

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

***RHODODENDRON CAUCASICUM* L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ
İLE MİKROÇOĞALTIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyolog Figen AYDOĞDU

**HAZİRAN 2016
TRABZON**



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

RHODODENDRON CAUCASICUM L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ İLE
MİKROÇOĞALTIMI

Biyolog Figen AYDOĞDU

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
YÜKSEK LİSANS (BİYOLOJİ)
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20 / 05 / 2016

Tezin Savunma Tarihi : 10 / 06 / 2016

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Trabzon 2016

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Biyoloji Anabilim Dalında
Figen AYDOĞDU Tarafından Hazırlanan**

***RHODODENDRON CAUCASICUM* L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ İLE
MİKROÇOĞALTIMI**

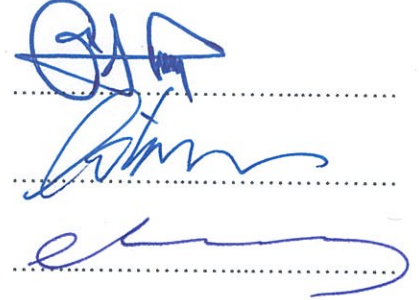
**başlıklı bu çalışma, Enstitü Yönetim Kurulunun 24/ 05 /2016 gün ve 1654 sayılı
kararıyla oluşturulan jüri tarafından yapılan sınavda
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak kabul edilmiştir.**

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Turan ÖZDEMİR

Üye : Prof. Dr. Atalay SÖKMEN

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ersan BEKTAŞ



Prof. Dr. Sadettin KORKMAZ

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

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

Lisansüstü eğitimim süresince danışmanlığımı üstlenerek, gerek konu seçimi, gerekse çalışmaların yürütülmesi sırasında deneyim ve bilgilerini benimle paylaşan, yardım ve desteğini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Atalay SÖKMEN’e sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Tez yazım aşamasında bilgi ve birikimlerini ve desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Ersan BEKTAŞ, Yrd. Doç. Dr. Kadriye İNAN BEKTAŞ ve Dr. Mustafa CÜCE’ye yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışması süresince yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen tüm hocalarıma, müdürüm Songül BAYRAK’a, değerli arkadaşlarım İlkur KARADENİZ, Bervan ESKİCİ, Burcu Begüm GÜRSOY, Zeynep DURAK, Merve BAKİ ve eşim Burak AYDOĞDU’ya teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, tez süresince maddi ve manevi destekleri ile yanımda olan anneme, babama ve tüm kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Figen AYDOĞDU
Trabzon 2016

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “*Rhododendron caucasicum* (Ericaceae) 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. 10/06/2016

Figen AYDOĞDU

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET.....	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. <i>Rhododendron</i> Türlerinin Sistematikteki Yeri.....	2
1.2.1. <i>Rhododendron ponticum</i> L. (Mor Çiçekli Ormangülü)	3
1.2.2. <i>Rhododendron caucasicum</i> Pall. (Kafkas Ormangülü)	3
1.2.3. <i>Rhododendron smirnowi</i> Trautv. (Gül Kırmızı Renkte Ormangülü).....	5
1.2.4. <i>Rhododendron ungeronii</i> Trautv. (Beyaz Çiçekli Ormangülü)	5
1.2.5. <i>Rhododendron luteum</i> Sweet. (Sarı Çiçekli Ormangülü)	6
1.3. <i>Rhododendron</i> Türlerinin Faydaları, Kullanım Alanları ve Besin Değerleri	7
1.4. <i>Rhododendron</i> Türlerinde Fide Üretim Yöntemleri	7
1.4.1. Generatif Üretim Yöntemleri	8
1.4.2. Vejetatif Üretim Yöntemleri	9
1.4.2.1. Çelikle Üretim Yöntemi.....	9
1.4.2.2. Aşı ile Üretim Yöntemi.....	10
1.4.2.3. Daldırma ile Üretim Yöntemi	10
1.4.2.4. Doku Kültürü ile Üretim	10
1.4.2.4.1. <i>Rhododendron</i> Türlerinin Doku Kültürü ile Çoğaltılması.....	11
1.5. Çalışmanın Amacı.....	12
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	13
2.1. Materyal ve Kullanılan Ekipman	13

2.2.	Yöntemler	13
2.2.1.	Bitkisel Materyal.....	13
2.2.2.	Besi Ortamlarının Saptanması ve Hazırlanması	14
2.2.3.	Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Dozları.....	15
2.2.4.	Bitkisel Materyalin Yüzeysel Sterilizasyonu.....	17
2.2.5.	Kullanılan Alet ve Ekipmanın Sterilizasyonu.....	18
2.2.6.	Materyalin Kültüre Alınması	18
2.2.7.	Fiziksel Koşullar	19
2.3.	Gelişme Süresince Yapılan Ölçüm ve Gözlemler	19
2.3.1.	Kültüre Alınan Eksplantların Gelişme Durumu ve Sürgün Oluşumu	19
2.3.2.	Sürgünlerin Köklendirilmesi.....	19
2.3.3.	Denemelerin Kurulması ve Değerlendirilmesi	19
2.3.3.1.	Denemelerin Kurulması	19
2.3.3.2.	Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi	20
3.	BULGULAR.....	21
3.1.	<i>R. caucasicum</i> 'da <i>in vitro</i> Sürgün Oluşumu	21
3.2.	<i>R. caucasicum</i> Bitkisinin Köklenmesi ile İlgili Bulgular	31
3.2.1.	IBA Konsantrasyonlarının <i>R. caucasicum</i> Sürgünlerinin Köklenmesi Üzerine Etkisi	31
3.2.2.	IBA/AC Konsantrasyonlarının <i>R. caucasicum</i> Sürgünlerinin Köklenmesi Üzerine Etkisi	31
3.2.3.	Zeatin/IAA/NAA Konsantrasyonlarının <i>R. caucasicum</i> Sürgünlerinin Köklenmesi Üzerine Etkisi.	31
4.	TARTIŞMA	33
5.	SONUÇLAR.....	40
6.	ÖNERİLER.....	42
7.	KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ		

Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

RHODODENDRON CAUCASICUM L. (ERICACEAE)'NİN SÜRGÜN KÜLTÜRÜ İLE
MİKROÇOĞALTIMI

Figen AYDOĞDU

Karadeniz Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. Atalay SÖKMEN
2016, 48 Sayfa,

Bu çalışma *Rhododendron caucasicum* bitkisinin sürgün kültürleri aracılığıyla etkili bir mikroçoğaltım yönteminin ve en uygun besi ortamının belirlenmesi üzerine tasarlanmıştır. Eksplant kaynağı olarak Gürcistan'dan getirilen anaç bitkide yer alan yanal tomurcuklar kullanılmıştır. Sürgün oluşturma aşamasında Anderson'un *Rhododendron* besi ortamı kullanılmıştır. Çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin ve farklı konsantrasyonlarının kullanıldığı sürgün oluşturma denemelerinde 0,5 mg/L zeatin içeren ortamın en etkili olduğu belirlenmiştir. Sürgün çoğaltma çalışmalarında da temel besi ortamı olarak sabit zeatin (0,5 mg/L) ve değişken IAA, NAA, IBA (2,0, 4,0, 8,0 mg/L) konsantrasyonları ile desteklenmiş AN temel besi ortamı kullanılmıştır. 16/8 fotoperiyot uygulaması yapılan çalışmaların 6-8 haftası sonunda en uygun sürgün çoğaltma ortamının zeatin/IAA kombinasyonunu olduğu belirlenmiştir. En yüksek sürgün boyu 8,00 cm ile 0,5/8,0 mg/L zeatin/IAA içeren ortamdaki elde edilmiştir. 0,5/4,0 mg/L zeatin/IBA içeren ortamın yaprak oluşumunda daha etkili olduğu tespit edilmiştir. *R. caucasicum*'un kök oluşumu ve uzamasında denenen IBA (0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 mg/L) konsantrasyonlarının etkisiz olduğu belirlenmiştir. Yine denenen 10 mg/L IBA ile desteklenmiş sukroz içermeyen yarı katı ve % 0,01 aktif karbon (AC) içeren ve AC içermeyen AN temel besi ortamının da *R. caucasicum* fidelerinin köklenmesi üzerine etkisiz olduğu sonucuna varılmıştır. Sürgün çoğaltma aşamasında 2,0 mg/L NAA içeren ortamdaki fidelerden bir tanesinde gözlenen kök oluşumundan sonra, alt kültür yapılmış ve sonuçta bu fidedeki kök oluşumu da kaybedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İndol-3-bütirik asit, Mikroçoğaltım, *Rhododendron caucasicum*, Thidiazuron, Zeatin, 2iP

Master Thesis

SUMMARY

MICROPROPAGATION OF *RHODODENDRON CAUCASICUM* L. (ERICACEAE) VIA
SHOOT BUD CULTURES

Figen AYDOĞDU

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Atalay SÖKMEN
2016, 48 Pages,

This thesis was designed to determine the most effective medium and thereby an effective micropropagation protocol for the production of *Rhododendron caucasicum* via shoots cultures. The lateral buds of mother plants which were previously brought from Georgia were employed as explants. During shoot proliferation experiments, Anderson's *Rhododendron* medium (AN) was used as basal medium. Various plant growth regulators (PGRs) as well as their concentrations were employed in the course of shoot formation trials and zeatin (0.5 mg/L) was found to be the most effective PGR tested. In shoot multiplication experiments, AN basal medium was then supplemented with stable zeatin and variable PGRs, e.g. IAA, NAA, IBA, each being applied with various concentrations (2.0, 4.0 and 8.0 mg/L) . At the end of six or eight week culturing period where photoperiod applications were also available as, 16/8, the most suitable combinations for shoot multiplication were found to be zeatin/IAA. The highest shoot height (8 cm) was observed from the basal medium supplemented with zeatin (0.5 mg/mL) and IAA (8 mg/mL), whilst zeatin (0.5 mg/L) and IBA (4.0 mg/mL) combination was found to be more effective in terms of leaf formation. Nevertheless, all IBA concentrations tested (0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 mg/L) were ineffective in terms of root formation and elongation for *R. caucasicum*. Again, none of those tested basal media supplemented with IBA (10 mg/L), those being semi-solidified as well as containing active carbon (AC) (0.01%) or without AC was proved to be effective in the root formation on the plantlets of *R. caucasicum*. During shoot multiplication stage, root formation was established from only one plantlet which was grown on the medium containing NAA (2.0 mg/L), it was then transferred to subculturing medium and as a result root formation could not be sustained from this sibling anymore.

Key Words: Indole-3-butyric acid, Micropropagation, *Rhododendron caucasicum*, Thidiazuron, Zeatin, 2iP

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	<i>Rhododendron ponticum</i> L. çiçek ve yaprağı.....	3
Şekil 2.	<i>Rhododendron caucasicum</i> çiçeği ve yaprağı	4
Şekil 3.	<i>Rhododendron smirnowii</i> çiçeği ve yaprağı	5
Şekil 4.	<i>Rhododendron ungeronii</i> çiçeği ve yaprağı.....	6
Şekil 5.	<i>Rhododendron luteum</i> çiçeği ve yaprağı	7
Şekil 6.	<i>In vitro</i> ' da <i>Rhododendron caucasicum</i> sürgünleri	18
Şekil 7.	AN besisi ortamında <i>Rhododendron caucasicum</i> 'a ait explantlarda sürgün oluşumu için denenen Zeatin, TDZ ve 2iP konsantrasyonlarını gösteren işlev şeması	21
Şekil 8.	0,5 mg/L Zeatin içeren AN besisi ortamındaki <i>R. caucasicum</i> sürgünleri.....	22
Şekil 9.	TDZ uygulamalarından elde edilen sürgünler ve sürgün çoğaltımında oluşan camlaşmalar.....	23
Şekil 10.	1,0 mg/L 2iP içeren AN besisi ortamındaki <i>R. caucasicum</i> sürgünleri	23
Şekil 11.	Sabit Zeatin değişken IAA konsantrasyonlarındaki <i>R. caucasicum</i> 'a ait sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı karşılaştırması	27
Şekil 12.	Sabit Zeatin değişken NAA konsantrasyonlarındaki <i>R. caucasicum</i> 'a ait sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı karşılaştırması	28
Şekil 13.	Sabit Zeatin değişken IBA konsantrasyonlarındaki <i>R. caucasicum</i> 'a ait sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı karşılaştırması	30
Şekil 14.	2,0 mg/L NAA içeren AN besisi ortamındaki <i>R. caucasicum</i> sürgünlerinde 32. hafta sonunda oluşan köklenmeler.....	32

TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.	Anderson <i>Rhododendron</i> (AN) Besi Ortamı, Bileşenleri ve Miktarları.....	14
Tablo 2.	Sürgün gelişimi için AN ortamına ayrı ayrı eklenen Zeatin, TDZ ve 2iP konsantrasyonları.....	16
Tablo 3.	Sürgün çoğaltımı için AN ortamına eklenen Zeatin/IAA kombinasyonları.....	16
Tablo 4.	Sürgün çoğaltımı için AN ortamına eklenen Zeatin/NAA kombinasyonları	16
Tablo 5.	Sürgün çoğaltımı için AN ortamına eklenen Zeatin/IBA kombinasyonları	16
Tablo 6.	Köklendirme için AN ortamına eklenen IBA, IBA + AC ve sabit Zeatin/IAA + NAA konsantrasyonları	17
Tablo 7.	<i>Rhododendron caucasicum</i> eksplantlarının 6-8 hafta sonunda farklı TDZ, Zeatin ve 2iP konsantrasyonlarındaki sürgün verim değerleri	25
Tablo 8.	<i>Rhododendron caucasicum</i> eksplantlarının 6-8 hafta sonunda sabit sitokin ve değişken oksin varlığındaki sürgün verim değerleri.....	30

KISALTMALAR VE SEMBOLLER DİZİNİ

AC	Aktif Karbon
AN	Anderson's <i>rhododendron</i> besi ortamı
BBD	Bitki Büyüme Düzenleyicisi
DNA	Deoksiribonükleik asit
EtOH	Etanol
g	Gram
HCl	Hidroklorik Asit
IAA	İndol-3-Asetik Asit
IBA	İndol-3-Bütirik Asit
mg	Miligram
mm	Milimetre
MS	Murashige ve Skoog besi ortamı
NAA	Naftalenasetik asit
NaOCl	Sodyum hipoklorit
NaOH	Sodyum hidroksit
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SB	Sürgün Boyu
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi
TDZ	Thidiazuron
vd.	ve diğerleri
WPM	Woody Plant Medium besi ortamı
ZEA	Zeatin
2,4-D	2,4 Diklorofenoksiasetik asit
2iP	N ⁶ -[2-isopentenil]adenin
%	Yüzde
µm	Mikrometre

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Ormangülleri bitkiler aleminin tohumlu bitkiler grubunda yer alan, Ericaceae (fundagiller) familyasının *Rhododendron* cinsindeki üyelerine verilen genel addır. Bu cinsin üyeleri odunsu, her dem yeşil veya yaprağını döken çalı formundaki bitkilerdir (Küçük, 1993). *Rhododendron* cinsi yaklaşık 1200 tür ile Ericaceae familyasının en büyük cinsi olarak kabul edilmektedir (Rotherham, 1983) ve bu cins Ericaceae familyası içinde önemli bir grubu oluşturmaktadır. *Rhododendron* kelimesi yunanca kökenli bir kelime olup, rhodod=gül , dendron=ağaç kelimelerinin bir araya gelmesinden oluşur (Genaust, 1976).

Ormangülllerinin en fazla bulunduğu alanlar, Kuzey Yarım Küre’de, Çin ve Himayalar olmak üzere Asya’nın güneydoğusudur (Coombes, 1998). Güzel kokulu ve özellikle parlak renkli olan bu bitkiler hemen hemen her çiçek rengini taşırlar (Reiley, 1995). Açık alanlarda yetişebildiği gibi yarı gölge alanların bulunduğu seyrek ormanlardaki gevşek tepe çatısı altında iyi bir gelişme gösterirler. Boy uzunlukları nadir olarak 4-5 m’yi geçer. Kök ve gövde sürgünleri ile çoğalarak çok sık bir tabaka meydana getirebilirler (Gülen, 1965). Ormancılık açısından bakıldığında ise bu bitkilerin orman altlarında çok sık bir tabaka meydana getirmeleri, alt tabaka vejetasyonunun yok olmasına, üst tabakayı teşkil eden ağaç taksonlarının ise doğal gençleşmesine engel olduğu için istenmeyen bir durumdur. Ormancılıktaki bu negatif etkilerinden dolayı mekanik ve kimyasal mücadele yöntemleri ile yok edilmek istenmesine rağmen, bu bitkiler peyzaj planlamalarındaki estetik kullanımları yanında, fonksiyonel olarak sınır elemanı, sel bariyeri ve çit yapımında değerlendirilmeleri yönünden ise önemli bitkilerdir. Ayrıca karayollarında şev stabilizasyonunda, özellikle refüjlerin bitkilendirilmesinde, renklmeleri ve çiçek renkleri sayesinde uyarıcı etkiler yaratmak için kullanılabilirler. Oxford Üniversite’nin yaptığı bir araştırmaya göre Peyzaj mimarlığındaki kullanım alanları ile bu bitkilerin estetik açıdan önemli bitkiler olduğu anlaşılabilir (Pulatkan, 2001).

Ormangülllerinin takson sayısı ile ilgili farklı rakamlar rapor edilmektedir. Bazı kaynaklarda takson sayısı yaklaşık olarak 800 olduğu belirtilirken (Beckett, 1985; Brenzel, 1997), bazı kaynaklarda bu sayının 1000 taksonu bulduğu öne sürülmektedir (Cronquist, 1982; Adkins, 1996). *Rhododendron* ’ların yeni taksonları 1920’lerde İskoçya’da bulunmuş

ve tanımlanmışlardır. Bu son tanımlamalarla birlikte *Rhododendron*'ların 1200 takson olduğu rapor edilmektedir (Gelderen ve Smith Hoey, 1992). Çiçeklenmeleri, genellikle ilkbaharın sonunda ve yaz başlarında gerçekleşir. Ancak bazı türler ocak gibi erken bir zamanda da çiçeklenebilirler (Abbot, 1972). Taç yaprakları genellikle, silindir, huni, çan ve fincan tabağı şeklinde olup simpatial yapıdadır (Davidian, 1989). Ormangüllerinin birçoğu, sonbaharda renklenip, yaprağını dökmeleri ve estetik yapraklanmaları ile de dikkate değerdir (Ürgenç, 1992). Yaprakları orta ve koyu yeşil, deri gibi, genellikle mızrak şeklinde, oval yaprakları keçe gibi ve pulludur (Wright, 1984). Doğal habitatları Ormangüllerinin genelde dağlarda bulduklarını gösterir. Dağlık arazilerin iklim ve toprak şartları Ormangüllerinin gelişimini ve dünya üzerindeki yayılışını etkilemektedir. Bol yağış alan ve nispeten soğuk bölgeleri seven bitkiler olarak nitelendirilebilirler (Reiley, 1995). Ormangülleri dağ şartlarına uygun bitkiler olmasına karşın 23 °C'lere varan sıcaklıklara kadar dayanıklılık gösterebilirler (Küçük, 1993).

1.2. *Rhododendron* Türlerinin Sistematikteki Yeri

Alem	: Plantae	
Bölüm	: Spermatophyta	
Alt Bölüm	: Angiospermae	
Sınıf	: Magnoliopsida	
Alt Sınıf	: Dilleniidae	
Takım	: Ericales	
Familya	: Ericaceae	
Alt Familya	: Ericaceae (Fundagiller)	
Cins	: <i>Rhododendron</i>	
Alt Cins	: <i>Rhododendron</i> L.	
	<i>Rhododendron ponticum</i> L.	: Mor Çiçekli Ormangülü
	<i>Rhododendron caucasicum</i> Pall.	: Kafkas Ormangülü
	<i>Rhododendron smirnovi</i> Trautv.	: Pembe Çiçekli Ormangülü
	<i>Rhododendron ungerii</i> Trautv.	: Beyaz Çiçekli Ormangülü
	<i>Rhododendron luteum</i> Sweet.	: Sarı Çiçekli Ormangülü

olarak sınıflandırılabilir. (MEGEP, 2013; Aktaş, 2016)

1.2.1. *Rhododendron ponticum* L. (Mor Çiçekli Ormangülü)

Baharda açan ve uzun süre bu çiçekli durumunu koruyan, Karadeniz Bölgesi'ndeki adıyla "kara kumar/komar", "kara ağı" ya da "kumar", iyi yetişme ortamlarında 8-10 metreye kadar ulaşabilen bir çalı ya da küçük ağaç türü olarak tanımlanır (Taşkın, 1987). *Rhododendron ponticum*'un bilimsel anlamda keşfi oldukça gerilere gitmektedir. 1753'te Linnaeus tarafından tanımlanan altı ormangülü arasında yer alır. Yaprakları parlak yeşildir. Genellikle kayın ormanlarında hakim olan ormangülüdür. *R. ponticum* 1763 yılında süs bitkisi olarak kültüvare alınmış, birçok ülkeye yabancı tür olarak girmiştir. Örneğin bu yolla İber yarımadasından taşınarak girdiği İngiltere'de son derece yaygınlaşmış adeta bazı alanlarda doğallaşmıştır (Thomson vd., 1993; Milne ve Abbott, 2000; Peterken, 2001). Ayrıca yaprak ve çiçekleri zehirlidir. Andromedotoksin içermektedir. Ormangülü ya da ağı çiçeği grayanotoksin diye bilinen (Andromedotoksin, Asetilandromedol, ve Rhodotoksin) zehir türlerini içerir (Şekil 1). Bu zehir türü kan basıncını düşürür, hatta kan basıncı düşme neticesinde şoka ve nadiren ölüme neden olabilir (URL-1, 2016).



Şekil 1. *Rhododendron ponticum* L. çiçek ve yaprağı (URL-2, 2016)

1.2.2. *Rhododendron caucasicum* Pall. (Kafkas Ormangülü)

Kafkas Ormangülü'nün, Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki adı "dağ kumarı" dır (Güner ve Duman, 1998). Beyaz ya da krem renkli çiçekleri halk arasında yenilmektedir (Şekil 2). 1 veya 1,5 metre kadar boy yapabilen bu ormangülü Karadeniz Bölgesi'nin asit karakterli

toprakları (pH=3-4) üzerinde, özellikle dağlık alanlarının kuzey yamaçlarında yayılış alanı bulmaktadır. Kayın, kayın-kökнар ya da kayın-ladin ormanlarının alt katında dağınık topluluklar oluşturmakla beraber, en iyi yetişme koşullarının subalpin kuşak ile alpin kuşak olduğu belirtilmektedir (Stevens, 1978; Browicz, 1982). Bu nedenle Kafkas Ormangülü, yüksek dağ türü olarak da tanımlanmaktadır. Adını aldığı Kafkas dağlarında özellikle Büyük Kafkas dağlarının kuzeybatısından başlayıp Azerbaycan batısında ve Dağıstan'da Samur nehri yukarı çığırına kadar geniş bir yayılış alanına sahiptir. Kuzey Anadolu dağları üzerinde kuzeye bakan yamaçlarda nem oranı yüksek ve bazen de turba karakterli topraklarda yetişme ortamı bulan *R. caucasicum*, bu sahada en batıda Trabzon- Bayburt arasında Soğanlı geçidi civarına kadar sokulmaktadır. Ferik dağı, Tiryal dağı, Kordevan dağı ve Yalnızçam dağları, Kafkas Ormangülü'nün Kuzey Doğu Anadolu'da yayılış gösterdiği diğer dağlık alanlar arasındadır. Murgul güneybatısındaki Gül dağı çevresinde ise Şavval Tepe'de *Daphne glomerata* ile birlikte 2300-2400 metrelerde topluluk oluşturur (Abay, 2000). Donuk krem rengi çiçekleri olan ve sürgün uçlarında 5-8 çiçek demeti taşıyan bu ormangülünün sürgünleri de hafif tüylüdür. *R. caucasicum*'un dikey doğrultudaki yayılış alanı genellikle 1800-3000 metreler arasında olmakla beraber (Browicz, 1982), en iyi gelişme gösterdiği yükselti aralığı 2000 metrenin üzerindeki yerlerdir. Kafkas Ormangülü Kaçkar dağlarında ise 3250 metreye kadar çıkabilmektedir (Doğu vd., 1996). 1784 yılında Pallas tarafından bilimsel anlamda tanımlanan Kafkas Ormangülü'nün diğer türlere nazaran 3-4 hafta erken çiçek açması bir süs bitkisi olarak değerini arttırmaktadır (Gelderen ve Smith, 1992).



Şekil 2. *Rhododendron caucasicum* çiçeği ve yaprağı (MEGEP, 2013)

1.2.3. *Rhododendron smirnowii* Trautv. (Gül Kırmızı Renkte Ormangülü)

Doğu Karadeniz’de kızılkuşu olarak isimlendirilen *R. smirnowii*, 1885 yılında Baron Ungern Stenberg tarafından Artvin civarında keşfedilerek aynı yıl Trautvetter tarafından tanımlanmış (Gelderen ve Smith, 1992) ve Sternberg’in arkadaşı olan M. Smirnov’un adıyla bilim dünyasındaki yerini almıştır.

Daima yeşil bir ormangülü türü *R. smirnowii*, yaklaşık 4 metre boylanabilmektedir. Koyu yeşil yapraklarının altı ile çiçekleri taşıyan sürgünleri yoğun gri beyaz tüylerle kaplıdır (Şekil 3). Parlak pembe çiçeklerinin 7-15 tanesi bir aradadır. Dikey doğrultudaki yayılış alanı, Anadolu’da 850-2300 metreler arasında değişmekle birlikte, daha çok 1600-2200 metreler arasında yoğunlaşmaktadır. Kafkas dağlarında 1000-1600 metrelik seviyelerdeki kayın ormanlarında, *R. ponticum* ve *R. ungerii* ile karışık olarak ya da tek başına topluluklar meydana getirmektedir (Avcı, 2004).



Şekil 3. *Rhododendron smirnowii* çiçeği ve yaprağı (URL-3, 2016)

1.2.4. *Rhododendron ungerii* Trautv. (Beyaz Çiçekli Ormangülü)

Yaprakların ucu küt ve geniştir. Alt yüzleri soluk kahverengi tüylerle örtülüdür. Kafkaslar ve Kuzeydoğu Anadolu’da doğal yayılış göstermektedir. Türkiye’deki doğal yayılış alanında beyaz kumar/komar olarak da bilinen, daima yeşil ve yaklaşık 6-7 m boylanabilen bir ormangülüdür. Çiçek sapı üzerinde 12-24 çiçekten oluşan çiçek demetleri yer alır (Şekil 4). Yaklaşık 800-2000 metreler arasındaki dikey dağılışı, bazı alanlarda

2200 metrelere kadar çıkmaktadır. Türkiye’de Kolşik alanının temsil edildiği Doğu Karadeniz’de, özellikle Batum sınırına yakın olan yerlerde bulunmaktadır (Stevens, 1978; Browicz, 1982; MEGEP, 2013).



Şekil 4. *Rhododendron ungerii* çiçeği ve yaprağı (URL-4, 2016)

1.2.5. *Rhododendron luteum* Sweet. (Sarı Çiçekli Ormangülü)

Halk arasında “eğriçiçeği”, “çifin” (Güner ve Duman, 1998) ya da “sarı ağı” gibi isimlerle de bilinen, *R. luteum*, Türkiye’de yayılışı bilinen diğer ormangülü türlerinden farklı olarak, kışın yapraklarını döken bir çalı türüdür (Şekil 5). Avrupa’da ve Güneybatı Asya’da yapraklarını döken tek ormangülü türü, *R. luteum*’dur. yaklaşık 4 metreye kadar boylanabilir ve sarı renkteki çiçeklerinin 5-15 tanesi sürgün ucunda bir arada bulunur. Karadeniz bölgesindeki yayılış alanı oldukça geniş olan sarı çiçekli ormangülü, batıya doğru Balıkesir ve Çanakkale çevresine kadar sokulur (Stevens, 1978).



Şekil 5. *Rhododendron luteum* çiçeği ve yaprağı (URL-5, 2016)

1.3. *Rhododendron* Türlerinin Faydaları, Kullanım Alanları ve Besin Değerleri

- Süs ağacı ve süs çalısı olarak kullanımları yaygındır (Kuzey Avrupa ülkeleri).
- Hediye bitkiler olarak bütün dünyada büyük ilgi görür (Açelya).
- Balcılıkta büyük öneme sahiptir (Anzer Balı ve Deli Bal)
- İklimi uygun yerlerde çit bitkisi olarak kullanılmaktadır.
- Karadeniz Bölgesi'nde yakacak odun olarak kullanılmaktadırlar.
- İngiltere, Almanya gibi gelişmiş batı ülkelerinde parklarda ve bahçelerde süs ağacı olarak kullanılırlar (URL-6, 2016).
- *Rhodendron antopogon* yapraklarından hazırlanan ilaçlar bağırsak ağrıları için kullanılmaktadır.
- Ağrı kesici, idrar sökütücü, romatizma ağrılarını dindirici ve uyutucu olarak kullanılmaktadırlar.
- Andromedotoxinin beyindeki merkeze etki ederek tansiyonu düşürücü etkisi olduğu bilinmektedir (URL-7, 2016).

1.4. *Rhododendron* Türlerinde Fide Üretim Yöntemleri

Ormangülleri iki yöntemle üretilmektedirler;

- Generatif Üretim Yöntemleri

- Tohumla üretim
- Vejetatif Üretim Yöntemleri
 - Çelikle üretim
 - Aşı ile üretim
 - Daldırma ile üretim
 - Doku kültürleri ile üretim

Generatif üretim (tohumla üretim) daha çok doğal türlerin yığınsal üretiminde kullanılan üretim yöntemidir. Ancak bu üretim yöntemi özellikle heterozigot döllenme gösteren türlerin üretiminde çok fazla tercih edilmez. Vejetatif üretim ise kültüre alınmış bireylerin, varlıklarını devam ettirmesinde kullanılan yoldur. Bu üretim yönteminde genelde çelik, bazen doku kültürü yöntemi bazen de anaç üretimi, melezleme veya seleksiyon çalışmalarında kullanılan aşı ile üretim yöntemleri tercih edilir. Aşı ile üretim yöntemi özel amaçlı süs bitkisi üretiminde, doğal ortamdan veya yapay yolla elde edilen melezlerin ilk üretimlerinde de sıkça tercih edilen bir üretim metodudur (Galle, 1987).

1.4.1. Generatif Üretim Yöntemleri

Generatif üretim yöntemi olan tohumla üretim, ormangülleri için kolay bir üretim şeklidir, fakat bu üretim şekli ormangüllerinin üretiminde düzgün formda bitkiler elde etmeye imkan tanımadığından dolayı daha çok ormangüllerinin çeşitlerinin üretimi için tercih edilmektedir (Clarke, 1982). Ormangüllerinin tohumları kapsüller içindedir ve sonbaharda olgunlaşır. Kapsüller açılmadan önce tohumlar elle toplanıp ince bir tabaka halinde serilerek kurumaya bırakılır. Bir süre sonra kapsüller açılarak tohumlar serbest kalır. Elde edilen tohumlar doğrudan üretim çalışmalarında kullanılır ya da 2-4 °C sıcaklıkta uzun süre saklanabilir. En iyi çimlenme ortamı 4,5-5,5 pH değerinde küçük parçalara ayrılmış çimlendirme turbası (% 80) ve vermikülit (% 20) karışımıdır. Karışım yerel malzemelerle de hazırlanabilir. İnce elenmiş % 80 kayın humusu ve % 20 kum karışımı idealdir. Çok küçük olan tohumlar seralara kış ve erken bahar aylarında ekilir. Toprak sıcaklığının 15-18 °C olmasına özen gösterilir. Çok küçük olan tohumlar ekim kasalarına serpilerek veya çizgiler halinde ekilir. Ekimi takiben yastıklar hafifçe sıkıştırılır

ve üzerine cam veya polietilen örtü örtülür. Ekilen tohumlar asla kapatılmaz çünkü onların çimlenmesi için ışık gereklidir.

Diğer bir yöntem de ise ekim yastıklarının üzerine zaman ayarlı ince yağmurlama sistemi monte edilir ve yeterince nemli bir ortamın oluşması sağlanır. Tüm sulama uygulamalarında ince yağmurlama sistemi kullanılır. Sulama suyu olarak yağmur suyunun kullanılmasında yarar vardır. Çimlenen fideler çok yavaş büyür ve 3-4 ay sonra şaşırtma boyutuna ulaşır. Şaşırtma boyuna ulaşan fideler 4-5 cm ebadında saksılara şaşırtılır ve soğuk tünellere alınır. Şaşırtma kabının harcı asit karakterli ve yeterli drenajı sağlayacak nitelikte olmalıdır. Fidler kışı bu tünellerde geçirir (MEGEP, 2013).

1.4.2. Vejetatif Üretim Yöntemleri

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 yeni bir bitki oluşturur (Ürgenç, 1992).

1.4.2.1. Çelikle Üretim Yöntemi

Yaprağını döken ormangüllerinin çelikle üretimi, her dem yeşil ormangüllerine göre daha güç olmaktadır. Melez ormangülü çeliklerinin köklenmesi daima zor olduğu inancı vardır, fakat köklenmeyi hızlandırıcı bitki büyüme düzenleyicileri (BBD) uygulanabilir. Bu metod melezler için uygun ve pratik bir yöntemdir. Ticari olarak hem gövde hem de yaprak göz çelikleri kullanılır. Çeliklerden elde edilen bitkiler genelde çabuk büyümektedirler (Hartman, 1974).

Kuzey Amerika ormangülleri genel olarak çelikle üretilmektedirler. Bunun yanında birçok Avrupalı yetiştirici daha iyi formda bitkiler oluşturduklarına inandıkları aşı yöntemini kullanmaktadırlar ve ormangüllerinin çoğalması için en uygun yöntem olarak görmektedirler (Reiley, 1995).

1.4.2.2. Aşı ile Üretim Yöntemi

Cins veya tür koleksiyonları geliştirmek ya da ender bir bitkiyi çoğaltmak isteyen amatör yetiştiriciler aşılama yöntemi deneyebilmektedirler. Aşılama belli sayıda bitki üretimi için gayet etkili bir yöntem olup, özellikle çelikle kök vermesi zor olan bitkilerin çoğaltılmasında sıkça kullanılan bir üretim modelidir (Reiley, 1995).

1.4.2.3. Daldırma ile Üretim Yöntemi

Ormangülleri daldırma yöntemi ile de rahatlıkla üretilebilirler (Hartman, 1974). Bu yöntem büyük Ormangülleri türlerinde daha çok kullanılan yöntemdir. Özellikle İngiltere’de ticari amaçla yetiştirilen Ormangüllerinin üretiminde yaygındır. Bu yolla, Ormangülleri doğal olarak doğada, kendi kendilerine de çoğalabilmektedirler (Reiley, 1995).

1.4.2.4. Doku Kültürü ile Üretim

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 kültürü teknikleri;

- ❖ Arz-talebi karşılayacak üretim olanağı
- ❖ Genotiplerin hızlı üretimi

- ❖ *In vitro*'da erken seleksiyon
- ❖ Daha az alandan daha yüksek verim eldesi
- ❖ Hastaliksız bitki eldesi (Bakteri, virüs ve mantardan ari bitki eldesi)
- ❖ Haploid ve poliploid bitkilerin üretilmesi
- ❖ Mutantların üretimi ve seçimi
- ❖ Genetik çeşitliliğin saklanması
- ❖ Somatik embriyo oluşumu, sentetik tohum üretimi
- ❖ Protoplast kültürü ile somatik hibridizasyon
- ❖ DNA teknolojisi ile gen transferleri
- ❖ Çelikle üretimi zor olan türlerin kolay üretilmesi

gibi avantajları bitkisel üretime sağlamaktadır (Bhojwani ve Razdan, 1983; Vidalie, 1986; Şimşek, 1989; Üçler, 1994; McDonald, 1999; Dinçer, 2010; Cüce, 2016).

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

Genetikçiler doku kültürü tekniğini, seçilmiş genotiplerin değerlendirilmesinde, hızlı büyüyen fertlerin ortaya çıkarılmasında, soğuğa, kuraklığa, hastalıklara, tuzluluğa ve herbisitlere dayanıklı bireylerin seçilmesinde etkin bir şekilde kullanırlar (Kaya, 1988). Bitki doku kültürü teknikleri ile nispeten problemsiz ve hızlı üretim ihtimali, daha ileri ilah adımlarında kullanılacak önemli avantajlar sunmaktadır (Üçler, 1994).

1.4.2.4.1. *Rhododendron* Türlerinin Doku Kültürü ile Çoğaltılması

Literatüre bakıldığında, *Rhododendron*'ların laboratuvar koşullarında doku kültürü yöntemi ile çoğaltımı yapılmaktadır. Üretimi zor olan, ticari olarak kullanılan ve insan sağlığına yararlı bitkilere hızlı bir metod olarak görülen doku kültürü yönteminin uygulanması ile bitkinin vejetatif üretiminin yaygınlaşacağı, kısa sürede üretimin gerçekleştirilebileceği, aynı form ve özellikte binlerce bitki elde edilebileceği bilinmektedir (Galle, 1987).

Farklı *Rhododendron* türleri üzerinde yapılan çalışmalarda sürgün uçları kullanılarak doku kültürü yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Sürgün ve kök oluşumu için MS, AN, WPM temel besi ortamları kullanılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicisi olarak genellikle zeatin, 2iP, TDZ, IAA, 6-BA tercih edilmiştir (Briggs vd., 1994; Tomson vd., 2004; Vejsadova, 2008; Rahimi vd., 2013).

R. indicum'da sürgün çoğaltımı ve kardeşlenme sayısı için oksin ile kombine edilmiş farklı sitokinlerle desteklenmiş *Rhododendron* besi ortamı makroelementleri, MS besi ortamı mikroelementleri ve vitaminleri içeren besi ortamı kullanılmıştır. En yüksek sürgün çoğaltımı ve kardeşlenme sayısı 4,0/1,0 mg/L zeatin/IAA kombinasyonunu içeren ortamdan elde edildiği rapor edilmiştir (Almeida vd., 2005).

1.5. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, Karadeniz Bölgesi'nin özellikle dağlık alanların kuzey yamaçlarındaki asit karakterli topraklarında yetişen *R. caucasicum*'un doku kültürü yöntemleri kullanılarak etkili bir mikroçoğaltım metodunun geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu bitkilerin fidelerinin *in vitro* koşullarda üretimi potansiyelleri ve bu fidelerin zamana bağlı olarak (büyümeye bağlı olarak) ne gibi değişimler göstereceği, *in vitro* koşullarda gerek besi ortamı ve gerekse çevresel faktörlerin ne gibi sonuçlar doğuracağı belirlenecektir. Bu türlerin üretim potansiyelleri belirlenerek her daim üretim yapılmasına imkan sağlayacak daha hızlı, daha seri üretim yapılması ve aynı anda aynı özelliğe sahip (klon ve çeşit) binlerce bitkinin üretilmesi, doğaya kazandırılması güncel ve teknolojik bir yaklaşımdır. Bu amaçla farklı temel besi ortamları ve farklı bitki büyüme düzenleyicilerin çeşitli konsantrasyon ve kombinasyonları *R. caucasicum*'un *in vitro* ortamlarda yetiştirilmesi üzerine denenmiş ve sürgün oluşumu, sürgün çoğaltımı ve kök gelişiminde bu faktörlerin etkileri araştırılmıştır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Materyal ve Kullanılan Ekipman

Bu araştırmada, *R. caucasicum* bitkisinin doku kültürü yöntemleri ile üretimi ve değerlendirilmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. *R. caucasicum*'un sürgün oluşturma safhasındaki bir nodal segment içeren sürgün parçaları araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Deneysel çalışmalarda, *Rhododendron* türlerinin doku kültürleri ile çoğaltımı alanında yapılan ve literatürde rastlanan çalışmalardan yararlanılmıştır.

Doku kültürü ile üretim çalışmaları, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Fizyolojisi ve Biyokimyası Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda besi ortamlarının pH'sını ayarlama Mettler Toledo MP 220 marka pH metre, tartım işlemlerinde ohaus marka hassas terazi, çözeltilerin karıştırılmasında Heidolph 1400 (Hotplate & Stirrer) marka ısıtıcı 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 biobase marka laminar akışlı steril kabin, kültürlerin büyütülmesinde Sanyo marka iklim dolabı, sürgün boyu uzunluklarının ölçülmesinde bıs marka dijital kumpas kullanılmıştır.

2.2. Yöntemler

2.2.1. Bitkisel Materyal

2013 yılında Gürcistan'dan ithal edilen ve bir süs bitkisi satıcısından alınan anaç *R. caucasicum* bitkisinin genç ve yumuşak sürgünleri başlangıç materyali olarak kullanılmıştır. Yaklaşık 0,5 cm boyunda ve bir nodal segment içeren sürgün parçaları eksplant olarak kullanılmıştır. Bu parçalara ait tepe tomurcuğu hariç birinci ve beşinci internodları arasında kalan kısımlar kesilerek yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur.

2.2.2. Besi Ortamlarının Saptanması ve Hazırlanması

Günümüzde, doku kültürü ile üretimde birçok sentetik besi ortamı kullanılmaktadır. Bu besi ortamları, bitkilerin isteklerine göre uyarlanabilmektedir (Anderson, 1984). Sürgün oluşturma ve sürgün geliştirme (çoğaltma) çalışmalarında Anderson (1984) tarafından geliştirilen *Rhododendron* besi ortamı kullanılmıştır. Söz konusu hazır besi ortamları Duchefa'dan (Haarlem-Hollanda) satın alınmıştır. AN besi ortamının içeriği Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Anderson *Rhododendron* (AN) Besi Ortamı, Bileşenleri ve Miktarları

Makro Elementler	AN (mg/L)
NH ₄ NO ₃	400
KNO ₃	480
CaCl ₂	332.02
CaCl ₂ .2H ₂ O	-
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	380
MgSO ₄	180.54
MgSO ₄ .7H ₂ O	-
KH ₂ PO ₄	-
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	-
K ₂ SO ₄	-
Mikro Elementler	
H ₃ BO ₃	6.2
MnSO ₄ .H ₂ O	16.9
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.60
ZnSO ₄ .H ₂ O	-
KI	0.30
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025
FeSO ₄ .7H ₂ O	55.7
FeNaEDTA	73.40
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.025
Vitaminler	
Nikotinik Asit	100
Thiamin HCl	0.40
Pridoksin. HCl	100
İnositol	20
Glisin	-
Adenin hemisülfat	0.80

1 litre AN besi ortamı hazırlamak için, stok (hazır) besi ortamından 2000,9 mg/L tartılmıştır ve 1 litrelik vida kapaklı cam şişelere aktarılmıştır. Her bir besi ortamına % 2 sukroz ilave edilmiş ve ortamların hacmi saf su ile 1 litreye tamamlanmıştır. Katılaştırıcı ajan olarak % 0,8 (w/v) Phyto Agar (Duchefa, Haarlem-Hollanda) eklenmiştir. Ortamların pH'sı 0,1 N NaOH veya 0,1 N HCl ile 5,5-5,8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar 121 °C' de 1,1 atm basınç altında 15 dk sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Sterilizasyon işleminin ardından besi ortamlarının sıcaklıkları 40-50 °C'ye düşene kadar laminar flow kabin içerisinde bekletilmiştir. Son olarak ortamlara önceden 0,22 µm'lik filtrelerde (Sigma) sterilizasyonu yapılan bitki büyüme düzenleyicileri gerekli oranlarda ortamlara ilave edilmiş ve besi ortamları kültür kavanozlarına (magenta) aktarılmıştır. Besi ortamlarının katılaşmasının ardından magentalar, kültürlerin ekim işlemleri başlatılıncaya kadar oda sıcaklığında, karanlıkta ve toz geçirmeyen bir ortamda muhafaza edilmiştir.

2.2.3. Bitki Büyüme Düzenleyicileri ve Konsantrasyonları

Sürgün oluşturma denemelerinde değişken zeatin , N6-[2-isopentenil]adenin (2iP) ve thidiazuron (TDZ) (0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 mg/L) konsantrasyonları AN temel besi ortamında denemeye tabi tutulmuştur. Sürgün oluşum aşamasında bu bitki büyüme düzenleyicilerinin ve konsantrasyonlarının seçimi noktasında daha önce yapılan uygulamalardan ve literatür bilgisinden yararlanılmıştır.

Sürgün çoğaltma çalışmalarında değişken İndol-3-asetik asit (IAA), Naftalenasetik asit (NAA) ve İndol-3-bütirik asit (IBA) (2,0, 4,0, 8,0 mg/L) konsantrasyonları ile sabit zeatin (0,5 mg/L) kombinasyonları AN ortamına ilave edilmiştir ve sürgün oluşum oranları değerlendirilmiştir.

Köklendirme çalışmaları mikroçoğaltım çalışmalarının üçüncü basamağını oluşturmaktadır. Köklendirme işlemi sırasında en uygun oksinin ve bu oksin konsantrasyonunun belirlenmesi fidelerin daha kısa sürede köklenmelerini bu sayede de dış ortama adaptasyon çalışmalarının daha hızlı olmasını sağlayacaktır. Sürgün çoğaltım çalışmaları sonucu yeterli büyüklüğe ulaşan fideler (en az 20 mm) *in vitro*'da köklendirilmek amacıyla 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L IBA ve değişken NAA (0,5, 1,0, 2,0, 4,0) ile sabit zeatin (0,5 mg/L) ve IAA (2,0 mg/L) kombinasyonlarını içeren besi ortamlarında kültüre alınmışlardır.

Kültüre alınan bir nodal segment içeren sürgün parçaları explantlarından sürgün oluşumu, oluşan sürgünlerden sürgün çoğaltımı ve bu sürgünlerin köklendirilmesi için uygun besi ortamları ve bu ortamlara eklenen BBD (sitokinin + oksin) kombinasyonları ve oksin konsantrasyonları Tablo 2, 3, 4, 5 ve 6'da verilmiştir.

Tablo2. Sürgün çoğaltımı için AN ortamına ayrı ayrı eklenen Zeatin TDZ ve 2iP konsantrasyonları

BBD (mg/L)	AN				
Zeatin	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0
TDZ	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0
2iP	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0

Tablo3. Sürgün çoğaltımı için AN ortamına eklenen Zeatin/IAA kombinasyonları

BBD (mg/L)	AN		
Zeatin	0,5	0,5	0,5
IAA	2,0	4,0	8,0

Tablo 4. Sürgün çoğaltımı için AN ortamına eklenen Zeatin/NAA kombinasyonları

BBD (mg/L)	AN		
Zeatin	0,5	0,5	0,5
NAA	2,0	4,0	8,0

Tablo 5. Sürgün çoğaltımı için AN ortamına eklenen Zeatin/IBA kombinasyonları

BBD (mg/L)	AN		
Zeatin	0,5	0,5	0,5
IBA	2,0	4,0	8,0

Tablo 6. Köklendirme için AN ortamına eklenen IBA, IBA + AC ve sabit Zeatin/IAA + NAA konsantrasyonları

BBD (mg/L)	AN				
IBA	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
IBA/AC	10,0/0,01	10,0	-	-	
Zeatin/IAA/NAA	0,5/2,0/0,5	0,5/2,0/1,0	0,5/2,0/2,0	0,5/2,0/4,0	-

2.2.4. Bitkisel Materyalin Yüzeysel Sterilizasyonu

Mikroçoğaltımda kullanılacak eksplantlar aseptik koşullara alınmadan önce tam anlamıyla sterilize edilmelidir. Sterilizasyon yöntemleri anaç bitkinin yetiştiği ortamın özelliklerine ve eksplantın alındığı organa göre farklılık göstermektedir. Kullanılacak dezenfektan maddenin cinsi, konsantrasyonu ve uygulama süresi sterilizasyonun başarısını etkilemektedir. Ayrıca bitki dokularının zarar görmemesine dikkat edilmelidir. *R. caucasicum* bitkisinden kesilerek alınan genç sürgünler çeşme suyu ile 30 dakika yıkanmıştır. Ön yıkama işleminden sonra, tepe tomurcuğu hariç birinci ve beşinci internodları arasındaki sürgünler kesilmiş ve yüzeysel sterilizasyonu için önceden hazırlanmış % 70'lik etanol (EtOH) ile 30 saniye ön muamele işlemine tabi tutulmuş, akabinde içerisinde % 2,5'lük sodyum hipoklorit (NaOCl) bulunan 250 ml'lik beher içerisine aktarılmıştır. Burada manyetik karıştırıcı ile 500 rpm hızla karıştırılarak 10 dakika süreyle yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Yüzey sterilizasyonu işlemi eksplantların steril distile su ile her biri en az 5 dk olmak kaydı ile üç kez yıkanması ile tamamlanmıştır. Bu işlemlere, eksplantın özelliğine göre ilave uygulamalar yapılabilir ve dezenfektan maddenin derişimi ile uygulama süresi değiştirilebilir. Son iki aşamanın, steril kabin içerisinde yapılması önemlidir.

2.2.5. Kullanılan Alet ve Ekipmanın Sterilizasyonu

Steril çalışma kabini, kültür aşılama çalışmalarına başlamadan önce, 10 dakika süre ile çalıştırıldıktan sonra % 70'lik EtOH ile dezenfekte edilmiştir. Kullanılan cam malzeme, otoklavda sterilizasyona tabi tutulmuştur. Çeşitli amaçlar için kullanılan tüm cam malzeme, otoklavda sterilizasyondan önce 100 °C'de, etüvde 1 saat süreyle bekletilmiştir. Eksplantları kültüre almada kullanılan pens ve bisturiler çalışmaya başlamadan önce % 70'lik EtOH alkolde bekletildikten sonra ateşten geçirilerek sterilize edilmiştir.

2.2.6. Materyalin Kültüre Alınması

Sterilize edilen sürgünler steril kabin içerisinde, bir nodal segment içeren sürgün parçaları minimum 5 mm uzunluğunda kesilmiş ve içinde steril besi ortamı bulunan kültür kaplarına yerleştirilerek kültüre alınmıştır. *R. caucasicum*'un alt kültürleri, yaşama durumlarına göre 4 ila 5 hafta aralıklarla taze besi ortamlarına aktarılmıştır (Şekil 6).



Şekil 6. *In vitro*' da *Rhododendron caucasicum* sürgünleri

2.2.7. Fiziksel Koşullar

Çalışmada kullanılan ve kültüre alma işlemi tamamlanan eksplantlar için inkübasyon ortamı olarak 24 ± 2 °C sıcaklık, 8000 lüks ışık şiddeti ($\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$), 16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık koşulu ile % 80 neme ayarlı iklim dolabı kullanılmıştır.

2.3. Gelişme Süresince Yapılan Ölçüm ve Gözlemler

2.3.1. Kültüre Alınan Eksplantların Gelişme Durumu ve Sürgün Oluşumu

R. caucasicum bitkileri, kültüre alınmalarından itibaren gelişme durumları, renklemeleri, canlılıkları, sürgün oluşumları ve oluşan sürgünlerden sürgün gelişimleri iki haftada bir gözlemlenmiş, elde edilen veriler istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

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

2.3.2. Sürgünlerin Köklendirilmesi

Köklendirme çalışmalarında oksin, oksin/sitokinin veya oksin+AC uygulamaları AN ortamında denemeye tabi tutulmuştur. Köklenme ortamına alınan sürgünlerin 8 hafta sonunda 16 saat aydınlık 8 saat karanlık (fotoperiyot) uygulamasındaki köklenme yüzdesi, kök sayısı, kök boyu ve sekonder kök sayısı parametrelerine bakılmıştır.

2.3.3. Denemelerin Kurulması ve Değerlendirilmesi

2.3.3.1. Denemelerin Kurulması

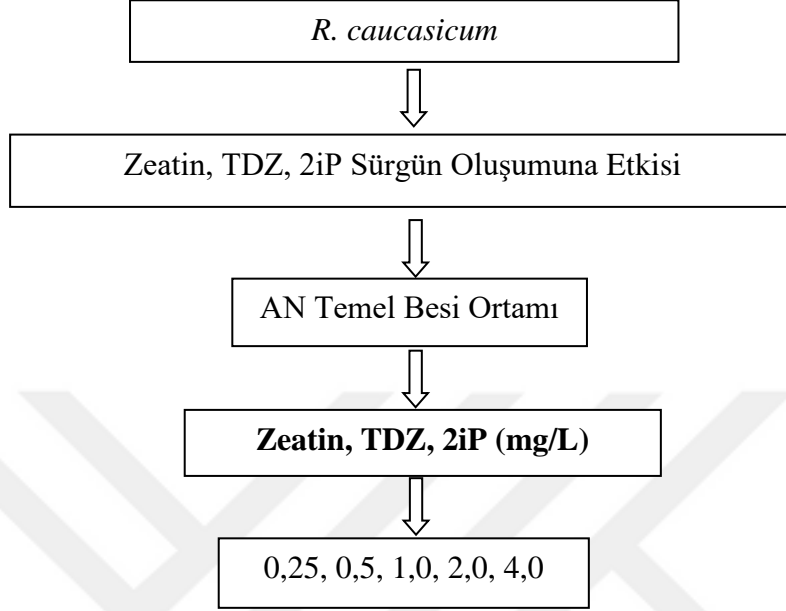
Her bir deneme üç tekrarlı olarak kurulmuş ve toplam olarak en az 20-25 eksplant kullanılmıştır. Elde edilen değerler 3. alt kültür uygulamasından sonra elde edilmiştir.

2.3.3.2. Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Tüm veriler üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler (çoklu veriler) varyans analizi Statistical Package for Social Sciences (SPSS 21,0) paket programı içerisinde yer alan ANOVA'nın çok yönlü Duncan testine tabi tutulmuştur. Ölçümleri yapılan değerler arasındaki istatistiki farklar ve benzerlikler ortaya konulmuştur ($P < 0,05$).



3. BULGULAR



Şekil 7. AN besi ortamında *Rhododendron caucasicum*'a ait explantlarda sürgün oluşumu için denenen Zeatin, TDZ ve 2iP konsantrasyonlarını gösteren işlev şeması

3.1. *R. caucasicum*'da *In Vitro* Sürgün Oluşumu

Sürgün oluşturma çalışmaları AN temel besi ortamında 3 farklı bitki büyüme düzenleyicisinin 5 farklı konsantrasyonu (Şekil 7) denenmiştir. Sürgün oluşumu görülen kültür ortamlarında, denemelerin başlangıcından 6-8 hafta sonra; oluşan sürgün sayısı (kardeşlenme sayısı), sürgün uzunluğu ve bu sürgünlerdeki yaprak sayıları belirlenerek kaydedilmiştir.

Sürgün oluşturma çalışmalardan elde edilen verilere göre (Tablo 7) denenen 2iP ve zeatinin kontrole göre olumlu etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan analizler sonucunda, fidelerin boylarının uzamasında en etkili bitki büyüme düzenleyicisinin zeatin olduğu belirlenirken, en zayıf etkiye sahip olanların ise TDZ olduğu, ayrıca 2iP'nin kısmen zeatine yakın etki gösterdiği görülmüştür (Şekil 8).



Şekil 8. Zeatin içeren AN besi ortamındaki *R. caucasicum* sürgünleri

Sonuçlar, 2iP'nin zeatinden sonra en etkili bitki büyüme düzenleyicisi olduğunu göstermiştir (Tablo 7). Zeatinin farklı konsantrasyonlarıyla denenen AN besi ortamından elde edilen sürgün boyu sonuçlarına göre; artan zeatin konsantrasyonu ile sürgün boyu (cm) arasında negatif korelasyon ($r^2 = -0,717$, $P < 0,01$) olduğu belirlenmiştir. Denenen zeatin konsantrasyonları arasından en yüksek uzama miktarı ortalama 4,50 cm ile 0,5 mg/L uygulamasından, en düşük uzama miktarı ise 2,91 cm ile 4,0 mg/L uygulamasından elde edilmiştir. Bunlar dışında denenen 0,25, 1,0, 2,0 mg/L konsantrasyonlarına ait sürgün boyu değerleri sırasıyla; 4,34, 3,58 ve 3,08 cm olarak belirlenmiştir. TDZ'nin farklı konsantrasyonları ile yapılan uygulamalardan elde edilen sürgün boyu sonuçlarına göre TDZ'nin artan konsantrasyonu yine sürgün boyunda (cm) arasında negatif bir korelasyon ($r^2 = -0,458$, $P < 0,01$) oluşturmuştur. TDZ ile yapılan denemelerde en yüksek sürgün boyu 3,25 cm ile 0,25 mg/L uygulamasından, en düşük sürgün boyu 1,41 cm ile 4,0 mg/L uygulamasından elde edilmiştir. Uygulanan 0,5, 1,0, 2,0 mg/L TDZ konsantrasyonlarında sürgün boyu değerleri sırasıyla 1,83, 1,75 ve 1,58 cm olarak belirlenmiştir. Ayrıca TDZ uygulamalarından elde edilen sürgünlerin yeteri kadar sağlıklı olmadıkları görülmüş ve elde edilen sürgünlerde camlaşmalar gözlemlenmiştir (Şekil 9).



Şekil 9. TDZ uygulamalarından elde edilen sürgünler ve sürgün çoğaltımında oluşan camlaşmalar

Farklı konsantrasyonlardaki 2iP ile yapılan denemeler sonucunda konsantrasyon artışının boy uzamasına olumlu etki yaptığı belirlenmiştir. 2iP'nin farklı konsantrasyonları ile denenen sürgün boyu (cm) sonuçlarına göre artan 2iP konsantrasyonu ile sürgün boyu (cm) arasında pozitif bir korelasyon ($r^2= 0,015$, $P < 0,01$) olduğu belirlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda denenen 2iP uygulamalarından en yüksek sürgün boyu 3,5 cm ile 1,0 mg/L konsantrasyonunda, en düşük sürgün boyu ise 2,08 cm ile 0,25 mg/L konsantrasyonunda belirlenmiştir (Şekil 10). 0,5, 2,0 ve 4,0 mg/L konsantrasyonlarından elde edilen sürgün boyu değerleri ise sırasıyla 3,41, 3,08 ve 2,166 cm'dir.



Şekil 10. 1,0 mg/L 2iP içeren AN besi ortamındaki *R. caucasicum* sürgünleri

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan zeatin, 2iP ve TDZ'nin kardeşlenme sayısı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Tablo 7).

Elde edilen sürgünler yapraklanma sayıları açısından değerlendirildiğinde yine sürgün boyu değerlerine paralel veriler elde edilmiştir. Sitokininlerin etkileri karşılaştırıldığında, 2iP ve zeatin ile desteklenen ortamlardaki fidelerin ortalama yaprak sayılarının diğer ortamlardaki fidelerin yaprak sayılarından daha fazla olduğu belirlenmiştir. TDZ uygulamalarından elde edilen fidelerin yapraklanma sayıları ise kontrol grubuna göre daha düşük değerler vermiştir.

Elde edilen değerler yaprak sayısı açısından 2iP uygulamalarının daha yüksek değerler verdiğini ortaya koysa da yapılan istatistiksel analizler, yaprak sayısı artışında etkili sitokininlerin zeatin ve 2 iP olduğunu ortaya çıkarmıştır. 2iP'nin 0,5 ve 1,0 mg/L uygulamaları ile zeatinin 0,5 mg/L uygulamasından elde edilen yaprak sayıları arasında herhangi bir istatistiksel fark gözlemlenmemiştir. Köklendirme çalışmaları için elde edilen sürgünlerin daha sağlıklı fideler olması da dikkate alındığında zeatin uygulamalarından elde edilen sürgünlerin bu amaç için daha uygun olduğu saptanmıştır. Zeatinin farklı konsantrasyonlarından elde edilen yaprak sayısı sonuçlarına göre artan zeatin konsantrasyonu ile yaprak sayısı arasında yine negatif bir korelasyon ($r^2 = -0,259$, $P < 0,01$) olduğu belirlenmiştir ve bu veri sürgün boyundan elde edilen analiz sonucu ile desteklenmektedir. Uygulanan zeatin konsantrasyonları arasından en yüksek yaprak sayısı 2,42 ile 0,5 mg/L uygulamasında, en düşük yaprak sayısı ise 1,83 ile 4,0 mg/L uygulamasında belirlenmiştir ve aralarındaki fark Tablo 7'de gösterilmiştir.

2iP uygulamalarından elde edilen yaprak sayısı verileri her ne kadar TDZ uygulamalarından elde edilen yaprak sayısı değerlerinden yüksek olsa da zeatin uygulamalarından elde edilen değerlerden daha düşük çıkmıştır. Zeatin uygulamalarının analiz sonuçlarına benzer olarak artan 2iP konsantrasyonları ile elde edilen yapraklanma sayıları arasında negatif bir korelasyon elde edilmiştir ($r^2 = -0,129$, $P < 0,01$). Uygulanan 2iP konsantrasyonları arasından en yüksek yaprak sayısı 2,5 ile 1,0 mg/L uygulamasından, en düşük yaprak sayısı ise 1,75 ile 4,0 mg/L uygulamasından belirlenmiştir.

TDZ uygulamaları sürgün boyunda olduğu gibi yaprak sayısı değerlerine de zeatin ve 2iP uygulamalarına göre çok daha düşük değerler vermiştir. TDZ uygulamalarından elde edilen en yüksek yaprak sayısı diğer tüm uygulamalardan elde edilen en yüksek yaprak sayısı ile kıyaslandığında % 46'lara varan farklar olduğu göze çarpmaktadır. Uygulanan TDZ konsantrasyonlarından elde edilen en yüksek yaprak sayısının kontrol grubundan elde

edilen yaprak sayısı değerlerinden düşük olması TDZ'nin *R. caucasicum*'un sürgünlerinin yapraklanması üzerine negatif yönde etki ettiğini göstermektedir ($r^2 = -0,111$, $P < 0,01$).

Tablo 7. *Rhododendron caucasicum* eksplantlarının 6-8 hafta sonunda farklı TDZ, Zeatin ve 2iP konsantrasyonlarındaki sürgün verim değerleri

BBD	KONSANTRASYON (mg/L)	SB (cm)	KS (Adet)	YS (Adet)
KONTROL		1,917 ± 0,2 de	0,00	1,84 ± 0,5 bc
TDZ	0,25	3,25 ± 1,356 bc	0,00	1,25 ± 0,452 e
	0,5	1,83 ± 0,937 de	0,00	1,33 ± 0,492 de
	1,0	1,75 ± 0,753 de	0,00	1,25 ± 0,452 e
	2,0	1,58 ± 0,514 de	0,00	1,17 ± 0,389 e
	4,0	1,42 ± 0,514 e	0,00	1,17 ± 0,389 e
ZEATİN	0,25	4,34 ± 0,778 a	0,00	2,17 ± 0,58 abc
	0,5	4,5 ± 0,522 a	0,00	2,42 ± 0,514 a
	1,0	3,58 ± 0,67 b	0,00	2,08 ± 0,288 abc
	2,0	3,08 ± 0,514 bc	0,00	1,92 ± 0,67 bc
	4,0	2,92 ± 0,514 c	0,00	1,83 ± 0,834 bc
2iP	0,25	2,08 ± 0,288 d	0,00	1,92 ± 0,668 bc
	0,5	3,42 ± 0,514 bc	0,00	2,42 ± 0,514 a
	1,0	3,50 ± 0,674 bc	0,00	2,50 ± 0,522 a
	2,0	3,08 ± 0,996 bc	0,00	2,25 ± 0,452 ab
	4,0	2,17 ± 0,834 d	0,00	1,75 ± 0,452 cd

¹ SB: Sürgün Boyu. 2 aylık fidelere ait son boyları ile başlangıç boyları arasındaki farkları alındı ve bu farkların ortalamaları alınarak ± standart sapmalarıyla verildi. Her bir ortam için 20 örnek değerlendirildi.

² KS: Kardeşlenme sayısı. 2 aylık fidelere ait kardeş sayılarının ortalamaları alınarak ± standart sapmalarıyla verildi. Her bir ortam için 20 örnek değerlendirildi.

³ YS: Yaprak sayısı. 2 aylık fidelere ait yaprak sayılarının ortalamaları alınarak ± standart sapmalarıyla verildi. Her bir ortam için 20 örnek değerlendirildi.

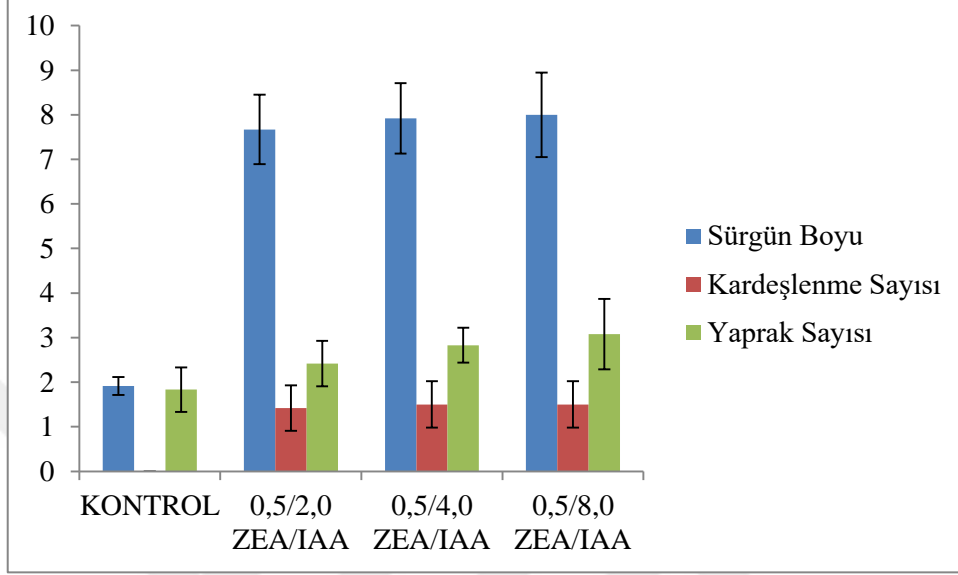
Aynı sütündeki benzer harfler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ($P < 0,05$) farklı değildiler.

Sabit zeatin (0,5 mg/L) değişken IAA, NAA ve IBA konsantrasyonlarının (2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L) sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı üzerine etkisi araştırıldığında, BBD uygulanan tüm ortamların denemeye tabi tutulan tüm parametreler açısından kontrol grubuna göre daha yüksek değerler verdiği belirlenmiştir. Buna göre; en yüksek sürgün boyu ve kardeşlenme sayısı 0,5/8,0 mg/L zeatin /IAA uygulamasından, en yüksek yaprak sayısı ise 0,5/4,0 mg/L zeatin/IBA uygulamasından elde edilmiştir. Bu bağlamda IAA konsantrasyonlarının değerlendirmeye tabi tutulan tüm parametrelerde önemli derecede artışlara sebep olduğu belirlenmiştir ($P < 0,01$). Genel olarak değerlendirildiğinde; en yüksek sürgün boyu 8,00 cm ile 0,5/8,0 mg/L zeatin/IAA kombinasyonu ile desteklenen ortamda, en düşük sürgün boyu ise 7,67 cm ile 0,5/2,0 mg/L uygulamasında belirlenmiştir. Sabit zeatin varlığında uygulanan 3 farklı IAA konsantrasyonundan elde edilen sürgün boyu değerleri analiz edildiğinde 3 uygulama arasında sürgün boyu açısından önemli bir fark oluşmadığı görülmüştür. IAA uygulamaları sabit zeatin ve değişken NAA ve IBA uygulamalarından elde edilen sürgün boyu değerleriyle kıyaslandığında ise NAA ve IBA uygulamalarından elde edilen sürgün boylarının IAA uygulamalarından elde edilen sürgün boylarından çok daha kısa olduğu belirlenmiştir ve aralarındaki önemli bu fark Tablo 8’de gösterilmiştir.

IAA uygulamaları kardeşlenme sayısı açısından değerlendirildiğinde ise sürgün elde etme çalışmalarından elde edilemeyen kardeşlenme sayılarına göre daha pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Yine IAA uygulamaları NAA ve IBA uygulamalarıyla kardeşlenme sayısı açısından mukayese edildiğinde aralarında istatistiksel anlamda herhangi bir farkın oluşmadığı gözlemlenmiştir. En yüksek kardeşlenme sayısı 1,5 ile 0,5/4,0 ve 0,5/8,0 mg/L zeatin/IAA uygulamalarından elde edilmesine karşın 0,5/2,0 mg/L zeatin/IAA uygulamasından elde edilen değerle herhangi fark oluşturmamıştır Tablo 8.

IAA uygulamalarından elde edilen yapraklanma sayısı değerleri analiz edildiğinde artan konsantrasyona bağlı olarak yapraklanma sayısında da paralel olarak bir artış olduğu gözlemlenmiştir. En yüksek yapraklanma sayısı 3,8 ile 0,5/8,0 mg/L zeatin/IAA kombinasyonundan, en düşük yaprak sayısı ise 2,4 ile 0,5/2,0 mg/L zeatin/IAA kombinasyonundan elde edilmiştir. Bunlar dışında denenen 0,5/4,0 mg/L zeatin/IAA uygulamasında ise yaprak sayısı 2,8 adet olarak belirlenmiştir. Yapraklanma sayıları sürgün elde etme çalışmalarından elde edilen yapraklanma sayılarıyla değerlendirildiğinde zeatinli ortamlara ilave edilen farklı konsantrasyonlardaki IAA’nın yapraklanma sayısını

önemli derecede artırdığı tespit edilmiştir ve elde edilen farklar Tablo 7 ve Tablo 8’de ayrı ayrı gösterilmiştir.

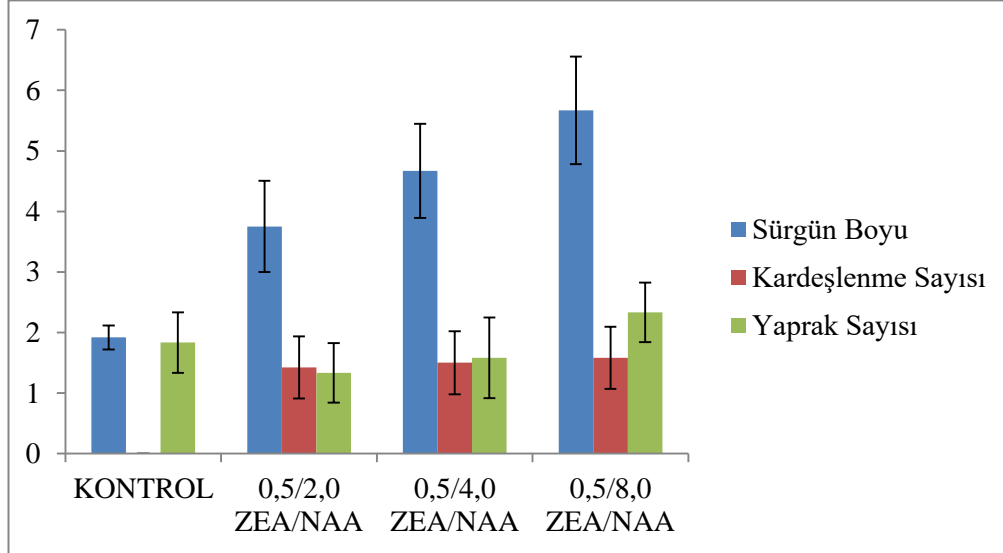


Şekil 11. Sabit Zeatin değişken IAA konsantrasyonlarındaki *R. caucasicum*'a ait sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı karşılaştırması

Sabit zeatin (0,5 mg/L) değişken NAA konsantrasyonlarının (2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L) sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı üzerine etkilerine bakıldığında; NAA uygulamalarından elde edilen sürgünlerin boy uzunluklarında önemli derecede artışlar olduğu ve artan NAA konsantrasyonların sürgünlerin boylarını pozitif yönde artırdığı tespit edilmiştir. En yüksek sürgün boyu 5,6 cm ile 0,5/8,0 mg/L zeatin/NAA kombinasyonundan, en düşük sürgün boyu ise 3,75 cm ile 0,5/2,0 mg/L zeatin/NAA kombinasyonundan elde edilmiştir. 0,5/4,0 mg/L zeatin/NAA uygulamasında sürgün boyu 4,67 cm olarak belirlenmiştir ve en yüksek değer elde edildiği 0,5/8,0 mg/L uygulaması ile aralarında önemli bir istatistiksel fark oluşmuştur. NAA uygulamalarından elde edilen en yüksek sürgün boyu değerleri ile IAA uygulamalarından elde edilen en yüksek sürgün boyu değerleri karşılaştırıldığında % 29'luk bir fark gözle çarpmaktadır ve bu sonuç IAA'nın NAA'dan daha etkili olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde sürgün boyu açısından NAA uygulamaları ile IBA uygulamaları arasındaki fark da % 6,7'dir ki bu veri NAA'nın sürgün boyu açısından IAA ve IBA'da daha az etkili olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde sabit zeatin artan NAA uygulamalarının *R. caucasicum*'un kardeşlenme sayısı üzerine olumlu etkiler oluşturduğu tespit edilmiştir. 0,5/8,0 mg/L zeatin/NAA

uygulaması eksplant başına ortalama 1,58 ile en yüksek kardeşlenme sayısını verirken, en düşük değer 1,42 ile 0,5/2,0 mg/L uygulamasından elde edilmiştir. Uygulanan üç farklı NAA konsantrasyonlarından elde edilen kardeşlenme sayıları aralarında sayısal anlamda farklar oluşsa da, yapılan istatistiksel analizler bu üç konsantrasyonun *R. caucasicum*'un kardeşlenme sayısı üzerinde fark oluşturmadığını göstermektedir (Tablo 8). Yine NAA uygulamalarından elde edilen kardeşlenme sayıları IAA ve IBA uygulamalarından elde edilen kardeşlenme sayıları ile karşılaştırıldığında bu üç oksin çeşidinin *R. caucasicum*'un kardeşlenme sayısı üzerine fark oluşturmadığı görülmektedir.

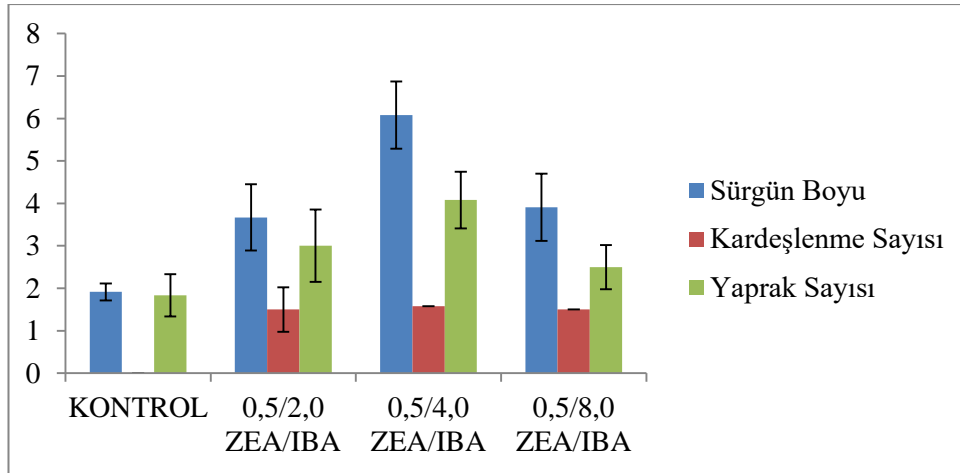
Yapraklanma sayısı açısından da her ne kadar sabit zeatin varlığında artan NAA uygulamalarının *R. caucasicum*'un yaprak sayısını artırdığı görülse de elde edilen değerler yine IAA ve IBA uygulamalarından elde edilen yaprak sayısı değerlerinden oldukça düşüktür. NAA uygulamalarında en yüksek yaprak sayısı eksplant başına ortalama 2,34 ile 0,5/8,0 mg/L kombinasyonundan elde edilse de, bu değer en yüksek yaprak sayısının elde edildiği 0,5/4,0 mg/L zeatin/IBA uygulamasından % 42,7 daha düşüktür. Uygulanan diğer iki NAA konsantrasyonlarından elde edilen ortalama yaprak sayılarının da kontrol grubundan elde edilen yaprak sayısından düşük değerler vermesi bu oksin çeşidinin *R. caucasicum*'un yaprak oluşumu için uygun olmadığını göstermiştir (şekil 12).



Şekil 12. Sabit Zeatin değişken NAA konsantrasyonlarındaki *R. caucasicum*'a ait sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı karşılaştırması

Denenen diğ er bir kombinasyon olan sabit zeatin (0,5 mg/L) değ işken IBA (2,0, 4,0, 8,0) konsantrasyonlarının sü rgün boyu, kardeş lenme sayısı ve yaprak sayısı üzerine etkilerine bakıld ığında; denenen tüm parametrelerde kontrole göre olumlu etki gösterdiğ i tespit edilmiştir. En yüksek sü rgün boyu 6,08 cm ile 0,5/4,0 mg/L zeatin/IBA kombinasyonundan, en düşük sü rgün boyu 3,67 cm ile 0,5/2,0 mg/L zeatin/IBA kombinasyonundan elde edilmiştir. Buna karş ın 0,5/8,0 mg/L zeatin/IBA iç eren ortamda sü rgün boyu 3,91 cm olarak belirlenerek; 0,5/2,0 mg/L zeatin/IBA uygulaması ile aralarında önemli bir istatiks el fark oluş mamıştır. IBA uygulamalarından elde edilen en yüksek sü rgün boyu değerleri ile en düşük sü rgün boyu değerleri karşı laştırıld ığında % 35'lik bir fark olduğu ve IAA'nın *R. caucasicum*'un sü rgün boyu değerleri açısından daha etkili olduğu gö ze ç arpmaktadır.

Kardeş lenme sayısı açısından da sü rgün boyuna benzer olarak en etkili ortamın 1,58 ile 0,5/4,0 mg/L zeatin/IBA uygulamasının olduğu tespit edilmiştir. Buna karş ın denenen diğ er IBA kombinasyonlarında kardeş lenme sayısı 1,5 olarak belirlenmiş ve aralarında belirgin bir fark oluş mamıştır. Elde edilen tüm bu değerler sabit zeatin varlığ ında uygulanan değ işken IBA konsantrasyonlarının yaprak sayısı üzerinde pozitif yönde etki gösterdiğ i tespit edilmiştir ($P < 0,01$). *R. caucasicum*'un yaprak sayısı artan IBA konsantrasyonuna paralel olarak arttığ ı belirlenmiştir. En yüksek yaprak sayısı eksplant baş ına ortalama 4,08 adet ile 0,5/4,0 zeatin/IBA kombinasyonundan, en düşük yaprak sayısı eksplant baş ına ortalama 2,5 adet ile 0,5/8,0 zeatin/IBA kombinasyonunda belirlenmiştir. Bunlar dı ş ında denenen; 0,5/2,0 mg/L zeatin/IBA konsantrasyonunda yaprak sayısı eksplant baş ına ortalama 3,00 olarak kaydedilmiştir. IBA uygulamalarından elde edilen en yüksek yaprak sayısı değerleri ile IAA ve NAA uygulamalarından elde edilen en yüksek yaprak sayısı değerleri arasında sırası ile % 24,5 ve % 42,6'lık önemli istatiks el fark olduğu belirlenmiştir. Bu da *R. caucasicum* 'da yaprak oluş umu iç in IBA'nın uygulanan diğ er oksinlerden daha etkili olduğ unu göstermektedir (Ş ekil 13).



Şekil 13. Sabit Zeatin değişken IBA konsantrasyonlarındaki *R. caucasicum*'a ait sürgün boyu, kardeşlenme sayısı ve yaprak sayısı karşılaştırması

Tablo 8. *Rhododendron caucasicum* eksplantlarının 6-8 hafta sonunda sabit sitokin ve değişken oksin varlığındaki sürgün verim değerleri

BBD	KONSANTRASYON (mg/L)	SB (cm)	KS (Adet)	YS (Adet)
KONTROL		1,916 ± 0,2	0,00	1,84 ± 0,5
Zeatin+IAA	0,5 + 2,0	7,67 ± 0,78 c	1,42 ± 0,51 a	2,42 ± 0,52 fghi
	0,5 + 4,0	7,91 ± 0,79 c	1,50 ± 0,52 a	2,84 ± 0,39 efg
	0,5 + 8,0	8,00 ± 0,95 c	1,50 ± 0,52 a	3,08 ± 0,79 e
Zeatin+NAA	0,5 + 2,0	3,75 ± 0,75 ghi	1,42 ± 0,51 a	1,34 ± 0,49 lmn
	0,5 + 4,0	4,67 ± 0,78 e	1,50 ± 0,522 a	1,58 ± 0,67 klmn
	0,5 + 8,0	5,67 ± 0,89 d	1,58 ± 0,514 a	2,34 ± 0,52 efgh
Zeatin+IBA	0,5 + 2,0	3,67 ± 0,78 ghij	1,50 ± 0,52 a	3,00 ± 0,85 ef
	0,5 + 4,0	6,08 ± 0,79 d	1,58 ± 0,00 a	4,08 ± 0,67 d
	0,5 + 8,0	3,91 ± 0,79 fgh	1,50 ± 0,00 a	2,50 ± 0,53 efgh

¹SB: Sürgün Boyu. 2 aylık fidelere ait son boyları ile başlangıç boyları arasındaki farkları alındı ve bu farkların ortalamaları alınarak ± standart sapmalarıyla verildi. Her bir ortam için 20 örnek değerlendirildi.

²KS: Kardeşlenme sayısı. 2 aylık fidelere ait kardeş sayılarının ortalamaları alınarak ± standart sapmalarıyla verildi. Her bir ortam için 20 örnek değerlendirildi.

³YS: Yaprak sayısı. 2 aylık fidelere ait yaprak sayılarının ortalamaları alınarak ± standart sapmalarıyla verildi. Her bir ortam için 20 örnek değerlendirildi.

Aynı sütundaki benzer harfler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre ($P < 0,05$) farklı değildirler.

3.2. *R. caucasicum* Bitkisinin Köklenmesi ile İlgili Bulgular

Sürgün çoğaltım çalışmaları sonucu yeterli büyüklüğe ulaşan fidelerin köklendirilmeleri mikroçoğaltım çalışmalarının üçüncü basamağını oluşturmaktadır. Köklendirme işlemi sırasında en uygun oksinin ve bu oksin konsantrasyonunun belirlenmesi fidelerin daha kısa sürede köklenmelerini bu sayede de dış ortama adaptasyon çalışmalarının daha hızlı olmasını sağlayacaktır.

3.2.1. IBA Konsantrasyonlarının *R. caucasicum* Sürgünlerinin Köklenmesi Üzerine Etkisi

IBA'nın köklenme üzerine etkisini belirlemek için; sürgün oluşturma ortamında elde edilen fideler farklı IBA konsantrasyonları (0,5, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0) içeren AN temel besi ortamına kültüre alınmışlardır. IBA konsantrasyonlarının tamamında değerlendirilen parametreler açısından hiçbir anlamlı sonuç elde edilememiş ve bu oksin uygulamasının *R. caucasicum* fidelerinin köklendirilmesi için uygun olmadığı belirlenmiştir.

3.2.2. IBA/AC Konsantrasyonlarının *R. caucasicum* Sürgünlerinin Köklenmesi Üzerine Etkisi

R. caucasicum fideleri 10 mg/L IBA ile desteklenmiş sukroz içermeyen yarı katı ve % 0,01 aktif karbon (AC) ile desteklenmiş ve AC ile desteklenmemiş AN temel besi ortamında köklenmeye tabi tutulmuşlardır. Bu uygulamada da AC uygulanmayan IBA uygulamalarında olduğu gibi tüm parametreler açısından 8 hafta sonunda herhangi bir anlamlı köklenme verisi elde edilememiştir.

3.2.3. Zeatin/IAA/NAA Konsantrasyonlarının *R. caucasicum* Sürgünlerinin Köklenmesi Üzerine Etkisi

Sürgün oluşturma çalışmaları esnasında 2,0 mg/L NAA içeren ortamda yapılan gözlemler sırasında 8 hafta sonunda kök oluşumu gözlenmezken; çalışmalar 32 hafta boyunca takip edilmiş ve sonunda fidelerin bir tanesinde kök oluşumu gözlenmiştir (Şekil 14). Kök oluşumunun görülmesiyle yeni bir deneme kurulmuş ve üç bitki büyüme düzenleyicinin kombine edildiği ortamlar hazırlanmıştır. Sabit zeatin/IAA (0,5/2,0 mg/L)

değişken NAA (0,5, 1,0, 2,0 ve 4,0 mg/L) konsantrasyonlarını içeren ortamda fideler köklendirilmek üzere 2-8 hafta boyunca takip edilmiştir. Denemeler sonucunda kök oluşumu gözlenememiştir.



Şekil 14. 2,0 mg/L NAA içeren AN besi ortamındaki *R. caucasicum* sürgünlerinde 32. hafta sonunda oluşan köklenmeler

4. TARTIŞMA

Ekonomik değer taşıyan bitkilerin bitki biyoteknolojisi yöntemleri kullanılarak ekonomiye kazandırılmasına ait son yıllarda hızla artan bir ilerleme olduğu görölmektedir. Otsu bitki türlerinin bitki biyoteknolojisi yöntemleri ile üretimi kolay olsa da odunsu bitkiler bu bağlamda üretimi daha zor olan türlerdir. Ülkemizde de doğal olarak yetişen özellikle ekonomik değer taşıyan odunsu bitki türlerinin bitki biyoteknolojisi yöntemleri kullanılarak üretilmesine ait çalışmalar son yıllarda hız kazanmıştır. Bu bağlamda ülkemizde doğal olarak yetişen ve ekonomik değer taşıma potansiyeli olan *R. caucasicum*'un bitki doku kültürünün özel uygulaması olan mikroçoğaltım ile üretilmesi, bu bağlamda bu bitkilerin hızlı ve etkili üretimleri için en iyi ortam/ortamların seçimi ve optimizasyonu bu çalışmanın asıl amacını teşkil etmektedir. Ülkemizde doğal olarak yetişen *Rhododendron* türlerinin mikroçoğaltım yoluyla üretilmesine ait herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Kaldı ki; *Rhododendron* türlerinin mikroçoğaltımı ile ilgili literatür verileri dünyada da son derece kısıtlıdır. Dolayısı ile bu çalışmadan elde edilen veriler diğer *Rhododendron* türleri ve aynı familyanın diğer üyeleri ile yapılan (özellikle *Vaccinium* tür veya çeşitleri ile yapılan çalışmalar) mikroçoğaltım çalışmalarının sonuçları ile karşılaştırılmış ve yorumlanmıştır. *R. caucasicum* bitkisinin mikroçoğaltım yolu ile üretimini gerçekleştirmek amacıyla, Anderson *Rhododendron* adlı temel besi ortamının, çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin farklı konsantrasyon ve kombinasyonları ile sürgün oluşumu ve çoğaltımına etkisine ve tüm denemeler boyunca elde edilen sürgünlerin köklendirilmesi üzerine etkilerine bakılarak *R. caucasicum* bitkisinin optimizasyon süreci tamamlanmıştır.

Burada yapılan çalışmaya benzer olarak Almeida ve arkadaşları (2005), bir başka *Rhododendron* türü olan *R. ponticum* ile yaptıkları çalışmada eksplant kaynağı olarak genç sürgünlerden alınan ve tek bir nod içeren parçalar ile apikal tomurcukları kullanmışlar ve bu iki farklı eksplant kaynağının gelişimleri arasındaki farkları incelemişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar tek bir nod ihtiva eden gövde parçalarının bu *Rhododendron* türünün *in vitro* üretimi için daha uygun olduğunu ve kardeşlenmenin ve fide çoğaltımının daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir.

Temel besi ortamları bitki dokularını canlı ve sağlıklı tutacak şekilde tasarlanır. Kültüre alınan eksplantların gelişimsel programını yönlendirmek için bitki büyüme

düzenleyicilerine ihtiyaç duyulur. Büyüme düzenleyicileri, doku kültürü şartlarını iyileştirmek adına üzerinde en çok durulan parametredir. Bitki dokularından organ farklılaşmasında oksin ve sitokinler önemli rol oynamaktadır. Bilindiği gibi sitokin/oksin oranının yüksek olması sürgün oluşumunu, oksin/sitokin oranının yüksek olması kök oluşumunu, oksin ve sitokin oranlarının eşit olması ise kallus oluşumunu desteklemektedir (Werbrouck ve Debergh, 1994). Doku kültürü çalışmalarında kullanılan oksin ve sitokin etkileri, üzerinde çalışılan türlere göre değişmektedir.

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde, *Ericaceae* familyasının *Rhododendron* taksonlarının doku kültürü yöntemiyle üretim çalışmalarında, besi ortamı olarak genellikle MS, AN ve WPM temel besin ortamları kullanılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicisi çoğunlukla zeatin, 2iP, TDZ, IAA ve 6-BA gibi BBD'ler kullanılmıştır (Briggs vd., 1994; Tomsone vd., 2004; Vejsadova, 2008; Rahimi vd., 2013). Bu tez çalışmasında, *R. caucasicum*'un mikroçoğaltımı için, *Rhododendron* türlerinin *in vitro* koşullarda üretiminde sıklıkla kullanılan Anderson *Rhododendron* besi ortamı kullanılmıştır (Iapichino ve Chen 1995; Mertens vd., 1996). Bunun yanı sıra modifiye MS besi ortamınının kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur (Vejsadová, 2008).

Zeatin, TDZ ve 2iP'nin sürgün oluşumu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, sürgün uzamasına en olumlu etkiye sahip olan bitki büyüme düzenleyicisinin zeatin olduğu belirlenmiştir. Zeatinin 0,25 ve 0,5 mg/L konsantrasyonları ile yürütülen çalışmalarda sırasıyla ortalama 4,34 ve 4,5 cm ile en yüksek sürgün uzama miktarları elde edilmiştir.

Sürgün oluşturma çalışmalarında denenen sitokinler etkileri kendi aralarında değerlendirildiğinde, Zeatinin düşük konsantrasyonlarının (0,25 ve 0,5 mg/L), TDZ'nin 0,25 mg/L ve 2iP'nin 0,5-2,0 mg/L konsantrasyonları aralığındaki değerlerin, denenen diğer konsantrasyonlardan elde edilen ortalama sürgün boyu miktarlarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Yaptığımız çalışmanın aksine Rahimi ve arkadaşları (2013) *Rhododendron indicum* ile yaptıkları çalışmada, eksplant olarak bitkinin sürgün uçlarını ve besi ortamı olarak 1/2 AN besi ortamını kullanmışlar ve sonuç olarak denenen bitki büyüme düzenleyicilerinden 2iP'nin bu türün mikroçoğaltım çalışmalarında zeatin ve TDZ'ye göre daha etkili olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan denemelerde de 2iP'nin çalışmalarımızda uygulanan konsantrasyonlara göre daha yüksek konsantrasyonlarının (2-10 mg/L) daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda 2iP (10 mg/L) ile zeatinin (0,1 mg/L) kombine edilmesiyle en yüksek sürgün boyu miktarını ve nod oluşumunu elde etmişlerdir. TDZ ve ZEA ile yapılan kombinasyondan kısa boylu bitkilerin

elde edildiğini bildirmişlerdir. Literatürde verilen bazı raporlarda, genel olarak 1,0-2,0 mg/L sitokinin çoğu sistemde yeterli olduğu ve yüksek düzeylerinin adventif sürgün oluşumunu arttırma eğiliminde olduğu, doğal oksin olan IAA ortamda çok az stabil olduğundan, sentetik oksinlerin daha çok tercih edildiği bildirilmiştir. Bunların sürgün çoğaltım aşamasında kullanılan oranları 0,1-1,0 mg/L olarak belirlenmiştir (Skoog ve Miller, 1957; Werbrouck ve Debergh, 1994). Yürütülen bu çalışmada da yukarıda verilen raporlara benzer olarak, denenen sitokininlerin genellikle 0,25 ila 2,0 mg/L konsantrasyonları aralığında daha yüksek etki gösterdikleri tespit edilmiştir. Yine literatürde, TDZ'nin düşük konsantrasyonlarının (0,001-1,0 mg/L) sürgün oluşumunda daha etkili olduğu, yüksek konsantrasyonlarının adventif sürgün ve kallus oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (Lin vd., 2000).

Çalışma kapsamında denenen farklı konsantrasyondaki sitokininler ile (TDZ, zeatin ve 2iP) *R. caucasicum* sürgünlerinin oluşturulduğu çalışmalarda incelenen parametrelerden bir diğeri de, yapraklanma sayılarıdır. Ortalama yaprak sayıları, belirtilen *in vitro* ortamlarda 2 aylık inkübasyon sonucunda oluşan sürgünlerin ihtiva ettikleri yaprakları sayılarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre, uygulanan sitokinin grubu bitki büyüme düzenleyicilerinden 2iP ve zeatinin yapraklanma üzerine daha etkili olduğu belirlenmiştir. 2iP'nin 0,5 ve 1,0 mg/L konsantrasyonlarından ve zeatinin 0,5 mg/L konsantrasyonundan elde edilen ortalama yaprak sayıları sırasıyla 2,4; 2,5 ve 2,4 olarak belirlenmiştir. TDZ'nin yaprak oluşumunda düşük hatta inhibe edici etkisinin olduğu tespit edilmiştir. TDZ'nin tüm konsantrasyonları ve 2iP'nin denenen en yüksek konsantrasyonu (4,0 mg/L) kontrolden daha düşük ortalama yaprak sayısına sahiptir ve dolayısıyla yapraklanmayı inhibe ettiği söylenebilir. Literatürde, çalışmamız kapsamında denenen bitki büyüme düzenleyicilerinin yapraklanmayı teşvik ya da inhibe ettiğine dair herhangi bir rapora rastlanmamıştır. Ancak, sitokinin grubu bitki büyüme düzenleyicilerinin genel fizyolojik etkileri arasında sürgün oluşumunun teşvik edilmesi ve yaprak absisyonunu engellemek olduğu bilinmektedir (Gaspar vd., 1996; Haberer ve Kieber, 2002). Ayrıca, 2,0 mg/L zeatin ile 0,1 mg/L IBA'nın kombine edilmesinin yaprak oluşumunu daha fazla teşvik ettiği daha önce aynı familyanın farklı türleri olan *Vaccinium arctostaphylos* ve *Vaccinium myrtillus* ile yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Cüce vd., 2013; Cüce ve Sökmen, 2015).

Meiners ve arkadaşları (2007) tarafından yürütülen bir çalışmada, Ericaceae familyasından *Vaccinium corymbosum* L. (Davis, 1982) ve *Vaccinium vitis-idaea* L. (Davis, 1982) türlerinde sürgün çoğaltımı üzerine 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 artan değerlerde WPM besi ortamında uygulanmış, sürgün çoğaltımının zeatin değerlerinde yüksek kallus oluşumunun ise az olduğu gözlemlenmiştir. Uygulanan TDZ konsantrasyonlarında ise sürgün çoğaltımının düşük, kallus oluşumunun ise yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Burada sunulan çalışmaya benzer bir çalışma, Ostrolucká ve arkadaşları (2004) tarafından *V. corymbosum* L. ve *V. vitis-idaea* L.'nin *in vitro*'da çoğaltılması üzerine yapılmıştır. Yürütölen bu çalışmada araştırmacılar iki farklı *Vaccinium* türünün sürgün oluşumlarını 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L zeatin konsantrasyonlarında araştırmışlardır. Araştırmacılar sürgün oluşumu için bitkilerin tepe tomurcuklarını veya bir ya da iki yaprak taslağı taşıyan yan tomurcuklarını materyal olarak kullanmışlardır ve bu konsantrasyonlarda başarı elde ettiklerini belirtmişlerdir. Ostrolucká ve arkadaşları (2004) yaptıkları uygulamalarda kardeşlenme sayılarındaki artışların 2,0 mg/L zeatin/IBA konsantrasyonlarındaki uygulamalarda daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir.

Sürgün oluşturma çalışmaları sırasında değerlendirilen parametrelerden bir diğeri de kültüre alınan tek bir eksplanttan meydana gelen yeni bireylerin yani kardeş sürgünlerin sayısının belirlenmesidir. Fakat yapılan denemeler sonucunda eksplantların hiçbirinde kardeş sürgün oluşumu gözlenmemiş, her bir eksplant tek bir sürgün şeklinde gelişimini sürdürmüştür. Mao ve arkadaşları (2011) tarafından *Rhododendron dalhousiae* var. *rhabdotum*, *Rhododendron elliotii* ve *Rhododendron johnstoneanum* türlerinin *in vitro*'da çoğaltımını gerçekleştirmişlerdir. Bu amaçla söz konusu bitkilerin yan tomurcukları eksplant olarak kullanılmış ve farklı konsantrasyonlardaki bitki büyüme düzenleyicileri varlığındaki sürgün oluşturma kabiliyetleri araştırılmıştır. Bu üç *Rhododendron* türünün sürgün çoğaltımı için bitki büyüme düzenleyicisi olarak sitokin grubu kimyasallardan 2iP, 6-BA ve KIN kullanılmıştır. Yürütölen bu çalışmanın aksine, söz konusu çalışmada kardeşlenme (sürgün çoğaltımı) sayılarındaki artışın eksplant başına *R. dalhousiae* var. *rhabdotum*'da 3,17, *R. elliotii*'de 3,6 ve *R. johnstoneanum*'da 7,1 çoklu sürgün oluşumunun gerçekleştiiğini ve bu ortalamaların herbirini 8,0 mg/L 2iP içeren ortamlarda tespit ettiklerini rapor etmişlerdir. Sürgün uzamasında da 2iP'nin 4,0 ve 8,0 mg/L konsantrasyonlarının daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (Mao vd., 2011). Bu tez kapsamında tek başına kullanılan 2iP'nin kardeşlenme (sürgün çoğaltımı ya da çoklu sürgün oluşumu) sayısı üzerine herhangi bir etkisinin bulunmadığı sürgün uzamasında da zeatine göre daha düşük TDZ'ye göre daha yüksek etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Yine sunulan pek çok raporda sitokinlerin özellikle zeatin ve TDZ'nin kardeşlenme sayısını arttırdığına dair bilgiler mevcuttur (Thomas ve Katterman, 1986; Fellman vd.,

1987; Mok vd., 1987; Arinaitwe vd., 2000; Gübbük ve Pekmezci, 2004; Youmbi vd., 2006). Fakat yukarıda da belirtildiği gibi bu çalışmada da farklı konsantrasyonlarda denenen sitokinlerin tek başlarına kardeş sayısı oluşumunda (sürgün çoğaltımında) etkili olmadığı görülmüştür. Mao ve arkadaşları (2011), yürütülen çalışmadan elde edilen sonuçlara benzer olarak, 2iP'nin yüksek konsantrasyonlarının *R. johnstoneanum* hariç diğer türlerde çoklu sürgün oluşumunu ve sürgün uzamasını inhibe ettiğini rapor etmişlerdir. Yürütülen bu çalışmada da 2iP ile yapılan denemelerde 1,0 mg/L konsantrasyonuna kadarki konsantrasyonlarda sürgün uzamasında artış gözlenirken, bu konsantrasyondan daha yüksek denemelerde sürgün uzamasında düşüş gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasında, farklı sitokin grubu bitki büyüme düzenleyicilerinin tek başlarına ortama eklenmesiyle incelenen sürgün boyu, sürgün sayısı ve kardeşlenme sayısındaki değişimler aynı zamanda oksin/sitokin (0,5 mg/L sabit konsantrasyonda zeatin ve 2,0, 4,0 ve 8,0 mg/L konsantrasyonlarda IAA, NAA ve IBA) kombinasyonlarını içeren ortamlardan oluşturulan sürgünlerin köklendirilmesi çalışmalarında da değerlendirilmiştir. Elde edilen bu ortalama değerlere bakıldığında, tek başlarına sitokinlerin kullanıldığı çalışmalardan elde edilen sürgün uzama miktarı ve kardeşlenme sayısı sonuçlarının, oksin/sitokin kombinasyonlarını içeren ortamlardakilere göre genel olarak daha düşük olduğu görülmüştür. Sonuç olarak çalışmamızda oksinler ile sitokinlerin kombine edilmesi, *R. caucasicum* sürgünlerinin daha fazla uzamasına, kardeşlenme sayısında da artışa neden olmuştur. Yaprak sayısında ise herhangi bir önemli etki göstermediği gözlenmiştir. Denenen oksin/sitokin kombinasyonlarından IAA'nın denenen tüm konsantrasyonlarının sürgün uzamasında diğerlerine göre daha etkili olduğu, 0,5 mg/L zeatin ile 4,0 mg/L IBA içeren ortamın yapraklanmayı daha fazla teşvik ettiği ve denenen tüm kombinasyonların çoklu sürgün oluşumunda benzer etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da oksinlerle sitokinlerin kombinasyonlarının sürgün oluşumu parametrelerinde etkili olduğu belirtilmiştir (Mao vd., 2011; Almeida vd., 2005).

Mao ve arkadaşları (2011), *R. dalhousiae* var. *rhabdotum*, *R. elliottii* ve *R. johnstoneanum* ile yaptıkları çalışmada, denenen sitokinlerin oksinler ile kombine edilmesinin, tek başlarına kullanımlarına göre daha olumlu sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bir başka raporda ise *R. indicum* ile çalışılmış ve farklı konsantrasyonlarda ortama eklenen bitki büyüme düzenleyicilerinin (zeatin, 2iP ve TDZ) kardeşlenme sayısı, sürgün boyu üzerine etkileri araştırılmıştır. Kardeşlenme sayısı üzerine etkili ortamın 0,2

mg/L TDZ ile 10 mg/L 2iP kombinasyonlarını içeren ortamın olduğu bulunmuştur. Sürgün boyu üzerine etkili ortamın ise 0,1 mg/L zeatin ile 10 mg/L 2iP kombinasyonlarını içeren ortamlar olduğu tespit edilmiştir (Rahimi vd., 2013). Yürüttüğümüz çalışmada da her ne kadar istatistiki olarak tüm konsantrasyonlar benzer etki göstermiş olsa da, ortalama sayı olarak bakıldığında kardeşlenme sayısı en fazla 0,5 mg/L zeatin ile 8,00 mg/L NAA içeren ortamlarda hesaplanmıştır. Sürgün sayısı üzerine en fazla etkili olan kombinasyon ise 0,5 mg/L zeatin ile 8,00 mg/L IAA uygulamasıdır.

R. ponticum L. nin mikroçoğaltımı üzerine yapılan bir çalışmada, Andersonun *Rhododendron* temel besi ortamının makroelementleri ile Murashige ve Skoog (1962) besi ortamının mikroelementleri ve vitaminlerini içeren ortamlar kullanılarak, 0,5 mg/L IAA ile 1,5 mg/L zeatin, KIN, 2iP ve 6-BA kombinasyonları ile 1,0 mg/L IAA ile 4,0 mg/L zeatin, KIN, 2-iP ve 6-BA kombinasyonlarının sürgün çoğaltımı ve kardeşlenme sayısı üzerine etkilerini araştırılmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar 4,0 mg/L zeatin ile 1,0 mg/L IAA kombinasyonu ile desteklenen ortamlarda sürgün çoğaltımı ve kardeşlenme sayısının, diğer ortamlara göre daha yüksek sonuçlar verdiğini rapor etmişlerdir. (Almeida vd., 2005). Bu çalışmadaki bulgular ile yürütülen çalışmadan elde edilen verileri karşılaştırdığımızda bazı farklılıklar göze çarpmakla birlikte, denenen tüm kombinasyonların olumlu etkilerinin varlığı gözlenmiş ve en etkili kombinasyonun zeatin ile IAA'nın kullanılmasıyla elde edildiği ve bu ortamların sürgün çoğaltımı ve kardeşlenme sayısı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamız sırasında 2,0 mg/L NAA içeren ortamda kültüre alınan fidelerden tek bir tanesinde köklenmenin görülmesiyle, yeni bir deneme kuruldu. 0,5/2,0 mg/L zeatin/NAA'nın kombine edildiği çalışmalarda, kök oluşumunun olup olmadığı da takip edilmiştir. Ancak denenen tüm ortamlarda 8. hafta sonunda herhangi bir kök oluşumu görülmemiştir. Economou ve Read (1986), *Rhododendron* türlerinin köklenmesinde yapılan alt kültür sayısının önemli olduğunu ve ancak 3. ya da 4. alt kültürden sonra köklenmenin gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Vejsadová (2008) da yaptığı çalışmada 4. alt kültürden sonra mikro sürgünlerin köklenebildiğini bildirmişlerdir. Yürütülen çalışmada da, fidelerin alt kültür yapıma sayısı literatürde verilenler ile benzerlik (3. alt kültür) göstermektedir. Fakat bu parametrenin türlere göre değişebileceği düşünüldüğünde, yapılan alt kültür sayısının yetersiz kalmış olabileceği ve bu nedenle fidelerin *in vitro* ortamlarda köklenmemesinin nedeni olarak ileri sürülebilir.

Yürütölen çalışmanın aksine, literatürde birçok çalışmada *Rhododendron* türleri *in vitro* ve *ex vitro*'da köklendirilmiştir (Douglas, 1984; Economou vd., 1988; Norton ve Norton, 1989; Briggs vd., 1994; Iapichino ve Chen 1995; Almeida vd., 2005; Singh ve Gurung 2009). Vejsadová (2008) yaptığı çalışmada *in vitro* koşullarda oluşturulan 18 haftalık mikro sürgünlerin *ex vitro* köklendirilmesinin başarılı bir şekilde gerçekleştirildiğini IBA uygulamasının herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Bunun aksine literatürde kök oluşumu için oksinlerin ortamda bulunması gerektiği ve oksinlerin kök oluşumunu teşvik ettiği ile ilgili de birçok rapor da mevcuttur (Bhojwani ve Razdan,1983; Preece ve Sutter, 1991; Mansuroğlu ve Gürel, 2001; Aktar vd., 2007; Dıaz ve Álvarez, 2009). Almeida ve arkadaşları (2005), yaptıkları çalışmada *R. ponticum* L. subsp. *baeticum*'nun *in vitro* ve *ex vitro* köklendirilmesinde en etkili bitki büyüme düzenleyicisinin IBA olduğunu bildirmişlerdir.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada, *R. caucasicum*'un doku kültürü yöntemlerinden “mikroçoğaltım” tekniği kullanılarak *in vitro* koşullarda üretimi gerçekleştirilmiştir. Yürütülen bu çalışma *R. caucasicum*'un doku kültürlerinde üretimine yönelik ilk çalışmadır. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

1. Sürgün oluşturma için yapılan denemelerde AN temel besi ortamında sürgün oluşumu üzerine en etkili bitki büyüme düzenleyicisinin zeatin olduğu sonucuna varılmıştır.

2. 2iP'nin her ne kadar sürgün oluşum yüzdesi bakımından zeatine yakın etki gösterdiği belirlense de sürgün boyu değerleri açısından daha zayıf kaldı tespit edilmiştir.

3. TDZ ortamlarından elde edilen sürgünlerin yeteri kadar sağlıklı olmadığı sonucuna varılmıştır.

4. Zeatin, TDZ, 2iP'nin tek başına uygulamalarının *R. caucasicum*'un kardeşlenme sayısı üzerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı tespit edilmiştir.

5. Sürgün elde etme çalışmalarında herhangi bir oksin ile kombine edilmeyen zeatin ve 2iP uygulamalarının yapraklanma sayılarında benzer etkilere sahip olduğu belirlenmiştir.

6. Sürgün çoğaltma çalışmalarında sürgün boyu açısından zeatin/IAA (0,5/8,0 mg/L) kombinasyonlarının diğer uygulamalardan daha yüksek değerler verdiği belirlenmiştir.

7. Kardeşlenme sayısı açısından zeatin/IBA (0,5/40, mg/L) ve zeatin/NAA (0,5/8,0 mg/L) uygulamalarının diğer uygulamalardan daha etkili olduğu sonucu elde edilmiştir.

8. Yaprak sayısı açısından yine zeatin/IBA (0,5/40, mg/L) uygulamasından diğer tüm uygulamalardan daha yüksek sonuç verdiği belirlenmiştir.

9. Tüm parametreler ve sürgünlerin gelecekte yapılacak köklendirme çalışmaları için fizyolojik durumları ele alındığında zeatin/IAA kombinasyonlarının daha uygun sonucuna varılmıştır.

10. Köklenme alışmaları açısından denemeye tabi tutulan hiçbir oksin, oksin/sitokinin veya oksin + AC uygulamasının 8 hafta süreyle köklenme üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.



6. ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, *R. caucasicum*'un sürgün oluşumu ve çoğaltımı AN temel besi ortamında *in vitro* koşullarda başarılı şekilde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra yapılacak çalışmalarda, bu türlere ait sürgünler çoğaltım işlemlerinde bu besi ortamının kullanılması yararlı olacaktır.

Sürgün eldesi ve sürgün çoğaltma çalışmalarında sitokinin olarak zeatin oksin olarak IAA'nın en iyi sonuçları vermesi, daha sonra yapılacak olan *Rhododendron* taksonlarının doku kültürü ile üretim çalışmalarında öncelikle bu BBD'lerin konsantrasyon ve kombinasyonlarının denenmesi önerilmektedir. Köklendirme çalışmalarında alt kültür ve uygulama süreleri optimize edilerek köklendirme başarıları artırılabilir.

Yapılan çalışmadan elde edilen veriler bundan sonra ülkemizde doğal olarak yetişen *Rhododendron* türleri için yapılacak çalışmalar için temel oluşturacaktır. Bu türlerin doku kültürlerinde üretim potansiyellerinin ortaya konulmasının ardından gelecekte yapılacak çalışmalar ile daha üstün hatların oluşturulması sağlanabilir. Yine bu türler üzerine gelecekte yapılacak olan doku kültürleri çalışmalarında aynı büyüme düzenleyicilerinin farklı konsantrasyon ve kombinasyonları ve diğer büyüme düzenleyicilerinin etkileri de araştırılabilir. Doku kültürleriyle elde edilen fidelerin doğal ortamlarda yetişen fidelerle içeriklerinin biyolojik aktif bileşenler açısından karşılaştırmalı analizleri çıkarılabilir ve içeriklerindeki etken maddelerin artırımına yönelik çalışmalar (stres uygulamaları) yapılabilir

7. KAYNAKLAR

- Abay, G., 2000. "Göktaş (Murgul) vadisi (Artvin) ve çevresinin florasına katkılar", Ot Sistematik Botanik Dergisi, 7, 9-28.
- Abbott, N., 1972. Hilliers' Manual of Trees & Shurubs, Hilliaer & Sons.
- Adkins, J., 1996. Flower & Garden, (GFNG), ISSN: 0891-9534, 39, 6, 26-28.
- Ahuja, M., R., 1986. Application Of Brotechnology to Forest Tree Species and Problems Involved, Holzwirtschaft, 154, 187-199.
- Aktar, S., Nasiruddin, K., M. ve Huq, H., 2007. *In Vitro* Root Formation in *Dendrobium* Orchid Plantlets with IBA., Journal of Agriculture and Rural Developmnet, 5, 48-51.
- Aktaş, T., 2016. Doğu Karadeniz Bölgesinde Yayılış Gösteren Bazı *Rhododendron L.* (Ericaceae) Türleri Üzerinde Mikromorfolojik Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Almeida R.; Goncalves, S.ve Romano, A., 2005. *In vitro* micropropagation of endangered *Rhododendron ponticum L.* subsp. *baeticum* (Boissier & Reuter) Handel-Mazzetti, Biodivers. Conserv., 14, 1059–1069.
- Anderson, W., C., 1984. A Revised Tissue Culture Medium For Shoot Multiplication of *Rhododendron*, J. Amer. Soc. Hort. Sci., 109, 3 , 343-347.
- Arinaitwe, G., Rubaihayo, P., R. ve Magambo, M., J., S., 2000. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa sp.*) cultivars, Scienta Horticulturae, 86, 13-21.
- Avcı, M., 2004. Ormangülleri (*Rhododendron L.*) Türkiye'deki doğal yayılışları, İstanbul Üniversitesi Edebiyat Fakültesi Coğrafya Bölümü Coğrafya Dergisi, 12,13-29.
- Beckett, K. A., 1985. The Concise Encyclopedia of Garden Plants, Orbis Publishing Limited, London.
- Bhojwani, S., S. ve Razdan, M., K., 1983. Plant Tissue Culture: Theory and Praticce, 502, Elsevier Science Pub. Co., Amsterdam.
- Brenzel, K., N., 1997.Sunset National Garden Book, by the Editors of Sunset Book and Sunset Magazine.
- Briggs, B., A., McCulloch, S., M. ve Caton, L., A., 1994. *In vitro* propagation of *Rhododendron*, Acta Horticulturae, 364, 21-26.

- Browicz, K., 1982. Chorology of trees and shrubs in South-West Asia and adjacent regions. Vol. 1. Polish Scientific Publishers, Warszawa-Poznan, 172.
- Chalupa, V., 1987. European Hardwoods, Cell and Tissue Culture in Forestry, 3, The Netherlands.
- Clarke, J, H., 1982. Getting started with *Rhododendrons* and Azaleas, Timber Press.
- Coombes, A., 1998. The Gardeners' Guide to Shrubs, Mitchell Beazley.
- Cronquist, A., 1982. An Integrated System of Classification of Flowering Plants, Colombia University Press.
- Cüce M. ve Sökmen A., 2015. Micropropagation of *Vaccinium myrtillus* L. (Bilberry) naturally growing in the Turkish flora, Turkish Journal of Biology, 39, 233-240.
- Cüce, M. 2016. *Vaccinium myrtillus* L.ve *Vaccinium uliginosum* L. (Ericaceae) Türlerinin Mikroçoğaltımı, Doktora Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Cüce, M., Bektas, E. ve Sökmen, A., 2013. Micropropagation of *Vaccinium arctostaphylos* L. via lateral-bud culture, Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37, 40-44.
- Davidian, H., H., 1989. The *Rhododendron* Species, 2, Timber Press.
- Davis, P., H., 1982. Flora of Turkey and the East Aegean Island, 7, Univ. Press, Edinburg, 534-688.
- Díaz, M., S., S. ve Álvarez, C., C., 2009. Plant regeneration through direct shoot formation from leaf cultures and from protocorm-like bodies derived from callus of *Encyclia mariae* (Orchidaceae), a threatened Mexican orchid, In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 45,162-170.
- Doğu, A., F., Çiçek, İ., Gürgen, G. ve Tunçel, H., 1996, Kaçkar Dağları'nda *Rhododendron caucasicum*'un (Kafkas Ormangülü) Alpin Kattaki Dağılışı, Türkiye Coğrafyası Araştırma ve Uygulama Merkezi III. Coğrafya Sempozyumu, 21. Yüzyıla Doğru Türkiye, Nisan, Ankara, Bildiriler Kitabı: 88.
- Douglas, G., C., 1984. Propagation of eight cultivars of *Rhododendron in vitro* using agar-solidified and liquid media and direct rooting of shoots *in vivo*. Sci. Hort., 24, 337-347.
- Economou, A., S., Read, P., E. ve Spanoudaki, M., J., 1998. Azalea regeneration from callus culture. Acta Hort., 226, 209-216.
- Fellman, C., D., Read, P., E. ve Hosier, M., A., 1987. Effects of thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation, HortScience, 22, 1197-1200.
- Galle, F., C., 1987. Azaleas, Timber Press.

- Gaspar, T., Kevers, C., Penei, C., Greppin, H., Reid, D., M. ve Thorpe, T., A., 1996. Plant Hormones and Plant Growth Regulators in Plant Tissue Culture, In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 32, 272-289.
- Gelderen, D., M. ve Smith Hoey, J., R., P., 1992. *Rhododendron* Portraits, Timber Press.
- Genaust, H., 1976. Etymologisches Wörterbuch der botanisches Pflanzennamen. Basel, Stuttgart.
- 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.
- Gübbük, H. ve Pekmezci, M., 2004. *In vitro* propagation of some new banana types (*Musa spp*), Turkish Journal of Agriculture and Forestry , 28, 355-361.
- Gülen, İ., 1965. Ormangülllerinin (*R. ponticum*) Kimyevi Metodla Kontrolü Konusunda İngiltere’de Yapılan Çalışmaların Ekonomik ve Teknik Esasları, İ.Ü. Orman Fak. Dergisi Seri B, 15, 1, 55-62.
- Güner, A. ve Duman, H., 1998, A Floristic Excursion to Artvin and Camili”, The Karaca Arboretum Magazine IV, 2,55-84.
- Haberer, G. ve Kieber, J., J., 2002. Cytokinins: New Insights into a Classic Phytohormone, Plant Physiology, 128, 354-362.
- Hartman, H.T. ve Kester, D.E., 1974. Bahçe Bitkileri Yetiştirme Tekniğı, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fak. Yayınları, 79.
- Iapichino, G. ve Chen T., H., H., 1995. Genotypic effects on plant regeneration from leaf segments of *Rhododendron*, Advances in Horticultural Science, 9, 170-172.
- Kaya, Z., 1988. Doku Kùltürünün Orman Ağaçları Islah Çalışmalarındaki Yeri, Orman Müh. Dergisi, 25, 5, 12-19.
- Küçük. M. ve Topçu, M., 1993. Karadeniz Ormangülleri ve Ekonomik Önemleri, Yunus. İlim, Kùltür, Sanat ve Çevre Dergisi, 4, 22-25.
- Lin, Y., H., Chang, C. ve Chang, W., C., 2000. Plant regeneration from callus culture of a *Paphiopedilum* hybrid, Plant Cell Tissue and Organ Culture, 62, 21-25.
- Mansuroğlu, S. ve Gürel, E., 2001. Mikroçoğaltım, In: Babaoğlu, M., Gürel, E. ve Özcan, S. (eds.), Bitki Biyoteknolojisi I - Doku Kùltürü ve Uygulamaları., Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya, 262-281.

- Mao, A., A., Kaliamoorthy, S., Ranyaphi, R., A., Das, J., Gupta, S., Athili, J., Yummam Y., J. ve Chanu, L. I. 2011. *In vitro* micropropagation of three rare, endangered, and endemic *Rhododendron* species of Northeast India, In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 47, 6, 674-681.
- MEGEP, 2013. *Rhododendron* Yetiştiriciliği, Ankara, 3-14.
- Meiners, J., Schwab, M., ve Szankowski, I., 2007. Efficient *in vitro* regeneration systems for *Vaccinium* species, Plant Cell Tiss Organ Cult., 89, 169-176.
- Mertens, M., Werbrouck, S., Samyn, G., Silva, H. ve Debergh, P., 1996. *In vitro* regeneration of evergreen azalea from leaves, Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 45, 231-236.
- Milne, R., I.ve Abbott, J., R., 2000, Origin and evolution of invasive naturalized material of *Rhododendron ponticum* L., In the British isles Molecular Ecology 9, 5, 541-556.
- Mok, M., C., Mok, D., W., S., Turner, J., E. ve Mujer, C.,V., 1987. Biotechnological and biochemical effects of cytokinin-like phenyl urea derivative in tissue culture systems, HortScience, 22, 6, 1194-1197.
- Murashige, T. ve Skoog, F., 1962. A revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures, Physiol. Plant., 15, 473-497.
- Norton, C., R. ve Norton, M., E., 1989. *Rhododendrons*. In: Bajaj Y. P. S. (ed) Agriculture and Forestry 5, Trees II. Springer, Berlin, 428-451.
- Ostrolucká, M., G., Libiaková, G. ve Ondrušková, A., 2004. *In vitro* propagation of *Vaccinium* species, Acta Universitatis Latviensis, Biology, 676, 207-212.
- Peterken, G., F., 2001. Ecological effects of introduced tree species in Bratian, Forest Ecology and Management ,141, 31-42.
- Preece, J., E. ve Sutter, E., G., 1991. Acclimatization of micropropogated plants to the green house and field. In: Debergh, P. C. and Zimmerman, R. H. (eds.), Micropropagation Technology and Application, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 71-95.
- Pulatkan, M., 2001. Ormagülü Taksonlarının Peyzaj Mimarlığında Değerlendirilmesi ve *Rhododendron luteum* Sweet'in Değişik Kültür Ortamlarında Yetiştirilmesi Üzerine Araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, K.T.Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Rahimi, S., Naderi, R., Ghaemaghani, S., A., Kalatejari, S. ve Farham, B., 2013. Study on effects of different Plant Growth Regulators types in shoot regeneration and node formation of Sutsuki Azalea (*Rhododendron indicum*): a commercially important bonsai, Procedia Engineering, 59, 240-246.
- Reiley, E., H., 1995. Success with *Rhododendrons* and Azaleas, Timber press.

- Rotherham, I., D. 1983. The Ecology of *Rhododendron ponticum* (L.) with Special Reference to its Competitive and Invasive Capabilities . Ph.D. thesis University of Scheffiel, Scheffiel, UK.
- Singh, K., K. ve Gurung, B., 2009. *In vitro* propagation of *R. maddenii* Hook. f. an endangered *Rhododendron* species of Sikkim Himalaya, Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj., 37, 79-83.
- Skoog, F. ve Miller, C., O., 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*, Symposia of the Society for Experimental Biology, 11, 118-130.
- Srivastava, P., S. ve Steinbaver, A., 1981. Regeneration Of Birch Plants Catkin Tissue Cultures, Plant Science Letters, 22.
- Stevens, P. F., 1978. *Rhododendron* L., Flora of Turkey and the East Aegean Islands (Ed. P.H. Davis), Edinburgh, 6, 91-94.
- Taşkın, O., 1987. Ormangülü (*Rhododendron ponticum* L.) Odunun Bazı Kimyasal Ve Morfolojik Özellikleri İle Bu Odundan Yaş Metoduyla Lif Levha Yapılması Üzerine Araştırmalar, Ormancılık Araştırma Enstitüsü, Teknik Bülten Serisi 181, Ankara.
- Thomas, J., C. ve Katterman, P., R., 1986. Cytokinin activity induced by thidiazuron, Plant Physiol., 18, 681-683.
- Thomson, A. G., Radford, G., L., Norris, D., A. ve Good, J., E., G., 1993. Factors Affecting the Distribution and spread of *Rhododendron* in North Wales, Journal of Environmental Management, 39(3), 199-212.
- Tomsone, S., Gertner, D. ve Novikova, D., 2004. The influence of thidiazuron on shoot regeneration and proliferation of *Rhododendron in vitro*, Acta Universitatis Latviensis Biology, 676, 239-242.
- URL-1, www.1organik.com/deli-bal-ve-mor-cicekli-orman-gulu.html. 25 Mart 2016.
- URL-2, www.agaclar.net/forum/marmara-bolgesi/5369.htm. 20 Şubat 2016.
- URL-3, www.asianflora.com/Ericaceae/Rhododendron-smirnowi.htm. 14 Mart 2016.
- URL-4, www.rhododendron.dk/ungernii.html. 10 Mart 2016.
- URL-5, www.rogerstreesandshrubs.com/gallery/DisplayBlock~bid~917~gid~source. 20 Mart 2016.
- URL-6, www.azbitki.com/Rhododendron. 18 Mart 2016.
- URL-7, www.rizegazete.com/haber.php?haber_id=6801. 20 Mart 2016.

- 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.
- Vejsadova, H., 2008. Growth Regulator effect on *in vitro* regeneration of *Rhododendron* cultivars. Horth. Sci. (PRAGUE), 35, 90-94.
- Vidalie, H., 1986. *In Vitro* Culture and Its Applications In Horticulture, Economic Botany, 51, 1, 92-93.
- Werbrouck, S., P., O. ve Debergh, P., C., 1994. Applied aspects of plant regeneration (micropropagation). In: Dixon, R.A and Gonzales, R.A. (eds.) Plant Cell Culture - A Pratical Approach. 127-135, Oxford University Press, New York.
- Wright, M., 1984. Garden Plants The Complete Handbook Of Garden Plants, Michael Joseph LTD, London.
- Youmbi, E., Ella, B. ve Tomekpe, K., 2006. Effect of thidiazuron on *in vitro* proliferation capacities of some banana (*Musa spp.*) cultivars with weak multiplication potential, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 19, 2, 255-259.

ÖZGEÇMİŞ

1988 Yılında Trabzon Merkezde doğdu. İlköğretimine Cudibey İlköğretim Okulunda başladı ve Cumhuriyet İlköğretim okulunda tamamladı. Orta öğretimini Trabzon Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesinde tamamladı. 2012 yılında Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü'nde Yüksek Lisans eğitime başladı. 2015 yılında Trabzon Büyükşehir Belediyesi'nde Biyolog olarak iş hayatına başladı ve halen devam etmektedir. Evli ve Orta derecede İngilizce bilmektedir.

