

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ İLE**
MİKROÇOĞALTIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Mustafa CÜCE

HAZİRAN 2012

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ
İLE MİKROÇOĞALTIMI**

Biyolog Mustafa CÜCE

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nce
“YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 09.05.2012
Tezin Savunma Tarihi : 01.06.2012**

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Trabzon 2012

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Ana Bilim Dalında

Mustafa CÜCE Tarafından Hazırlanan

VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ
İLE MİKROÇOĞALTIMI

başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 15/05/2012 gün ve 1456 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Ali Ömer ÜÇLER

Üye : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Üye : Prof. Dr. Faik Ahmet AYAZ

Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖN SÖZ

“*VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L. (ERICACEAE)’NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ İLE MİKROÇOĞALTIMI” adlı bu çalışma KTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek Lisans tezimin danışmanlığını üstlenerek, gerek konunun seçilmesi gerekse hazırlanması sırasında her konuda, yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen ve çalışmalarımı yönlendiren danışman hocam sayın Prof. Dr. Atalay SÖKMEN’e teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

Örneklerin teşhisi noktasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam sayın Prof. Dr. Salih TERZİOĞLU’na, örneklerin temin edilmesi noktasında arazi çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Münevver SÖKMEN’e değerli meslektaşım Ersan BEKTAŞ’a ve örneklerin kültür ortamına alınması noktasında yardımlarından dolayı Pelin Çağla ALTUNCU’ya teşekkür ederim.

Tez yazım aşamasında maddi manevi hiçbir desteği esirgemeyen değerli arkadaşlarım Onur TOSUN, Çağrı BEKİRCAN, Tuba BEKİRCAN, Selçuk SEVİM ve Osman ERGÜL’e teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve birikimini benden esirgemeyen değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Ahmet AYGÜN’e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca ve bu zorlu tez sürecinde maddi ve manevi destekleri ile hep yanımda olan ve bana güvenen sevgili aileme şükranlarımı bir borç bilirim.

Bu tez çalışmamı desteğe uygun bularak (Proje No: 2009.111.004.5) maddi destek sağlayan KTÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne teşekkür ederim.

Mustafa CÜCE
Trabzon 2012

TEZ BEYANNAMESİ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “*Vaccinium arctostaphylos* L. (Ericaceae)’nin Sürgün Kültürü ile Mikroçoğaltımı” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Prof. Dr. Atalay SÖKMEN’in sorumluluğunda tamamladığımı, örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

01/06/ 2012

Mustafa CÜCE

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	IX
TABLolar DİZİNİ.....	XI
SEMBOLLER DİZİNİ	XII
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.1.1. <i>Vaccinium</i> Türlerinin Sistematikteki Yeri	3
1.1.2. Genel Morfolojik Özellikleri	6
1.1.3. <i>Vaccinium</i> Meyvelerinin Faydaları, Kullanım Alanları ve Besin Değerleri...7	
1.2. <i>Vaccinium</i> Türlerinde Fide Üretim Yöntemleri.....	9
1.2.1. Generatif Üretim	10
1.2.2. Vejetatif Üretim	10
1.2.2.1. Çelikle Üretim.....	10
1.2.2.2. Aşı ile Üretim.....	12
1.2.2.3. Doku Kültürü ile Üretim (Mikroçoğaltım)	12
1.2.2.3.1. Bitki Doku Kültürü	12
1.2.3. <i>Vaccinium</i> Türlerinin Doku Kültürü ile Çoğaltılması	13
1.2.3.1. Kallus Kültürü ile Üretim	14
1.2.3.2. Organ Kültürleri ile Üretim	14
1.2.3.3. Embriyo Kültürleri ile Üretim	15
1.2.3.4. Hücre Kültürleri ile Üretim.....	15
1.3. Çalışmanın Amacı.....	15
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	17
2.1. Materyal	18
2.1.1. Doku Kültürü ile İlgili Bitkisel Materyaller	18
2.2. Yöntemler	18

2.2.1.	Materyallerin Toplanması, Taşınması ve Teşhisi	18
2.2.2.	Besi Ortamlarının Hazırlanması	19
2.2.3.	Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Dozları.....	22
2.2.4.	Bitkisel Materyalin Yüzey Sterilizasyonu	23
2.2.5.	Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu	23
2.2.6.	Materyalin Kültüre Alınması	23
2.2.7.	Fiziksel Koşullar	24
2.3.	Gelişme Süresince Yapılan Ölçüm ve Gözlemler	24
2.3.1.	Kültüre Alınan Eksplantların Gelişme Durumu ve Sürgün Oluşumu	24
2.3.2.	Sürgünlerin Köklendirilmesi.....	25
2.3.3.	Denemelerin Kurulması ve Değerlendirilmesi	25
2.3.3.1.	Denemelerin Kurulması	25
2.3.3.2.	İstatistiksel Analizler	25
3.	BULGULAR.....	26
3.1.	<i>Vaccinium arctostaphylos</i> L’de <i>İn Vitro</i> Sürgün Oluşumu	26
3.2.	<i>Vaccinium arctostaphylos</i> L’de <i>İn Vitro</i> Sürgün Çoğaltımı	27
3.2.1.	Zeatin/IBA Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına ve Gelişimine Etkisi	27
3.2.2.	TDZ/IBA Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına ve Gelişimine Etkisi ..	35
3.3.	<i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. Bitkisinin Köklenmesi ile İlgili Bulgular.....	42
3.3.1.	IBA Dozlarının Mikroçeliklerin Köklenmesi Üzerine Etkileri	42
3.3.1.1.	IBA Dozlarının Fotoperiyot Uygulamalarında Mikroçeliklerin Köklenmesi Üzerine Etkileri.....	43
3.3.1.2.	IBA Dozlarının Karanlık Uygulamalarında Mikroçeliklerin Köklenmesi Üzerine Etkileri	46
4.	TARTIŞMA	51
5.	SONUÇLAR	55
6.	ÖNERİLER.....	58
7.	KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans

ÖZET

VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ İLE
MİKROÇOĞALTIMI

Mustafa CÜCE

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

2012, 63 Sayfa,

Bu tez çalışması *Vaccinium arctostaphylos* L. bitkisinin sürgün kültürleri vasıtasıyla hızlı ve etkin mikroçoğaltımında en ideal besi ortamının belirlenmesi üzerine tasarlandı.

Ön çalışmalar eksplant temini için en uygun dönemin Nisan-Mayıs ayları olduğunu gösterdi. Bu aylarda doğal florada yetişen bitkilerin çeliklerinde yer alan yanal tomurcuklar eksplant kaynağı olarak kullanıldı. Çoklu sürgün oluşturmada en etkili besi ortamını belirlemek amacıyla zeatin (1,0 mg/L), IBA (0,1 mg/L) ile desteklenmiş Anderson'un *Rhododendron*, McCown'ın odunsu bitkiler besi ortamı (WPM) ve Murashige & Skoog besi ortamları denendi. Sonuçta WPM'nin en etkili temel besi ortamı olduğu gözlemlendi.

Sonraki sürgün çoğaltma ve geliştirme çalışmalarında sabit oksin olarak 0.1 mg/L IBA (indol-3-bütirik asit) ve sitokinin olarak zeatin veya thidiazuronun (TDZ) üç farklı derişimi (0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) ile desteklenmiş WPM ortamları kullanıldı. 16/8 fotoperiyot uygulaması yapılan çalışmaların 6. haftası sonunda en uygun sürgün geliştirme ortamının zeatin/IBA kombinasyonunu olduğu tespit edildi. En iyi sürgün boyu (%106,53) 1,0/0,1 mg/L zeatin/IBA, en yüksek yapraklanma sayısı (%141,89) ve en fazla çoklu sürgün oluşumu (10,5 kat) ise 2,0/0,1 mg/L zeatin/IBA ile desteklenmiş WPM ortamından elde edildi.

Köklendirme ortamında bitki büyüme düzenleyicisi olarak IBA (0,5-8,0 mg/L) ile desteklenen McCOWN odunsu bitki besi ortamında karanlık ve 16/8 fotoperiyot uygulamalarının köklenme üzerindeki etkisi araştırıldı. Bu aşamada en iyi sonuç köklenmenin %100 gerçekleştiği, 16/8 saat aydınlık/karanlıkta ortamda ve 0,5 mg/L IBA desteğinde alındı.

Anahtar Kelimeler: İndol-3-bütirik asit, Mikroçoğaltım, *Vaccinium arctostaphylos*, Thidiazuron, Yaban mersini, Yanal tomurcuk, Zeatin

Master Thesis

SUMMARY

MICROPROPAGATION OF *VACCINIUM ARCTOSTAPHYLOS* L. (ERICACEAE) VIA SHOOT-BUD CULTURES

Mustafa CUCE
Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Atalay SOKMEN
2012, 63 Pages,

This thesis was designed to find out the most ideal growth medium for a rapid and efficient micropropagation of *Vaccinium arctostaphylos* L. via shoot-bud cultures. Preliminary studies showed that April and May were the best periods for the explant collection. Accordingly, cuttings were taken from naturally growing populations of this plant and lateral shoot-buds of which were used as explant sources. In order to determine the best basal medium for multiple shoot formation, Anderson's *Rhododendron*, McCown's Woody Plant Medium (WPM) and Murashige & Skoog's, each supplemented with 1.0/0.1 mg/L zeatin/IBA were tested as basal media, respectively. As a result, WPM was observed to be the most effective basal medium for shoot multiplication.

Subsequent shoot multiplication and development studies were therefore carried out with WPM supplemented with an auxin, indole-3-butyric acid (IBA (0.1 mg/L) and two different cytokinins, namely zeatin and thidiazuron (TDZ) with various doses (0.5, 1.0 and 2.0 mg/L, respectively). After six weeks photoperiod (16/8, dark/light) application, zeatin/IBA combinations were found to be the most suitable for the shoot multiplication and growth. The highest of shoot length with a 106.5 percentage was obtained from the medium supplemented with 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA whilst the highest increase in the leaf number (141.89%) as well as multiple shoot proliferation (10.55 fold) were obtained from those supplemented with 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA.

McCown's (WPM) was also employed as rooting medium supplemented with different doses of IBA (0.5 to 8.0 mg/L) together with illumination (16/8 photoperiod) or dark regimes. At this stage, the medium supplemented with 0.5 mg/L IBA was proven to be the best rooting growth regulator with 100% rooting success in the presence of 16/8 photoperiod applications.

Key Words: Caucasian Whortleberry, Indole-3-butyric acid, Lateral Shoot-bud, Micropropagation, Thidiazuron, *Vaccinium arctostaphylos*, Zeatin

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. <i>Vaccinium myrtillus</i> L. çiçek ve yaprağı	4
Şekil 2. <i>Vaccinium uliginosum</i> L. çiçek ve meyvesi	4
Şekil 3. <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. çiçek ve meyvesi.....	5
Şekil 4. <i>Vaccinium vitis-idaea</i> L. çiçek ve meyvesi	5
Şekil 5. <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L.'ye ait çalışmaları, yöntem ve teknikleri gösteren işlev şeması	17
Şekil 6. McCOWN odunlu bitkiler besi ortamı	21
Şekil 7. Otoklavda sterilizasyonu yapılmış besi ortamları.....	21
Şekil 8. WPM besi ortamında kültüre alınmış <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünleri.24	24
Şekil 9. MS, WPM ve AN besi ortamlarında <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L.'ye ait explantlarda sürgün oluşumu için denenen Zeatin/IBA kombinasyonunu gösteren işlev şeması	26
Şekil 10. WPM besi ortamında <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgün çoğaltımı için denenen Zeatin/IBA kombinasyonlarının işlev şeması	28
Şekil 11. 0,5/0,1 mg/L Zeatin/IBA içeren WPM besi ortamındaki <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri.....	30
Şekil 12. 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA içeren WPM besi ortamındaki <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri.....	32
Şekil 13. 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA içeren WPM besi ortamındaki <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri.....	33
Şekil 14. WPM besi ortamında Zeatin/IBA Kombinasyonlarında <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. türüne ait kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayısı karşılaştırılması	34
Şekil 15. WPM besi ortamında <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L'ye ait explantlarda sürgün oluşumu için denenen TDZ/IBA kombinasyonlarının işlev şeması	35
Şekil 16. 0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA içeren WPM besi ortamındaki <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri.....	37

Şekil 17.	1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA içeren WPM besi ortamındaki <i>Vaccinium. arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri.....	39
Şekil 18.	2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA içeren WPM besi ortamındaki <i>Vaccinium. arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri.....	41
Şekil 19.	WPM besi ortamında TDZ/IBA Kombinasyonlarında <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. türüne ait kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayısı karşılaştırması	42
Şekil 20.	WPM besi ortamında <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L'ye ait explantlarda kök oluşumu için uygulanan IBA dozlarının işlev şeması	43
Şekil 21.	1,0 mg/L IBA ile desteklenmiş WPM besi ortamlarında <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. mikroçeliklerinin 2. hafta sonundaki köklenme durumu	44
Şekil 22.	WPM ortamlarında 1,0 mg/L IBA dozlarında 4. hafta sonunda meydana kallus oluşumları.....	44
Şekil 23.	0,5 mg/L IBA dozlarında 6. hafta sonunda meydana gelen kök oluşumları	45
Şekil 24.	0,5 mg/L IBA dozlarında 8. hafta sonunda meydana gelen kök oluşumları	45
Şekil 25.	WPM ortamlarında değişik IBA dozlarındaki <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. mikroçeliklerin 2 hafta boyunca gelişme durumları.....	46
Şekil 26.	WPM ortamlarında 8,0 mg/L IBA dozlarında 4. hafta sonunda meydana gelen kallus oluşumları	47
Şekil 27.	0,5 mg/L IBA dozlarında 6. hafta sonunda meydana gelen kök oluşumları	48
Şekil 28.	IBA ile desteklenmiş WPM besi ortamlarında 16/8 fotoperiyot ve karanlık uygulaması yapılan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. türüne ait köklenme oranları karşılaştırılması	49

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. 100 g <i>Vaccinium</i> meyvesinin genel içeriği, mineral ve vitamin içeriği oranları (kuru ağırlık)	9
Tablo 2. McCOWN Odunsu (WPM), Murashige & Skoog (MS) ve Anderson <i>Rhododendron</i> (AN) besi ortamlarının bileşenleri ve miktarları.....	20
Tablo 3. Sürgün oluşumu için MS, AN ve WPM ortamına eklenen zeatin/IBA kombinasyonları.	22
Tablo 4. Sürgün gelişimi için WPM ortamına eklenen zeatin/IBA kombinasyonları	22
Tablo 5. Sürgün gelişimi için WPM ortamına eklenen TDZ/IBA kombinasyonları	22
Tablo 6. Köklendirme için WPM ortamına eklenen IBA konsantrasyonları.....	22
Tablo 7. 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda kültüre alınan sürgünlerin 8. hafta sonundaki sürgün oluşturma oranları ve büyüme uzunlukları.....	27
Tablo 8. 0,5/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları.....	29
Tablo 9. 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları.....	31
Tablo 10. 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları.....	33
Tablo 11. 0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları.....	36
Tablo 12. 1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları.....	38
Tablo 13. 2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları.....	40

Tablo 14.	16/8 fotoperiyot uygulanan <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin köklendirilmesinde WPM ortamlarında uygulanan IBA dozları, köklenme ve kallus yüzdeleri (%)	46
Tablo 15.	Karanlık ortamdaki <i>Vaccinium arctostaphylos</i> L. sürgünlerinin köklendirilmesinde WPM ortamlarında uygulanan IBA dozları, köklenme ve kallus yüzdeleri (%)	48
Tablo 16.	Zeatin/IBA ve TDZ/IBA uygulamalarında 6. hafta sonundaki Kardeşlenme sayısı, Sürgün Boyu ve Yapraklanma Sayısı değerleri. Aynı sütunda bulunan harflerden aynı olanlar istatistiksel olarak birbirlerinden farklı değildir ($P<0,05$; $n=9$)	49

SEMBOLLER DİZİNİ

2, 4-D	: 2,4 Diklorofenoksiasetik Asit
AET	: Avrupa Ekonomik Topluluğu
AN	: Anderson's <i>Rhododendron</i> Besi Ortamı
BM	: Bazal Besi Ortamı
BU	: Boy Uzunlukları
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EtOH	: Etanol
HCl	: Hidrojen Klorür
HD	: Hormon Dozu
IAA	: İndol-3-Asetik Asit
IBA	: İndol-3-Bütirik Asit
KAES	: Kültüre Alınan Eksplant Sayısı
KAMS	: Kültüre Alınan Mikroçelik Sayısı
KO1	: Kallus Oluşumları
KO2	: Köklenme Oranı
KO3	: Kallus Oranı
KS	: Kardeşlenme Sayısı
KSS	: Köklenen Sürgün Sayısı
MS	: Murashige ve Skoog Besi Ortamı
NAA	: Naftalenasetik Asit
NaOCl	: Sodyum Hipoklorit
NaOH	: Sodyum Hidroksit
rpm	: Revolutions Per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
SB	: Sürgün Boyu
SOO	: Sürgün Oluşturma Oranı
SPSS	: Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
TDZ	: Thidiazuron
WPM	: Woody Plant Medium Besi Ortamı
YS	: Yapraklanma Sayısı

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Kültür formları yaban mersini, mavi yemiş olarak adlandırılan, Türkiye florasında doğal olarak yetişenlerin ise ormangülü, açelya, funda, turna yemişi ve ayı yemişi isimlerle tanındığı *Vaccinium* türleri fundagiller (*Ericaceae*) familyasının üyeleridir. Bu türler asitli topraklarda yetişir (Strik vd., 1993; Gough, 1994a, 1996; Himelrick, 2002; Çelik, 2005). Kültürü yapılanlar kuzey ve güney orijinli yüksek boylu (highbush) çalı formu (*Vaccinium corymbosum* L.), (*Vaccinium ashei* Rehd.) ve alçak boylu (lowbush) çalı formu (*Vaccinium angustifolium* L.) türlerine ait varyetelerdir (Strik vd., 1993; Austin, 1994; Gough, 1994a ve 1996).

Karadeniz Bölgesi başta olmak üzere (Artvin, Rize, Trabzon, Ordu, Giresun, Gümüşhane, Samsun, Sinop, Kastamonu, Zonguldak, Bolu, Bartın ve Düzce), Marmara Bölgesi (Kocaeli, Sakarya, İstanbul, Kırklareli, Bursa ve Balıkesir) ve Doğu Anadolu (Erzurum-Şenkaya ve Ardahan) florasında yabani *Vaccinium* türleri (*V. vitis-idaea*, *V. myrtillus*, *V. uliginosum* ve *V. arctostaphylos*) doğal olarak yetişmektedir (Davis, 1978).

Türkiye florasında bulunan *Vaccinium* türlerinin meyveleri ayılar, bazı kuş türleri ile sincapların da yiyecek kaynağıdır. Dünyada farklı coğrafyalarda doğal olarak yetişen bu türler yerel halkın ev ihtiyacına veya ticari amaca yönelik olarak hasat edilmektedir. Örneğin Çin'de *V. uliginosum* L., Avrupa'nın değişik bölgelerinde *V. myrtillus* L. ve Amerika'nın farklı yerlerinde ise çeşitli *Vaccinium* türleri hasat edilir, taze tüketilebildiği gibi reçel, marmelat, meyve suyu veya dondurulmuş olarak da tüketilir.

Vaccinium türlerinde ıslah çalışmaları 1850'de Amerika'da başlamış olup ıslah edilmiş *Vaccinium* türleri bir bahçe bitkisi olarak tarımdaki yerini almıştır. Kültür çeşitleri 2000'li yılların başında Türkiye'ye getirilerek ilk bahçe tarımı yapılmaya başlanmıştır.

Vaccinium türlerinin yetiştirildiği ülkelerde tarımsal ve ekonomik katkıları, kullanım alanları ve faydaları, yetiştirme koşulları literatürde yerini almıştır (Turner ve Muir, 1985; Kalt ve Dufour, 1997; Çelik, 2005; Hafner ve Remberg, 2006). Bu bitkilerin doku kültürleri ile çoğaltımına yönelik çalışmalar hakkında detaylı bilgiler de yer almaktadır (Guang-jie vd., 2008).

Bazı *Vaccinium* türlerinin Amerika başta olmak üzere bazı Avrupa ülkelerinde

binlerce hektarlık alanlarda tarımı yapılmaktadır. Günümüzde ticari olarak yetiştirilen *Vaccinium* türleri, 1906 yılından itibaren Amerika Birleşik Devletleri'nde başlatılan seleksiyon çalışmalarının ürünüdür.

İklim isteği ve asidik toprak yapısı (pH: 4,5-5,5) ile bu türlerin yetişmesine çok uygun olan Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yabancı *Vaccinium* formları yöre halkı tarafından taze olarak, reçel veya pekmez yapılarak tüketilmektedir (Ağaoğlu, 1986; Strik vd., 1993; Gough, 1994). *Vaccinium* türlerinin yetiştiriciliği bu yönleriyle bu yöreye öncü rolü kazandırmaktadır.

Yörede yabancı olarak yetişen formları Rize'de likapa, kaskanaka, Trabzon'da ligarba, lifos, Artvin'de morsivit veya mahabak, Ordu ve Giresun'da çalı çileği, Adapazarında'da çay üzümü, çoban üzümü veya ayı üzümü olarak bilinir (Baytop, 1997). *Vaccinium* türleri dünyada blueberry, huckleberry, whortleberry, black whortleberry, bilberry, burren myrtle, mrytille, dyeberry, hurtleberry, whinberry, wineberry gibi isimlerle bilinir (Howell, 2009).

Vaccinium türleri dikildikten sonra üçüncü yılda verime yatarlar. Altıncı yılda maksimum verime ulaşan *Vaccinium* türleri 30-40 yıl ekonomik olarak verimliliklerini sürdürürler (Gümüş vd., 2009).

1.1.1. *Vaccinium* Türlerinin Sistematikdeki Yeri

Alem	: Plantae
Alt Alem	: Tracheobionta
Bölüm	: Magnoliophyta
Sınıf	: Magnoliopsida
Alt Sınıf	: Dilleniidae
Takım	: Ericales
Familya	: Ericaceae
Alt Familya	: Vacciniaceae
Cins	: <i>Vaccinium</i>
Alt Cins	: Batodendron
	Euvaccinium (3 şubeye ayrılır)
	1- Myrtilus
	<i>Vaccinium myrtilus</i> L. (Adi yaban mersini)
	<i>Vaccinium uliginosum</i> L. (Bataklık yaban mersini)
	2- Hemimyrtillus
	<i>Vaccinium arctostaphylos</i> L.
	3- Vitis-idaea
	<i>Vaccinium vitis-idaea</i> L.(Noktalı küçük yaban mersini)
	Oxycoccus (Cranberry)
	<i>Vaccinium macrocarpon</i>
	<i>Vaccinium oxycoccus</i>
	Cyanococcus (kültürü yapılan yaban mersinleri)
	<i>Vaccinium corymbosum</i> L. (Kuzey orijinli yüksek çalı yaban mersini)
	<i>Vaccinium australe</i> L. (Güney orijinli yüksek çalı yaban mersini)
	<i>Vaccinium ashei</i> Reade. (Tavşangözü yaban mersini)
	<i>Vaccinium angustifolium</i> L. (Alçak çalı yaban mersini)
	<i>Vaccinium myrtilloides</i> L. (Alçak çalı yaban mersini)
	<i>Vaccinium boreale</i> Hall & Alders (Yer yaban mersini)

Türkiye florasının doğal *Vaccinium* türleri; *Vaccinium vitis-idaea*, *Vaccinium uliginosum*, *Vaccinium myrtillus* ve *Vaccinium arctostaphylos* olup, Kafkasya, Batı ve Güney Transkafkasya, Balkanlar ve Orta Asya'da yaygın olarak bulunurlar (Ayaz vd., 2005).

V. myrtillus Doğu Karadeniz ve Uludağ'da doğal olarak yetişen üzüksü bir bitkidir. Çalı formundadır ve puslu yüzeyle olan mavi-siyah üzüksü meyveleri vardır. Giresun ve Ordu'da "çalı çileği" olarak bilinen bu bitki batıda "blueberry" olarak bilinir. Ülkemizde yapılan bazı bilimsel çalışmalarda "yaban mersini" olarak adlandırılmakla birlikte Akdeniz'de doğal olarak yetiştirilen "mersin" ile karıştırılabilmektedir (URL-1, 2011).



Şekil 1. *Vaccinium myrtillus* L. çiçek ve yaprağı (URL-2, 2011).

Bataklık *Vaccinium* türü (*Vaccinium uliginosum*) kahverengi gövdeli ortalama 0,01-0,75 m, bazen 1 m'ye kadar çıkabilen yaprak döken bir çalıdır. Geniş bir yayılış gösterirler. Pireneler, Alpler ve Kafkasya; Asya'da Japonya ve Çin son olarak Kuzey Amerika'da Sierra Nevada ve Kayalık Dağlarında bulunur. Türkiye'de Karadeniz'in kuzey doğusunda rastlanır. Bozkır, tundra, fundalık ve kozalaklı orman altlarında deniz seviyesinden 1700-3400 m yükseltideki ıslak asidik topraklarda yetişir (URL-3, 2011).



Şekil 2. *Vaccinium uliginosum* L. çiçek ve meyvesi (URL-3, 2011)

Kafkas *Vaccinium* türü (*Vaccinium arctostaphylos*) 1-6 m boyunda bir ağaççıktır. Kışın yapraklarını döker. Meyve kırmızımtrak siyah renklidir. Kuzey Anadolu Bölgesi dağlarının orman açıklarında yetişir. Yaprakları tanen, organik asitler ve glikozitler taşımaktadır. Taze yaprakların kurutulması ile elde edilen ürün eskiden "Trabzon çayı" veya "Sapanca çayı" olarak bilinir veya çayın içine ilave edilirdi (Baytop, 1997).



Şekil 3. *Vaccinium arctostaphylos* L. çiçek ve meyvesi (URL-4, 2011)

Noktalı küçük *Vaccinium* türü (*Vaccinium vitis-idaea*) ya da kırmızı *Vaccinium* türü, Preiselbeere, 0,01-0,03 m boyunda, çok yıllık, sürekli yeşil renkli ve az çatallaşan bir bitkidir. Yaprakları derimsi üst kısmı koyu yeşil, altı açık yeşil renklidir. Çiçekleri beyaz renkli çan şeklinde uçlarına doğru beş parçalı olup geriye doğru kıvrıktır. Bu türün doğal formları yalnızca Rize-Kaçkar Dağları'nda yetişir (Davis, 1978). Meyveleri koyu kırmızı veya kan kırmızısıdır (URL-5 ve 6, 2011).



Şekil 4. *Vaccinium vitis-idaea* L. çiçek ve meyvesi (URL-5 ve 6, 2011)

1.1.2. Genel Morfolojik Özellikleri

Ocak şeklinde bir görünüm arz eden *Vaccinium* türlerinde toprak üstü organlarını dip kısımdan çıkan yeni, sukkulent yapıdaki sürgünler, odunlu çalı formundaki sürgünler ile bir yaşlı sürgünlerden çıkan yeni yeşil yan sürgünler oluşturur. Sırık (sopa) şeklindeki *Vaccinium* sürgünleri 10-20 yıl yaşayabilir ancak 5-7 yıl sonra bu sürgünler budanarak çıkarılmalıdır. Yüksek boylu çalı formundaki *Vaccinium* türü 1,2-3 m boylanabilir. Alçak boylu çalı formundaki *Vaccinium* türü 0,9 m boylanabilirken yarı-yüksek çalı formundaki *Vaccinium* türü çeşitleri bu iki grup arasındadır. Tavşan gözü *Vaccinium* türü ise daha uzun sürgünlere sahip olup kuvvetli gelişme gösterirler ve 6,1 m boy yapabilmektedirler.

Yüksek boylu çalı formundaki *Vaccinium* türü kökleri ince, kök kılları olmayan lifli kök yapısına sahiptir. Kökler bitkinin tabanından itibaren 1,8 m'ye kadar yayılabilir. Alçak boylu çalı formundaki *Vaccinium* türlerinin köklerinde de kök tüyü yoktur. Çok ince ve lif (iplik) gibi olan kökleri vardır. Bu *Vaccinium* türleri toprak altı rizomlardan adventif olarak büyürler. Dolayısıyla alçak boylu çalı formundaki *Vaccinium* türleri yayılıcıdır.

Meyve gözleri ise yaz sonları ile sonbahar aylarında oluşur. Tomurcuk gelişimi sürgün ucundan aşağıya doğru yani bazipetal olarak meydana gelir. Çiçekler, 5 çanak yaprak, 5 taç yaprak, 10 erkek organ ve 1 dişi organ içerir.

Meyve iriliği, sürgün çapına ve çekirdek sayısına bağlıdır. Kalın sürgünler daha iri meyve verirken dölllenme sonucunda meyvede meydana gelen çekirdek sayısının fazlalığı da iri meyve ile sonuçlanır. Bu arada karşılıklı tozlanma da meyve iriliğini artırıcı yönde etkin rol oynamaktadır. *Vaccinium* türlerinin meyve tutumu için tozlaşma gerekir ve bu

olay entomofiliktir. Bu nedenle böcekleri çeken hoş kokulu ve nektar içeren çiçeklere sahiptirler.

1.1.3. *Vaccinium* Meyvelerinin Faydaları, Kullanım Alanları ve Besin Değerleri

Faydaları;

- Anti kanserojen ve antioksidan özelliğe sahiptir.
- *Vaccinium* türlerinden elde edilen çay bayanlarda özel günlerin etkisini azaltmakta ve düzene sokmaktadır. Ayrıca idrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik etkisi göstermektedir.
- Taze olarak yenildiğinde kanı temizler.
- Kan şekerini düşürür.
- Bağırsak metabolizmasını düzenleyen lifli özelliği vardır.
- Kan kolesterolünü düşürür.
- Pektin içeriği yüksektir.
- Kalp krizi riskini azaltır.
- Gece görüş kabiliyetini artırır.
- HIV virüsünün tekrarlanmasını azaltır.
- Damar elastikliği ve gözlerin geçirgenliğini artırır.
- Vücutta biyoaktif madde olarak kullanılan antosyaninler, polifenoller, flavanoller ve tanenlerce zengindir.
- Kansere karşı savaşan ELLAGIC-ASİT içeriği oldukça yüksektir.
- Göz yorgunluğunu giderir, miyopluk ve şeker hastalığından kaynaklanan görme bozukluklarını engeller. Kamaşma, kılcal damar çatlaması ve gece körlüğünü ortadan kaldırır.
- Damar sertliği oluşumunu engeller.
- Varis ve basuru (hemoroit) iyileştirir.

Kullanım alanları;

- Taze veya kuru meyve olarak,
- Meyve suyu olarak (diğer meyve suları ile karıştırılır),

- İlaç sanayinde (kuru veya toz halinde meyveleri, çiçekleri, kökleri ve yaprakları),
- Süt ve süt ürünleri teknolojisinde,
- Baharat olarak,
- Reçel, marmelat ve konserve olarak,
- Şarap yapımında,
- Bitkisi kulp (sap) yapımında kullanılmaktadır.

Vaccinium türlerinin içeriği ile ilgili dünya çapındaki bilimsel dergilerde yüzlerce araştırma makalesi yayınlanmıştır. Yapılan araştırmalarda bir bardak *Vaccinium* meyvesinin 14 g geldiği Tablo 1'de verilen vitamin ve protein değerlerinden oluştuğu tespit edilmiştir. Mineral ve vitaminlerce zengin olan *Vaccinium* meyveleri sodyum içermezken potasyum içeriği son derece yüksektir. Ayrıca, sakkaroz içeriği %3 iken %48 glikoz ve %49 fruktoz içermektedir (Turner ve Muir, 1985; Kalt ve Dufour, 1997; Çelik, 2005; Hafner ve Remberg, 2006; Latti vd., 2009).

Vaccinium türlerinin meyvelerinde fenolik bileşikler dikkate alınmalıdır. Bu bileşikler bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan biyolojik olarak aktif sekonder metabolitlerdir. Fenolik bileşiklerin sağlığı koruyucu etkilerinin çoğu antioksidan, antimutajenik, antikarsinojenik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, ve diğer biyolojik özelliklerinden kaynaklandığı rapor edilmiştir (Ayaz vd., 2005).

V. arctostaphylos meyve özütlerinin kromatografik analizleri sonunda 12 fenolik asit ve 3 flavonol glikozid belirlenmiştir (Ayaz vd., 2005).

V. arctostaphylos meyve özütlerinde ise yedi hidrobenzoik asit (gallik, protokateşik, p-hidroksibenzoik, m-hidroksibenzoik, gentisik, sirinjik ve salisik asit) ve dört hidroksi sinamik asit türevli (p-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asit) toplam on bir serbest fenolik asit tanımlanmış ve kafeik ve p-kumarik asitlerin bol bulunduğu rapor edilmiştir (Ayaz vd., 2005).

Tablo 1. 100 g *Vaccinium* meyvesinin genel içeriği, mineral ve vitamin içeriği oranları (kuru ağırlık) (URL-7).

100 g <i>Vaccinium</i> meyvesinin içeriği	Su	%83
	Protein	%0,7
	Yağ	%0,5
	Karbohidrat	%15
	Lif	%1,5
	Kalori	62
Mineraller (mg/100 g)	Kalsiyum	6,00
	Bakır	0,06
	Demir	0,17
	Magnezyum	5,00
	Manganez	0,28
	Fosfor	10,00
	Potasyum	89,00
	Selenyum	0,60
	Sodyum	0,00
	Çinko	0,11
Vitaminler	C- Vitamini	13,00
	Thiamin	0,05
	Riboflavin	0,05
	Niacin	0,36
	Pantotenik Asit	0,09
	Vitamin B-6	0,04
	Vitamin A	100.00 IU
Vitamin E	1.00 mg AET	

V. corymbosum L., (hibrid yüksek çalı formlu yaban mersini) meyve özütlerinin; %3,4 gallik asit, %3,2 kafeik asit, %5 p-kumarik asit, %3,7 ferulik asit içerdiği rapor edilmiştir (Turner ve Muir, 1985; Kalt ve Dufour, 1997; Çelik, 2005; Hafner ve Remberg, 2006).

1.2. *Vaccinium* Türlerinde Fide Üretim Yöntemleri

Vaccinium türleri üzerindeki çalışmalar İngilizlerin Amerika kıtasına yerleşmelerinden sonra başlamıştır. Doğal floradaki yabancı yaban mersinlerini gören ve yerli halkın bunları toplayarak yediklerini fark eden İngilizler 300 yıla yakın bir süre bu meyvenin az miktarda kültürünü ve ıslahını yapmışlardır. Geniş çapta bilimsel araştırmalar ise XX. yüzyılın başında A.B.D.'de Dr. F.V. Coville tarafından başlatılmıştır (Debnath, 2009). Araştırmalar sınırlı olmasına rağmen bazı *Vaccinium* türlerinde çelik ile üretim

çalışmaları da yapılmıştır. Ama bu yöntemler türe göre farklılık göstermektedir. Örneğin bazı türlerin çelikle üretimi gerçekleştirilememektedir. *Vaccinium* türlerinin fideleri iki yöntemle üretilmektedir;

1. Generatif (Eşeyli) Üretim
2. Vejetatif (Eşeysiz) Üretim
 - ❖ Çelikle üretim
 - ❖ Aşı ile üretim
 - ❖ Doku kültürü teknikleri ile üretim

1.2.1. Generatif Üretim

Vaccinium türlerinin generatif yani tohum ile üretiminde çeşitli güncel sorunlar mevcuttur. Bu bitkiler genetik olarak heterozigot olduklarından tohumla çoğaltılmaları ürün veriminde kayba neden olduğu için uygun görülmemektedir (Debnath, 2009).

1.2.2. Vejetatif Üretim

Vejetatif üretim yoluyla çoğaltma, sürgün, kök sürgünü, yaprak, yumru ve rizom gibi vejetatif bitki kısımlarından alınan parçalar ile yapılan üretim şeklidir. Bu organlardan alınan bir parça, bir tarafı ile yeni bir kök sistemi oluştururken diğer tarafı ile de yeni bir sürgün sistemi oluşturarak yeni bir bitkiye dönüşür veya başka bir bitki parçası (anaç) ile birleşerek yine yeni bir bitki oluşturur (Ürgeç, 1992).

1.2.2.1. Çelikle Üretim

Sınırlı da olsa bazı *Vaccinium* türlerinde çelikle üretim çalışmaları yapılmıştır. *Vaccinium* türlerinin çoğaltılmasında yaygın olarak yumuşak ve sert odun çelikleri kullanılmaktadır (Schulte ve Hancock, 1983; Prits ve Hancock, 1992; Strik vd., 1993; Cline ve Fernandez, 1998, Çelik, 2005; Krewer ve Cline, 2006). Yumuşak ve sert odunsu çeliklerin yanı sıra aşı, tohum, daldırma ve ayırma ile de çoğaltılabilirler (Ağaoğlu, 1986; Eck vd., 1990; Gough, 1994b ve 1996). Yüks ek çalı formundaki *Vaccinium* türleri genelde sert odun çelikleri ile çoğaltılırken 42° Kuzey paraleli üzerindeki yerlerde ana bitkiler

üzerindeki meyveler olgunlaşmadan önce alınan yumuşak odun çelikleri ile de başarı ile çoğaltılabilmektedirler. *Vaccinium* türlerinin hızlı bir şekilde çoğaltılması amacıyla yumuşak odun veya yaz aylarında alınan yapraklı yeşil çelikler kullanılır. Ancak, yumuşak odun veya yeşil çeliklerle yapılan çoğaltmalarda alttan ısıtma, sisleme sistemi ve gölgelendirme gerekli iken havalanma şartlarının da mükemmel olması gerekir (Eck vd., 1990; Strik vd., 1993; Gough, 1994a ve 1996; Williamson ve Lyrene, 1998; Withworth, 2003). Dolayısıyla *Vaccinium* türlerinin yumuşak odun çelikleri ile çoğaltılması sert odun çeliklerine göre çok daha zordur (Prits ve Hancock, 1992).

Bitkinin aktif gelişme döneminde alınan yapraklı, yeşil çelikler çok daha kısa sürede yeni bitkilerin elde edilmesine imkan tanır, ancak alınır alınmaz uygun ortamlara dikilmeleri zorunludur (Prits ve Hancock, 1992). Bu yöntemde kısa sürede çok fazla miktarda çelik alınabilmekte ve köklenme oranındaki başarı oldukça yüksek (%70-80) olabilmektedir (Krewer ve Cline, 2006). Son yıllarda yapılan bu yöntem sert odun çelikleri ile yapılan çoğaltmanın yerini almıştır. Bu yöntem sayesinde bazı *Vaccinium* türleri çok hızlı bir şekilde çoğaltılabilmektedir. Çeliklerin köklenmesi üzerine türlere ve çeşitlere bağlı olarak büyümeyi düzenleyiciler, çelik tipi, çelik alma zamanı, köklenme ortamı ve ortam sıcaklığı gibi birçok faktör etki etmektedir (Wolfe vd., 1984; Draper ve Chandler, 1986; Koron vd., 1988; Munoz vd., 1993; Abolins vd., 2003). *Vaccinium* türlerinin çoğaltılması sırasında büyüme ve gelişme için optimum şartları sağladığına inanılan ve en yaygın olarak kullanılan ortam kum-torf karışımıdır (Munoz vd., 1993). Ilıman iklim kuşağında yetişen meyve türlerinin çoğunda çeliklerin köklenmesi için gece sıcaklığının 15 °C'nin altına düşmemesi koşulu ile 21-27 °C alttan ısıtma sıcaklığı gereklidir (Hartman ve Kester, 1983). *Vaccinium* türlerinde çeliklerin tabandan sıcak tutulması üzerine olumlu (Gough, 1994a) ve olumsuz (Strik vd., 1993) görüşler olmasına rağmen 21-25 °C arasındaki sıcaklıkların *Vaccinium* çeliklerinin köklenmesini artırdığı belirtilmektedir (Prits ve Hancock, 1992; Gough, 1994a ve 1996). Ayrıca, *Vaccinium* türlerinde çoğaltmada kullanılan metod bitkilerin büyüme, gelişme ve verimleri üzerine de etki edebildiği gibi çoğaltma materyaline göre oluşan yan sürgün sayısı da farklılık göstermektedir (El-Shiekh vd., 1996; Smolarz ve Chlebowska 1998, Litwinczuk vd., 2005).

1.2.2.2. Aşı ile Üretim

Vaccinium türlerinin aşı ile çoğaltılması zordur ve aşı ile çoğaltma çok az kullanılmaktadır. Araştırmacılara göre yüksek çalı formu *Vaccinium* türü (*Vaccinium ashei*) *Vaccinium arboreum* üzerine başarılı olarak aşılabilir. Yaz ortalarında iyi bir yara dokusu (kallus) oluşumunu sağlayacak sıcaklık olduğunda yarma veya yama aşı başarılı sonuç vermektedir.

Son yıllarda Northblue çeşidinde denenen doku kültürü ile çoğaltma sonucunda fazla çalı oluşturan, kuvvetli sürgünler veren ve bol meyveli fidanlar elde edildiği bildirilmektedir. Ayrıca doku kültürü ile çoğaltılan bu çeşidin yapraklarının, çelikle çoğaltılarak elde edilenlere göre 3 kat daha hızlı büyüdüğü saptanmıştır.

Vejetatif olarak üretilen fideler anaç bitkinin özelliklerini taşırlar. Ancak burada anaç bitkideki, bazı sistemik hastalıkların fideye geçmesi kaçınılmazdır (Çelik, 2005).

1.2.2.3. Doku Kültürü ile Üretim (Mikroçoğaltım)

1.2.2.3.1. Bitki Doku Kültürü

Bitki doku kültürü yöntemi, temelde bir üretim yöntemidir. Bilinen diğer klasik üretim yöntemlerinden farklı olarak, bitkinin çeşitli kısımlarından alınan küçük bir doku parçası (eksplant) sterilize edildikten sonra, çeşitli besin maddelerini içeren steril besi ortamında ve uygun çevre koşullarında (ışık, nem ve sıcaklık) kültüre alınması işlemidir (Srivastava ve Steinbaver, 1981; Vidalie, 1986; Gönülşen, 1987).

Doku kültürü ile ilgili çalışmalar, 1975 yılına kadar kallus kültürü ile bitki rejenerasyonu esasına dayandırılmıştır (Chalupa, 1987). Günümüzde *in vitro* koşullarda, çeşitli bitki türlerinin doku kültürü tekniği ile üretilmesinde kallus, sürgün ucu, embriyo, hücre ve protoplast kültürleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Srivastava ve Steinbaver, 1981; Vidalie, 1986; Ahuja, 1986). Doku kültürlerinin sağladığı avantajlar; genotiplerin hızlı üretimi, *in vitro*'da erken seleksiyon, klasik, vejetatif çoğaltma amacıyla gençleştirme, hastaliksız bitki eldesi, haploit bitkilerin üretilmesi, mutantların üretimi ve seçimi, genetik çeşitliliğin saklanması (soğukta saklama veya dondurarak saklama), somatik embriyo oluşumu, sentetik tohum üretimi, protoplast kültürü ile somatik hibridizasyon ve DNA teknolojisi ile gen transferleridir (Bhojwani ve Razdan, 1983; Vidalie, 1986; Üçler, 1994).

Diğer taraftan doku kültürü ile üretimin vejetasyon dönemine bağlı olmaması, bir klonu sınırsız bir şekilde üretme olanağı vermesi, poliploit bireyler elde edebilme ve gen bankaları (doku bankaları) kurma gibi yararları yanında, çelikle üretilmesi zor olan bazı bitki türlerinin bu yöntemle kolayca üretilmesi, zengin tohum yıllarının seyrek olduğu ve tohumların uzun süre saklanması mümkün olmadığı veya güç olduğu ağaç türlerinin üretilmesinde de önem taşımaktadır (Vidalie, 1986).

Bitki doku kültürü teknikleri ile nispeten problemsiz ve hızlı üretim ihtimali, daha ileri ıslah adımlarında kullanılabilecek önemli avantajlar sunmaktadır (Üçler, 1994).

1.2.3. *Vaccinium* Türlerinin Doku Kültürü ile Çoğaltılması

Yukarıda da bahsedildiği gibi *Vaccinium* türlerinin generatif ve vejetatif üretiminde çözüm bekleyen güncel sorunlar vardır ve özellikle tohumla (generatif) üretim tercih edilmez. Taşıdığı çeşitli özellikler nedeniyle birçok alanda yoğun talep bulunan *Vaccinium* L.'nin, üretimiyle ilgili çalışmaların yetersiz olduğu ve bu konuda kapsamlı çalışmalar yapılması gerektiği ve ticari üretimiyle ilgili sınırlı bilgilerin mevcut olduğu vurgulanmaktadır (Çelik, 2005).

Literatürde *Vaccinium*'ların laboratuvarlarda doku kültürü ile üretim çalışmalarına dair veriler sınırlıdır. Oysa üretimi zor olan bitkilerin çoğaltımında hızlı ve etkin bir teknik olan doku kültürü ile üretim sayesinde vejetatif üretimin yaygınlaşacağı ve ticari üretim bazında patent ve sertifika olanağı iyi bilinmektedir (Galle, 1987).

Vidalie (1986), doku kültürü ile vejetasyon süresine ve tohuma bağlı kalmadan, bitkinin herhangi bir dokusundan yıl boyunca sürekli üretim gerçekleştirildiğini çalışmalarında ortaya koymuştur. Yine doku kültürü tekniği ile seçilmiş genotiplerin değerlendirilmesi, hızlı büyüyen fertlerin ortaya çıkarılması, soğuğa, kuraklığa, hastalıklara, tuzluluğa ve herbisitlere dayanıklı bireylerin elde edilmesi, üstün bireylerin ortaya çıkarılmasının mümkün olabileceği literatürlerde yer almaktadır (Kaya, 1988).

1.2.3.1. Kallus Kültürleri ile Üretim

Kallus kültürü explantlardan uygun bir besin ortamında kallus dokusunun oluşturulması yani izole edilmiş hücre yığınlarının *in vitro* kültürüdür. Kallus kültürlerine

bitkinin bölünebilme özelliğine sahip hücrelerin bulunduğu bitki kısımlarından başlanılabilir. Bunlara örnek olarak; endosperm, polen, embriyo, yaprak sapı, kök kısımları, internodlar vs. verilebilir (Vidalie, 1986). Kallus kültüründe kallusun oluşabilmesi için ortama genel olarak 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) eklenir (Vidalie, 1986; Harbage ve Stimart, 1987). Çoğu otsu bitkiler doku kültüründe, somaklonal varyasyon sergileyen kalluslardan üretilir, bu da ürünlerin kalitesi için oldukça önemlidir (Yeoman ve Forche, 1980; Evans ve Sharp, 1983; Harbage ve Stimart, 1987). *In vitro* ortamda odunsu bitkiler kallus oluşturmaya rağmen, organ yenileme hızı düşüktür ve özellikle alt kültür kalluslarından sonra çok daha düşüktür. Odunsu bitkilerin, *in vitro*'da üretilmiş somatik varyasyonlarından herhangi bir gelişme elde edilememiştir (Harbage ve Stimart, 1987).

Literatürde *Vaccinium* türleri üzerine yapılan kallus kültürlerinden sürgün elde etme çalışmaları bulunmaktadır (Ostrolucka vd., 2004). Ancak kallus kültürlerinden sürgün eldesi üzerine literatür bilgisi bulunmamaktadır.

1.2.3.2. Organ Kültürleri ile Üretim

Doku kültürü teknikleri ile üretimde, pratik ve hızlı çoğaltım ve genetik stabilizeyi sağlamak açısından en çok kullanılan yöntem organ kültürüdür (Ahuja, 1986; Ahuja, 1986b). Organ kültüründe sürgün oluşumu ve bitki rejenerasyonunda; yapraklar, kotiledon ve hipokotil gibi embriyo parçaları, sürgün ve sürgün uçları, koltuk altı ve terminal tomurcuklar gibi bitkinin değişik kısımları materyal olarak kullanılmaktadır (Üçler, 1994).

Farklı *Vaccinium* türleri üzerinde yapılan çalışmalarda sürgün uçları kullanılarak doku kültürü yöntemiyle üretimi gerçekleştirilmiştir. Sürgün ve kök oluşumu için MS, WPM ve AN gibi farklı besin ortamları pek çok araştırmacı tarafından kullanılmıştır ve yüksek oranda başarı elde ettikleri belirtilmiştir.

Ostrolucká ve ark. (2002), *Vaccinium corymbosum* türünde sürgün oluşumu için AN besin ortamını kullanmışlar ve bu ortamda bitki büyüme düzenleyicisi olarak zeatinin farklı dozlarını (0,5 ve 2,0 mg/L) denemişler ve en yüksek sürgün veriminin %40-50 oranında 2,0 mg/L zeatin içeren ortamda olduğunu gözlemlemişlerdir. Kök oluşumu için ise Ostrolucká ve arkadaşları (2000) AN ortamında 0,8 mg/L IBA ve yine *ex vitro* ortamda 15-20 mm uzunluğundaki sürgünleri 0,8 mg/L konsantrasyonundaki IBA solusyonuna batırarak turbalı topıra aktararak köklendirme işlemini gerçekleştirmişlerdir ve %80-95

oranında köklenme oranı elde ettiklerini bildirmişlerdir (Jain ve Häggman, 2007). Aynı araştırmacılar *V. vitis-idaea* türü üzerinde yaptığı çalışmalarda ise sürgün verimi için en uygun ortamın 0,75 mg/L zeatin içeren ortam olduğunu belirlemişlerdi. Kök verimi için ise hem *in vitro* hem de *ex vitro*'da yine en uygun ortamın 0,8 mg/L IBA içeren ortam olduğunu belirlemişlerdir (Jain ve Häggman, 2007).

1.2.3.3. Embriyo Kültürleri ile Üretim

Embriyo kültürü, izole edilmiş, olgun veya olgunlaşmamış embriyoların *in vitro*'da gelişmesi veya muhafaza edilmesi olarak tanımlanır. Ortamdaki karbohidratlar embriyonun ayakta kalması ve büyümesini büyük ölçüde artırır. Sakkarozdan daha yaygın olarak kullanılan karbohidratlar, sadece enerji kaynağı değil, aynı zamanda osmotik düzenleyici olarak kullanılır. Embriyo kültürü orman ağacı türlerinde geniş oranda çimlenme engelinin ortadan kaldırılması için kullanılmaktadır. Literatürde *Vaccinium* türlerinin embriyo kültürü ile üretimi hakkında çok az bilgi mevcuttur (Vidalie, 1986).

1.2.3.4. Hücre Kültürleri ile Üretim

Hücre kültüründe alınan hücre tek olabileceği gibi hücre grupları da olabilir. Hücre kültürü kağıt ve petri kabı tekniği olmak üzere iki şekilde yapılır. Kağıt tekniğinde aktif kallustan mikropipetle alınarak kağıt üstüne koyulan tek hücre bölünerek sürgün ve kök oluşumu yapar. Daha sonra yeni ortamlara taşınır. Petri kabı tekniğinde sterilize edilmiş besin ortamı ile karıştırılan hücre grupları özel bir steril ortamdan geçirilerek farklı ebatlardaki kaplara taşınır. Son olarak da petri kabına aktarılıp kültüre alınır. Köklenen sürgünler yeni ortamlara taşınır (Vidalie, 1986). *Vaccinium* türlerinin hücre kültürleri ile üretimi üzerine literatürde çok fazla bilgi yer almamaktadır.

1.3. Çalışmanın Amacı

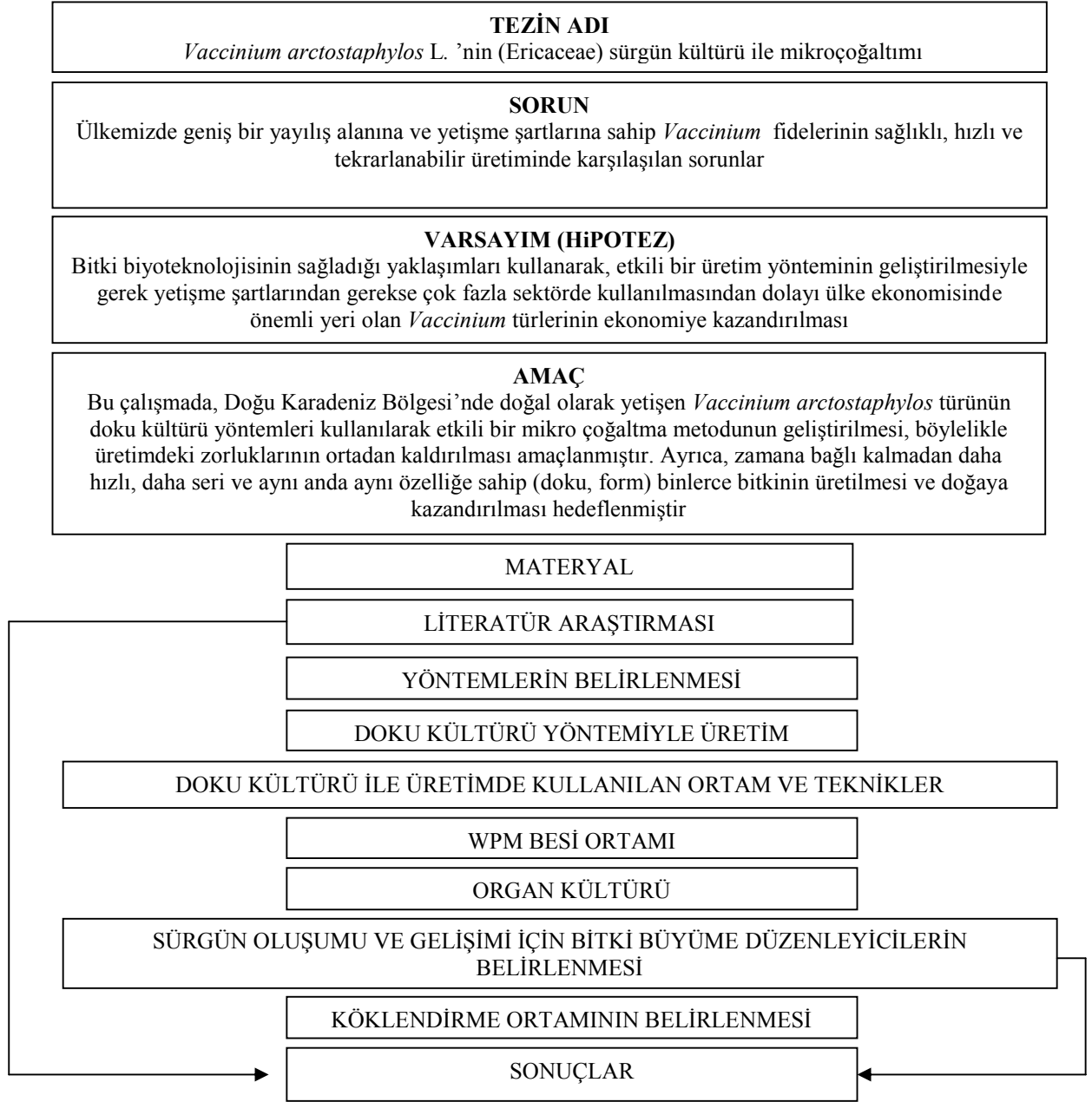
Bu çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde doğal olarak yetişen *Vaccinium arctostaphylos* türünün doku kültürü yöntemleri kullanılarak etkili bir mikroçoğaltma metodunun geliştirilmesi, böylelikle üretimdeki zorluklarının ortadan kaldırılması

amaçlanmıştır. Ayrıca, zamana bağlı kalmadan daha hızlı, daha seri ve aynı anda aynı özelliğe sahip (doku, form) binlerce bitkinin üretilmesi ve doğaya kazandırılması hedeflenmiştir.

Bu amaçla farklı temel besi ortamları, bitki büyüme düzenleyicilerin çeşitli kombinasyonları denenmiş ve gerek sürgün oluşumu ve gelişimi ve gerekse kök gelişiminde bu faktörlerin etkileri araştırılmıştır. Konu ile ilgili çalışmaların yöntem ve tekniklerini gösteren işlev şeması Bölüm 2’de yapılan çalışmalar kısmında verildi.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Araştırmada kullanılan yöntem ve tekniklere ait işlev şeması aşağıda verildi.



Şekil 5. *Vaccinium arctostaphylos* L.'ye ait çalışmaları, yöntem ve teknikleri gösteren işlev şeması

2.1. Materyal

Bu araştırmada, *Vaccinium arctostaphylos* bitkisinin doku kültürü yöntemleri ile üretimi ve değerlendirilmesi üzerine çalışmalar yapıldı. *V. arctostaphylos* türünün sürgün oluşturma safhasındaki lateral (yanal) tomurcukları araştırma materyali olarak kullanıldı. Deneysel tasarımıda, *Vaccinium* türlerinin doku kültürleri ile çoğaltımı hususunda yapılan ve literatürde rastlanan çalışmalardan yararlandı.

Doku kültürü ile üretim alışmaları, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Fizyolojisi ve Biyokimyası Laboratuvarı'nda yapıldı.

Bu çalışmada, besi ortamlarının pH'sını ayarlama Mettler Toledo MP 220 marka pH metre, tartım işlemlerinde OHAUS marka hassas terazi, zltelerin karıştırılmasında Heidolph 1400 (Hotplate & Stirrer) marka ısıtıcıly manyetik karıştırıcı, kurutma işlemlerinde Nüve FN 120 marka etüv, saf su üretilmesinde GFL 2104 marka saf su cihazı, sterilizasyon işlemlerinde Ticisan (75 litre) marka otoklav, materyallerin kültüre alınma işleminde ESCO marka laminar akışly steril kabin, kültürlerin büyütülmesinde Sanyo marka iklim dolabı kullanıldı.

2.1.1. Doku Kültürü ile İlgili Bitkisel Materyaller

Birinci aşamada çalışma materyali olarak *V. arctostaphylos*'a ait dormant halden ıkmyı ve sürgün oluşturmaya hazır genç ve yumuşak lateral tomurcuklar 2010 yılı, Mayıs ayının ilk yarısından itibaren Trabzon İli şalpaazarı mevki, Sis Dağı (40° 51' 16.45" K, 39° 09' 44.10"), 1693 m'den alındı.

2.2. Yöntemler

2.2.1. Materyallerin Toplanması, Taşınması ve Teşhisi

Vejetasyonun devam ettiği dönemde alınan yeşil, genç ve yumuşak sürgünler, güneşin çok etkin olmadığı sabah veya akşam saatlerinde 10 cm uzunluğunda kesilerek, Hoogland solusyonlu torbalar içerisinde laboratuvar ortamına ulaştırıldı. Eksplantlar alındıkları tarih ve yerle ilgili bilgilerin bulunduğu etiketlerle birlikte kültür ortamına

alınıncaya kadar oda sıcaklığını geçmeyecek derecede saklanmaya özen gösterildi ve en geç 3 gün içerisinde kültür ortamına alındı.

Çalışma konusunu oluşturan *V. arctostaphylos* bitkisi K.T.Ü. Orman Fakültesi Orman Mühendisliği Bölümü Orman Botaniği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Salih TERZİOĞLU tarafından teşhis edildi.

2.2.2. Besi Ortamlarının Hazırlanması

Günümüzde, doku kültürü ile üretimde birçok sentetik besi ortamı kullanılmaktadır. Bu besi ortamları, bitkilerin isteklerine göre uyarlanabilmektedir (Anderson, 1984). Sürgün oluşturma çalışmalarında Murashige & Skoog (1962) tarafından geliştirilen MS besi ortamı, Anderson (1984) tarafından geliştirilen *Rhododendron* besi ortamı ve daha çok odunsu bitkilerin doku kültürü çalışmalarında kullanılan, Lloyd and McCown (1980) tarafından geliştirilen WPM besi ortamı kullanıldı. Sürgün çoğaltma (geliştirme) çalışmalarında ise, diğer besi ortamlarına göre daha üstün olan, WPM ortamı temel besi ortamı olarak değerlendirildi. Söz konusu hazır besi ortamları Duchefa'dan (Haarlem-Hollanda) satın alındı. Temel besi ortamlarının içerikleri Tablo 2'de verilmektedir.

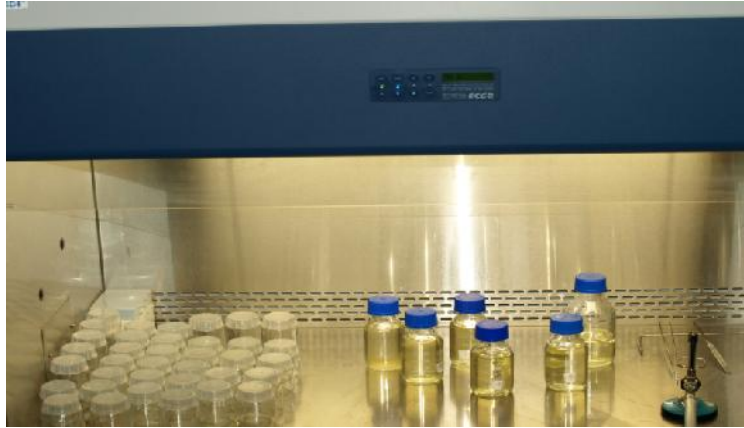
Tablo 2. McCOWN Odunsu (WPM), Murashige & Skoog (MS) ve Anderson *Rhododendron* (AN) besi ortamlarının bileşenleri ve miktarları

Makro Elementler	mg/L		
	WPM	MS	AN
NH ₄ NO ₃	400.00	1650	400
KNO ₃	-	1900	480
CaCl ₂	75.50	-	332.02
CaCl ₂ .2H ₂ O	-	440	-
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	-	-	380
MgSO ₄	180.54	-	180.54
MgSO ₄ .7H ₂ O	-	370	-
KH ₂ PO ₄	170.00	170	-
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	471.26	-	-
K ₂ SO ₄	990.00	-	-
Mikro Elementler			
H ₃ BO ₃	6.20	6.2	6.2
MnSO ₄ .H ₂ O	22.30	16.9	16.9
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60	-	8.60
ZnSO ₄ .H ₂ O	-	8.6	-
KI	-	0.83	0.30
CoCl ₂ .6H ₂ O	-	0.025	0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	-	27.8	55.7
FeNaEDTA	36.70	37.3	73.40
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25	0.25	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.25	0.025	0.025
Vitaminler			
Nikotinik Asit	0.50	0.5	100
Thiamin HCl	1.00	0.1	0.40
Pridoksin. HCl	0.50	0.5	100
İnositol	100.00	100.0	20
Glisin	2.00	2.0	-
Adenin Hemisülfat	-	-	0.80



Şekil 6. McCOWN odunlu bitkiler besi ortamı

1 litre WPM besi ortamı hazırlamak için, stok (hazır) besi ortamından (Şekil 6) 2462,6 mg/L tartıldı ve 1 litrelik vida kapaklı cam şişelere aktarıldı. Her bir besi ortamına %2 sukroz ilave edildi ve ortamların hacmi saf su ile 1 litreye tamamlandı. Jelleştirici olarak %0.8 (w/v) Phyto Agar (Duchefa, Haarlem-Hollanda) eklendi. Ortamların pH' sı 0,1 N NaOH veya 0,1 N HCl ile 5,5-5,8'e ayarlandı. Hazırlanan ortamlar 121 °C' de 1,1 atm basınç altında 15 dk sterilizasyon işlemine tabi tutuldu. Sterilizasyon işleminin ardından besi ortamlarının sıcaklıkları 40-50 °C'ye düşene kadar yatay akışlı kabin içerisinde bekletildi. Son olarak ortamlara önceden 0,22 µm'lik filtrelerde (sigma) sterilizasyonu yapılan bitki büyüme düzenleyicileri gerekli oranlarda ortamlara ilave edildi ve besi ortamları 66 × 59 mm ve 98,5 × 59 mm'lik kültür kavanozlarına (magenta) aktarıldı (Şekil 7). Besi ortamlarının katılaşmasının ardından karanlıkta ve toz geçirmeyen ortamda saklandı.



Şekil 7. Otoklavda sterilizasyonu yapılmış besi ortamları

2.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Dozları

Sürgün oluşturma denemelerinde zeatin'in tek bir dozu 3 farklı temel besi ortamında (WPM, MS ve AN) denemeye tabi tutuldu. Sürgün oluşum aşamasında bu bitki büyüme düzenleyicisinin ve dozunun seçimi noktasında daha önce yapılan uygulamalardan ve literatür bilgisinden yararlanıldı.

Sürgün geliştirme denemelerinde WPM temel besi ortamına değişken zeatin ve TDZ dozları ile sabit IBA kombinasyonları ve kök oluşturma denemelerinde ise aynı ortama sadece farklı dozlarda IBA ilave edildi. Sürgün geliştirme aşamasında zeatin ve TDZ'nin karşılaştırılması, köklendirme çalışmalarında ise IBA'nın verilen dozlarda kullanılması noktasında yine daha önce yapılan uygulamalardan ve literatür bilgisinden yararlanıldı. Kültüre alınan tomurcuk explantlarında sürgün oluşumu, oluşan sürgünlerden sürgün gelişimi ve bu sürgünlerin köklendirilmesi için uygun besi ortamları ve bu ortamlara eklenen sitokinin + oksin kombinasyonları ve oksin dozları Tablo 3, 4, 5 ve 6'da verilmiştir.

Tablo 3. Sürgün oluşumu için MS, AN ve WPM ortamına eklenen zeatin/IBA kombinasyonları

	MS	WPM	AN
Zeatin (mg/L)	1,0	1,0	1,0
IBA (mg/L)	0,1	0,1	0,1

Tablo 4. Sürgün gelişimi için WPM ortamına eklenen zeatin/IBA kombinasyonları

Zeatin (mg/L)	0,5	1,0	2,0
IBA (mg/L)	0,1	0,1	0,1

Tablo 5. Sürgün gelişimi için WPM ortamına eklenen TDZ/IBA kombinasyonları

TDZ (mg/L)	0,5	1,0	2,0
IBA (mg/L)	0,1	0,1	0,1

Tablo 6. Köklendirme için WPM ortamına eklenen IBA konsantrasyonları

IBA (mg/L)	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
------------	-----	-----	-----	-----	-----

2.2.4. Bitkisel Materyalin Yüzey Sterilizasyonu

V. arctostaphylos bitkisinden kesilerek alınan tomurcuk halindeki sürgünler çeşme suyu ile 10 dakika yıkandı. Ön yıkama işleminden sonra, tepe tomurcuğu hariç birinci ve beşinci internodları arasındaki sürgünler kesildi ve yüzeysel sterilizasyon için önceden hazırlanmış %70'lik etanol (EtOH) içerisine 30 saniye bekletildi, akabinde içerisinde %3'lük sodyum hipoklorit (NaOCl) bulunan 250 ml'lik beher içerisine aktarıldı. Burada manyetik karıştırıcı ile 500 rpm hızla karıştırılarak 10 dakika süreyle yüzey sterilizasyonuna tabi tutuldu. Yüzey sterilizasyonu işlemi eksplantların steril distile su ile üç kez yıkanması ile tamamlandı.

2.2.5. Kullanılan Alet ve Ekipmanların Sterilizasyonu

Steril çalışma kabini, kültür aşılama çalışmalarına başlamadan önce, 10 dakika süre ile çalıştırıldıktan sonra %70'lik EtOH ile silindi. Kullanılan cam malzeme, otoklavda sterilizasyona tabi tutuldu. Çeşitli amaçlar için kullanılan tüm cam malzeme, otoklavda sterilizasyondan önce 100 °C'de, etüvde 1 saat süreyle bekletildi. Eksplantları kültüre almada kullanılan pens ve bistüriler çalışmaya başlamadan önce alkolle silinip ateşten geçirilerek sterilize edildi.

2.2.6. Materyalin Kültüre Alınması

Sterilize edilen sürgünler steril kabin içerisinde, birkaç yaprak taslağı taşıyan yan tomurcukları ile birlikte minimum 5 mm uzunluğunda kesildi ve içinde steril besi ortamı bulunan kültür kaplarına yerleştirilerek kültüre alındı (Şekil 8).



Şekil 8. WPM besi ortamında kültüre alınmış *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünleri

V. arctostaphylos'un alt kültürleri, yaşama durumlarına göre 4 ila 5 hafta aralıklarla taze besi ortamlarına aktarıldı.

2.2.7. Fiziksel Koşullar

Çalışmada kullanılan ve kültüre alma işlemi tamamlanan eksplantlar için inkübasyon ortamı olarak 24 ± 2 °C sıcaklık, 800 lüks ışık şiddeti, 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık koşulu ile %80 neme ayarlı iklim dolabı kullanıldı.

2.3. Gelişme Süresince Yapılan Ölçüm ve Gözlemler

2.3.1. Kültüre Alınan Eksplantların Gelişme Durumu ve Sürgün Oluşumu

V. arctostaphylos bitkileri, kültüre alınmalarından itibaren gelişme durumları, renkleri, canlılıkları, sürgün oluşumları ve oluşan sürgünlerden sürgün gelişimleri haftada bir kez dikkatlice gözlemlendi.

Sürgün geliştirme ortamlarında, denemelerin başlangıcından 6-8 hafta sonra; oluşan sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve bu sürgünlerdeki yaprak sayıları belirlenerek kaydedildi.

2.3.2. Sürgünlerin Köklendirilmesi

Sürgünlerin köklendirilmesi için farklı IBA dozlarında 5 farklı besi ortamı hazırlandı, normal besi ortamlarından farklı olarak oluşacak köklerin besi ortamında rahat büyüebilmesi için agar miktarı daha az tutuldu (%0,6). Köklenme ortamına alınan sürgünlerin 8 hafta sonunda karanlık ve aydınlık olarak köklenme yüzdeleri ve sürgün canlılıkları kaydedildi.

2.3.3. Denemelerin Kurulması ve Değerlendirilmesi

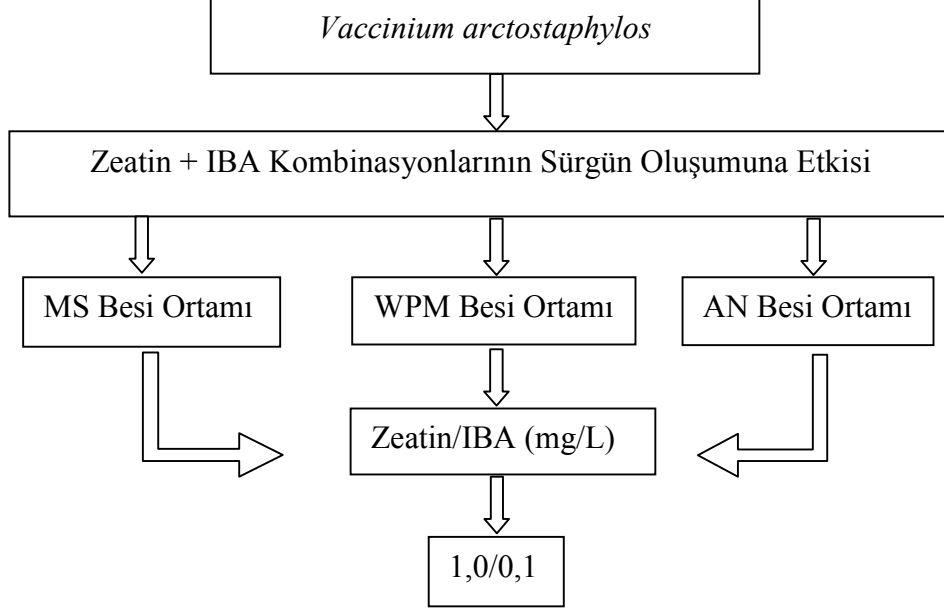
2.3.3.1. Denemelerin Kurulması

Her bir deneme üç tekrarlı olarak kuruldu ve toplam olarak en az 27 eksplant kullanıldı. Elde edilen değerler 3. alt kültür uygulamasından sonra elde edildi.

2.3.3.2. İstatistiksel Analizler

Yapılan bu tez çalışmasında 2 farklı bitki büyüme düzenleyicisinin 3 farklı doz ve konsantrasyondaki kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayıları verileri elde edildi. Bu veriler ışığında 2 farklı bitki büyüme düzenleyicisinin 3 farklı doz ve kombinasyonu istatistiksel olarak değerlendirildi. Elde edilen veriler Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows 17.0) paket programında yer alan ANOVA'nın tek-yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) ile analiz edilerek, Duncan Çoklu Karşılaştırma testi ile ortalamalar arasındaki farklar $P < 0,05$ önem düzeyinde belirlendi.

3. BULGULAR



Şekil 9. MS, WPM ve AN besi ortamlarında *Vaccinium arctostaphylos* L.'ye ait explantlarda sürgün oluşumu için denenen Zeatin/IBA kombinasyonunu gösteren işlev şeması

3.1. *Vaccinium arctostaphylos* L.'de *in vitro* Sürgün Oluşumu

Sürgün oluşturma aşamasında kullanılan temel besi ortamının ve bitki büyüme düzenleyicisinin seçiminde daha önceki uygulamalardan ve literatür bilgisinden yararlanıldı. Ortalama 6-8 hafta kültür ortamında tutulan sürgünlerin gelişmeleri takip edildi, sürgün uzunlukları ve sürgün oluşum oranları Tablo 7'de sunuldu.

Tablo 7. 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda kültüre alınan *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerin 8. hafta sonundaki sürgün oluşturma oranları ve büyüme uzunlukları

		BESİ ORTAMLARI								
		MS			WPM			AN		
		KAES ¹ (Adet)	SOO ² (%)	BU ³ (mm)	KAES (Adet)	SOO (%)	BU (mm)	KAES (Adet)	SOO (%)	BU (mm)
(mg/L)	1,0 Zeatin/ 0,1 IBA	27	54	8	27	74	14	27	59	10

¹KAES: Kültüre alınan eksplant sayısı

²SOO: 8 hafta sonra sürgün oluşturma oranı

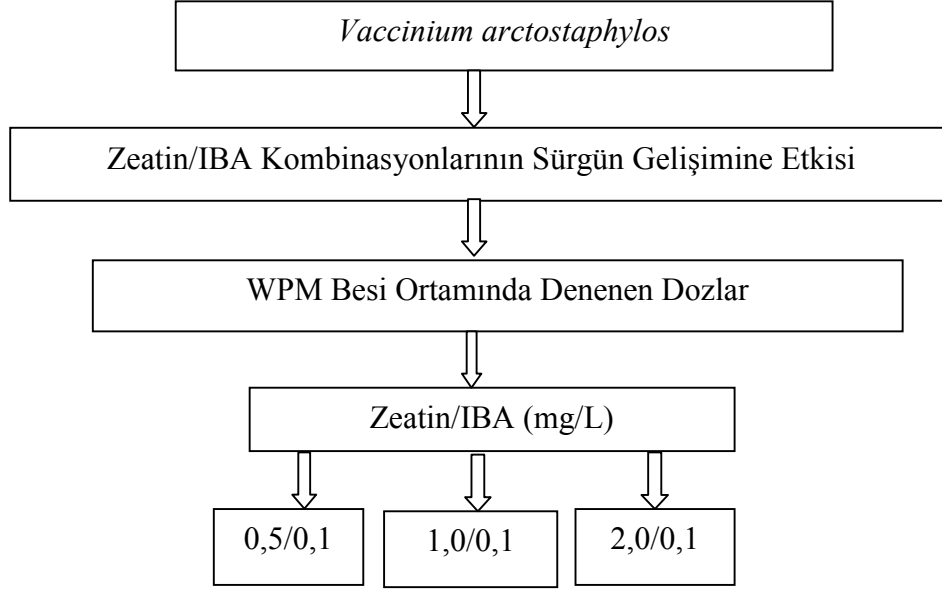
³BU: Boy uzunlukları

3.2. *Vaccinium arctostaphylos* L.'de *İn Vitro* Sürgün Çoğaltımı

Sürgün çoğaltımı ve sağlıklı sürgün gelişiminde en uygun temel besi ortamı olarak seçilen WPM ve bu ortamda kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerinden zeatinin diğer dozları (0,1 ve 4,0 mg) yapılan ön çalışmalarda etkili sonuç vermedi. Dolayısı ile zeatin bu dozlarda değerlendirildi, diğer bir büyüme düzenleyici olan TDZ ile karşılaştırıldı. Bu nedenle, aşağıda analiz sonuçları verilen TDZ de aynı dozlarla denendi.

3.2.1. Zeatin/IBA Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına ve Gelişimine Etkisi

Zeatin/IBA Kombinasyonları Tablo 4'te verilen dozlarda WPM besi ortamına ilave edildi.



Şekil 10. WPM besi ortamında *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgün çoğaltımı için denenen Zeatin/IBA kombinasyonlarının işlev şeması

Şekil 10’da verilen işlev şemasına uygun olarak, daha önceden sürgün oluşturma ortamında geliştirilen ve 25-30 mm boyuna ulaşmış sürgünler farklı zeatin dozları ile sabit IBA dozu içeren üç farklı kombinasyonlu besi ortamlarına aktarıldı. Her besi ortamında 3 sürgün yer alacak şekilde üç tekrar uygulandı ve böylelikle her bir çalışma dokuz tekrar olarak gerçekleştirildi.

0,5/0,1 Zeatin/IBA kombinasyonlarını içeren WPM ortamlarının tamamında yapılan 6 haftalık gözlem süresince kültüre alınan sürgünlerin hiçbirinde kararma, nekroz, hiperhidrisite, kontaminasyon vb. gibi diğer olumsuz etmenler gözlemlenmedi. Sürgünler canlılıklarını korudu. Sürgün diplerinde oluşan kallus oranı %22’ dir (Şekil 11B).

Ortalama 6 hafta kültür ortamında tutulan sürgünlerin gelişmeleri takip edildi, kardeşlenme sayıları sürgün uzunlukları ve yapraklanma sayıları değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 8’de sunuldu.

Tablo 8. 0,5/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları

	Kültüre Alınan Eksplant Değerleri			6. Hafta Sonunda Gelişme Oranları		
	KS ¹ (Adet)	SB ² (mm)	YS ³ (Adet)	KS (Adet)	SB (mm)	YS (Adet)
0,5/0,1 mg/L Zeatin/IBA	1	27,52	6	6	40,21	9
	1	27,83	6	5	42,47	9
	1	27,94	6	6	41,74	10
	1	27,74	7	7	40,63	11
	1	26,95	6	6	39,99	10
	1	26,43	6	7	41,91	9
	1	27,05	7	7	39,49	11
	1	26,93	6	6	42,21	9
	1	26,04	6	6	41,85	10
Ort.	1,00 ± 0,00	27,15 ± 0,65	6,22 ± 0,44	6,22 ± 0,67	41,17 ± 1,09	9,77 ± 0,83

¹KS: Kardeşlenme sayısı

²SB: Sürgün boyu

³YS: Yapraklanma sayısı

Tabloda verilen değerlere göre 0,5/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda 6. hafta sonunda sürgün çoğaltma (kardeşlenme) artışı ortalama 6,22 kattır. Bu zaman sürecinde sürgün boyundaki artış oranı ise yaklaşık %44'tür. Yapraklanma sayısı başlangıçta ortalama 6,22 iken 6. hafta sonunda bu sayı ortalama 9,77'ye ulaştı. Yapraklanma sayısındaki artış böylelikle yaklaşık %57'dir.

Bu kombinasyonda yapılan sonraki alt kültür (yaklaşık 18 hafta) çalışmalarında da benzer değerlere ulaşıldı.



A)



B)

Şekil 11. 0,5/0,1 mg/L Zeatin/IBA içeren WPM besi ortamındaki *Vaccinium. arctostaphylos* L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri

1,0/0,1 Zeatin/IBA kombinasyonlarını içeren WPM ortamlarının tamamında yapılan 6 haftalık gözlem süresince kültüre alınan sürgünlerin hiçbirinde kararma, nekroz, hiperhidrisite, kontaminasyon vb. gibi diğer olumsuz etmenler gözlemlenmedi. Sürgünler canlılıklarını korudu, sürgün diplerinde oluşan kallus oranı ise %11 olarak hesaplandı (Şekil 12B).

Tablo 9. 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları

	Kültüre Alınan Eksplant Değerleri			6 Haftalık Gelişme Oranları		
	KS ¹ (Adet)	SB ² (mm)	YS ³ (Adet)	KS (Adet)	SB (mm)	YS (Adet)
1,0/0,1 mg/L ZEATİN/IBA	1	26,18	6	5	53,26	11
	1	25,93	7	5	54,85	11
	1	26,28	6	4	54,16	12
	1	28,4	5	5	56,76	13
	1	27,65	6	5	57,62	12
	1	26,37	6	6	56,3	11
	1	26,92	6	5	57,73	13
	1	26,9	6	6	54,26	13
	1	27,73	7	5	55,54	12
Ort.	1,00±0,00	26,92±0,84	6,11±0,60	5,11±0,60	55,60±1,59	12,00±0,86

¹KS: Kardeşlenme sayısı

²SB: Sürgün boyu

³YS: Yapraklanma sayısı

1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda ise kardeşlenme, yani sürgün çoğalma değeri 5,11 kat arttı. Altıncı hafta sonunda sürgün boyundaki artış değeri %106'dır. Buna paralel olarak yapraklanma sayısında yaklaşık %96 artış görüldü (Tablo 9).

Bu kombinasyonda yapılan alt kültürlerde de yukarıda sağlanan verilerde herhangi bir önemli değişiklik kaydedilmedi.



A)

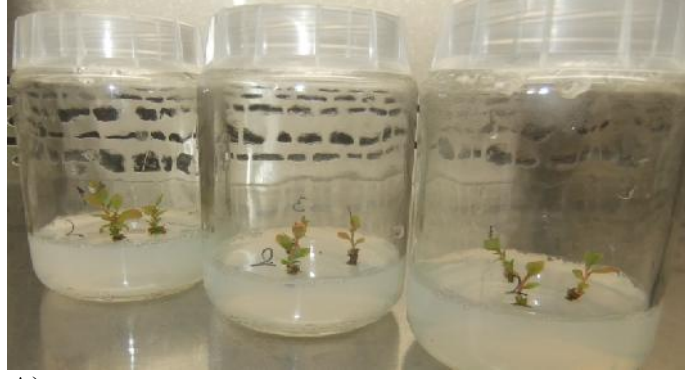


B)

Şekil 12. 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA içeren WPM besi ortamındaki *Vaccinium. arctostaphylos* L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri

2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA içeren WPM ortamlarında ortalama olarak 6 hafta kültür ortamında tutulan sürgünlerin gelişmeleri takip edildi. Kardeşlenme sayıları, sürgün uzunlukları ve yaprak sayıları denenen 3 farklı kombinasyonda da 6 haftanın sonunda ayrı ayrı not edildi ve yüzde değerleri hesaplandı (Tablo 10).

Bu kombinasyonda kültürü yapılan sürgünlerde yapılan 6 haftalık gözlemlerde de kararma ve diğer olumsuz etmenler gözlemlenmedi. Sürgünler canlılıklarını korudu, sürgün diplerinde oluşan kallus oranları ise diğerlerine göre daha yüksektir (%33) (Şekil 13B).



A)



B)

Şekil 13. 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA içeren WPM besi ortamındaki *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri

Tablo 10. 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları

	Kültüre Alınan Eksplant Değerleri			6 Haftalık Gelişme Oranları		
	KS ¹ (Adet)	SB ² (mm)	YS ³ (Adet)	KS (Adet)	SB (mm)	YS (Adet)
2,0/0,1 mg/L ZEATİN/IBA	1	26,08	6	10	50,13	17
	1	26,71	7	12	47,67	16
	1	26,74	7	11	49,06	16
	1	25,62	6	10	46,78	17
	1	28,05	7	11	48,68	17
	1	25,93	6	9	51,02	15
	1	27,82	7	11	49,48	16
	1	27,01	7	10	48,89	16
	1	26,90	7	11	49,39	15
	Ort.	1,00±0,00	26,76±0,82	6,66±0,50	10,55±0,88	49,01±1,25

¹KS: Kardeşlenme sayısı

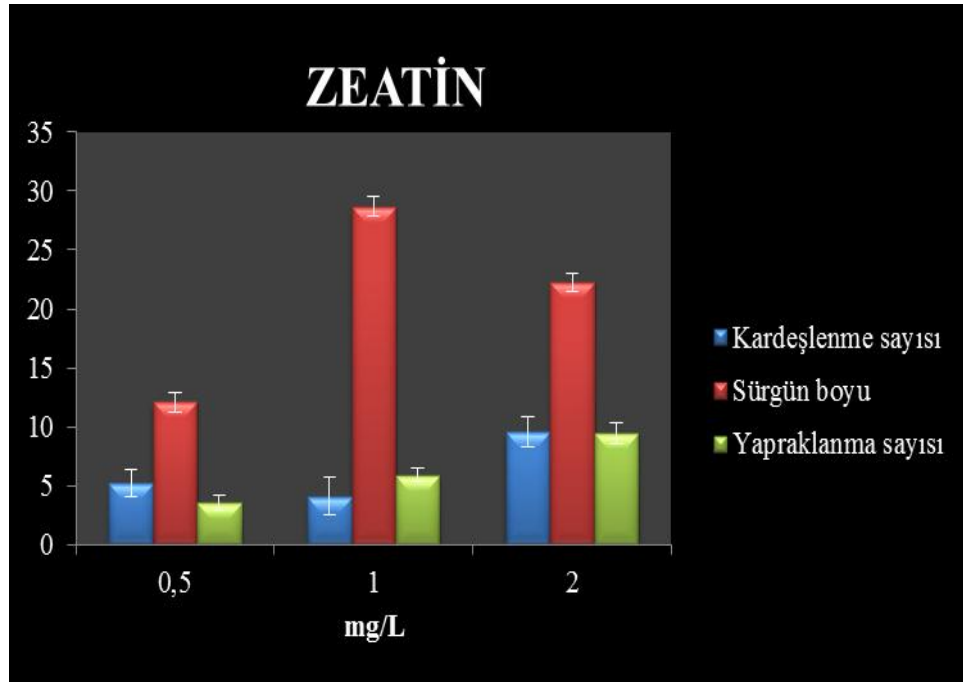
²SB: Sürgün boyu

³YS: Yapraklanma sayısı

2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda 6. hafta sonunda kardeşlenme sayısındaki artış diğer kombinasyonlara göre çok daha yüksektir. Başlangıçta ortama aktarılan bir sürgünden 6. hafta sonunda ortalama 10,55 kat artışla en yüksek veri elde edildi. Bir başka deyişle 1 sürgünden 6. hafta sonunda 10-11 yeni sürgün elde edildi. Sürgün boyu %83 arttı. Yapraklanma sayısı başlangıçta ortama 6,66 iken 6. hafta sonunda bu sayı ortalama 16,11'e ulaştı. Yapraklanma %141 arttı.

Bu kombinasyonda yapılan sonraki alt kültürlerde de (yaklaşık 1 yıl) benzer değerlere ulaşıldı.

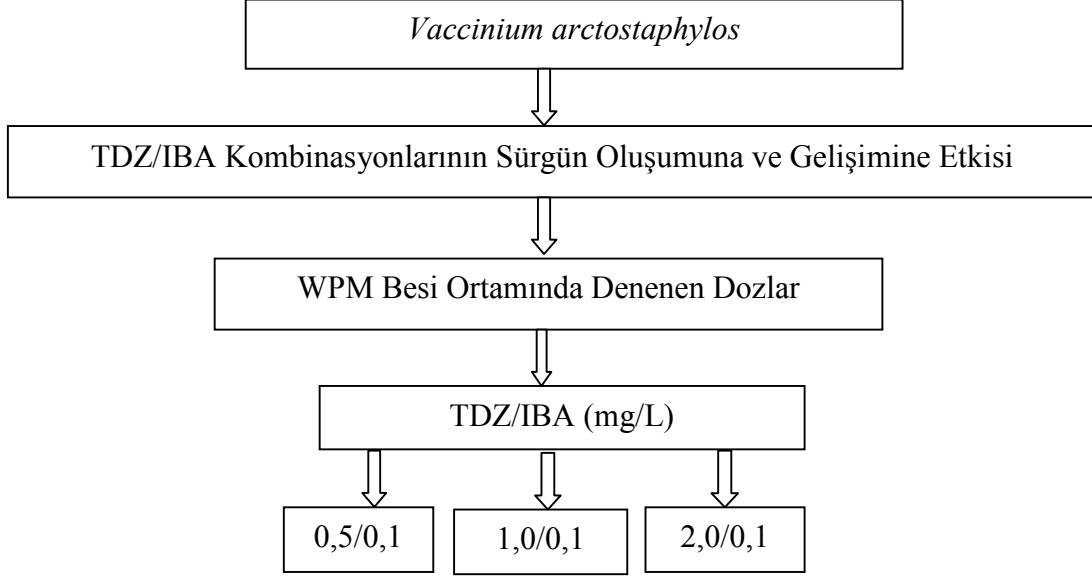
Yukarıda sunulan verilerden hareketle sabit IBA (0,1 mg/L) varlığında değişken zeatin dozlarının (0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) tablolarında sunulan parametreler (kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayıları) esas alınarak hazırlanan karşılaştırmalı grafik Şekil 14'te verilmiştir.



Şekil 14. WPM besi ortamında Zeatin/IBA kombinasyonlarında *Vaccinium arctostaphylos* L. türüne ait kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayısı karşılaştırması

3.2.2. TDZ/IBA Kombinasyonlarının Sürgün Çoğaltımına ve Gelişimine Etkisi

TDZ/IBA Kombinasyonları Tablo 5'te verilen dozlarda WPM besi ortamına ilave edildi.



Şekil 15. WPM besi ortamında *Vaccinium arctostaphylos* L.'ye ait explantlarda sürgün oluşumu için denenen TDZ/IBA kombinasyonlarının işlev şeması

Şekil 15'te verilen işlev şemasına uygun olarak, daha önceden sürgün oluşturma ortamında geliştirilen ve 25-30 mm boyuna ulaşmış sürgünler farklı TDZ dozları ile sabit IBA dozu içeren üç farklı kombinasyona sahip besi ortamlarına aktarıldı. Her besi ortamında 3 sürgün yer alacak şekilde 3 tekrar uygulandı ve böylelikle her bir çalışma 9 tekrar olarak gerçekleştirildi.

0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonlarını içeren WPM ortamlarının tamamında yapılan 6 haftalık gözlem süresince kültüre alınan sürgünlerin hiçbirinde kararma, nekroz, hiperhidrisite, kontaminasyon vb. gibi diğer olumsuz etmenler gözlemlenmedi ve sürgünler canlılıklarını korudular. Sürgün diplerinde oluşan kallus oranı %66 civarındadır (Şekil 16B).

Ortalama 6 hafta kültür ortamında tutulan sürgünlerin gelişmeleri takip edildi, kardeşlenme sayıları, sürgün uzunlukları ve yapraklanma sayıları değerlendirildi ve sonuçlar Tablo 11'de sunuldu.

Tablo 11. 0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları

	Kültüre Alınan Eksplant Değerleri			6 Haftalık Gelişme Oranları		
	KS ¹ (Adet)	SB ² (mm)	YS ³ (Adet)	KS (Adet)	SB (mm)	YS (Adet)
0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA	1	25,45	6	3	31,45	9
	1	26,09	6	3	33,06	7
	1	25,35	7	2	32,73	8
	1	26,09	6	3	33,1	8
	1	27,12	6	2	31,64	9
	1	27,18	5	3	30,95	7
	1	26,30	6	3	30,89	8
	1	26,78	7	2	33,04	9
	1	25,35	6	3	32,75	9
Ort.	1,00±0,00	26,19±0,72	6,11±0,60	2,66±0,50	32,18±0,93	8,22±0,83

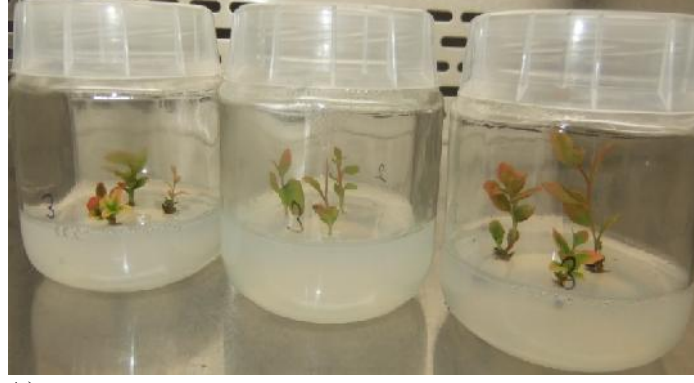
¹KS: Kardeşlenme sayısı

²SB: Sürgün boyu

³YS: Yapraklanma sayısı

Tabloda verilen değerlere göre 0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonunda 6. hafta sonu sürgün çoğaltma (kardeşlenme) artışı ortalama 2,66 kattır. Bu zaman sürecinde sürgün boyundaki artış oranı ise yaklaşık %22'dir. Yapraklanma sayısı başlangıçta ortalama 6,11 iken 6. hafta sonunda bu sayı ortalama 8,22'ye ulaştı. Buna göre yapraklanma sayısındaki artış yaklaşık %34'tür.

Bu kombinasyonda da yapılan sonraki alt kültür (yaklaşık 1 yıl) çalışmalarında da benzer değerlere ulaşıldı.



A)



B)

Şekil 16. 0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA içeren WPM besi ortamındaki *Vaccinium. arctostaphylos* L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri

1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonlarını içeren WPM ortamlarının tamamında yapılan 6 haftalık gözlem süresince kültüre alınan sürgünlerin 1 tekerrüründe 2. hafta sonunda kontaminasyon gözlemlendi, diğer tekerrürlerde ise herhangi bir kararma, nekroz, hiperhidrisite, kontaminasyon gibi diğer olumsuz sonuçlar gözlemlenmedi. Sürgünler canlılıklarını korudu, sürgün diplerinde oluşan kallus oranı ise %50 olarak hesaplandı. (Şekil 17B).

Tablo 12. 1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları

1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA	Kültüre Alınan Eksplant Değerleri			6 Haftalık Gelişme Oranları		
	KS ¹ (Adet)	SB ² (mm)	YS ³ (Adet)	KS (Adet)	SB (mm)	YS (Adet)
	Kontaminasyon			Kontaminasyon		
	1	27,82	7	4	37,04	9
	1	26,99	6	5	38,06	7
	1	26,33	7	5	36,18	9
	1	28,33	7	5	38,01	8
	1	28,19	6	4	37,14	8
	1	27,95	7	5	37,14	9
Ort.	1,00±0,00	27,60±0,78	6,66±0,52	4,67±0,51	37,26±0,67	8,33±0,81

¹KS: Kardeşlenme sayısı

²SB: Sürgün boyu

³YS: Yapraklanma sayısı

1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonunda ise kardeşlenme değeri 4,67 kat arttı. Altıncı hafta sonunda sürgün boyundaki artış değeri %35'tir. Buna paralel olarak yapraklanma sayısındaki artış yaklaşık %25 olarak hesaplandı (Tablo 12).

Bu kombinasyonda yapılan alt kültürlerde de yukarıda elde edilen verilerde herhangi bir önemli değişiklik kaydedilmedi.



A)



B)

Şekil 17. 1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA içeren WPM besi ortamındaki *Vaccinium. arctostaphylos* L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri

2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA içeren WPM ortamlarında ortalama olarak 6 hafta kültür ortamında tutulan sürgünlerin gelişmeleri takip edildi, kardeşlenme sayıları sürgün uzunlukları ve yaprak sayıları denen 3 farklı kombinasyonda da 6 haftanın sonunda ayrı ayrı not edildi ve yüzde değerleri hesaplandı (Tablo 13).

Bu kombinasyonda kültürü yapılan sürgünlerde yapılan 6 haftalık gözlemlerde de karama ve diğer olumsuz sonuçlar gözlemlenmedi. Sürgünler canlılıklarını korumuş olup, sürgün diplerinde oluşan kallus oranları ise diğerlerine göre daha düşüktür (%33) (Şekil 18B).

Tablo 13. 2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonu ile desteklenmiş WPM besi ortamında kültüre alınan *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin 6. hafta sonundaki kardeşlenme sayıları, ortalama sürgün boyu ve yapraklanma sayıları

	Kültüre Alınan Eksplant Değerleri			6 Haftalık Gelişme Oranları		
	KS ¹ (Adet)	SB ² (mm)	YS ³ (Adet)	KS (Adet)	SB (mm)	YS (Adet)
2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA	1	26,16	8	4	37,69	10
	1	28,09	7	4	38,41	11
	1	25,23	7	3	35,96	10
	1	27,01	6	3	37,74	12
	1	26,36	7	4	34,94	11
	1	25,9	7	4	37,52	11
	1	27,12	7	3	36,81	12
	1	26,06	6	4	35,97	11
	1	27,15	7	4	36,94	10
Ort.	1,00±0,00	26,56±0,86	6,89±0,60	3,67±0,50	36,89±1,09	10,89±0,78

¹KS: Kardeşlenme sayısı

²SB: Sürgün boyu

³YS: Yapraklanma sayısı

2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonunda 6. hafta sonunda kardeşlenme sayısındaki artış 3,67 kattır. Sürgün boyu %38 arttı. Yapraklanma sayısı başlangıçta ortalama 6,88 iken 6. hafta sonunda bu sayı ortalama 10,88'e ulaştı. Yapraklanma %58 arttı.

Bu kombinasyonda yapılan sonraki alt kültürlerde de (yaklaşık 1 yıl) benzer değerlere ulaşıldı.



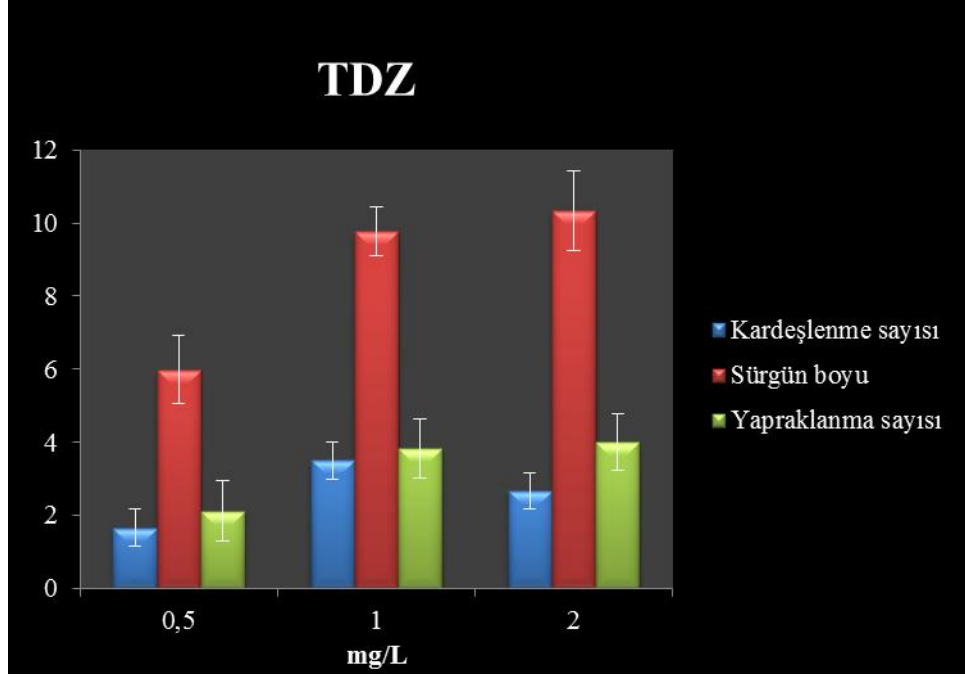
A)



B)

Şekil 18. 2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA içeren WPM besi ortamındaki *Vaccinium. arctostaphylos* L. sürgünlerinin (A) başlangıç ve (B) altı hafta sonundaki görünüşleri

Yukarıda sunulan verilerden hareketle sabit IBA (0,1 mg/L) varlığında değişken TDZ dozlarının (0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) tablolarda sunulan parametreler (kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayıları) esas alınarak hazırlanan karşılaştırmalı grafik Şekil 19'da verilmiştir.



Şekil 19. WPM besi ortamında TDZ/IBA kombinasyonlarında *Vaccinium arctostaphylos* L. türüne ait kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayısı karşılaştırması

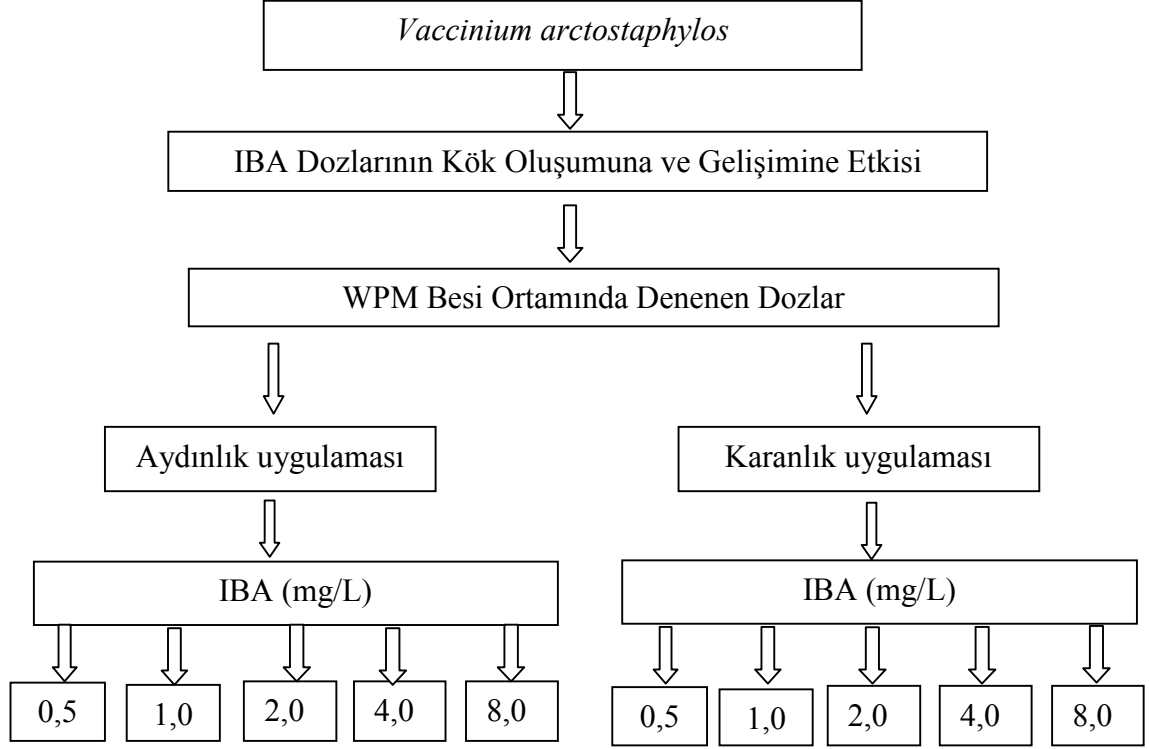
3.3. *Vaccinium arctostaphylos* L. Bitkisinin Köklenmesi ile İlgili Bulgular

In vitro koşullarda çoğaltılan *V. arctostaphylos* mikroçelikleri farklı dozlarda ki (0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) üç değişik oksin ile [indol-3-asetik asit (IAA) naftalen asetik asit (NAA) ve indol-3-bütirik asit (IBA)] desteklenen McCown'un odunsu bitkiler besi ortamına (WPM) aktarılarak köklendirme denemeleri için bir ön çalışma yapıldı. Sonuçta sadece IBA dozlarından olumlu cevaplar elde edildi. Ön çalışmada sadece 16/8 fotoperyot uygulandı. Dolayısı ile aşağıdaki bulgular IBA ile yapılan daha ayrıntılı köklendirme çalışmalarını yansıtmaktadır.

3.3.1. IBA Dozlarının Mikroçeliklerin Köklenmesi Üzerine Etkileri

IBA'nın köklenme üzerine etkisini belirlemek için, mikroçelikler farklı IBA dozları (0,5, 1,0, 2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L) içeren WPM temel besi ortamlarında ve iki farklı aydınlatma (16/8 fotoperyot ve tam karanlık) rejimlerinde kültüre alındı. *In vitro* köklenme

deneylerinde kullanılan tüm mikroçeliklerin köklenme gelişimi 2-8 hafta süreyle takip edildi ve sonuçlar Tablo 14 ve 15’te verildi.



Şekil 20. WPM besi ortamında *Vaccinium arctostaphylos* L'ye ait explantlarda kök oluşumu için uygulanan IBA dozlarının işlev şeması

3.3.1.1. IBA Dozlarının Fotoperiyot Uygulamalarında Mikroçeliklerin Köklenmesi Üzerine Etkileri

16/8 fotoperiyot ve farklı IBA dozlarının uygulandığı WPM ortamlarında köklenmeleri teşvik edilen mikroçeliklerin hiçbirinde ilk iki hafta süresince bir değişiklik gözlemlenmedi.



Şekil 21. 1,0 mg/L IBA ile desteklenmiş WPM besi ortamlarında *Vaccinium arctostaphylos* L. mikroçeliklerinin 2. hafta sonundaki köklenme durumu

Dördüncü hafta sonunda, 0,5, 2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L IBA dozlarında hiçbir gelişme gözlenmezken 1,0 mg/L IBA içeren dozlarında sürgünlerin bazal kısımlarında şişmeler ve beyaz renkli kallus oluşumları görüldü (Şekil 22).



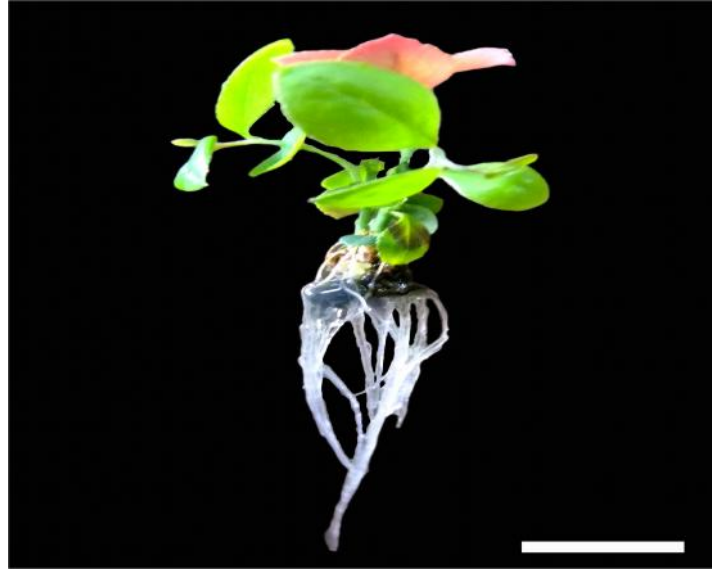
Şekil 22. WPM besi ortamlarında 1,0 mg/L IBA dozlarında 4. hafta sonunda meydana gelen kallus oluşumları

WPM ortamında mikroçeliklerin kültüre alınmasından 6 hafta sonra kallus bulunan dip bölgelerinde sararmalar başlarken (sürgün gelişimi sırasında oluşan kalluslar), 0,5 mg/L IBA dozu hariç diğer ortamlarda köklenmenin gerçekleşmediği gözlemlendi. 0,5 mg/L IBA dozunda kültüre alınan tüm mikroçeliklerde kallus bulunan dip bölgelerinde kök farklılaşmaları görüldü (Şekil 23).



Şekil 23. 0,5 mg/L IBA ile desteklenmiş WPM besi ortamlarında 6. hafta sonunda meydana gelen kök oluşumları

Mikroçeliklerin kültüre alınmasından 8 hafta sonra, 0,5 mg/L IBA dozunda *Vaccinium arctostaphylos*'a ait mikroçelikler üzerinde oluşan köklerin sayısının çok fazla oranda arttığı belirlendi (Şekil 24). 1,0, 2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L IBA dozlarındaki diğer ortamlarda ise 8 hafta sonunda her bir ortamda yalnızca birer mikroçelikte köklenmeler gözlemlendi. Farklı IBA dozlarının köklendirme oranları, kallus oluşturma yüzdeleri Tablo 14 ve 15'te verildi.



Şekil 24. 0,5 mg/L IBA ile desteklenmiş WPM besi ortamlarında 8. hafta sonunda meydana gelen kök oluşumları

Tablo 14. 16/8 fotoperiyot uygulanan *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin köklendirilmesinde WPM ortamlarında uygulanan IBA dozları, köklenme ve kallus yüzdeleri (%)

Ortam Adı	HD IBA ¹ (mg/L)	KAMÇS ² (Adet)	KMÇS ³ (Adet)	KO1 ⁴ (Adet)	KO2 ⁵ (%)	KO3 ⁶ (%)
WPM	0,5	9	9	-	100	-
WPM	1,0	9	1	4	11,1	44,4
WPM	2,0	9	1	-	11,1	-
WPM	4,0	9	1	3	11,1	33,3
WPM	8,0	9	1	-	11,1	-

¹HD IBA: Hormon Dozu

²KAMS: Kültüre Alınan Mikro Çelik Sayısı

³KMÇS: Köklenen Mikro Çelik Sayısı

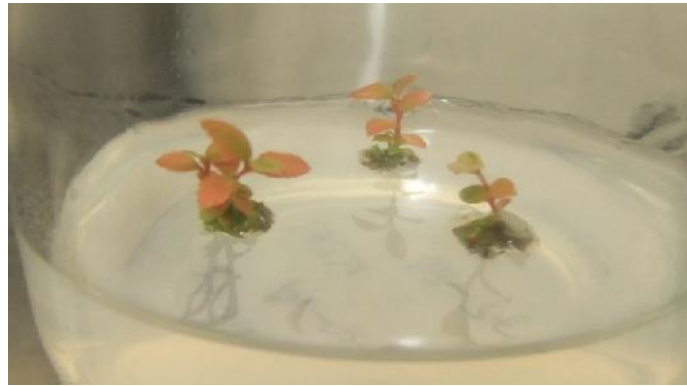
⁴KO1: Kallus Oluşumları

⁵KO2: Köklenme Oranları

⁶KO3: Kallus Oranları

3.3.1.2. IBA Dozlarının Karanlık Uygulamalarında Mikroçeliklerin Köklenmesi Üzerine Etkileri

WPM ortamında köklenmeye alınan *Vaccinium arctostaphylos*'a ait mikro çeliklerde, kültüre alınmalarından 2 hafta sonra yapılan gözlemlerde, IBA'nın uygulanan tüm dozlarının hiçbirinde değişiklik gözlemlenmedi (Şekil 25).



Şekil 25. WPM ortamlarında değişik IBA dozlarındaki *Vaccinium arctostaphylos* L. mikroçeliklerinin 2 hafta boyunca gelişme durumları

Kültüre alma işleminden 4 hafta sonra, 0,5, 1,0, 2,0 ve 4,0 mg/L IBA dozlarında hiçbir gelişme gözlenmezken 8,0 mg/L IBA içeren dozlarında sürgünlerin bazal kısımlarında şişmeler ve beyaz renkli kallus oluşumları görüldü (Şekil 26).



Şekil 26. WPM ortamlarında 8,0 mg/L IBA dozlarında 4. hafta sonunda meydana gelen kallus oluşumları

WPM ortamında mikroçeliklerin kültüre alınmasından 6 hafta sonra kallus oluşumlarında sararmalar başladı. 0,5, 4,0 ve 8,0 mg/L IBA dozlarındaki ortamlarda köklenmelerin gerçekleştiği gözlemlenirken, 1,0 ve 2,0 mg/L IBA dozlarındaki ortamlarda değişiklik gözlemlenmedi. 0,5 mg/L IBA dozunda kültüre alınan 9 mikroçelikten 6 tanesinde düşük oranlarda kallus oluşan dip bölgelerinde kök farklılaşmaları gözlemlenirken örnekler etiole büyümeye başladılar (Şekil 27). Ayrıca 4,0 ve 8,0 mg/L IBA dozlarında kültüre alınan 9 örnekten 3 tanesinde de köklenmeler gözlemlenirken, 4,0 mg/L IBA dozlarındaki 9 örnekten 6 tanesi, 8,0 mg/L dozlarındaki 9 örnekten 1 tanesi etiole büyümeye başladı. Köklenme gözlemlenmeyen 1,0 mg/L IBA dozlarında kültüre alınan 9 örnekten 3 tanesi etiole büyümeye başladı. 6. haftadan sonra örnekler 16/8 fotoperiyot (aydınlık) ortama alındı ve 2 hafta daha gelişmeleri gözlemlendi.



Şekil 27. 0,5 mg/L IBA dozlarında 6. hafta sonunda meydana gelen kök oluşumları

Mikroçeliklerin aydınlık ortama alınmasından sonra 2 hafta boyunca (kültüre alınmalarından 8 hafta sonra) köklenme oranları, kallus oluşumları ve büyüme kapasiteleri gözlemlendi, karanlık uygulaması yapılmayan örneklerden elde edilen değerler ile karşılaştırılması yapıldı. Köklenme oranları 6. hafta sonunda elde edilen değerler ile aynı olup kök uzama oranları çok düşüktür. 8. hafta sonunda 1,0 mg/L IBA dozundaki ortamlara alınan 9 örneğin 3 tanesinin, 2,0 mg/L dozundaki ortamlara alınan 9 örneğin 2 tanesinin ve 4,0 mg/L IBA dozundaki ortamlara alınan 9 örnekten 1 tanesinin bazal kısımlarında yüksek oranda kallus oluşumları gözlemlendi (Tablo 15).

Tablo 15. Karanlık ortamdaki *Vaccinium arctostaphylos* L. sürgünlerinin köklendirilmesinde WPM ortamlarında uygulanan IBA dozları, köklenme ve kallus yüzdeleri (%)

Ortam Adı	HD IBA ¹ (mg/L)	KAMÇS ² (Adet)	KMÇS ³ (Adet)	KO1 ⁴ (Adet)	KO2 ⁵ (%)	KO3 ⁶ (%)
WPM	0,5	9	6	-	66,6	-
WPM	1,0	9	-	3	-	33,3
WPM	2,0	9	-	2	-	22,2
WPM	4,0	9	3	1	33,3	11,1
WPM	8,0	9	3	1	33,3	11,1

¹HD IBA: Hormon Dozu

²KAMS: Kültüre Alınan Mikro Çelik Sayısı

³KMÇS: Köklenen Mikro Çelik Sayısı

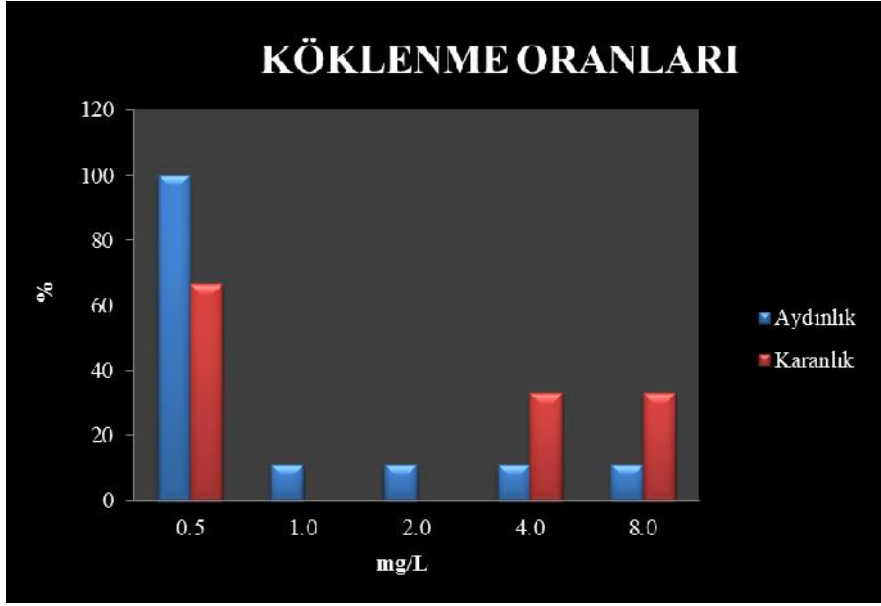
⁴KO1: Kallus Oluşumları

⁵KO2: Köklenme Oranları

⁶KO3: Kallus Oranları

Bu dozlarda yapılan sonraki alt kültürlerde de (yaklaşık 1 yıl) benzer değerlere ulaşıldı.

Yukarıda sunulan verilerden hareketle değişken IBA (0,5, 1,0, 2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L) varlığında tablolarda sunulan parametreler (köklenme sayısı ve yüzdeleri, kallus oluşum sayıları ve yüzdeleri) aydınlık ve karanlık uygulamaları esas alınarak hazırlanan karşılaştırmalı grafik Şekil 28’te verildi.



Şekil 28. IBA ile desteklenmiş WPM besi ortamlarında 16/8 fotoperiyot ve karanlık uygulaması yapılan *Vaccinium arctostaphylos* L. türüne ait köklenme oranları karşılaştırılması

Tablo 16. Zeatin/IBA ve TDZ/IBA uygulamalarında 6. hafta sonundaki Kardeşlenme sayısı, Sürgün Boyu ve Yapraklanma Sayısı değerleri. Aynı sütunda bulunan harflerden aynı olanlar istatistiksel olarak birbirlerinden farklı değildir ($P < 0,05$; $n=9$)

BBD ¹	HD ²	KS ³	SB ⁴	YS ⁵
Zeatin/IBA	0,5/0,1	6,22±0,67 b	41,17±1,09 c	9,78±0,83 c
	1,0/0,1	5,11±0,60 bc	55,61±1,59 a	12,00±0,86 b
	2,0/0,1	10,55±0,88 a	49,01±1,25 b	16,11±0,78 a
TDZ/IBA	0,5/0,1	2,67±0,50 d	32,18±0,93 e	8,22±0,83 d
	1,0/0,1	4,67±0,51 bc	37,26±0,67 d	8,33±0,81 d
	2,0/0,1	3,67±0,50 cd	36,89±1,09 d	10,89±0,78 bc

¹BBD: Bitki Büyüme Düzenleyicisi

²HD: Hormon Dozu

³KS: Kardeşlenme Sayısı

⁴SB: Sürgün Boyu

⁵YS: Yapraklanma Sayısı

Yapılan bu tez çalışmasında, yapraklanma sayısı açısından uygulamaya tabi tutulan 2 farklı bitki büyüme düzenleyicisinin bazı kombinasyonlarında (0,5/0,1 ve 2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA, 1,0/0,1 mg/L zeatin/IBA ve 1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA) önemli bir fark olmadığı gözlemlenmedi (Tablo 16). Uygulamaya tabi tutulan 2 farklı bitki büyüme düzenleyicisinin 3 farklı konsantrasyonundan en yüksek kardeşlenme sayısı 2,0/0,1 mg/L zeatin/IBA uygulamasından elde edildi ve bu değer en yüksek sonuç elde edilen 1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA uygulamasından 6,05 kat daha fazladır.

Sürgün boyu artışı 2 farklı bitki büyüme düzenleyicisi 3 farklı konsantrasyonu açısından önemli bir artış göstermektedir ($P < 0,05$). Her iki bitki büyüme düzenleyicisinde 1,0/0,1 mg/L uygulamasında en yüksek sürgün boyu ortalamasını vermektedir. Fakat bu iki bitki büyüme düzenleyicisi sürgün boyu uzaması açısından birbirlerinden önemli derecede farklıdır. 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA uygulamasından elde edilen sürgün boyu değeri aynı kombinasyondaki TDZ/IBA uygulamasından %53,49 daha fazladır.

Her 2 bitki büyüme düzenleyicisinde yapraklanma sayıları açısından birbirlerinden önemli derecede farklıdır (P < 0,05). Bu iki bitki büyüme düzenleyicisi yapraklanma sayısı açısından lineer bir artış göstermesine rağmen en yüksek yapraklanma sayılarının gözlemlendiği 2,0/0,1 mg/L uygulamalarında zeatin/IBA uygulaması TDZ/IBA uygulamasından %83,76 daha fazladır.

Yapılan çalışmada kardeşlenme sayısı-sürgün boyu ve yapraklanma sayısı-sürgün boyu açısından bir korelasyon yokken, yapraklanma sayıları ile kardeşlenme sayıları arasında pozitif bir korelasyon vardır ($r = 0,852$)

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada, *Vaccinium* türlerinin bitki doku kültürü teknikleri ile üretilmesine dair literatür verilerinden yola çıkılarak, *Vaccinium arctostaphylos* bitkisinin *in vitro* üretimi tasarlandı. Bu amaçla Murashige & Skoog (MS), McCown'un odunsu bitkiler için kullanılan besi ortamı (WPM) ve Anderson'un *Rhododendron* (AN) adlı temel besi ortamları ve bu ortamlara ilave edilen aynı kombinasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicilerinin sürgün oluşumu, oluşturulan sürgünlerden farklı kombinasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicilerinin çoklu (multiple) sürgün oluşumu ve gelişimi, son aşamada ise geliştirilen mikroçeliklerin köklendirilmesi üzerine farklı IBA dozlarının ve aydınlatmanın etkileri araştırıldı. Elde edilen bulgulardan hareketle sürgün teşvikini, çoğaltımını, hızlı ve etkin büyümeyi teşvik edici besi ortamları belirlendi.

Ericaceae familyası üyelerinin, özellikle *Vaccinium* taksonlarının, *in vitro* çoğaltımı ile ilgili literatür verilerinde genellikle MS, AN ve WPM temel besin ortamlarının, büyüme düzenleyicisi olarak ise Zeatin, TDZ ve IBA'nın kullanıldığı ve bu ortamlarda olumlu sonuçların elde edildiği rapor edilmektedir (Meiners, vd., 2007). Bu tez çalışmasında da WPM'nin en etkili temel besi ortamı olduğu bulundu.

Gerek sürgün teşviki ve gerekse sürgün çoğaltımında en etkili sitokinin ise zeatin olup, bu büyüme düzenleyicinin denenen tüm dozlarının sabit oksin varlığında (0,1 mg/L IBA) etkili olduğu görüldü. Ancak uygulanan dozlar kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayıları gibi parametrelerde bazı farklılıklar gösterdi. Asıl çarpıcı sonuçlar 1,0 ve 2,0 mg/L zeatin uygulamalarında görüldü. İlk anılan doz sürgün boyunda istatistiksel olarak önemli bir artış sağlarken, 2,0 mg/L zeatin uygulaması sürgün multiplikasyonunda (çoğaltımı ya da kardeşlenmede) önemli bir artış sağladı. Sürgün başına yaprak sayısındaki en iyi artış oranı ise yine 2,0 mg/L Zeatin/IBA doz ve kombinasyonlarında gözlemlendi. Uygulanan tüm dozlarda herhangi bir kararma, nekroz, ve canlılık kaybı gibi olumsuzluklar gözlemlenmedi.

Daha önce de bahsedildiği gibi, tez kapsamında değerlendirilen *V. arctostaphylos* bitkisinin doku kültürleri ile mikroçoğaltımı hakkında herhangi bir literatür verisine rastlanmadı. Bu nedenle yakın türlerle ilgili literatür bilgilerinden yararlanılarak önceki çalışmalarla burada yer verilen bulguların karşılaştırılması yapılabilir. Burada sunulan çalışmaya benzer bir çalışmada *Vaccinium corymbosum* L. ve *Vaccinium vitis-idaea* L.'nin

mikroçoğaltımı tasarlanmış, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L zeatin dozlarını içeren Anderson'un *Rhododendron* temel besi ortamının bu iki *Vaccinium* türünün sürgün oluşumu üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla söz konusu bitkilerin tepe tomurcuğu veya bir ya da iki yaprak taslağı taşıyan yan tomurcukları materyal olarak kullanılmış ve yukarıda belirtilen zeatin dozlarında sürgün oluşumu teşvik edilmiştir (Ostrolucká vd., 2004). Söz konusu çalışmada kardeşlenme (sürgün çoğaltımı) sayılarındaki artışın 2,0 mg/L Zeatin/IBA dozunda en yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmada materyal olarak Berkeley, Duke ve Bluecrop kültüvarları kullanılmış ve en yüksek kardeşlenme sayısının 10,06 kat ile Duke kültüvarında olduğu sonucu elde edilmiştir (Ostrolucka, vd., 2004). Farklı bir *Vaccinium* türüyle gerçekleştirilen bu çalışmanın sonuçları bu tez çalışmasında sunulan bulgulara paralellik arz etmektedir.

V. angustifolium üzerine yapılan bir çalışmada farklı derişimlerde (0,0, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L) kullanılan bitki büyüme düzenleyicilerine karşı (zeatin ve TDZ), kardeşlenme sayısı, sürgün boyu, yapraklanma sayıları ve kallus oluşumu ile ilgili elde edilen veriler yaptığımız çalışmalardan elde ettiğimiz verileri desteklemektedir. Yapılan bu çalışmada kullanılan üç *V. angustifolium* kültüvarında da (QB1, QB2 ve PB1) eksplant başına yapraklanma sayısı açısından en yüksek değer 0,5 mg/L zeatin dozundan elde edilmiştir. Kardeşlenme sayısı açısından ise en yüksek değer 23 kat ile QB1 kültüvarında 1,0 mg/L zeatin dozundan elde edilmiştir (Debnath, 2009). Elde edilen bu veriler bizim yaptığımız çalışmadan elde edilen verilerden farklılık göstermektedir.

TDZ dozları ile yaptığımız uygulamadaki bulgulardan, TDZ dozlarının kültüre alınan sürgün explantlarında, sürgün çoğalması bakımından sabit tutulan 0.1 mg/L IBA dozu ile yine tek başlarına etkili olduğu görüldü. Uygulanan dozlar arasında sürgün sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayıları arasında farklılıklar olduğu gözlemlendi. Yine elde edilen veriler zeatin uygulamalarından elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında bu değerler arasında farklılıkların olduğu görüldü. Uygulamaya tabi tutulan tüm TDZ/IBA kombinasyonlarındaki eksplantlarda gözlemlenen 6 hafta boyunca herhangi bir kararma ve canlılık kaybı gözlemlenmezken 1 tekerrürde 2. hafta sonunda kontaminasyon gözlemlendi.

V. macrocarpon L.'nin mikroçoğaltımı üzerine yaptıkları bir araştırmada, 0,0, 0,02, 0,1, 0,2 ve 2,0 mg/L TDZ dozları ve 0,2 mg/L NAA'lı (naftalen asetik asit) veya NAA'sız, AN temel besi ortamının makroelementleri ve MS besi ortamının mikroelementleri ile modifiye edilmiş bazal besi ortamında (BM) kullanmış ve sonuçta NAA'sız 2,0 mg/L TDZ

dozunun sürgün uzaması açısından en verimli ortam olduğu ve NAA'nın sürgün oluşumunu teşvik ettiği sonucuna varılmıştır (Marcotrigiano vd., 1996). Buradaki bulgular *V. arctostaphylos* ile yapılan bu tez verileriyle kıyaslandığında bazı farklılıklar göze çarpmakla birlikte, artan TDZ dozlarına bağlı olarak elde edilen sürgün boyu ve yapraklanma sayılarındaki artış paralellik göstermektedir. Zira her iki çalışmada da artan TDZ değerleri ele alınan parametrelerde artış sağlamıştır. Ancak bu tez çalışmasında kardeşlenme sayısındaki artış ile TDZ dozundaki artış arasında doğrusal bir bağlantı bulunmamıştır.

Vaccinium corymbosum ve *Vaccinium vitis-idaea* türlerinde sürgün gelişimi için 0,2, 1,0, 2,0 ve 4,0 mg/L TDZ ve 1,0, 2,0, 3,0 ve 4,0 mg/L zeatin ile desteklenen WPM besi ortamlarında, zeatinin sürgün oluşturma teşvikinin yüksek, kallus oluşturma sıklığının ise düşük olduğu gözlemlenmiştir (Meiners vd., 2007). Uygulanan TDZ dozlarında ise bu durum tam tersi olup, sürgün gelişimi düşük, kallus oluşumu ise yüksektir (Meiners vd., 2007). Bu çalışmadan elde edilen bulgular yukarıda anılan çalışma sonuçlarını destekler niteliktedir.

Yapılan denemelerden elde edilen sonuçlar 0,5/0,1 mg/L zeatin/IBA ve TDZ/IBA doz ve kombinasyonlarındaki kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayıları arasındaki farkın zeatin/IBA kombinasyonunda sırası ile 3,56 kat, %21,29 ve %22,54 daha fazla olduğunu göstermektedir.

1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonundan elde edilen kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayılarına ilişkin değerler, 1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA'dan elde edilen değerlere göre, sırası ile 0,44 kat, %71,17 ve %71,32 daha fazladır.

2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonu, 2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonu ile kardeşlenme sayısı açısından karşılaştırıldığında Zeatin/IBA kombinasyonunda 6 hafta sonunda oluşan kardeş sayısının 6,88 kat daha fazla olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu iki bitki büyüme düzenleyicisi bu kombinasyonda sürgün boyu ve yapraklanma sayıları açısından değerlendirildiğinde ise zeatinin TDZ'den sürgün boyu ve yapraklanma sayıları açısından sırası ile %44,25 ve %83,76 daha fazla olduğu belirlendi.

Elde edilen tüm bu veriler kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayıları açısından zeatinin TDZ'den daha etkili olduğunu göstermektedir.

Vaccinium arctostaphylos türünden elde edilen sürgünlerden köklendirme çalışmaları amacıyla yapılan uygulamalardan elde edilen veriler sayesinde IBA'nın 5 farklı dozunun sürgünlerin köklenmesi için yeterli olacağı sonucuna varıldı. IBA'nın 5 farklı

dozu 8 hafta boyunca aydınlık ve karanlık uygulamalarına tabii tutuldu. 8 hafta sonunda elde edilen veriler köklenme ve kallus oluşum yüzdeleri açısından karşılaştırıldı ve bu değerlerin her iki farklı denemede de farklılıklar gösterdiği gözlemlendi.

Vaccinium corymbosum ve *Vaccinium vitis-idaea* türlerindeki köklendirme çalışmalarında IBA ve NAA farklı doz ve kombinasyonlarda *in vitro* koşullar altında elde edilen sürgünlere uygulanmış ve NAA'nın köklendirme işlemleri için uygun olmadığı, IBA'nın ise köklendirme işlemlerinde en uygun bitki büyüme düzenleyicisi olduğu sonucuna varılmıştır (Meiners vd., 2007). Elde edilen bu veri yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz verileri desteklemektedir. Meiners ve arkadaşları (2007) tarafından elde edilen verilerde en yüksek köklenme, 2,0 mg/L IBA dozunda %93,1 oranında meydana geldiği gözlemlenirken, yaptığımız çalışmada en yüksek köklenme oranı %100 verim ile 0,5 mg/L IBA aydınlık dozunda, %66,6 verim ile 0,5 mg/L IBA karanlık dozunda gözlemlendi. Bu da yürütmüş olduğumuz çalışmadaki farklılığı ortaya koymaktadır.

In vitro ortamda *Vaccinium corymbosum* sürgünlerini köklendirme çalışmalarında AN besi ortamı ve düşük oranlarda (0,8 mg/L) aktif kömür kullanmaları (Ostrolucka, vd., 2004) yaptığımız çalışmalardan farklılık gösterirken, düşük IBA dozlarında (0,8 mg/L) %95 oranında köklenme yüzdesi elde edilmesi yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz verileri desteklemektedir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, *Vaccinium arctostaphylos* türünün WPM temel besin ortamında, organ kültürü adlı doku kültürü tekniği kullanılarak, doku kültürü ile üretim yöntemlerinin belirlenmesi amaçlandı. Yapılan denemelerde, aynı sitokinin dozlarının (zeatin) farklı temel besi ortamlarında (WPM, MS ve AN) sürgün oluşumuna etkisi ve farklı sitokinin (Zeatin, TDZ) dozlarının aynı temel besi ortamında (WPM) sürgün gelişimine etkileri araştırıldı. Ayrıca, oksin (IBA) dozlarının aydınlık ve karanlık uygulamasında sürgünlerin köklendirilmesindeki etkileri incelendi.

Çalışma kapsamında kurulan tüm denemelerde elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilmiştir:

Sürgün oluşumu için yapılan tüm denemelerde WPM temel besi ortamının MS ve AN temel besi ortamından daha iyi sonuç verdiği gözlemlendi. Sekiz haftalık sürgün oluşum süresi boyunca en yüksek sürgün oluşumu %74 ile WPM temel besi ortamından elde edildi. MS ve AN temel besi ortamlarında sonuçlar ise sırası ile %54 ve %39'dur.

Yapılan tüm Zeatin/IBA kombinasyonlarındaki denemelerden elde edilen verilerin (kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayısı) denemeye tabi tutulan tüm TDZ/IBA kombinasyonlarından elde edilen verilerden daha yüksek olduğu sonucuna varıldı.

Uygulamaya tabi tutulan, 0,5/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda kardeşlenme sayısı açısından önemli bir artış olduğu sonucuna varıldı. Kültüre alınan dokuz örnekten altı hafta sonunda 6,22 kat oranında kardeş sayısı elde edildi.

Aynı kombinasyonda altı haftalık kültür süresi sonucunda kültüre alınan dokuz örneğin boy uzunluklarında %44,12 oranında bir artış olduğu sonucuna varıldı. Yine Zeatin/IBA'nın bu kombinasyonunda yapraklanma sayısı açısından %57.07 oranında bir artış olduğu sonucuna varıldı.

Uygulamaya tabi tutulan, 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda kardeşlenme sayısı açısından önemli bir artış olduğu sonucuna varıldı ve kültüre alınan dokuz örnekten altı hafta sonunda 5,11 kat oranında kardeş sayısı elde edildi.

Sürgün boyu uzaması açısından en fazla artışın uygulamaya tabi tutulan üç farklı Zeatin/IBA kombinasyonundan 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda elde edildi ve bu oranın % 106,53 olarak belirlendi.

Aynı Zeatin/IBA kombinasyonunda yapraklanma sayısı açısından %96,39 oranında bir artış olduğu sonucu elde edildi.

En yüksek kardeşlenme sayısı 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonundan elde edildi ve sonuç 10,55 kat olarak hesaplandı. Sürgün boyu üzerine bu kombinasyonda yapılan uygulamada ise artış oranı %83,10'dur.

Yapraklanma sayısındaki en fazla artış ise uygulamaya tabi tutulan üç farklı Zeatin/IBA kombinasyonundan 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonundan elde edildi ve bu oranının % 141,89 olduğu sonucuna varıldı.

Vaccinium arctostaphylos türü üzerine WPM besi ortamında üç farklı kombinasyonda ve üç farklı uygulamaya (kardeşlenme sayısı, sürgün boyu ve yapraklanma sayısı) tabi tutulan Zeatin/IBA kombinasyonlarından sürgün verimi için en yüksek değer 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda, yapraklanma sayısı ve kardeşlenme sayısındaki artışın ise 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA kombinasyonunda olduğu sonucuna elde edildi.

TDZ/IBA kombinasyonları ile kardeşlenme sayıları, sürgün boyları ve yapraklanma sayıları üzerine yapılan çalışmalarda TDZ/IBA kombinasyonlarının bu değerler üzerine tek başlarına yeterli olduğu ancak Zeatin/IBA kombinasyonlarından elde edilen değerlerden daha düşük olduğu sonucuna varıldı. Uygulamaya tabi tutulan, TDZ/IBA'nın tüm kombinasyonlarında kardeşlenme sayısı açısından önemli bir artış olmadığı sonucu elde edildi.

0,5/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonunda kardeşlenme sayıları üzerine yapılan çalışmalarda kültüre alınan dokuz örnekten altı haftalık uygulama sonucunda 2,7 kat oranında kardeş sürgün elde edildi.

Aynı kombinasyonda 6 haftalık kültür süresi sonucunda kültüre alınan dokuz örneğin boy uzunluklarında %22,83 oranında bir artış olduğu sonucu elde edildi.

Yapılan altı haftalık gözlem sonucunda TDZ/IBA'nın bu kombinasyonunda yapraklanma sayısı açısından %34,53 oranında bir artışın olduğu sonucuna varıldı.

1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonunda uygulamaya tabi tutulan üç tekerrürden bir tanesinde 2. hafta sonunda kontaminasyon başlangıcı gözlemlendi ve eksplantlar canlılıklarını kaybetti. Elde edilen veriler iki tekerrür (6 örnek) üzerinden değerlendirildi.

Uygulamaya tabi tutulan TDZ/IBA kombinasyonlarından kardeşlenme sayıları açısından en yüksek değer 1,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonunda belirlendi ve kültüre alınan altı örnekten altı haftalık gözlem sonucunda 4,67 kat oranında kardeş sürgün sayısı

elde edildi. Yine bu kombinasyonda altı haftalık kültür süresi sonucunda kültüre alınan altı örneğin boy uzunluklarında %35 oranında bir artış olduğu sonucu elde edildi. TDZ/IBA bu kombinasyonu yapraklanma sayısı açısından değerlendirildiğinde ise elde edilen değer %25,07'dir.

2,0/0,1 mg/L TDZ/IBA kombinasyonunda kardeşlenme sayısı uygulamaya tabi tutulan dokuz örnekten 6 haftalık gözlem sonunda 3,67 kat olarak belirlendi. Bu TDZ/IBA kombinasyonundaki sürgün boyu uzaması ise %38,85 olarak belirlendi.

Aynı TDZ/IBA kombinasyonunda uygulamaya tabi tutulan tüm TDZ/IBA kombinasyonlarından farklı olarak yapraklanma sayısı açısından en yüksek değer elde edildi ve bu değer %58,13 olarak hesaplandı.

TDZ/IBA kombinasyonları ile yapılan uygulamalarda artan TDZ değerlerine bağlı olarak sürgün boyu uzamasında lineer bir artış olduğu sonucuna varılırken, kardeşlenme ve yapraklanma sayılarında lineer bir artış elde edilemedi.

IBA dozlarının *V. arctostaphylos* türünün aydınlık ortamda köklendirilmesi üzerine yapılan 8 haftalık gözlem sonucunda herhangi bir kontaminasyon ve canlılık kaybı yoktur.

En yüksek köklenme oranının %100 ile 0,5 mg/L IBA dozunda meydana geldi. Denemeye tabi tutulan diğer IBA dozlarındaki köklenme oranları %11,1 ile sabit olup köklenme oranı açısından eşit değerlere sahip olduğu sonucuna varıldı.

Aydınlık uygulamasına tabi tutulan tüm IBA dozlarındaki kallus oluşumları %44,4 ile 1,0 mg/L IBA dozunda, %33 ile 4,0 mg/L IBA dozunda meydana geldi. 0,5, 2,0 ve 8,0 mg/L IBA dozlarında herhangi bir kallus oluşumu yoktur.

IBA dozlarının *V. arctostaphylos* türünün karanlık ortamda köklendirilmesi üzerine yapılan 8 haftalık gözlem sonucunda herhangi bir kontaminasyon gözlenmemesine rağmen kültüre alınan bazı örneklerin etiole büyümeye başladığı belirlendi.

IBA dozlarının karanlık uygulamalarında en yüksek köklenme oranını %66,6 ile yine 0,5 mg/L IBA dozunda gerçekleştirdi. 1,0 ve 2,0 mg/L IBA dozlarında ise kök oluşumu ile ilgili bir gözlem kaydedilemedi.

Kallus oluşumları açısından ise en yüksek değer %33,3 ile 1,0 mg/L IBA dozunda meydana gelirken, 0,5 mg/L IBA dozunda herhangi bir kallus oluşumu yoktur.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada, *Vaccinium arctostaphylos*'un *in vitro* ortamda sürgün oluşumu ve çoğalması için WPM besi ortamında oldukça iyi sonuçlar elde edildiğinden, daha sonra yapılacak olan *Vaccinium* taksonlarının doku kültürü ile üretim çalışmalarında bu besi ortamının kullanılması faydalı olacaktır.

Çalışmalarda organ kültürü denemelerinde, eksplantların Nisan ve Mayıs sonu gibi alınmalarının kültürlerde enfekte olma olayını minimuma indirdiği görüldüğünden, üretim çalışmalarına bu aylarda başlanmasında yarar vardır.

Vaccinium arctostaphylos'un sürgün boyu değerlerinde en yüksek artış 1,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA doz ve kombinasyonları ile desteklenen WPM besi ortamında, kardeşlenme sayısı ve yapraklanma sayısındaki en yüksek artış ise 2,0/0,1 mg/L Zeatin/IBA doz ve kombinasyonlarıyla desteklenen WPM besi ortamında elde edildiğinden, daha sonra yapılacak olan *Vaccinium* taksonlarının doku kültürü ile üretim çalışmalarında öncelikle bu hormon doz ve kombinasyonlarının denenmesi önerilmektedir.

Köklendirme çalışmalarında ise 16/8 fotoperiyot ve karanlık uygulaması sonrasında en yüksek köklenme oranı her iki uygulamada da 0,5 mg/L IBA dozlarından elde edilmiştir. Ancak sağlıklı sürgün gelişimlerinin 0,5 mg/L IBA aydınlık ortamında elde edilmesinden dolayı daha sonra yapılacak *Vaccinium* taksonlarının doku kültürü ile üretim çalışmalarında öncelikli olarak bu hormon dozunun denenmesi önerilmektedir.

Doğu Karadeniz başta olmak üzere bölgede sıkıntısı çekilen ürün çeşitliliğine en yakın katkıyı sağlayacak olan yaban mersini çiftçiler için çok iyi bir gelir kaynağı, tarıma dayalı sanayi için iyi bir hammadde insanlarımızın sağlığı için yararlı bir meyvedir. Yurt dışından çok yüksek fiyatlarla gelen yaban mersini fidanları yerine, yörede doğal olarak yetişen mavi yemiş fidanları üretilerek çiftçiye sunulabilir, böylelikle yaban mersini üretim bahçeleri çok daha hızlı ve ucuza kurulabilir. Yeni üretim alanlarıyla birlikte tüm Karadeniz boyunca yaban mersini üretimine dayalı ürünün teknolojik üretime ve gelişmeye dayalı yeni sanayi dalları kurulabilir, açılacak olan pek çok yeni iş istihdamı ile bu bölgelerde artan göç olaylarının önüne geçme şansı artabilir. Ayrıca Karadeniz Bölgesi'nde çay ve fındığa olan bağımlılık en aza indirilebilir, üreticilerimiz birim alandan çok yüksek kazanç elde edebileceği bir ürün geliştirilebilir ve tarımsal sanayinin gelişmesine paralel olarak işsizlik azaltılabilir yapılacak ihracat ile ülke ekonomisine büyük katkı sağlanabilir.

7. KAYNAKLAR

- Abolins, M., Liepniece, M. ve Gurtaja, L., 2003. Propagation of Highbush Blueberries by Softwood Cuttings in Latvia, CAB Abstr., 20033195729.
- Ağaoğlu, Y., S., 1986. Üzümsü Meyveler, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay.: 984, Ders Kitabı: 290. Ankara.
- Ahuja, M., R., 1986. Application Of Brotechnology to Forest Tree Species and Problems Involved, Holzwirtschaft, 154, 187-199.
- Ahuja, M., R., 1986b. Aspen, Techniques and Applications, New York, 4.
- Anderson, W., C., 1984. A Revised Tissue Culture Medium For Shoot Multiplication of *Rhododendron*, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109, 3, 343-347.
- Austin, M., E., 1994. Rabbiteye Blueberries. Development, Production and Marketing. AGSCIENCE Inc., Florida, USA, 160 p.
- Ayaz, F., A., Ayaz, S., Gruz, J., Novak, O. ve Strnad, M., 2005. Separation, Chracterization and Quantitation of Phenolic Acids in a little-Known Blueberry (*Vaccinium arctostaphylos* L.) Fruit by HPLC-MS, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 8116-8122.
- Baytop T., 1997. "Türkçe Bitki Adları Sözlüğü" (A Dictionary of Vernacular Names of Wild Plants of Turkey). Publication of Turkish Language Society, 512 ppp. Ankara-Turkey.
- Bhojwani, S., S. ve Razdan, M., K., 1983. Plant Tissue Culture Theory and Practice, Elsevier Science Publishers B.V., Netherlands.
- Chalupa, V., 1987. European Hardwoods, Cell and Tissue Culture in Forestry, 3, The Netherlands.
- Cline, B. ve Fernandez, G., 1998. Suggestions for establishing a blueberry planting in Western North Carolina. NCSU, College of Agriculture & Life Sciences. Coop. Ext. Serv., Hort. Inf. Leaflet, 201.
- Çelik, H., 2005. Yabanmersini Yetiştiriciliği, Hasat yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul.
- Davis, P., H., 1978. Flora of Turkey and the East Aegean Island, 6, Univ. Press, Edinburg. 89 p.
- Debnath, S., C., 2009. A Two-Step Procedure for Adventitious Shoot Regeneration on Excised Leaves of Lowbush Blueberry, In vitro Cell.Dev.Biol.-Plant, 45, 122–128.

- Draper, A., D. ve Chandler, C.K., 1986. Accelerating Highbush Blueberry Selection Evaluation by Early Propagation, J. Amer. Hort. Sci., 111, 301-303.
- Eck, P., Gough, R., E., Hall, I., V. ve Spiers, J., M., 1990. Blueberry Management. (In: Galeta, G.S. and Himelrick, D.G. Edts.) Small Fruit Crop Management. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- El-Shiekh, A., Wildung, D., K., Luby, J., J., Sargent, K., L. ve Read, P., E., 1996. Long Term Effects of Propagation by Tissue Culture or Soft-wood Single Node Cutting on Growth Habit, Yield and Berry Weight of 'Northblue' Blueberry, Hort. Abst., 66, 5708.
- Evans, D., A. ve Sharp, W., R., 1983. Single Gene Mutations In Tomato Plants Regenerated From Tissue Culture, Science, 221, 941-951.
- Galle, F.C., 1987. *Azaleas*, Timber Press, USA.
- Gough, R., E., 1994a. The Highbush Blueberry and Its Management, Food Product Pres., 272 p.
- Gough, R., E., 1996. Blueberries, North and South. In: Small Fruits In The Home garden (Eds., Gough, R.E. and Poling, E.B), The Haworth Pres Inc., 71-106.
- Gough, R., E., 1994b. The Highbush Blueberry and Its Management, Haworth press, New York.
- Gönülşen, N., 1987. Bitki Doku Kùltürleri Yöntemleri ve Uygulama Alanları, T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yayın No:78, Menemen-İzmir.
- Guang-jie, Z., Zhan-bin, W. ve Dan, W., 2008. *In vitro* Propagation and *Ex vitro* Rooting of Blueberry Plantlets, Plant Tissue Cult. & Biotech., 18, 187-195.
- Gümüş, C., Ölmez, Z., Ölmez, G., H. ve Kalender, Ç., 2009. Artvin'de Yaban Mersini (*Vaccinium* sp. Likapa) Yetiştiriciliği Eğitimi Konulu AB Projesinin Tanıtımı ve Projenin Yürütülmesinde Karşılaşılan Güçlükler ve Sorunlar, II. Ormancılıkta Sosyo-ekonomik Sorunlar Kongresi, Şubat, ISPARTA, Bildiriler Kitabı, 81-88.
- Haffner, K. ve Remberg, S., F., 2006. Antioksidant-rich Berries: Plant Food for Beter Health, ISHS Chronica Hort., 46, 19-20.
- Harbage, J., F. ve Stimart, D., P., 1987. Adventitious Shoot Regeneration from *In vitro* Subcultured Callus of *Rhododendron* Exbury Hybrids, Hort. Science, 22, 6, 1324-1325.
- Hartman, H., T. ve Kester, D., E., 1983. Plant Propagation: Principles and Practices. (4th ed.). Prentice Hall, Englewood Cliffs, N.J., USA.

- Himelrick, D., G., Powell, A., A. ve Dozier, W., A., 2002. Commercial Blueberry Production Guide for Alabam, Alabama A&M And Auburn Universities, Alabama Cooperative Extension System, ANR-904.
- Howell, A., B., 2009. Update on Health Benefits of Cranberry and Blueberry, Acta Horticulturae, 810, 779-784.
- Jain, S. M. ve Häggman, H., 2007. Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits ISBN 978-1-4020-6351-0.
- Kalt, W. ve Dufour, D., 1997. Health Functionality of Blueberries. HortTechnology, 7, 216-221.
- Kaya, Z., 1988. Doku Kültürünün Orman Ağaçları Islah Çalışmalarındaki Yeri, Orman Müh. Dergisi, 25, 5, 12-19.
- Koron, D., Oblak, M. ve Devetak, N., 1988. Influence of Various Substrat and Natural and Synthetical Hormones on the Propagation of Certain Blueberry Cultivar, Hort. Abst., 58, 2031.
- Krewer, G. ve Cline, B., 2006. Blueberry Propagation Suggestions. Internet: www.smallfruits.org/Blueberries/, 14 Şubat 2011.
- Latti, A., K., Kainulainen, P., S., Hayırlıoğlu-Ayaz, S., Ayaz, F., A., ve Rihinen, K., 2009. Characterization of Anthocyanins in Caucasian Blueberries (*Vaccinium arctostaphylos* L.) Native to Turkey, J. Agric. Food Chem., 57, 5244–5249.
- Litwinczuk, W., Szczerba, G. ve Wrona, D., 2005. Field Performance of Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. ‘Herbert’ Propagated by Cuttings and Tissue Culture, Scientia Hort., 106, 162-169.
- Lloyd, G. ve McCown, B., 1980. Commercially Feasible Micropropagation of Mountain Laurel (*Kalmia latifolia*) by Use of Shoot Tip Culture, Comb Proc Intl Plant Prop Soc., 30, 421–427.
- Marcotrigiano, M., McGlew, S., P., Hackett, G. ve Chawla, B., 1996. Shoot Regeneration from Tissue-Cultured Leaves of the Cranbery (*Vaccinium macrocarpon*), Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 44, 195-199.
- Meiners, J., Schwab, M. ve Szankowski, I., 2007. Efficient *In vitro* Regeneration Systems for *Vaccinium* Species, Plant Cell Tiss Organ Cult. 89, 169–176.
- Munoz, C., Soto, R. ve Valenzuela, J., 1993. Effect of Chemical and Physical Potting Media Characteristics on Growth of Container-grown Rabbiteye Blueberries, *Vaccinium* Culture, V., Acta Horticulturae, 346, 162-167.
- Ostrolucká, M., G., Libiaková, G. ve Ondrušková, A., 2004. *In vitro* Propagation of *Vaccinium* species, Acta Universitatis Latviensis, 676, 207–212.

- Ostrolucká, M., G., Gajdošová, A. ve Libiaková, G., 2002. Influence of Zeatin on Microclonal Propagation of *Vaccinium corymbosum* L., Propagation of Ornamental Plants, 2, 14–18.
- Pritts, M. P. ve Hancock, J. F., 1992. Highbush Blueberry Production Guide. Northeast Regional Agricultural Guide. Northeast Regional Agricultural Services, NRAES-55, Inhaca, NY: 200 p.
- Turner, D. ve Muir, K., 1985. The Handbook of Soft Fruit Growing, Croom Helm, London.
- Schulte, N. ve Hancock, J., 1983. Propagation Highbush Blueberries. Michigan State Univ., Cooperative Ext. Serv., Bulletin E-1680.
- Smolarz, K. ve Chlebowska, D., 1998. Growth Vigour and Yielding of Highbush Blueberry cv. Bluecrop Propagated from Semi-woody Cuttings and *In-vitro*, Hort. Abstr. 68, 7544.
- Srivastava, P., S. ve Steinbaver, A., 1981. Regeneration Of Birch Plants Catkin Tissue Cultures, Plant Science Letters, 22.
- Strik, B., Fisher, G., Hart, J., Ingham, R., Kaufman, D., Penhallegon, R., Pscheidt, J., William, R., Brun, C., Ahmedullah, M., Antonelli, A., Askham, L., Bristow, P., Havens, D., Scheer, B., Shanks, C. ve Barney, D., 1993. Highbush Blueberry Production Guide, Oregon State University, Department of Extension and Experiment Station Communication, PNW215.
- URL-1, <http://www.tarimgonulluleri.com/-fp25152.html>. 16 Şubat 2011.
- URL-2, <http://www.dogalTEDAVI.net/gallery2/v/bitkiResimleri/yaban+mersini.1.pn.html>. 17 Mayıs 2011.
- URL-3, http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vaccinium_ulig.jpg. 14 Şubat 2011.
- URL-4, http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Vaccinium_arctostaphylos-1.jpg. 14 Şubat 2011.
- URL-5, http://en.wikipedia.org/wiki/Vaccinium_vitis-idaea. 14 Şubat 2011.
- URL-6, <http://www.biopix.com/Photo.asp?PhotoId=40371&Photo=Cowberry-%28Vaccinium-vitis-idaea%29>. 14 Şubat 2011.
- URL-7, http://www.likapa.gen.tr/haber_detay.asp?haberID=9. 18 Mayıs 2011.
- Üçler, A., Ö., 1994. Titrek Kavak (*Populus tremula* L.) ve Kafkas Ihlamuru (*Tilia rubra* DC.)' nun Doku Kültürü Teknikleri ile Üretilmesi, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

- Ürgenç, S., 1992. Ağaç ve Süs Bitkileri Fidanlık Yetiştirme Tekniği, İ.Ü. Basımevi, İstanbul.
- Vidalie, H., 1986. *In Vitro* Culture and Its Applications In Horticulture, Economic Botany, 51, 1, 92-93.
- Williamson, J. ve Lyrene, P., 1998. Blueberry Gardener's Guide, Univ. Of Florida, Cooperative Ext. Service, Circular 1192.
- Withworth, J., 2003. Blueberry Production For The Home Garden, OSU, Extension Facts, F-6248.
- Wolfe, D., E., Eck, P. ve Chin, C., K., 1984. Evaluation of Seven Media for Micro Propagation of Highbush Blueberry, Hort. Abst., 54, 3289.
- Yeoman, M., M. ve Forche, E., 1980. Cell Proliferation and Growth In Callus Cultures, Intl. Rev. Cytol. Suppl., 11, 1-24.

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında Giresun'un Şebinkarahisar ilçesinde doğdu. 2009 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümünde Yüksek Lisans eğitimine başladı. T.C. Sanayi Bakanlığı Teknogirişim Sermayesi Desteği ile 2009 yılında başlayan ve 2010 yılında sona eren ve halen KOSGEB destekli yürütülen "Türkiye florasında doğal olarak yetişen üç salep bitkisi (*Orchis sancta*, *Serapias vomeracea* ve *Dactylorhizza osmanica*) türünden hücre kültürleriyle ve mikroçoğaltım yoluyla salep üretimi" adlı projede yardımcı araştırmacı olarak görev yapmaktadır. Ayrıca 2011 yılında Bilim, Sanayi ve Teknoloji Bakanlığı tarafından desteklenen "Türkiye florasında yabancı olarak yetişen dört farklı mavi yemiş (likaba, ligarba) türünün hücre kültürü ve mikroçoğaltım yoluyla ekonomiye kazandırılması" adlı projede yürütücü olarak görev yapmakta ve iyi derecede İngilizce bilmektedir.