



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



IN VITRO KOŞULLARDA PİTAYA (*Hylocereus undatus*)'NİN ÇOĞALTILMASI

Ayşe USTA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı

Şubat-2022
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IN VITRO KOŞULLARDA PİTAYA (*Hylocereus undatus*)’NİN ÇOĞALTILMASI

Ayşe USTA

**Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Ana Bilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

2022, 47 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

Prof. Dr. Muhammad ASIM

Dr. Öğr. Üyesi Egemen FOTO

Pitaya, *Hylocereus* cinsi çeşitli kaktüs türlerine ait olan bir bitkidir. Birçok ülkede yaygın olarak tüketilen besleyici özelliklere ve zengin içeriğe sahip olan pitaya bitkisi, son dönemde ülkemizde de yetiştirilmeye başlanmıştır. Pitaya bitkisinin geleneksel üretiminde karşılaşılan zorluklar bitki doku kültürü sayesinde engellenebilir ve bitki potansiyeli daha da artırılabilir. Bu çalışmada pitaya bitki üretimi için *in vitro* rejenerasyon protokolü geliştirilerek, hızlı ve hastalıksız üretim hedeflenmiştir. Pitaya tohumlarına % 0,1 civa klorür ($HgCl_2$) ile 3 dakika yüzey sterilizasyonu uygulanmıştır. Eksplantlar, 5 farklı konsantrasyonda (0,25, 0,5, 1, 2, 3 mg/L) 6-benzilaminopürin (BAP), thidiazuron (TDZ) ve kinetin (KIN) olmak üzere 3 farklı büyüme düzenleyici takviye edilmiş Murashige and Skoog (MS) ortamlarında kültüre alınmıştır. Kültür ortamı kontrolü sağlanarak *in vitro* sürgün rejenerasyonu yüzdesi, kallus oluşumu yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu verileri toplanmış ve istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Sürgün rejenerasyonu için en iyi sonuç %96,66 olarak 0,5 mg/L KIN ilave edilmiş MS ortamında, en yüksek kallus oluşumu TDZ bulunan kültür ortamlarında gözlemlenmiştir. 0,5 mg/L TDZ ortamında %90 kallus oluşumu en yüksek orandır. Eksplant başına sürgün sayısı, BAP bitki düzenleyicisinin bulunduğu ortamlarda en yüksek oranda sonuç vermiştir. Bu denemede en yüksek sürgün uzunluğu 1,2 ve 1,16 cm olarak sırasıyla 1 mg/L ve 0,5 mg/L KIN ortamında kaydedilmiştir. Köklendirme ve adaptasyon denemesi başarılı sonuçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doku kültürü, *Hylocereus undatus*, *in vitro*, Mikroçoğaltım, Pitaya

ABSTRACT

MS THESIS

***IN VITRO* MICROPROPAGATION OF PITAYA (*Hylocereus undatus*)**

Ayşe USTA

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY**

Advisor: Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

2022, 47 Pages

Jury

Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ

Prof. Dr. Muhammad ASIM

Asst. Prof. Dr. Egemen FOTO

Pitaya belongs genus *Hylocereus* which contains various cactus species. The pitaya plant is widely consumed in many countries due to its nutritious properties and rich content, has recently started to be grown in our country. The difficulties encountered in the traditional production of the pitaya plant can be overcome by plant tissue culture and hence the plant potential can be further increased. In this study, rapid and disease-free production was aimed by developing an *in vitro* regeneration protocol for pitaya plant production. Surface sterilization was applied to pitaya seeds using 0,1% mercury chloride (HgCl₂) for 3 minutes. Explants were cultured in Murashige and Skoog (MS) media supplemented with 3 different plant growth regulators, 6-benzylaminopurine (BAP), thidiazuron (TDZ) and kinetin (KIN) at 5 different concentrations (0,25, 0,5, 1, 2, 3 mg/L). *In vitro* shoot regeneration percentage, callus formation percentage, shoot number per explant and shoot length data were collected and subjected to statistical analysis for all culture along with control. The best result for shoot regeneration (%96,66) was observed in MS medium with 0,5 mg/L KIN, the highest callus formation (%90) was observed in 0,5 mg/L TDZ medium. The number of shoots per explant yielded the highest results using BAP as plant growth regulator. In this experiment, the highest shoot length was recorded as 1,2 and 1,16 cm from 1 mg/L and 0,5 mg/L KIN containing medium respectively. Rooting and adaptation experiment was successful.

Keywords: Tissue culture, *Hylocereus undatus*, *in vitro*, Micropropagation, Pitaya

ÖNSÖZ

Yüksek lisansım ve çalışmalarım boyunca her türlü bilgi ve tecrübesinden yararlandığım ve desteklerini gördüğüm sevgili hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet KARATAŞ'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda destek ve katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Muhammad ASIM'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez değerlendirme aşamasında yapıcı eleştirileriyle çalışmama yön ve destek veren Sayın Dr. Öğr. Üyesi Egemen Foto'ya teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecim boyunca, tüm denemelerimi gerçekleştirmeme imkan tanıyan ve laboratuvar deneyimi kazanmamı sağlayan Botanikon Bitki Doku Kültürü Laboratuvarı kurucusu Asuman Ayhan'a, ilgi ve desteğiyle her zaman moral kaynağım olan değerli dostum Neslihan Yayla'ya, yardımını ve desteğini esirgemeyen iş arkadaşım Sena Koçak'a teşekkür ederim.

Bilgi ve tecrübeleriyle her zaman yanımda hissettiğim, her türlü desteği sağlayan çok değerli dayım Yusuf İzzettin Aksel'e teşekkür ederim.

Bu çalışmayı, yetiştirilmemde emeği geçen ve benden maddi, manevi hiçbir desteği esirgemeyen çok değerli annem Fatma Usta'ya ithaf ederim.

Ayşe USTA
KONYA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Pitaya Bitkisinin Genel Özellikleri	2
1.2. Pitaya Bitkisinin Üretimi	4
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	5
2.1. Bitki Doku Kültürü	5
2.2. <i>Cactaceae</i> Familyasından Bazı Bitkilerde <i>In vitro</i> Rejenerasyon Çalışmaları.....	8
2.3. Pitaya (<i>Hylocereus spp.</i>) Bitkisinde <i>In vitro</i> Rejenerasyon Çalışmaları	10
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1. Deneme Yeri	15
3.2. Bitki Materyali	15
3.3. Besin Ortamı ve Doku Kültürü Koşulları	15
3.4. Yüzey Sterilizasyonu	16
3.5. Eksplant İzolasyonu ve Kültürü.....	16
3.6. Köklendirme ve Adaptasyon	17
3.7. <i>In Vitro</i> Çoğaltılmış Bitkilerden Veri Alımı.....	17
3.8. İstatistiksel Analiz.....	17
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	18
4.1. <i>In Vitro</i> Yüzey Sterilizasyonu.....	18
4.2. <i>In Vitro</i> Tohum Eksplantından Rejenerasyon Çalışmaları	18
4.2.1. Kallus oluşumu	24
4.2.2. Sürgün rejenerasyonu	25
4.2.3. Eksplant başına sürgün sayısı	26
4.2.4. Sürgün uzunluğu	26
4.3. Köklendirme	27
4.4. Adaptasyon	28

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	29
6. KAYNAKLAR	32
ÖZGEÇMİŞ	36

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. <i>Hylocereus</i> türlerine ait 100 g meyve etinin besin içeriği.....	3
Çizelge 2.1. Murashige ve Skoog (1962) ortam bileşimi	6
Çizelge 4.1. Farklı hormonların tohum eksplantlarının rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi	19
Çizelge 4.2. Farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin pitaya tohumlarının <i>in vitro</i> rejenerasyonuna etkisi.....	19
Çizelge 4.3. Bitki büyüme düzenleyici ile konsantrasyonların <i>in vitro</i> rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi.....	20
Çizelge 4.4. Farklı bitki büyüme düzenleyici ve konsantrasyonların pitaya tohumlarının <i>in vitro</i> rejenerasyonuna etkisi	21

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Pitaya yetiştiriciliğiden genel görünüm.....	1
Şekil 1.2. <i>Hylocereus polyrhizus</i>	2
Şekil 1.3. <i>Hylocereus undatus</i>	2
Şekil 1.4. <i>Hylocereus megalanthus</i>	2
Şekil 2.1. Denemelerde kullanılan oksin hormonlarının moleküler yapısı (George ve ark. 2008).....	7
Şekil 2.2. Denemelerde kullanılan sitokinin hormonlarının moleküler yapısı (George ve ark. 2008).....	7
Şekil 3.1. Başlangıç eksplantı pitaya tohumlarının görünümü	15
Şekil 3.2. (a) MS ortamına ekilen pitaya tohumlarının ilk görünümü (b) MS ortamına alındıktan 2 hafta sonra pitaya tohumlarının çimlenmiş görünümü	16
Şekil 3.3. Sürgün uzunluğunun ölçümü (a) Sürgün ucu (b) Sürgün başlangıcı	17
Şekil 4.1. Çimlenmiş tohum eksplantlarının farklı konsantrasyonlarda BAP ortamında kültüre alındıktan 4 hafta sonra genel görünümü (a) 0,25 mg/L BAP (b) 0,5 mg/L BAP (c) 1 mg/L BAP (d) 2 mg/L BAP (e) 3 mg/L BAP.....	22
Şekil 4.2. Çimlenmiş tohum eksplantlarının KIN ortamlarında kültüre alındıktan 4 hafta sonra genel görünümü (a) 0,25 mg/L KIN (b) 0,5 mg/L KIN (c) 1 mg/L KIN (d) 2 mg/L KIN (e) 3 mg/L KIN	23
Şekil 4.3. Çimlenmiş tohum eksplantlarının TDZ ortamlarında kültürü alındıktan 4 hafta sonra genel görünümü (a) 0,25 mg/L TDZ (b) 0,5 mg/L TDZ (c) 1 mg/L TDZ (d) 2 mg/L TDZ (e) 3 mg/L TDZ	24
Şekil 4.4. Farklı oranlarda kullanılan hormonların kallus oluşumuna etkisi	25
Şekil 4.5. Farklı oranlarda kullanılan hormonların sürgün rejenerasyonuna etkisi	25
Şekil 4.6. Farklı oranlarda kullanılan hormonların sürgün sayısına etkisi	26
Şekil 4.7. Farklı oranlarda kullanılan hormonların sürgün uzunluğuna etkisi.....	27
Şekil 4.8. İn vitro koşullarda pitaya bitkisini 1 mg/L IAA ortamında kök rejenerasyonu	28
Şekil 4.9. Pitaya bitkisini toprak ortamına aktarımı	28

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

cm	Santimetre
m	Metre
mm	Milimetre
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
L	Litre
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
pH	Asitlik-alkalilik faktörü
µM	Mikromolar
C°	Santigrat Derece

Kısaltmalar

HgCl ₂	Civa Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
HCl	Hidroklorik Asit
BAP	6-Benzilaminopürin
IAA	İndol-3-asetik asit
IBA	İndol-3-bütirik asit
KIN	Kinetin
TDZ	Thidiazuron
MS	Murashige ve Skoog
PVP	Polivinilpirolidon
GA ₃	Giberellik Asit
ZT	Zeatin
NAA	α- Naftalen Asetik Asit
KO	Karelerin Ortalaması
SD	Serbestlik Derecesi
VK	Varyansın Kaynağı
F	F Değeri
2,4-D	2,4 Diklorofenoksiasetik Asit

1. GİRİŞ

Caryophyllales takımının *Cactaceae* familyasının *Hylocereus* cinsinde yer alan pitaya, çekici görünümü, tadı ve besin içeriğiyle son yıllarda dikkatleri üzerine çekmektedir (Le Bellec ve ark. 2006). Asya'da pitaya, meyveyi kaplayan yeşil üst üste binen yüzgeçleri olan parlak kırmızı kabuğundan dolayı genellikle "ejder meyvesi" olarak adlandırılır (Ariffin ve ark. 2009) ve anavatanın Orta Amerika ve Meksika olduğu bildirilmiştir (Haber 1983). Pitaya, Avusturalya, ABD ve Güneydoğu Asya ülkeleri başta olmak üzere birçok ülkede yetiştirilmektedir (Bozkurt ve ark. 2020; Safira ve ark. 2021). Pitaya bitkisinin, son yıllarda ülkemizde Mersin'de yetiştiriciliğine başlanmış olup Antalya, Adana ve Muğla'da hasadı yapılarak üretim alanı genişlemektedir (Soydal ve ark. 2019).



Şekil 1.1. Pitaya yetiştiriciliğinden genel görünüm

Hylocereus türlerinin dayanıklılığı, farklı ekolojik koşullar altında gelişmelerine olanak tanır. Örneğin, Meksika'da, çok yağışlı bölgelerde ve deniz seviyesinden 2750 m'ye kadar olan yüksekliklerde bulunurlar (Mizrahi ve ark. 1997). Bazı türler 38-40 °C'ye varan sıcaklıklarda hayatta kalabilirken (Le Bellec ve ark. 2006); bazı türlerde 12 °C'nin altındaki sıcaklıkların gövdelerde nekroza neden olabildiği bildirilmiştir. *Hylocereus* türleri yarı epifitlerdir ve genellikle yarı gölgeli koşullarda büyümeyi tercih ederler. Bazı pitaya türlerinin güneş radyasyonuna maruz kalan bölgeleri tolere ettiği, ancak gaz

değişimi ve çiçeklenmenin genellikle engellendiği görülmüştür. Ayrıca bazı türlerde 32 - 34°C sıcaklıklara maruz kalma ve yetersiz su, sapların yanmasına neden olabilmektedir (Nerd ve ark. 2002). *H. undatus*, büyüme üzerinde herhangi bir etki olmaksızın altı haftaya kadar uzun süreli kuraklığı tolere eder. Meksika'da, yağışlı mevsim, düşük hava sıcaklığı ve gece boyunca küçük buhar basıncı eksikliği gibi koşulların *H. undatus*'ta fotosentez için en uygun şartları sağladığı, ancak aşırı suyun sistematik olarak çiçeklerin ve genç meyvelerin dökülmesine neden olduğu bildirilmektedir (Andrade ve ark. 2006).

1.1. Pitaya Bitkisinin Genel Özellikleri

Hylocereus'un botanik sınıflandırılmasıyla ilgili, türler arasındaki benzer morfolojik özelliklerden veya çevresel koşullardan kaynaklanan birçok çelişki olduğu bildirilmiştir (Le Bellec ve Vaillant 2011). Bu nedenle literatürde yer alan çalışmalarda farklı sınıflandırmalarla karşılaşmaktadır. Genel olarak pitayalar et ve kabuk görünümüne göre kırmızı et/kırmızı kabuk , beyaz et/kırmızı kabuk ve beyaz et/sarı kabuklu olarak bilinmektedir. En yaygın olarak yetiştirilen ve tüketilen türler başlıca *Hylocereus polyrhizus* , *Hylocereus undatus* ve *Hylocereus megalanthus* ' dir (Le Bellec ve ark. 2006).



Şekil 1.1. *Hylocereus polyrhizus*



Şekil 1.2. *Hylocereus undatus*



Şekil 1.3. *Hylocereus megalanthus*

Pitaya bitkisinin, optimal düzeyde büyüebilmesi, güneşe yeterince maruz kalabilmesi ve ortamdaki besinleri alabilmesi için hava köklerini kullanarak destek direklerine veya diğer ağaçlara tutunduğu bildirilmiştir. Pitaya bitkisinin sapları diğer kaktüs türleri gibi su ve besin rezervlerine sahiptir. Bu nedenle bu bitkiler düşük nem ve verimsiz toprak ortamlarında bile hayatta kalabilirler. Saplarının tırmanma ve dallanma özellikleri vardır. Ayrıca bu saplar iri yapılıdır (Safira ve ark. 2021). Saplar genellikle üç kenarlıdır, bazen dört veya beş kenarlı olabilirler (Crane ve Balerdi 2005). Bu bitkinin

çiçeklerinin karakteristik yeşilimsi sarı veya hafif beyaz renkte, 20-35 cm uzunluğunda ve 22-35 cm genişliğinde olduğu bildirilmiştir. Çiçekler, erkek ve dişi üreme organına sahip olma olarak tanımlanan hermafrodit yapıya olmasına rağmen bazı pitaya türlerinin kendine uyumsuz olduğu bildirilmiştir. Pitaya bitkisinin çiçeklerinin büyümesi su mevcudiyetine değil, gün uzunluğuna bağlıdır. Çiçek tomurcuklarının haftalarca latent aşamada kalabildiği ve çiçeklenme başlangıcının genellikle yağışlı mevsimden sonra gerçekleştiği bildirilmiştir (Le Bellec ve ark. 2006). Ejder meyvesi genellikle, oval yapılı, 4-9 cm kalınlığında ve 6-12 cm uzunluğundadır. Kabukları çoğunlukla kırmızı veya sarı renge sahiptir ve büyük pulsu yaprakçıkları vardır. Ejder meyvesi, dikenlerin büyüdüğü areolalara (çıkıntılar) sahiptir. Her areolanın 1-3 cm büyüklüğünde ve 2-5 diken bulunduran fiziksel bir formu vardır. Meyve ağırlıkları 900 g' a kadar çıksa da ortalama 350 ile 450 g arasında olduğu görülmüştür (Safira ve ark. 2021). Meyveleri renk çekiciliğinin yanı sıra zengin ve besleyici besin içeriğine sahiptir. Çizelge 1.1'de başlıca ticari türlere ait 100 g meyve etinin besin içeriği özetlenmektedir (Mercado-Silca 2018). Bu besin içeriğine ek olarak betasiyanin, fenolik bileşikler, C, B1, B2 ve B3 vitamini ve daha birçok bileşik içeriğe sahiptir. Biyoaktivitelere sahip büyük bir fitokimyasal rezervuar olarak pitaya, derin farmakolojik değerler sunmaktadır (Joshi ve Prabhakar 2020).

Çizelge 1.1. *Hylocereus* türlerine ait 100 g meyve etinin besin içeriği

Besin İçeriği	Türler		
	<i>Hylocereus polyrhizus</i>	<i>Hylocereus undatus</i>	<i>Hylocereus megalanthus</i>
Su %	83	89	85
Protein (g)	0,16 – 0,23	0,5	0,4
Yağ (g)	0,21 – 0,61	0,1	0,1
Lif (g)	0,7 – 0,9	0,3	0,5
Kül (g)	0,54 – 0,68	0,5	0,4
Kalsiyum (mg)	6,3 – 8,8	6	10
Fosfor (mg)	30,2 – 36,1	19	16
Demir (mg)	0,55 – 0,65	0,4	0,3
Karoten (mg)	0,005 – 0,012	-	-
Tiamin (mg)	0,28 – 0,43	0	0
Riboflavin (mg)	0,28 – 0,45	0	0
Niasin (mg)	0,297 – 0,43	0,2	0,2
Askorbik Asit (mg)	8 – 9	25	4

1.2. Pitaya Bitkisinin Üretimi

Pitayaların tohumla üretimi mümkündür. Tohumla üretim yönteminde meyve etinden ayrılan tohumlar yıkanarak kurutulur ve ekim için hazır bir hale getirilir. Tohumların çimlenme süresi yaklaşık 3-4 gündür. Fakat çimlendikten 4-5 hafta sonra saksıya aktarılabilirdiği ve yaklaşık 9-10 ay sonra tarla ekimine hazır hale geldiği bildirilmiştir. Ayrıca bu yöntemde yabancı tozlanmadan dolayı genetik açılım görülmektedir (Gunasena ve ark. 2007). *H. undatus* için tohum çimlenme oranı %71 ve %83 arasında olduğu bildirilmiştir. Fakat tohumdan üretim yapılan bitkilerin uzun gençlik periyoduna sahip olması ve meyve üretimini birkaç yıl geciktirmesi nedeniyle bu tür çoğaltım pitaya bitkisinin ticari üretimi için deavantajlıdır (El Obeidy 2006).

Pitaya bitkisinin genel olarak çeliklerle çoğaltıldığı görülmektedir. Bu amaçla 1 yıllık olgunlaşmış sürgünlerden 15-20 cm alınarak direk dikim aşaması tamamlanabilir veya köklendirme yapılarak bu işlem sağlanabilir (Zee ve ark. 2004). Ancak çelikle çoğaltım yönteminin verimsiz ve zaman alıcı olması ticari üretimde dezavantaj oluşturmaktadır.

Bitki doku kültürü yöntemi ile pitaya türlerinin hızlı, kaliteli ve yüksek verimli üretimi mümkündür. Bu yöntem pitaya bitkisinin ticari üretimi için çok önemli bir adımdır. Bu çalışmada yüksek öneme sahip olan pitaya bitkisinin ticari üretimi için güvenilir ve hızlı bir yöntem oluşturulması amaçlanmıştır. Geleneksel üretimde karşılaşılan sorunların, bitki doku kültürü yöntemi kullanılarak en aza indirilmesi hedeflenmiş ve pitaya bitkisinin farklı bitki büyüme düzenleyicileri ile desteklenen MS ortamında *in vitro* çoğaltılması araştırılmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bitki Doku Kültürü

Bitki doku kültürü, tarım, bahçecilik ve bitki biyoteknolojisi gibi çeşitli alanların temelini oluşturmaktadır. Bu teknik, bitkiden alınan, organ, hücre veya herhangi bir dokunun eksplant adı verilen parçalara ayrılabilmesi ve herhangi bir eksplantın daha da geliştirilerek bütün bir bitkiye dönüştürülebileceği temel bir kavramı ifade etmektedir (Bhatia ve Dahiya 2015). Bitki doku kültürünün, yüksek kaliteli, hastaliksız ve hızlı üretim avantajı sağladığı bilinmektedir. Bitki doku kültürü, bitkilerin kontrollü bir ortamda, mevsim ve havadan bağımsız olarak yıl boyunca çoğaltılabilmesine olanak tanımaktadır. Bitki hücrelerinin sahip olduğu totipotansi yeteneği sayesinde farklılaşmış bitki hücresi, uygun büyüme ortamı sağlandığında ana bitkiye benzer özelliklerde tam bir bitki meydana getirebilmektedir (Babaoğlu ve ark. 2002). Bitki rejenerasyonu, sürgün ucu, aksiller tomurcuk, kök uçları, çiçek tomurcuklarındaki apikal meristem hücre grupları ve meristatik olmayan somatik hücrelerin farklılaşarak sürgünlere ve nihayetinde tam bitkilere dönüşmek üzere uyarılmasıyla gerçekleşmektedir. Çoğu durumda, kültürde oluşan aksiller tomurcuklar tekrarlayan çoğalmaya uğrar ve çok sayıda küçük bitki üretir. Bu yöntemle elde edilen bitkilerin, mikro çoğaltmanın sonraki aşamalarında ya da *in vivo* ortamlarda kökledirildiği bildirilmiştir (Ahloowalia ve ark. 2003).

Bitki doku kültüründe en önemli aşama yüzey sterilizasyonudur. Eksplant üzerinde bulunan çeşitli bakteri ve funguslar kontaminasyona neden olabilmektedir. Bu nedenle çeşitli yöntemler kullanılarak eksplant üzerindeki kirleticilerin arındırılması gerekmektedir. Seçilen eksplantlar, çeşitli dezenfektanlar kullanılarak aseptik hale getirilir. Dezenfektan olarak, sodyum hipoklorit, etanol, gümüş nitrat, civa klorür, hidrojen peroksit, Tween-20 gibi kimyasalların kullanıldığı bildirilmiştir. Eksplantların, besin ortamına alınmadan önce kullanılan kimyasalların kalıntılarını gidermek için steril su kullanılarak durulanması gerektiği bildirilmiştir (Kumar ve Loh 2012).

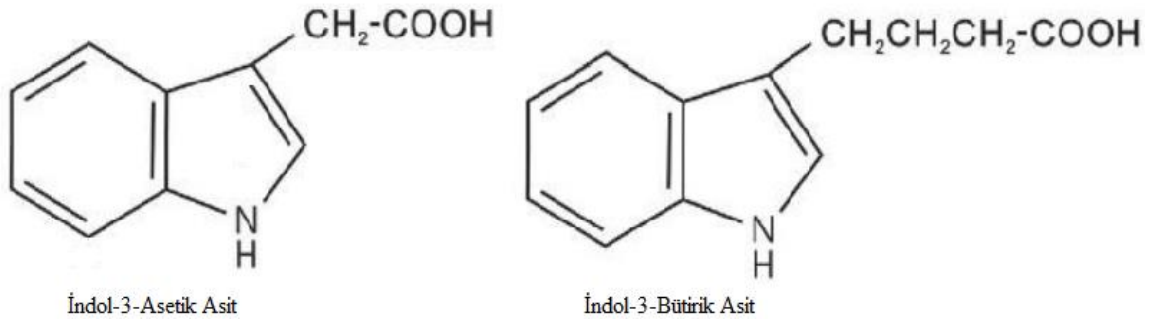
Bitki doku kültürü ortamları için çeşitli mineral formülasyonları varken, en çok kullanılan formülasyon MS ortamı olarak bilinmektedir. Genel olarak bitki doku kültürü ortamında, makro ve mikro besinler, vitaminler, fitohormonlar ve bulunmaktadır. Ortamın pH'ı, seyreltik sodyum hidroksit (NaOH) veya hidroklorik asit (HCl) kullanılarak $5,8 \pm 0,2$ ye ayarlanır ve yarı katı bir ortam istendiği için uygun bir jelleştirici madde eklenir. Phytigel® veya Gelrite® olarak bilinen gellan zatkı ve agar bitki doku

kültürü ortamı için kullanılan en yaygın jelleştirici maddelerden ikisidir. Ortam, yaklaşık 20 dakika otoklavlanarak sterilize edilmektedir (Kumar ve Loh 2012).

Çizelge 1.1. Murashige ve Skoog (1962) ortam bileşimi

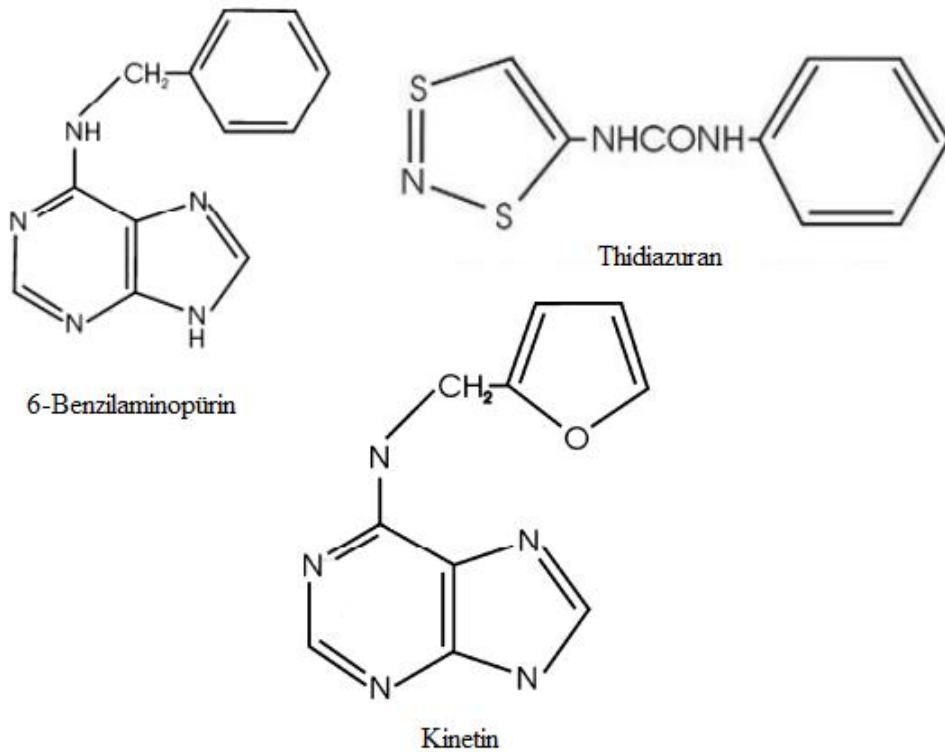
Ortamda Bulunan Maddeler		Konsantrasyonu (mg/L)
Makro Elementler	NH ₄ NO ₃	1650
	KNO ₃	1900
	CaCl ₂ .H ₂ O	440
	MgSO ₄ .7H ₂ O	370
	KH ₂ PO ₄	170
Mikro Elementler	KI	0,83
	H ₃ BO ₃	6,2
	MnSO ₄ .H ₂ O	15,6
	ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8,6
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
	CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25
	CoSO ₄ .6H ₂ O	0,025
	FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
	Na ₂ EDTA	37,3
Vitaminler	Myo-Inositol	100
	Nicotinic Acid	0,5
	Pyrotinic Acid	0,5
	Thiamine-HCI	0,1
	Glycine	2

Doku kültürü ortamlarının en önemli unsuru bitki büyüme düzenleyicileri veya hormon olarak bilinen bileşenler olarak bildirilmiştir. Bunlar bitki dokularında doğal olarak bulunabildiği gibi sentetik olarak da üretilebilmektedir. Bitki dokularının temel besin ihtiyaçları karşılandıktan sonra, oksinler, sitokininler, gibberellinler veya absisik asit gibi büyüme düzenleyicilerinin eklenmesiyle daha fazla gelişimsel tepkiler uyarılmaktadır. Büyüme düzenleyicilerinin en önemlileri oksinler ve sitokininler olarak bildirilmiştir (Phillips ve Garda 2019). Oksinlerin hücre bölünmesi, hücre uzaması, kök oluşumu gibi temel süreçleri kontrol etmektedir ve bitki doku kültüründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Ek olarak, organize olmamış hücre topluluğu olarak bilinen kallusların ve organların büyümesini teşvik ettiği bilinmektedir. Bitkilerde doğal olarak bulunan oksin, indol-3-asetik asit (IAA) olarak bildirilmiştir. IAA'ya benzer biyolojik özelliklere sahip fakat farklı yapıda olan sentetik oksin olarak adlandırılan kimyasallar da bitki büyüme düzenleyici olarak kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygınları, indol-3-bütirik asit (IBA), naftalin asetik asit (NAA), 2,4 diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) olarak bilinmektedir (George ve ark. 2008).



Şekil 2.1. Denemelerde kullanılan oksin hormonlarının moleküler yapısı (George ve ark. 2008)

Sitokininlerin, hücre bölünmesi, bitki rejenerasyonu ve sürgün çoğalmasında etkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca antioksidan etkisi sayesinde yaprak yaşlanmasında geciktirici etkisi vardır. Doğal sitokinin olarak bilinen zeatin (ZT), ticari laboratuvarlarda yüksek maliyetinden dolayı tercih edilmemektedir. En yaygın kullanılan sitokinin aktivitesi sahip bileşikler, kinetin, TDZ, BAP olarak bilinmektedir (Babaoğlu ve ark. 2002).



Şekil 2.2. Denemelerde kullanılan sitokinin hormonlarının moleküler yapısı (George ve ark. 2008)

Gibberellik asit (GA_3) sürgün uzaması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda tohum gelişiminde de etkili olduğu bilinmektedir. Absisik asit ise somatik embriyo gelişimi için kullanılmaktadır. Ek olarak yaprak ve meyve dökümünde etkilidir. (Babaoğlu ve ark. 2002).

Eksplantlar, aseptik koşullar altında belirli bileşenleri içeren besin ortamına alındıktan sonra kontrollü şartlar altında bekletilmektedir. Kültürün ihtiyacına bağlı olarak $25 \pm 2^\circ C$ 'de, karanlık ortamda veya 12-24 saat ışık fotoperiyodunda inkübe edilirler. Kültürlerin inkübasyonu, aydınlatmalı raflarda veya büyüme odalarında yapılabilir. En yaygın ışık kaynağı türü floresan olmasına rağmen, son zamanlarda bu amaçla LED ışık kaynakları kullanılmaya başlandığı bildirilmiştir (Kumar ve Loh 2012).

2.2. *Cactaceae* Familyasından Bazı Bitkilerde *In vitro* Rejenerasyon Çalışmaları

Kaktüslerin *in vitro* çoğaltması ile ilgili ilk girişim yaklaşık 60 yıl önce raporlanmıştır (King 1957). Bu ilk girişimden beri çeşitli kaktüslerin *in vitro* kültürü hakkında çok sayıda rapor vardır. Mikro çoğaltma, hem nesli tükenmekte olan türlerin korunmasında hem de ticari üretimde yararlı bir yöntemdir. Bazı kaktüs türlerinde, 1 cm'lik gövde uzaması sera koşullarında 2-3 yıl, doğal ortamında ise 4 yıldan fazla sürdüğü bilinmektedir (Santoz-Diaz ve ark. 2003). *In vitro* koşullarda bitki büyüme düzenleyiciler sayesinde kaktüs bitkilerinin gelişimi, *ex vivo* kültürlenmiş fidelere kıyasla birkaç kat daha hızlı olabilir. Ticari öneme sahip bazı kaktüs bitkilerinde, son yıllarda yapılan *in vitro* rejenerasyon çalışmalarına ait bulgular araştırılmıştır.

Mammillaria kaktüs türü, küçük boyutları ve huni şeklindeki güzel çiçekleri nedeniyle oldukça değerli süs bitkileridir. Ayrıca bu türlerin önemli besin ve tıbbi değerlere sahip olduğu bilinmektedir. Bu bitkilerin meyveleri taze olarak tüketilmekte ve ticari olarak önemli kaktüs bitkileri içinde yer almaktadır. *Mammillaria herrerae* bitkisinin üretiminde *in vitro* mikro çoğaltma tekniği geliştirmeyi hedefleyen bir çalışmada, en yüksek sürgün indüksiyonu ($99,2 \pm 0,8$), en fazla çoklu sürgün oluşumu ($15,4 \pm 2,1$) ve maksimum sürgün uzunluğu ($0,83 \pm 0,12$ cm), KIN ($2,5 \mu M$) ve IBA ($1 \mu M$) takviye edilmiş MS ortamında görüldüğü bildirilmiştir. En yüksek kök sayısı ($8,1 \pm 1,6$) ve maksimum ortalama kök uzunluğu ($4,2 \pm 0,5$ cm), IBA ($0,5 \mu M$) içeren köklendirme ortamında gözlemlenmiştir. *In vitro* olarak geliştirilen *M. herrerae* bitkilerinin, %92 sağkalım ile serada iklimlendirildiği bildirilmiştir (Song ve ark. 2020).

Nesli tükenmekte olan *Mammillaria hernandezii*, *M. dioxanthocentron* ve *M. lanata* kaktüsleri için *in vitro* çoğaltma protokolleri oluşturulması amaçlanan bir çalışmada, *in vitro* çimlendirilmiş fideler eksplant olarak kullanılmıştır. Üç farklı türe ait apikal, bazal ve yan gövde kesitleri eksplant olarak alınarak, eş konsantrasyonlarda (0, 0,4, 1,1, 2,2, 4,4 ve 8,9 μ M) BA, KIN, meta-topolin ve TDZ takviye edilmiş MS ortamında sürgün rejenerasyonu sağlanmıştır. Sürgün rejenerasyonu öncelikle yanıl gövde bölümü eksplantlarında elde edilmiştir. *M. hernandezii*'de, 2,2 μ M meta-topolin bulunan MS ortamında 7,4 sürgün rejenere edildiği bildirilmiştir. *M. dioxanthocentron* ve *M. lanata*, 1,1 μ M meta-topolin ile zenginleştirilmiş MS ortamında sırasıyla ortalama 16,7 ve 17,9 sürgün/eksplant oranı sağlanmıştır. Bitkilerin %95' inden fazlasının serada başarıyla iklimlendirildiği bildirilmiştir (Castellanos ve ark. 2018).

Hint inciri olarak bilinen *Cactaceae* familyasının önemli bitki türü olan *Opuntia ficus-indica* bitkisinde yapılan bir çalışmada, bir areol içeren, yaprak gibi görünen sukkulent yapıdaki etli gövde olan genç kladod eksplantları, 40 mg/L adenin sülfat, 50 mg/L monosodyum fosfat, 50 g/L sukroz, %0,3 fitajel ve farklı konsantrasyonlarda BA içeren MS ortamında kültüre alınmıştır. En iyi çoğalmanın eksplant başına 15 sürgün oranıyla 0,5 mg/L BA içeren ortamlarda elde edildiği bildirilmiştir. Köklenmeyi başlatmak için çoğalan sürgünler, yarı MS, sakaroz (%3), fitajel (%0,3) ve 0,5 mg/L IBA ve IAA içeren farklı ortamlara aktarılmıştır. Bu kültür koşullarında eksplantların %100' ünde köklenme sağlamıştır. Köklenen sürgünlerin kolayca iklime alıştığı ve toprağa aktarıldığı bildirilmiştir (Finti ve ark. 2013).

Opuntia ficus -indica bitkisinin seri üretimini sağlamak için mikro çoğaltma sistemini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, 5 mg/L BAP takviye edilmiş MS ortamında genç kladodlardan alınan eksplantlar kültürlenmiştir. 5 mg/L BAP + IAA (0, 0,25, 0,5, 1, 2 mg/L), 5 mg/L BAP + NAA (0, 0,25, 0,5, 1, 2 mg/L) ve BAP (0,5 ve 1 mg/L) + KIN (0,5 ve 1 mg/L) olmak üzere farklı kombinasyonlarda büyüme düzenleyici içeren MS ortamları sürgün gelişimi için test edilmiştir. Sürgün gelişimi ve uzaması için en iyi sonuçlar 5 mg/L ve 0,25 mg/L NAA içeren ortamlarda elde edilmiştir. En yüksek çoğalma oranı (3,9), 5 mg/L BAP ve 2 mg/L NAA ile desteklenmiş besiyerinde gözlenmiştir. MS besiyerinde kallus oluşumu olmadan 5-6 cm uzunluğunda %100 köklenme elde edilmiştir. Sera koşullarında iklimlendirme sağlanmıştır (Ghaffari ve ark. 2013).

Opuntia ficus-indica bitkisinde yapılan bir diğer çalışmada, daha önce mikro çoğaltılmış bitkilerinden alınan kladod eksplantları, 20 farklı kombinasyonda 2,4-D ve BA takviye edilmiş MS ortamlarında kültürlenmiştir. Eksplantlara, 2,26 μM 2,4-D ve 2,21 μM BA kombinasyonu uygulandığında en iyi kalus indüksiyonu ve rejenerasyon yanıtı gözlemlenmiştir. Rejenere kallus, 0,5 μM BA ile takviye edilmiş MS ortamına aktarıldığında yeni tomurcuklar oluşturduğu görülmüştür. Bitki büyüme düzenleyicileri içermeyen MS ortamında sürgün uzaması ve köklenme sağlanmıştır. Sera ortamına alınan tüm bitkilerin uyum sağladığı gözlenmiştir (Bejarano ve Lopez 2011).

2.3. Pitaya (*Hylocereus spp.*) Bitkisinde *İn vitro* Rejenerasyon Çalışmaları

Pitaya ile ilgili ilk yayın 1992 yılında Infante tarafından yapılmıştır. Bu ilk çalışmada pitayanın mikropropagasyonu, hem olgun meyvelerden toplanan ve 2 hafta oda sıcaklığında kurutulan steril tohumların ekilmesiyle hem de *in vivo* bitkilerden alınan sürgünlerin kültürlenmesiyle elde edilmiştir. Her iki sistemde de eksplantlar, sodyum hipoklorit ile yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Tohumlar 15 dakika boyunca %10 sodyum hipoklorit ve *in vivo* sürgünler 10 dakika boyunca %5 sodyum hipoklorit kullanılarak sterilize edilmiştir. Eksplantlar daha sonra steril musluk suyu ile birkaç kez durulanmıştır. Tohumlar, büyüme düzenleyiciler olmadan MS ortamında çimlendirildikten sonra, epikotiller (15-20 mm uzunluğunda), kökler ve kotiledonlar çıkarılarak çoğalma ortamlarına aktarılmıştır. 0,6 μM BA ve 0,6 μM IBA ile zenginleştirilmiş bu çoğalma ortamında sürgün büyümesi sağlanmıştır. İkinci alt kültürde, her iki ortamdan alınan sürgünler, farklı oranlarda BA (2,2 ve 4,4 μM) ve NAA (0,05, 0,27, 0,54) içeren ortamlara aktarılmıştır. 6 hafta sonunda, her iki eksplant için, 4,4 μM BA + 0,27 μM NAA içeren ortamda en iyi sürgün rejenerasyonu sonucu elde edilmiştir. Ortamlarda kallus oluşumu gözlemlendiği ve kısa sürgünlerin oluştuğu bildirilmiştir (Infante 1992).

Pitayanın mikro çoğaltılması için yapılan başka bir çalışmada, olgun bitkinin genç sürgünlerinden çıkarılan eksplantlar, 0,5 μM NAA ve 0,5 μM TDZ içeren MS ortamında kültürlenmiştir. Bu ilk eksplantlardan üretilen sürgünler, ikinci eksplantlar üretmek için, baş kısmı kesilerek ve boyuna üç parçaya bölünerek farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyici içeren MS ortamlarına aktarılmıştır. Bu ortamlar 0,5 μM NAA ve 0,01, 0,09, 0,5 ve 0,9 μM oranlarında TDZ eklenerek oluşturulmuştur. 4 hafta sonunda elde edilen verilere göre baş kısmı kesilen eksplantların, uzunlamasına eksplantlardan

daha fazla sürgün ürettiği görülmüştür. En uzun sürgün 33 mm olarak baş kısmı kesilen eksplantlardan 0,5 µM NAA + 0,01 µM TDZ içeren ortamdan elde edilmiştir. Eksplant başına sürgün sayısının en fazla, 0,5 µM NAA + 0,5 µM TDZ içeren ortamdan ve baş kısmı kesilen eksplantlardan 8,7 olarak elde edildiği görülmektedir. Bu ortamda, boyuna kesilen eksplantlarda 3,2 sürgün oluşumu kaydedilmiştir. İkincil eksplantlardan üretilen sürgünlerin, MS ortamında köklendirilerek toprağa aktarıldığı bildirilmiştir (Mohammed Yasseen 2002).

Hylocereus undatus türü pitaya tohumlarının sürgün rejenerasyon potansiyelinin incelediği bir çalışmada, MS ortamında çimlendirilmiş aseptik bitkilerin yaprak ve gövde kesimleri eksplant olarak kullanılmıştır. Bu eksplantlar, 0,01 mg/L NAA ile takviye edilmiş ve 3 farklı (2, 2,5, 3 mg/L) konsantrasyonda BA eklenmiş MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Yüzey sterilizasyonu için, tohumlar gece boyunca ıslatılmış ve 2 dakika boyunca %70 etanol püskürtülmüştür. Ardından %6 Tween 20 içeren %1 sodyum hipoklorit çözeltisine 10 dakika daldırılarak yüzey sterilizasyonu sağlanmıştır. Eksplant tipinin sürgün tomurcuklarının rejenerasyon yeteneğini büyük ölçüde etkilediği raporlanmıştır. Gövde eksplantları (18 sürgün/eksplant), yaprak eksplantlarından (3 sürgün/eksplant) çok daha yüksek rejenerasyon sergilemiştir. 4 hafta içinde, 2,5 mg/L BA ve 0,01 mg/L NAA takviye edilmiş MS ortamı üzerindeki eksplantlarda sürgün oluşumu başlamış ve sürgünlerin aynı ortamda 1,5 cm'ye kadar uzaması yaklaşık 60 gün sürdüğü bildirilmiştir. Gövde ve yaprak eksplantlarının, diğer hormon kombinasyonlarına kıyasla 2,5 mg/L BA ve 0,01 mg/L NAA takviyeli MS ortamında en fazla sürgün rejenere ettiği bildirilmiştir (Dahanayake N ve Ranawake AL 2011).

Hylocereus costaricensis türü pitaya bitkilerinin areolleri içeren kısımlarının eksplant olarak kullanıldığı bu çalışmada, kültür başlangıcı, tomurcuk oluşumu ve büyümesi, sürgün çoğalması, köklenme ve iklimlendirmeyi etkileyen faktörler incelenmiştir. Yüzey sterilizasyonu prosedüründe, birinci denemede bir areol içeren eksplantlara sıralı olarak 10 dakika boyunca Extran alkalın deterjan ile 10 dakika muamele edilmiş ve ardından 15-30 saniye boyunca %70'lik etanol, 15 ve 30 dakika süreyle mantar ilacı Benomyl ve bakterisit olan Agrymicin (her biri 2 g/L) içeren bir karışımına daldırılmıştır. Daha sonra 15 dakika boyunca 100 ml ortamda bir damla oranında Tween 20 eklenmiş %1'lik sodyum hipoklorit içinde bekletildiği bildirilmiştir. İkinci yüzey sterilizasyonu denemesinde 5-6 aerole içeren bitki kısımları eksplant olarak kullanılmış ve diğer denemede yer alan prosedür uygulanmış fakat Benomyl-Agrymicin muamelesi sadece 30 dakika denenmiştir. Birinci deneme sonucu, 15 dakika boyunca

Benomyl-Agrymicin muamelesi yapıldığında %100 kontaminasyon görüldüğü bildirilmiştir. Eksplantların tam dezenfeksiyonu sadece Agrymicin ve Benomyl solüsyonunda 30 dakika yıkama ile sağlandığı raporlanmıştır. Fakat, eksplantların %61'inin, muhtemelen dezenfeksiyon işlemi nedeniyle ciddi şekilde hasar gördüğü bildirilmiştir. İkinci denemede, eksplantların sadece %16'sının hasar seviyesinde önemli bir azalma olduğu ve herhangi bir kontaminasyon gözlemlenmediği bildirilmiştir. İkinci denemeden elde edilen eksplantlar, 15 ve 30 μ M BAP ile desteklenmiş MS besiyerinde kültürlenmiş ve 3 ay boyunca aylık alt kültürlerle alınmıştır. Ardında farklı konsantrasyonlarda (0, 1, 2, 5, 15 ve 30 μ M) BAP içeren ortamlara aktarılmıştır. 80 günlük kültür sonunda, eksplant başına sürgün sayısı en fazla $5 \pm 0,8$ olarak 30 μ M BAP ortamında elde edilmiştir. 15 μ M BAP ortamında %100 kallus oluşumu görülmüştür. Eksplantların %80' inden fazlasında tomurcuk filizlenmesi, sürgünlerin yeterli büyümesi, yanal sürgünlerin üretimi ve 160 gün içinde kendiliğinden köklenme gözlemlendiği bildirilmiştir. Bu bitkiler, serada vermikülit ve turba yosununda (1:1) ya da perlit ve turba yosununda (2:1) başarıyla iklimlendirilerek %90'ın üzerinde hayatta kalma oranı sağlandığı raporlanmıştır. *In vitro* olarak elde edilen bitkilerin %100 başarıyla dış ortama aktarıldığı bildirilmiştir (Viñas ve ark. 2012).

Gövde eksplantı kullanarak, çeşitli genetik altyapıya sahip bir pitaya propagasyon sistemi kurulması amaçlanan bir çalışmada, sürgün çoğalması için en verimli hormon kombinasyonunu belirlemek amacıyla çeşitli bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır. Ortamlar farklı oranlarda ZT, TDZ, 2, 4-D ve BAP hormonlarından oluşturulmuştur. Köklendirme için, yaklaşık 2,5 cm olan sürgünler, 1,23–2,46 μ M IBA veya 0,54–1,34 μ M NAA içeren MS ortamına alınmıştır. Sterilizasyon prosedüründe, gövde eksplantlarına 1 dakika süreyle %75 etanol, ardından 10 dakika boyunca %0,1 HgCl₂ ile muamele edilmiş ve beş kez steril su ile durulanmıştır. Yapılan çalışmada, eksplant başına en fazla sürgün, yani 4,6 (13,68 μ M ZT), 4,8 (0,11 μ M TDZ), 4,3 (17,76 μ M BAP) ve 3,2 (0,23 μ M 2, 4-D) oranlarında elde edilmiştir. En iyi bitki büyüme düzenleyici kombinasyonu, eksplant başına en fazla sürgünü ve en kuvvetli sürgünleri üreten 3 μ M ZT ve 0,5 μ M IBA içeren MS ortamı olarak bildirilmiştir. En iyi bitki büyüme düzenleyici kombinasyonunda kültürlenerek iki çeşit ve altı üstün seleksiyondan eksplant başına 6' dan fazla sürgün elde edilmiştir. Bu sonuçlar, 13,68 μ M ZT ve 2,46 μ M IBA içeren MS ortamının, çeşitli pitaya çeşitlerinin sürgün propagasyonu için uygun olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, pitaya çoğalmasında ZT ve 2,4-D'nin etkilerine ilişkin ilk sonuçları sunmaktadır (Hua ve ark. 2014).

Dormant tomurcukların eksplant olarak kullanıldığı, *Hylocereus polyrhizus* için yüksek verimli rejenerasyon sistemini araştıran bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (4, 4,5, 5 ve 5,5 mg/L) BA ve (0,06, 0,08, 0,1 ve 0,12 mg/L) NAA hormon kombinasyonları kullanılmıştır. Yüzey sterilizasyonunda, farklı konsantrasyon ve sürelerde HgCl₂ uygulaması sağlanmıştır. Pitaya eksplantlarının optimal yüzey sterilizasyon prosedürünün 7 dakika boyunca %0,2 HgCl₂ uygulaması olduğu, denemelerde ki en düşük kontaminasyon oranının bu uygulamada %15 olarak kaydedildiği bildirilmiştir. 5,5 mg/L BA ve 0,1 mg/L NAA içeren MS ortamlarında 30 gün içerisinde, eksplant başına maksimum ortalama sürgün sayısı (6,4) ve maksimum ortalama bitki boyu (2,8 cm) elde etmişlerdir. Köklendirme için 0,5 mg/L NAA ve 0,3 mg/L IBA eklenen yarı MS ortamında (1/2 MS), en yüksek (%92) köklenme tepkisi ile eksplant başına ortalama 7,21 kök oluşumu görülmüştür. Kırmızı pitaya'nın doku kültürlü fideleri, bu prosedür ile %100'e varan bir hayatta kalma oranı sergilediği bildirilmiştir (Qin ve ark. 2017).

Yakın zamanda farklı pitaya çeşitlerinin genç sürgünleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, 6-benzilaminopurin, gibberellik asit, indol-3-butirik asit gibi farklı bitki büyüme düzenleyicileri takviye edilmiş MS bazal besiyerinde eksplantlar kültürlenmiştir. En yüksek eksplant başına sürgün sayısı değeri (5,41) 2 mg/L BAP katkılı MS ortamında yetiştirilen Halley's Comet çeşidinde bulunmuştur. En düşük değer (1,84) 2 mg/L BAP katkılı MS ortamında yetiştirilen Bloody Mary çeşidinde tespit edilmiştir. Köklendirme çalışmaları sonuçlarına göre besiyeri ve pitaya çeşitleri karşılaştırıldığında %10-95 arasında kök oluşumu tespit edilmiştir. Köklenme için en iyi ortam 1 mg/L IBA katkılı MS ortamı tespit edilirken, bitki büyüme düzenleyicileri içermeyen MS ortamının da köklendirme için kullanılabileceği belirlenmiştir. Sonuçlara göre sağlıklı ve çok sayıda pitaya fidanı elde edildiği bildirilmiştir (Bozkurt ve ark. 2020).

Hylocereus costaricensis'in *in vitro* çimlendirilmiş fideleri, farklı ışık fotoperiyotları altında (16 saat fotoperiyot ve karanlık), çeşitli konsantrasyonlarda NAA ve TDZ eklenmiş yarı MS ortamında kallus indüksiyon potansiyelleri açısından incelenmiştir. Eksplant olarak *in vitro* çimlendirilmiş 60 günlük fidelerin epikotil ve kotiledon kısımları kullanılarak 5, 10, 15, 20, 25 µM konsantrasyonlarında NAA ve TDZ içeren yarı MS ortamlarında kültürlenmiştir. Pikloram herbisiti ve 2,4-D bitki büyüme düzenleyicisinin farklı kombinasyonları, kotiledon eksplantlarında kallus oluşumu için test edilmiştir. Ortamlar, ışık etkisini denemek amacıyla 16 saat fotoperiyotta ve karanlık ortamda bekletilmiştir. Çalışma sonuçlarında, 16 saatlik fotoperiyot altında inkübe edilen

kotiledon eksplantları, kallus indüksiyonunda genellikle epikotil eksplantlarından daha duyarlı olduğu görülmüştür. Karanlık ortama göre ışık ortamı daha iyi sonuçlar sağlamıştır. Taze kallus kütesinin, 5–20 μ M NAA aralığında önemli ölçüde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Farklı TDZ muamelelerine maruz kaldığında kotiledon eksplantlarının kallus indüksiyon yüzdesi %94 ila %100 arasında değişmiştir. Bitki düzenleyici içermeyen ortamlarda da kallus oluşumu görülmüştür. Fakat oluşan kalluslarda yapısal farklılıklar gözlemlenmiştir. Pikloram ve 2,4-D ile test edilen 36 kültür ortamı arasında, ortalama taze kallus kütlesi 0,817 g (kontrol ortamına kıyasla 10,2 kat daha fazla) olarak 10 μ M pikloram katkılı yarı MS ortamında elde edildiği bildirilmiştir (Winson ve ark 2020).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deneme Yeri

Bu çalışma ticari bir şirket olan Botanikon Bitki Doku Kültürü Laboratuvarında yürütülmüştür.

3.2. Bitki Materyali

Bu çalışmada bitki materyali olarak kullanılan *Hylocereus undatus* türü ejder meyveleri Mersin Erdemli’de bir üreticiden temin edilmiştir. Meyvelerin tohumları çıkarılarak oda sıcaklığında 5 gün kurutulmuştur.



Şekil 3.1. Başlangıç eksplantı pitaya tohumlarının görünümü

3.3 Besin Ortamı ve Doku Kültürü Koşulları

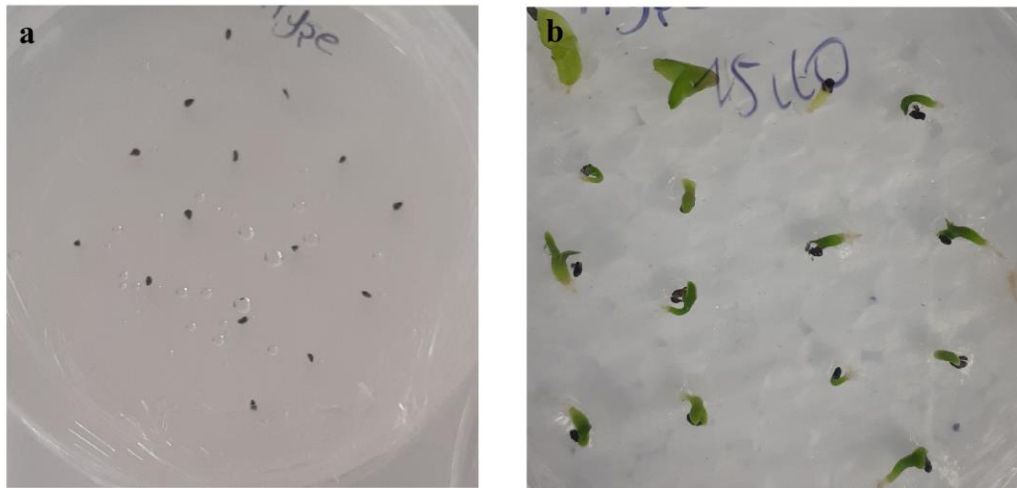
Bu çalışmada MS mineral tuz ve vitaminleri kullanılmıştır. Besi ortamı hazırlamak için distile saf su, %3 süktroz kullanılmış ve %65 agar ile ortam katılaştırılmıştır. Yapılan çalışmaya göre besi ortamlarına 5 farklı konsantrasyonda (0,25, 0,5, 1, 2 ve 3 mg/L) BAP, TDZ ve KIN olmak üzere 3 farklı büyüme düzenleyici takviye edilerek ortamlar hazırlanmıştır. Kontrol grubu olarak bitki büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamı kullanılmıştır. Hazırlanan ortamların pH’ı 1N NaOH veya 1N HCl kullanılarak 5,6 – 5,8’e ayarlanmıştır. Daha sonra 1,2 atmosfer basınç altında 121 °C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilizasyon sağlanmıştır. Hazırlanan kültürler beyaz floresansa veya LED ışığı altında 16 saat ışık fotoperiyodu ile 24 ± 1 °C sıcaklıkta bekletilmiştir.

3.4. Yüzey Sterilizasyonu

Hylocereus undatus türü ejder meyvelerinden çıkarılarak oda sıcaklığında kurutulan rastgele seçilmiş yaklaşık 600 - 700 tohumu, % 0,1 HgCl₂ ile 3 dakika yüzey sterilizasyonu uygulanmıştır. Ardından tohumlar 3 × 5 dakika steril saf su ile durulanmıştır.

3.5. Eksplant İzolasyonu ve Kültürü

Yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra tohumlar çimlendirilmek amacıyla 2 mg/ml BAP ve kararmayı önlemek için 1 mg/ml polivinilpirolidon (PVP) eklenerek hazırlanan MS besiy ortamında kültüre alınmıştır.



Şekil 3.1. (a) MS ortamına ekilen pitaya tohumlarının ilk görünümü (b) MS ortamına alındıktan 2 hafta sonra pitaya tohumlarının çimlenmiş görünümü

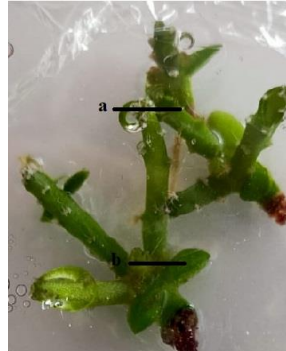
Çimlenmiş tohumlar izole edilerek farklı konsantrasyonlarda (0,25, 0,5, 1, 2 ve 3 mg/L) BAP, TDZ ve KIN olmak üzere 3 farklı büyüme düzenleyici içeren ve kontrol grubu olarak büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamlarında kültüre alınmıştır. Ortamlar steril petrilerde oluşturulmuştur. Kültür ortamları beyaz floresansa veya LED ışığı altında 16 saat ışık fotoperiyodu ile 24 ± 1 °C sıcaklıkta bekletilmiştir.

3.6. Köklendirme ve Adaptasyon

In vitro ortamda rejenerasyonu sağlanmış sürgünler 1 mg/L IBA ve 1 mg/L IAA olmak üzere iki farklı büyüme düzenleyici bulunduran MS ortamlarına alınarak köklendirme sağlanmıştır. Elde edilen sürgünler dış koşullara adaptasyon sağlaması için 1:1:1 torf, perlit ve toprak içeren saksılara aktarılmıştır.

3.7. *İn Vitro* Çoğaltılmış Bitkilerden Veri Alımı

Farklı konsantrasyonlarda hormonlar ile zenginleştirilmiş ortamlarda işlem gören eksplantlar 4 hafta boyunca kültürlendikten sonra kallus oluşumu yüzdesi, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu (cm) parametreleri toplanmıştır. Kallus oluşturan eksplant sayısı belirlenmiş ve kallus oluşum yüzdesi hesaplanmıştır. Sürgün oluşturan eksplant sayısı belirlenmiş ve sürgün rejenerasyon yüzdesi hesaplanmıştır. Eksplant başına düşen sürgünlerin sayısı tespit edilmiştir. Kültür ortamında oluşan sürgünlerin, sürgün başlangıç noktası ve sürgün ucu arasında kalan uzunluk metre yardımıyla ölçülerek sürgünlerin boyları cm olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1. Sürgün uzunluğunun ölçümü (a) Sürgün ucu (b) Sürgün başlangıcı

3.8. İstatistiksel Analiz

Yapılan araştırma tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuş olup, besi ortamında gelişim 3 tekerrürlü petrilerden takip edilmiştir. Yüzde değeri olarak hesaplanan tüm nicel veriler, varyans analizinden önce arcsin dönüşümüne tabi tutulmuştur. Veriler “SPSS 20 for Windows” programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve ortamları karşılaştırmak için Duncan testi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. *In Vitro* Yüzey Sterilizasyonu

Sterilizasyon bitki doku kültürü çalışmalarında büyüme ve rejenerasyonu etkileyen önemli bir faktördür. Pitaya bitkisi ile yapılan *in vitro* çalışmaların sterilizasyon prosedüründe genel olarak %70 etanol, Tween 20, alkalın deterjan, benomyl, agrymicin gibi ilave muamelerle birlikte sodyum hipoklorit (King 1957; Mohamed-Yasseen 2002; Dahanayake ve Ranawake 2011; Viñas ve ark. 2012; Bozkurt ve ark. 2020) kullanılmıştır. Ek olarak civa klorür (Hua ve ark. 2014; Qin ve ark. 2017) kullanılarak yapılmıştır. Yapılan bu çalışmada tohumlar % 0,1 HgCl₂ ile 3 dakika boyunca sterilize edilmiş ve kimyasal kalıntılarını gidermek amacıyla 3 × 5 dakika steril saf su ile durulanmıştır. Sterilizasyon prosedürü başarılı bir şekilde sağlanmış ve kültür süresi boyunca kontaminasyon görülmemiştir. Sterilize edilen tohumlar MS ortamında kültüre alındıktan 2 hafta sonra %100 çimlenme elde edilmiştir. Çimlenmiş tohumlar farklı konsantrasyonlarda farklı hormon içeren MS ortamına alınarak rejenerasyonları incelenmiştir.

4.2. *In Vitro* Tohum Eksplantından Rejenerasyon Çalışmaları

In vitro koşullarda, steril edilmiş tohumlar, MS ortamında çimlendirilerek 0,25, 0,5, 1, 2 ve 3 mg/L BAP, KIN, TDZ bulunan besi ortamlarında 3 tekerrür olacak şekilde steril petrilerde kültürlenmiştir. Ayrıca, kontrol grubu olarak büyüme düzenleyici içermeyen MS ortamında da eksplantlar kullanılmıştır. Her petri 10 adet çimlenmiş tohumdan oluşturulmuştur. 4 hafta sonra çoklu sürgün oluşumunun gözlemlenmesiyle birlikte bu ortamlardan elde edilen kallus oluşumu yüzdesi, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu verileri toplanmıştır. Elde edilen veriler istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Sonuçları belirlemek için (i) farklı hormonların etkisi ve (ii) hormon x oran kombinasyonlarına ait verilerin varyans analiz sonuçları incelenmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı hormonların tohum eksplantlarının rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi

VK	SD	Kallus oluşumu yüzdesi (%)		Sürgün rejenerasyon yüzdesi (%)	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	3	16453,75	87,015**	11044,444	29,392**
Hata	44	189,091	-	375,758	-
Genel Toplam	47	-	-	-	-
VK	SD	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
Ortamlar	3	3,019	22,202**	0,744	9,186**
Hata	44	0,136	-	0,081	-
Genel Toplam	47	-	-	-	-

**P<0,01 düzeyinde önemlidir; VK: Varyasyon Kaynağı
SD: Serbestlik Derecesi; KO: Kareler Ortalaması; F: F Değeri

Çizelge 4.1.'de bitki büyüme düzenleyici üzerine yapılan varyans analizi sonuçları verilmiştir. Görüldüğü üzere, kallus oluşumu, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerinde kültür ortamında kullanılan farklı hormonların istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) etkisi olduğu bulunmuştur. Bu önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan Testi sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin pitaya tohumlarının *in vitro* rejenerasyonuna etkisi

Hormon	Kallus oluşumu yüzdesi**	Sürgün rejenerasyon yüzdesi**	Eksplant başına sürgün sayısı**	Sürgün uzunluğu**
Kontrol	0 ^c ± 7,93	83,33 ^a ± 11,19	1 ^{ab} ± 0,21	0,94 ^a ± 0,16
BAP	17,33 ^b ± 3,55	69,33 ^a ± 5	1,32 ^a ± 0,09	0,84 ^a ± 0,07
KIN	3,33 ^{bc} ± 3,55	70 ^a ± 5	0,88 ^b ± 0,09	0,81 ^a ± 0,07
TDZ	77,33 ^a ± 3,55	14,67 ^b ± 5	0,24 ^c ± 0,09	0,38 ^b ± 0,07

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasındaki fark $p<0,01$ düzeyinde önemlidir.

Çizelge 4.2.'de görüldüğü üzere kallus oluşumu %0-77,33 arasında kaydedilmiştir. Bitki büyüme düzenleyici bulunmayan kontrol ortamında kallus oluşumu gözlemlenmezken, TDZ içeren ortamda en fazla kallus oluşumu kaydedilmiştir. Bitki

büyüme düzenleyiciler kıyaslandığında kallus oluşumu sırasıyla TDZ (%77,33) > BAP (%17,33) > KIN (%3,33) > kontrol (%0) olarak kaydedilmiştir.

Sürgün rejenerasyonu %14,6-83,33 arasında tespit edilmiştir. Bitki büyüme düzenleyici bulunmayan kontrol ortamında en yüksek sürgün rejenerasyonu %83,33 olarak kaydedilirken, en düşük %14,67 olarak TDZ ortamında görülmüştür. Sürgün rejenerasyonu yüzdesine bitki büyüme düzenleyicilerin etki oranı, kontrol (83,33) > KIN (%70) > BAP (%69,33) > TDZ (%14,67) sıralamasıyla kaydedilmiştir.

Eksplant başına sürgün sayısı en yüksek BAP ortamında kaydedilmiştir. Bitki büyüme düzenleyiciler kıyaslandığında BAP (1,32) > kontrol (1) > KIN (0,88) > TDZ (0,24) olarak tespit edilmiştir. KIN ve TDZ ortamı kontrol grubundan daha düşük sonuçlar sağlamıştır.

Sürgün uzunluğu en yüksek 0,94 cm olarak bitki büyüme düzenleyici içermeyen kontrol grubunda görülmüştür. En yakın sonuç 0,84 cm olarak BAP ortamında kaydedilmiştir. KIN ortamında ortalama 0,81 cm uzunluğunda ve TDZ ortamında ortalama 0,38 cm uzunluğunda sürgünler oluşmuştur. Bitki büyüme düzenleyici içeren ortamlarda gelişen sürgünlerin uzunluk ortalaması kontrol grubdan daha düşük sonuçlar sağlamıştır.

Bitki büyüme düzenleyici ile kullanılan konsantrasyonlarının kallus oluşumu yüzdesi, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerine etkisini görmek için elde edilen veriler istatistiksel analize tabi tutulmuştur. Varyans analiz sonuçları ise çizelge 4.3.'de verilmiştir.

Çizelge 4.3. Bitki büyüme düzenleyici ile konsantrasyonların *in vitro* rejenerasyon çalışmasına ait varyans analizi

VK	SD	Kallus oluşumu yüzdesi (%)		Sürgün rejenerasyon yüzdesi (%)	
		KO	F	KO	F
Hormon-Oran	15	3574,306	28,126**	2986,667	19,638**
Hata	32	127,083	-	152,083	-
Genel Toplam	47	-	-	-	-
VK	SD	Eksplant başına sürgün sayısı (adet)		Sürgün uzunluğu (cm)	
		KO	F	KO	F
Hormon-Oran	15	0,783	7,609**	0,304	7,89**
Hata	32	0,103	-	0,039	-
Genel Toplam	47	-	-	-	-

**P<0,01 düzeyinde önemlidir; VK: Varyasyon Kaynağı
SD: Serbestlik Derecesi; KO: Kareler Ortalaması; F: F Değeri

Yapılan varyans analizi sonucunda Çizelge 4.3.'de görüldüğü üzere, kallus oluşumu, sürgün rejenerasyon yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı ve sürgün uzunluğu üzerinde kültür ortamında kullanılan farklı konsantrasyonlarda hormon kullanımının istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) etkisi olduğu bulunmuştur. Bu önem düzeyini belirlemek amacıyla yapılan Duncan Testi sonuçları Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

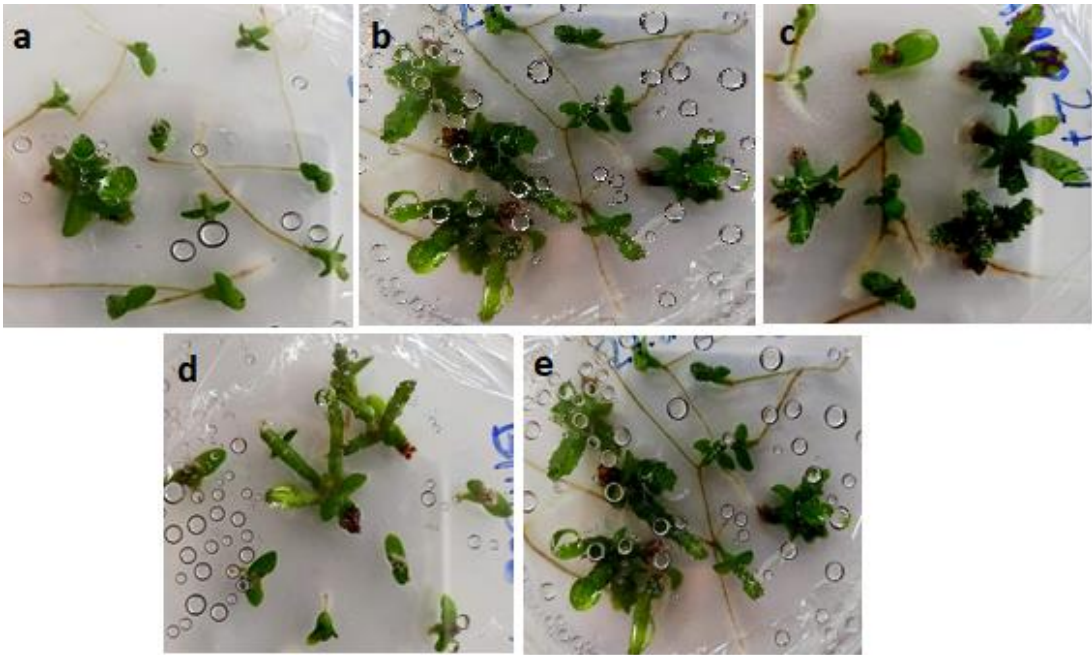
Çizelge 4.4. Farklı bitki büyüme düzenleyici ve konsantrasyonların pitaya tohumlarının *in vitro* rejenerasyonuna etkisi

Oran (mg/L)		Kallus oluşumu yüzdesi**	Sürgün rejenerasyon yüzdesi **	Eksplant başına sürgün sayısı **	Sürgün uzunluğu **
Kontrol		0 ^e ± 0	83,33 ^{ab} ± 3,33	1 ^{abc} ± 0	0,94 ^{abc} ± 0,07
BAP	0,25	10 ^e ± 0	76,66 ^{ab} ± 6,67	0,8 ^{abcd} ± 0,05	0,63 ^{cde} ± 0,12
	0,5	3,33 ^e ± 3,33	93,33 ^a ± 6,67	1,76 ^a ± 0,28	0,9 ^{abc} ± 0,11
	1	6,66 ^e ± 3,33	80 ^{ab} ± 5,77	1,7 ^{ab} ± 0,35	1 ^{ab} ± 0,11
	2	36,66 ^c ± 12,09	40 ^{bc} ± 11,55	1,23 ^{ab} ± 0,32	1,1 ^a ± 0,06
	3	30 ^{cd} ± 5,77	56,66 ^{ab} ± 3,33	1,13 ^{ab} ± 0,14	0,6 ^{cdef} ± 0,15
KIN	0,25	0 ^e ± 0	36,66 ^{bcd} ± 6,67	0,56 ^{bcdef} ± 0,18	0,39 ^{def} ± 0,04
	0,5	0 ^e ± 0	96,66 ^a ± 3,33	0,96 ^{abc} ± 0,03	1,16 ^a ± 0,04
	1	0 ^e ± 0	80 ^{ab} ± 10	1 ^{abc} ± 0,2	1,2 ^a ± 0,15
	2	13,33 ^{de} ± 3,33	73,33 ^{ab} ± 12,01	1,13 ^{ab} ± 0,2	0,73 ^{bcd} ± 0,14
	3	3,33 ^e ± 3,33	63,33 ^{ab} ± 12,01	0,76 ^{abcde} ± 0,27	0,6 ^{cdef} ± 0,06
TDZ	0,25	63,33 ^b ± 8,82	10 ^e ± 5,77	0,13 ^f ± 0,09	0,24 ^f ± 0,12
	0,5	90 ^a ± 5,77	20 ^{cde} ± 0	0,26 ^{def} ± 0,07	0,43 ^{def} ± 0,12
	1	73,33 ^{ab} ± 8,82	20 ^{cdce} ± 5,77	0,4 ^{cdef} ± 0,06	0,6 ^{cdef} ± 0,06
	2	80 ^{ab} ± 5,77	16,66 ^{de} ± 3,33	0,16 ^{ef} ± 0,03	0,26 ^{ef} ± 0,12
	3	80 ^{ab} ± 15,27	6,66 ^e ± 3,33	0,23 ^{def} ± 0,12	0,36 ^{def} ± 0,18

**Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortamlar arasındaki fark $p<0,01$ düzeyinde önemlidir.

Eksplantlar, farklı konsantrasyonlarda BAP hormonu içeren kültür ortamlarına alındıktan 4 hafta sonra çoklu sürgün oluşumu sağlanmış ve veriler toplanmıştır. 4 hafta sonunda kültür ortamlarının görünümü Şekil 4.1.'de verilmiştir. Çizelge 4.4' de belirtildiği üzere BAP hormonunun farklı konsantrasyonlarda kullanımı farklı etkilere yol

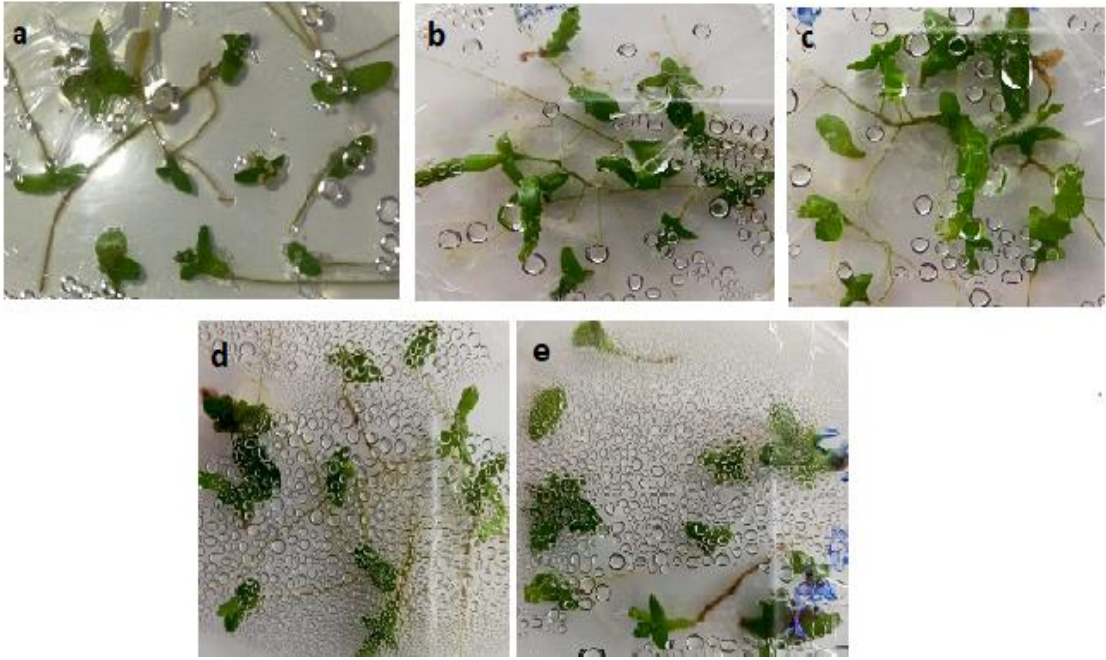
açmıştır. Kallus oluşumuna etkisi konsantrasyondan bağımsız değişkenlik göstermiştir. Sürgün rejenerasyon yüzdesi konsantrasyondan bağımsız olarak %40 - %93,33 arasında kaydedilmiştir. 0,5 mg/L BAP ortamında en yüksek sürgün rejenerasyonu görülmüş ve kontrol grubundan daha başarılı sonuç sağlamıştır. Kontrol grubuna kıyasla 0,5, 1, 2 ve 3 mg/L oranında BAP içeren ortamlarda daha yüksek eksplant başına sürgün sayısı sonuçları sağlamıştır. 0,5 mg/L ortamından sonra konsantrasyon arttıkça eksplant başına sürgün sayısında azalma kaydedilmiştir. 2 mg/L BAP ortamına kadar konsantrasyonun artması sonunucu sürgün uzunluğunda artış kaydedilmiştir fakat 3 mg/L BAP ortamında daha kısa sürgünler oluşmuştur.



Şekil 4.1. Çimlenmiş tohum eksplantlarının farklı konsantrasyonlarda BAP ortamında kültüre alındıktan 4 hafta sonra genel görünümü (a) 0,25 mg/L BAP (b) 0,5 mg/L BAP (c) 1 mg/L BAP (d) 2 mg/L BAP (e) 3 mg/L BAP

Farklı oranda KIN bulunan besi ortamları 3 tekerrür olacak şekilde steril petrilerde kültürlenmiş olan çimlenmiş tohum eksplantları 4 hafta sonunda çoklu sürgünler oluşturmuştur. 4 hafta sonunda KIN içeren kültür ortamlarının görünümü Şekil 4.2.'de verilmiştir. Çizelge 4.4' de görüldüğü üzere en iyi sürgün rejenerasyonu %96,66 oranıyla 0,5 mg/L konsantrasyonda KIN içeren ortamda görülmüş ve konsantrasyon yükseldikçe sürgün rejenerasyonu yüzdesinde azalma kaydedilmiştir. En düşük sürgün rejenerasyonu %36,66 oranında 0,25 mg/L KIN ortamında gözlenmiştir. Eksplant başına sürgün sayısı sadece 2 mg/L KIN ortamında kontrol grubundan daha iyi sonuç sağlarken, diğer

konsantrasyonlarda KIN kullanımı kontrol grubuyla aynı ve daha düşük sonuçlar vermiştir. 2 mg/L KIN ortamına kadar konsantrasyon arttıkça eksplant başına sürgün sayısının da arttığı görülmektedir. Yapılan analiz sonucunda sürgün uzunluğu 0,39-1,2 cm arasında kaydedilmiştir. 1 mg/L KIN ortamına kadar konsantrasyonun artması sürgün uzunluğunda artış sağlarken, 1 mg/L KIN ortamından sonra konsantrasyonun azalması daha kısa sürgünlerin oluşmasına yol açmıştır. 0,25, 0,5 ve 1 mg/L KIN ortamlarında kallus oluşumu görünmemesine rağmen 2 ve 3 mg/L KIN ortamlarında %13,33, %3,33 oranlarında kallus oluşumu kaydedilmiştir.



Şekil 4.2. Çimlenmiş tohum eksplantlarının KIN ortamlarında kültüre alındıktan 4 hafta sonra genel görünümü (a) 0,25 mg/L KIN (b) 0,5 mg/L KIN (c) 1 mg/L KIN (d) 2 mg/L KIN (e) 3 mg/L KIN

Farklı oranlarda TDZ içeren besi ortamlarında 3 tekerrür olacak şekilde yürütülen rejenerasyon denemesinde, 4 hafta sonunda veriler toplanmıştır. TDZ içeren kültür ortamlarının görünümü Şekil 4.3.'de verilmiştir. Çizelge 4.4. incelendiğinde TDZ kültür ortamlarında, en yüksek oranda kallus oluşumu gözlenmiştir. En çarpıcı sonuç 0,5 mg/L TDZ ortamında %90 kallus oluşumu olarak görülmüştür. Sürgün rejenerasyonu yüzdesi oldukça düşük seyretmiştir. En yüksek 0,5 ve 1 mg/L oranda TDZ içeren ortamda %20 rejenerasyon izlenmiştir. 1 mg/L TDZ ortamından sonra konsantrasyonun artması sürgün rejenerasyon yüzdesinde düşüşe neden olmuştur. Eksplant başına sürgün sayısı 0,13-0,4 arasında değişiklik gösterirken en yüksek sonuç 1 mg/L TDZ ortamında alınmıştır. 1 mg/L TDZ ortamına kadar konsantrasyon artışıyla sürgün uzunluğu artarak ilerlemiştir.

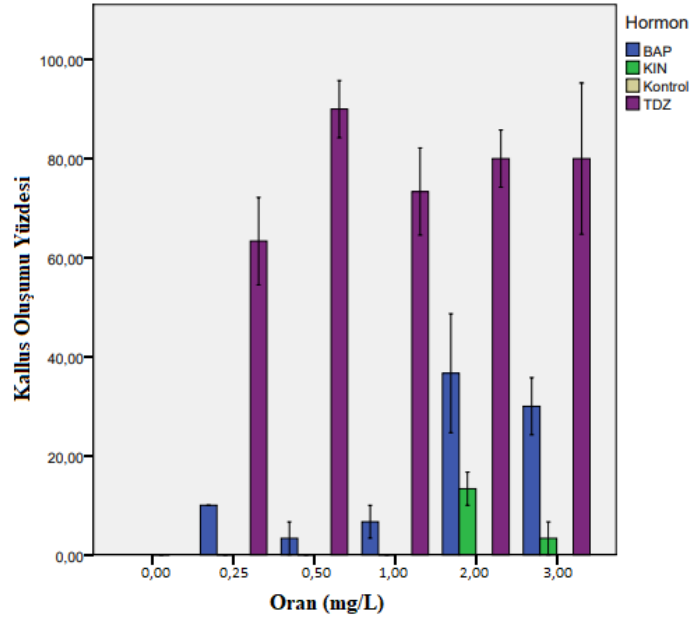
En yüksek sürgün uzunluğu 0,6 cm ile sürgün sayısında olduğu gibi 1 mg/L TDZ ortamında kaydedilmiştir.



Şekil 4.3. Çimlenmiş tohum eksplantlarının TDZ ortamlarında kültürü alındıktan 4 hafta sonra genel görünümü (a) 0,25 mg/L TDZ (b) 0,5 mg/L TDZ (c) 1 mg/L TDZ (d) 2 mg/L TDZ (e) 3 mg/L TDZ

4.2.1. Kallus oluşumu

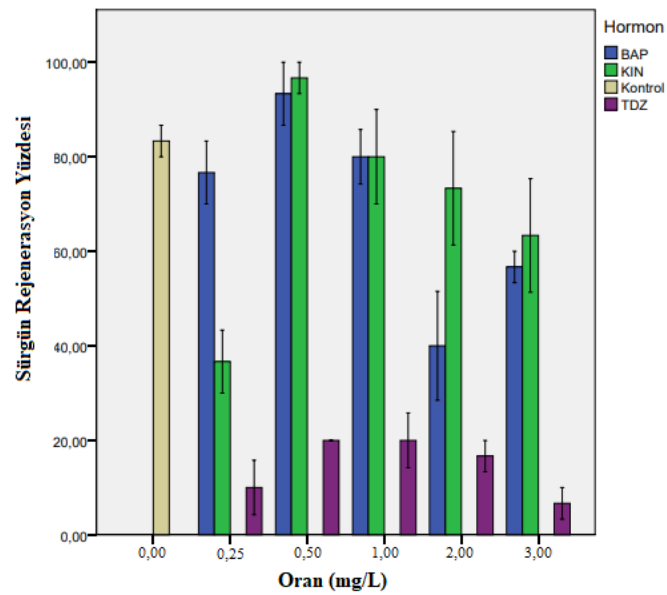
Şekil 4.4.'de görüldüğü üzere bitki büyüme düzenleyici içermeyen kontrol ortamında kallus oluşumu görülmemiştir. Bitki büyüme düzenleyicilerin kullanımı kallus oluşumunu etkiler nitelikte sonuçlar sağlamıştır. En çarpıcı sonuçlar TDZ hormonu bulunan ortamlarda görülmüştür. Kallus oluşumunun en yüksek yüzdesi 0,5 mg/L TDZ içeren ortamda %90 oranında elde edilmiştir. TDZ içeren ortamlarda oluşan kallusların sert ve büyük yapılı olduğu Şekil 4.3.'de görülmektedir. KIN hormon ortamlarında kallus oluşumu TDZ ve BAP ortamlarına göre daha düşük sonuçlar sağlamıştır. BAP ortamlarında en yüksek kallus oluşumu 2 mg/L konsantrasyonda %36,66 oranında elde edilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı oranlarda kullanılan hormonların kallus oluşumuna etkisi

4.2.2. Sürgün rejenerasyonu

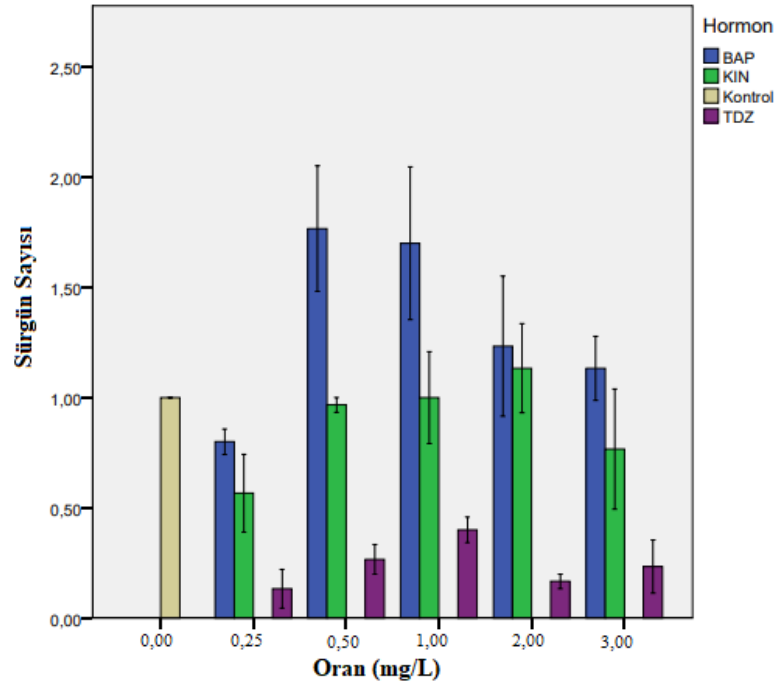
Farklı konsantrasyonlarda kullanılan hormonların sürgün rejenerasyonuna etkisi Şekil 4.5.' de verilmiştir. Sürgün rejenerasyonu için en iyi sonuç 0,5 mg/L KIN içeren ortamda %96,66 olarak görülmüştür. En yakın sonuç 0,5 mg/L BAP ortamında %93,33 sürgün rejenerasyonu olarak kaydedilmiştir. Diğer ortamlarda kontrol grubuna kıyasla daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. En düşük sonuçlar TDZ ortamlarında kaydedilmiştir.



Şekil 4.5. Farklı oranlarda kullanılan hormonların sürgün rejenerasyonuna etkisi

4.2.3. Eksplant başına sürgün sayısı

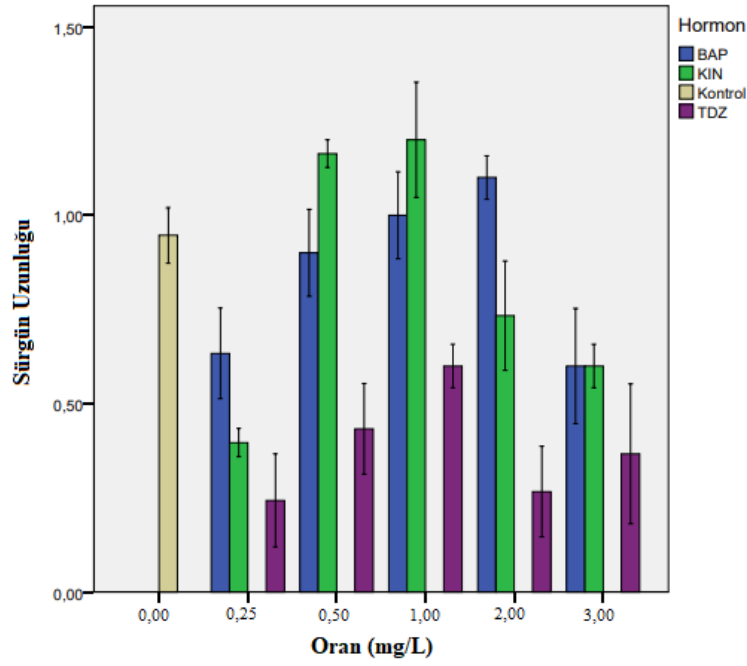
Eksplat başına sürgün sayısına farklı oranlarda kullanılan hormonların etkisi Şekil 4.6.'da verilmiştir. BAP ortamları diğer ortamlara göre daha iyi sonuçlar sağlamıştır. En yüksek sürgün sayısının 0,5 mg/L BAP ortamında 1,76 olarak elde edildiği çizelge 4.4.'de görülmektedir. KIN ortamları, BAP ortamlarından daha düşük ve kontrol grubuna yakın sonuçlar vermiştir. En düşük sürgün sayısı TDZ içeren ortamlarda kaydedilmiştir.



Şekil 4.6. Farklı oranlarda kullanılan hormonların sürgün sayısına etkisi

4.2.4. Sürgün uzunluğu

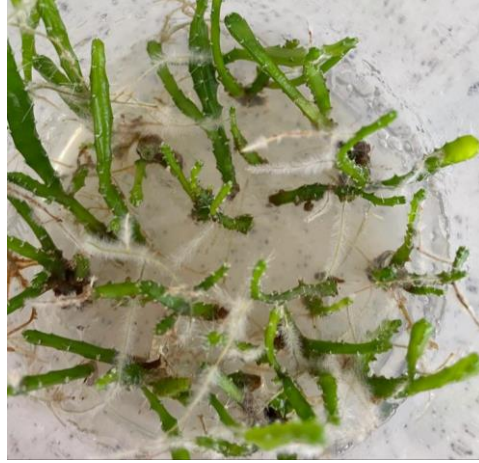
Sürgün uzunluğuna farklı oranlarda kullanılan hormonların etkisi Şekil 4.7.'de görülmektedir. Sürgün uzunlukları genel olarak birbirine yakın olamakla birlikte, en iyi sonuç, 1 mg/L KIN ortamında 1,2 cm uzunluğunda sürgün oluşumu olarak elde edilmiştir. Bu sonuca en yakın bulgular, 0,5 mg/L KIN ve 2 BAP ortamında elde edilmiştir. En kısa sürgünler 0,25 mg/L TDZ içeren ortamda oluşmuştur.



Şekil 7.8. Farklı oranlarda kullanılan hormonların sürgün uzunluğuna etkisi

4.3. Köklendirme

İn vitro ortamda rejenerasyonu sağlanmış pitaya sürgünleri 1 mg/L IBA ve 1 mg/L IAA olmak üzere iki farklı MS ortamında köklendirme denemesine alınmıştır. 8 hafta boyunca besin ortamlarında beyaz floresansa veya LED ışığı altında 16 saat ışık fotoperiyodu ile 24 ± 1 °C sıcaklıkta bekletilen bitkiler ile yapılan köklendirme denemesi sonucu her iki bitki büyüme düzenleyici içeren ortamda da %100 köklenme kaydedilmiştir. 1 mg/L IAA ile zenginleştirilmiş MS ortamında yer alan bitkilerde kök oluşumu 2-3 cm arasında gözlemlenirken, 1 mg/L IBA ortamında 1-2 cm köklenme görülmüştür. Köklendirme sonrası bitkiler adaptasyon ortamına aktarılmıştır.



Şekil 1.8. İn vitro koşullarda pitaya bitkisini 1 mg/L IAA ortamında kök rejenerasyonu

4.4. Adaptasyon

Rejenerasyon, bitki doku kültürü protokolünün son adımı olarak *in vitro* köklü sürgünlerin dış koşullara adaptasyonunu sağlamak amacıyla büyüme odası, sera veya tarla koşulları altında uyumunu sağlamaktır. Bu denemede köklendirme ortamında 8 hafta kalan ve başarılı bir şekilde kök oluşumu sergileyen sürgünler 1:1:1 oranında torf, perlit ve toprak içeren saksılara aktarılmıştır.



Şekil 1.9. Pitaya bitkisini toprak ortamına aktarımı

Toprak ortamında %90 oranında canlılık gözlemlenmiştir. Toprak ortamında 3 hafta boyunca takip edilmiş ve yavaş büyüme kaydedilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Farklı konsantrasyonlarda BAP, KIN ve TDZ büyüme hormonlarının *Hylocereus spp.* bitkisinin kallus oluşumu yüzdesi, sürgün rejenerasyonu yüzdesi, eksplant başına sürgün sayısı, sürgün uzunluğu parametreleri üzerine etkisini incelemek için bu çalışma yapılmıştır.

Sterilizasyon prosedüründe % 0,1 HgCl₂ ile 3 dakika yüzey sterilizasyonu sonucu kontaminasyon gözlenmemiş ve başarılı bir sterilizasyon bildirilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda, % 0,1 HgCl₂ ile 7 dakika boyunca yapılan sterilizasyon prosedürü sonucunda %15’lik kontaminasyon (Qin ve ark. 2017) raporlanırken bu denemede benzer bir sonuçla karşılaşılmamıştır. Agrymicin + Benomy (her biri 2 g/L) kullanarak yapılan sterilizasyon denemesinde 15 dakika boyunca muamele sağlanığında %100 kontaminasyon gözlemlendiği bildirilmiştir. Süre denemesini 30 dakikaya çıkarıldığında kontaminasyon görülmediği fakat %61 oranında eksplanta zarar verdiği raporlanmıştır (Viñas ve ark. 2012).

Farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyiciler içeren ortamlarda ve kontrol grubunda yapılan denemelerde, en yüksek kallus oluşumu, diğer ortamlara göre yüksek oranda farklılıkla TDZ bulunan kültür ortamlarında gözlemlenmiştir. 0,5 mg/L TDZ ortamında %90 kallus oluşumu en yüksek orandır. Bu ortamlarda oluşan kalluslar diğer ortamlara göre oldukça büyük yapılıdır. TDZ ortamında sürgün rejenerasyonu, sürgün sayısı ve uzunluğu çok düşük oranlar sergilemiştir. Bunun sebebi eksplantlarda oluşan kallusların sürgün oluşumunu büyük ölçüde inhibe etmesi olabilir. Benzer şekilde, *H. costaricensis* bitkisi farklı konsantrasyonlarda TDZ içeren ortamlarda kültüre alındığında %94 ila %100 kallus oluşumu görüldüğü bildirilmiştir (Winson ve ark 2020). *Hylocereus costaricensis* türü pitaya bitkisinde yürütülen başka bir çalışmada 15 µM BAP ortamında %100 kallus oluşumu raporlanmıştır (Viñas ve ark. 2012). Pitaya bitkisinde yapılan ilk bitki doku kültürü denemesinde, NAA ve BA ile zenginleştirilmiş ortam üzerindeki fidelerden veya çoğalan sürgünlerden kolaylıkla kallus oluşumunun uyarılabildiği bildirilmiştir (Infante 1992).

Sürgün rejenerasyonu için en iyi sonuç %96,66 olarak 0,5 mg/L KIN ilave edilmiş MS ortamında görülmüştür. 0,5 mg/L oranından daha yüksek oranda KIN kullanımın sürgün rejenerasyonunda düşüşe sebep olduğu görülmüştür. En yakın oran 0,5 mg/L BAP içeren MS ortamında %93,33 sürgün rejenerasyonu elde edilmesiyle sağlanmıştır. Hormonların sürgün rejenerasyonuna ortalama etkisi değerlendirildiğinde, bitki büyüme

düzenleyici içermeyen MS ortamında en yüksek %83,33 sürgün rejenerasyon yüzdesi elde edilmiştir. TDZ ile yapılan deneme ortamlarının hepsinde çok düşük oranda rejenerasyon sağlanmıştır.

Eksplant başına sürgün sayısı, BAP bitki düzenleyicisinin bulunduğu ortamlarda en yüksek oranda sonuç vermiştir. 0,5 mg/L BAP ortamında 1,76 sürgün sayısı en yüksek veri olarak kaydedilmiştir. KIN ilave edilmiş MS ortamından alınan veriler BAP ortamına göre düşük kalmıştır. Farklı eksplantlar kullanılarak yürütülen bir çalışmada, 4 hafta sonunda alınan verilere göre 0,5 μ M NAA + 0,5 μ M TDZ ortamında, baş kısmı kesilen eksplantların (8,7), uzunlamasına eksplantlardan (3,2) daha fazla sürgün ürettiği görülmüştür (Mohammed Yasseen 2002). Gövde ve yaprak eksplantları ile yapılan bir çalışmada, 4 hafta içerisinde 2,5 mg/L BA ve 0,01 mg/L NAA takviyeli MS ortamında en fazla sürgün rejenerasyon edildiği, gövde eksplantlarında 18 sürgün/eksplant, yaprak eksplantlarında 3 sürgün/eksplant oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir (Dahanayake ve Ranawake 2011). Farklı bir denemede eksplant başına en fazla sürgün, yani 4,6 (13,68 μ M ZT), 4,8 (0,11 μ M TDZ), 4,3 (17,76 μ M 6-BA) ve 3,2 (0,3 μ M 2, 4-D) oranlarında elde etmişlerdir. En iyi bitki büyüme düzenleyici kombinasyonu, eksplant başına en fazla sürgünü ve en kuvvetli sürgünleri üreten 3 μ M ZT ve 0,5 μ M IBA'ya sahip MS ortamında görerek daha başarılı sonuçlar bildirmişlerdir (Hua ve ark. 2014). Kullanılan eksplant seçiminin rejenerasyon oranını etkilediği ve buna bağlı olarak sürgün rejenerasyonunun literatürde yer alan diğer çalışmalara göre düşük kaldığı söylenebilir. Aynı zamanda bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyon halinde kullanılarak daha başarılı sonuçların elde edileceği düşünülmektedir.

Bu denemede en yüksek sürgün uzunluğu 1,2-1,16 cm olarak 1 mg/L – 0,5 mg/L KIN ortamında kaydedilmiştir. Bu sonuçlara en yakın veriler, 2 mg/L ve 1 mg/L BAP ortamlarında 1,1 ve 1 cm olarak gözlemlenmiştir. Hormonların sürgün rejenerasyonuna ortalama etkisi değerlendirildiğinde 0,94 cm ortalama sürgün uzunluğu kontrol grubunda elde edilmiş ve sırasıyla BAP, KIN, TDZ ortamlarının sürgün uzunluğunu azalttığı görülmüştür. 5,5 mg/L BA ve 0,1 NAA kullandıkları ortamda, 30 gün içerisinde maksimum ortalama bitki boyunu 2,8 cm olarak bildirmişlerdir (Qin ve ark. 2017). Bir diğer çalışmada, en uzun sürgün 33 mm olarak baş kısmı kesilen eksplantlardan 0,5 μ M NAA + 0,01 μ M TDZ içeren ortamdan elde edildiği bildirilmiştir (Mohammed Yasseen 2002). Kullanılan hormon kombinasyonu daha yüksek ortalama bitki boyu elde edilmesinde avantaj sağlamış olabilir.

Bitkiler köklendirme ortamında %100 oranında köklenme sergilemişlerdir. 1 mg/L IBA içeren MS ortamı ortalama 1-2 cm uzunluğunda dayanıksız kök oluşumu sağlarken 1 mg/L IAA takviye edilmiş MS ortamında ortalama 2-3 cm uzunluğunda daha canlı ve sağlam kök oluşumu gözlemlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda IBA ve GA₃ ile yapılan denemelerde köklenme için en iyi ortamı 1 mg/L IBA katkılı MS ortamı tespit ederken, bitki büyüme düzenleyicileri içermeyen MS ortamının da köklendirme için kullanılabileceği belirlenmiştir (Bozkurt ve ark. 2020).

Bitkiler köklenme sonrası alınan toprak ortamına %90 oranında uyum sağlamış ve canlılık göstermişlerdir.

Tüm yapılan denemelerde, çimlenme hızı yüksek olmasına rağmen sürgün uzama hızı daha düşük kalmıştır. Aynı şekilde toprağa aktarım sonrasında da yavaş büyüme devam etmektedir. Bu çalışmada karşılaşılan yavaş büyüme eksplant seçimi, tekli bitki büyüme düzenleyici kullanımı kaynaklı olabilir.

Pitaya bitkisinin bitki doku kültürü yöntemi kullanılarak üretilmesine ilişkin, farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin etkisinin değerlendirilmesi, hızlı üretimi sağlayacak en başarılı hormon kombinasyonunun ve eksplant seçiminin sağlanması önem arz etmektedir. Literatürde yer alan diğer çalışmalarda KIN hormonunun etkilerine ait bulgularla karşılaşılmamıştır. Bu çalışmada KIN hormon ortamının, sürgün rejenerasyonu yüzdesi ve sürgün uzunluğu üzerine diğer hormon ortamlarına kıyasla daha yüksek etkileri olduğu tespit edilmiştir. İlerleyen çalışmalarda KIN hormonu ile birlikte, literatürde başarılı sonuçlar sağlamış hormon kombinasyonlarının farklı eksplantlarda denenmesi daha başarılı sonuçların elde edilmesini sağlayabilir.

Pitaya bitkisi son yıllarda, önemli besin içeriği, lezzeti, tıbbi faydaları, farklı kullanım alanları nedeni ile iç ve dış piyasada yüksek bir pazar oranı oluşmaktadır. Fakat talebi karşılayacak miktarda üretim mevcut değildir. Pitaya meyvesi üzerine yapılan çok az sayıda doku kültürü çalışması literatürde yer almaktadır. Bu tez pitaya bitkisinde doku kültürü çalışmalarının devam etmesi için önem taşımaktadır ve bu alandaki açığın kapatılmasına yardımcı olacaktır. Tüm bu nedenler düşünüldüğünde pitaya bitkisi ile daha hızlı büyüme elde edilebilecek denemelerin yapılması literatüre katkı sağlayacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Ahloowalia, B. S. and Savangikar, V. A., 2003, Low cost options for tissue culture technology in developing countries, In: Proceedings of a technical meeting organized by the Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture and held in Vienna, International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria, 41–46.
- Andrade, J. L., Rengifo E., Ricalde, M. F., Simá, J. L., Cervera, J. C. and Vargas-Soto, G., 2006, Light microenvironments, growth and photosynthesis for pitahaya (*Hylocereus undatus*) in an agrosystem of Yucatán, México, *Agrociencia*, Texcoco, México, 40, 687 – 697.
- Ariffin, A. A., Bakar, J., Tan, C. P., Rahman, R. A., Karim, R. and Loi, C. C., 2009, Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil, *Food chemistry*, Malaysia, 114(2), 561-564.
- Babaoğlu, M., Gürel, E., ve Özcan, S., 2001, Bitki biyoteknolojisi I. doku kültürü ve uygulamaları, Konya Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, 1-374.
- Bejarano, A. P. I. and Lopez, P. O., 2011, Development of a regeneration protocol through indirect organogenesis in prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill), *Scientia Horticulturae*, Mexico, 283-288.
- Bhatia, S. and Dahiya, R., 2015, In: Concepts and Techniques of Plant Tissue Culture Science, Modern applications of plant biotechnology in pharmaceutical sciences, Concepts and Techniques of Plant Tissue Culture Science, Elsevier, 122-147.
- Bozkurt, T., İnan, S., and Dündar, İjlal., 2020, Micropropagation of different pitaya varieties, *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, Adana, 13(1), 39-46.
- Castellanos, L., O. L. J., Rosas, M. M., Gonzales, D., Arias, S. and Reverchon, F., 2018, *In vitro* propagation of endangered *Mammillaria* genus (Cactaceae) species and genetic stability assessment using SSR markers, *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*, 518-529.
- Crane, J. H. and Balerdi C. F., 2005, Pitaya (Dragonfruit) growing in the Florida home landscape, *Institute of Food and Agricultural Sciences*, Florida, 1068, 1-9.
- Dahanayake, N, Ranawake, AL., 2011, Regeneration of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) plant-lets from leaf and stem explants, *Tropical Agricultural Research and Extension*, Sri Lanka, 14 (4), 85-89.
- El Obeidy, A. A., 2006, Mass propagation of pitaya (dragon fruit), *Fruits, The International Journal of Tropical and Subtropical Horticulture*, Egypt, 61, 313–319.

- Finti, E., Boullani, R. E., Belayadi, M., Aabd, A. and Mousadik, E., 2013, Micropropagation *in vitro* of *Opuntia ficus-indica* in Southern Morocco, *Acta Horticulturae*, 995, 93-98.
- Gaffari, A., Hasanloo, T. and Nekouei, M. K., 2013, Micropropagation of tuna (*Opuntia ficus – indica*) and effect of medium composition on proliferation and rooting, *International Journal of Biosciences*, Iran, 129-139.
- George, E. F., Hall M. A. and De Klerk G. J., 2008, In: Plant propagation by tissue culture, 3rd edition, Plant growth regulators I: introduction; auxins, their analogues and inhibitors, Springer, Heidelberg, Germany, 175–204.
- Gunasena, H. P. M., Pushpakumara, D. K. N. G., and Kariyawasam, M., 2007, Dragon fruit *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose, *Underutilized fruit trees*, Sri Lanka, 1, 110-141.
- Haber, W. A., 1983, *Hylocereus costaricensis* (Pitahaya Silvestre) Wild Pitahaya, In: Costa Rican Natural History, University of Chicago Press, Chicago 252-253.
- Herman, E. B., 2015, In: Recent advances in plant tissue culture XXI, Media and techniques for growth, regeneration and storage, Agritech Consultants Inc, Shrub Oak, 1-148.
- Hua, Q., Chen, P., Liu, W., Ma, Y., Liang, R., Wang, L., Wang, Z., Hu, G. and Qin, Y., 2014, A protocol for rapid *in vitro* propagation of genetically diverse pitaya, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, China, 120(2), 741-745.
- Infante, R., 1992, *In vitro* axillary shoot proliferation and somatic embryogenesis of yellow pitaya *Mediocractus coccineus* (Salm-Dyck), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, (31), 155-159.
- Jiang, H., Zhang, W., Li, X., Shu, C., Jiang, W. and Cao, J., 2021, Nutrition, phytochemical profile, bioactivities and applications in food industry of pitaya (*Hylocereus spp.*) peels: A comprehensive review, *Trends in Food Science & Technology*, China, 116, 199–217.
- Joshi, M. and Prabhakar, B., 2020, Phytoconstituents and pharmaco-therapeutic benefits of pitaya: A wonder fruit, *Journal of Food Biochemistry*, India, 44 (7), 1-15.
- King, R. M., 1957, Studies in the tissue culture of cacti, *Cactus and Succulent Journal*, (29), 102-104.
- Kumar, P.P. and Loh, C.S., 2012, Plant tissue culture for biotechnology, Plant Biotechnology and Agriculture, Elsevier, Singapore, 9, 131-138.
- Le Bellec, F., Vaillant F. and Imbert E., 2006, Pitahaya (*Hylocereus spp.*): A new fruit crop, a market with a future, *Fruits Journal*, (61), 237-250.

- Le Bellec, F. and Vaillant, F., 2011, Pitahaya (*Hylocereus spp.*), In: Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits, Mangosteen to white sapote, Cambridge : Woodhead Publishing, 247-271.
- Mercado-Silva, E. M., 2018, Pitaya—*Hylocereus undatus* (Haw). In: S. Rodrigues, Eds: Silva, O. E. and Brito, E. S., Exotic fruits reference guide, Elsevier, London, UK, 339–346.
- Mizrahi, Y., Nerd, A. and Nobel, P. S., 1997, Horticultural reviews, cacti as crops, (18), 291-320.
- Mohammed-Yasseen, Y., 2002, Micropropagation of pitaya (*Hylocereus undatus* Britton et Rose), *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, Egypt, (38), 427–42.
- Nerd, A., Sitrit, Y., Kaushik, R. A. and Mizrahi, Y., 2002, High summer temperatures inhibit flowering in vine pitaya crops (*Hylocereus spp.*), *Scientia Horticulturae*, Israel, (96), 343 – 350.
- Phillips, C. G. and Garda, M., 2019, Plant tissue culture media and practices: an overview, *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, USA, 55, 242–257.
- Qin, J., Wang, Y., He, G., Chen, L., He, H., Cheng, X., Xu, K. and Zhang, D., 2017, Highefficiency micropropagation of dormant buds in spine base of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) for industrial breeding, *International Journal of Agriculture and Biology*, China, (19), 193–198.
- Safira, A., Savitri, S. L., Putri, A. R. B., Hamonangan, J. M., Safinda B, Solikhan, T. I., Khairullah R. A. and Puspitarani A. G., 2021, Review on the pharmacological and health aspects of *Hylocereus* or Pitaya: An update, *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, Indonesia, 11 (6), 297-303.
- Santos-Diaz, M. S., Mendez-Ontiveros, R. and Arredondo-Gomez, A., 2003, *In vitro* organogenesis of *Pelecypora aselliformis* Erhenberg (*Cactaceae*), *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant*, 39: 480–484.
- Song, K., Kang, H., Ak, G., Zengin, G., Cziaky, Z., Jeko, J., Kim, D. H., Lee, O. N. And Sivanesan, I., 2020, Micropropagation, phytochemistry and biological activity of the critically endangered *Mammillaria herrerae* Werdermann, *South African Journal of Botany*, 1-10.
- Soydal, A., Gübbük, H., ve Balkıç, R., 2019, Pitaya (*Hylocereus spp.*) çeliklerinin köklenmesi üzerine bakteri konsantrasyonlarının etkileri, *Mediterranean Agricultural Sciences*, Antalya, 32(3), 275-280.
- Ünal, A., Aydın, A. ve Hürkan., K, 2020, Endüstriyel biyoteknoloji uygulamaları ve biyoekonomi, In: Tarımsal ve Endüstriyel Biyoteknoloji Uygulamaları – Biyoekonomi, IKSAD Publishing House, Ankara, Türkiye, 1-151.

- Winson, K. W. S., Chew, B. L., Sathasivam, K. and Subramaniam, S., 2020, The establishment of callus and cell suspension cultures of *Hylocereus costaricensis* for the production of betalain pigments with antioxidant potential, *Industrial Crops and Products*, Malaysia, 155, 1-16
- Zee, F., Yen, C. R. and Nishina, M., 2004, Pitaya (Dragon fruit, strawberry pear), *The College of Tropical Agriculture and Human Resources Fruit and Nuts*, Taiwan, 9, 1-3.