

Derleme/ Review

## Odunsu Bitki Türlerinde *İn-vitro* Aşılama-II (Amaçları)

Hakan YILDIRIM<sup>1\*</sup>, Nazan ÇALAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup> İnönü Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, 44000, Malatya, Türkiye

<sup>2</sup> Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 21280, Diyarbakır, Türkiye

\*e-posta: hakan.yildirim@inonu.edu.tr; Tel-Fax: +90 (422) 846 12 25

**Özet:** *İn-vitro* aşılama, aksenik kültür koşullarında minyatür aşı kalemlerinin aşılmasını kapsayan ve diğer tekniklere nazaran uygulanan en son vejetatif çoğaltım tekniklerinden biridir. Bu yöntem, sürgün ucu kültürü ve aşılamanın bazı sınırlayıcı özelliklerinin üstesinden gelmekle birlikte, her iki metodun avantajlarını da bir arada bulundurmaktadır. İlk uygulandığı zamanlarda bazı meyve tür ve çeşitlerindeki virüs ve benzeri endojen patojenlerin eradikasyonu için geliştirilen *in-vitro* aşılama, bitki gelişim ve fizyolojisinin farklı alanlarında çeşitli odunsu bitki türlerinde hızla gelişmiştir. Bunlar birçok odunsu türlerin olgun genotiplerinin klonal çoğaltımında bir ön koşul olarak fizyolojik rejuvenasyonu ve aşıda uyumsuzluğu da kapsamaktadır. Sonuç olarak *in-vitro* aşılama, yoğun olarak kullanılan, diğer vejetatif çoğaltım metodlarında bulunan olumsuzlukların üstesinden gelebilmek için daha çok düşünülmeyi ve kullanılmayı hak eden bir tekniktir. Doku ve hücreler arasındaki genetik benzerlik ve farklılıkların ayrıntılı incelenmesine imkân sağlamaktadır. Bu çalışmanın amacı, 1970'li yıllarda turunçgillerde virüsten ari bitki üretimi amacıyla başlayan *in vitro* aşılama çalışmalarının günümüze kadar nasıl bir süreçten geçtiğinin ve özellikle meyve türlerinin de dâhil olduğu odunsu bitki türlerinde bitki ıslahı ve çoğaltımı amacıyla ne tür çalışmaların yapıldığının ortaya konulması ve belli bir düzende sunulmasıdır.

**Anahtar kelimeler:** Aşılama, Gençleştirme, *İn-vitro*, Odunsu bitki

### *In vitro* Micrografting of Woody Plant Species-II (Objectives)

**Abstract:** *In vitro* micrografting is a propagation technique, involving the grafting of relatively miniature cuttings under axenic culture conditions and it is one of the recent developed propagation techniques compared to other conventional vegetative propagation techniques. This method overcomes some of the limitations of shoot tip culture and grafting, while it also keeps together the advantages of both methods. Micrografting was applied for the eradication viruses and pathogens from some fruit species and cultivars during the first application period, but later, the technique was further developed on various woody plant species in different research areas of plant physiology and development. These includes physiological rejuvenation and incompatibility grafting as a prerequisite for the clonally propagation of mature genotypes of many woody species. Consequently, *in vitro* micrografting is used in large scale propagation and by overcoming the disadvantages of other propagation technique. It also enables to examine in detail the genetic similarities and differences between the tissues and cells. The aims of this study were (1) to review how micrografting studies passed a process from 1970s until today, first started to obtain virus-free plants from citrus; (2) to reveal what kind of work has been presented particularly on the plant breeding and propagation of the woody plant species, including the type of fruit breeding and reproduction and (3) and to present those studies in a specific order.

**Keywords:** Grafting, Rejuvenation, *In-vitro*, Woody plant

### Giriş

*In vitro* aşılama 1970'li yılların başlarında ağırlıklı olarak farklı meyve türlerinde, öncelikli olarak turunçgillerde (Murashige ve ark. 1972; Navarro ve ark. 1975) başlayan; daha sonra sert çekirdekli meyve türlerinde (Colin ve Verhoyen 1976); yumuşak çekirdeklielerde (Alskief ve Villemur 1978); sert kabuklu meyvelerde (Abousalim ve Mantell 1992; Onay ve ark. 2003; Yıldırım ve ark. 2010; Yıldırım ve ark. 2013) ve nihayetinde süs bitkilerinin de (Crèze 1984) içerisinde bulunduğu odunsu bitki türleriyle devam eden; virüs eliminasyonu için geliştirilen ve diğer tekniklere göre nispeten yeni bir vejetatif çoğaltım tekniğidir. Bu teknik, sonraki zamanlarda yoğun olarak sahil çamı (Tranvan ve David 1985), boylu mazı (Misson ve

Giot-Wirgot 1985), sekoya (Monteuuis 1986) gibi odunsu bitki türlerinde seçilmiş olgun genotiplerin fizyolojik gençleşmesi işlemlerinde kullanılmıştır. *In vitro* aşılama, genellikle 100 µm'den 1-2 cm'ye kadar değişen uzunluktaki küçük aş kalemelerinin aşılmasına imkan tanımakla birlikte, arazi koşullarındaki anaçların kesim yerlerinde görülen kararma ve bazı fungus ırklarının zararından dolayı düşük olan aş tutma oranının artırılmasını sağlamaktadır. Bazı türlerde sürgün uçları, sürgün ucu meristemi olarak sınırlandırılmıştır. Sürgün ucu meristemi ise apikal uç yanında birkaç yaprak primordiyasını içermekle birlikte türlere göre değişiklik gösterebilmektedir.

*In vitro* aşılama belirtilen iki vejetatif çoğaltım tekniğinin sınırlayıcı özelliklerinin üstesinden gelmekle birlikte, doku kültürü ve aşılamanın avantajlarını bir araya getirmektedir (Hartmann ve ark. 1997).

Aşılamanın Avantajları;

- Büyüme, habitüs, odun-meyve ve çiçek özellikleri, süs bitkisi özelliği gibi belirleyici kalitatif ve kantitatif özelliklerin klonlanması ve bazı türlerde yetersiz köklenmeden dolayı çelikle çoğaltımın yapılamadığı durumlarda tercih edilmesi,
- Özellikle peyzaj alanlarında kullanılan süs bitkileri için özel şekil, habitüs, sık veya sarkık bitki şekillerinin oluşturulması,
- Meyve bahçelerindeki verim ve birim alandaki ağaç yoğunluğunu arttırmak için bodurlaştırıcı anaçların kullanımı,
- Seçilmiş genotiplerin üstün özelliklerinin, klonal anaç kullanımıyla desteklenmesine olanak sağlamaktadır.

Bu avantajların yanı sıra; somatik ve nusellar embriyoların kurtarılması amacıyla kullanılabilirdiği gibi, aşılamanın fizyolojik ve histolojik yönden incelenebilmesine de imkan tanımaktadır (Huang ve ark. 1988; Raharjo ve Litz 2005). Ayrıca geleneksel aşılama teknikleri sırasında ve sonrasında ortaya çıkabilecek uyumsuzluk sorununun üstesinden gelmek için faydalı olabilmektedir.

*In vitro* sürgün ucu meristem kültürü, özellikle virüsten kaynaklanan endojen kontaminasyonlu materyallerden temiz materyal üretimi için kullanılır. Aynı zamanda klonal anaçların kullanılması yoluyla olgun genotiplerin fizyolojik olarak gençleştirilmesini sağlamaktadır (Hackett 1985; Monteuuis 1989). Nispeten daha küçük olarak kullanılan sürgün ucu eksplanti, patojenlerin daha etkili eliminasyonunu sağlarken, kültürdeki başarı şansının azalmasına neden olmuştur. Bununla birlikte sürgün ucu meristem kültürü çalışmaları çok sayıda odunsu bitki türünde başarısızlıkla sonuçlanmıştır (George 1993). Bunun temel nedeni; türlere göre kullanılan doku kültürü besi ortamlarının uygun olmaması ve yaşlı donör bitkilerden alınan eksplantların besi ortamına karşı hassasiyetlerinin olduğu şeklinde bildirilmektedir (Monteuuis 1987a). *In vitro* aşılama bu sınırlamalara karşı alternatif bir teknik olarak uygulanmakta olup; *in vitro* üretilen anaçların yapay besi ortamına göre daha doğal olması nedeniyle başarı şansını arttırmaktadır. *In vitro* aşılama bitkiler daha farklı amaçlar için dış koşullara alıştırılabilirler; ya da mikroçoğaltım ya da aşılama işlemlerinde *in vitro* koşullarda damızlık bitki olarak sağlıklı sürgün üretimi için muhafaza edilmeleri mümkün olabilmektedir.

Bu çalışmanın amacı, 1970'li yıllarda turunçgillerde virüsten ari bitki üretimi amacıyla başlayan *in vitro* aşılama çalışmalarının günümüze kadar nasıl bir süreçten geçtiğinin ve özellikle meristem aşılama, aşıda uyumsuzluk sorununun giderilmesinin ve gençleştirme gibi belli başlı amaçlarla yapılan ıslah ve çoğaltım için ne tür çalışmaların yapıldığının ve nasıl uygulandığının ortaya çıkarılması ve belli bir düzende sunulmasıdır.

### ***In vitro* Aşılamanın Amaçları**

#### *Virüsten Ari Bitki Elde Edilmesi*

Navarro ve ark. tarafından 1975 yılında yapılan *in vitro* aşılamaadaki en temel amaçlardan birinin de önemli turunçgil türlerinin virüs ve benzeri patojenlerden arındırılmasının olduğu bildirilmiştir (Huang ve ark. 1988; Kapari-Isaia ve ark. 2011). Şimdiye kadar 30'dan fazla turunçgil türünde *in vitro* sürgün ucu aşılama yoluyla hastalıkların eliminasyonu sağlanmıştır (Navarro 1990). *In vitro* aşılama bitkilerde virüslerin temizlenmesi; virüsün tipi, aş kalem büyüklüğü ve anaç-kalem arasındaki akrabalığın durumuna bağlı olarak değişmektedir (Pathirana ve Mckenzie 2005). Araştırmacı ve uygulayıcıların el becerisi ve kullanılan aş kalemının boyutunun küçülmesiyle virüsün temizlenme oranı artmaktadır. Bununla birlikte aş kalemının daha küçük ve zayıf kullanılması aş tutma oranının düşmesine neden olmaktadır. 0.1-0.2 mm

büyükliğindeki sürgün uçlarının hem aşı başarısını arttırdığı hem de virüs eliminasyonunu sağladığı görülmüştür. Bu görüş Deogratis ve ark. (1986) tarafından, üç farklı virüs tipiyle bulaşık bitkilerden 0.4-1 mm uzunluğunda *in vitro* elde edilen aşı kalemleriyle yapılan mikroaşılama başarısının elde edildiği şeklinde desteklenmiştir. *In vitro* koşullardan alınan eksplantlar için ise; hastalığın iyileşme oranının sürgün aktivitesine (aktif büyüme veya dinlenme) bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir. *In vitro* ön kültür uygulamaları, aşı kalemlerinin daha büyük kullanımına imkan tanıdığı gibi donör bitkilerden materyal alma zamanını belirlemeye ve araştırmacıların aşığı daha kolay uygulamasına olanak sağladığı için daha yüksek aşı tutma oranlarının elde edilmesine imkan tanımaktadır. Mosella ve ark. (1980) tarafından yapılan çalışmada, şeftalide donör bitkilerden 0.4-0.8 mm uzunluğunda alınan eksplantlarda, ön kültür uygulamalarından sonra 1 cm uzunluğundaki sürgün uçlarıyla sharka virüsünde %72, nekrotik halkalı leke virüsünde %57 oranında bir iyileşmenin olduğu ortaya konulmuştur.

Sert çekirdeklielerde ve elmada fitoplazma hastalıklarına dayanıklılığın belirlenmesinde, *in vitro* aşılama faydalı bir uygulama olarak kullanılmıştır (Jarausch 1999). Ayrıca şaraplık üzüm çeşitlerinde viral indekslemenin yapılabilmesi de bu yolla olmuştur (Pathirana ve Mckenzie 2005). Genel olarak sürgün uçları ve sürgün ucu meristemlerinin *in vitro* aşılama doku kültüründe kontaminasyonsuz kültür başlatma için faydalı bir şekilde kullanılabilir bir yöntem olup; daha büyük eksplantların kullanımını kolaylaştıran ve özellikle olgun bitkilerde temizleme sorununun üstesinden gelmek için de kullanılabilir.

#### *Aşıda Uyuşmazlık Sorununun Erken Teşhisi ve Giderilmesi*

Hindistan eriği ve üzüm gibi farklı bitki türlerinde, geleneksel aşılama sırasında karşılaşılan uyumsuzluk sorununun, *in vitro* aşılama yoluyla ortadan kaldırıldığı bildirilmiştir (Lachaud 1975; Danthu ve ark. 2002). *In vitro* mikroaşılama doğal koşullarda uyumsuzluk durumundan dolayı kesinlikle aşılama mümkün olmayan kayısı üzerine şeftalinin başarılı bir şekilde aşılmasına imkan tanımaktadır (Martinez ve ark. 1979). Aşıda yetersiz uyuma tarafından karakterize edilen yerleşik uyumsuzluklar, taşınır uyumsuzluklardan hem gecikmiş zaman hem de daha çok yayılması özelliğiyle daha kolay ayırt edilebilmektedir (Lachaud 1975). Erik, şeftali ve kayısı başta olmak üzere farklı meyve türlerinden yerleşik (local) ve taşınır (translocate) uyumsuzluklar hususunda farklı türlerin birbirine aşılama ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Martinez ve ark. 1979). Bu çalışmalarda, aşılama özel bir peroksidazın antegonistik etkisinin mümkün olabileceğini göstermektedir (Quessada ve Macheix 1984). *In vitro* aşılamanın, kayısı çeşitleriyle myrobolan anaçları arasındaki aşı uyumsuzluklarının erken zamanda belirlenmesi için de kullanıldığı bildirilmiştir (Chimot-Schall ve ark. 1986). Gebhardt ve Goldba (1988) tarafından sert çekirdeklielerde geliştirilen radyoaktif izleyiciler yoluyla aşıda uyumsuzluğun seviyesi kontrol edilirken, vasküler bağlantıların kalitesinin incelenmesi yoluyla yerleşik uyumsuzluk çalışmalarının daha iyi incelenmesi ancak mikroaşılama yoluyla gerçekleştirilmiştir.

Fidanlık koşullarında siyah akasya bitkisinde yarım aşı yöntemiyle yapılan aşılama çalışmasında; genç bitkilerde %49, olgun bitkilerde %0 başarı elde edilmesine karşın; 0.3-0.4 mm uzunluğundaki sürgün uçlarıyla yapılan mikroaşılama sırasıyla %52 ve %46 başarı oranı elde edildiği bildirilmiştir (Monteuuis 1995). Olgun ağaçlardaki aşı başarısızlığının temelinde histolojik ve biyokimyasal yaşlanmayı tetikleyen farklılıklar olduğu yerleşik uyumsuzluklardan kaynaklandığı varsayılmaktadır. Bu durum Onay ve ark. (2004) tarafından daha yaşlı dokularda olgun ve farklılaşmış doku miktarının daha fazla olmasından dolayı daha küçük sürgün uçlarındaki başarının daha yüksek olduğu yönünde açıklanmaktadır. Bu açıdan donör bitkinin yaşına bakılmaksızın minimize edilmiş aşı kalemlerinin benzer farklılaşma derecesine sahip dokulara yerleştirilmesiyle, yerleşik uyumsuzluk sorununun çözülebileceği unutulmamalıdır.

#### *Gençleştirme*

Odunsu bitkilerin organojenik kapasiteleri, çeliklerin köklenmesinde gösterdiği özelliklerde olduğu gibi gençleşme ile de yakın ilişki içerisindedir (Borchert 1976). Bu genç fizyolojik durum, bitkiler zaman içerisinde büyüdükçe sınırlı hale gelir ve sonunda sürgün gelişiminden önceki metabolik aktivite sürgün ucu meristemleri ve hücreler içinde sınırlandırılır (Krenke 1940). Olgun bitkilerin sürgün ucu meristemleri belli boyutta genç kalan hücreler bulundurma eğilimindedirler (Nozeran 1984). Bu gençlik potansiyeli, olgun hücre ve dokuların çevresinde negatif yaşlanmaya etki olarak ifade edilmekte olup, bitkiler geliştikçe bu etki daha fazla önemli hale gelmektedir. 100 yaşındaki dev sekoya ağacının fizyolojik gençleşmesi, juvenil bir devreden beri *in vitro* şartlarında muhafaza edilen sürgün ucu meristemleri açısından oldukça açıklayıcıdır (Monteuuis 1991). Bu amaçlar dikkate alındığında *in vitro* aşılama oldukça faydalı olabilir.

Öte yandan sentetik besi ortamlarında sürgün ucu veya sürgün ucu meristem kültürleri birkaç odunsu bitki türü haricinde başarılıdır.

*In vivo* geleneksel aşılama, küçük aşı kalemleriyle uygulandığı zaman aşıda uyuşma sorunu yaşanmaktadır. Bütün çabalara rağmen başarı oranı düşük olsa bile, bazı meyve türlerinin olgun genotiplerini gençleştirmek için, başarılı bir mikroaşı için de geçerli olan, daha küçük sürgün ucu materyallerinin aşı kalemi olarak kullanılması üzerine yoğunlaşmıştır (Monteuuis 1987b). Bu strateji, başarılı birkaç aşılama döngüsünden sonra bile başarısızlık riskinden korunmak için çok etkili, hızlı ve anlaşılır bir özelliğe sahiptir. Virüs eliminasyonu için 100 µm aşı kalemi büyüklüğü, mikroaşılama için en küçük boyut olma özelliğinde iken; birçok tür için sürgün ucu meristemlerinin daha küçük olduğu belirlenmiştir (Romberger 1963; Mankessi ve ark. 2010). Eksplant büyüklüğündeki kısıtlamalar yanında, hala donör bitkilerden eksplant alma zamanı önemini korumaktadır. Sekoya ağacında morfolojik gençleşmeyi sağlamak için, 100 yaşındaki bireylerden alınan sürgün ucu meristemleriyle bunun gerçekleştirildiği bildirilmektedir (Monteuuis 1987b). Yapılan bazı moleküler çalışmalarda, sekoya ağacında gençleşmeyle ilgili olarak imminoblot J16 proteininin bulunması, aşı kalemleriyle morfolojik gençleşmenin yapılabileceğini göstermektedir. Özellikle kendi anaçlarının kullanıldığı genç bitkilerle çalışıldığında, gençleşme moleküllerinin kolayca transfer edilebildiği görülmektedir. Bazı meyve türlerinde 0.5 mm'den daha küçük sürgün ucu meristemi ya da sürgün ucunun aşılama kullanımıyla, yapraklarda görülen dimorfizmle birlikte morfolojik gençleşmenin sağlandığı bildirilmiştir. Sahil çamı ve siyah akasya bitkilerindeki mikroaşılama da, morfolojik gençleşmelerin yoğunluk ve hızının değiştiğini göstermiştir (Monteuuis 1996). Jüvenil yaprak özelliklerinin iyileşmesinin aşılama sonrası hemen sonra hızlı gelişmeyle ilgili olduğu bildirilmektedir (Dumas ve ark. 1989). Avrupa karaçamında sürgün ucu meristemiyle birlikte altında uzayan dokunun mikroaşılama kullanılması halinde, arazi şartlarında aşılama kullanılan materyallere göre daha yüksek bir çoğaltım kapasitesi göstermiştir (Ewald ve Kretschmar 1996). Perrin ve ark. (1994) tarafından kauçuk bitkisinin 1-2 mm uzunluğundaki sürgün uçlarının genç anaçlar üzerine aşılama sonrası, bu türün köklenme ve sürgün üretim kapasitelerinin arttığı bildirilmiştir. Sürgünlerdeki köklenme yeteneğinin artırılması, avokado meyvesinde *in vitro* üretilen anaçlar üzerine olgun avokado ağaçlarından alınan 0.5 cm uzunluğundaki tomurcukların mikroaşılama çalışması, bahsedilen gençleşme hipotezlerini destekler niteliktedir (Pliego-Alfaro ve Murashige 1987). Benzer şekilde 500 yaşındaki sekoya ağacından alınan 4-5 mm uzunluğundaki sürgün uçlarıyla yapılan mikroaşılama sonucunda, arka arkaya uygulanan mikroaşılama da gençleşmenin iyileştirildiği bildirilmiştir (Tranvan ve ark. 1991). Belli bir gençleşme işleminden sonra, arazi koşullarına aktarılan bitkilerde önemli bir gelişmenin olduğu görülmüştür.

Seri olarak birbiri ardına yapılan aşılama sonrası gençleşmeyi olumlu yönde etkilediğiyle ilgili çalışmalar mevcuttur. Sekoya bitkisinde 1.5 cm uzunluğunda sürgün uçları kullanılarak *in vitro* seri mikroaşılama yapılmıştır. Mikroaşılama döngüsünün dörde çıkarılması halinde sürgün uzaması, sürgün ve kök gelişiminin ciddi bir seviyeye çıkmasını sağlamıştır. Ancak kontrol olarak kullanılan jüvenil materyallerle benzer sonuçların elde edildiği bildirilmiştir. Mikroaşılama döngüsünün beşe çıkarılması halinde başarının arttığı da elde edilen olumlu örnekler arasında yer almaktadır (Huang ve ark. 1996; Chang ve ark. 2010).

Revilla ve ark. (1996) tarafından yapılan çalışmada, olgun zeytin ağacı bitkilerinden 1-1.5 cm uzunluğunda alınan sürgün uçlarıyla yapılan mikroaşılamanın; *in vitro* üretilerek kullanılan sürgün uçlarına göre daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir. 0.5-1 cm uzunluğundaki mikrosürgün uçlarının kullanıldığı seri aşılama çalışmalarında, gençleşme ve köklenme kabiliyetinin geliştirilmesi için beyaz akasya ve Hindistan eriği bitkilerinde mikroaşılama da 3. döngüsünden; kokum bitkisinde ise mikroaşılamanın 5. döngüsünden sonra gençleşme ve köklenme parametrelerinin iyileştiği gözlenmiştir (Danthu ve ark. 2004; Chabukswar ve Deodhar 2006). Bütün bu gözlemler, seri mikroaşılamanın gençleşme üzerine etkisinin önemli olduğunu göstermektedir. Yalnızca mazı bitkisinde 6-7 mm uzunluğundaki sürgün uçlarının kullanıldığı *in vitro* aşılama çalışmasında, seri aşılama sonrası gençleşme üzerine etkisinin önemli olmadığı bildirilmiştir (Misson ve Giot-Wirgot 1985).

## Sonuç

*In vitro* mikroaşılama, *in vitro* sürgün ucu ve/veya sürgün ucu meristemleriyle birlikte aşılamanın avantajları bir araya getirildiği gibi; vejetatif çoğaltım tekniklerinde bulunan uyumsuzluk ve hastalık gibi bazı sınırlamaların üstesinden gelmektedir. Başarı oranının oldukça düşük olmasının yanı sıra; zaman, ustalık ve beceri istemesi nedeniyle ticari boyuttaki kullanımı sınırlı kalmıştır. Ancak geleneksel aşılama yöntemlerine nispeten özellikle virüsten arı bitki üretimi ve uyuşma-kaynaşma özelliklerinin erken teşhisi,

bu yöntemin önemi ve hususiyetinin artmasını sağlamaktadır. Araştırmacı ya da uygulayıcıların tecrübesi ve el becerisi bazı farklılıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Anaçların kalem üzerine olan etkisinin tam olarak ortaya çıkarılması ve kalemle arasındaki (hücre ve dokular arasındaki fizyolojik ve genetik) ilişkinin ortaya çıkarılması bakımından büyük öneme sahiptir. *In vitro* mikroaşılama çalışmaları, aşıyla çoğaltılan odunsu bitki türlerindeki her türlü uyumsuzluk durumlarının erken zamanda belirlenmesi, ıslahta sonuca ulaşmak için geçen zamanın minimum düzeye indirilmesi, hastalıklardan arı bitkilerin elde edilmesi ve *in vitro* gençleştirme uygulamalarının pratiğe yansması açısından, önemli bir doku kültürü tekniği olarak varlığını sürdürmeye devam edecektir.

## Teşekkür

VII. Ulusal Bahçe Bitkileri Kongresi (25-29 Ağustos 2015 Çanakkale)'nde poster bildiri olarak sunulan ve özeti yayınlanan makalenin bir kısmıdır.

## Kaynaklar

- Abousalim A, Mantell S H (1992). Micrografting of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Mateur). Plant Cell Tissue and Organ Culture, 29: 231-234.
- Alskief J, Villemur P (1978). Greffage *in vitro* d'apex sur des plantules décapitées de pommier (*Malus pumilla* Mill). Comptes Rendus Académie des Sciences, Paris, Serie D, 287: 1115-1118.
- Borchert R (1976). The concept of juvenility in woody plants. Acta Horticulturae, 56: 21-36.
- Chabukswar M M, Deodhar M A (2006). Restoration of rooting competence in a mature plant of *Garcinia indica* through serial shoot tip grafting *in vitro*. Scientia Horticulturae, 108: 194-199.
- Chang I F, Chen P J, Shen C H, Hsieh T J, Hsu YW, Huang B L, Kuo C I, Chen Y T, Chu H A, Yeh K W, Huang L C (2010). Proteomic profiling of proteins associated with the rejuvenation of *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. Proteome Science, 8: 64.
- Chimot-Schall F, Villemur P, Jonard R (1986). Essais de mise au point d'un diagnostic precoce des incompatibilités au greffage à l'aide de 3 techniques *in vitro*: le microgreffage, les associations d'entre noeuds et les fusions de calcs. Comptes Rendus Académie des Sciences, Paris, 303 (III): 591- 594.
- Colin J, Verhoyen M (1976). Micrografts with meristematic tissues, a possible technique to eliminate viruses from *Prunus* trees. Acta Horticulturae, 67:97-102.
- Crézé J (1984). Où en sommes-nous de la greffe d'apex de camellia. Jardins de France, Mars 1984: 104-105.
- Danthu P, Soloviev P, Touré M A, Gay e A (2002). Propagation végétative d'une variété améliorée de jujubier introduite au Sénégal. Bois et Forêts des Tropiques, 272: 93-96.
- Danthu P, Touré M A, Soloviev P, Sagna P (2004). Propagation of Ornamental Plants Vegetative propagation of *Ziziphus mauritiana* var. *Gola* by micrografting and its potential for dissemination in the Sahelian zone. Agroforestry Systems, 60: 247-253.
- Deogratias J M., Lutz A, Dosba F (1986). Microgreffage d'apex de cerisiers (*Prunus avium* L.) multipliés *in vitro* en vue de l'élimination de trois types de particules virales. Fruits, 41: 675-680.
- Dumas E, Franclet A, Monteuis O (1989). Microgreffage de méristèmes primaires caulinaires de pins maritimes (*Pinus pinaster* Ait.) âgés sur de jeunes semis cultivés *in vitro*. Comptes Rendus Académie des Sciences, Paris, 309 (III): 723-728.
- Ewald D, Kretschmar U (1996). The influence of micrografting '*in vitro*' on tissue culture behaviour and vegetative propagation of old European larch trees. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 44: 249-252.
- Gebhardt K, Goldba H (1988). Establishment, graft union characteristics and growth of *Prunus* micrografts. Physiologia Plantarum, 72: 153-159.
- George EF (1993). Plant propagation by tissue Culture, 2nd Ed. Exegetics Ltd. Hardcover Part 1. The Technology. 574 pp.
- Hackett W P (1985). Juvenility, maturation and rejuvenation in woody plants. Horticultural Review 7: 109-155.
- Hartmann H T, Kester D E, Davies Jr F T, Geneve R L (1997). Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey. Sixth edition, 770 pp.
- Huang L C, Chen W L, Chiu D S (1988). *In vitro* graft-enhanced nucellar plant development in the mono embryonic *Citrus grandis* L. Journal of Horticultural Science, 63: 705-709.

- Huang H J, Chen Y, Kuo J L, Kuo T T, Tzeng C C, Huang B L, Chen C M, Huang L C (1996). Rejuvenation of *Sequoia sempervirens* *in vitro*: Changes in isoesterases and isoperoxidases, *Plant and Cell Physiology*, 37: 77-82.
- Jarausch KH (1999). Care and coercion: the GDR as welfare dictatorship, in *Dictatorship as Experience: Toward a Socio-Cultural History of the GDR* (ed. K.H. Jarausch, trans. E. Duffy) ,Berghahn, New York, pp. 47-72.
- Kapari-Isaia T, Voloudakis A E, Kyriakou A, Ioannides I, Papayiannis L, Samouel S, Koutsoumari E M, Georgiou A, Minas G (2011). Sanitation of citrus varieties and/or clones by *in vitro* micrografting in cyprus and greece. *Acta Horticulturae*, 892: 279-285.
- Krenke N P (1940). The theory of the cycle of senescence and rejuvenation of plants and its practical application. *Plant Breeding. Abstracts*, 15: 1-135. Lachaud S. (1975). Incompatibilité des greffes et vieillissement chez les végétaux. II. L'incompatibilité des greffes et ses rapports avec le vieillissement. *Année Biologique*, 14: 97-128.
- Lachaud J-C (1975). Le pouvoir médical source de maladie. Toulouse, Privat, 174 p.
- Mankessi F, Saya A R, Boudon F, Guedon Y, Montes F, Lartaud M, Verdeil J L, Monteuis O (2010). Phase change-related variations of dome shape in *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* shoot apical meristems. *Trees*, 24: 743-752.
- Martinez J, Hugard J, Jonard R (1979). Sur les différentes combinaisons de greffages des apex réalisées *in vitro* entre pêcher (*Prunus persica* Batsch), abricotier (*Prunus armeniaca* L.) et myrobolan (*Prunus cerasifera* Ehrh.). *Comptes Rendus Académie des Sciences, Paris*, 288: 759-762.
- Misson J P, Giot-Wirgot P (1985). Rajeunissement d'un clone de thuja en vue de sa multiplication *in vitro*. *Annales AFOCEL*, 1984: 187-197.
- Monteuuis O (1986). Microgreffage de points végétatifs de *Sequoiadendron giganteum* Buchholz séculaires sur de jeunes semis cultivés *in vitro*. *Comptes Rendus Académie des Sciences, Paris*, 302, (III):223-225.
- Monteuuis O (1987a). *In vitro* meristem culture of juvenile and mature *Sequoiadendron giganteum*. *Three Physiology*, 3: 265-272.
- Monteuuis O (1987b). Microgreffage du séquoia géant. *Annales AFOCEL*, 1986: 39-61.
- Monteuuis O (1989). Maturation concept and possible rejuvenation of arborescent species. Limits and promises of shoot apical meristems to ensure successful cloning. *In: Gibson G. L., Griffin A. R., Matheson A. C. (Eds). Breeding Tropical Trees: Population Structure and Genetic Improvement Strategies in Clonal and Seedling Forestry. Proceedings of the Conference IUFRO, Pattaya, Thailand, 28 November-3 December 1988: 106-118.*
- Monteuuis O (1991). Rejuvenation of a 100-year-old *Sequoiadendron giganteum* through *in vitro* meristem culture. I. Organogenic and morphological arguments. *Physiologia Plantarum*, 81: 111-115.
- Monteuuis O (1995). *In vivo* grafting and *in vitro* micrografting of *Acacia mangium*: impact of ortet age. *Silvae Genetica*, 44: 190-193.
- Monteuuis O (1996). *In vitro* shoot apex micrografting of mature *Acacia mangium*. *Agroforestry Systems*, 34: 213-217.
- Mosella-Chancel L, Signoret P A, Jonard J (1980). Sur la mise au point de techniques de microgreffage d'apex en vue de deux types de particules virales chez le pêcher (*Prunus persica* Batsch.). *Comptes Rendus Académie des Sciences, Paris*, 290: 287-290.
- Murashige T, Bitters W P, Rangan T S, Nauer E M, Roistacher C N, Holliday P B (1972). A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free *Citrus* clones. *Horticultural Science*, 7: 118-119.
- Navarro L, Roistacher C N, Murashige T (1975). Improvement of shoot-tip grafting *in vitro* for virus-free citrus. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 100: 471-479.
- Navarro L (1990). Shoot-tip grafting *in vitro* of woody species and its influence on plant age. *In: Rodriguez R., Sanchez Tamés R., Durzan D. J. (Eds). Plant aging: basic and applied approaches. New York, Plenum Press: 117-123.*
- Nozeran R (1984). Integration of organismal development. *In: Barlow P. W., Carr D. J. (Eds). Positional controls in plant development, Cambridge University Press, 13: 375-401.*
- Onay A, Piriç V, Işıkalan C, Adiyaman F, Tilkat E, Başaran D (2003). *In vivo* and *in vitro* micrografting of pistachio, *Pistacia vera* L. Cv. "Siirt". *Turkish Journal of Biology*, 27:95-100.
- Onay A, Piriç V, Yildirim H, Basaran D (2004). *In vitro* micrografting of pistachio (*Pistacia vera* L. cv. Siirt), *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 77: 215-219.
- Pathirana R, McKenzie M J (2005). Early detection of grapevine leafroll virus in *Vitis vinifera* using *in vitro* micrografting. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 81: 11-18.

- Perrin Y, Lardet L, Enjalbal F, Carron M P (1994). Rajeunissement de clones matures d' *Hevea brasiliensis* (Mull. Arg.) par microgreffage *in vitro*. Canadian Journal of Plant Science, 74: 623-630.
- Pliego-Alfaro F, Murashige T (1987). Possible rejuvenation of adult avocado by graftage onto juvenile rootstocks *in vitro*. HortScience, 22: 1321-1324.
- Quessada M P, Macheix J J (1984). Caractérisation d'une peroxidase impliquée spécifiquement dans la lignification, en relation avec l'incompatibilité au greffage chez l'abricotier. Physiologie Végétale, 22: 533-540.
- Raharjo S H T, Litz R E (2005). Micrografting and *ex vitro* grafting for somatic embryo rescue and plant recovery in avocado (*Persea americana*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 82: 1-9.
- Revilla M A, Jose P, Abelardo C, Roberto R (1996). *In vitro* reinvigoration of mature oil tree (*Olea europaea* L.) through micrografting. In Vitro Cell & Developmental Biology-Plant, 32: 257-261
- Romberger JA (1963). Meristems: growth and development in woody plants. U. S. Department of Agriculture. Technical Bulletin. 214 pp.
- Tranvan H, David A (1985). Greffage *in vitro* du pin maritime (*Pinus pinaster*). Canadian Journal of Botany, 63: 1017-1020.
- Tranvan H, Bardat F, Jacques M, Amaud Y (1991). Rajeunissement chez le *Sequoia sempervirens*: effets du microgreffage *in vitro*. Canadian Journal of Botany, 69: 1772-1779.
- Yıldırım H, Onay A, Süzerer V, Tilkat E, Özden-Tokatlı Y, Akdemir H (2010). Micrografting of almond *Prunus dulcis* Mill. cultivars Ferragnes and Ferraduel. Scientia Horticulturae, 125: 361-367.
- Yıldırım H, Akdemir H, Süzerer V, Özden Y, Onay A (2013). *In vitro* Micrografting of almond cultivars Texas, Ferrastar and Nonpareil. Biotechnology & Biotechnological Equipment, 27(1):3493-3501.