollere dikilmiştir (Şekil 3.1 B).



Şekil 3.1 ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde ex vitro köklendirme için yüzen perlit yatağına dikilmiş mikro çelikler (A) ve köklenme sonrası viyole dikilmiş bitkiler (B)

Viyoller, serada %50 gölge tülü altına taşınmış ve 2 hafta sonra gölge tülü kaldırılmıştır. Bitkiler fan-ped sistemine sahip serada, viyoller içerisinde vejetasyon sonuna kadar tutulmuştur. Serada tutuldukları periyotda bitkiler düzenli olarak sulanmış ve her hafta makro ve mikro elementleri içeren MS besin ortamından 1/5 kuvvetinde hazırlanmış solüsyon ile bitki başına 10’ar mL gübrenmiştir.

Bitkiler sera koşullarında vejetasyon sonuna kadar büyüme ve gelişmesine devam etmiştir. Yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirme denemesi aynı tarihte kurulduğu için sera koşullarında 4 hafta sonra yapılan inceleme tarihi inkübasyon sürelerine göre farklı olmuştur. İkinci inceleme ise vejetasyon sonunda aynı tarihte yapılmıştır. Bu nedenle bitkilerin vejetasyon sonuna kadar serada geliştiği süre farklılık göstermiştir. Yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirme ve eş zamanlı dış koşullara alıştırmaya denemelerinden 1.'si ile ilgili tarihler çizelge 3.2'de sunulmuştur.

Çizelge 3.2 Ex vitro köklendirme için mikro çeliklerin yüzen perlit yatağına dikim tarihi, inkübasyon sürelerine göre bitkilerin seraya taşınma tarihi, serada büyüme ve gelişme periyodu ve vejetasyon sonunda inceleme tarihi

| Mikro çeliklerin yüzen perlit yatağına dikim tarihi | Yüzen perlit yatağında inkübasyon süresi | İnkübasyon sürelerine göre bitkilerin seraya taşındığı tarih | Bitkilerin seraya taşındıktan 4 hafta sonra inceleme tarihi | Vejetasyon sonunda serada bitkilerin inceleme tarihi | Bitkilerin vejetasyon sonuna kadar serada geliştiği süre |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| 17.08.2024                                          | 2 hafta                                  | 31.08.2024                                                   | 28.09.2024                                                  | 08.12.2024                                           | 14 hafta                                                 |
| 17.08.2024                                          | 3 hafta                                  | 07.09.2024                                                   | 05.10.2024                                                  | 08.12.2024                                           | 13 hafta                                                 |
| 17.08.2024                                          | 4 hafta                                  | 14.09.2024                                                   | 12.10.2024                                                  | 08.12.2024                                           | 12 hafta                                                 |
| 17.08.2024                                          | 5 hafta                                  | 21.09.2024                                                   | 19.10.2024                                                  | 08.12.2024                                           | 11 hafta                                                 |
| 17.08.2024                                          | 6 hafta                                  | 28.09.2024                                                   | 26.10.2024                                                  | 08.12.2024                                           | 10 hafta                                                 |

### 3.2.3 Bitkilerde morfolojik incelemeler

‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde mikro çelikler yüzen perlit yatağından çıkartıldıklarında, bitkiler sera koşullarına taşındıktan 4 hafta sonra ve serada vejetasyon sonunda aşağıda belirtilen morfolojik özellikler yüzen perlit yatağındaki inkübasyon sürelerine (2, 3, 4, 5 ve 6 hafta) göre incelenmiştir.

- 1) Yüzen perlit yatağından çıkartıldığında mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranı (%) ve köklenen mikro çeliklerde köklenme düzeyi (1-4) (1 = zayıf (köklenme mikro çeliğin bir yanında); 2 = orta (köklenme iki yanında); 3 = iyi (köklenme üç yanında); 4 = çok iyi (tüm çevresinde) (Coşkun 2024),
- 2) Sera koşullarına taşınmasından 4 hafta sonra yetiştirme ortamından ayırmadan bitkilerde canlılık oranı (%), bitki boyu (mm) ve yaprak sayısı (adet),
- 3) Sera koşullarında vejetasyon sonunda yetiştirme ortamından sökülen bitkilerde canlılık oranı (%), söküm noktasından itibaren bitki boyu (mm) ve gövde çapı (mm), yaş ve kuru sürgün ağırlığı (g/bitki), yaş ve kuru kök ağırlığı (g/bitki).

Ölçümlerde bitki boyu cetvel, gövde çapı ise kumpas kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kuru ağırlıklar için bitki örnekleri 65°C'deki etüvde sabit ağırlığa ulaşınca kadar (5 gün) tutulmuştur. Tartımlar hassas terazide (Sartorius GA1200-G) yapılmıştır.

### 3.2.4 Yapraklarda anatomik incelemeler

**Yaprak örneklerinin alınması:** ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde in vitro yaprak örnekleri kültürlerden çıkartılan mikro sürgünlerden sağlanmıştır. Ex vitro yaprak örnekleri inkübasyon sürelerine göre yüzen perlit yatağından çıkartılan bitkilerden ve sera koşullarında 4 hafta gelişmiş bitkilerden, in vivo yaprak örnekleri ise bahçe koşullarındaki ana bitkilerden alınmıştır. Örnekler sürgünlerin orta kısmından sabah saat 10:00’da alınmış, çeşme suyu ile yıkanmış, kurulanmış ve bozulmaması için 50 mL’lik vidalı kapaklı santrifüj tüpü içinde %70’lik etil alkol içerisinde buzdolabında muhafaza edilmiştir. Bu örneklerde anatomik çalışmalar kapsamında parafin (Algan 1981) ve tırnak cilası ile kalıp çıkarma (Brewer 1992) yöntemleri uygulanmıştır.

**Yaprak örneklerinde parafin yönteminin uygulanması:** Yaprak örneklerinde stomalar dışında mezofil ve kütikul kalınlıkları ile epidermis hücrelerinin sayısı ve boyutları parafin ile doyurulmuş ve boyanmış yaprak örneklerinde ışık mikroskopu ile yapılmıştır (Algan 1981). Yaprak örneklerinde parafin metodu aşağıdaki sıralama ile uygulanmıştır. 1) Yaprak örnekleri %70’lik alkolden çıkartılmış, bir jilet yardımı ile küçük parçalara ayrılmış ve dehidrasyon işlemine tabi tutulmuştur. Parçalara ayrılmış yaprak örneklerinde parafin yönteminde dehidrasyon işlem sırası;

| <b><u>Dehidrasyon serisi</u></b> | <b><u>Bekletme süresi</u></b> |
|----------------------------------|-------------------------------|
| %80’lik etil alkol               | 60 dakika                     |
| %96’lık etil alkol               | 60 dakika                     |
| %100’lük etil alkol              | 30 dakika                     |
| 2:1 etil alkol:ksilol            | 60 dakika                     |
| 1:1 etil alkol:ksilol            | 60 dakika                     |
| 1:2 etil alkol:ksilol            | 60 dakika                     |
| Saf ksilol I                     | 10 dakika                     |
| Saf ksilol II                    | 10 dakika                     |

2) Dehidrasyon işleminden sonra saf ksilol içerisindeki örnekler vezin kabına konulmuş, üzerine 55-60°C'de eriyen boncuk parafin 6 gün boyunca azar azar eklenerek örnekler parafine doyurulmuştur. Parafine doyurma işlemi ile hücreler arasındaki ksilolün, parafin ile yer değiştirmesi sağlanmıştır. Dehidrasyondan sonra yaprak örneklerinin parafine doyurma işlem sırası;

| <u>Gün</u>   | <u>İşlem</u>                                           |
|--------------|--------------------------------------------------------|
| 1. ve 2. gün | Oda sıcaklığında parafin ekleme (vezin kabı kapalı)    |
| 3. ve 4. gün | 25- 35°C'de etüvde parafini ekleme (vezin kabı kapalı) |
| 5. ve 6. gün | 45- 50°C'de etüvde parafini ekleme (vezin kabı kapalı) |
| 7. gün       | 55- 60°C'de etüvde bekletme (vezin kabı açık)          |

3) Parafine doyurma işleminden sonra örneklerde parafine gömme işlemine geçilmiştir. Örnekler yatay şekilde kalıba yerleştirilmiş, parafinle blok haline getirilmiş, trimlenerek tahta bloklara yapıştırılmıştır. Leica SM2000R marka kızaklı mikrotom ile yaprak örneklerinden 12 µm kalınlığında enine kesitler alınmıştır. Bu kesitler albümin-gliserin ile lam üzerine yapıştırılmıştır. Daha sonra lamlar 60°C'lik etüvde 1-2 gün süreyle bekletilerek kesitlerin etrafında ve içindeki parafinin erimesi sağlanmıştır. Ardından kesitlerden parafinin tamamen temizlenmesi için lamlar 1-2 gün süreyle saf ksilolde bekletilmiş ve boyama işlemine hazırlanmıştır.

Albümin-gliserinin hazırlanması: 10 mL gliserin + 10 mL yumurta beyazı + timol kristal (çok küçük bir parça)

4) Kesitlerde boyama işlemi seri halinde aşağıda belirtildiği gibi yapılmıştır. Önce Fast green boyası hazırlanmıştır.

Fast green boyasının hazırlanması: 30 mL methyl cellosolve ile 30 mL karanfil yağı 1:1 oranında karıştırılmış ve 0.5 g fast green boyası ile doyurulmuştur. Bu karışımın üzerine 175 mL %95'lik etil alkol, 175 mL TBA (tert-bütanol) ve 60 mL %1'lik glasiyel asetik asit eklenerek karıştırılmıştır.

Kesitlerde boyama işlem sırası;

| <u>İşlem</u>          | <u>Bekletme süresi</u> |
|-----------------------|------------------------|
| Saf ksilol            | 5 dakika               |
| 3:1 ksilol:etil alkol | 5 dakika               |
| 1:1 ksilol:etil alkol | 5 dakika               |

|                       |            |
|-----------------------|------------|
| 1:3 ksilol:etil alkol | 5 dakika   |
| %100'lük etil alkol   | 2-3 dakika |
| %96'lık etil alkol    | 5 dakika   |
| %80'lik etil alkol    | 5 dakika   |
| %70'lik etil alkol    | 5 dakika   |
| Fastgreen boya        | 5-7 dakika |
| %70'lik etil alkol    | 5 saniye   |
| %80'lik etil alkol    | 5 saniye   |
| %96'lık etil alkol    | 5 saniye   |
| %100'lük etil alkol   | 5 saniye   |
| 1:3 ksilol:etil alkol | 5 saniye   |
| 1:1 ksilol:etil alkol | 5 saniye   |
| 3:1 ksilol:etil alkol | 5 saniye   |
| Saf ksilolde bekletme | -          |

Boyanmış kesitlerin üzerine Kanada balzamu damlatılarak lamel ile kapatılmış, bu işlem sırasında kesitler üzerinde hava kabarcığı oluşmamasına özen gösterilmiştir. Hazırlanan preparatlar, kurutma işlemi için 3-4 gün boyunca bekletilmiştir. Preparatlar oda sıcaklığında saklanmıştır. Kesitlerde görüntüler için Leica application suite (LAS) v3.4 programı kullanılmıştır. Fotoğraflar, mikroskopa takılı Leica DFC 290 dijital kamera ile mikrometrik oküler yardımıyla 10x veya 40x objektiflerle elde edilmiştir.

**Yaprak örneklerinde tırnak cılası ile kalıp çıkarma yönteminin uygulanışı:** Yaprak örneklerinde stoma yoğunluğu ve boyutları, yaprağın alt yüzeyine bir kat sürülen tırnak cılasının kuruduktan sonra el ile yavaşça çıkartılan kalıbında mikroskop altında belirlenmiştir (Brewer 1992). Tırnak cılası kalıbı yaprak yüzeyinden kaldırıldıktan sonra lam üzerine damlatılmış saf su içerisine konulmuş ve bir lamel ile üzeri kapatılmıştır. Sayım ve ölçümler bekletilmeden yapılmıştır. Görüntüler için Leica application suite (LAS) v3.4 programı kullanılmıştır. Fotoğraflar, mikroskopa takılı Leica DFC 290 dijital kamera ile mikrometrik oküler yardımıyla 10x veya 40x objektiflerle elde edilmiştir.

**Yaprak örneklerinde incelenen anatomik özellikler:** Yaprak örneklerinde incelemeler mezofil kalınlığı dışında yaprakların alt yüzeyinde yapılmıştır. İncelemelerde mezofil

kalınlığı (μm), kütikul kalınlığı (μm), epidermis hücre sayısı (adet/mm<sup>2</sup>), genişliği (μm) ve uzunluğu (μm), stoma yoğunluğu (adet/mm<sup>2</sup>), genişliği (μm) ve uzunluğu (μm) ile stoma indeksi (%) belirlenmiştir. Stoma indeksi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Stoma indeksi (\%)} = \frac{\text{mm2'deki stoma sayısı}}{\text{mm2' deki stoma sayısı} + \text{mm2' deki epidermis hücre sayısı}} \times 100$$

### 3.2.5 Yapraklarda klorofil analizleri

‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde klorofil analizleri in vitro, ex vitro ve in vivo yaprak örneklerinde yapılmıştır. İn vitro yaprak örnekleri mikro sürgünlerden alınmıştır. Ex vitro yaprak örnekleri, yüzen perlit yatağından inkübasyon sürelerine (2, 3, 4, 5 ve 6 hafta) göre çıkartılmış bitkilerden ve ayrıca sera koşullarına taşındıktan 4 hafta sonra, in vivo yaprak örnekleri ise bahçe koşullarındaki ana bitkilerden alınmıştır. Örnekler, sürgünlerin orta kısmından sabah saat 10:00’da alınmış, çeşme suyu ile yıkanmış, kurulanmış ve bozulmaması için alüminyum folyo ile sarılarak -20°C’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

Yaprak örneklerinde klorofil miktarının belirlenmesi için %80’lik aseton ekstraksiyon yöntemi kullanılmış ve spektrofotometrik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, her bir yaprak örneğinden 0.25 g tartılarak 15 mL %80’lik aseton içinde ekstrakte edilmiştir. Daha sonra filtrasyon yöntemiyle süzülerek saf klorofil çözeltisi elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktın klorofil içeriğini belirlemek üzere spektrofotometrede 645 nm ve 663 nm dalga boylarında absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Spektrofotometrede ölçülen bu değerler kullanılarak hesaplamalar Witham vd. (1971) tarafından geliştirilen formüle göre yapılmıştır.

$$\text{Klorofil a (mg/g)} = \frac{12.7 \times (A_{663}) - 2.69 \times (A_{645}) \times \text{tamamlanan son hacim}}{1000 \times \text{yaş yaprak ağırlığı (g)}}$$

$$\text{Klorofil b (mg/g)} = \frac{22.91 \times (A_{645}) - 4.68 \times (A_{663}) \times \text{tamamlanan son hacim}}{1000 \times \text{yaş yaprak ağırlığı (g)}}$$

$$\text{Toplam klorofil (mg/g)} = \text{Klorofil a} + \text{Klorofil b}$$

### 3.2.6 Deneme planı ve verilerin istatistik analizi

Tez çalışmasında, ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirme denemeleri “Tesadüf Parselleri Deneme Deseni”ne göre 3 tekerrürlü olarak kurulmuştur. Beş farklı inkübasyon süresi (2, 3, 4, 5 ve 6 hafta) için her tekerrürde 30 adet mikro çelik kullanılmıştır. Ex vitro köklendirme denemeleri iki kez tekrar edilmiştir. Daha sonra sera denemelerinde viyollerde her tekerrürde 15 bitki yer almıştır. Anatomik çalışmalar ve klorofil analizleri de her tekerrürde farklı bitkilerden alınmış birer yaprak olmak üzere 3 tekerrürlü yapılmıştır. Anatomik çalışmalarda her yaprakta üç farklı bölgeden kesitler alınmış, mikroskop altında her kesitte üç alan incelenmiş, her yaprak (tekerrür) için 9 değer (3 kesit x 3 alan) ortalaması alınmıştır.

Elde edilen değerler varyans analizi ile Minitab Paket Programı (MINITAB Inc., Trial Version) kullanılarak F testine göre kontrol edilmiştir. Duncan testi ile belirlenen önemli farklılıklar ( $P \leq 0.05$ ), çizelgelerde harfler ile gösterilmiştir. Yüzde oranların açısı değeri karşılıkları kullanılmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

##### 4.1 ‘Viking’ Aronya Çeşidinde Yüzen Perlit Yatağında Farklı İnkübasyon Sürelerinde Ex Vitro Köklendirme ve Eş Zamanlı Dış Koşullara Alıştırma Aşamasındaki Bulgular

‘Viking’ çeşidinde yüzen perlit yatağında inkübasyon sürelerinin, mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranı ve köklenen mikro çeliklerde köklenme düzeyi üzerine etkileri çizelge 4.1’de sunulmuştur. Buna göre yüzen perlit yatağında köklenme oranı, yüzen perlit yatağında inkübasyon süresi ilerledikçe kademeli olarak artmış ve en yüksek köklenme oranları (%94.0-%97.2) 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde belirlenmiştir. Bu inkübasyon süreleri, aynı istatistik grupta yer almıştır. En düşük köklenme oranı ise %78.8 ile 2 haftalık inkübasyon süresinde saptanmıştır (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, 4.2). Köklenen mikro çeliklerde köklenme düzeyi (1-4) ise 6 haftalık inkübasyon süresinde  $3.4 \pm 0.1$  ile en yüksek değerde kaydedilmiştir. Bunu 4 ve 5 haftalık inkübasyon süreleri (sırasıyla  $3.0 \pm 0.1$  ve  $3.1 \pm 0.1$ ) izlemiştir. İki haftalık inkübasyon süresi bu bakımdan da en düşük değeri ( $2.0 \pm 0.1$ ) vermiştir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, 4.2).

‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş ve eş zamanlı dış koşullara alıştırılmış bitkilerin yaprak anatomisi ile ilgili özellikleri incelendiğinde bu aşamada sadece mezofil ve kütikul kalınlıkları bakımından inkübasyon süreleri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.3). Köklenme oranı ve düzeyinde olduğu gibi en yüksek mezofil ve kütikul kalınlık değerleri de 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde kaydedilmiştir. Bu sürelerde mezofil kalınlığı  $101.3 \pm 7.5 \mu\text{m}$  -  $114.2 \pm 3.4 \mu\text{m}$ , kütikul kalınlığı  $2.0 \pm 0.3$  -  $2.7 \pm 0.1 \mu\text{m}$  arasında belirlenmiştir. Bu bakımdan 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinde bitkiler daha düşük kalınlık değerlerine sahip olmuştur (Çizelge 4.1, Şekil 4.3, 4.4). Farklı inkübasyon sürelerinde köklendirilmiş mikro çeliklerde kaydedilmiş olan yaprak mezofil ve kütikul kalınlık değerlerinin tamamının, in vitrodan alınmış mikro sürgünlerin yapraklarına ait değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1, Şekil 4.3, 4.4).

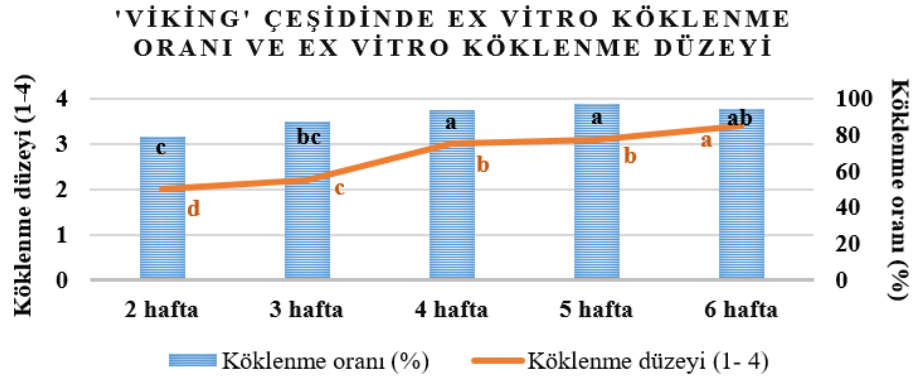
Çizelge 4.1 ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin bu aşamada köklenme, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri (ortalama±standart hata)

| Özellik                                        | İnkübasyon Süresi       |             |              |              |             | Ortalama  | P                           | İn vitro kültürlerden alınan mikro sürgün yaprakları |
|------------------------------------------------|-------------------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-----------|-----------------------------|------------------------------------------------------|
|                                                | 2 hafta                 | 3 hafta     | 4 hafta      | 5 hafta      | 6 hafta     |           |                             |                                                      |
| Köklenme oranı (%)                             | 78.8±4.5 c <sup>b</sup> | 87.2±2.0 bc | 94.0±2.3 a   | 97.2±1.4 a   | 94.5±2.5 ab | -         | <b>0.001***</b>             | -                                                    |
| Köklenme düzeyi (1-4) <sup>a</sup>             | 2.0±0.1 d               | 2.2±0.1 c   | 3.0±0.1 b    | 3.1±0.1 b    | 3.4±0.1 a   | -         | <b>0.000***</b>             | -                                                    |
| Yaprak mezofil kalınlığı (µm)                  | 84.8±9.5 b              | 85.2±6.2 b  | 101.3±7.5 ab | 104.0±2.6 ab | 114.2±3.4 a | -         | <b>0.035*</b>               | 69.2±8.5                                             |
| Kütikula kalınlığı (µm)                        | 1.1±0.2 c               | 1.5±0.3 bc  | 2.0±0.3 ab   | 2.5±0.1 a    | 2.7±0.1 a   | -         | <b>0.002**</b>              | 0.6±0.1                                              |
| Epidermis hücre sayısı (adet/mm <sup>2</sup> ) | 195.7±12.0              | 170.3±21.8  | 147.1±23.0   | 131.6±15.4   | 118.2±6.6   | 152.6±9.8 | <b>0.055<sup>ö.d.</sup></b> | 243.2±4.4                                            |
| Epidermis hücre genişliği (µm)                 | 13.7±1.0                | 15.8±0.2    | 15.6±1.6     | 16.9±0.5     | 14.8±0.3    | 15.4±0.4  | <b>0.200<sup>ö.d.</sup></b> | 10.7±0.4                                             |
| Epidermis hücre uzunluğu (µm)                  | 21.5±1.7                | 28.5±5.3    | 30.8±5.6     | 30.3±0.6     | 31.7±1.3    | 28.6±1.7  | <b>0.323<sup>ö.d.</sup></b> | 16.7±0.9                                             |
| Stoma yoğunluğu (adet/mm <sup>2</sup> )        | 141.5±19.7              | 117.2±11.7  | 119.4±10.1   | 123.8±12.3   | 121.6±17.3  | 124.7±6.0 | <b>0.778<sup>ö.d.</sup></b> | 249.9±15.9                                           |
| Stoma genişliği (µm)                           | 27.5±1.4                | 28.7±0.6    | 26.8±0.5     | 27.6±0.9     | 24.4±1.0    | 27.0±0.5  | <b>0.082<sup>ö.d.</sup></b> | 26.1±1.7                                             |
| Stoma uzunluğu (µm)                            | 33.8±0.8                | 36.4±0.8    | 34.8±0.8     | 36.6±1.2     | 33.3±0.2    | 35.0±0.5  | <b>0.063<sup>ö.d.</sup></b> | 30.2±2.3                                             |
| Stoma indeksi (%)                              | 41.7±4.6                | 41.0±4.6    | 45.3±4.5     | 48.6±5.2     | 50.3±4.5    | 45.4±2.0  | <b>0.580<sup>ö.d.</sup></b> | 50.6±1.2                                             |
| Klorofil a (mg/g)                              | 0.21±0.07               | 0.27±0.05   | 0.21±0.01    | 0.14±0.02    | 0.15±0.01   | 0.20±0.02 | <b>0.203<sup>ö.d.</sup></b> | 0.24±0.04                                            |
| Klorofil b (mg/g)                              | 0.16±0.03               | 0.19±0.03   | 0.13±0.01    | 0.13±0.02    | 0.10±0.01   | 0.14±0.01 | <b>0.103<sup>ö.d.</sup></b> | 0.13±0.02                                            |
| Toplam klorofil (mg/g)                         | 0.37±0.10               | 0.46±0.08   | 0.35±0.02    | 0.27±0.03    | 0.25±0.01   | 0.34±0.03 | <b>0.146<sup>ö.d.</sup></b> | 0.38±0.06                                            |

<sup>a</sup> Köklenme düzeyi, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi, 4 = çok iyi.

<sup>b</sup> Duncan testine ( $P \leq 0.05$ ) göre her satırdaki aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

<sup>ö.d.</sup> F-testine göre farklılıklar istatistiksel anlamda önemli değil, \*:  $P \leq 0.05$ , \*\*:  $P \leq 0.01$  ve \*\*\*:  $P \leq 0.001$  düzeyinde önemli.



Şekil 4.1 ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranı ve köklenme düzeyi

Özellikle kütikül kalınlığı, ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerde, in vitro mikro sürgünlere kıyasla inkübasyon sürelerine göre 1.8-4.5 kat daha fazla olmuştur. Bu farklılık mezofil kalınlığında 1.2 ile 1.6 kat arasındadır. Yaprak anatomisi ile ilgili diğer özellikler bakımından inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmamıştır. İnkübasyon sürelerinin ortalaması olarak epidermis hücre sayısı  $152.6 \pm 9.8$  adet/ $\text{mm}^2$ , epidermis hücre genişliği  $15.4 \pm 0.4$   $\mu\text{m}$  ve uzunluğu  $28.6 \pm 1.7$   $\mu\text{m}$ ’dir. Ortalama stoma yoğunluğu  $124.7 \pm 6.0$  adet/ $\text{mm}^2$ , stoma genişliği  $27.0 \pm 0.5$   $\mu\text{m}$ , uzunluğu  $35.0 \pm 0.5$   $\mu\text{m}$  ve stoma indeksi  $\%45.4 \pm 2.0$ ’dır (Çizelge 4.1, Şekil 4.3, 4.4, 4.5). Ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerde  $\text{mm}^2$ ’deki epidermis hücre sayısı ve stoma yoğunluğu, aklimatizasyonun bir göstergesi olarak in vitro mikro sürgünlerin bu değerlerinden sırasıyla 1.6 ve 2.0 kat daha azdır. Bu farklılık epidermis hücre ve stoma boyutları ile stoma indeksinde çok belirgin değildir (Çizelge 4.1).

Çalışmada ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin yaprak klorofil a ve b ile toplam klorofil miktarları üzerine yüzen perlit yatağındaki inkübasyon sürelerinin istatistiksel anlamda benzer etki yaptığı belirlenmiştir. İnkübasyon sürelerinin ortalaması olarak klorofil a  $0.20 \pm 0.02$  mg/g, klorofil b  $0.14 \pm 0.01$  mg/g, toplam klorofil  $0.34 \pm 0.03$  mg/g olarak kaydedilmiştir. Bu değerlerle, in vitro mikro sürgünlerin yapraklarında ölçülmüş değerlerin birbirine yakın olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1).

**Yüzen Perlit Yatağından Ex Vitro  
Köklendirilmiş Mikro Çelikler**

**Serada 4 Hafta Geliştirilmiş Bitkiler**

**2 Haftalık İnkübasyon Süresi**



**3 Haftalık İnkübasyon Süresi**



**4 Haftalık İnkübasyon Süresi**



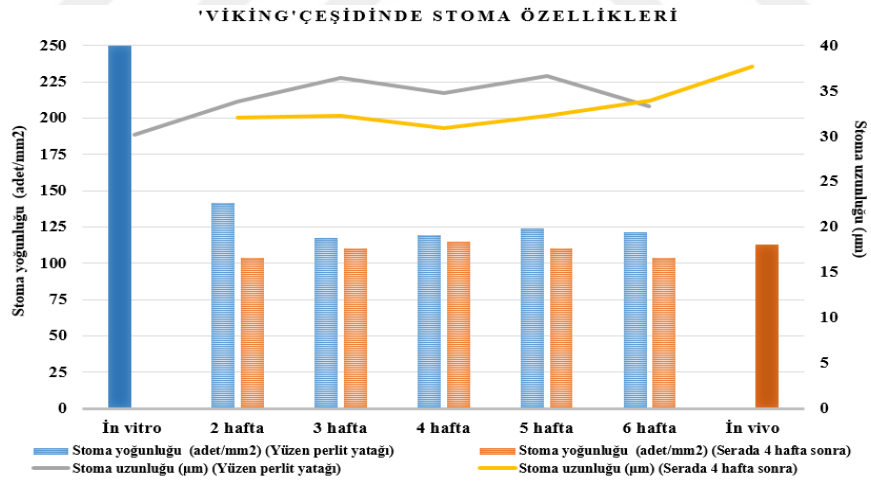
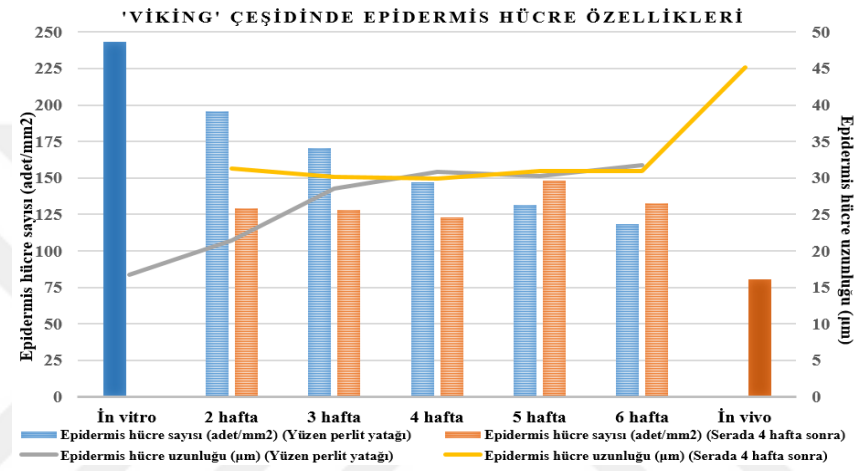
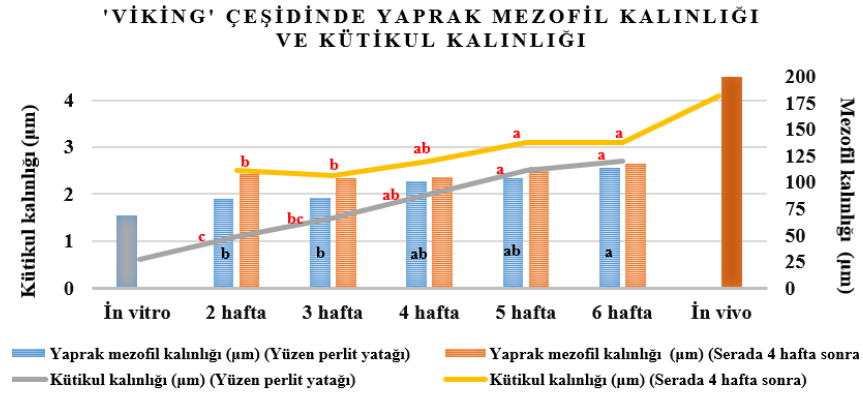
**5 Haftalık İnkübasyon Süresi**



**6 Haftalık İnkübasyon Süresi**

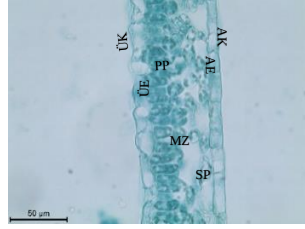


Şekil 4.2 'Viking' aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta gelişmiş bitkilerin görünümü

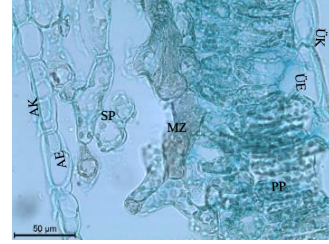


Şekil 4.3 'Viking' aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yaprakları ile birlikte bazı yaprak anatomik özelliklerindeki değişim

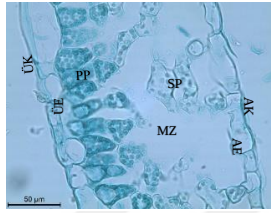
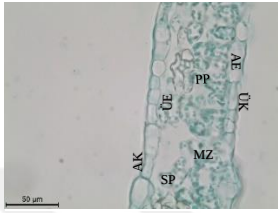
#### İn Vitro Mikro Sürgün Yaprığı



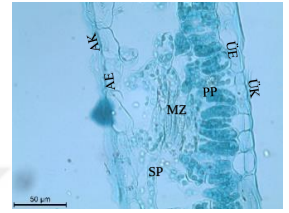
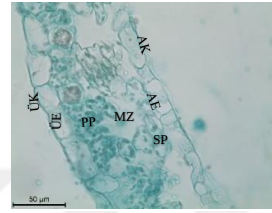
#### İn Vivo Ana Bitki Yaprığı



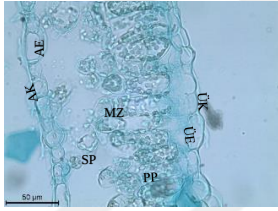
#### 2 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı Sera



#### 3 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı Sera



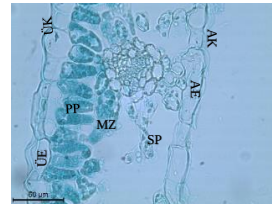
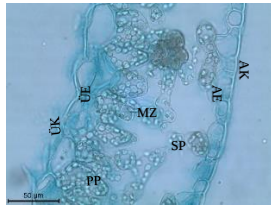
#### 4 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı Sera



#### 5 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı Sera

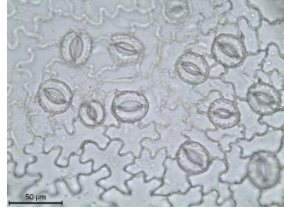


#### 6 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı Sera



Şekil 4.4 ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarının enine kesitlerinde dokuların görünümü (40x). ÜK-üst kütikül, AK-alt kütikül, ÜE-üst epidermis, AE-alt epidermis, MZ-mezofil, PP-palizat parankiması, SP-sünger parankiması

**İn Vitro Mikro Sürgün Yaprığı**



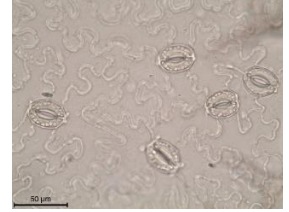
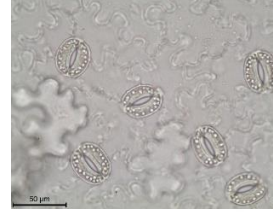
**İn Vivo Ana Bitki Yaprığı**



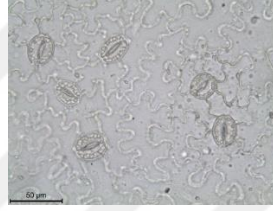
**2 Haftalık İnkübasyon Süresi**  
**Yüzen perlit yatağı** **Sera**



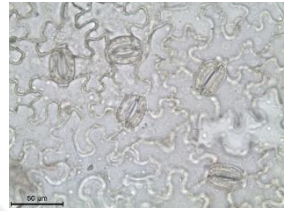
**3 Haftalık İnkübasyon Süresi**  
**Yüzen perlit yatağı** **Sera**



**4 Haftalık İnkübasyon Süresi**  
**Yüzen perlit yatağı** **Sera**



**5 Haftalık İnkübasyon Süresi**  
**Yüzen perlit yatağı** **Sera**



**6 Haftalık İnkübasyon Süresi**  
**Yüzen perlit yatağı** **Sera**



Şekil 4.5 ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarında stomaların görünümü (40x)

## 4.2 ‘Viking’ Aronya Çeşidinde Bitkilerin Serada Büyüme ve Gelişmesi Aşamasındaki Bulgular

### 4.2.1 ‘Viking’ aronya çeşidinde ex vitro köklendirmeden sonra sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilere ait bulgular

Yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş ve seraya taşınmış bitkilerde 4 hafta sonra canlılık oranları inkübasyon sürelerine göre %95.3 ile %100 arasında değişmiş ve bu değerler arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamıştır. İnkübasyon sürelerinin ortalaması olarak bitkilerin %98.6’sının hayatta kaldığı görülmüştür (Çizelge 4.2). Ancak serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda bitki boyunun  $30.9 \pm 1.2$  mm ile  $36.9 \pm 0.1$  mm arasında kaydedildiği 2, 3 ve 4 hafta inkübasyon sürelerinde gelişme, özellikle 6 haftaya ( $17.2 \pm 1.7$  mm) göre istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla çok daha fazla bulunmuştur. Bu bulguyla aynı doğrultuda yaprak sayısı bakımından da en düşük değer  $6.1 \pm 0.2$  adet/bitki ile 6 haftalık inkübasyon süresinde kaydedilmiştir. Bunun başlıca nedeni, 6 haftalık inkübasyon süresi sonunda seraya taşınan bitkilerin 4 haftalık gelişme periyodunun vejetasyon sonuna daha yakın olmasıdır (Çizelge 3.2). Yaprak sayısı bakımından diğer inkübasyon süreleri arasındaki farklılık ise önemsizdir (Çizelge 4.2, Şekil 4.2).

Serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda yaprak anatomisi incelenen bitkilerde mezofil kalınlığı yönünden inkübasyon süreleri arasındaki farklılık önemli bulunmamış, ortalama değer  $109.9 \pm 2.2$   $\mu$ m olarak kaydedilmiştir. Bu değer, bahçe koşullarındaki ana bitkinin (in vivo) yaprak mezofil kalınlığı değerinin ( $201.5 \pm 17.1$   $\mu$ m) yaklaşık yarısı kadardır. Kütikul kalınlığı ise 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde  $2.7 \pm 0.1$   $\mu$ m ve  $3.1 \pm 0.1$   $\mu$ m ile 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinden önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Bu özelliğin in vivo bitkilerin yapraklarında 1  $\mu$ m daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Diğer parametreler bakımından inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmamıştır. Bu aşamada inkübasyon sürelerinin ortalaması olarak epidermis hücre sayısı  $132.2 \pm 6.4$  adet/mm<sup>2</sup>, epidermis hücre genişliği ve uzunluğu sırasıyla  $16.0 \pm 0.6$   $\mu$ m ve  $30.6 \pm 1.1$   $\mu$ m olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2, Şekil 4.3, 4.4).

Çizelge 4.2 ‘Viking’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin seraya taşındıktan 4 hafta sonra morfolojik, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri (ortalama±standart hata)

| Özellik                                        | İnkübasyon Süresi               |                   |                    |                   |                   | Ortalama   | P                            | Bahçedeki<br>ana bitkiden<br>(in vivo)<br>alınan<br>yapraklar |
|------------------------------------------------|---------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|-------------------|------------|------------------------------|---------------------------------------------------------------|
|                                                | 2 hafta                         | 3 hafta           | 4 hafta            | 5 hafta           | 6 hafta           |            |                              |                                                               |
| Canlılık oranı (%)                             | 100.0±0.0                       | 100.0±0.0         | 100.0±0.0          | 95.3±2.3          | 97.7±2.3          | 98.6±0.9   | <b>0.071</b> <sup>ö.d.</sup> | -                                                             |
| Bitki boyu (mm)                                | 33.8±0.9 <b>ab</b> <sup>a</sup> | 36.9±0.1 <b>a</b> | 30.9±1.2 <b>ab</b> | 29.0±4.6 <b>b</b> | 17.2±1.7 <b>c</b> | -          | <b>0.001</b> <sup>***</sup>  | -                                                             |
| Yaprak sayısı (adet/bitki)                     | 7.2±0.1 <b>b</b>                | 8.3±0.1 <b>a</b>  | 8.5±0.4 <b>a</b>   | 8.0±0.1 <b>a</b>  | 6.1±0.2 <b>c</b>  | -          | <b>0.000</b> <sup>***</sup>  | -                                                             |
| Mezofil kalınlığı (µm)                         | 107.8±7.5                       | 104.4±4.1         | 105.4±4.3          | 114.7±3.7         | 117.4±1.3         | 109.93±2.2 | <b>0.255</b> <sup>ö.d.</sup> | 201.5±17.1                                                    |
| Kütikula kalınlığı (µm)                        | 2.5±0.1 <b>b</b>                | 2.4±0.1 <b>b</b>  | 2.7±0.1 <b>ab</b>  | 3.1±0.1 <b>a</b>  | 3.1±0.1 <b>a</b>  | -          | <b>0.005</b> <sup>**</sup>   | 4.1±0.3                                                       |
| Epidermis hücre sayısı (adet/mm <sup>2</sup> ) | 129.4±9.9                       | 128.3±19.7        | 122.7±8.8          | 148.2±25.5        | 132.7±6.6         | 132.2±6.4  | <b>0.827</b> <sup>ö.d.</sup> | 80.7±4.8                                                      |
| Epidermis hücre genişliği (µm)                 | 15.9±1.0                        | 17.4±1.9          | 16.4±1.4           | 14.9±1.8          | 15.5±0.7          | 16.0±0.6   | <b>0.783</b> <sup>ö.d.</sup> | 18.6±1.0                                                      |
| Epidermis hücre uzunluğu (µm)                  | 31.3±2.8                        | 30.1±2.5          | 29.9±2.9           | 30.9±4.1          | 30.9±1.1          | 30.6±1.1   | <b>0.996</b> <sup>ö.d.</sup> | 45.2±2.4                                                      |
| Stoma yoğunluğu (adet/mm <sup>2</sup> )        | 103.9±11.1                      | 110.6±5.8         | 115.0±8.0          | 110.6±2.2         | 103.9±8.0         | 108.8±3.1  | <b>0.806</b> <sup>ö.d.</sup> | 112.8±13.3                                                    |
| Stoma genişliği (µm)                           | 22.4±1.8                        | 24.2±1.1          | 24.4±0.0           | 23.8±0.2          | 25.1±1.0          | 24.0±0.5   | <b>0.457</b> <sup>ö.d.</sup> | 24.5±0.9                                                      |
| Stoma uzunluğu (µm)                            | 32.0±0.9                        | 32.3±0.5          | 30.9±1.8           | 32.3±0.3          | 33.9±0.4          | 32.3±0.4   | <b>0.364</b> <sup>ö.d.</sup> | 37.7±0.6                                                      |
| Stoma indeksi (%)                              | 44.5±2.3                        | 46.8±4.1          | 48.4±2.6           | 43.6±4.1          | 43.9±3.1          | 45.4±1.3   | <b>0.813</b> <sup>ö.d.</sup> | 57.0±1.5                                                      |
| Klorofil a (mg/g)                              | 0.26±0.03                       | 0.29±0.05         | 0.25±0.01          | 0.37±0.05         | 0.38±0.02         | 0.31±0.02  | <b>0.166</b> <sup>ö.d.</sup> | 0.13±0.02                                                     |
| Klorofil b (mg/g)                              | 0.21±0.05                       | 0.20±0.01         | 0.21±0.03          | 0.23±0.03         | 0.28±0.03         | 0.23±0.01  | <b>0.447</b> <sup>ö.d.</sup> | 0.11±0.01                                                     |
| Toplam klorofil (mg/g)                         | 0.47±0.08                       | 0.49±0.05         | 0.43±0.02          | 0.60±0.07         | 0.66±0.03         | 0.54±0.03  | <b>0.136</b> <sup>ö.d.</sup> | 0.23±0.02                                                     |

<sup>a</sup> Köklenme düzeyi, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi, 4 = çok iyi.

<sup>b</sup> Duncan testine ( $P \leq 0.05$ ) göre her satırdaki aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

<sup>ö.d.</sup> F-testine göre farklılıklar istatistiksel anlamda önemli değil, \*:  $P \leq 0.05$ , \*\*:  $P \leq 0.01$  ve \*\*\*:  $P \leq 0.001$  düzeyinde önemli.

İn vivo bitkilerin yapraklarındaki epidermis hücre sayısı ( $80.7 \pm 4.8$  adet/ $\text{mm}^2$ ), seradaki bitkilerin ortalama değerinin gerisinde, epidermis hücre genişliği ve uzunluğu ise üzerindedir. Seradaki bitkilerde yapraklarda stoma yoğunluğu ortalama  $108.8 \pm 3.1$  adet/ $\text{mm}^2$ , stoma genişliği ve uzunluğu sırasıyla  $24.0 \pm 0.5$   $\mu\text{m}$  ve  $32.3 \pm 0.4$   $\mu\text{m}$ , stoma indeksi ise  $\%45.4 \pm 1.3$  olarak saptanmıştır. İn vivo bitkilerin yapraklarındaki stoma yoğunluğu ( $112.8 \pm 13.3$  adet/ $\text{mm}^2$ ), seradaki bitkilerin ortalama değerine ( $108.8 \pm 3.1$  adet/ $\text{mm}^2$ ) yakındır. İn vivo bitkilerin yapraklarında tespit edilmiş stoma genişliği ve uzunluğu değerleri de seradaki bitkilere benzerdir (Çizelge 4.2, Şekil 4.3, 4.4, 4.5). Ancak in vivo bitkilerin stoma indeksi daha yüksektir ( $\%57.0 \pm 1.5$ ) (Çizelge 4.2).

Serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda klorofil miktarı bakımından da inkübasyon süreleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Inkübasyon sürelerinin ortalaması olarak klorofil a, b ve toplam klorofil miktarı sırasıyla  $0.31 \pm 0.02$  mg/g,  $0.23 \pm 0.01$  mg/g ve  $0.54 \pm 0.03$  mg/g olarak kaydedilmiştir. Bu değerler in vivo bitkilere ait değerlerden yaklaşık 2 kat daha yüksektir (Çizelge 4.2).

#### **4.2.2 ‘Viking’ aronya çeşidinde serada bitkilerin vejetasyon sonundaki bulguları**

Ex vitro köklendirme aşamasında yüzen perlit yatağında mikro çeliklere uygulanmış olan farklı inkübasyon sürelerinin, serada vejetasyonun sonunda bitkilerde canlılık oranı ve gelişme özellikleri üzerine etkileri çizelge 4.3’de sunulmuştur. Bitkilerin serada gelişme periyodu boyunca kuruyan bitki olmadığı için bu aşamada da canlılık oranı ortalama  $\%98.6$  olarak kaydedilmiştir. Bu bakımdan inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmamıştır. Diğer özellikler bakımından ise inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli olmuş, en iyi sonuçlar yüzen perlit yatağında en kısa süre tutularak 2 haftalık inkübasyon süresinin sonunda seraya taşınmış olan bitkilerden elde edilmiştir. Bu bitkiler diğer inkübasyon sürelerine göre vejetasyon sonuna kadar serada 14 hafta olarak daha uzun bir süre gelişme imkânı bulmuştur. En düşük değerler ise yüzen perlit yatağında en uzun süre tutularak 6 haftalık inkübasyon süresinin sonunda seraya taşınmış olan ve bu nedenle serada vejetasyon sonuna kadar sadece 10 hafta gelişebilen bitkilerde belirlenmiştir (Çizelge 3.2, 4.3, Şekil 4.6).

Çizelge 4.3 ‘Viking’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki bazı morfolojik özellikleri (ortalama±standart hata)

| Özellik                        | İnkübasyon Süresi        |             |             |             |             | Ortalama | P                     |
|--------------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------|-----------------------|
|                                | 2 hafta                  | 3 hafta     | 4 hafta     | 5 hafta     | 6 hafta     |          |                       |
| Canlılık oranı (%)             | 100.0±0.0                | 100.0±0.0   | 100.0±0.0   | 95.3±2.3    | 97.7±2.3    | 98.6±0.9 | 0.071 <sup>ö.d.</sup> |
| Bitki boyu (mm)                | 108.9±4.6 a <sup>a</sup> | 69.8±3.5 b  | 60.9±2.0 b  | 42.1±3.0 c  | 31.3±1.6 d  | -        | 0.000***              |
| Gövde çapı (mm)                | 4.0±0.0 a                | 3.3±0.1 b   | 3.2±0.1 b   | 2.7±0.1 c   | 2.3±0.0 d   | -        | 0.000***              |
| Yaş sürgün ağırlığı (g/bitki)  | 0.58±0.03 a              | 0.35±0.01 b | 0.31±0.01 b | 0.18±0.02 c | 0.12±0.01 d | -        | 0.000***              |
| Kuru sürgün ağırlığı (g/bitki) | 0.27±0.02 a              | 0.16±0.01 b | 0.14±0.01 b | 0.07±0.01 c | 0.05±0.00 c | -        | 0.000***              |
| Yaş kök ağırlığı (g/bitki)     | 2.02±0.03 a              | 1.61±0.11 b | 1.35±0.08 c | 0.86±0.08 d | 0.55±0.04 e | -        | 0.000***              |
| Kuru kök ağırlığı (g/bitki)    | 0.41±0.02 a              | 0.31±0.01 b | 0.26±0.01 c | 0.16±0.02 d | 0.11±0.01 e | -        | 0.000***              |

<sup>a</sup> Duncan testine ( $P \leq 0.05$ ) göre her satırda aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

<sup>ö.d.</sup> F-testine göre farklılıklar istatistiksel anlamda önemli değil, \*\*\*:  $P \leq 0.001$  düzeyinde önemli.



Şekil 4.6 ‘Viking’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki görünüşleri

Ex vitro köklendirme aşamasında inkübasyon süresi 2 hafta olan bitkilerde vejetasyon sonunda kaydedilen bitki boyu değeri ( $108.9 \pm 4.6$  mm), inkübasyon süreleri 3 hafta ( $69.8 \pm 3.5$  mm) ve 4 hafta ( $60.9 \pm 2.0$  mm) olan bitkilerden sırasıyla 1.6 ve 1.8 kat daha fazladır. Bu bitkilerin sera koşullarında vejetasyon sonuna kadar gelişme süreleri sırasıyla 13 ve 12 haftadır (Çizelge 3.2). Bitki boyu bakımından önemli düzeyde en düşük değerler inkübasyon süreleri 5 hafta ( $42.1 \pm 3.0$  mm) ve 6 hafta ( $31.3 \pm 1.6$  mm) olan bitkilerde saptanmıştır (Çizelge 4.3, Şekil 4.6). Gövde çapı bakımından da istatistiksel anlamda önemli bir farklılık ile en yüksek değer, inkübasyon süresi 2 hafta olan bitkilerde  $4.0 \pm 0.1$  mm olarak belirlenmiştir. İnkübasyon süreleri 3 hafta ( $3.3 \pm 0.1$  mm) ve 4 hafta ( $3.2 \pm 0.1$  mm) olan bitkiler bu bakımdan benzer sonuçlara sahip olmuştur. Gövde çapı bakımından da önemli düzeyde en düşük değerler inkübasyon süreleri 5 hafta ( $2.7 \pm 0.1$  mm) ve 6 hafta ( $2.3 \pm 0.1$  mm) olan bitkilerde kaydedilmiştir (Çizelge 4.3, Şekil 4.6). Bitki boyu ve gövde çapı değerlerinin bir yansıması olarak vejetasyon sonunda bitki başına kaydedilen en yüksek yaş sürgün ağırlığı ( $0.58 \pm 0.03$  g) ve kuru sürgün ağırlığı ( $0.27 \pm 0.02$  g) değerleri yine istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla inkübasyon süresi 2 hafta olan bitkilerde belirlenmiştir. Bu bakımdan en düşük değerler inkübasyon süresi 5 hafta ve 6 hafta olan bitkilerde saptanmıştır (Çizelge 4.3). Diğer inkübasyon sürelerine göre inkübasyon süresi 2 hafta olan bitkilerde yaş sürgün ağırlığı 1.7-4.8 kat, kuru sürgün ağırlığı 1.7-5.4 kat daha yüksektir (Şekil 4.3). İnkübasyon süresi 2 hafta olan bitkiler, bitki başına  $2.02 \pm 0.03$  g yaş kök ağırlığı ve  $0.41 \pm 0.02$  g kuru kök ağırlığı ile bu bakımdan da diğer inkübasyon sürelerinden 1.2-3.7 kat daha yüksek değerlere sahip olmuştur (Çizelge 4.3).

#### **4.3 ‘Nero’ Aronya Çeşidinde Yüzen Perlit Yatağında Farklı İnkübasyon Sürelerinde Ex Vitro Köklendirme ve Eş Zamanlı Dış Koşullara Alıştırma Aşamasındaki Bulgular**

‘Nero’ çeşidinde yüzen perlit yatağında inkübasyon sürelerinin, mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranı ve köklenme düzeyi üzerine etkileri çizelge 4.4’de sunulmuştur.

Çizelge 4.4 ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin bu aşamada köklenme, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri (ortalama±standart hata)

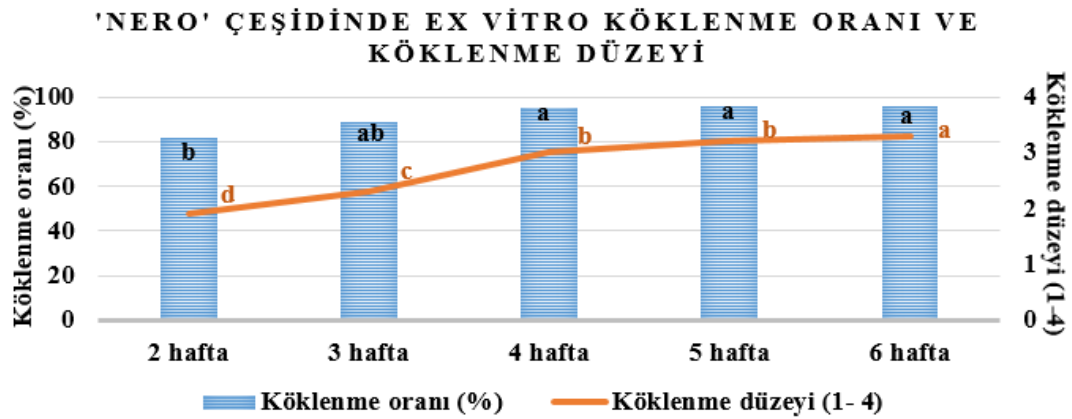
| Özellik                                        | İnkübasyon Süresi       |              |              |              |             | Ortalama   | P                     | İn vitro kültürlerden alınan mikro sürgün yaprakları |
|------------------------------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|-------------|------------|-----------------------|------------------------------------------------------|
|                                                | 2 hafta                 | 3 hafta      | 4 hafta      | 5 hafta      | 6 hafta     |            |                       |                                                      |
| Köklenme oranı (%)                             | 81.4±6.2 b <sup>b</sup> | 89.0±2.4 ab  | 95.2±2.2 a   | 95.7±2.3 a   | 96.0±1.4 a  | -          | 0.027*                | -                                                    |
| Köklenme düzeyi (1-4) <sup>a</sup>             | 1.9±0.1 d               | 2.3±0.1 c    | 3.0±0.1 b    | 3.2±0.1 b    | 3.3±0.1 a   | -          | 0.000***              | -                                                    |
| Yaprak mezofil kalınlığı (µm)                  | 76.7±6.0 c              | 89.0±4.1 c   | 102.9±1.3 b  | 108.5±4.7 b  | 121.6±2.2 a | -          | 0.001***              | 61.7±4.1                                             |
| Kütikül kalınlığı (µm)                         | 1.1±0.3 c               | 1.8±0.4 bc   | 2.1±0.3 ab   | 2.4±0.1 ab   | 2.7±0.1 a   | -          | 0.013*                | 0.7±0.1                                              |
| Epidermis hücre sayısı (adet/mm <sup>2</sup> ) | 200.1±16.5 a            | 160.3±6.7 ab | 141.5±24.9 b | 122.7±11.6 b | 118.3±6.7 b | -          | 0.018*                | 221.1±14.5                                           |
| Epidermis hücre genişliği (µm)                 | 14.8±1.5                | 16.1±0.3     | 17.2±1.6     | 16.1±1.2     | 18.3±1.0    | 15.6±0.7   | 0.390 <sup>ö.d.</sup> | 10.9±0.5                                             |
| Epidermis hücre uzunluğu (µm)                  | 20.1±2.5 b              | 26.5±2.2 ab  | 35.4±4.0 a   | 29.5±3.5 ab  | 35.4±2.9 a  | -          | 0.027*                | 16.5±0.5                                             |
| Stoma yoğunluğu (adet/mm <sup>2</sup> )        | 176.9±21.1              | 150.4±2.2    | 154.8±15.5   | 128.3±11.7   | 137.1±13.5  | 165.5±11.7 | 0.222 <sup>ö.d.</sup> | 245.5±38.3                                           |
| Stoma genişliği (µm)                           | 25.0±1.1                | 26.5±0.1     | 26.3±0.5     | 26.1±0.7     | 25.5±1.4    | 25.8±0.3   | 0.734 <sup>ö.d.</sup> | 25.6±0.6                                             |
| Stoma uzunluğu (µm)                            | 29.6±0.9                | 33.6±0.7     | 33.3±0.4     | 33.1±1.3     | 34.1±1.4    | 31.8±0.7   | 0.068 <sup>ö.d.</sup> | 27.4±1.3                                             |
| Stoma indeksi (%)                              | 46.8±3.3                | 48.4±0.8     | 52.7±6.6     | 51.1±1.9     | 53.5±1.8    | 50.8±1.4   | 0.642 <sup>ö.d.</sup> | 50.6±1.2                                             |
| Klorofil a (mg/g)                              | 0.20±0.04               | 0.22±0.02    | 0.16±0.03    | 0.19±0.05    | 0.21±0.01   | 0.20±0.01  | 0.687 <sup>ö.d.</sup> | 0.21±0.01                                            |
| Klorofil b (mg/g)                              | 0.16±0.04               | 0.12±0.01    | 0.09±0.01    | 0.12±0.02    | 0.13±0.01   | 0.12±0.01  | 0.167 <sup>ö.d.</sup> | 0.11±0.01                                            |
| Toplam klorofil (mg/g)                         | 0.34±0.04               | 0.31±0.02    | 0.25±0.04    | 0.31±0.07    | 0.34±0.02   | 0.31±0.02  | 0.528 <sup>ö.d.</sup> | 0.32±0.02                                            |

<sup>a</sup> Köklenme düzeyi, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi, 4 = çok iyi.

<sup>b</sup> Duncan testine ( $P \leq 0.05$ ) göre her satırdaki aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

<sup>ö.d.</sup> F-testine göre farklılıklar istatistiksel anlamda önemli değil, \*:  $P \leq 0.05$ , \*\*:  $P \leq 0.01$  ve \*\*\*:  $P \leq 0.001$  düzeyinde önemli.

Ex vitro köklenme oranının inkübasyon sürelerine göre %81.4 ile %96.0 arasında belirlendiği çalışmada inkübasyon süreleri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. İstatistiksel olarak en yüksek köklenme oranları (%89.0-%96.0) 3, 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde belirlenmiştir. En düşük köklenme oranı ise %81.4 ile 2 haftalık inkübasyon süresinde kaydedilmiştir. Bununla birlikte köklenme oranı bakımından 2 ve 3 haftalık inkübasyon süreleri aynı istatistik grupta yer almıştır. Köklenme düzeyi (1-4) ise inkübasyon süresi 6 hafta olan mikro çeliklerde  $3.3 \pm 0.1$  ile önemli bir farklılıkla en yüksek bulunmuştur. İnkübasyon süresi 2 hafta olan mikro çelikler ise  $1.9 \pm 0.1$  ile en düşük değere sahip olmuştur. İnkübasyon süresinin ilerlemesi ile birlikte köklenme düzeyi artış göstermiş, 3 hafta ( $2.3 \pm 0.1$ ), 4 hafta ( $3.0 \pm 0.1$ ) ve 5 hafta ( $3.2 \pm 0.1$ ) inkübasyon sürelerinde 2 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinin değerleri arasında belirlenmiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.7, 4.8).



Şekil 4.7 'Nero' aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde mikro çeliklerde ex vitro köklenme oranı ve köklenme düzeyi

'Nero' aronya çeşidinde ex vitro köklendirilmiş ve eş zamanlı dış koşullara alıştırılmış mikro çeliklerin yaprak anatomisi ile ilgili özellikleri incelendiğinde mezofil ve kütikül kalınlıkları, epidermis hücre sayısı ve uzunluğu bakımından inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4, Şekil 4.9).

**Yüzen Perlit Yatağından Ex Vitro  
Köklendirilmiş Mikro Çelikler**

**Serada 4 Hafta Geliştirilmiş Bitkiler**

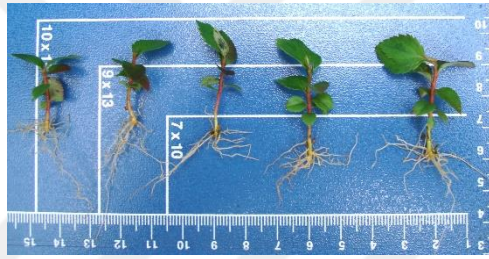
**2 Haftalık İnkübasyon Süresi**



**3 Haftalık İnkübasyon Süresi**



**4 Haftalık İnkübasyon Süresi**



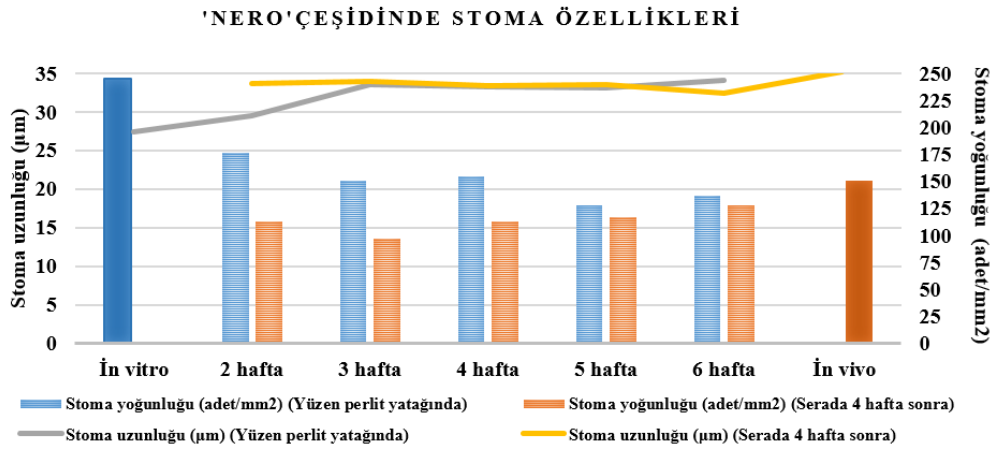
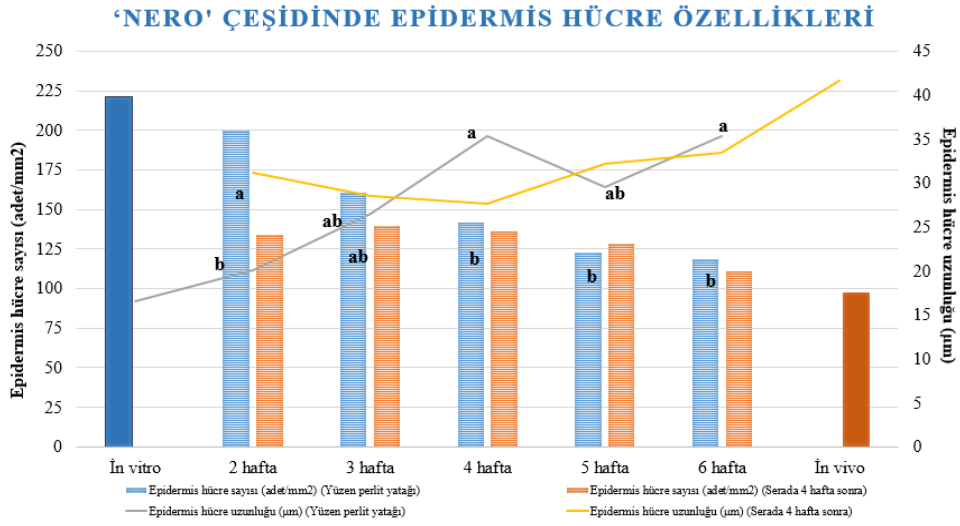
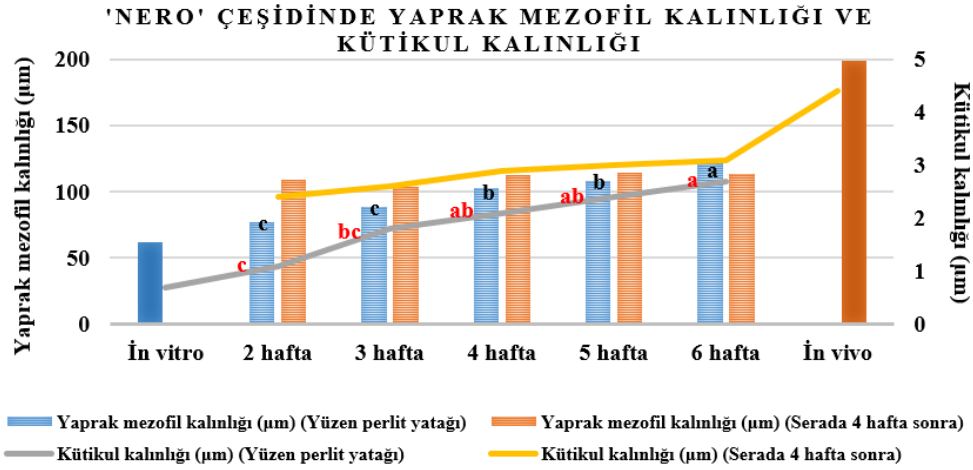
**5 Haftalık İnkübasyon Süresi**



**6 Haftalık İnkübasyon Süresi**



Şekil 4.8 'Nero' aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta gelişmiş bitkilerin görünümü



Şekil 4.9 'Nero' aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yaprakları ile birlikte bazı yaprak anatomik özelliklerindeki değişim

Yaprak mezofil kalınlığı bakımından en yüksek değer  $121.6 \pm 2.2 \mu\text{m}$  ile inkübasyon süresi 6 hafta olan mikro çeliklerde belirlenmiştir. İnkübasyon süresi kısaltıldıkça bu değerde de düşüş meydana gelmiştir. En düşük mezofil kalınlık değerleri 2 hafta ( $76.7 \pm 6.0 \mu\text{m}$ ) ve 3 hafta ( $89.0 \pm 4.1 \mu\text{m}$ ) süreyle yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin yapraklarında kaydedilmiştir. Kütikül kalınlığı bakımından da en düşük değerler inkübasyon süresi 2 hafta ( $1.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$ ) ve 3 hafta ( $1.8 \pm 0.4 \mu\text{m}$ ) olan mikro çeliklerde saptanmıştır. Bu bakımdan en yüksek değerler 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde kaydedilmiştir. Bu haftalarda kütikül kalınlığı  $2.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$  ile  $2.7 \pm 0.1 \mu\text{m}$  arasında değişmiştir (izelge 4.4, şekil 4.9, 4.10).

Ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin yapraklarında epidermis hücre sayısı ise istatistiksel anlamda önemli bir farklılıkla en yüksek 2 haftalık ( $200.1 \pm 16.5 \text{ adet/mm}^2$ ) ve 3 haftalık ( $160.3 \pm 6.7 \text{ adet/mm}^2$ ) inkübasyon sürelerinde tespit edilmiştir. Daha uzun inkübasyon sürelerinde epidermis hücre sayısı giderek azalmış, ancak tüm değerler aynı istatistik grup içerisinde yer almıştır. Epidermis hücre genişliği bakımından inkübasyon süreleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. İnkübasyon sürelerinin ortalaması olarak epidermis hücre genişliği  $15.6 \pm 0.7 \mu\text{m}$ 'dir. Epidermis hücrelerinin uzunluk değerleri arasındaki farklılık ise istatistiksel anlamda önemli olmuştur. En düşük epidermis hücre uzunluğu, inkübasyon süresi 2 hafta ( $20.1 \pm 2.5 \mu\text{m}$ ) ve 3 hafta ( $26.5 \pm 2.2 \mu\text{m}$ ) olan mikro çeliklerde belirlenmiştir. İstatistiksel anlamda benzer olarak 3. haftadan itibaren uzunluk değerlerinde artış kaydedilmiş ve  $35.4 \pm 2.9 \mu\text{m}$ 'ye kadar ulaşmıştır. İn vitro kültürlerden alınan mikro sürgünlerde epidermis hücre sayısı  $221.1 \pm 14.5 \text{ adet/mm}^2$ , epidermis hücre genişliği  $10.9 \pm 0.5 \mu\text{m}$  ve uzunluğu  $16.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$ 'dir. Bu değerler in vitro sürgünlerde yaprak epidermis hücrelerinin, ex vitro köklendirilmiş ve aynı zamanda inkübasyon sürelerine göre farklı seviyelerde dış koşullara alışmış mikro çeliklerin yapraklarına göre daha küçük ve bu nedenle birim alandaki sayısının daha yüksek olduğuna işaret etmektedir (izelge 4.4, şekil 4.9, 4.10). Yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin yapraklarında stoma özellikleri bakımından inkübasyon süreleri arasında istatistiksel anlamda bir farklılık bulunmamıştır. İnkübasyon sürelerinin ortalaması olarak stoma yoğunluğu  $165.5 \pm 11.7 \text{ adet/mm}^2$ , stoma genişliği  $25.8 \pm 0.3 \mu\text{m}$ , uzunluğu  $31.8 \pm 0.7 \mu\text{m}$  ve indeksi  $\%50.8 \pm 1.4$  olarak kaydedilmiştir (izelge 4.4, şekil 4.9, 4.11).

#### İn Vitro Mikro Sürgün Yaprığı



#### İn Vivo Ana Bitki Yaprığı



#### 2 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı



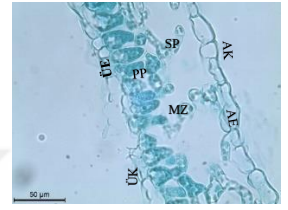
#### Sera



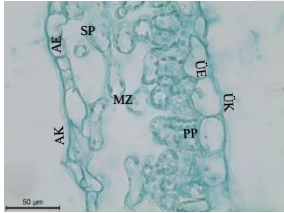
#### 3 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı



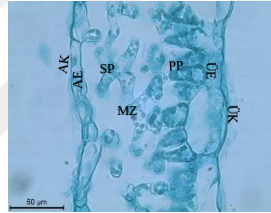
#### Sera



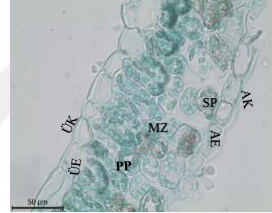
#### 4 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı



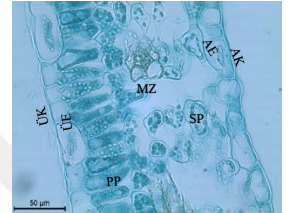
#### Sera



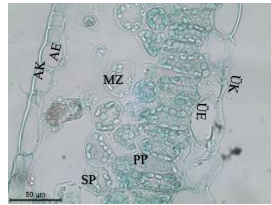
#### 5 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı



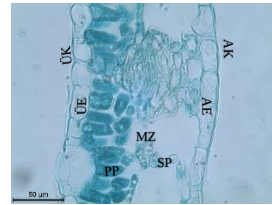
#### Sera



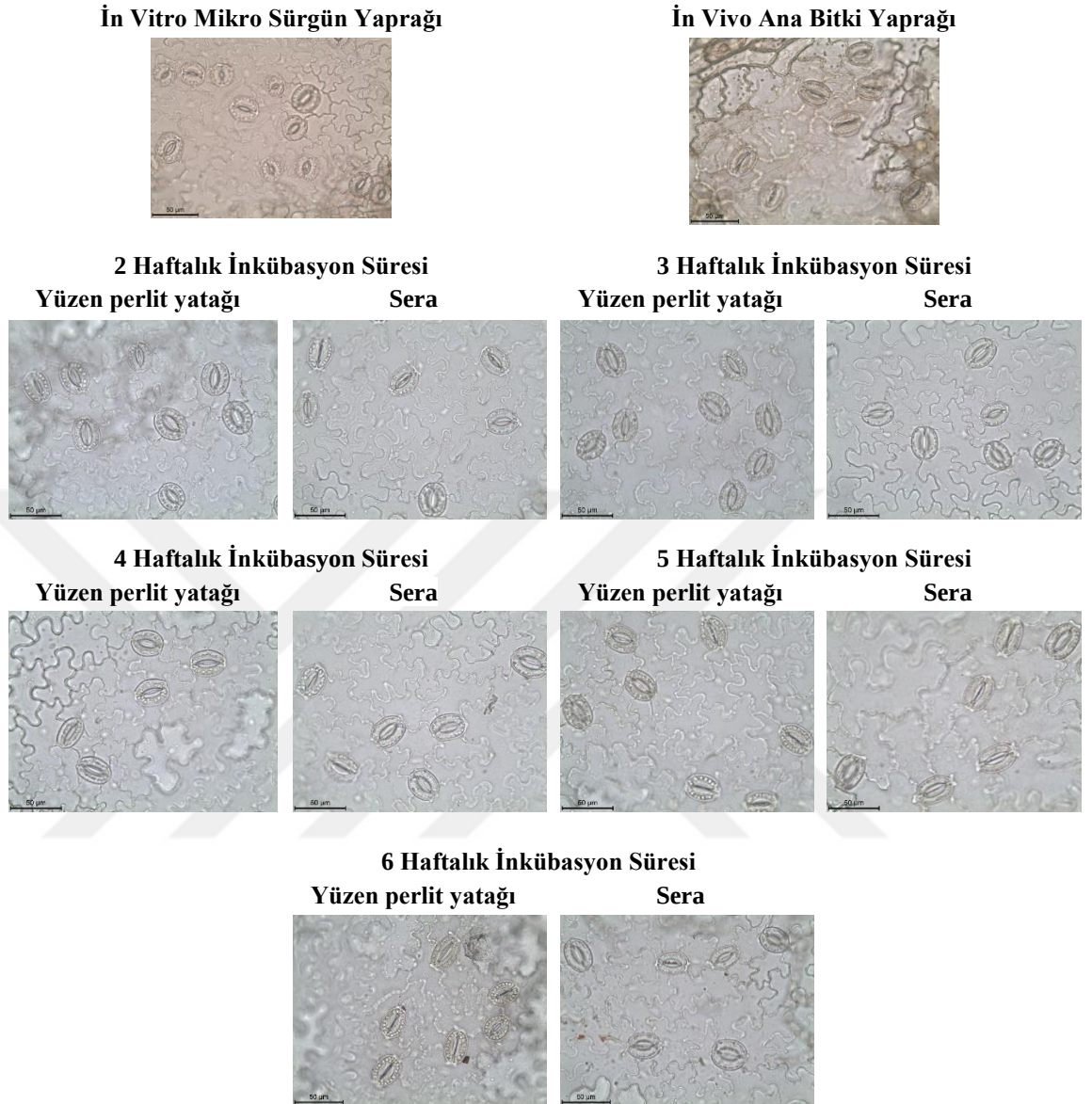
#### 6 Haftalık İnkübasyon Süresi Yüzen perlit yatağı



#### Sera



Şekil 4.10 ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarının enine kesitlerinde dokuların görünümü (40x). ÜK-üst kütikül, AK-alt kütikül, ÜE-üst epidermis, AE-alt epidermis, MZ-mezofil, PP-palizat parankiması, SP-sünger parankiması



Şekil 4.11 ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin, in vitro mikro sürgün ve in vivo ana bitki yapraklarında stomaların görünümü (40x)

Dış koşullara alışmanın bir sonucu olarak ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin yapraklarında ortalama stoma yoğunluğu (ortalama  $165.5 \pm 11.7$  adet/ $\text{mm}^2$ ), in vitro mikro sürgünlerin yapraklarının stoma yoğunluk değerinden ( $245.5 \pm 38.3$  adet/ $\text{mm}^2$ ) 1.5 kat daha azdır (Şekil 4.9, 4.11). Bununla birlikte stoma genişliği ile stoma indeksi değerleri birbirine yakındır (Çizelge 4.4).

Klorofil değerleri bakımından ex vitro köklendirmiş bitkilerde inkübasyon süreleri arasındaki farklılık istatistiksel anlamda önemli değildir. İnkübasyon sürelerinin ortalaması olarak klorofil a  $0.20\pm0.01$  mg/g, klorofil b  $0.12\pm0.01$  mg/g ve toplam klorofil  $0.31\pm0.02$  mg/g'dır. Bu değerler, in vitro mikro sürgünlerin yapraklarına ait değerler ile yakındır (Çizelge 4.4).

#### **4.4 'Nero' Aronya Çeşidinde Bitkilerin Serada Büyüme ve Gelişmesi Aşamasındaki Bulguları**

##### **4.4.1 'Nero' aronya çeşidinde ex vitro köklendirmeden sonra sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilere ait bulgular**

'Nero' aronya çeşidinde ex vitro köklendirme aşamasında uygulanan inkübasyon sürelerinin seraya taşındıktan 4 hafta sonra bitkilerin canlılık oranları üzerine etkisi istatistiksel anlamda önemli bulunmamış ve ortalama canlılık oranı %96.7 olarak kaydedilmiştir. Bununla birlikte bitki boyu ve yaprak sayısı bakımından inkübasyon süreleri arasındaki farklılık önemli olmuş ve ex vitro köklenme aşamasındaki inkübasyon süresi 2, 3, 4, 5 hafta olan bitkilerde bu özellikler genellikle 6 haftalık inkübasyon süresinden daha yüksek belirlenmiştir. Bitki boyu inkübasyon süresi 6 hafta olan bitkilerde  $15.3\pm1.6$  mm olarak ölçülürken, diğerlerinde bu değer  $31.0\pm1.8$  mm ile  $34.9\pm1.9$  mm arasında belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Bitki başına yaprak sayısı bakımından önemli düzeyde bir farklılıkla en yüksek değer ex vitro köklendirme aşamasında inkübasyon süresi 4 hafta olan bitkilerde  $8.8\pm0.1$  adet/bitki olarak saptanmıştır. Bunu,  $8.2\pm0.1$  adet/bitki yaprak sayısı ile 3 ve 5 hafta uygulamaları izlemiştir. En düşük yaprak sayısı inkübasyon süresi 6 hafta olan bitkilerde ( $5.9\pm0.1$  adet/bitki) belirlenmiştir (Çizelge 4.5). 'Viking' çeşidinde olduğu gibi 'Nero' çeşidinde de 6 haftalık inkübasyon süresi sonunda seraya taşınan bitkilerin 4 haftalık gelişme periyodunun vejetasyon sonuna daha yakın olması (Çizelge 3.2) nedeniyle bitki boyu ve yaprak sayısı, diğer inkübasyon sürelerinin değerlerinin gerisinde kalmıştır (Çizelge 4.5, Şekil 4.8).

Çizelge 4.5 ‘Nero’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin seraya taşındıktan 4 hafta sonra morfolojik, yaprak anatomisi ve klorofil özellikleri (ortalama±standart hata)

| Özellik                                        | İnkübasyon Süresi       |              |              |             |              | Ortalama  | P                     | Bahçedeki ana bitkiden (in vivo) alınan yapraklar |
|------------------------------------------------|-------------------------|--------------|--------------|-------------|--------------|-----------|-----------------------|---------------------------------------------------|
|                                                | 2 hafta                 | 3 hafta      | 4 hafta      | 5 hafta     | 6 hafta      |           |                       |                                                   |
| Canlılık oranı (%)                             | 97.3±2.7                | 100.0±0.0    | 95.3±2.3     | 97.7±2.3    | 93.3±3.8     | 96.7±2.2  | 0.483 <sup>ö.d.</sup> | -                                                 |
| Bitki boyu (mm)                                | 31.0±1.8 a <sup>a</sup> | 34.9±1.9 a   | 32.5±0.5 a   | 33.2±1.3 a  | 15.3±1.6 b   | -         | 0.000***              | -                                                 |
| Yaprak sayısı (adet/bitki)                     | 7.6±0.1 c               | 8.2±0.1 b    | 8.8±0.1 a    | 8.2±0.1 b   | 5.9±0.1 d    | -         | 0.000***              | -                                                 |
| Mezofil kalınlığı (µm)                         | 109.2±5.9               | 103.3±5.3    | 112.5±4.1    | 113.9±9.8   | 113.8±4.8    | 110.6±2.6 | 0.738 <sup>ö.d.</sup> | 198.3±5.6                                         |
| Kütikül kalınlığı (µm)                         | 2.4±0.0                 | 2.6±0.2      | 2.9±0.2      | 3.0±0.2     | 3.1±0.2      | 2.8±0.1   | 0.093 <sup>ö.d.</sup> | 4.4±0.4                                           |
| Epidermis hücre sayısı (adet/mm <sup>2</sup> ) | 133.7±33.3              | 139.3±23.0   | 136.0±12.0   | 128.3±5.8   | 110.6±5.8    | 129.6±7.8 | 0.839 <sup>ö.d.</sup> | 97.3±2.2                                          |
| Epidermis hücre genişliği (µm)                 | 16.2±3.2                | 14.8±0.89    | 15.4±1.4     | 18.3±2.6    | 19.1±0.9     | 16.8±0.9  | 0.544 <sup>ö.d.</sup> | 19.3±2.2                                          |
| Epidermis hücre uzunluğu (µm)                  | 31.2±4.8                | 28.5±2.0     | 27.7±0.7     | 32.2±1.9    | 33.5±0.6     | 30.6±1.1  | 0.463 <sup>ö.d.</sup> | 41.6±2.8                                          |
| Stoma yoğunluğu (adet/mm <sup>2</sup> )        | 112.8±10.1              | 97.3±5.8     | 112.8±10.1   | 117.2±8.0   | 128.3±15.5   | 113.7±4.7 | 0.392 <sup>ö.d.</sup> | 150.4±9.6                                         |
| Stoma genişliği (µm)                           | 25.5±0.4                | 25.6±0.8     | 25.9±0.8     | 25.2±0.9    | 25.7±0.2     | 25.6±0.3  | 0.953 <sup>ö.d.</sup> | 25.0±0.6                                          |
| Stoma uzunluğu (µm)                            | 33.7±0.8                | 34.0±0.5     | 33.5±0.7     | 33.6±0.8    | 32.4±0.6     | 33.4±0.3  | 0.570 <sup>ö.d.</sup> | 35.3±1.6                                          |
| Stoma indeksi (%)                              | 47.1±4.1                | 41.8±4.1     | 45.4±4.3     | 47.7±2.4    | 53.4±4.0     | 47.1±1.8  | 0.371 <sup>ö.d.</sup> | 60.6±2.0                                          |
| Klorofil a (mg/g)                              | 0.14±0.03 c             | 0.25±0.01 b  | 0.32±0.04 b  | 0.41±0.01 a | 0.43±0.03 a  | -         | 0.000***              | 0.13±0.01                                         |
| Klorofil b (mg/g)                              | 0.09±0.01 d             | 0.17±0.01 cd | 0.20±0.02 bc | 0.33±0.06 a | 0.29±0.01 ab | -         | 0.002**               | 0.10±0.01                                         |
| Toplam klorofil (mg/g)                         | 0.23±0.03 c             | 0.43±0.02 b  | 0.52±0.06 b  | 0.64±0.04 a | 0.72±0.04 a  | -         | 0.000***              | 0.23±0.02                                         |

<sup>a</sup> Köklenme düzeyi, 1 = zayıf, 2 = orta, 3 = iyi, 4 = çok iyi.

<sup>b</sup> Duncan testine ( $P \leq 0.05$ ) göre her satırdaki aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

<sup>ö.d.</sup> F-testine göre farklılıklar istatistiksel anlamda önemli değil, \*:  $P \leq 0.05$ , \*\*:  $P \leq 0.01$  ve \*\*\*:  $P \leq 0.001$  düzeyinde önemli.

‘Nero’ aronya çeşidinde serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda bitkilerin yaprak anatomisi özellikleri üzerine ex vitro köklendirme aşamasında uygulanan inkübasyon sürelerinin etkileri istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.5). İnkübasyon sürelerinin ortalaması olarak bu aşamada bitkilerde yaprak mezofil kalınlığı  $110.6 \pm 2.6$   $\mu\text{m}$ , kütikul kalınlığı ise  $2.8 \pm 0.1$   $\mu\text{m}$ ’dir. Bahçe koşullarındaki ana bitkiden (in vivo) alınan yapraklarda bu değerler sırasıyla  $198.3 \pm 5.6$   $\mu\text{m}$  ve  $4.4 \pm 0.4$   $\mu\text{m}$  olarak 1.8 ve 1.6 kat daha fazladır (Çizelge 4.5, Şekil 4.9, 4.10). Serada 4. haftanın sonunda bitkilerin yapraklarında belirlenen ortalama epidermis hücre sayısı ( $129.6 \pm 7.8$  adet/ $\text{mm}^2$ ), in vivo bitkilerin yapraklarında saptanan değerden ( $97.3 \pm 2.2$  adet/ $\text{mm}^2$ ) daha yüksektir. Bunun nedeni ortalama epidermis hücre genişliği ( $16.8 \pm 0.9$   $\mu\text{m}$ ) ve uzunluğu ( $30.6 \pm 1.1$   $\mu\text{m}$ ) değerlerinin in vivo bitkilerin yapraklarında belirlenmiş olan değerlerden daha düşük olmasıdır. İn vivo bitkilerde bu değerler sırasıyla  $19.3 \pm 2.2$   $\mu\text{m}$  ve  $41.6 \pm 2.8$   $\mu\text{m}$ ’dur (Çizelge 4.5, Şekil 4.9, 4.10). Seradaki bitkilerde 4 hafta sonra yapraklarda stoma yoğunluğu inkübasyon sürelerinin ortalaması olarak  $113.7 \pm 4.7$  adet/ $\text{mm}^2$ , stoma genişliği ve uzunluğu sırasıyla  $25.6 \pm 0.3$   $\mu\text{m}$  ve  $33.4 \pm 0.3$   $\mu\text{m}$ , stoma indeksi ise  $\%47.1 \pm 1.8$  olarak belirlenmiştir. Bu aşamada stoma boyutları yönünden seradaki bitkilerin ve in vivo bitkilerin yapraklarında kaydedilen değerler birbirine yakındır. Bununla birlikte in vivo bitkilerin stoma yoğunluğu ( $150.4 \pm 9.6$  adet/ $\text{mm}^2$ ) ve stoma indeksi değerleri ( $\%60.6 \pm 2.0$ ), seradaki bitkilerin bu değerlerinden ( $113.7 \pm 4.7$  adet/ $\text{mm}^2$  ve  $\%47.1$ ) daha yüksektir (Çizelge 4.5, Şekil 4.9, 4.11).

‘Nero’ aronya çeşidinde serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda klorofil kapsamı üzerine ex vitro köklendirme aşamasında uygulanan inkübasyon sürelerinin etkileri istatistiksel anlamda önemli bulunmuştur. Klorofil a, b ve toplam klorofil bakımından en yüksek değerler inkübasyon süresi 5 ve 6 hafta olan bitkilerde, en düşük değerler ise genellikle 2 hafta olan bitkilerde kaydedilmiştir. En yüksek klorofil a miktarı  $0.41 \pm 0.01$  ve  $0.43 \pm 0.03$  mg/g, klorofil b miktarı  $0.33 \pm 0.06$  ve  $0.29 \pm 0.01$  mg/g ve toplam klorofil miktarı  $0.64 \pm 0.04$  ve  $0.72 \pm 0.04$  mg/g’dir. En düşük klorofil a miktarı  $0.14 \pm 0.03$  mg/g, klorofil b miktarı  $0.09 \pm 0.01$  ve  $0.17 \pm 0.01$  mg/g, toplam klorofil miktarı  $0.23 \pm 0.03$  mg/g’dir. İn vivo bitkilerin yapraklarında belirlenen klorofil a ( $0.13 \pm 0.01$  mg/g), klorofil b ( $0.10 \pm 0.01$  mg/g) ve toplam klorofil ( $0.23 \pm 0.02$  mg/g) miktarları, seradaki bitkilerden

genellikle düşüktür. Bu değerler inkübasyon süresi 2 hafta olan seradaki bitkilerin düşük klorofil miktarına yakındır (Çizelge 4.5).

#### 4.4.2 ‘Nero’ aronya çeşidinde serada bitkilerin vejetasyon sonundaki bulguları

Ex vitro köklendirme aşamasında ‘Nero’ çeşidinin mikro çeliklerine yüzen perlit yatağında uygulanan farklı inkübasyon sürelerinin serada vejetasyonun sonunda bitkilerin canlılık oranı ve bitki gelişme özellikleri üzerine etkileri çizelge 4.6’da sunulmuştur.

Çizelge 4.6 ‘Nero’ aronya çeşidinde farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki bazı morfolojik özellikleri (ortalama±standart hata)

| Özellik                        | İnkübasyon Süresi        |             |             |             |             | Ortalama | P                     |
|--------------------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------|-----------------------|
|                                | 2 hafta                  | 3 hafta     | 4 hafta     | 5 hafta     | 6 hafta     |          |                       |
| Canlılık oranı (%)             | 97.3±2.7                 | 100.0±0.0   | 95.3±2.3    | 97.7±2.3    | 93.3±3.8    | 96.7±2.2 | 0.071 <sup>ö.d.</sup> |
| Bitki boyu (mm)                | 106.9±4.7 a <sup>a</sup> | 80.2±2.4 b  | 57.5±2.8 c  | 43.8±1.1 d  | 32.0±1.5 e  | -        | 0.000***              |
| Gövde çapı (mm)                | 3.9±0.1 a                | 3.3±0.2 b   | 3.1±0.1 bc  | 2.8±0.1 c   | 2.1±0.2 d   | -        | 0.000***              |
| Yaş sürgün ağırlığı (g/bitki)  | 0.53±0.04 a              | 0.41±0.02 b | 0.29±0.01 c | 0.20±0.01 d | 0.12±0.01 e | -        | 0.000***              |
| Kuru sürgün ağırlığı (g/bitki) | 0.25±0.01 a              | 0.18±0.01 b | 0.13±0.01 c | 0.09±0.01 d | 0.06±0.01 e | -        | 0.000***              |
| Yaş kök ağırlığı (g/bitki)     | 1.89±0.04 a              | 1.55±0.07 b | 1.15±0.04 c | 0.87±0.07 d | 0.38±0.06 e | -        | 0.000***              |
| Kuru kök ağırlığı (g/bitki)    | 0.38±0.01 a              | 0.31±0.01 b | 0.23±0.01 c | 0.16±0.01 d | 0.07±0.01 e | -        | 0.000***              |

<sup>a</sup> Duncan testine ( $P \leq 0.05$ ) göre her satırda aynı harflerin verildiği uygulamalar arasında istatistiksel anlamda önemli bir farklılık bulunmamaktadır.

<sup>ö.d.</sup> F-testine göre farklılıklar istatistiksel anlamda önemli değil, \*\*\*:  $P \leq 0.001$  düzeyinde önemli.

Serada vejetasyon sonunda bitkilerde canlılık oranı bakımından ex vitro köklendirme aşamasındaki inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel anlamda önemli bulunmamış ve ortalama %96.7 olarak belirlenmiştir. Bitki büyüme ve gelişmesi ile ilgili diğer özelliklerde ise inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel bakımdan önemli bulunmuştur. Bu özellikler bakımından serada vejetasyon sonuna kadar 14 hafta gelişme imkânı bulmuş olan 2 haftalık inkübasyon süresindeki bitkiler en yüksek değerlere sahip olurken, serada 10 hafta gelişebilen 6 haftalık inkübasyon süresindeki bitkilerde en düşük değerler kaydedilmiştir (Çizelge 3.2 ve 4.6, Şekil 4.12).



Şekil 4.12 ‘Nero’ aronya çeşidinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş bitkilerin serada vejetasyon sonundaki görünüşleri

Çalışmada bitki boyu bakımından en yüksek değer  $106.9 \pm 4.7$  mm ile 2 haftalık inkübasyon süresinde belirlenirken bunu  $80.2 \pm 2.4$  mm ile 3 haftalık inkübasyon süresi izlemiştir. En düşük değer ise  $32.0 \pm 1.5$  mm ile 6 haftalık inkübasyon süresinde saptanmıştır (Çizelge 4.6, Şekil 4.12). Gövde çapı bakımından da istatistiksel anlamda önemli bir farklılık ile en yüksek değer, inkübasyon süresi 2 hafta olan bitkilerde  $3.9 \pm 0.1$  mm olarak kaydedilmiştir. İnkübasyon süreleri 3 hafta ( $3.3 \pm 0.2$  mm) ve 4 hafta ( $3.1 \pm 0.1$  mm) olan bitkilerde istatistiksel anlamda benzer sonuçlar alınmıştır. En düşük gövde çapı değeri inkübasyon süresi 6 hafta olan bitkilerde  $2.1 \pm 0.2$  mm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.6, Şekil 4.12). Bitki başına en yüksek yaş sürgün ( $0.53 \pm 0.04$  g) ve kuru sürgün ( $0.25 \pm 0.01$  g) ağırlık değerleri ise inkübasyon süresi 2 hafta olan bitkilerde kaydedilmiştir. En düşük değerler ise  $0.12 \pm 0.01$  g yaş ve  $0.06 \pm 0.01$  g kuru sürgün ağırlıkları ile inkübasyon süresi 6 hafta olan bitkilerde saptanmıştır (Çizelge 4.6). Yaş ve

kuru kök ağırlığı değerlerinde de benzer durum ortaya çıkmış ve inkübasyon süresi 2 hafta olan bitkiler,  $1.89 \pm 0.04$  g/bitki yaş kök ve  $0.38 \pm 0.01$  g/bitki kuru kök ağırlıkları ile en yüksek değerlere sahip olmuştur. En düşük değerlerin belirlendiği 6 haftalık inkübasyon süresinde bitki başına yaş ve kuru kök ağırlıkları sırasıyla  $0.38 \pm 0.06$  g ve  $0.07 \pm 0.01$  g'dır. Diğer inkübasyon sürelerinde bu değerler inkübasyon süresinin artması ile birlikte bu iki değer arasında düzenli olarak azalış sergilemiştir (Çizelge 4.6). Bu durum, inkübasyon süresi 2, 3, 4, 5 ve 6 hafta olan bitkilerin sera koşullarında vejetasyon sonuna kadar gelişme sürelerinin sırasıyla 14, 13, 12, 11 ve 10 hafta olarak giderek azalmasının bir sonucudur (Çizelge 3.2).



## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Antioksidan ve polifenoller başta olmak üzere birçok biyoaktif bileşen yönüyle zengin bir meyve türü olan aronya, hastalıkların tedavisinde yardımcı etkileri nedeniyle tıbbi bitkiler grubuna dâhil edilmiş değerli bir meyve türüdür (Borowska ve Brzoska 2016, Szopa vd. 2017, Jurikova vd. 2017, Jurendic ve Scetar 2021, Negreanu-Pirjol vd. 2023). Bu meyve türünde kültür çeşitleri, apomiktik tohumla genetik açılım olmadan ve kolaylıkla çoğaltılabilmekte ise de bitkilerde verimsiz geçen gençlik dönemi uzadığı ve ürün verme dönemi geciktiği için bitki üretiminde tohumla çoğaltım yerine diğer vejetatif çoğaltım yöntemleri önerilmektedir (Brand 2010, Leonard vd. 2013, Sun vd. 2018, Mahoney vd. 2019). Vejetatif yöntemlerden birisi olan mikroçoğaltım günümüzde aronyada fidan üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır (Litwinczuk 2013, Brand 2017, Imrak vd. 2021, Coşkun 2024). Aronyanın mikroçoğaltımında mikro sürgünler in vitro koşullarda başarıyla köklendirilebilmekte ise de (Litwinczuk 2002, Kwak vd. 2015, Petrova vd. 2019, Imrak vd. 2021, Jakab vd. 2022, Demirel vd. 2023, Nas vd. 2025) daha sonra in vitro bitkiciklerin aklimatizasyonu zorlu bir süreci gerektirmektedir. Oysa köklenme ile birlikte bitkilerin dış koşullara alışmasını da sağlayan ex vitro köklendirme, kısa zamanda sağlıklı ve pişkin bitkilerin üretimini mümkün hale getirebildiği için aronyanın mikroçoğaltımında önerilen bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Brand ve Cullina 1992, Litwinczuk 2002, Brand 2017, Borsai vd. 2021, Coşkun 2024).

Geleneksel ex vitro köklendirme yöntemlerinde, mikro çeliklerde henüz kökünün oluşmadığı başlangıç aşamasında bünyedeki nemin korunması için şeffaf plastik kaplardan ve örtülerden, nem kontrollü iklim odalarından, mist, fog gibi otomatik sistemlere sahip seralardan yararlanılmaktadır. Kök oluşumuyla birlikte ortamın nemi kademeli olarak düşürülmekte ve bitkiler dış koşullara alıştırılmaktadır (Grzelak vd. 2024). Bu yöntemin uygulanmasında karşılaşılan bazı zorluklar başarı oranını düşürebilmekte ve maliyeti çoğu kez yükseltebilmektedir. Buna karşı Clapa vd. (2013a) tarafından basit, ucuz ve başarı oranı yüksek bir ex vitro köklendirme ve aynı zamanda dış koşullara alıştırma yöntemi olarak yüzen perlit yatağı tekniği geliştirilmiştir. Bu tekniğin, aronyanın da içinde bulunduğu bazı meyve türlerinin mikroçoğaltımında başarılı olduğu gösterilmiştir (Clapa vd. 2013a, b, 2014, 2015, 2016, Fira vd. 2014, 2015,

2016, Borsai vd. 2017, Nawandish vd. 2024, Coşkun 2024). Bu çalışmalarda mikro çelikler yüzen perlit yatağında genellikle 4 haftalık periyotda köklendirilmiş, ex vitro köklenme ve aynı zamanda dış koşullara alışma başarısı inkübasyon süresi sonunda ve ayrıca bazı çalışmalarda serada birkaç aylık gelişme periyodu sonunda incelenmiştir. Değerlendirmelerde genellikle mikro çeliklerde canlılık ve köklenme oranları ile kök ve sürgün gelişimi esas alınmıştır. Bu tez çalışmasında ise 'Viking' ve 'Nero' aronya çeşitlerinde mikro çeliklerin ex vitro köklendirilmesi ve eş zamanlı olarak dış koşullara alıştırılmasında yüzen perlit yatağında 4 haftanın yanında daha kısa ve daha uzun inkübasyon süreleri denenmiştir. Zira Brand (2017), aronya mikro çeliklerinin geleneksel yöntemle aseptik olmayan koşullarda 4 haftadan daha kısa bir süre olarak 10-21 gün içerisinde köklenebildiğini bildirmiştir. Brand'ın (2017) bulgusu ile uyumlu olarak çalışmamızda da yüzen perlit yatağında mikro çeliklerde ex vitro köklenme inkübasyonun 2. ve 3. haftalarında tespit edilmiştir. Ancak bu inkübasyon sürelerinde köklenme oranları 'Viking' çeşidinde sırasıyla %78.8 ve %87.2, 'Nero' çeşidinde ise sırasıyla %81.4 ve %89.0 olarak kaydedilmiştir. Bu oranlar, her iki çeşitte de 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde tespit edilmiş olan köklenme oranlarından istatistiksel anlamda önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur. Köklenme oranı bakımından aynı istatistik grupta yer alan 4., 5. ve 6. haftalarda bu değer 'Viking' çeşidinde %94.0 ile %97.2 ve 'Nero' çeşidinde %95.2 ile %96 arasında değişmiştir (Çizelge 4.1, 4.4, Şekil 4.1, 4.7). Bu değerler, Coşkun'un (2024) aynı aronya çeşitlerinde uyguladığı 4 haftalık inkübasyon süresi ile elde ettiği %99.7 ve %99.3'lük bulguları ile uyumludur. Aslında aronya genotiplerinin ex vitro koşullarda bitki yetiştirme ortamları üzerinde geleneksel yöntemler ile köklenme oranları da bir hayli yüksektir (Litwinczuk 2013). Brand ve Cullina (1992) oksin uygulaması yapılmadan ex vitro koşullarda köklenme başarısını *A. arbutifolia*'da %96 ve *A. melanocarpa*'da %95, Borsai vd. (2021) de 'Nero' çeşidinde %94 olarak bildirmektedirler. Çalışmamızda köklenmiş mikro çeliklerde köklenme düzeyinin (1-4) ise inkübasyon süresinin ilerlemesi ile birlikte arttığı görülmüştür (Çizelge 4.1, 4.4, Şekil 4.1, 4.7). Bu artış, 'Viking' çeşidinde 2.0±0.1'den (2 hafta), 3.4±0.1'e (6 hafta), 'Nero' çeşidinde ise 1.9±0.1'den (2 hafta), 3.3±0.1 (6 hafta) düzeyine kademeli olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.1, 4.2, 4.7, 4.8). Bu bulgu, aronyanın yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirilmesinde inkübasyon süresinin köklenme performansı üzerindeki kritik etkisini göstermektedir. Bunun yanı sıra 2.0 (orta) düzeyindeki

köklenmenin, serada bitkilerde vejetasyon sonunda yapılan incelemelerde kök gelişimi için yeterli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3, 4.6, Şekil 4.6 ve 4.12). Köklenme düzeyi yüzen perlit yatağında 4 haftalık inkübasyon süresinde her iki çeşitte de  $3.0 \pm 0.1$  olarak kaydedilmiştir. Coşkun (2024), aynı sürede bu değeri her iki çeşitte 3.4 olarak bildirmiştir. Bulgularımız, araştıracının köklenme düzeyi sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Aronyada in vitro koşullarda köklendirilmiş bitkiciklerde aklimatizasyon aşamasının, ortam neminin kademeli olarak azaltılmasıyla 2 hafta ile 2 ay arasında değişen sürelerde ve genellikle de 4 haftada gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Kwak vd. 2015, Sivanesan vd. 2016, Brand 2017, Isac ve Plopa 2022, Nas vd. 2025). Bu çalışmalarda bitkiciklerin canlılık oranlarına göre aklimatizasyon başarısı %50.7 ile %100 arasında belirtilmektedir (Brand ve Cullina 1992, Litwinczuk 2013, Kwak vd. 2015, Shuang vd. 2018, Petrova vd. 2019, Borsai vd. 2021, Isac ve Plopa 2022, Rusea vd. 2022, Nas vd. 2025). Aronyada mikro çeliklerin 4 haftalık ex vitro köklendirilmesi ve aynı zamanda dış koşullara alıştırılmasında başarı oranları geleneksel yöntemlerde %94-100 (Brand ve Cullina 1992, Litwinczuk 2013, Borsai vd. 2021), yüzen perlit yatağında ise %99.7 ve %99.3 (Coşkun 2024) arasında bildirilmektedir. Çalışmamızda ‘Viking’ ve ‘Nero’ çeşitlerinde mikro çeliklere yüzen perlit yatağında uygulanan farklı inkübasyon sürelerinin sonunda ex vitro köklendirilmiş bitkilerin tamamının canlı kaldığı gözlenmiştir. Gözlemlerimiz, bu çeşitler için 4 haftalık köklendirme sürecinin sonunda Coşkun (2024) tarafından bildirilmiş olan ortalama %97.7 ve %94.6’lık canlılık oranları ile uyumludur. Çalışmamızda bitkilerin yüzen perlit yatağından sera koşullarına taşınmasından 4 hafta sonra yapılan incelemelerde ise inkübasyon süreleri arasında istatistiksel bir farklılık olmadan canlılık oranları ‘Viking’ çeşidinde ortalama %98.6 ve ‘Nero’ çeşidinde ortalama %96.7 olarak kaydedilmiştir (Çizelge 4.2, 4.5). Vejetasyon sonunda serada yapılan gözlemlerde de ortalama canlılık oranlarının aynı kaldığı ve bu bakımdan inkübasyon süreleri arasındaki farklılıkların önemli bulunmadığı görülmüştür. Bu aşamada bitkilerin diğer morfolojik özellikleri bakımından inkübasyon süreleri arasındaki farklılıklar önemli olmuştur. Vejetasyon sonunda her iki çeşitte de tüm özelliklerde en yüksek değerler serada vejetasyon sonuna kadar 14 hafta gelişme imkânı bulmasından dolayı (Çizelge 3.2), yüzen perlit yatağında 2 hafta inkübe edilen bitkilerde kaydedilmiştir (Çizelge 4.3, 4.6,

Şekil 4.6, 4.12). İnkübasyon sürelerine göre (2, 3, 4, 5 ve 6 hafta) serada 14, 13, 12, 11 ve 10 hafta gelişen ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya bitkilerinde bitki boyu değerleri sırasıyla 11 cm, 7-8 cm, 6.1-5.7 cm, 4.4-4.2 cm ve 3.1-3.2 cm’dir. Çalışmamızda serada 14, 13 ve 12 haftalık gelişme sonrasında (2, 3 ve 4 haftalık inkübasyon süreleri) saptanan bitki boyu değerleri, Litwinczuk’un (2002) ‘Nero’ ve ‘Galicjanka’ aronya çeşitlerinde 18 hafta sonra belirledikleri 5.9 cm’lik bitki boyu değerinden daha yüksektir.

Bitkilerin mikroçoğaltımda in vitro koşullardaki morfolojik, fizyolojik ve anatomik anormallikler aklimatizasyon aşamasında büyük kayıplara neden olabilmektedir. Bitkilerin, çevrenin düşük nispi nemine ve yüksek ışıklanma durumuna uyum sağladığı ve fotosentez verimliliğini artırdığı dış koşullara alışma sürecindeki anatomik ve fizyolojik değişimlerin belirlenmesi önemlidir (Rohr vd. 2003, Hazarika 2006, Pospisilova vd. 2007, Indravathi 2024, Grzelak vd. 2024). Bu bağlamda yaprak dokusunun yapısal özellikleri bitkilerin aklimatizasyon yeteneğini değerlendirmek için temel anatomik göstergelerdendir (Jagiello-Kubiec vd. 2021). Mikro çoğaltılmış bitki türlerinde anatomik özelliklerinin incelenmesi, aklimatizasyon aşamasında hayatta kalacak bitkileri bir dereceye kadar tahmin etme olanağı sağlamaktadır (Apostolo ve Llorente 2000). Mikroçoğaltımda bitkilerde ototrofik büyümeyi sağlayan fotosentetik parametrelerden olan klorofil a ve b miktarındaki değişimlerin incelenmesi de önemli faktörler arasındadır (Pospisilova vd. 2007). Klorofil birikimi, ışık enerjisinin emilimini ve bitkinin büyüme performansını doğrudan etkilemektedir (Jagiello-Kubiec vd. 2021). Çalışmamızda, ‘Viking’ ve ‘Nero’ aronya çeşitlerinde yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmiş mikro çeliklerin bu aşamada (Çizelge 4.1, 4.4) ve ayrıca sera koşullarında 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda (Çizelge 4.2, 4.5) yaprak anatomisi ve klorofil kapsamlarındaki değişimler belirlenmiştir.

Yaprak mezofil kalınlığındaki değişimler: Mezofil, yaprağın alt ve üst epidermisi arasında yer alan, parankimatik hücrelerden oluşmuş, kloroplast kapsamı ile fotosentezde aktif rol alan, palizat parankiması ve sünger parankimasından oluşan yaprak dokusudur. Mezofil kalınlığının artması yaprağın fiziksel olarak dayanıklılığını artırmakta, kuraklık ve diğer stres durumlarında bitkinin bu koşullara uyumuna katkıda bulunmaktadır (Akman ve Güney 2011, Yavas vd. 2024, Liu vd. 2024). Çalışmamızda ‘Viking’ ve

‘Nero’ aronya çeşitlerinde mikro çeliklerin ex vitro koşullarda yüzen perlit yatağında farklı sürelerde inkübe edilerek köklendirilmesi ve bu bitkilerin sera koşullarında 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda yaprak mezofil kalınlıkları belirlenmiştir (Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Mikro çeliklerde bu dokuda kalınlığın, yüzen perlit yatağındaki inkübasyon süresinin ilerlemesi ile birlikte önemli düzeyde arttığı ve özellikle 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde, 2 ve 3 haftalara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1, 4.4). Tüm inkübasyon sürelerinde köklenmiş mikro çeliklerin yaprak mezofil kalınlık değerleri, in vitro kültürlerden alınan mikro sürgünlerin değerinden daha yüksek tespit edilmiştir (Çizelge 4.1, 4.4, Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Barry-Etienne vd. (2002), kahvede (*C. arabica*) in vitro bitkilerde sünger ve palizat parankimasının ex vitro bitkilere göre daha az geliştiğini belirlemişlerdir. Dragolova vd. (2015) ise *Nepeta nuda* ssp. *nuda* türünde in vitro bitkilerin yaprak ayasının, bahçedeki bitkilere kıyasla yaklaşık iki kat daha ince olduğunu ve asimilasyon parankiması farklı organizasyona sahip yapraklar oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Shekhawat vd. (2021) de Hint sandal ağacının (*S. album* L.) mikroçoğaltımında 4 haftalık pişkinleşme sürecinde bitkilerin yapraklarında palizat ve sünger parankima hücrelerinin farklılaşması ile klorofilli mezofil hücreleri meydana geldiğini bildirmişlerdir. Mezofil kalınlığı ile ilgili bulgularımız, bu araştırmacıların bulguları ile uyumludur. Bu çalışmanın ve diğer birçok çalışmanın bulguları, aklimatizasyonun bir göstergesi olarak in vitrodan ayrıldıktan sonra geçen süreye göre bitkilerde mezofil dokusunda kalınlaşmanın ve dış koşullardaki bitkilere benzer farklılaşmaların meydana geldiği yönündedir. Bununla birlikte bu bulguların aksine Rodrigues vd. (2014), *J. curcas* L. türünde in vitro ve sera koşullarında gelişen bitkilerde mezofil kalınlığının farklılık göstermediğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda ex vitro köklendirmenin ardından yüzen perlit yatağından sera koşullarına taşındıktan 4 hafta sonra bitkilerde yapılan ölçümlerde her iki aronya çeşidinde de mezofil hücre kalınlığı üzerine köklendirme aşamasındaki inkübasyon sürelerinin etkisinin olmadığı görülmüştür. Aslında yüzen perlit yatağında 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinin sonunda köklendirilmiş mikro çeliklerde belirlenmiş olan mezofil kalınlık değerleri ile seradaki bitkilerin değerleri oldukça yakındır. Her ne kadar serada 4 hafta gelişen bitkilerde mezofil kalınlık değerleri yükselmiş ise de hâlâ bahçe koşullarındaki ana bitkinin (in vivo) yaprak mezofil kalınlığı değerinin yaklaşık yarısı kadardır (Çizelge 4.2, 4.5, Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Bulgularımız, Chirinea vd.’nin (2012), incirde in vitro

bitkilerde ve serada aklimatizasyon için 20 ve 40 gün tutulmuş bitkilerde yaprakların mezofil ve yaprak kalınlıklarının genel olarak bahçe koşullarındaki bitkilerden daha düşük bulunduğu yönündeki bulgusu ile uyumludur. Noe ve Bonini (1996), 'Bluetta' maviyemiş çeşidinde (*V. corymbosum*) iklim odasında ya da serada in vitro veya ex vitro olmasına bakılmaksızın bitkilerin yaprak gelişimini ışık yoğunluğunun (şiddeti) ve spektrumunun etkilediğini belirtmektedirler. Araştırmacılar, soğuk beyaz ışık yayan lambalar altında gelişen yaprakların, doğal ışık altında gelişenlere kıyasla daha ince palizat ve sünger mezofiline sahip olduğunu, doğal ışık altında oluşan yaprakların yaprak, palizat ve sünger mezofil kalınlıklarında ise önemli artışlar meydana geldiğini belirtmişlerdir. Bitkilerin palizat hücrelerinin tipik olarak dikdörtgen şekilli, düzenli ve sürekli bir dağılım gösterdiğini, sünger parankimasının 3-4 sıra hücre tabakasından oluştuğunu ve boş alanların sadece stomaların civarında bulunduğunu gözlemlemişlerdir. Bu bulgular ile uyumlu olarak çalışmamızda da aronya çeşitlerinde in vitro kültürlerden alınan mikro sürgün yapraklarının mezofil dokusunda palizat ve sünger parankimalarının yuvarlak ve küçük bir sıra hücre tabakasından oluştuğu ve hücreler arası boşlukların büyük olduğu gözlenmiştir. Yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklenmiş mikro çeliklerde ise mezofil dokusu değişime uğramış, palizat hücreleri uzamaya ve yuvarlak şekilden silindir şekle dönüşmeye başlamıştır (Şekil 4.4, 4.10).

Kütikül kalınlığındaki değişimler: Bitki ile çevresi arasındaki arayüz olan kütikül, susuzluk, ultraviyole ışınlar, şiddetli iklim olayları gibi birçok abiyotik stres unsuru yanında hastalık ve zararlı etmenlere karşı da bitkiyi koruyucu çok sayıda önemli role sahip mumsu bir tabakadır (Dominguez vd. 2017). İn vitro koşullardaki yapraklar, tüpün içerisindeki yüksek nem kapsamı ve düşük ışık yoğunluğu nedeniyle zayıf ve yetersiz bir kütikül tabakasına sahiptir. İn vitro koşullarda yaprak yüzey dokusu zarımsı yapıdayken in vivo yaprakların yüzeyinde mumun varlığı ile kalın bir kütikül tabakası bulunmakta ve yaprağın yüzeyi sert bir yapı kazanmaktadır (Rozali vd. 2014). İn vitro bitkiciklerde yaprakların yüzeyindeki epikütikular mumun kristal yapısı ve kalitesi, sera veya bahçede yetiştirilen bitkilerinkinden önemli ölçüde farklılık göstermektedir. Epikütikular mum tabakasının olmaması aşırı terlemeye yol açmakta ve bu ise bitkilerde aklimatizasyon sürecini engelleyebilmektedir (Rohr vd. 2003). Çalışmamızda her iki aronya çeşidinde de yapraklarda kütikül kalınlığının ex vitro köklendirilmiş ve eş zamanlı olarak dış koşullara

alıştırılmış bitkilerin yapraklarında, in vitro kültürlerden alınan mikro sürgün yapraklarına göre çok daha fazla olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1, 4.4, Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Bu bulgumuzu destekler nitelikte Apostolo ve Llorente (2000) de jojobanın in vitro koşullardaki yapraklarının mumsuz çok ince bir kütikül tabakası ile birlikte bir epidermise sahip olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda köklendirme aşamasında yüzen perlit yatağında 2 haftalık inkübasyon süresinde çeşitlere göre bu farklılık 1.6-1.8 kat iken, 6 haftalık inkübasyon süresinde 3.9-4.0 kattır (Çizelge 4.1, 4.4). Bulgularımız, Pixy (*P. insititia*) erik anacının 2 hafta aklimatize edilmiş bitkilerinin epikütikular mum içeriğinin in vitro bitkilerden daha fazla olduğunu bildiren Fuchigami vd.'nin (1981) ve Hint sandal ağacının (*S. album* L.) in vitro bitkilerinin yapraklarında az gelişmiş kütikül tabakasına işaret eden Shekhawat vd.'nin (2021) bulguları ile uyumludur. Batagin-Piotto vd. (2012) bu durumu, kültür kaplarında nemin sürekli yüksek kaldığı çevre koşulları ile ilişkilendirmişlerdir. Çalışmamızda ex vitro köklendirme aşamasında 2 ve 3 haftadan sonra inkübasyon süresindeki ilerleme ile birlikte bitkiler yüzen perlit yatağında daha fazla kalarak aklimatize olurken kütikül kalınlık değerleri de önemli düzeyde artmıştır (Çizelge 4.1, 4.4, Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Ex vitro köklendirmenin ardından sera koşullarında 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda 'Viking' çeşidinde 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde köklendirilmiş bitkilerde kütikül kalınlığı, 2 ve 3 haftalara göre yine önemli düzeyde daha yüksek saptanmıştır (Çizelge 4.2, Şekil 4.3, 4.4). Sera koşullarındaki bitkilerde kütikül kalınlık değerleri, köklenme aşamasındaki tüm inkübasyon sürelerine göre artış göstermiş ise de en fazla yükseliş 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinde belirlenmiştir (Çizelge 4.2). 'Viking' çeşidinde en fazla kütikül kalınlığına sahip olan seradaki bitkiler (5 ve 6 haftalar), in vivo bitkiler ile karşılaştırıldığında kütikül kalınlığı yine de 1.3 kat daha düşüktür. 'Nero' çeşidinde köklenme aşamasındaki farklı inkübasyon sürelerinin seradaki bitkilerin kütikül kalınlığı üzerine önemli bir etkisi olmamıştır (Çizelge 4.5, Şekil 4.9, 4.10). Ex vitro köklenme aşamasında 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinin diğerlerine göre daha düşük olan bitki kütikül kalınlık değerleri, serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda 2.5 ile 1.5 kat artış göstermiştir (Çizelge 4.5). Her iki aronya çeşidinde de serada 4 hafta geliştirilen bitkilerin yapraklarında kütikül tabakasının kalınlaştığı yönündeki bulgumuz, Shekhawat vd.'nin (2021) Hint sandal ağacının (*S. album* L.) serada 4 haftalık pişkinleşme sürecini tamamlamış bitkilerinde kütikül kalınlaşmasının meydana geldiğini belirten bulgusu ile

uyumludur. Çalışmamızda ‘Nero’ çeşidinde de seradaki bitkilerin ortalama kütikül kalınlığı, in vivo bitkilerin kütikül kalınlığından 1.6 kat daha düşüktür (Çizelge 4.5). Her iki aronya çeşidinde de benzer olan bu bulgumuz, Batagin-Piotto vd.’nin (2012), *B. gasipaes* bitkisinde tohumdan yetişmiş bitkilerin yapraklarında, in vitro ve ex vitro bitkilerden daha fazla epikütikular mumun bulunduğunu bildirdikleri bulguları ile uyumludur.

Epidermis hücrelerin özellikleri: Epidermis farklılaşması ve devamlılığı bitkinin hayatta kalması için mutlak olup bitki gelişimi, sürgün büyümesi ve bitki savunmasındaki belirli temel süreçler için hayati öneme sahiptir (Javelle vd. 2010). Çalışmamızda aronya mikro çeliklerinin yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon sürelerinde ex vitro köklendirilmesinin ardından yapılan incelemelerde epidermis hücre sayısı ve boyutlarının ‘Viking’ çeşidinde tüm inkübasyon sürelerinde istatistiksel anlamda benzer olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1, Şekil 4.3, 4.4). ‘Nero’ çeşidinde ise bu özelliklerin inkübasyon sürelerine göre farklılık gösterdiği ve özellikle 2 haftalık inkübasyon süresinde epidermis hücre sayısının bir hayli yüksek olduğu belirlenmiştir. Epidermis hücre sayısının inkübasyon süresinin ilerlemesi ile birlikte önemle düzeyde azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.4, Şekil 4.9, 4.10). Genel olarak epidermis hücre sayısı, in vitro koşullardaki yapraklara göre yüzen perlit yatağında köklenme aşamasında ex vitro koşullara uyum sağlamış bitkilerde daha düşüktür. Yüzen perlit yatağında özellikle 4, 5 ve 6 hafta inkübe edilmiş bitkilerde bu değer, dış koşullara daha iyi bir uyumun göstergesi olarak düşük bulunması dikkat çekicidir (Çizelge 4.1, 4.4, Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Epidermis hücrelerinin boyut ve şekilleri de in vitro yapraklara göre ex vitro koşullara uyum sağlayan bitkilerde değişime uğramakta, özellikle uzunlukları artarak dikdörtgen şekle doğru hücreler farklılaşmaktadır. Yüzen perlit yatağında 3, 4, 5 ve 6 hafta inkübe edilmiş mikro çeliklerde bu farklılaşma açık bir şekilde görülmektedir (Çizelge 4.1, 4.4, Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Chen vd. (2006) de *B. kaoi* türünde ex vitro bitkilerde in vitro bitkilere göre epidermal hücre yoğunluğunun azaldığını, genişliğinin ve uzunluğunun ise arttığını bildirmişlerdir. Sharma vd. (2017), *B. racemosa* bitki türünde in vitro kültürlerden seraya transfer edildikten sonra in vitro bitkiciklerin yaprak morfolojisi ve anatomisinde, özellikle epidermal karakterlerin önemli değişikliklere uğradığı bildirilmişlerdir. Hiti-Bandaralage vd. (2020) ise avokado çeşitlerinde in vitro

bitkileri kültür kabından çıkartma sırasında, aklimatizasyonun 5. gününde ve 1. ayında yapraklarda birim alanda daha fazla ve daha küçük epidermal hücrelerin varlığını düşük aklimatizasyon başarısıyla ilişkilendirmişlerdir. Bulgularımız, bu araştırmacıların bulguları ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda epidermis hücre sayısı ve hücrelerin boyutları sera koşullarında 4 hafta gelişmiş bitkilerde, köklenme aşamasındaki inkübasyon sürelerine bağlı olmadan tüm haftalarda benzer bulunmuştur (Çizelge 4.2, 4.5, Şekil 4.3, 4.4, 4.9, 4.10). Özellikle ex vitro köklenme aşamasındaki 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde belirlenen epidermis hücre verileri, serada 4 hafta geliştirme aşamasında da benzer bir seyir izlemiştir. Bu durum, yüzen perlit yatağında bu haftalarda mikro çeliklerde ex vitro köklendirme ile eş zamanlı olarak dış koşullara alıştırmanın sağlıklı olarak gerçekleştiğini göstermektedir. Bununla birlikte in vivo bitkiler ile karşılaştırıldığında aklimatize olmuş bitkilerde epidermis hücre sayısı yaklaşık 1.5 kat daha fazla, hücre uzunluğu ise aynı oranda daha düşüktür (Çizelge 4.2 ve 4.5). Bu bulgumuzun aksine Dragolova vd. (2015), *N. nuda* ssp. *nuda* türünde in vitro ve serada ex vitro bitkiler ile bahçe koşullarındaki bitkilerin yapraklarını anatomik olarak inceledikleri çalışmalarında ex vitro bitkiler ile bahçe koşullarındaki bitkiler arasında yapraklardaki epidermal dokuların yapısal organizasyonunda hiçbir farklılığın bulunmadığı belirlemişlerdir.

Stoma yoğunluğu ve özellikleri: Stomalar, bitkilerde gaz değişiminin merkezinde yer alan yaprak yüzeyindeki küçük gözeneklerdir. Stoma sayısı, boyutu ve açıklığı, bitki terlemesi ve fotosentezin temel belirleyicileridir ve bu özellikler bitki büyümesini ve verimliliğini doğrudan etkileyebilmektedir (Pathoumthong vd. 2023). In vitro bitkiler, kültür kabındaki yüksek nem, düşük ışık yoğunluğu ve hetero veya miksotrofik beslenme nedeniyle çok hassastır (Hazarika 2006). İn vitro koşullarda yapraklardaki stomalar sık ve yüksek yoğunluktadır, sürekli açıktır ve işlevsel değildir, aklimatizasyon sürecinde ise stomaların sayısı azalmakta, açılıp kapanmakta ve işlevsel hale gelmektedir (Rohr vd. 2003, Chirinea vd. 2012, Sharma vd. 2017, Hiti-Bandaralage vd. 2020, Wang vd. 2020). Çalışmamızda da in vitro yapraklarda stoma yoğunluğu, ex vitro köklenmiş mikro çeliklerin ve sera koşullarında 4 hafta gelişmiş bitkilerin yapraklarındaki stoma yoğunluğundan en az 1.5 kat daha fazladır (Çizelge 4.1, 4.2, 4.4, 4.5, Şekil 4.3, 4.5, 4.9, 4.11). Belirtildiği üzere aronya çeşitlerinde dış koşullara alışmış bitkilerin yapraklarında, in vitro yapraklara göre

stoma sayısında belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Bu düşüş, in vitro koşullara göre ex vitro koşullardaki daha düşük nispi nem ve daha yüksek ışık yoğunluğunun bitkilerin yapraklarında stoma yapısında kademeli değişiklikler meydana getirmesinden kaynaklanmaktadır (Rohr vd. 2003). Elde ettiğimiz sonuçlar, Noe ve Bonini (1996), Khan vd. (1999), Barry-Etienne vd. (2002), Chen vd. (2006), Chirinea vd. (2012), Sharma vd. (2017) ve Wang vd.'nin (2020) bulgularıyla uyumludur. Bu araştırmacılar da stoma yoğunluğunu in vitro bitkilerin yapraklarında, ex vitro bitkilerin yapraklarından daha yüksek bulmuşlardır. Bununla birlikte bizim ve birçok araştırmacının bulgularının aksine Batagin-Piotto vd. (2012), bir palmye türü olan *B. gasipaes*'de in vitro, ex vitro ve tohumdan elde edilmiş bitkilerin yapraklarında stoma yoğunluğunu sırasıyla 55.5, 57.8 ve 58 adet/mm<sup>2</sup> olarak birbirine yakın olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, stoma ile ilgili verileri de kapsayan anatomik özelliklerin in vitro bitkilerin dış koşullara alıştırılmasında karşılaşılan zorlukları açıklayamayacağı sonucuna ulaşmışlardır. Çalışmamızda yüzen perlit yatağında farklı inkübasyon süreleri 'Viking' ve 'Nero' çeşitlerinde bitkilerin stoma boyutları üzerine önemli bir etkide bulunmamıştır. Aronya çeşitlerinde in vitro yapraklarda stoma genişliği ve uzunluğunun birbirine yakın olması ile stomalarda daha yuvarlak bir yapı gözlenirken, dış koşullara alışmış bitkilerde özellikle uzunluğun artması sonucunda stomalar yuvarlaktan eliptik şekle doğru bir değişim sergilemiştir (Şekil 4.5, 4.11). Bulgularımız, in vitro yapraklarda stomaları daha yuvarlak, dış koşullara uyum sağlamış bitkilerde ise elips şeklinde gözlemleyen Marin vd. (1988), Noe ve Bonini (1996) ve Barry-Etienne vd.'nin (2002) bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda stoma indeksi, in vitro yapraklarda, yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirilmiş ve eş zamanlı dış koşullara alıştırılmış bitkilerin ve sera koşullarında 4 hafta geliştirilmiş bitkilerin yapraklarında genel olarak benzer değerlerde kaydedilmiştir (Çizelge 4.1, 4.2, 4.4, 4.5). Khan vd. (1999) ise saplı meşe (*Q. robur*) türünde geleneksel yöntemle aklimatizasyon tekniğini kullandıkları çalışmalarında stoma indeksinin in vitro, ex vitro koşullara alışmış ve serada gelişmiş bitkilerde birbirinden farklı olduğunu ve en düşük değerin serada geliştirilmiş bitkilerde belirlendiğini bildirmiştir. Aksine Rodrigues vd. (2014) ise *J. curcas* türünde in vitro bitkilere (4.1) göre sera bitkilerinin yapraklarında stoma indeksinin (12.5) daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Çınar vd. (2016), su stresi altında yerfıstığı bitkilerinde stoma yoğunluğu ve epidermal hücre sayısındaki artış gibi

stoma indeksi değerlerinin de arttığını bildirmişlerdir. Stoma indeksi ile ilgili bulgularımız araştırmacıların bulguları ile örtüşmemektedir.

Klorofil miktarı: Işığın toplanmasında önemli rol oynayan bir pigment olan klorofil, kloroplast biyogenesizi ve fotosentez için hayati öneme sahiptir (Zhang vd 2018). Çalışmamızda aronya çeşitlerinin yüzen perlit yatağında ex vitro köklendirmiş mikro çeliklerinde yaprak klorofil a ve b ile toplam klorofil miktarları bakımından 2, 3, 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinin etkisi önemli olmamıştır. Ayrıca bu aşamada belirlenen değerler in vitro yapraklarda ölçülmüş değerlere yakın bulunmuştur (Çizelge 4.1, 4.4). Bu bulgumuzun aksine Faisal ve Anis (2009) ve Okello vd. (2021), in vitro bitkilerin kontrollü koşullarda ex vitro koşullara alıştırılması sürecinde klorofil içeriğinde artış gözlemişlerdir. Bununla birlikte çalışmamızda serada 4 haftalık gelişme periyodunun sonunda bitkilerde klorofil miktarı, ex vitro köklendirme aşamasına göre artış göstermiştir. ‘Viking’ çeşidinde tüm inkübasyon sürelerinde bu artış birbirine yakinken, ‘Nero’ çeşidinde özellikle 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde diğerlerine göre önemli miktarda daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.2, 4.5). Bulgularımız, serada gelişen bitkilerde klorofil miktarının yüksek olduğunu bildiren Dragolova vd. (2015) ve Shekhawat vd.’nin (2021) bulguları ile uyumludur. Daha yüksek klorofil içeren bitkiler, daha yüksek fotosentetik kabiliyet ve karbonhidrat rezervi sebebiyle aklimatizasyon sırasında daha yüksek canlılık oranları ve daha iyi büyüme ve gelişme gösterebilmektedir (Christensen vd. 2008). Çalışmamızda her iki aronya çeşidinde de sera koşullarında gelişen bitkilerde genel olarak klorofil miktarları, in vivo bitkilere ait değerlerden daha yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.2, 4.5). Bu bulgumuzu destekler şekilde Dragolova vd. (2015) de *N. nuda* ssp. *nuda* türünde bahçe koşullarındaki bitkilerin yapraklarındaki klorofil a ve b miktarını, seradaki bitkilerden daha düşük belirlemişlerdir.

Sonuç olarak, bu çalışmada vejetasyon başında sürgün ucu kültürü yöntemi ile in vitro koşulda kültüre alınan ‘Viking’ ve ‘Nero’ çeşitlerinde 2. ve 3. alt kültürlerden sağlanan mikro sürgünlerden hazırlanan mikro çelikler ex vitro koşullarda farklı inkübasyon sürelerinde yüzen perlit yatağında köklendirilmiş ve eş zamanlı olarak dış koşullara alıştırılmıştır. Daha sonra vejetasyon sonuna kadar sera koşullarında belirli bir aşamaya kadar geliştirilebilmiştir. Çalışmada yüzen perlit yatağında ex vitro köklenme ve eş

zamanlı olarak dış koşullara alışma üzerine etkilerinin araştırıldığı 2, 3, 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon süreleri arasından özellikle 4, 5 ve 6 haftalık inkübasyon sürelerinde daha yüksek başarı sağlanmıştır. Değerlendirmeler, ex vitro köklendirmede uygulanan inkübasyon sürelerinin sonunda ve sera koşullarında 4 haftalık gelişme periyodunun ardından morfolojik, anatomik ve fizyolojik gözlem, ölçüm ve analiz sonuçlarına dayandırılmıştır. Bulgularımız, mikroçoğaltılmış bitkilerin aklimatizasyon gözlemlerinin sadece ex vitro köklendirme süreçlerinin sonunda canlılık oranlarına göre değil, bitkilerin sera koşullarında en az 4 hafta geliştirildikten sonra yapılmasının daha güvenilir olduğunu göstermiştir. Yaprak mezofil ve kütikül kalınlıkları, epidermis hücre ve stoma özellikleri, klorofil kapsamı analiz sonuçlarımıza göre yüzen perlit yatağındaki inkübasyon süresinin artması ile birlikte bitkilerde hücre ve doku değişimleri olumlu yönde gelişmiştir. Ex vitro köklendirme aşamasında 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinde köklendirilmiş bitkiler, 6 haftalık olanlara göre seraya daha erken çıkartılabilmiş ve vejetasyon sonuna kadar serada daha uzun süre gelişebilmiştir. Bununla birlikte vejetasyon tamamlandığı için bu süre en fazla 3.5 ay ile sınırlı kalmıştır (Çizelge 3.2). Bitki boyu, gövde çapı, sürgün ve kök yaş ve kuru ağırlıkları, 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinin uygulandığı bitkilerde 4, 5 ve 6 haftalara göre daha yüksek değerlerde kaydedilmiş ise de değerler büyüme ve gelişme süresinin kısıtlı olmasından dolayı yine de bir hayli düşük kalmıştır. Ex vitro köklenme oranları, 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinde diğer inkübasyon sürelerine göre %11-15 daha düşük bulunmuş, ex vitro köklendirme ve serada 4 haftalık gelişme periyodundan sonra yapılan anatomik incelemelerde olumsuzluklar kaydedilmiştir. Bulgularımız, aronya mikro çeliklerinin ex vitro köklendirme ve eş zamanlı dış koşullara alıştırılması için 2 ve 3 haftalık inkübasyon sürelerinin yetersiz kaldığını göstermiştir.

## KAYNAKLAR

- Akman, Y. ve Güney, K. 2011. Bitki Biyolojisi Botanik. Palme Yayınları: 345, 775 s. Ankara.
- Algan, G. 1981. Bitkisel Dokular İçin Mikroteknik. Fırat Üniversitesi Yayınları, 89 s. Elazığ.
- Almokar, H.M.M. and Pırlak, L. 2018. Propagation of aronia (*Aronia melanocarpa*) with tissue culture. Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences, 32(3), 549-558. DOI:10.15316/SJAFS.2018.136.
- Anonim 2022. Aronya Fizibilite Raporu ve Yatırımcı Rehberi. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonymous. 2025. Web Sitesi: <https://www.sigmaaldrich.com/TR/en/technical-documents/technical-article/cell-culture-and-cell-culture-analysis/plant-tissue-culture/murashige-skoog>, Erişim Tarihi: 30.05.2025.
- Apostolo, N.M. and Llorente, B.E. 2000. Anatomy of normal and hyperhydric leaves and shoots of in vitro grown *Simmondsia chinensis* (Link) Schn. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, 36, 243-249. DOI: 10.1007/s11627-000-0045-z.
- Barry-Etienne, D., Bertrand, B., Vasquez, N. and Etienne, H. 2002. Comparison of somatic embryogenesis-derived coffee plantlets regenerated in vitro and ex vitro: morphological, mineral and water characteristics. Annals of Botany, 90(1), 77-85. DOI: 10.1093/aob/mcf149.
- Batagin-Piotto, K.D., Almeida, C.V.D., Piotto, F.A. and Almeida, M.D. 2012. Anatomical analysis of peach palm (*Bactris gasipaes*) leaves cultivated in vitro, ex vitro and in vivo. Brazilian Journal of Botany, 35(1), 71-78. DOI: 10.1590/S0100-84042012000100008.
- Bayhan, N. and Yücesan, B. 2024. The impact of sucrose and 6-benzylaminopurine on shoot propagation and vitrification in *Aronia melanocarpa* (black chokeberry). Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 156(2), 55. DOI: 10.1007/s11240-023-02652-x.
- Borowska, S. and Brzoska, M.M. 2016. Chokeberries (*Aronia melanocarpa*) and their products as a possible means for the prevention and treatment of noncommunicable diseases and unfavorable health effects due to exposure to xenobiotics. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 15(6), 982-1017. DOI: 10.1111/1541-4337.12221.
- Borsai, O., Clapa, D., Fira, A., Harta, M., Dumitraş, A., Pop, R. and Pamfil, D. 2017. The effect of gelling agent on the micropropagation of common lilac (*Syringa vulgaris* L.). Agricultura, 103(3-4), 63-71. DOI:10.15835/agrisp.v103i3-4.12831.

- Borsai, O., Clapa, D., Fira, A., Hârța, M., Szabo, K., Dumitraș, A.F. and Pamfil, D. 2021. In vitro propagation of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. *Acta Horticulturae*, 1308, 213-222. DOI:10.17660/ActaHortic.2021.1308.30.
- Boyacı, S., Polat, Ş. and Kafkas, N.E. 2023. Determination of the phytochemical contents and pomological properties of chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) fruit in different harvesting periods. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 47(6), 842-850. DOI: 10.55730/1300-011X.3132.
- Brand, M.H. and Cullina, W.G. 1992. Micropropagation of red and black chokeberry (*Aronia* spp.). *HortScience*, (27)1, 81. DOI:10.21273/HORTSCI.27.1.81.
- Brand, M.H. 2010. *Aronia*: native shrubs with untapped potential. *Arnoldia*, 67(3), 14-25.
- Brand, M.H. 2017. Propagation of *Aronia* by seed, cuttings, tissue culture and grafting, *Acta Hortic.*, 1174, 197-204. DOI:10.17660/ActaHortic.2017.1174.41.
- Brand, M.H., Obae, S.G., Mahoney, J.D. and Connolly, B.A. 2022. Ploidy, genetic diversity and speciation of the genus *Aronia*. *Scientia Horticulturae*, 291, 110604. DOI:10.1016/j.scienta.2021.110604.
- Brandova, P., Sedlak, J. and Papratein, F. 2019. Micropropagation of rowan and chokeberry. *Vědecké Práce Ovocnářské*, 26, 29-36.
- Brewer, C.A. 1992. Responses by stomata on leaves to microenvironmental conditions, In: *Tested Studies For Laboratory Teaching*. Goldman, C.A. (ed), *Proceedings of the 13th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE)*, 67-75, Wyoming, USA.
- Chen, U.C., Hsia, C.N., Yeh, M.S., Agrawal, D.C. and Tsay, H.S. 2006. In vitro micropropagation and ex vitro acclimation of *Bupleurum kanoi*-an endangered medicinal plant native to Taiwan. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 42, 128-133. DOI: 10.1079/IVP2005744
- Chirinea, C., Pasqual, M., Araujo, A., Rodrigues, A. and Castro, E. 2012. Acclimatization and leaf anatomy of micropropagated fig plantlets. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34, 1180-1188. DOI: 10.1590/S0100-29452012000400027.
- Christensen, B., Sriskandarajah, S., Serek, M. and Müller, R. 2008. In vitro culture of *Hibiscus rosa-sinensis* L.: Influence of iron, calcium and BAP on establishment and multiplication. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 93(2), 151-161. DOI: 10.1007/s11240-008-9354-4.
- Clapa, D., Fira, A. and Joshee, N. 2013a. An efficient ex vitro rooting and acclimatization method for horticultural plants using float hydroculture. *HortScience*, 48(9), 1159-1167. DOI:10.21273/HORTSCI.48.9.1159

- Clapa, D., Fira, A., Simu, M. and Horga, V.C. 2013b. In vitro propagation of Gisela 5 cherry rootstock. Scientific Papers of the Research Institute for Fruit Growing, 29, 100-105.
- Clapa, D., Fira, A., Simu, M., Vasu, L.B. and Buduroi, D. 2014. Improved in vitro propagation of *Paulownia elongata*, *P. fortunei* and its interspecific hybrid *P. elongata* x *P. fortunei*. Bulletin UASVM Horticulture, 71(1), 6-14.
- Clapa, D., Fira, A. and Simu, M. 2015. The role of rooting substrate in blackberry ex vitro rooting and acclimatization stage. ProEnvironment, 8, 280-284.
- Clapa, D., Fira, A., Simu, M., Harta, M. and Sisea, C. 2016. The elaboration of a practical protocol for the micropropagation of several apple rootstock varieties. Bulletin UASVM Horticulture, 73(2), 226-228.
- Colon-Guasp, W., Nell, T.A., Kane, M.E., and Barrett, J.E. 1996. Effects of Abscissic Acid on ex vitro Acclimatization of *Aronia arbutifolia* (L.) Pers. Journal of the American Society for Horticultural Science, 121(1), 101-104. DOI: 10.21273/JASHS.121.1.101.
- Coşkun, S. 2024. Aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot) Mikro Çeliklerinin Yüzen Perlit Yatağında Ex Vitro Köklenmesi Üzerine IBA Dozlarının Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çelebi Toprak, F. and Alan, A. R. 2020. A successful micropropagation protocol for three aronia (*Aronia melanocarpa*) cultivars. Acta Hortic., 1285, 173-176. DOI:10.17660/ActaHortic.2020.1285.27.
- Çınar, N., Aydınşakir, K., Dinç, N., Büyüktaş, D. ve Işık, M. 2016. Yerfıstığında (*Arachis hypogaea* L.) su stresinin stoma özellikleri üzerine etkisi. Mediterranean Agricultural Sciences, 29(2), 79-84.
- Demirel, F., Uğur, R., Popescu, G.C., Demirel, S. and Popescu, M. 2023. Usage of machine learning algorithms for establishing an effective protocol for the in vitro micropropagation ability of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott). Horticulturae, 9(10), 1112. DOI:10.3390/horticulturae9101112.
- Dominguez, E., Heredia-Guerrero, J. and Heredia, A. 2017. The plant cuticle: old challenges, new perspectives. Journal of Experimental Botany, 68, 5251-5255. DOI: 10.1093/jxb/erx389.
- Dragolova, D., Stefanova, M., Dimitrova, M., Koleva, D., Zhiponova, M. and Kapchina-Toteva, V. 2015. In vitro cultivation and ex vitro adaptation of *Nepeta nuda* ssp. *nuda*—correlation between regeneration potential, leaf anatomy, and plastid pigments, Bulgarian Journal of Agricultural Science, 21(5), 1027-1032.

- Ekiert, H., Kubica, P. and Szopa, A. 2021. Successful cultivation and utilization of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott (black chokeberry), a species of North-American origin, in Poland and the biosynthetic potential of cells from in vitro cultures, In: Medicinal Plants. Sustainable Development and Biodiversity. Ekiert, H.M., Ramawat, K.G. and Arora, J. (eds), Springer, 69-111, Switzerland.
- Faisal, M. and Anis, M. 2009. Changes in photosynthetic activity, pigment composition, electrolyte leakage, lipid peroxidation, and antioxidant enzymes during ex vitro establishment of micropropagated *Rauvolfia tetraphylla* plantlets. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 99, 125-132. DOI: 10.1007/s11240-009-9584-0.
- Fira, A., Clapa, D. and Simu, M. 2014. Studies regarding the micropropagation of some blackberry cultivars. Bulletin UASVM Horticulture, 71(1), 29-37. DOI: 10.15835/buasvmcn-hort:9733.
- Fira, A., Simu, M., Vlaicu, B. and Clapa, D. 2015. Aspects regarding the in vitro propagation of 'Royal Gala' apple cultivar. Bulletin UASVM Horticulture, 72(2), 342-349. DOI: 10.15835/buasvmcn-hort:11531.
- Fira, A., Joshee, N., Cristea, V., Simu, M., Hârta, M., Pamfil, D. and Clapa, D. 2016. Optimization of micropropagation protocol for goji berry (*Lycium barbarum* L.). Bulletin UASVM Horticulture, 73(2), 141-150. DOI:10.15835/buasvmcn-hort:12177.
- Fuchigami, L.H., Cheng, T.Y., and Soeldner, A. 1981. Abaxial transpiration and water loss in aseptically cultured plum. Journal of the American Society for Horticultural Science, 106(4), 519-522. DOI: 10.21273/JASHS.106.4.519.
- Gautam, N., Gautam, N., Faroda, P., Ameta, K., Sharma, A. and Gupta, A.K. 2024. In vitro morphogenesis and micro-morpho-anatomical developments in *Moringa concanensis* Nimmo.: an endemic tree of Indian sub-continent. Current Plant Biology, 39, 100365. DOI: 10.1016/j.cpb.2024.100365.
- Grzelak, M., Pacholczak, A. and Nowakowska, K. 2024. Challenges and insights in the acclimatization step of micropropagated woody plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 159, 72. DOI: 10.1007/s11240-024-02923-1.
- Hazarika, B.N. 2006. Morpho-physiological disorders in vitro culture of plants. Scientia Horticulturae, 108(2), 105-120. DOI: 10.1016/j.scienta.2006.01.038.
- Hiti-Bandaralage, J.C.A., Hayward, A. and Mitter, N. 2020. Structural relation for acclimatization success for in vitro cultured avocado. Acta Hortic. 1285, 269-280. DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1285.39.
- Hornig, R. 2020. Wildfrüchte Apfelbeere, Scheinquitte, Fruchtrose – Anbau - Verarbeitung – Absatz. Rostock/Schwerin, 71, Deutschland.

- Imrak, B., Kafkas, E. and Tufan, M. 2021. The investigation of the impact of different plant growth regulators on micropropagation of aronia (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot). III. International Agricultural, Biological and Life Science Conference, AGBIOL 2021. 1-3 September 2021, Edirne, Turkey. Proceedings, 265-271.
- Indravathi, G. 2024. A review on efficient micropropagation by ex vitro rooting. International Journal of Multidisciplinary Research and Publications (IJMRAP), 7(3), 118-124.
- Isac, V. and Plopa, C. 2022. In vitro propagation technology for the black chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot). Fruit Growing Research, 38, 202-207. DOI: 10.33045/fgr.v38.2022.29.
- Jagiello-Kubiec, K., Nowakowska, K., Lukaszewska, A.J. and Pacholczak, A. 2021. Acclimation to ex vitro conditions in ninebark. Agronomy, 11(4), 612. DOI: 10.3390/agronomy11040612.
- Jakab, I., Vlaşin, L.D. and Chiorean, A.M. 2022. Behaviour of several chokeberry cultivars (*Aronia melanocarpa*) at the in vitro micropropagation. Romanian Journal of Horticulture, III, 31-36. DOI:10.51258/RJH.2022.04.
- Javelle, M., Vernoud, V., Rogowsky, P. M. and Ingram, G. C. 2010. Epidermis: the formation and functions of a fundamental plant tissue. New Phytologist, 189(1), 17-39. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03514.x.
- Jeppsson, N. 2000. The effect of cultivar and cracking on fruit quality in black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and hybrids between chokeberry and rowan (*Sorbus*). European Journal of Horticultural Science, 65(2), 93-98. DOI: 10.1079/ejhs.2000/6639.
- Jurendic, T. and Scetar, M. 2021. *Aronia melanocarpa* products and by-products for health and nutrition: a review. Antioxidants (Basel), 10(7), 1052. DOI: 10.3390/antiox10071052.
- Jurikova, T., Mlcek, J., Skrovankova, S., Sumczynski, D., Sochor, J., Hlavacova, I., Snopek, L. and Orsavova, J. 2017. Fruits of black chokeberry *Aronia melanocarpa* in the prevention of chronic diseases. Molecules, 22(6), 944. DOI:10.3390/molecules22060944.
- Khan, P.S.S.V., Evers, D. and Hausman, J.F. 1999. Stomatal characteristics and water relations of in vitro grown *Quercus robur* NL 100 in relation to acclimatization. Silvae Genetica, 48(2), 83-86.
- Knudson M, 2009. Plant Guide. Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Ell. USDA-Nat. Resources Cons. Service, Bismark Plant Materials Center, ND 58504, Bismark.

- Kokotkiewicz, A., Jaremicz, Z. and Luczkiewicz, M. 2010. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. *Journal of Medicinal Food*, 13(2), 255-269. DOI:10.1089/jmf.2009.0062.
- Kulling, S.E. and Rawel, H.M. 2008. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*)- a review on the characteristic components and potential health effects. *Planta Medica*, 74, 1625-1634. DOI:10.1055/s-0028-1088306.
- Kumar, K. and Rao, I.U. 2012. Morphophysiological problems in acclimatization of micropropagated plants in-ex vitro conditions-a review. *Journal of Ornamental and Horticultural Plants*, 2(4), 271-283.
- Kwak, M. C., Choi, C.H., Choi, Y.H. and Moon, H.K. 2015. Micropropagation of aronia (*Aronia melaocarpa* Elliot, black chokeberry) and its 5 varieties. *Journal of Plant Biotechnology*, 42, 380-387. DOI:10.5010/JPB.2015.42.4.380.
- Leonard, P.J., Brand, M.H., Connolly, B.A. and Obae, S.G. 2013. Investigation of the origin of *Aronia mitschurinii* using amplified fragment length polymorphism analysis. *HortScience*, 48 (5), 520-524. DOI:10.21273/HORTSCI.48.5.520.
- Li, D., Wang, P., Luo, Y., Zhao, M. and Chen, F. 2017. Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 57(8), 1729-1741. DOI: 10.1080/10408398.2015.1030064. PMID: 26192537.
- Litwinczuk, W. 2002. Propagation of black chokeberry (*Aronia melanocarpa* Elliot) through in vitro culture. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Horticulture*, 5(2).
- Litwinczuk, W. 2013. Micropropagation of chokeberry by in vitro axillary shoot proliferation, In: *Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants*. Lambardi, M., Ozudogru, E. and Jain, S. (eds), Humana Press, 179-186, Springer New York, Heidelberg, Dordrecht, London.
- Liu, X., Wang, X., Zhu, J., Wang, X., Chen K., Yuan, Y., Yang, X., Mo, W., Wang, R., Zhang, S. 2024. Strong conservatism in leaf anatomical traits and their multidimensional relationships with leaf economic traits in grasslands under different stressful environments. *Ecol Process* 13, 71. DOI: 10.1186/s13717-024-00548-y.
- Mahoney, J.D., Hau, T.M., Connolly, B.A. and Brand, M.H. 2019. Sexual and apomictic seed reproduction in *Aronia* species with different ploidy levels. *HortScience*, 54(4), 642-646. DOI: 10.21273/HORTSCI13772-18.
- Mahoney, J.D., Ristvey, A.G. and Brand, M.H. 2023. Chilling requirements to relieve bud dormancy in black-fruited aronia taxonomic groups is related to ploidy and geographic origin. *HortScience*, 58(9), 1028-1034. DOI: 10.21273/HORTSCI17278-23.

- Marin, J.A., Gella, R. and Herrero, M. 1988. Stomatal structure and functioning as a response to environmental changes in acclimatized micropropagated *Prunus cerasus* L. *Annals of Botany*, 62, 663-670.
- McKay, S.A. 2001. Demand increasing for aronia and elderberry in North America. *New York Fruit Quarterly*, 9(3), 2-3.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Nas, Z., Eşitken, A. ve Pırlak, L. 2025. ‘Viking’ Aronya çeşidinin in vitro şartlarda bitki rejenerasyon protokolünün belirlenmesi. *Bahçe*, 54(1), 11-16. DOI : 10.53471/bahce.1618731.
- Nawandish, F., Dumanoğlu, H. and Sarıkamış, G. 2024. Novel approaches to improve rooting of microshoots, acclimatization and plant growth of Pyrodwarf pear rootstock. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 157, 58. DOI:10.1007/s11240-024-02781-x.
- Negreanu-Pirjol, B.S., Oprea, O.C., Negreanu-Pirjol, T., Roncea, F.N., Prelipcean, A.M., Craciunescu, O., Iosageanu, A., Artem, V., Ranca, A., Motelica, L., Lepadatu, A.C., Cosma, M. and Popoviciu, D.R. 2023. Health benefits of antioxidant bioactive compounds in the fruits and leaves of *Lonicera caerulea* L. and *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot. *Antioxidants* (Basel), 12(4), 951. DOI: 10.3390/antiox12040951.
- Noe, N. and Bonini, L. 1996. Leaf anatomy of highbush blueberry grown in vitro and during acclimatization to ex vitro conditions. *Biologia Plantarum*, 38, 19-25. DOI: 10.1007/BF02879626.
- Ochmian, I., Grajkowski, J. and Smolik, M. 2012. Comparison of some morphological features, quality and chemical content of four cultivars of chokeberry fruits (*Aronia melanocarpa*). *Not Bot Horti Agrobi*, 40(1), 253-260. DOI:10.15835/nbha4017181.
- Okello, D., Yang, S., Komakech, R., Chung, Y., Rahmat, E., Gang, R., Omujal, F., Lamwaka, A.V. and Kang, Y. 2021. An in vitro propagation of *Aspilia africana* (Pers.) C.D. Adams, and evaluation of its anatomy and physiology of acclimatized plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 704896. DOI: 10.3389/fpls.2021.704896.
- Pathoumthong, P., Zhang, Z., Roy, S.J. and El Habti, A. 2023. Rapid non-destructive method to phenotype stomatal traits. *Plant Methods*, 19(1), 36. DOI: 10.1186/s13007-023-01016-y.
- Petrova, I.V., Tokhtar, L.A. Kulko, S.V. and Borodayeva, Z.A. 2019. *In vitro* clonal micropropagation of *Aronia* L. varieties from the collection of the botanic garden of the National Research University “BelSU” (Belgorod, Russia). *Eurasia J Biosci*, 13, 1071-1073.

- Petrovic, D.M. and Jacimovic-Plavsic, M.M. 1992. *Aronia melanocarpa* and propagation in vitro. Acta Hort., 300, 133-136. DOI:10.17660/ActaHortic.1992.300.16.
- Polat, M. and Eskimez, I. 2022. The effects of different hormone combinations on in vitro micropropagation of aronia (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott). Fresenius Environmental Bulletin, 31, 1219-1227.
- Pospisilova, J., Synkova, H., Haisel, D. and Semoradova, S. 2007. Acclimation of plantlets to ex vitro conditions: Effects of air humidity, irradiance, CO<sub>2</sub> concentration, and abscisic acid (a review). Acta Horticulturae, 748, 29-38. DOI: 10.17660/ActaHortic.2007.748.2.
- Poyraz Engin, S. 2020. 'Nero' ve 'Viking' aronya (*Aronia melanocarpa* (Michx) Elliot) çeşitlerinin agromorfolojik özellikleri ve farklı olgunluk seviyelerindeki meyve kalite parametrelerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Bursa Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Rodrigues, S.P., Picoli, E.A.D.T., Oliveira, D.C.D., Carneiro, R.G.D.S. and Isaias, R.M. D.S. 2014. The effects of in vitro culture on the leaf anatomy of *Jatropha curcas* L.(Euphorbiaceae). Bioscience Journal, 30(6), 1933-1941.
- Rohr, R., Iliev, I., Scaltsoyiannes, A. and Tsoulpha, P. 2003. Acclimatization of micropropagated forest trees. Acta Horticulturae, 616, 59-69. DOI: 10.17660/ActaHortic.2003.616.3.
- Rozali, S.E., Rashid, K.A. and Taha, R.M. 2014. Micropropagation of an exotic ornamental plant, *Calathea crotalifera*, for production of high quality plantlets. The Scientific World Journal, 2014(1), 457092. DOI: 10.1155/2014/457092.
- Rusea, I., Popescu, A., Hoza, D., Isac, V. and Oprea, M. I. 2022. In vitro rooting and acclimatization ex vitro of *Aronia melanocarpa* cv. 'Nero'. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology, 26(1), 17- 22. DOI:10.33045/fgr.v38.2022.29.
- Sharma, U., Kataria, V. and Shekhawat, N.S. 2017. In vitro propagation, ex vitro rooting and leaf micromorphology of *Bauhinia racemosa* Lam.: a leguminous tree with medicinal values. Physiology and Molecular Biology of Plants, 23(4), 969-977. DOI: 10.1007/s12298-017-0459-2.
- Sharma, P., Bratley, K., Ford, T., Ristvey, A.G. and Volkis, V.V. 2025. *Aronia mitschurinii*–New generation of super fruits with multiple health benefits. Journal of Berry Research, 15(1), 12-25. DOI: 10.1177/18785093241308676.
- Shekhawat, M.S., Mehta, S.R., Manokari, M., Priyadharshini, S., Badhepuri, M.K., Jogam, P., Dey, A. and Rajput, B.S. 2021. Morpho-anatomical and physiological changes of Indian sandalwood (*Santalum album* L.) plantlets in ex vitro conditions to support successful acclimatization for plant mass production. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 147(3), 423-435. DOI: 10.1007/s11240-021-02136-w.

- Shuang, L., JunYi, Z., GuiLing, J., Yan, A., Changjian, C., Hao, S. and GuangYou, C. 2018. Screening of tissue culture medium for reproduction of *Aronia melanocarpa* Elliot. Journal of Beihua University, 19(3), 395-398.
- Sivanesan, I., Saini, R.K. and Kim, D.H. 2016. Bioactive compounds in hyperhydric and normal micropropagated shoots of *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott. Industrial Crops and Products, 83, 31-38. DOI:10.1016/j.indcrop.2015.12.042.
- Skupien, K. and Oszmianski, J. 2007. The effect of mineral fertilization on nutritive value and biological activity of chokeberry fruit. Agricultural and Food Science 16, 46-55. DOI: 10.2137/145960607781635822.
- Staniene G., Stanys V., Bobinas C., Duchowski P. and Merkys A., 1999. In vitro propagation of non-traditional horticultural plants (*Actinidia*, *Chaenomeles*, *Aronia*). Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 468, 441-443.
- Sun, J., Shi, S., Li, J., Yu, J., Wang, L., Yang, X., Guo, L. and Zhou, S. 2018. Phylogeny of Maleae (Rosaceae) based on multiple chloroplast regions: implications to genera circumscription. Biomed Res Int., 7627191. DOI: 10.1155/2018/7627191.
- Szopa, A., Kokotkiewicz, A., Kubica, P., Banaszczyk, P., Wojtanowska-Krośniak, A., Krośniak, M., Marzec-Wróblewska, U., Badura, A., Zagrodzki, P., Bucinski, A., Luczkiewicz, M. and Ekiert, H. 2017. Comparative analysis of different groups of phenolic compounds in fruit and leaf extracts of *Aronia* sp.: *A. melanocarpa*, *A. arbutifolia*, and *A. ×prunifolia* and their antioxidant activities. European Food Research and Technology, 243, 1645-1657. DOI:10.1007/s00217-017-2872-8.
- Şahin, A. and Erdoğan, Ü. 2022. *Aronia* (*Aronia melanocarpa* Michx Elliott) production and evaluation methods in the world and Turkey. Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 10(1), 81-85. DOI:10.24925/turjaf.v10i1.81-85.4547.
- Tisarum, R., Bayaraa, U., Sotesaritkul, T., Samphumphuang, T., Singh, H.P. and Chaum, S. 2025. Impact of iso-osmotic acclimation in condition on ex vitro performance of white turmeric (*Curcuma zedoaria* [Cristm.] Roscoe). In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 61, 294-305. DOI: 10.1007/s11627-024-10510-4.
- Valcheva-Kuzmanova, S.V. and Belcheva, A. 2006. Current knowledge of *Aronia melanocarpa* as a medicinal plant. Folia Med (Plovdiv), 48(2), 11-17.
- Wang, F., Xin, X., Wei, H., Qiu, X. and Liu, B. 2020. In vitro regeneration, ex vitro rooting and foliar stoma studies of *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax. Agronomy, 10(7), 949. DOI: 10.3390/agronomy10070949.
- Withan, F.H., Blaydes, D.F. and Devlin, R.M. 1971. Experiment in Plant Physiology. Van Nostrand Reinhold Co., 245, New York.

- Yavas, I., Jamal, M.A., Ul Din, K., Ali, S., Hussain, S. and Farooq, M. 2024. Drought-induced changes in leaf morphology and anatomy: overview, implications and perspectives. *Polish Journal of Environmental Studies*, 33(2), 1517-1530. DOI: 10.15244/pjoes/174476
- Zhang, D., Chang, E., Yu, X., Chen, Y., Yang, Q., Cao, Y., Li, X., Wang Y., Fu, A. and Xu, M. 2018. Molecular characterization of magnesium chelatase in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Frontiers in Plant Science*, 9, 720. DOI: 10.3389/fpls.2018.00720.
- Zhang, Y., Zhao, Y., Liu, X., Chen, X., Ding, C., Dong, L., Zhang, J., Sun, S., Ding, Q., Khatoon, S., Cheng, Z., Liu, W., Shen, L. and Xiao, F. 2021. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) as a new functional food relationship with health: an overview. *Journal of Future Foods*, 1(2), 168-178. DOI:10.1016/j.jfutfo.2022.01.006.

