

T.C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL GENETİK MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BAZI *VACCINIUM* TÜRLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTILMASI
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

HASİBE YILDIZ

Mart 2016

T. C.
NİĞDE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TARIMSAL GENETİK MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BAZI *VACCINUM* TÜRLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTILMASI
ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

HASİBE YILDIZ

Yüksek Lisans Tezi

Danışman
Prof. Dr. Sedat SERÇE

Mart 2016

EK-C.1 Onay Sayfası Örneği

Hasibe YILDIZ tarafından **Prof.Dr. Sedat SERÇE'nin** danışmanlığında hazırlanan
“**Bazı *Vaccinium* Türlerinin Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar**”
adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Tarımsal
Genetik Mühendisliği** Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Sedat SERÇE, Niğde Üniversitesi



Üye : Prof.Dr. Yıldız Aka KAÇAR, Çukurova Üniversitesi



Üye : Yrd.Doç.Dr. Allah BAKHSH, Niğde Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri
üyeleri tarafından/....../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim
Kurulu'nun/....../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Hasibe YILDIZ

ÖZET

BAZI *VACCINIUM* TÜRLERİNİN DOKU KÜLTÜRÜ İLE ÇOĞALTILMASI ÜZERİNE ARAŞTIRMALAR

YILDIZ, Hasibe

Niğde Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Tarımsal Genetik Mühendisliği

Danışman: Prof. Dr.Sedat SERÇE

Mart 2016, 82 sayfa

Dünya maviyemiş yetiştiriciliği son 20 yılda hızla artmaktadır. Kültür çeşitleri *Vaccinium corymbosum* L. (Yüksek boylu maviyemiş), *V. ashei* Reade (Tavşangözü maviyemiş); *V. angustifolium* Ait. (Alçak boylu maviyemiş) türlerinden ıslah edilmiştir. Önemli bir yetiştiricilik potansiyeline sahip olan Ülkemizde maviyemiş yetiştiriciliği henüz önemli düeye ulaşmamıştır. Bununla birlikte, özellikle Karadeniz Bölgesinde *V. arctostaphylos* L., *V. myrtillus* L. ve *V. uliginosum* L. türleri bulunmaktadır. Bu çalışmada Ülkemiz florasında bulunan *Vaccinium* türlerinin ve yedi adet maviyemiş çeşidinin doku kültürü ile çoğaltılma olanakları araştırılmıştır. Mikroçoğaltım ortamı olarak odunsu bitki ortamı (Woody Plant medium (WPM)) ve Benziladenin (BA), Zeatin ve 6-y-(Dimethylallylamino)-purine (2-IP) hormon uygulamaları kullanılırken; köklendirme ortamı olarak WPM ve Naftalen asetik asit (NAA) ve İndolbütirik asit (IBA) kullanılmıştır. Çalışma sonucunda tüm yabancı örnek ve çeşitler doku kültürü ile başarılı bir şekilde çoğaltılmıştır. En başarılı mikroçoğaltım ve köklendirme ortamı kullanılan örneğe göre değişiklik göstermiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar, Ülkemiz florasında ki *Vaccinium* türlerinin yetiştiricilik ve yeni çeşit geliştirme kullanımlarına katkı sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Maviyemiş, doku kültürü, mikroçoğaltma, çeşit

SUMMARY

INVESTIGATION OF TISSUE CULTURE PROPAGATION TECHNIQUES OF SOME *VACCINIUM* SPECIES

YILDIZ, Hasibe

Nigde University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Agricultural Genetic Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Sedat SERÇE

March 2016, 82 pages

The World blueberry production has been increased for last 20 years. The blueberry cultivars were derived from *Vaccinium corymbosum* L. (highbush blueberry), *V. ashei* Reade (rabbiteye blueberry); *V. angustifolium* Ait. (lowbush blueberry). In this study, the possibility of the tissue culturing of *Vaccinium* species found in Turkish flora as well as seven blueberry cultivars were investigated. For the micro propagation Woody plant medium (WPM) and one of the hormones of benzyladenine (BA), Zeatin ve 6-y-y(Dimethylallylamino)-purine (2-IP), were used while WPM and Naphthalene acetic acid (NAA) and Indole Butyric Acid (IBA) treatments were used as rooting media. All wild samples and cultivars were successfully propagated at the end of study. The most successful culturing and rooting media types varied for different samples used. The results obtained will help utilize the *Vaccinium* species present in Turkish media as crop and genetic resources.

Keywords: Blueberry, tissue culture, micropropagation, variety

ÖNSÖZ

Yükseköğrenimim sırasında ve bu tezin konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Sedat SERÇE'ye, kültür çeşitlerinin teminde yardımlarından dolayı Prof. Dr. Mehmet Emin ÇALIŞKAN' a, Ziraat Mühendisi Mert Murat BOZDAĞ' a, Yüksek Biyolog Cihan Düşgün'e ve her zaman benim yanımda olan kardeşim Zeliha TOPTAŞ'a; doğduğum günden bugüne hayatımda karşılaştığım tüm zorluklarda yanımda olan, maddi ve manevi desteğini benden esirgemeyen hayattaki en büyük hazinelerim olan annem Fadime YILDIZ ve babam Durmuş YILDIZ'a, sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmaya FEB2014/22 numaralı proje ile finansal destek sağlayan Niğde Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve çalışanlarına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
1.1 Maviyemişin Sistematikte Yeri ve Tarihçesi	1
1.1.1 Sistematikteki yeri	1
1.1.2 Tarihçesi	2
1.2 Maviyemişin Dünya ve Türkiye’ deki Üretimi	3
1.2.1 Maviyemişin Dünya’ daki üretimi	3
1.2.2 Maviyemişin Türkiye’ deki üretimi	5
1.3 Maviyemişin Çoğaltılması	6
1.4.1 Doku kültürleriyle çoğaltma	8
1.4.2 Doku kültürü ile çoğaltmanın önemi	8
1.4.3 Maviyemişte doku kültürü uygulamanın avantajları:	8
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	10
BÖLÜM III MATERYAL VE METOD	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Besin ortamı	20
3.1.1 Besin Ortamı ve Hormonların Hazırlanması	21
3.1.4.1 Besin ortamlarının hazırlanması	21
3.1.4.2 Hormonların hazırlanışı	25
3.2 Metod	28
3.2.1 Tohumların <i>in vitro</i> koşullarda çimlendirilmesi	28
3.2.1.1 Tohum sterilizasyonu	28
3.2.1.2 Çimlendirme denemelerinin kurulması	29

3.2.1.2.1 <i>Vaccinium</i> örneklerinin tohumlarının çimlendirilmesi.....	29
3.2.1.2.2 <i>Vaccinium</i> örneklerinin tohumlarının farklı besi ortamlarında çimlendirilmesi.....	30
3.2.2 Tomurcukların <i>in vitro</i> Koşullarda Kültüre Alınması	30
3.2.2.1 Tomurcukların Sterilizasyonu	31
3.2.2.2 Tomurcukların Kültüre Alınması	31
3.2.3. Mikroçoğaltım Denemesinin Kurulması	31
3.2.4 Bitkiciklerin Köklendirilmesi	33
3.2.5 Bitkilerin Dış Koşullara Aktarılması	34
3.2.6 İstatistiksel Analizler	34
BÖLÜM IV BULGULAR	35
4.1 Çimlendirme Denemeleri.....	35
4.1.1 Yabani <i>Vaccinium</i> tohumlarının çimlendirilmesi	35
4.1.2 Yabani <i>Vaccinium</i> tohumlarının farklı besi ortamlarında çimlendirilmesi	35
4.2 Mikroçoğaltım (Alt Kültür)	36
4.3. Köklenme.....	52
4.4 Bitkilerin Dış Koşullara Aktarılması	74
BÖLÜM V TARTIŞMA.....	75
KAYNAKLAR	77
ÖZGEÇMİŞ	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Dünya’da toplam maviyemiş üretim alanı (ha)	4
Çizelge 3.1. WP besin ortamının içeriği	20
Çizelge 3.2. WP besin ortamına ilave edilecek stok vitamin içeriği	21
Çizelge 3.3. Denemenin kurulması şeması	29
Çizelge 3.4. Mikroçoğaltım denemesinde kullanılacak olan sitokinin çeşidi ve konsantrasyonları	32
Çizelge 3.5. Köklendirme denemesinde kullanılacak olan oksin çeşidi ve konsantrasyonları	33
Çizelge 4.1. Farklı sıcaklıklarda çimlendirilen yabani <i>Vaccinium</i> örneklerinde 15 hafta sonunda çimlenen bitki sayısı	35
Çizelge 4.2. Farklı sıcaklıklarda çimlendirilen yabani <i>Vaccinium</i> örneklerinde 15 hafta sonunda çimlenen bitki sayısı	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya maviyemiş üretiminde ilk beşte yer alan ülkeler (FAO, 2014).....	4
Şekil 1.2. ABD’de yetiştiriciliğin başlaması ve dünyaya yayılımı 1920-1985	5
Şekil 1.3. Dünya’da yetiştiriciliğin yayılması (1985 ve sonrası).....	5
Şekil 1.4. Ülkemizde bulunan yabancı <i>Vaccinium</i> türleri	7
Şekil 3.1. A, B, C, D kodlu <i>Vaccinium</i> örneklerinden tohumları	28
Şekil 3.2. <i>Vaccinium</i> tohumlarının sterilizasyonu	29
Şekil 3.3. <i>Vaccinium</i> örneklerinde çimlendirme denemesinde görüntü	30
Şekil 3.4. Steril kabinde bitkilerin aktarılması.....	32
Şekil 4.1. ‘Hannah’s Choice’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.....	39
Şekil 4.2. ‘Chanticler’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri	40
Şekil 4.3. ‘Bonus’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.....	41
Şekil 4.4. ‘Brigitta’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri	45
Şekil 4.5. ‘Berkeley’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri	43
Şekil 4.6. ‘Aurora’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.....	44
Şekil 4.7. ‘Toro’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasında ki etkileri.	45
Şekil 4.8. <i>V. arctostaphylos</i> L.-1 örneklerrinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.....	46
Şekil 4.9. <i>V. arctostaphylos</i> L.-2 örneklerinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.....	47
Şekil 4.10. <i>V. myrtillus</i> L. örneklerinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.....	48
Şekil 4.11. <i>V. uliginosum</i> L. örneklerinde çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri	49

Şekil 4.12. <i>V. arctostaplylos</i> L.-2 ve <i>V. uliginosum</i> L. örneklerinin mikroçoğaltımda köklenme görüntüleri	50
Şekil 4.13. ‘Hannah's Choice’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	51
Şekil 4.14. ‘Hannah's Choice’ çeşidinde NAA konsantrasyonları	52
Şekil 4.15. ‘Brigitta’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	53
Şekil 4.16. ‘Brigitta’ çeşidinde NAA konsantrasyonları	54
Şekil 4.17. ‘Bonus’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	55
Şekil 4.18. ‘Bonus’ çeşidinde NAA konsantrasyonları	56
Şekil 4.19. ‘Berkeley’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	57
Şekil 4.20. ‘Berkeley’ çeşidinde NAA konsantrasyonları	58
Şekil 4.21. ‘Chanticler’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	59
Şekil 4.22. ‘Chanticler’ çeşidinde NAA konsantrasyonları	60
Şekil 4.23. ‘Aurora’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	61
Şekil 4.24. ‘Aurora’ çeşidinde NAA konsantrasyonları	62
Şekil 4.25. ‘Toro’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	63
Şekil 4.26. ‘Toro’ çeşidinde IBA konsantrasyonları	64
Şekil 4.27. <i>V. arctostaplylos</i> L.-1 örneğinde IBA konsantrasyonları	65
Şekil 4.28. <i>V. arctostaplylos</i> L.-1 örneğinde NAA konsantrasyonlar	66
Şekil 4.29. <i>V. arctostaplylos</i> L.-2 örneğinde IBA konsantrasyonları	67
Şekil 4.30. <i>V. arctostaplylos</i> L.-2 örneğinde NAA konsantrasyonları	68
Şekil 4.31. <i>V. myrtillus</i> L. örneğinde IBA konsantrasyonları	69
Şekil 4.32. <i>V. myrtillus</i> L. örneğinde NAA konsantrasyonları	70
Şekil 4.33. <i>V. uliginosum</i> L. örneğinde IBA konsantrasyonları	71
Şekil 4.34. <i>V. uliginosum</i> L. örneğinde NAA konsantrasyonları	72
Şekil 4.35. Bitkilerin viyollerdeki görünümü	73

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
2-IP	DiMetilAllilaminoPurin
BA	Benzil adenin
EtOH	Etanol
g	Gram
HCl	Hidrojen klorür
IBA	İndol bütirik asit
L	Litre
MS	Murashige and Skoog
NAA	Naphthalene Asetic acid
NaOH	Sodyum hidroksit
ng	Nanogram
WPM	Woody Plant Medium
α	Alfa
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikromolar
2,4-D	2,4-dichlorop henoxycetic acid
TDZ	Thidiazuron

BÖLÜM I

GİRİŞ

Kültürü yapılan üç maviyemiş türü vardır: *Vaccinium corymbosum* L. (Yüksek boylu maviyemiş), *Vaccinium ashei* Reade (Tavşangözü maviyemiş); *Vaccinium angustifolium* Ait. (Alçak boylu maviyemiş) (Ratemeles ve Hancock, 2011). Her üç türün de anavatanı Amerika kıtasıdır. Maviyemiş ılıman iklim kuşağına adapte olmuş bir meyve türü olup, botanik olarak gerçek üzümler grubunda yer almaktadır. Kültüre alınıp tarımı yapılmakta olan maviyemişler temel olarak asit ve organik maddece zengin topraklarda daha iyi yetişmektedir. Maviyemiş bitkisi çalı formunda ve çok yıllık olup kışın yaprağını döker. Ekonomik ömrü 35-40 yıl arasında değişmektedir. Meyveleri üzüksü meyve olup çok farklı şekillerde değerlendirilebilmektedir. Gıda, kozmetik ve ilaç sanayinde kullanım alanına sahiptir. Maviyemiş çekirdeklerinin küçük olması, uzun ömürlü bir bitki olması, dikim ve bakımının kolay olması maviyemiş meyveleri ve bitkisini piyasa da aranır hale getirmektedir.

1906 yılında Amerika’da başlayan maviyemiş yetiştiriciliği günümüzde birçok çeşitle sürdürülmektedir. *Vaccinium* cinsi içine giren birçok tür Karadeniz Bölgesi başta olmak üzere Marmara ve Doğu Anadolu Bölgesinin bazı yerlerinde doğal olarak yayılım göstermektedir. Yerel halk tarafından toplanıp tüketilen ve çok farklı isimlerle tanınan yabani *Vaccinium* türlerinin kültüre alınmış çeşitleri yoktur (Çelik, 2012).

1.1 Maviyemişin Sistematikte Yeri ve Tarihçesi

1.1.1 Sistematikteki yeri

Vaccinium türlerinin istematikteki yerleri aşağıdaki gibidir.

Alem: Bitkiler alemi

Bölüm: Magnoliophyta

Takım: Ericales

Familya: Ericaceae

Alt Familya: *Vacciniaceae*

Cins: *Vaccinium*

Alt cins: *Cyanococcus* (Maviyemişler)

Vaccinium corymbosum L. (Yüksek boylu maviyemiş)

Vaccinium ashei Reade (Tavşangözü maviyemiş)

Vaccinium angustifolium Ait. (Alçak boylu maviyemiş)

1.1.2 Tarihçesi

Yüksek boylu maviyemişler bu türler arasından dünyada ekonomik olarak kültürü ve ticareti yapılan tür olarak bilinmektedir. Yüksek boylu maviyemişler çalı formu olup, bu maviyemiş türüne ait çeşitler 1906 yılından itibaren Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) başlatılan seleksiyon ve melezleme çalışmalarının sonucu ortaya çıkmıştır (Gough, 1994 ve 1996; Strick vd., 1993; NeSmith, 1999).

Maviyemişler sağlık açısından çok önemli olup, birim alandan ekonomik getirisi oldukça yüksek meyvelerdir. Maviyemiş antioksidan içeriği en yüksek kültür meyvelerinden biridir. Gece körlüğü, gözlerde kamaşma ve diğer tüm görme bozukluklarına karşı etkili olup, kan şekeri ve kolesterolü düşürme özelliğine sahiptir. Yaprak ve meyve çayları idrar yolu enfeksiyonlarında antibiyotik özellik gösterir. Maviyemişler damar sertliğini azaltarak damar tıkanıklığını önleyebilmekte ve kalp krizi riskini en aza indirebilmektedir. Maviyemişlerin kalori miktarı azdır. Maviyemişler sodyum içermezken A vitamini, C vitamini, potasyum, kalsiyum ve fosfor bakımından zengindir. Yaşlanmayı yavaşlatan maviyemişler yaşlılık ile ortaya çıkan geçici hafıza kayıplarının da önüne geçebilmektedir (Dressler, 2006).

Vaccinium cinsine ait çok sayıda meyve türü bulunmakla beraber bunlardan yetiştiriciliği en yaygın yapılan türler maviyemiş ve turna yemişidir (Hancock vd., 2008; Trehane, 2004). Amerika orijinli olan kültür maviyemiş türleri asidik topraklarda yetiştirilmektedir (Hanson vd., 2002). Yetiştiricilik genelde yükseltilmiş seddeler üzerinde damla sulama yöntemi kullanılarak yapılmakta; erkenci yetiştirildiğin ya da yüksek meyve kalitesinin amaçlandığı yetiştiricilik şekillerinde plastik örtü de kullanılmaktadır (Hancock ve Draper, 1989; Strick, 2005). Diğer bir çok meyve türünde olduğu gibi verim ve kalite özellikleri yetiştiricilik yapılan çevreden önemli düzeyde etkilenebilir (Finn vd., 2003). Muhafaza ve raf ömrü her ne kadar çeşit, olgunluk, muhafaza koşulları gibi faktörlerden etkilense de (Hancock vd., 2008), üzüm meyve

türleri arasında en uzun süre muhafaza edilebilen tür olması, dünyadaki maviyemiş patlamasının önemli sebeplerinden biridir.

Yüksek boylu maviyemişlerin yayılım tarihi:

- Kuzey Amerika’da yetiştiriciliğinin başlaması (1908-1920),
- Kuzey Amerika’da yaygınlaşması ve Dünya’ya ilk dağılımı (1920-1985),
Hollanda, Almanya, Polonya, Yeni Zelanda, Avusturalya,
- Dünya da yetiştiriciliğin yayılması (1985 ve sonrası)

1985’den sonra Florida Maviyemiş Islah Programının başarılı çalışmaları ile düşük soğuklama ihtiyacına sahip çeşitler ıslah edilmiş ve yeni yetiştirme teknikleri geliştirilmiştir. Bu gelişmelerle birlikte Şili, Arjantin, İspanya, Güney Afrika, Çin gibi birçok ülkede maviyemiş yetiştiriciliği yaygınlaşmaya başlamıştır. Maviyemişin sağlık açısından önemi, soğuklama ihtiyacı daha düşük çeşitlerin ıslahı ve yeni yetiştirme tekniklerinin geliştirilmesi dünyada maviyemiş talebini ve üretimini arttırmaktadır.

1.2 Maviyemişin Dünya ve Türkiye’ deki Üretimi

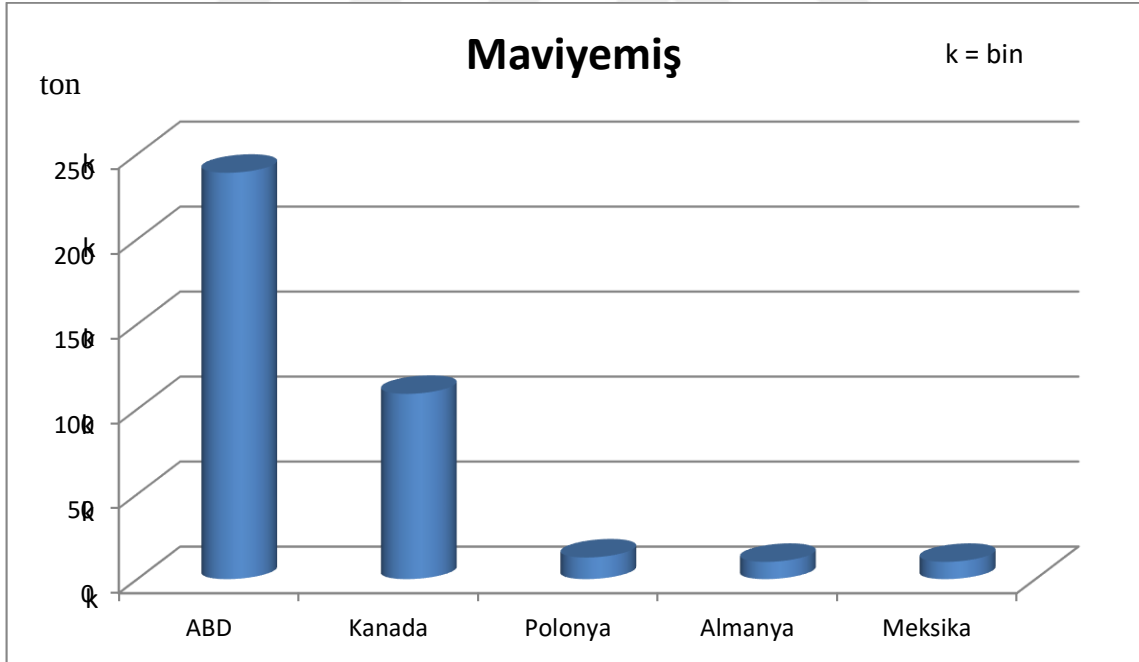
1.2.1 Maviyemişin Dünya’ daki üretimi

Maviyemişin dünya üretimi 420,379.00 ton’dur. Bu üretimde %85,7’lük (306,078.00 ton) üretim ile Amerika ilk sırada yer almaktadır. Avrupa %13,4’ lik (56,411.00 ton) üretim ile ikinci sırada yer alırken bunları sırasıyla %0,6’ lik (2,718.00 ton) ile Okyanusya, %0.3’lik (1,100.00 ton) üretim ile Asya ve 72.00 ton’ luk (%0) üretim ile Afrika izlemektedir (FAO, 2014).

Çizelge 1.1. Dünya’da toplam maviyemiş üretim alanı (ha).

Üreticiler	2005	2010	2012
ABD	21,000	27,844	31,080
Şili	4,400	12,000	14,800
Kanada	5,200	8,400	10,200
Diğerleri	9,216	22,378	29,788
Toplam	39,816	70,622	85,868

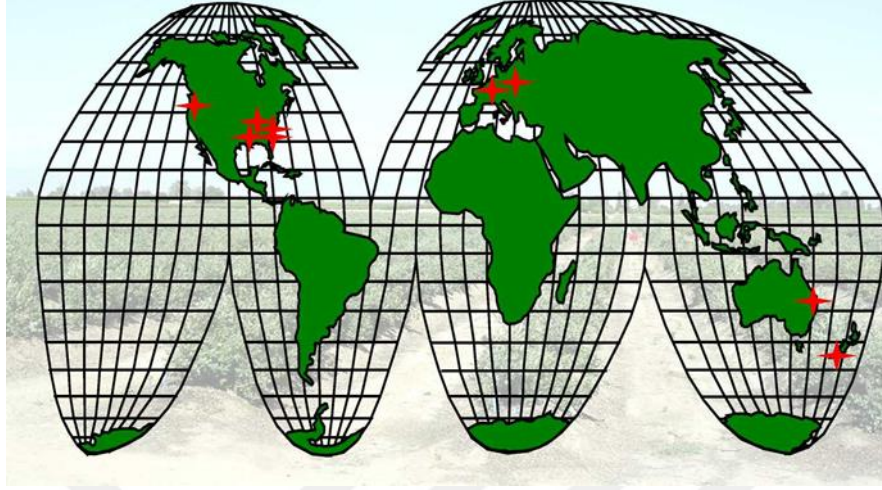
Dünya da maviyemiş üretiminde önde gelen 5 ülke ve üretim miktarları sırasıyla ABD 239,071.00 ton, Kanada 109,007.00 ton, Polonya 12,731.00 ton, Almanya 10,160.00 ton ve Meksika 10,160.00 tondur (FAO, 2014).



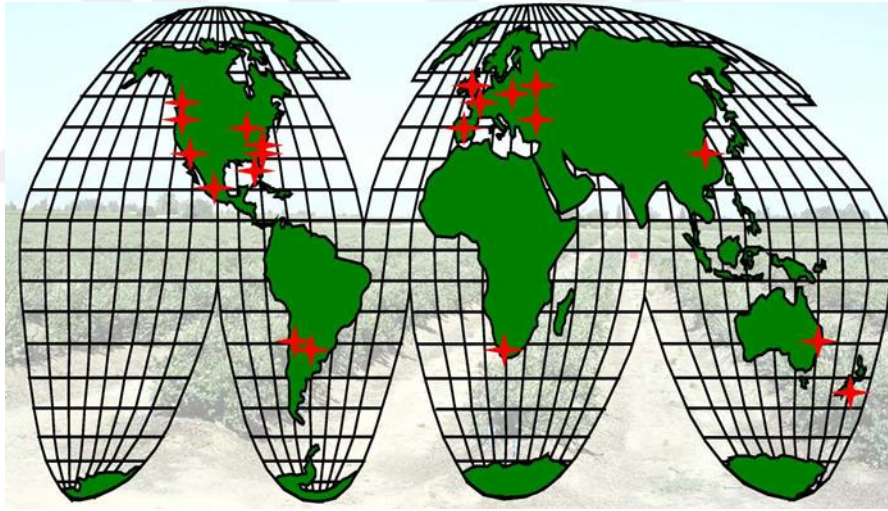
Şekil 1.1. Dünya maviyemiş üretiminde ilk beşte yer alan ülkeler (FAO, 2014).

Maviyemiş ticaretinin dünya da giderek önemi artmaktadır (Şekil 2 ve 3). ABD maviyemiş yetiştiriciliğinde ilk sırayı almasına rağmen dış satımda üçüncü sırada yer almaktadır. Dış satımda ilk sırada Kanada gelmektedir. Maviyemiş ihracatında ikinci

sırada yer alan Şili'nin ihracatı ise daha çok Avrupa ve uzak doğu ülkeleridir. ABD iç tüketimi çok fazladır (Retamales ve Hancock, 2011).



Şekil 1.2 ABD’de yetiştiriciliğin başlaması ve Dünya’ya yayılımı 1920-1985.



Şekil 1.3 Dünya’da yetiştiriciliğin yayılması (1985 ve sonrası).

1.2.2 Maviyemişin Türkiye’ deki üretimi

Ülkemize 2000’li yıllarda giren mavi altın olarak adlandırılan maviyemişin en iyi yetiştiği bölge Karadeniz bölgesidir. Bunun temel nedeni ise toprak pH sınırı 4,5 civarında olmasıdır. Kükürt ve çeşitli asit düzenleyiciler ile pH yetiştiricilik esnasında kontrol altında tutulabilir. Bu da dünya ya paralel olarak ülkemizde de maviyemiş yetiştiriciliğini arttırarak ülke ekonomisine önemli katkı sağlar.

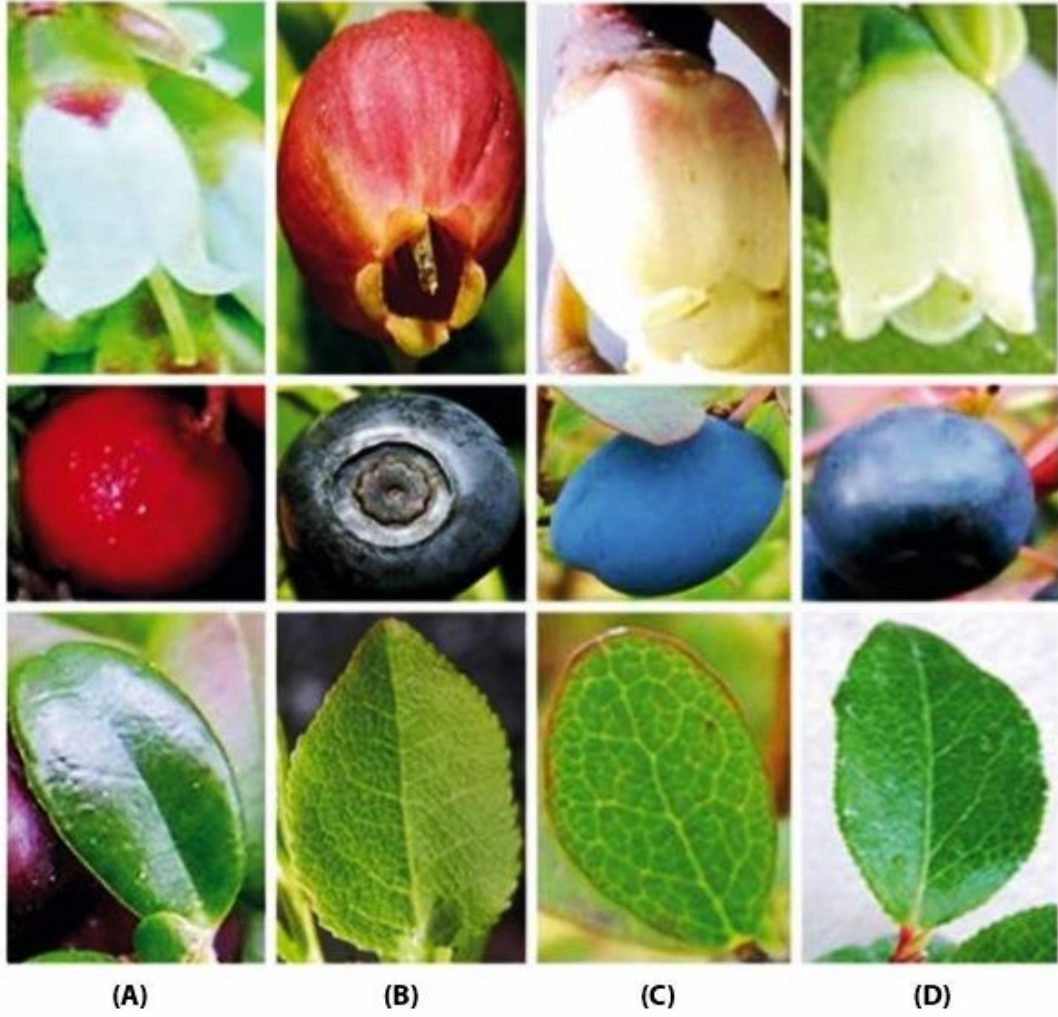
Ülkemizde maviyemiş üretim alanı ve üretim miktarına ait bilgiler sadece 2013 ve 2014 yıllarına aittir. 2013 yılında 485 dekar (da) maviyemiş üretim alanında, 170 ton maviyemiş üretilmiştir. 2014 yılında ise, 525 dekar (da) maviyemiş üretim alanında, 180 ton maviyemiş üretilmiştir (TÜİK, 2014).

1.3 Maviyemişin Çoğaltılması

Türkiye’de Karadeniz Bölgesindeki ormanlık ve yayla alanlarında 4 farklı *Vaccinium* türü doğal olarak yayılım göstermekte olup ilgili türlere ait fotoğraflar Şekil 1.4’te sunulmuştur. Ülkemizde en yaygın olarak bulunan *Vaccinium myrtillus* L. olup yaygın olarak çoban üzümü adıyla tanınmasına rağmen yerel olarak “çalı çileği”, “gara gırlık”, “kuş üzümü”, “hencoyik”, “lifora”, yabanmersini”, “yayla liforu”, “yayla likap arası”, “yer likapası”, “yer ligarbası” veya “yer liforu” adlarıyla da tanınmaktadır. Bu tür Artvin, Trabzon, Rize, Ordu, Kastamonu-Ilgaz Dağı, Bursa Uludağ, Erzurum-Şenkaya ve Balıkesir’in yayla alanlarında doğal olarak yetişmektedir.

İkinci olarak en çok yayılım gösteren tür *Vaccinium arctostaphyios* L. olup genelde çay üzümü olarak tanınmasına rağmen “Anadolu otu”, “avcı üzümü”, “mehobalı”, “libade”, “lifar”, “lifor”, “ligarba”, “ligaba”, “likapa”, “dal likapası”, “orman lif om”, “orman likapası”, “orman ligarbası”, “peygamber üzümü”, “Trabzon çayı” veya “ayı üzümü” olarak da adlandırılmaktadır. Bu tür Artvin, Rize, Trabzon, Ordu, Giresun, Kastamonu, Samsun, Sinop, Zonguldak, İstanbul, Bursa, Balıkesir, Kırklareli ve Çanakkale’de yayılım göstermektedir.

Vaccinium uliginosum L. Rize, Trabzon, Giresun-Karagöl, Gümüşhane ve Bursa Uludağ’da yayılım gösterirken diğer tür olan *Vaccinium vitis-idaea* L. Rize Kaçkar dağlarında bulunmaktadır. Kültürü yapılan maviyemişler ise 2000’li yıllarda Türkiye’ye introduksiyonla getirilmiştir.



- (A) *Vaccinium vitis idea* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak
 (B) *Vaccinium myrtillus* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak
 (C) *Vaccinium uliginosum* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak
 (D) *Vaccinium arctostaphylos* L. Çiçek, Meyve ve Yaprak

Şekil 1.4 Ülkemizde bulunan yabani *Vaccinium* türleri (Anonim, 2015).

Maviyemişin çoğaltılması diğer meyve türlerine göre daha zordur. Maviyemişte en uygun çoğaltma yöntemi tür ve çeşitlere göre değişmekle birlikte doku kültürüdür. Doku kültürü ile çoğaltmada da farklı teknikler denenmelidir. Maviyemişin tohumla çoğaltılması zordur çünkü generatif açılım göstermektedir. Bu da tohumla çoğaltımı kısıtlamaktadır. Tohumla çoğaltma sadece ıslah çalışmalarında, yeni çeşit geliştirmede kullanılmaktadır.

Çelikle çoğaltma maviyemişte yaygın olarak kullanılmasına rağmen çok zor ve riskli bir yöntemdir. Maviyemişin Nekrotik Noktalı Halka Virüsü ve Kırmızı Noktalı Halka Virüsüne hassas olması çelikle çoğaltımı sınırlamaktadır.

Aşı ile çoğaltmada karşılaşılan sorun ise *Vaccinium* türleri özellikle maviyemiş çalı formunda bir bitki olup çelik ile çoğalmaktadır. Aşı ile çoğaltma yapıldığında yeni sürgünler ana bitkiyle aynıdır bu da zor ve avantajı olmayan bir yöntemdir.

1.4.1 Doku kültürleriyle çoğaltma

Mikro çoğaltma, *in vitro* çoğaltma ve doku kültürü ile çoğaltma aynı işi ifade etmektedirler. Son yıllarda ticari yetiştiricilikte öteki birçok başka türde olduğu gibi maviyemişte de yaygın olarak kullanılmaktadır. Doku kültürü ile çoğaltılan bu çeşidin yaprakları da çelikle çoğaltılarak elde edilenlere göre üç kat daha hızlı büyüme gösterdiği belirlenmiştir. Doku kültürü ticari olarak maviyemiş çoğaltmanın en uygun yoludur.

1.4.2 Doku kültürü ile çoğaltmanın önemi

Maviyemişin dünyadaki artan yetiştiricilik alanlarının ihtiyacını karşılayabilmek için çok hızlı ve klonal bir çoğaltma gerekmektedir. Bu çoğaltmanın yanında virüs hastalıklarına hassas olan maviyemişin virüsten ari olarak üretilmesi gerekmektedir. Bize bu üretimi sağlayan çoğaltma yöntemi ise doku kültürüdür.

Doku kültürü ile çoğaltımın kullanım alanları olarak bitkilerin klonal olarak hızlı çoğaltılması; geleneksel yöntemlerle kolay çoğaltılmayan bitkilerin çoğaltılması, patojenlerden ari bitki elde edilmesi, ıslah amaçlı çalışmalar, somaklonal varyasyonların oluşturulması; haploid bitkilerin elde edilmesi, bitki gen kaynaklarının muhafazası, biyokimyasal ürünlerin elde edilmesi sıralanabilir (Smith, 2012).

1.4.3 Maviyemişte doku kültürü uygulamanın avantajları:

Ülkemizde, yeni yetiştirme tekniklerinin bulunması ile birlikte maviyemiş üretimi sadece Karadeniz bölgesinde sınırlı kalmayacaktır. Yeni tekniklerle Akdeniz, Ege gibi diğer bölgelerde de maviyemiş üretimi yapılabilecektir. Maviyemişin diğer meyve türlerinde

olduğu gibi tohum, aşđ, elik vb. yöntemlerle çoğaltılması çok zor neredeyse imkânsız olmasđdır.

Çelikle oğaltma maviyemişte çok zor ve riskli bir yöntemdir. *Vaccinium* türleri özellikle maviyemiş çalı formunda bir bitki olup dip sürgünleri ile çoğalmaktadır. Bu nedenle aşđ ile çoğaltma da sorun çıkmakta ve başarısız olmaktadır.



BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

Lyrene (1978) kallus kültürü Murashige-Skoog'un (MS) 2,4-D (2,4-dichlorop henoxycetic acid) asetik asitli ortamında ki tavşangözü maviyemiş ve yüksekboylu maviyemiş gövde kısımları ve anterlerinden kurulmuştur. 0.25-0.50 mg/L 2,4-D konsantrasyonlarında test edilen birçok klon için bol kallus büyümesi oluşmuş, fakat daha yüksek konsantrasyonlarda ise zayıf kallus büyümesi oluşmaktadır. Tetraploid yüksekboylu klonlarında tavşangözü klonlarına göre daha fazla kallus oluşmuş, fakat her bir grupta klonlar arasında varyasyonlar olduğu görülmüştür. Kalluslar alt kültürlendiğinde daha iyi gelişme göstermiş, ama farklılaşmasını sağlayan deneme başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Tavşangözü maviyemiş fidelerinden değiştirilen sürgün ucu kültür yöntemiyle MS ortamı ile 2-IP ve IAA içerisinde 1 ay da her eksplant başına 40 a kadar ikincil sürgünler üretilmektedir. Çoğalmış/büyümüş sürgünler serada sisleme altında torf-perlit ortamında köklendirilebilmiştir.

Frett ve Smagula (1983) alçak boylu maviyemişin daha önce doku kültüründe geliştirilmiş sürgünlerinden mekeze en uzak tomurcukları 0 ile 7.5,15,22.5 veya 30 mg/L 2-IP (2, 6 (1,1-dimetilalil-aminopurin) ve 0,2, 4,6 veya 8 mg/L indolasetik asit (IAA) içeren ortama transfer edilmiştir. Başlangıç tomurcuk eksplant pozisyonu küçük sürgün sayısını çok az etkilemiş ve elde edilen sürgünlerin toplam uzunluğuna etkisi olmamıştır. Artan 2-IP konsantrasyonları ile tüp başına sürgün sayısı ve toplam sürgün uzunluğunu artırmıştır. Artan IAA konsantrasyonlarında sürgün sayıları düşmüş, ama sürgünlerin toplam uzunluğuna etkisi olmamıştır. Sürgünler 8 haftanın ardından kültürden çıkartılmış ve torf, perlit, ve vermikülit içeren ortamda köklendirilmiştir. Çoğaltma ortamında 2-IP'nin azalan ve artan, IAA'nın artan konsantrasyonlarında köklenme yüzdesi artmıştır.

Eccher ve Noe (1989) birkaç yüksekboylu maviyemiş çeşidinin mikroçoğaltımı ile ilgili araştırmalar raporlanmıştır. Bitkilerin çoğaltma aşamalarında zeatin ve 2-IP'nin etkisi karşılaştırılmıştır. Çoğaltma, köklenme ve dış ortama alıştırılması araştırılmıştır. Zeatin, özellikle yüksek dozlarda, 2-IP'de daha az sitotoksik olduğu kanıtlanmıştır. Deneme boyunca zeatin ile 2-IP göre daha fazla sayıda filizlenmiş eksplantlar elde edilmiştir; bu nedenle zeatin bu aşamada 2-IP yerine avantajlı olabilmektedir. Çoğaltma aşamasında

sürgünlerin sayısı ve uzunluğunun, çoğunlukla kullanılan sitokininlerin toplam seviyesine bağlı olduğu görülmüştür, fakat kültürlerin ortam içinde en genel görünüşü hem zeatin ve hem de 2-IP elde edilmiştir. Onları örtü altında iklimlendirme alt tabakası bileşimi etkilerken, *in vitro* köklendirme ortamında sorun bulunmamıştır (Eccher ve Noe, 1989).

Reed ve Esquivel (1991) Yüksek çalı maviyemiş çeşitlerinin saksıda yetişen eksplantları için dört farklı sitokinin uygulaması ve iki yetiştirme ortamı kullanarak yeni sürgünlerin çıkması test edilmiştir. Başlangıç testleri ile 12 farklı genotip 25 °C sıcaklık, düşük ışık yoğunluğunda modifiye edilmiş WPM ile 4 mg/L zeatin ortamında büyüme oranları diğer uygulamalardan önemli ölçüde daha yüksek sürgün gelişimi göstermiştir. Eksplantlar 25 °C'de ışık altında 10 veya 15 mg/L'lik 2-IP ortamlarda orta derecede çıkışlar yapmıştır, fakat 4 °C karanlık ortamda tüm kontrollerde önemli derecede düşük oranlar bulunmuştur. Farklı genotiplerin çıkışlarında zeatinin faydalarının belirlenmesi için 22 tür ve 44 çeşide temsilen Ulusal Klon gen kaynakları veri havuzundan alınan 96 *Vaccinium* genotipinde 25 °C ve düşük ışık yoğunluğu kullanarak gözlem yapılmıştır. Test edilen 96 *Vaccinium* çeşidinin 89'unda %60'tan daha yüksek çıkış oranı elde etmiştir.

Isutsa vd. (1994) protokol doku kültüründen altı ay içerisinde elde edilen mikro sürgünlerin bahçeye şaşırtılmış uygun büyüklükteki maviyemişlerin üretilmesi için üreticiye olanak sağladığını göstermektedir. Protokol yedi hafta boyunca bir sis odası içerisinde $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ foto sentetik foton akısı ile mikro sürgünlerin *in vitro* (yapay otamda), *ex vitro* (dış koşullarda) köklendirmeye tabi tutulmasını içermektedir. Bitkiler sis tüneline transfer edilerek iki hafta boyunca burada ve daha sonrada bir yedi hafta daha serada bekletilmiştir. 'Berkeley' ve 'Northsky' çeşitlerinin köklenmesi ve bitkilerin hayatta kalma oranları bu koşullar altında yaklaşık olarak yüzde yüz (%100) olarak bulunmuştur. Sis odasında $100 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ elde eden bitkicikler hızlıca büyümüşlerdir, bunun aksine düşük ışık yoğunluğunda olanlarda daha yavaş bir büyüme gözlemlenmiştir ve ek karbondioksit (CO₂) büyümeyi sadece $50 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ de arttırmıştır. Bitkiler sis tüneline aktarıldığında büyüme oranı yavaşlamıştır fakat 16 haftanın sonunda sis odasındaki yüksek ışığa maruz kalan bitkilerde ki kök sistemi düşük ışığa maruz kalanlara göre 15-30 kat daha büyük köklere sahip olduğu belirlenmiştir. Altı ay içerisinde bu bitkiler 30-60 cm uzunluğuna ulaşarak arazi dikimine uygun hale gelmişlerdir.

Pospisilova vd. (1999) laboratuvarında yetiştirme ortamı süresi boyunca özel koşullar anormal morfoloji, anatomi ve fizyolojik bitkiciklerin oluşumu ile sonuçlanmıştır. Dış ortama aktarıldıktan sonra, bu bitkicikler çevresel koşulların aniden değişmesiyle kolay bir şekilde zarar görebilirler ve böylece anormallikleri düzeltmek için belli bir iklimlendirme periyoduna ihtiyaç vardır. Bu derleme dış ortam koşullarında bitkiciklerin alışma süresi boyunca su-fotosentez ilişkileri ve yaprak yapısında ki değişikliklerin modern bilgilerine odaklanmıştır. Ayrıca, ortama alışmanın hızlandırılması ve bitkilerin hayatta kalma sürelerinin iyileştirilmesinin bazı yolları açıklanmıştır.

Gonzalez vd. (2000) Maviyemiş, böğürtlen ve ahududunun bitki çoğaltımı arazide yetişen yetişkin bitkilerin boğum kesimlerinden yürütülmüştür. Sert odun ve yumuşak odun çelikleri eksplant kaynağı olarak üzerinde çalışılmıştır. Üç türün hepsinin yumuşak odunları ve yalnızca maviyemişin sert sert odunlarıyla bu kültür başarı ile kurulmuştur. Maviyemiş sürgünleri 18 μ M zeatin, WPM tuzu ve MS vitamin içeren ortam içindeki eksplantlardan 15gün ve 30 günde elde edilmiştir. Çoğaltma da en iyi sonuçlar 25 μ M 2-IP içeren aynı ortam içinde elde edilmiştir. Böğürtlen için, sürgün tomurcuğu kurulması 15 gün boyunca MS ortamı içinde eksplantlarından ve daha sonra 4 μ M BA ve 0.25 μ M IBA ile aynı ortamda sağlanmıştır. Bu ortam için en iyi çoğaltma böğürtleninde olmuştur. Ahududu eksplantlar ('Gradina' ve 'Willamette' çeşitleri) 15 gün süreyle MS ortamı içinde kültürlendi ve sonra 4 mm'lik BA ve 0.25 μ M IBA eklenmiş MS ortamına transfer edilmiştir. 30 gün kültürden sonra sadece 'Gradina' eksplantları hayatta kaldı, sürgün büyümesi aynı büyüme düzenleyiciler ile değiştirilerek kurulan MS ortamından ('Anderson'un makrobeseinleri dışında kalsiyum ile demir kaynağı olarak suda eriyebilir demir) elde edilmiştir. Çoğalması aynı ortam içerisinde ya da 4 μ M BA artı 0,25 μ M IBA ya 8 μ M BA artı 0,25 μ M IBA ile alt kültüre alınan eksplantlardan elde edilmiştir. Testler mevcut bitkilerde bakteri, fungus ve virüs hastalıklarının bulunduğunu ortaya koyarken, hem dışardaki sürgünlerde hem de rejenere (iyileştirilmiş) bitkilerde hiçbir tür hastalığın bulunmadığını ortaya çıkarmıştır.

Debnath ve McRae (2001a) iki maviyemiş çeşidinin, 'Ben Lear' ve 'Pilgrim', ve Newfoundland' ta doğal olarak bulunan üç *Vaccinium* klonileri boğumdan N6 ve/veya aseptik koşullarda elde edilen sürgün ucu eksplantlarını içeren besin ortamı kurulmuştur. Çeşitler 2-IP'nin farklı konsantrasyonların da her bir eksplantın sürgün sayısı bakımından iki kültür ortamında ki sürede sürgün yenilemesinde ki farklılığı göstermiştir. En iyi

toplam sürgün oluşumu 2.5 ± 5.0 mg 2-IP l21 (12.3 ± 24.6 mM) ilaveli ortamda kültüre alınan nodal (boğum) segmentlerinden (bölümlerinden) elde edilmiştir. 2-IP'den daha yüksek dozlarda, sürgünler gelişmemiştir ve yüksek ölüm oranı gözlenmiştir. Aynı besin ortamında kültüre alınan 2.5 mg 2-IP l21 (12.3 mM) ilaveli üç klonili nodal (boğum) eksplantları, her eksplant başına 3-5 arasında koltuk sürgünü oluşturmuştur. Bir diğer denemede, nodal (boğum) eksplantları sürgün uçlarından daha üretken olduğu görülmüştür. Alt kültür ile yapılan tüm denemelerde, tüm genotipler için sürgün çoğaltma oranlarında artış olmuştur. Sürgünler, sürgün geliştirmek için kullanılan ortamda köklendirilmiştir, fakat herhangi bir bitki gelişim düzenleyicisi olmadan, saksı ortamına şaşırtıldıktan sonra, neredeyse köklenen bitkilerin hepsi hayatta kalmıştır. Maviyemiş genotipleri 2.5 ± 5 mg 2-IP l21 (12 ± 25 mM) içerdiği oksin olmadan besin ortamında nodal kültürü ile etkili bir şekilde bakımı yapıp çoğaltılabilmektedir.

Miller ve Rawnsley (2002) maviyemişin doku kültürü ile yapılan çoğaltma teknikleri detaylı veya yazılı olarak iyi hazırlanmıştır. Çalışmada maviyemiş için bitki yetiştirme/ıslahı ve geliştirme/iyileştirme programı geleneksel çoğaltma tekniklerin yanı sıra denemeler için elit klonların gen havuzunu sağlaması için doku kültürünü de (mikro çoğaltma) kullanmıştır.

Ostrolucka vd. (2004) rejenerasyon için yapraklardan adventatif (yan) sürgün üretiminin yanında meristemden direk sürgün rejenerasyonu ile maviyemiş doku kültürü çalışmıştır. Çalışmada çeşitlerin bireysel sürgün çoğalması yoğunluğu sonuçları farklılık göstermiştir. Bu nedenle, her çeşit için sitokinin tipi ve konsantrasyonunun optimizasyonu gerekmektedir. Meristem rejenerasyonu için, geliştirilmiş çoğaltma 2-IP ($N^6-\Delta^2$ -isopentenyl adenine) ile karşılaştırıldığında zeatin içeren ortam daha başarılı olmuştur. Adventif sürgün rejenerasyonunda, thidiazuron, yüksek boylu maviyemişin yaprak dokusunda ve hem thidiazuron hem de zeatin gibi sitokininler kekreymiş yaprak dokusu için etkili olmuştur. Mikro sürgün köklendirme indol-3-bütirik asit (IBA) ile takviye Anderson kültür ortamında veya *ex vitro* koşullarda indol-3-bütirik asit çözeltisi içine sürgünleri daldırmadan sonra doğrudan torf üzerinde elde edilmiştir.

Debnath (2009) serada yetiştirilen yabani alçak boylu maviyemiş yapraklarının kesilerek sürgünlerin yeniden oluşturması için *in vitro* ortamında etkili bir sistem geliştirilmiştir. Yaprakların apikal, orta ve temel-bazal segmentlerinden adventif tomurcuk ve sürgün

üzerine TDZ'nin (Thidiazuron) etkisi test edilmiştir. Yaprak kültürleri 2.3–4.5 μM TDZ ortamında orta kallus aşaması olmadan 6 hafta içerisinde birden çok tomurcuk ve sürgünlerin çıkışları gözlemlenmiştir. En yüksek sürgün yenilemesi yaprağın üst yüzünün (*adaxial*) ortama değmediği iki hafta karanlıkta muhafaza edilen genç büyüyen bazal yaprak segmentlerinin kültür ortamından gelmektedirler. Kallus gelişimi ve sürgün yenilemesi sadece eksplantların kutuplaşmasına değil aynı zamanda tedarik edilen eksplant materyalinin klonun genotipinde bağlı olmaktadır. TDZ başlangıç kültürleri ilave 2.3-4.6 μM zeatin içeren kültür ortamlarına aktarılmıştır ve bir alt kültürden sonra uygun sürgünler elde edilmiştir. Büyümüş sürgünler 39.4 μM indole-3-butyric acid tozu olan etken maddeye daldırılmıştır ve topraksız 3:2 oranında torf-perlit içeren ortama dikilmiştir ki buda kökün etkinliğinde %80-90 oranında artışlar sağlamıştır. Bitkicikler iklimlendirmeye alınmış ve sonunda serada yetiştirilen bu bitkiciklerin %75-85 hayatta kalması sağlanmıştır. Zeatinin yanı sıra 2-IP yüksek boylu maviyemişlerin *in vitro* kültürü için özellikle bu araştırmada kullanılan çeşitler için büyüme düzenleyicisi olarak başarılı bir şekilde kullanılabilceği tespit edilmiştir. Zeatin bitki büyümesini güçlü bir şekilde uyarmaktadır ve *Vaccinium corymbosum* da ki çoğalma oranını önemli ölçüde arttırmaktadır

Meiner vd. (2007) maviyemiş (*Vaccinium corymbosum*) ve kekreyemiş (*Vaccinium vitis-idaea* L.) çeşitleri için geliştirilmiş etkin mikroçoğaltım protokolleri uygun yaprak eksplantlarından sürgün rejenerasyonu yanı sıra, transgenik bitkileri geliştirmiştir. Boğum bölümleri 'Kırmızı İnci' kekreyemiş çeşidi ve güney yüksekboylu 'Ozarkblue' maviyemiş çeşidinde *in vitro* sürgün kültürlerini başlatmak için kullanılmıştır. Optimize rejenerasyon işlemi geliştirmek amacıyla, her iki çeşidin mikroçoğaltma sürgünlerinden kesilmiş yaprakları üzerinde rejenerasyon, farklı bitki büyüme düzenleyicilerinin adventif uyarılması için test edilmiştir. Eksplantın başına yüzde rejenerasyonun sürgün sayısı üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sonuçlar adventif sürgün oluşumunu teşvik etmesi dolayısıyla zeatinin, TDZ ve meta-topolin daha üstün olduğunu göstermiştir. 20 μM zeatin ile birlikte 1 μM NAA konsantrasyonunun her ikisi de 'Red Pearl' çeşidinde sürgün rejenerasyonunda en etkili olmuştur. Sürgünler IBA veya NAA içeren *in vitro* veya *ex vitro* ortamda bir sis tüneline köklenmeye bırakılmıştır. *Vaccinium* kültür bitkisinde kök gelişimini tetiklemek için IBA NAA' ya göre daha iyi olduğu saptanmıştır. Arazi de yetiştirilen olgun bitkilerden çelikler ile doku kültürü *in vitro* çoğalma ile çoğaltılan iklime alıştırılmış sürgünler *ex vitro*'da köksüz olarak doğrudan dikilmiştir ve yüksek

nem altında köklenmeleri test edilmiştir. *In vitro* sürgünlerin sisleme altında ki çeliklerden daha iyi köklendiği ve *in vitro*'daki başarının diğer bitki kaynakları ile eşdeğer olduğu bulunmuştur

Debnath (2007) mikroçoğaltım teknikleri, ticari olarak yetiştirilen ve eczacılık için önemli *Vaccinium*'un üç türü olan: kızılılık, maviyemiş ve kekreyemişin genetik materyallerinin geliştirilmesi ve klonal çoğalması için önemlidir. Koltuk altı tomurcuk çoğalmasını kullanarak *Vaccinium* türlerinin *in vitro* çoğaltımı ve adventif sürgün rejenerasyonu önceki çalışmalarda bir dizi araştırılmıştır. Morfogenez bitki büyümesinin belirli bir genotipin kültürü için kullanılan ortam ve düzenleyiciye son derece bağımlı olduğu bir daha görülmektedir.

Fira vd. (2008) yüksekboylu maviyemiş çeşidi olan 'Bluecrop' çeşidinin *in vitro* koşullarda çoğaltılmasını, bu çeşidi keserek çoğaltmanın yanı sıra *in vitro* koşullarda ki yetiştirilmesi ve çoğaltılmasıyla ilgili önemli zorlukların olduğunu göstermektedir. Basal besiyeri olarak, odunsu bitki ortamı (WPM) kullanılmıştır. Bitki büyüme düzenleyicisi olarak 2-IP, Zeatin, Thidiazuron ve olgunlaşmış meyvelerden elde edilen ham hindistan cevizi suyu kullanılmıştır. Demir kaynağı da ayrıca çok önemlidir. FeNaEDDHA, FeNaEDTA ten çok daha iyi sonuçlar vermiştir. FeNaEDDHA ya hazır ambalajlı ortama demir ilavesi olarak eklenebilir ya da makro ve mikro besin elementlerinin stok çözeltilerinden sadece demir kaynağı olarak hazırlanan ortamlarda kullanılabileceği belirlenmiştir. Maviyemişin *in vitro* koşullarında çoğaltılmasında kullanılan ortam için tavsiye edilen ph değeri 5'tir. Ayrıca, diğer çeşitlerle kıyaslandığında, 'Bluecrop' çeşidinin *in vitro* koşullarında ki bazı özellikleri burada gösterilmiştir.

Tetsumara vd. (2008) dört yüksekboylu maviyemiş çeşidinin sürgün ve kök çoğaltılması MS, WPM ve MW (%50 WPM + %50 MS) ortamlarında karşılaştırılmıştır. Çoğalma aşamasında WPM'deki sürgünler diğer sürgünlerden daha kötü büyüme göstermiştir. En iyi sürgün büyümesi MW ortamında olmuştur. MS de sürgünler daha iyi büyümüş fakat çoğaltma aşamasında vitrifikasyon (camlaşma) özellikle 'Bluecrop' çeşidinde gözlemlenmiştir. WPM deki sürgünlerin gelişimi kötüdür. En iyi köklenme yüzdesi MS'de 'Bluecrop' çeşidinde, MW de ise 'O'Neal' çeşidinde elde edilmiştir. İyi kök gelişimi gösterenlerde kök sistemi gelişmiş ve saksılara aktarılıp kolayca dış ortama alışmışlardır.

Debnath (2004) üç alçak boylu maviyemiş kültürleri (*Vaccinium angustifolium* Ait.) Newfoundland toplanan *V. macrocarpon* klonları ile değiştirilmiş zeatin (5 μ M) ya da N6- [2-izopentenil] adenin (2-IP) (10 μ M) içeren doku kültürü ortamı ile *in vitro* kurulmuştur. Eksplant başına sürgün çoğalması ile ilgili iki numaralı kültür döneminde zeatinin çeşitli konsantrasyonlarında klonlar arasında farklılık görülmektedir. Toplamda en iyi sürgün çoğalması boğum bölümleri 2-4 μ M zeatin ile takviye edilmiş bazal ortamda kültüre alındığında elde edilmiştir. Başka deneyde ise, boğum eksplantları sürgün uçlarına göre daha verimli olduğu saptanmıştır. Sürgünlerin büyümesi için 4 μ M dan daha fazla zeatin içeren besin ortamında 12 haftadan fazla sürede sürgünler yığın halin de adventif (yan) sürgünler oluşturmuş ki ortamda sürgünlerin dibinde büyüyen yoğun kallusların doğacağı görülmektedir. Sükrozun düşük konsantrasyonu ve düşük ışık altında (sırasıyla 30g L⁻¹ ve 30 μ Mol m⁻² s⁻²) sürgün canlılığı kontrol ile kıyaslandığında daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Ayrılan klonlar da her 3 ayda bir A50-100 kat çoğalma hızı elde edilmiştir

Sedlak ve Paprstein (2009) yüksekboylu maviyemiş çeşitleri ‘Spartan’, ‘Bluecrop’ ve ‘Berkeley’ maviyemiş çeşitleri için verimli bir mikroçoğaltım yöntemini belirlemektir. Üç genotip içerisinde seçilen sürgün uçları kullanılarak başarılı bir *in vitro* kurulmuş, sterilizasyon çözeltisi olarak %0.15 bir konsantrasyonda merkürük klorür belirlenmiştir. Sitokinin zeatin 0.5, 1 veya 2 mg/L konsantrasyonlarda ihtiva eden Anderson Rhododendron ortamı (AN), yarı-kuvvetli Murashige ve Skoog ortamı (yarı MS) ve McCown odunsu bitki ortamı ve Woody plant medium (WPM) ortamı test edilmiştir. Çoğalma oranları zeatin, çeşit, ortam ve konsantrasyona bağlı olarak değişebilmektedir. En yüksek çoğalma zeatin(2 mg/L) içeren WPM ortamında ‘Berkeley’ için 4.8 ± 0.2 olarak belirlenmiştir. Üç ortam test edildiğinde, WPM ortamının sürgün üretimi için AN ortamı ve yarı MS ortamına göre daha etkili olduğu bulunmuştur. WPM ortamı üzerinde *in vitro* köklenme de bildirilmiştir

Liu vd. (2010) protokolle dört güney yüksek boylu maviyemiş çeşitleri için adventif (yan) sürgünlerin yenilenmesinde en uygun şekilde kullanmak için geliştirilmiştir. Dört çeşidin altı haftalık sürgünlerinden elde edilen yaprak eksplantları kesilip alınarak ve her biri thidiazuron, zeatin, zeatin riboside içeren odunsu bitki ortamında ya ayrı olarak ya da α -naphthaleneacetic (NAA) asit ile kombinasyon halinde kültüre alınmıştır. Sürgünlerin yenilemesi için uygun ortam genotipe bağlıdır. Etkili bir çoğalma ‘Jewel’ için %88,9

‘Emerald’ için %87.8 ‘Jubilee’ için %53.3 ‘Biloxi’ için %87.8 oranında elde edilmiştir. Beş alt kültürden geçtikten sonra kültüre alınıp yeni gelişen sürgünlerin yaprak eksplanlatları iki alt kültürden geçenlerden daha yüksek çoğalma sıklığına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Gelişmiş sürgünler, her bir çeşit için %80-100 oranında, toprağa şaşırtıldıktan sonra sekiz hafta içerisinde köklenmişlerdir. Çoğalma sistemleri güneyli yüksek boylu maviyemiş çeşitlerinin genetik değişimlerini kullanma potansiyeline sahip olduğu saptanmıştır

Zhao vd. (2011) ‘Northland’ yarı yüksek boylu maviyemiş çeşidinin yaprak ve boğum eksplantlarından çoğaltılan adventif (ek) sürgünler için geliştirilmiş etkili bir protokoldür. *In vitro* koşullarda elde edilen boğum bölümlerinden adventif (yan) sürgünler oluşturmak için pH = 5 olan WPM ortamı 4 mg/L zeatin, 0.8% (w/v) agar ve 2% (w/v) şeker eklenip değiştirilerek kullanılabileceği belirlenmiştir. Bu ortam bitkicik sayısı ve boyu ve adventif (yan) sürgün çoğalma oranı göz önünde bulundurulursa başarılıdır ve ayrıca en iyi yan sürgünler yaprak eksplantlarından elde edilen bitkiciklerde görülmüştür. Orta kuvvetli sürgünler değiştirilmiş (IBA), (NAA) ve 0 ya da 0.2% (w/v) aktif-etken kömür içeren WPM ortamında köklendirilmiştir, en iyi kolay kök oluşumu 2 mg/L IBA ve 0.2% (w/v) aktif kömür de bulunmuştur. Köklenmiş bitkicikler 1.1.1 torf+kum+vermikülit içeren pH’ı demir sülfat ile 4.5 olarak ayarlanmış pılag tepsisine aktarılmıştır ve hemen sonrasında da sera koşullarında dış iklim koşullarına adaptasyonu sağlamaya başlanmıştır.

Vescan vd. (2012) maviyemişler yüksek besin değeri ve güçlü antioksidan özelliği, gıda ve ilaç piyasalarında artan talebin sorumlusu olan özelliklere sahiptir. ‘Ellilot’ çeşidi aktif maddelerin dengeli bir içeriğine sahiptir. Ayrıca geç olgunlaşan çeşitler Transilvanya kışları için uygundur, bu bölgede geniş kapsamlı tarım için iyi bir aday yapmaktadır. Geleneksel yüksek boylu maviyemişin çoğaltma yöntemlerinin bazı dezavantajlarından dolayı, etkili bir mikro çoğaltma yöntemi oluşturmak için çalışmalara başlanmıştır. Dormant tomurcuklar sürgün oluşumu için başlangıç eksplantları olarak kullanılmıştır. Aksiller ve adventif (yan) mikro sürgünler ise de daha ileri ki çoğalma aşaması için kullanılmıştır. En yüksek çoğalma oranını sağlamak için, ortama yerleştirilen eksplantlarla ilgili olan çeşitli bitki gelişim düzenleyicilerinin etkisi araştırılmıştır. 2 mg/L zeatin ve 5 mg/L 2-IP eklenmiş WPM ortamında yatay olarak (1:1) yerleştirilen mikro sürgünler, 17.9 sürgün/eskplant ortalaması ile en iyi çoğalma oranını vermiştir. *In*

vitro'da elde edilen yapraklar da çoğalma(yeniden oluşum) kapasitesi için test edilmiştir. 2-IP 10 mg/L in kullanımı %90'na varan çoğalma oranı vermiştir. En iyi değişkeni %50 doğrudan rejenerasyon oranı ve 6.5 sürgün/eksplant ortalaması ile sonuçlanan abaxial (yaprığın arka yüzü) konumlanan yapraktan meydana gelmiştir. En yüksek çoğalma oranı adaxial (yaprığın ön yüzü) olarak konumlanan için kaydedilmiştir (26 sürgün/başlagıç eksplant). Doğrudan dış ortama alıştırma ve su kültürü ortamında köklenmesi de çok iyi sonuçlar elde edilmiştir

Litwinczuk vd. (2005) 'Herbert' yüksek boylu maviyemiş bitkileri yumuşak doku kesimleri ile çoğaltılmaktadır ve laboratuvarında üretilen 1 yıllık aksiller (koltuk) ve yan sürgünlerin mikro çoğaltmayla elde edilen ile 11 yıllık kültüre alınan ile kıyaslanmıştır. Çoğaltma metodları maviyemişlerin fidelik ve tarla performansları üzerine önemli etkisi olmuştur. HT'den elde edilen bitkiler daha yavaş büyümüştür, önemli ölçüde daha az ve kısa sürgünler üretmiştir ve mikroçoğaltma yöntemi ile üretilen bitkilerden daha fazla değişkenlik göstermiştir. Fakat HT bitkilerinin çoğunluğu bir yıl önceden çiçekler oluşturmuş ve bol miktarda çiçek açmıştır. Önemli ölçüde TC bitkilerinden daha büyük meyveler taşımaktadır. AX ve AD bitkileri arasında belirgin bir fark görülmemiştir. SH'den elde edilen bitkiler AX ve AD' de elde edilen bitkilerle kıyaslandığından en az tohumlar daha az meyvelerin olduğu saptanmıştır. Bu kültür yaşı (yukarıdaki 1 yaş ve 11 yaş olayından geliyor bu kültür yaşı) mikroçoğaltma sistemleri arasında gözlemlenen varyasyonlar için sürgün kaynaklarından daha önemli etkiye sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bu mevcut çalışma yüksek boylu maviyemişin in vitro kültürünün sık kurulum gereksiniminin önemle vurgulanması ve onların sınırlı sayıda olan parçalarının yürütülmesidir.

Cüce vd. (2013) *Vaccinium arctostaphylos* L. etkili mikroçoğaltım tomurcuk kültürlerini ve hızlı bir şekilde en uygun büyüme ortamını belirlemektir. Ön çalışmalara göre, en iyi eksplant toplama süresi sonunda Nisan ve Mayıs aylarında olmuştur. Buna uygun olarak, kesim popülasyonları doğal olarak yetişen *V. arctostaphylos* (çay üzümü) lateral filiz tomurcukları alınmış ve eksplant kaynağı olarak kullanılmıştır. Anderson'ın Rhododendron ortamı (AN), McCown en odunsu bitki, orta (WPM) ve Murashige ve Skoog (MS) bazal ortam, çoklu sürgün oluşumunda en iyi bazal ortamı belirlemek için zeatin/indol-3-butirik asit (IBA) (1.0/0.1 mg/L), ile takviye edilmiş her bir bazal ortam test edilmiş, bu amaç için en etkili bazal ortamın WPM olduğu belirlenmiştir. Daha sonra ki sürgün çoğaltma ve geliştirme çalışmaları çeşitli konsantrasyonlarda, bir oksinin, IBA

(0,1 mg/L) ve 2 farklı sitokinleri, zeatin ve tidiazuron (TDZ) (sırasıyla 0.5, 1.0 ve 2.0 mg/L) ile desteklenmiş WPM ile gerçekleştirilmiştir. Altı haftalık photoperiod (16/8 h aydınlık/karanlık) uygulamasından sonra, zeatin/IBA kombinasyonlarının sürgün çoğalma ve büyüme için en uygun olduğu tespit edilmiştir. En yüksek sürgün uzunluğu (106,53%), 1.0/0.1 mg L zeatin/IBA ile desteklenen ortamda elde edilmiş, yaprak sayısı (142%) ve çoklu sürgün çoğalmasında (11-kat) en yüksek artış ise 2.0/0.1 mg L zeatin/IBA ile takviye edilmiş ortamdan elde edilmiştir. WPM, IBA farklı konsantrasyonları (0.5 mg/L 8.0 mg/L) ile takviye edilerek ve 16/8 photoperiodta veya tamamen karanlık sistemde köklenme ortamı olarak kullanılmıştır. Bu aşamada, besin ortamı 0,5 mg/L IBA büyüme düzenleyicisi eklenerek köklendirme de % 100 başarı ile iyi bir köklenme (16/8 photoperiod) elde edilmiştir. Torf ve perlit nakledilen köklü bitkiler (2:1) ile alt-tabaka, daha sonra iklim odası koşullarında iklime alıştırılmıştır.

Cüce ve Sökmen (2015) *Vaccinium myrtillus* L. Türkiye florasında doğal olarak yetişen yaban mersinin mikroçoğaltımı için tasarlanmıştır. En etkili bazal ortamı belirlemek amacıyla, lateral gözler başlangıçta eksplant olarak seçilmiştir ki seçilenler daha sonra bireysel olarak, 1.0 mg/L zeatin ve 0,1 mg/L indol-3-butirik asit (IBA), ya da 0.1 mg/L α -naftalen asetik asit (NAA), ile takviye edilmiş Murashige ve Skoog ortamı (MS), Anderson rhododendron ortamı, McCown odunsu bitki ortamı (WPM), içinde kültüre alınmıştır. Zeatin ve IBA ile desteklenmiş WPM'nin, test edilerek en etkili bazal ortam olduğu bulunmuştur. Sürgün rejenerasyonu kabiliyeti, ortam ve sitokin konsantrasyonuna bağlı olduğu için, üç farklı sitokin, yani zeatin, tidiazuron, ve N6-çeşitli konsantrasyonlarını (0.5, 1.0 ve 2.0 mg/L) içeren bir WPM bazal ortamı (0,1 mg/L) IBA ([2-izopentenil] adenin) ile birlikte kullanılmıştır ve büyüme düzenleyicilerin hiç birini içermeyen bazal ortam ile karşılaştırılmıştır. Sürgün çoğalması açısından, 2,0 mg/L zeatin 0.1 mg/L IBA ile bir araya getirildiğinde, diğer test edilen büyüme düzenleyicilerinden daha üstün olduğu bulunmuştur. WPM da bazal ortamı aktive edilmiş mangal kömürü (AC) ya da IAA (0,25-2,0 mg/L) farklı konsantrasyonları ile takviye edilmiş ayrıca köklendirme ortamı olarak kullanılmıştır. 0.5/1.0 mg/L IBA/AC ile desteklenmiş WPM % 60 kök oluşumu ile köklenme için en iyi kültür ortamı olduğu saptanmıştır.

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Tez kapsamında bitkisel materyal olarak dördü yabancı toplam 11 maviyemiş örneği kullanılmıştır.

3.1.1 Besin ortamı

Tez kapsamında kullanılan 11 maviyemiş genotip *in vitro* koşullarda nodlarının kültüre alınması, elde edilen sürgünlerin çoğaltımı ve köklendirilmesi denemelerinde Woody Plant (WP, Lloyd ve McCown, 1980) besin ortamı kullanılmıştır. WP besin ortamının içeriği Çizelge 3.1.'de sunulmuştur. WP besin ortamına ilave etmek amacıyla stok vitamin çözeltisi hazırlanmış ve hazırlanan stok vitamin çözeltisi 1 m/L konsantrasyonunda kullanılmıştır. WP besin ortamına ilave edilecek stok vitamin içeriği Çizelge 3.2'da sunulmuştur. WP besin ortamına 20 g/L sakkaroz ve 3.5 g/L agar eklenmiştir. Ortamların pH'sı KOH veya NaOH ile 5,0'a ayarlanmıştır.

Çizelge 3.1. WP besin ortamının içeriği.

Bileşik	Konsantrasyon (mg/L)
NH ₄ NO ₃	400
CaCl ₂ .2H ₂ O	96
Ca(NO ₃) ₂	386.34
MgSO ₄	180.69
KH ₂ PO ₄	17
K ₂ SO ₄	990
MnSO ₄ .H ₂ O	22.3
H ₃ BO ₃	6.2
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.25
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.6
CuSO ₄ .5H ₂ O	0.25
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
Na ₂ EDTA	37.3

Çizelge 3.2. WP besin ortamına ilave edilecek stok vitamin içeriği

Hormon	Konsantrasyonu (mg/L)
Myo-inositol	100
Nikotinkasit	1
PiridoksinHCl	0.5
ThiamineHCl	0.5
Glisin	2

3.1.1 Besin Ortamı ve Hormonların Hazırlanması

3.1.4.1 Besin ortamlarının hazırlanması

MS Ortamının Hazırlanması (1 L için):

- ✓ Şeker 30 g/L
- ✓ Agar 7 g/L
- ✓ MS tuzu 4.3 g/L
- ✓ pH = 5.7

1 L saf su (dH₂O) içerisine 30 g şeker ve 4,3 g MS tartılarak karıştırıcı da karıştırılmıştır. Ortamın pH'ı HCl ile 5.7'ye ayarlanmıştır. Daha sonra 7.8 g olarak tartılan agar pH'sı ayarlanmış ortamın içerisine karıştırılmıştır. Ortam ısıtıcı da kaynatılmıştır. Kaynatılan besin ortamı ortamı otomatik pipet yardımı ile kavanozlara 23 mL olarak konulmuştur. Kavanozlara konulan besin ortamları otoklavla sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Otoklavdan çıkan ortamlar steril kabinde soğumaya bırakılmıştır.

Bu besin ortamı yabancı maviyemiş genotiplerinin çimlendime denemesinde besin ortamı olarak kullanmak için hazırlanmıştır. Maviyemiş tohumlarının MS ile WPM ortamlarında çimlenmelerini karşılaştırmak amacıyla kurulan deneme için hazırlanmıştır.

MS + BAP Besin Ortamının Hazırlanışı (1 L için):

- ✓ Şeker 30 g/L

- ✓ Agar 7 g/L
- ✓ MS tuzu 4.3 g/L
- ✓ pH = 5.7
- ✓ BAP = 1 mg/L (1000 µL litre içerisinde)

Erlen ve mezür saf sudan geçirildi. Saf sudan geçirilen erlen içerisine 1 L saf su (dH₂O) konulmuştur. Ortam içerisine 30 g şeker ve 4,3 g MS tartılarak eklenmiştir. 1 mg/L (1000 µL) BAP ortama eklenerek pH = 5,7'ye ayarlanmıştır. 8 g agar ortama eklenerek kaynamaya bırakılmıştır. Kaynayan ortam ve ortamın konulacağı kavanozlar otoklavlanmıştır. Otoklavdan sonra steril kabin içerisinde her kavanoza steril 50 mL'lik falkon tüp yardımıyla 35 mL ortam konulmuştur. pH'ı ayarlamadan önce BAP eklenmiştir (1 mg/L = 1000 µL).

Woody Plant Besin Ortamının (WPM) Hazırlanması (1 L):

- ✓ 2.3 g/L WPM
- ✓ pH = 5
- ✓ 20 g/L Şeker
- ✓ 3.5 g/L Agar
- ✓ 1.6 mg/L 2-IP
- ✓ 4 mg/L zeatin
- ✓ 0.25 mg/L zeatin riboside

Saf sudan geçirilen erlen içerisine 1 L saf su (dH₂O) içerisine 2,3 g WPM ve 20 g şeker tartılıp eklenerek karıştırıcıya konulmuştur ve pH = 5'e ayarlanmıştır. pH'ı ayarlamak için NaOH ve HCL kullanılmıştır.

Hazırlanmakta olan besin ortamı içerisine 3.5 g agar eklenerek kaynamaya bırakılmıştır. Besin ortamının döküleceği kavanozlar ve kaynayan besin ortamı otoklavlanmıştır. Otoklavdan çıkan besin ortamı içerisine steril olarak hazırlanmıştır. Otoklavlanan kavonozların her birine Steril falkon tüp yardımı ile 35 mL besin ortamı konulmuştur. Besin ortamı koyulan kavanozlar ağızları kapatılarak steril kabin içerisinde katılaşmaya bırakılmıştır.

WPM Besin ortamı (1 L için):

- 2,3 g/L WPM
- pH = 5
- 20 g/L sakkaroz
- 7 g/L Agar

1 L saf su (dH₂O) içerisine 2,3 g WPM ve 20 g şeker tartılıp eklenerek karıştırıcıya konulmuştur ve pH= 5'e ayarlanmıştır. Hazırlanmakta olan besin ortamı içerisine 3,5 g phyto agar eklenerek kaynamaya bırakılmıştır. Besin ortamının konulacağı kavanozlar ve kaynayan besin ortamı otoklava atılmıştır. Otoklavlanan kavonozların her birine Steril falkon tüp yardımı ile 35 mL besin ortamı konulmuştur. Besin ortamı konulan kavanozlar ağzıları kapatılarak steril kabin içerisinde katılaşmaya bırakılmıştır.

- WPM besin ortamı içerisine *Vaccinium* örneklerinin tohum ekimi yapılmıştır.

WPM Besin Ortamı Hazırlanması:

Yedi maviyemiş çeşidi ve dördü yabancı *vaccinium* genotipleri ile kurulacak mikroçoğaltım denemesinde kullanmak için hazırlanmıştır. Bu onbir genotip ile kurulan mikroçoğaltım denemelerinin alt kültürlerinde de bu besin ortamı hazırlanıp kullanılmıştır.

- 2.3 g/L WPM
- pH = 5
- 20 g/L Şeker
- 7 g/L Agar
- Zeatin, 2-IP ve BA

Besin ortamının içinde 3 farklı büyüme hormonu (sitokinin) hormonu ve 4' er farklı konsantrasyonu kullanılmıştır (Çizelge 4). Ortam şu şekilde hazırlanmıştır: 1 L saf su (dH₂O) içerisine 2.3 g WPM ve 20 g şeker tartılıp eklenerek karıştırıcıya konulmuştur ve pH = 5'e ayarlanmıştır. Hazırlanmakta olan besin ortamı içerisine 7 g phyto agar eklenerek kaynamaya bırakılmıştır. Besin ortamının konulacağı kavanozlar ve kaynayan besin ortamı otoklavda sterilize edilmiştir. WPM besin ortamı içerisine Zeatin, BA ve 2-IP homonları belirtilen konsantrasyonlarda (Çizelge 4) otoklavdan çıktıktan sonra, steril

kabin içerisinde eklenmiştir. Steril kabin içerisinde otoklavlanan kavanozların üzerine besin ortamı ve içerdiği hormon konsantrasyonlar cam yazar kalem ile yazılmıştır. Bu kavanozlara steril falkon tüp yardımı ile her besin ortamı kendi kavanozuna 50 mL konulmuştur. Besin ortamı konulan kavanozlar ağızları kapatılarak steril kabin içerisinde katılaşmaya bırakılmıştır.

- 1 mL = 1 mg = 1000 µL
- g = 100 mg
- BA 1 mg/L
- Zeatin 1 mg/L
- 2-IP 1 mg/L

WPM Besin Ortamı Hazırlanması:

Bu besin ortamı yedi maviyemiş çeşidi ve dört yabancı *vaccinium* genotipleri ile kurulacak köklendirme denemesinde kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

- 2.3 g/L WPM
- pH = 5
- 20 g/L Şeker
- 7 g/L Agar
- IBA ve NAA

Besin ortamının içinde iki farklı köklendirme hormonu (oksin) ve 4' er farklı konsantrasyonu kullanılmıştır (Çizelge 5).

1 L saf su (dH₂O) içerisine 2.3 g WPM ve 20 gram şeker tartılıp eklenerek karıştırıcıya konulmuştur. pH = 5'e ayarlanmıştır. Hazırlanmakta olan besin ortamı içerisine 7 g phyto agar eklenerek kaynamaya bırakılmıştır. Besin ortamının konulacağı kavanozlar ve kaynayan besin ortamı otoklavda sterilize edilmiştir. WPM besin ortamı içerisine IBA ve NAA homonları belirtilen konsantrasyonlarda (Çizelge 5) otoklavdan çıktıktan sonra, steril kabin içerisinde eklenmiştir. Steril kabin içerisinde otoklavlanan kavanozların üzerine besin ortamı ve içerdiği hormon konsantrasyonlar cam yazar kalem ile yazılmıştır. Bu kavanozlara steril falkon tüp yardımı ile her besin ortamı kendi

kavanozuna 50 mL konulmuştur. Besin ortamı konulan kavanozlar ağızları kapatılarak steril kabin içerisinde katılaşmaya bırakılmıştır.

1 mL = 1 mg = 1000 µL

0.1 g = 100 mg

- IBA 1 mg/L
- NAA 1 mg/L

3.1.4.2 Hormonların hazırlanışı

Tez çalışmasında kullanılacak olan hormonlar 1x1 oranında hazırlanmıştır.

BA (BenzilAdenin) Hormonunun Stok (1x1 oranında) Hazırlanışı:

Hormon hazırlama sırasında kullanılan erlen, beher ve magnet saf sudan geçirilmiştir. Hassas terazi de 41 mg BA tartılmıştır. Tartılan 41 mg BA önce 1N NaOH ile çözündürülmüştür. Çözündürülen BA hormonu 41 mL su içerisine konularak karıştırıcı da magnet yardımı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu hormon steril kabin içerisinde steril filtre ve enjektör yardımı ile sterilizasyon işlemi yapılmıştır. Bu hormon steril falkon tüp içerisine konulmuştur. Falkon tüp üzerine hormonun ismi, oranı, hazırlama tarihi ve hazırlayan kişinin ismi yazılmıştır.

Zeatin (Trans-zeatin) Hormonunun Stok (1x1 oranında) Hazırlanışı:

20 mg/20 mL dH₂O (saf su)

Hormon hazırlama sırasında kullanılan erlen, beher ve magnet saf sudan geçirilmiştir. Hassas terazi de 20 mg zeatin tartılmıştır. Tartılan 20 mg zeatin önce 1N NaOH ile çözündürülmüştür. Çözündürülen zeatin hormonu 20 mL su içerisine konularak karıştırıcı da magnet yardımı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu hormon steril kabin içerisinde steril filtre ve enjektör yardımı ile sterilizasyon işlemi yapılmıştır.

2-IP (6-y-y(Dimethylallylamino)-purine) Hormonunun Stok (1x1 oranında) Hazırlanışı:

Hormon hazırlama sırasında kullanılan erlen, beher ve magnet saf sudan geçirilmiştir. Hassas terazi de 0.1 g (100 mg) 2-IP hormonunu tartılmıştır. Tartılan 100 mg 2-IP önce 1N NaOH (maksimum 2 mL) ile çözündürülmüştür. Çözündürülen 2-IP hormonu 100 mL su içerisine konularak karıştırıcı da magnet yardımı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu hormon steril kabin içerisinde steril filtre ve enjektör yardımı ile sterilizasyon işlemi yapılmıştır.

NAA (Naftalen asetik asit) Hormonunun Stok (1x1 oranında) Hazırlanışı:

Hormon hazırlama sırasında kullanılan erlen, beher ve magnet saf sudan geçirilmiştir. Hassas terazi de 50 mg NAA tartılmıştır. Tartılan 50 mg NAA önce 1N NaOH (maksimum 2 mL) ile çözündürülmüştür. Çözündürülen NAA hormonu 50 mL su içerisine konularak karıştırıcı da magnet yardımı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu hormon steril kabin içerisinde steril filtre ve enjektör yardımı ile sterilizasyon işlemi yapılmıştır.

IBA (İndolbütirik asit) Hormonunun Stok (1x1 oranında) Hazırlanışı:

Hormon hazırlama sırasında kullanılan erlen, beher ve magnet saf sudan geçirilmiştir. Hassas terazi de 50 mg IBA tartılmıştır. Tartılan 50 mg IBA önce 1N NaOH (maksimum 2 mL) ile çözündürülmüştür. Çözündürülen IBA hormonu 50 mL su içerisine konularak karıştırıcı da magnet yardımı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu hormon steril kabin içerisinde steril filtre ve enjektör yardımı ile sterilizasyon işlemi yapılmıştır.

Zeatin Riboside Hormonunun Stok (1x1 oranında) Hazırlanışı:

Hormon hazırlama sırasında kullanılan erlen, beher ve magnet saf sudan geçirilmiştir. Hassas terazi de 20 mg zeatin riboside tartılmıştır. Tartılan 20 mg zeatin riboside önce 1N 2-3 damla NaOH ile çözündürülmüştür. Çözündürülen zeatin riboside hormonu 20 mL su içerisine konularak karıştırıcı da magnet yardımı ile karıştırılmıştır. Hazırlanan bu hormon steril kabin içerisinde steril filtre ve enjektör yardımı ile sterilizasyon işlemi yapılmıştır.

MS Stok vitamin (1000x) (1x1 oranında) Hazırlanışı:

100 mL saf su içerisinde çözündürülmüştür.

Thiamine-HCl = 1.0 mg

Nicotinic acid = 0.5 mg

Pyridoxine-HCL = 0.5 mg

Glycine = 2.0 mg

Myo-inositol = 100 mg

HCl Hazırlama:

1 N olarak hazırlanmıştır.

$$1 \times 100 = 12 \times X$$

$$X = 100/12$$

$$X = 8.33 \text{ mL}$$

$$\text{Su (dH}_2\text{O)} + \text{asit} + \text{su(dH}_2\text{O)} = 100 \text{ mL}$$

NaOH hazırlama:

Molekül ağırlığı = 40 g/mol

$$M = n/v$$

$$1 \text{ M} = 1 \text{ Mol/L}$$

$$1 \text{ Molar NaOH} = 40/1000$$

$$40 \text{ g/1} = x/0.1$$

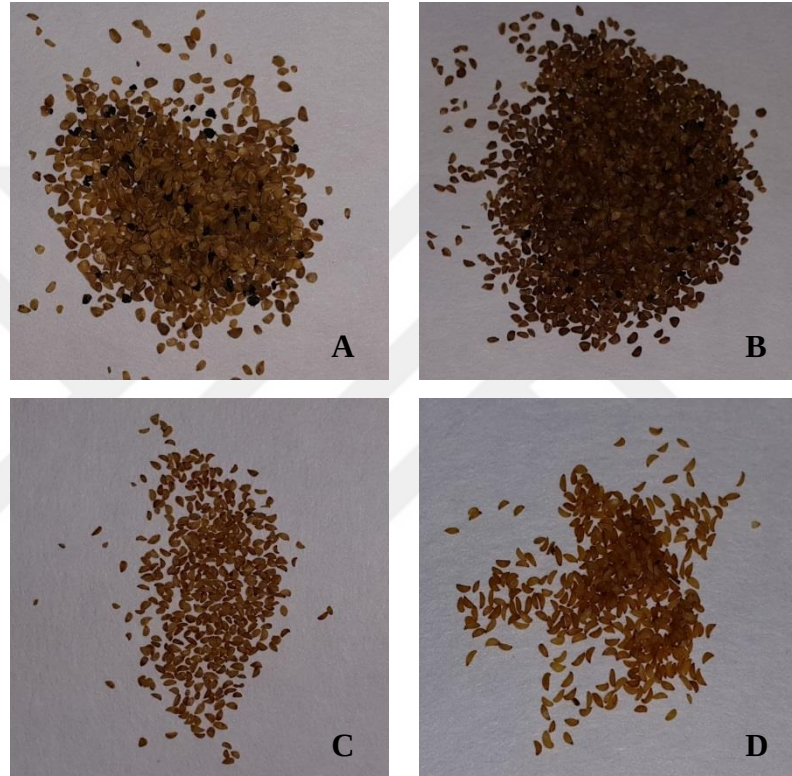
100 mL için 4g NaOH gerekli

3.2 Metod

3.2.1 Tohumların *in vitro* koşullarda imlendirilmesi

3.2.1.1 Tohum sterilizasyonu

Survey yolu ile 30.08.2014 tarihinde dört yabani *Vaccinium* rneklerinden tohum alınmıştır. Tohumların dormansisini kırmak için 4 C’ de üç ay bekletilmiştir.



şekil 3.1. A, B, C, D kodlu *Vaccinium* rneklerinden tohumları.

Tohumların Sterilizasyonu:

Vaccinium tohumları %70’lik ethanol ile 1 d sterile edilmiştir. Daha sonra üç kez saf su (dH₂O) ile yıkanmıştır. %5’lik 1 mL NaOCl ile 1 d sterile edilip, üç kez saf su ile yıkanmıştır. Sterilizasyon işleminde 1-2 damla Tween 20 kullanılmıştır. Daha sonra saf su ile tohumlar yıkanıp kurutma kağıdın da kurumaya alınmıştır. Kurutulan maviyemiş tohumları hazırlanan MS besin ortamı bulunan kavanozlara ekilmiştir.



Şekil 3.2. *Vaccinium* tohumlarının sterilizasyonu

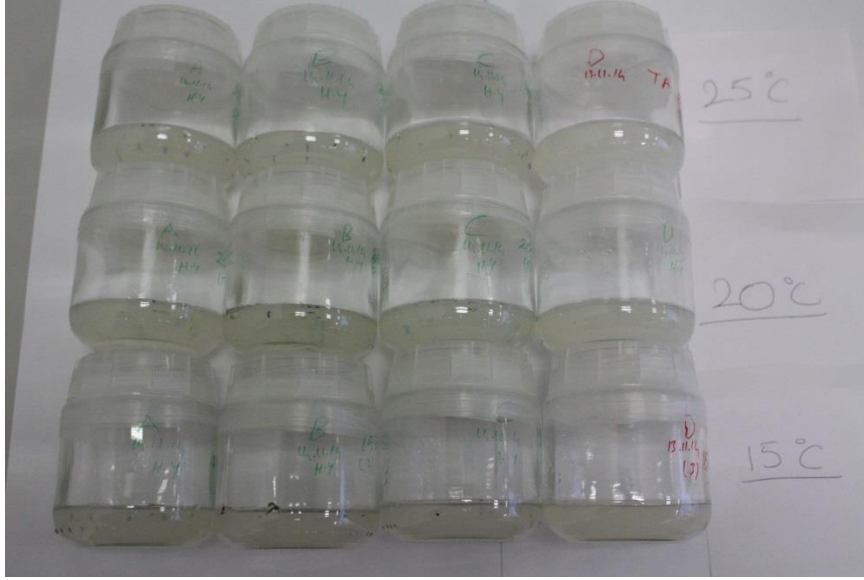
3.2.1.2 Çimlendirme denemelerinin kurulması

3.2.1.2.1 *Vaccinium* örneklerinin tohumlarının çimlendirilmesi

Çizelge 3.3. Denemenin kurulması şeması

Sıcaklık	Yineleme ₁	Yineleme ₂	Yineleme ₃
15 °C	20 Tohum	20 Tohum	20 Tohum
20 °C	20 Tohum	20 Tohum	20 Tohum
25 °C	20 Tohum	20 Tohum	20 Tohum

Bu deneme dört farklı *Vaccinium* örnekleri ile üç farklı sıcaklıkta (15 °C, 20 °C, 25 °C) üç tekerrürlü ve her yinelemeli 20 tohum olacak şekilde (Çizelge 3.3.) laboratuvar ortamında çimlendirme kabininde (inkibator) gerçekleştirilmiştir. Çimlendirme ortamı MS ortamı kullanılmıştır. Çimlendirme kabininde ışık sürekli (24 saat) açılmıştır.



Şekil 3.3. *Vaccinium* örneklerinde çimlendirme denemesinde görüntü

3.2.1.2.2 *Vaccinium* örneklerinin tohumlarının farklı besi ortamlarında çimlendirilmesi

Bu deneme dört farklı *Vaccinium* genotipi ile 20 °C sıcaklıkta üç tekerrürlü ve her tekerrürde 20 tohum olacak şekilde iki farklı besin ortamı (MS ve WPM) kullanılarak, laboratuvar ortamında çimlendirme kabininde gerçekleştirilmiştir.

Çimlendirme ortamı MS ortamı ve WPM ortamı kullanılmıştır. Çimlendirme kabininde ışık sürekli açılmıştır.

3.2.2 Tomurcukların *in vitro* Koşullarda Kültüre Alınması

Tez çalışmasında kullanılan maviyemiş genotiplerinin tomurcukları *in vitro* koşullarda kültüre alınmıştır. Bu amaçla arazide bulunan bitkilerin halen büyümekte olan tomurcukları içeren sağlıklı sürgünleri bitkiden kesilmiş ve sterilizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Sterilizasyon işleminden sonra tomurcukları içeren 1-2 cm uzunluğundaki sürgünler kültüre alınmıştır.

3.2.2.1 Tomurcukların Sterilizasyonu

Tomurcukları içeren dallar meristem dokusuna zarar vermeden dikkatlice kesildikten sonra sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sterilizasyon işleminde tomurcuklar öncelikle %95'lik etil alkolde hızlıca çalkalanıp etil alkol dökülmüştür. Tomurcuklar daha sonra 1-2 damla Tween 20 içeren %10'luk HCl (%0.615) sodyum hipoklorit) çözeltisinde 10 dakika bekletilmiştir. Sterilant maddelerin uzaklaştırılması amacıyla üç defa steril saf su ile yıkanmıştır.

3.2.2.2 Tomurcukların Kültüre Alınması

Sterilizasyon işlemi gerçekleştirildikten sonra tomurcukları içeren 1-2 cm uzunluğundaki dallar WP besin ortamı içeren kavanozlara aktarılmıştır. WP besin ortamı içerisine 1 mg/L stok vitamin çözeltisi, 2 mg/L Zeatin Ribosid, 20 g/L sakkaroz ve 3.75 g/L agar ilave edilmiştir. Besin ortamının pH'sı 5,0'e ayarlanmıştır. Tomurcuklar 16 saat aydınlık 8 saat karanlık, 25°C koşullarında kültüre alınmıştır.

3.2.3. Mikroçoğaltım Denemesinin Kurulması

Tez çalışmasında kullanılan 11 genotipinin tomurcuklarından elde edilen sürgünler ile mikroçoğaltım denemesi kurulmuştur. Bitkiciklerin çoğaltılması amacıyla, sitokinin grubu bitki büyüme düzenleyicilerinden BA, Zeatin ve 2-IP' nin farklı konsantrasyonlarını içeren WP besin ortamı kullanılmıştır. Mikroçoğaltım denemesinde BA ve 2-IP'nin 0,0, 0,5, 1,0 ve 2,0 mg/L olmak üzere dört konsantrasyonu, Zeatinin 0,0, 1,0, 2,0 ve 4,0 mg/L olmak üzere dört konsantrasyonu kullanılmıştır (Çizelge 3.4). Çoğaltma ortamlarına aktarılan bitkicikler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık, 25°C koşullarında kültüre alınmıştır. Bitkicikler dört haftada bir alt kültüre alınmıştır. Bitkicikler üç defa alt kültüre alınmıştır.



Şekil 3.4. Steril kabinde bitkilerin aktarılması

Mikroçoğaltım Aşamasında Yapılan İşlemler:

1. Kardeşlenme Oranı (Sürgün Sayısı): Her alt kültürde her bitkicikten elde edilen kardeş sayısı belirlenmiştir.
2. Rejenarasyon Oranı: Burada eksplantların sürmesi gözlemlenmiş ve sonuç yüzde (%) olarak verilmiştir.
3. Sürgün Uzunluğu: Bitkiciklerin sürgün uzunlukları ölçülmüş ve bu işlem için cetvel kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Mikroçoğaltım denemesinde kullanılacak olan sitokinin çeşidi ve konsantrasyonları

Sitokinin	Konsantrasyonu (mg/L)
BA	0.0
	0.5
	1.0
	2.0
Zeatin	0.0
	1.0
	2.0
	4.0
2-IP	0.0
	0.5
	1.0
	2.0

3.2.4 Bitkiciklerin Köklendirilmesi

Mikroçoğaltım denemesindeki 11 genotip ile köklendirme denemesi kurulmuştur. Mikroçoğaltım denemesi sonucunda elde edilen bitkiciklerin köklendirilmesi amacıyla oksin grubu bitki büyüme düzenleyicilerinden IBA (İndolbütirik asit) ve NAA (Naftalen asetik asit)'nın farklı konsantrasyonlarını (0.0, 0.5, 1.0, 1.5 mg/L) içeren WP besin ortamı kullanılmıştır (Çizelge 3.5). WP besin ortamı içerisine 1 mg/L stok vitamin çözeltisi, 20 g/L sakaroz ve 3.75 g/L agar ilave edilmiştir. Besin ortamının pH'sı 5.0'e ayarlanmıştır.

Çizelge 3.5. Köklendirme denemesinde kullanılacak olan oksin çeşidi ve konsantrasyonları

Oksin	Konsantrasyonu (mg/L)
IBA	0.0
	0.5
	1.0
	1.5
NAA	0.0
	0.5
	1.0
	1.5

Köklendirme ortamlarına aktarılan bitkicikler 16 saat aydınlık 8 saat karanlık, 25°C koşullarında kültüre alınmıştır. Bitkicikler 6 hafta köklendirme ortamında kültüre alınmıştır. Altı hafta sonunda köklenen bitkiler dış koşullara aktarılmıştır.

Köklendirme Aşamasında Yapılan İşlemler:

1. Kök Sayısı: Köklendirme ortamındaki bitkiciklerin kökleri sayılmıştır.
2. Kök Uzunluğu: Köklendirme ortamındaki bitkiciklerin oluşan köklerinin uzunluğu ölçülmüştür. Bu işlem için cetvel kullanılmıştır.

3.2.5 Bitkilerin Dış Koşullara Aktarılması

Köklendirme denemesindeki maviyemiş genotiplerinde ki köklenen bitkiler dış ortama aktarılmıştır. Köklenen bitkiler dış koşullara aktarılmadan önce bitkilerin bulunduğu kavanozların kapakları kademeli olarak açılarak laboratuvarında ön alıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bitkiler su ile agardan tamamen uzaklaştırıldıktan sonra serada 1:1 oranda steril torf: perlit karışımı içeren viyollere aktarılmıştır. Dış ortama aktarılan bitkilerin yaşama oranına bakılmıştır. Bu oran yüzde (%) olarak değerlendirilmiştir.

3.2.6 İstatistiksel Analizler

Tez çalışması kapsamında maviyemiş genotiplerinin çoğaltılması ve köklendirilmesi denemeleri dört tekerrürlü ve her tekerrürde 10 bitkicik olacak şekilde faktöriyel düzende tesadüf parselleri deneme planına göre kurulmuştur. Projede kullanılacak maviyemiş genotiplerinin mikroçoğaltım çalışmaları sonucunda elde edilen kardeşlenme oranları ve köklendirme denemesi sonucunda elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuştur. Yüze değerler açış transformasyonuna tabi tutulmuştur. Varyans analizi sonucunda ortalamalar LSD testi ile karşılaştırılmıştır. İstatistiksel analizler SAS paket programında gerçekleştirilmiştir.

BÖLÜM IV

BULGULAR

4.1 Çimlendirme Denemeleri

4.1.1 Yabani *Vaccinium* tohumlarının çimlendirilmesi

Deneme sonucunda örneklerin, sıcaklıkların ve interaksiyonun istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.1). *V. arctostaphylos* L. ve *V. myrtillus* L. örnekleri benzer oranda çimlenirken, *V. uliginosum* L. tohumlarında çok düşük çimlenme tesbit edilmiştir. En yüksek çimlenme oracı 20 °C tesbit edilirken, hem 15 °C hem de 25 °C uygulamalarında çimlenme oranı daha düşük kalmıştır.

Çizelge 4.1. Farklı sıcaklıklarda çimlendirilen yabani *Vaccinium* örneğinde 15 hafta sonunda çimlenen bitki yüzdesi (%).

Kaynak	Çimlenen bitki yüzdesi (%)	
Örnek		
<i>V. arctostaphylos</i> L.-1	20	a
<i>V. arctostaphylos</i> L.-2	31	a
<i>V. myrtillus</i> L.	22	a
<i>V. uliginosum</i> L.	4	b
LSD	13	
Sıcaklık		
15 °C	15	b
20 °C	34	a
25 °C	8	b
LSD	11	
Ortalama		

4.1.2 Yabani *Vaccinium* tohumlarının farklı besi ortamlarında çimlendirilmesi

Dört yabani *Vaccinium* tohumlarının çimlenmesi üzerine besin ortamının etkisi WPM ve MS kullanılarak 20 °C sıcaklıkta araştırılmıştır. 15 hafta sonunda 20 tohumdan çimlenen tohum miktarı Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Sonuçlar, tohumların çimlenmesi üzerinde ortamın etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığını; benzer şekilde, interaksiyonunda önemli olmadığı ancak örneklerin çimlenme oranlarının farklılık gösterdiğini ortaya

çıkarmıştır. Birinci denemeye benzer şekilde *V. uliginosum* L. tohumlarında çimlenme oranı *V. arctostaphylos* L. ve *V. myrtillus* L. örneklerinden daha düşük oranda gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.2. Farklı sıcaklıklarda çimlendirilen yabani *Vaccinium* örneklerinde 15 hafta sonunda çimlenen bitki yüzdesi (%) (20 tohumdan).

Kaynak	Çimlenen bitki yüzdesi (%)	
Örnek		
<i>V. arctostaphylos</i> L.-1	69	a
<i>V. arctostaphylos</i> L.-2	65	a
<i>V. myrtillus</i> L.	45	b
<i>V. uliginosum</i> L.	1	c
LSD	10	
Ortam		
MS	45	
WPM	45	
LSD	ö.d.	
Ortalama	45	

4.2 Mikroçoğaltım (Alt Kültür)

Deneme kapsamında kullanılan mikroçoğaltım uygulamaları, kullanılan bitki materyaline göre değişik sonuçlar vermiştir. ‘Chanticleer’ çeşidi zeatin hormonu konsantrasyonları içerisinde en iyi gelişimi 2 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Zeatinin 1 mg/L konsantrasyonunda ikinci iyi gelişim gözlemlenmiştir. Kardeşlenmenin en fazla gözlemlendiği hormon konsantrasyonu ise zeatin 4 mg/L’dir. ‘Chanticleer’ çeşidi 2-IP hormon konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonu göstermiştir. 2-IP de 2 mg/L konsantrasyonunda ikinci iyi gelişim gözlemlenmiştir. ‘Chanticleer’ çeşidi BA hormonu konsantrasyonları içerisinde gelişim göstermemiştir.

‘Hannah’s Choice’ çeşidi zeatin hormonu konsantrasyonları içerisinde en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Zeatin 2 mg/L konsantrasyonunda ikinci iyi gelişim gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda gelişim gözlemlenmemiştir. En fazla kardeşlenme zeatin 4 mg/L de gözlemlenmiştir. ‘Hannah’s Choice’ çeşidi 2-IP hormonu konsantrasyonları içerisinde iyi bitki gelişimini 0,5 mg/L göstermiştir. Sırasıyla konsantrasyonların gelişimi 0,5 mg/L, 1 mg/L ve 2 mg/L olarak gözlemlenmiştir. ‘Hannah’s Choice’ çeşidi BA hormonu konsantrasyonları içerisinde en iyi gelişimi 0,5

mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Bu gelişimi 2 mg/L BA konsantrasyonu takip etmiştir.

‘Brigitta’ çeşidi zeatin hormonu konsantrasyonlarında kardeşlenme gözlemlenmiştir. Ayrıca zeatin konsantrasyonları içerisinde en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. ‘Brigitta’ çeşidi BA hormonu konsantrasyonlarında bitki gelişimi göstermemiştir. 2-IP hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Brigitta’ çeşidi en iyi gelişimini 1mg/L konsantrasyonunda göstermiştir.

‘Berkeley’ çeşidi zeatin hormonu konsantrasyonları içerisinde kardeşlenme gözlemlenmiştir. Ayrıca ‘Berkeley’ çeşidinin zeatin hormon konsantrasyonları içinde en iyi gelişimi 2 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. 2-IP hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Berkeley’ çeşidinin en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. BA hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Berkeley’ çeşidinin gelişimi 0.5 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir fakat BA hormonu bitki gelişiminde çok etkili olamamıştır.

Zeatin hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Toro’ çeşidinin gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. 4 mg/L konsantrasyonunda gelişim zayıftır. Ayrıca zeatin konsantrasyonlarında kardeşlenme gözlemlenmiştir. ‘Toro’ çeşidinin 2-IP hormonu konsantrasyonlarında gelişim yoktur. Bitki ölümü gözlemlenmiştir. BA hormonu konsantrasyonlarında ‘Toro’ çeşidinin gelişimi yoktur. Bitki ölümü gözlemlenmiştir.

Zeatin hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Aurora’ çeşidi en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Zeatin konsantrasyonlarında kardeşlenme gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda bitki gelişimi yanında az da olsa kardeşlenme gözlemlenmiştir. BA hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Aurora’ çeşidinin gelişimi az ve benzerdir. 2-IP hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Aurora’ çeşidinin en iyi gelişimi 2 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. Daha sonra bu gelişimi sırasıyla 0,5 mg/L ve 1 mg/L konsantrasyonları takip etmiştir.

Zeatin hormonu konsantrasyonları içerisinde ‘Bonus’ çeşidinin en iyi gelişimi kontrol grubundan sonra, 1 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. 2-IP hormonu

konsantrasyonları içerisinde ‘Aurora’ çeşidinin en iyi gelişimi sırasıyla 0,5mg/L, 2 mg/L ve 1 mg/L konsantrasyonlarında gözlemlenmiştir. BA hormonu konsantrasyonlarında ‘Bonus’ çeşidinin gelişimi gözlemlenmemiştir. Kontrol grubunda gelişim gözlemlenmiştir.

V. arctostaphylos L.-1 örneğinde zeatin hormonu konsantrasyonları içerisinde en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Daha sonraki en iyi gelişim zeatin 4 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. *V. arctostaphylos* L.-1 örneğinde 2-IP hormonu konsantrasyonları içerisinde en iyi gelişimi 2 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Daha sonraki en iyi gelişim zeatin 0.5 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. *V. arctostaphylos* L.-1 örneğinde BA hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 0.5 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. İkinci en iyi gelişim ise 0.5 mg/L BA konsantrasyonunda gözlemlenmiştir.

V. arctostaphylos L.-2 örneğinde zeatin hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. İkinci en iyi gelişimin gözlemlendiği hormon konsantrasyonu ise 0.5 mg/L’dir. *V. arctostaphylos* L.-2 örneğinde 2-IP hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 0 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. İkinci en iyi gelişimin gözlemlendiği hormon konsantrasyonu ise 0.5 mg/L’dir. *V. arctostaphylos* L.-2 örneğinde BA hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 2 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. İkinci en iyi gelişimin gözlemlendiği hormon konsantrasyonu ise 1 mg/L’dir.

V. myrtillus L. örneğinde zeatin hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. İkinci en iyi gelişimin gözlemlendiği hormon konsantrasyonu ise 2 mg/L’dir. Bununla birlikte en fazla kardeşlenme oranı zeatin 4 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. *V. myrtillus* L. örneğinde için 2-IP hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 0.5 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. İkinci en iyi gelişimin gözlemlendiği hormon konsantrasyonu ise 1 mg/L’dir. Bununla birlikte en fazla kardeşlenme oranı 2-IP’ nin 2 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. *V. myrtillus* L. örneğinde için BA hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 0 mg/L (kontrol) konsantrasyonunda göstermiştir. C çeşidi için BA hormon konsantrasyonları çok etkili olmamıştır.

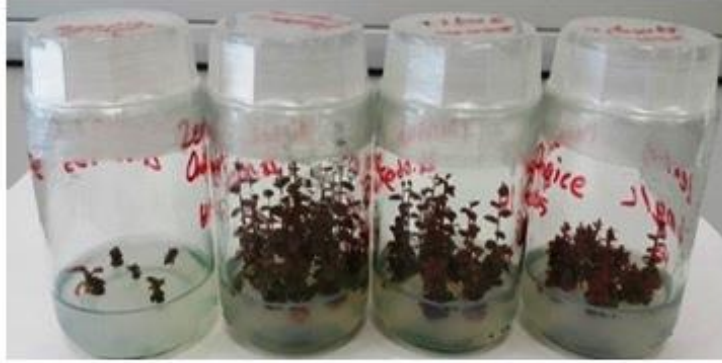
V. uliginosum L. örneğinde zeatin hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Bununla birlikte en fazla kardeşlenme oranı zeatin 4 mg/L, daha sonra da 2 mg/L konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. *V. uliginosum* L. örneğinde 2-IP hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında en iyi gelişimi 2 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. 2-IP' nin 4 mg/L hormon konsantrasyonunda kardeşlenme var fakat gelişim gözlemlenmemiştir. *V. uliginosum* L. örneğinde BA hormonu konsantrasyonları karşılaştırıldığında çeşit gelişimi olmadığı bitkinin öldüğü gözlemlenmiştir. Her bir örnek ve mikroçoğaltma uygulaması için ayrıntılı sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

'Hannah's Choice' çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA'nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin ve 2-IP' nin 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.1).

Zeatin



2-IP

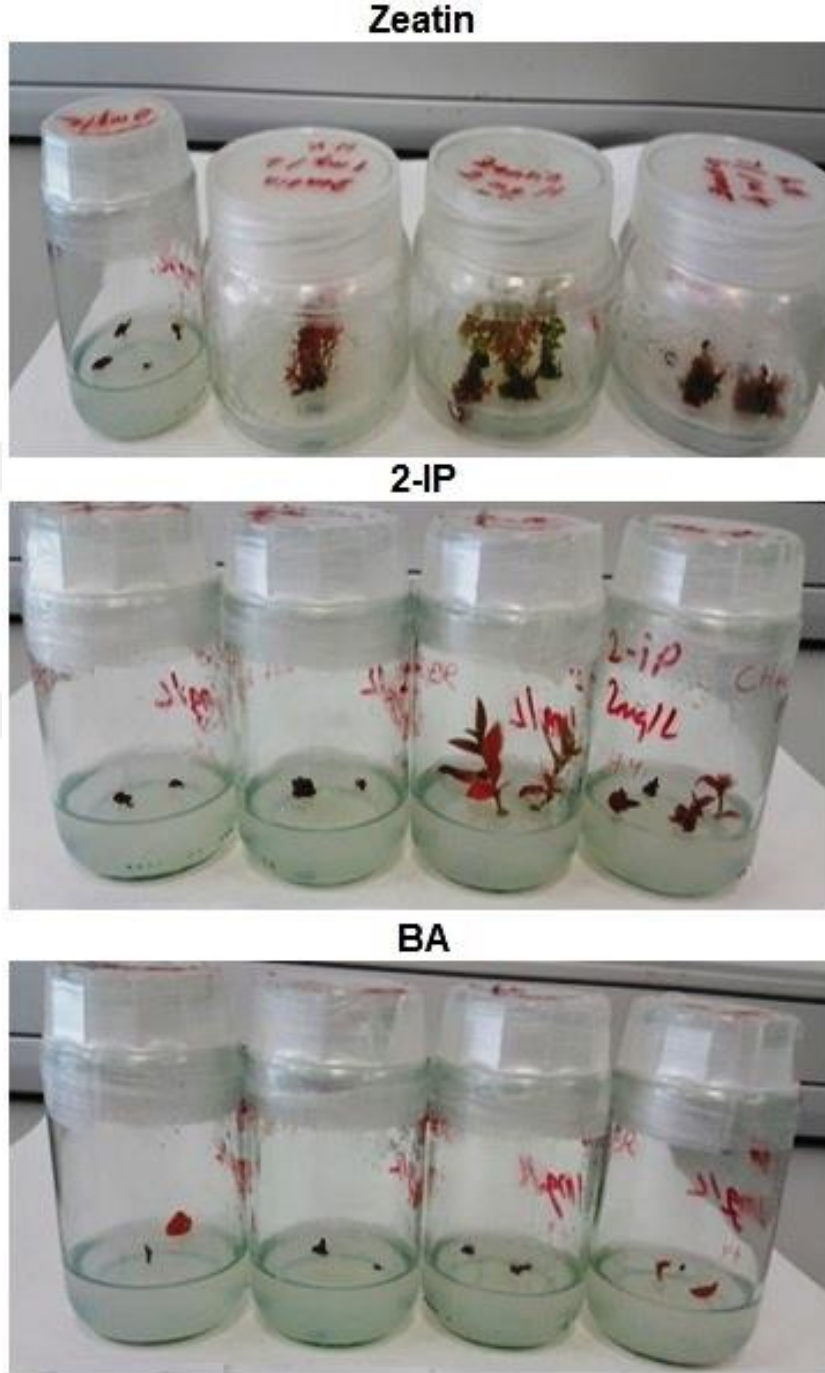


BA



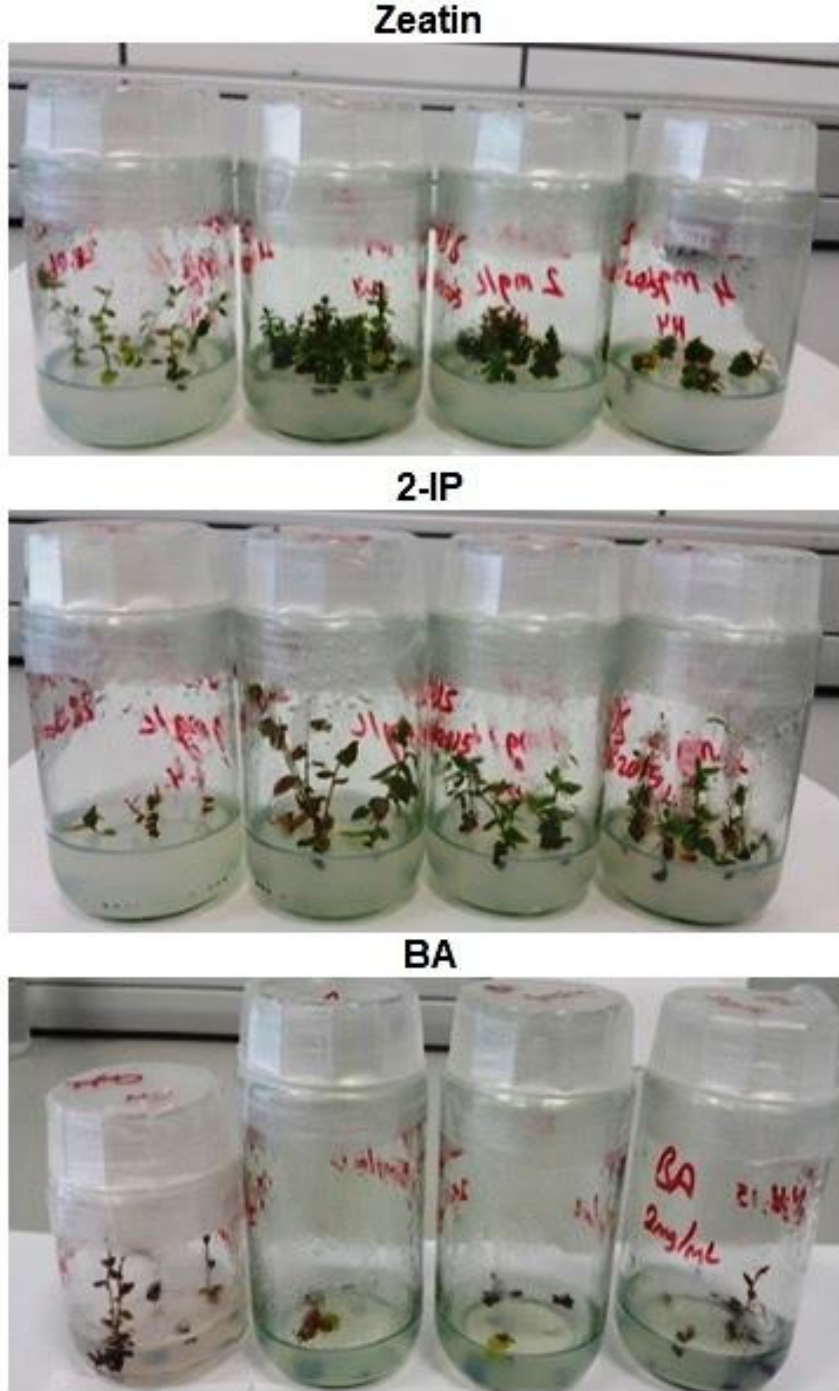
Şekil 4.1. ‘Hannah’s Choice’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

‘Chanticler’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 2 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.2).



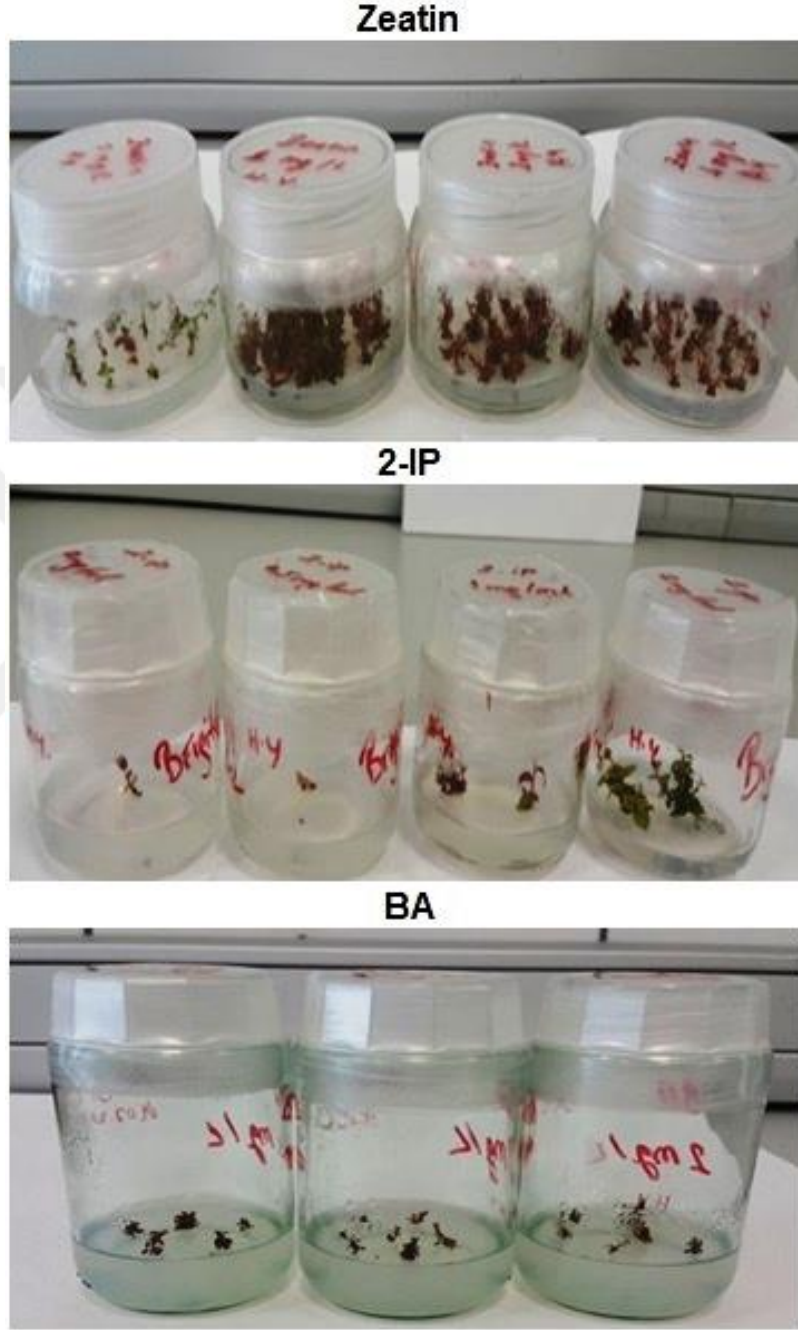
Şekil 4.2. ‘Chanticler’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

‘Bonus’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların 2-IP 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.3).



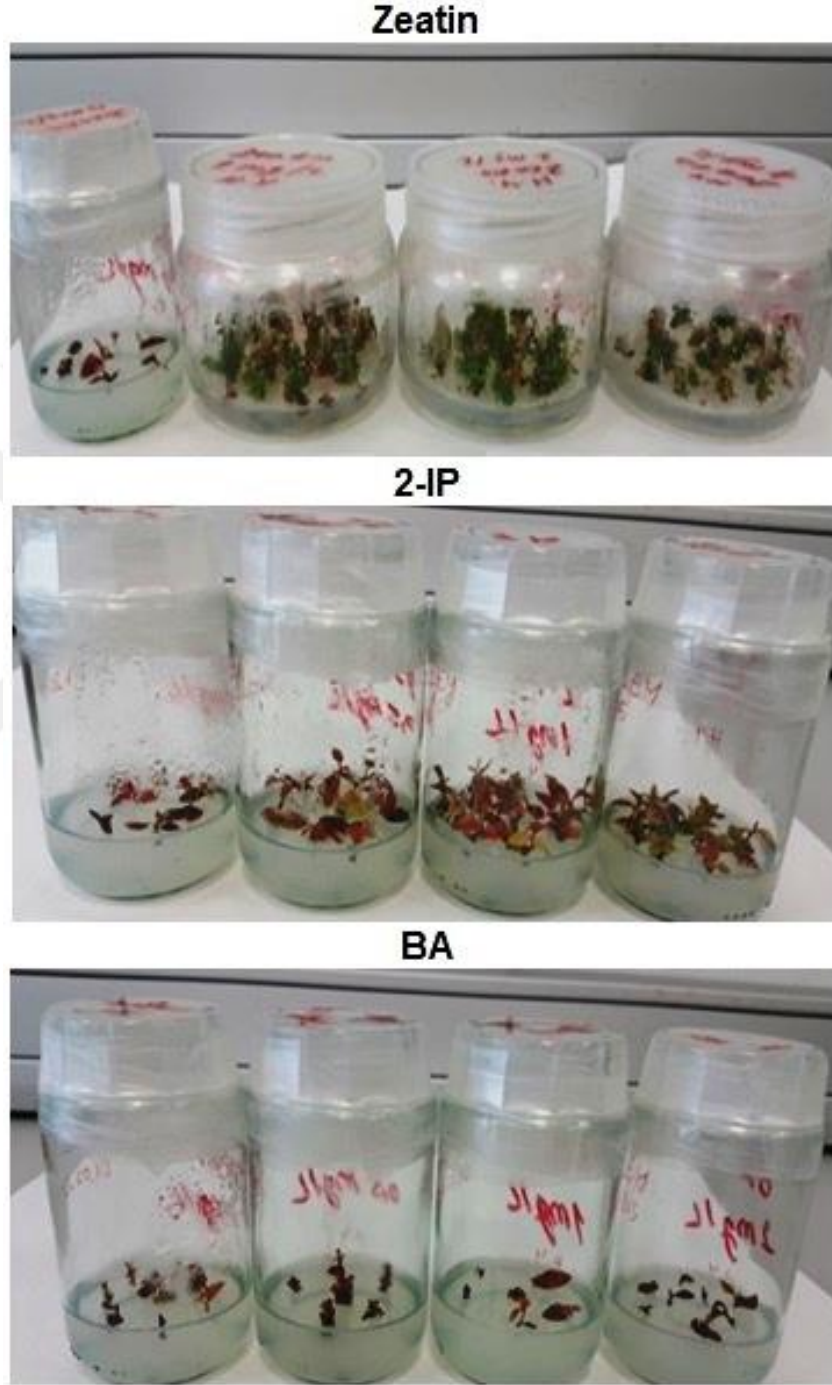
Şekil 4.3. ‘Bonus’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

‘Brigitta’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.4).



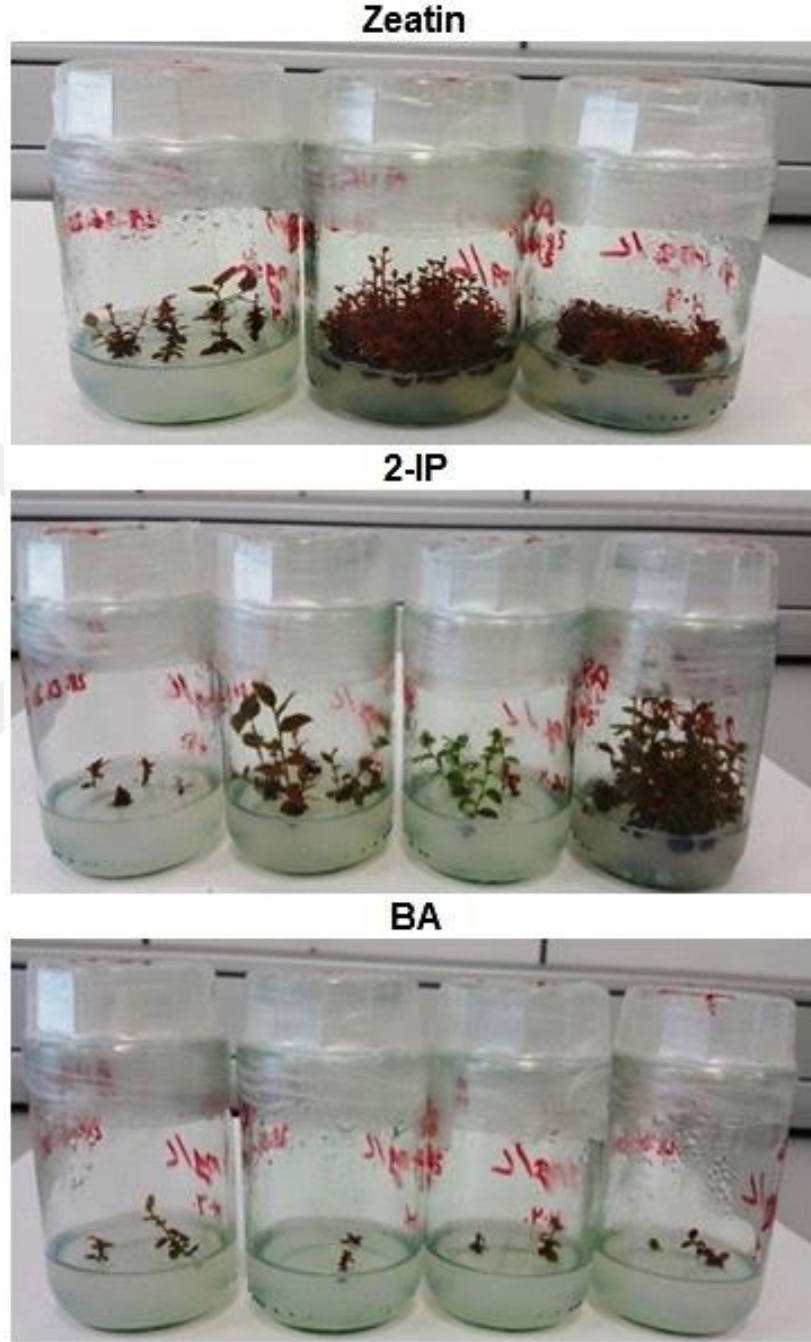
Şekil 4.4. ‘Brigitta’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

‘Berkeley’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 2 mg/L uygulmasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.5).



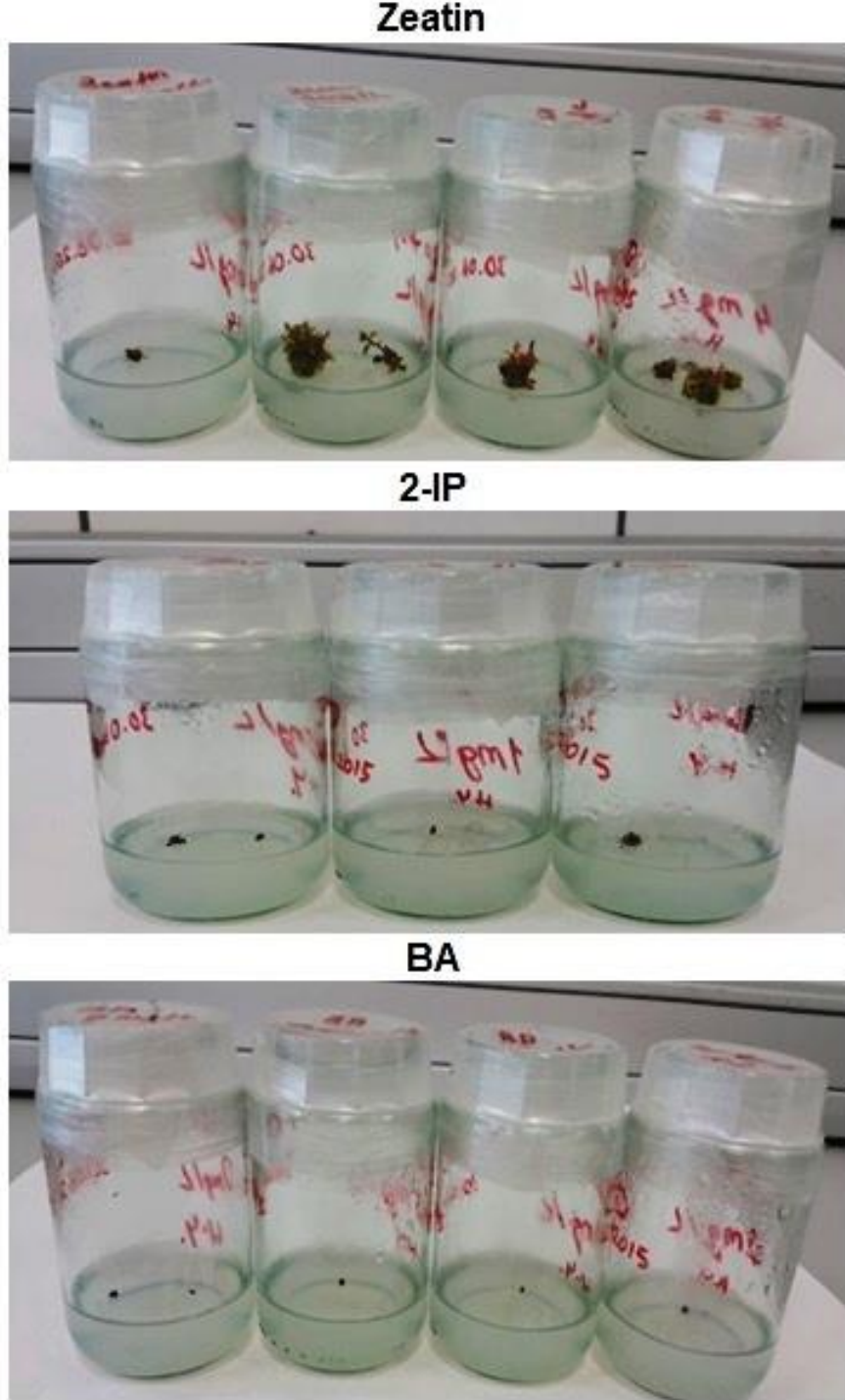
Şekil 4.5. ‘Berkeley’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

‘Aurora’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 1 mg/L uygulmasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.6).



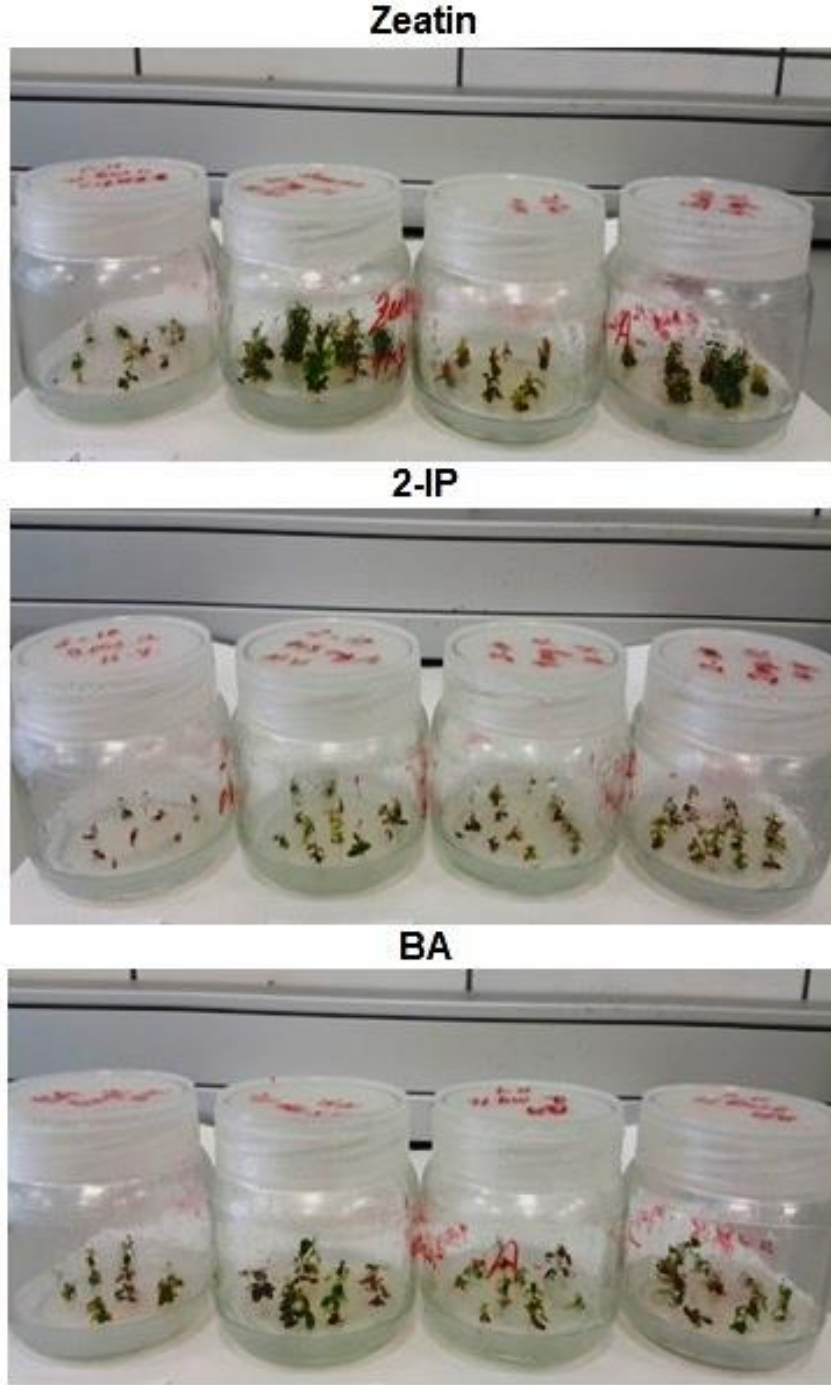
Şekil 4.6. ‘Aurora’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

‘Toro’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.7).



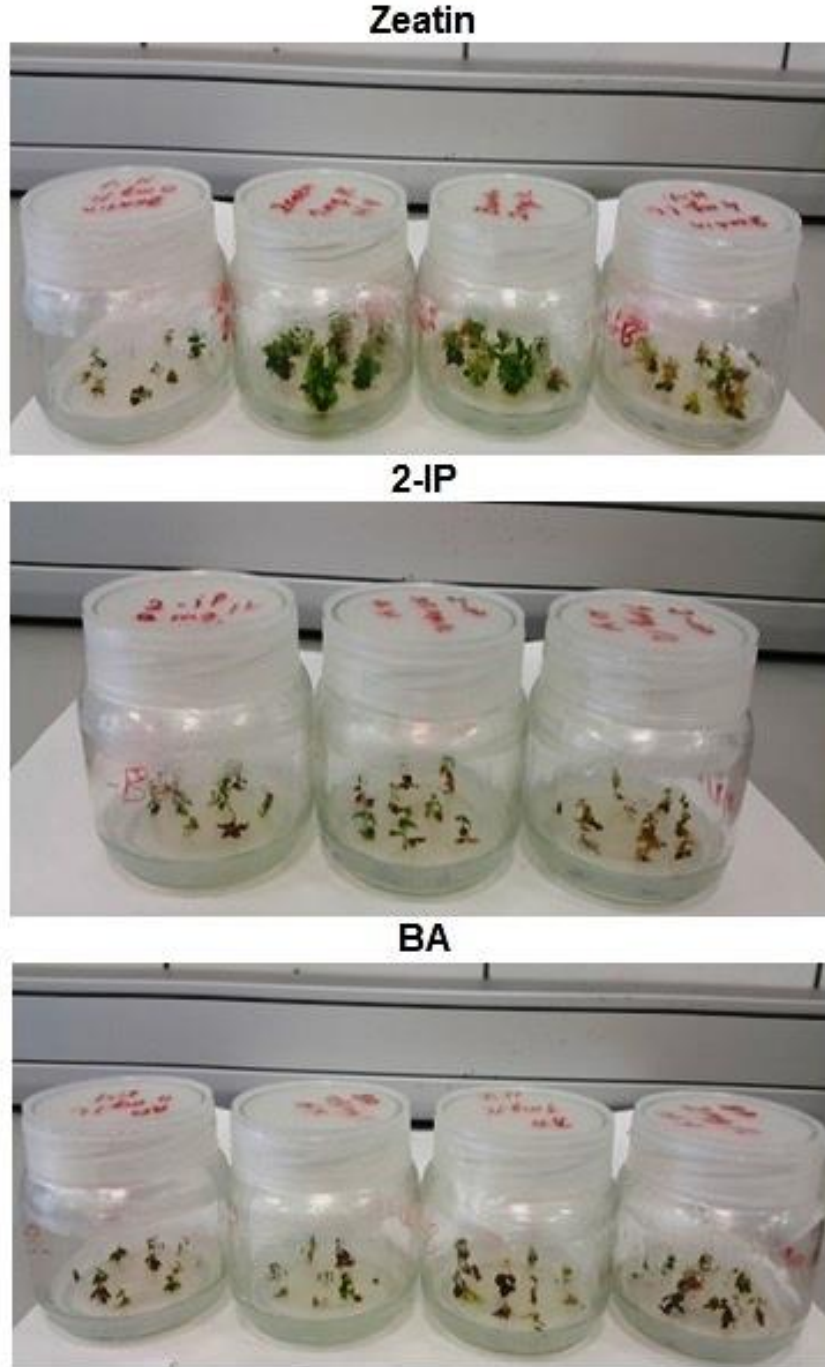
Şekil 4.7. ‘Toro’ çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

'*V. arctostaplylos* L.-1' örneklerinde zeatin, 2-IP ve BA'nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.8).



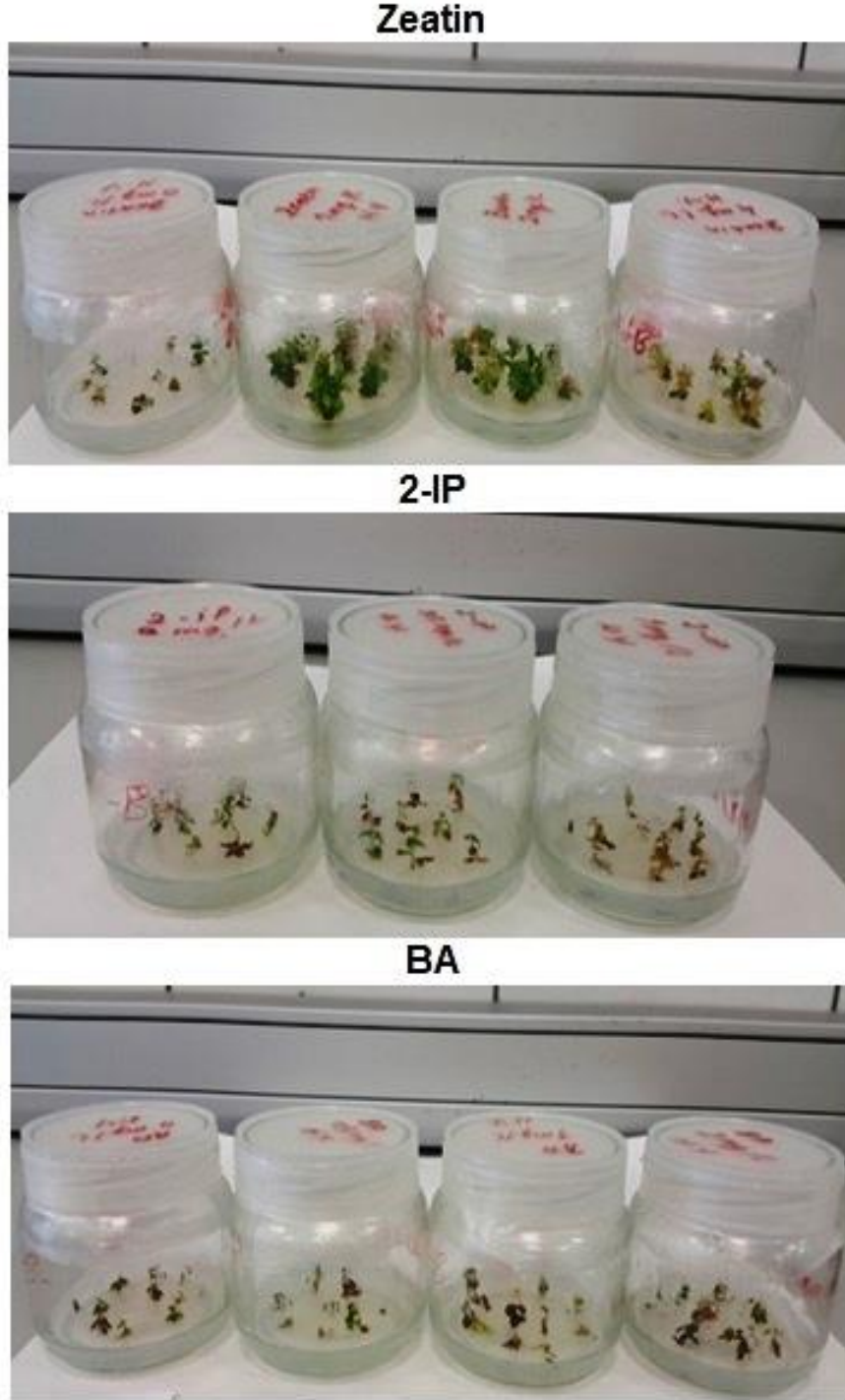
Şekil 4.8. *V. arctostaplylos* L.-1 örneklerinde zeatin, 2-IP ve BA'nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

‘*V. arctostaplylos* L.-2’ örneklerinde çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.9).



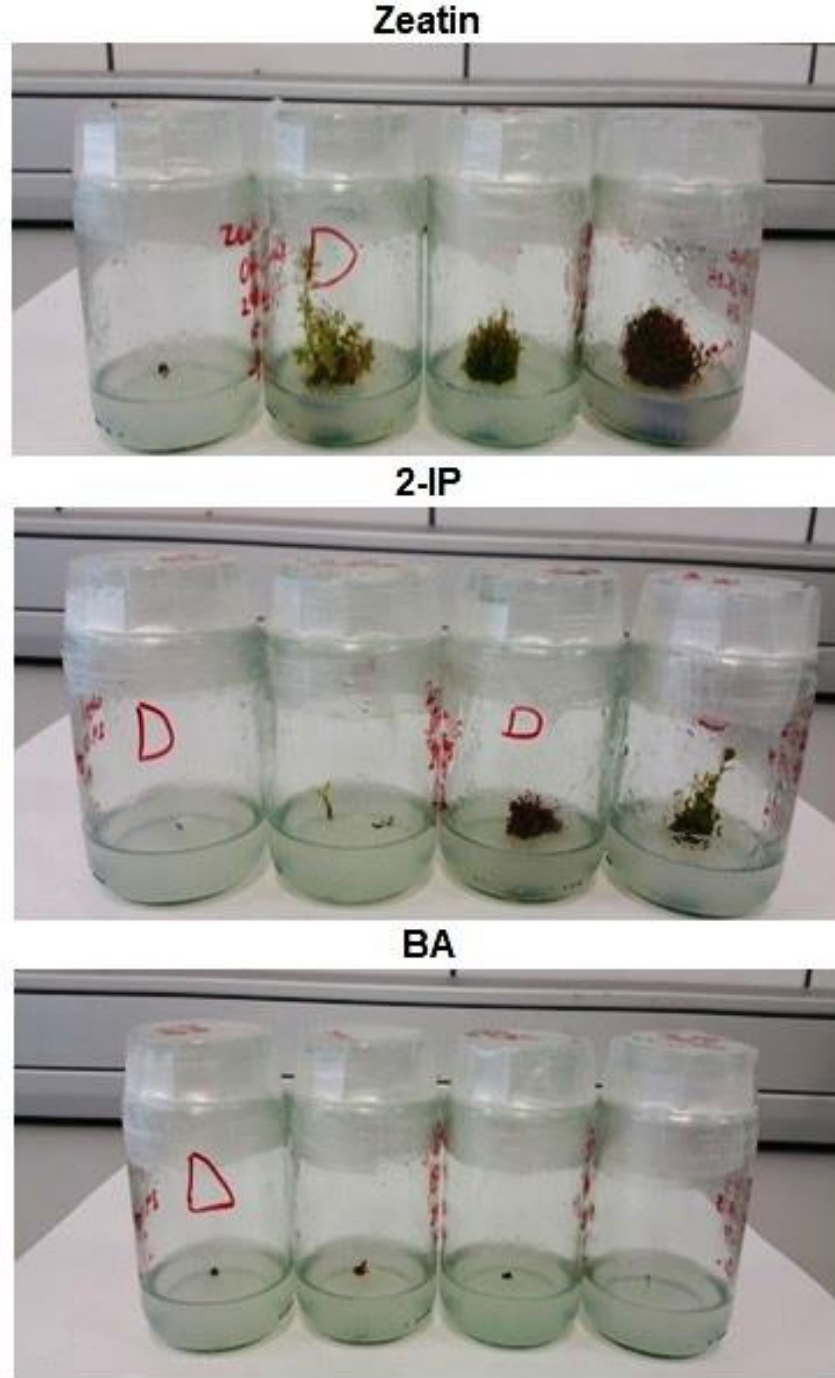
Şekil 4.9. *V. arctostaplylos* L.-2 örneklerinde zeatin, 2-IP ve BA’nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

'*V. myrtillus* L.' örneklerinde çeşitinde zeatin, 2-IP ve BA'nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. *V. myrtillus* L. örneklerinde zeatin, 2-IP ve BA'nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

'*V. uliginosum* L.' örneklerinde çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA'nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri incelendiğinde, en başarılı sonuçların zeatin 1 mg/L uygulamasından elde edildiği saptanmıştır (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. *V. uliginosum* L. örneklerinde çeşidinde zeatin, 2-IP ve BA'nin mikroçoğaltma aşamasındaki etkileri.

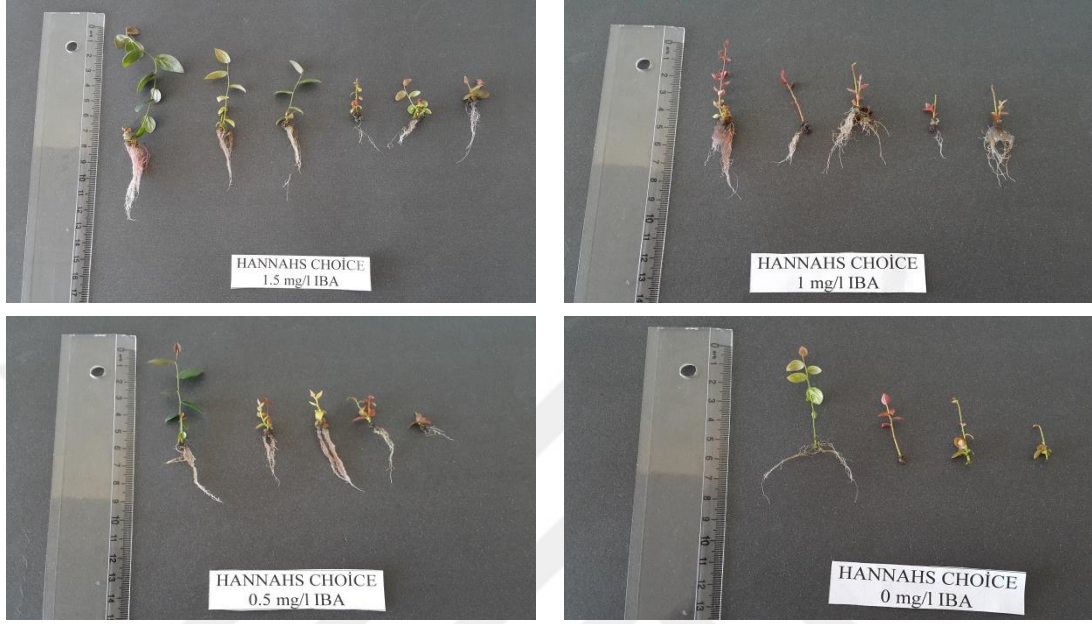
Yabani *Vaccinium* örneklerinin mikroçoğaltım aşaması sırasında *V. arctostaphylos* L.-ve *V. uliginosum* L. örneklerinin kontrol gruplarında hiçbir köklendirme hormonu (oksin) bulunmadığı halde köklenme olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. *V. arctostaphylos* L.-2 ve *V. uliginosum* L. örneklerinin mikroçoğaltımda köklenme görüntüleri

4.3. Köklenme

‘Hannah’s Choice’ çeşidi kontrol grubu dâhil IBA hormonu konsantrasyonlarının hepsinde köklenme gözlemlenmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. ‘Hannah’s Choice’ çeşidinde IBA konsantrasyonları

‘Hannah’s Choice’ eşidi kontrol grubu ve NAA hormonunun 0.5 mg/L konsantrasyonunda köklenme göstermiştir. NAA hormonunun 1.5 mg/L ve 1 mg/L konsantrasyonlarında kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.14).



Şekil 4.14 ‘Hannah’s Choice’ eşidinde NAA konsantrasyonları

'Brigitta' eşidi kontrol grubu ve IBA hormonunun en iyi köklenme 0.5 mg/L konsantrasyonunda köklenme göstermiştir. Kontrol grubunda köklenme gözlemlenmemiştir (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. 'Brigitta' eşidinde IBA konsantrasyonları

‘Brigitta’ eşidi kontrol grubunda köklenme gözlemlenmemiş ve NAA hormonunun 0.5 mg/L konsantrasyonu az da olsa köklenme göstermiştir. NAA hormonunun tüm konsantrasyonlarında kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.16).



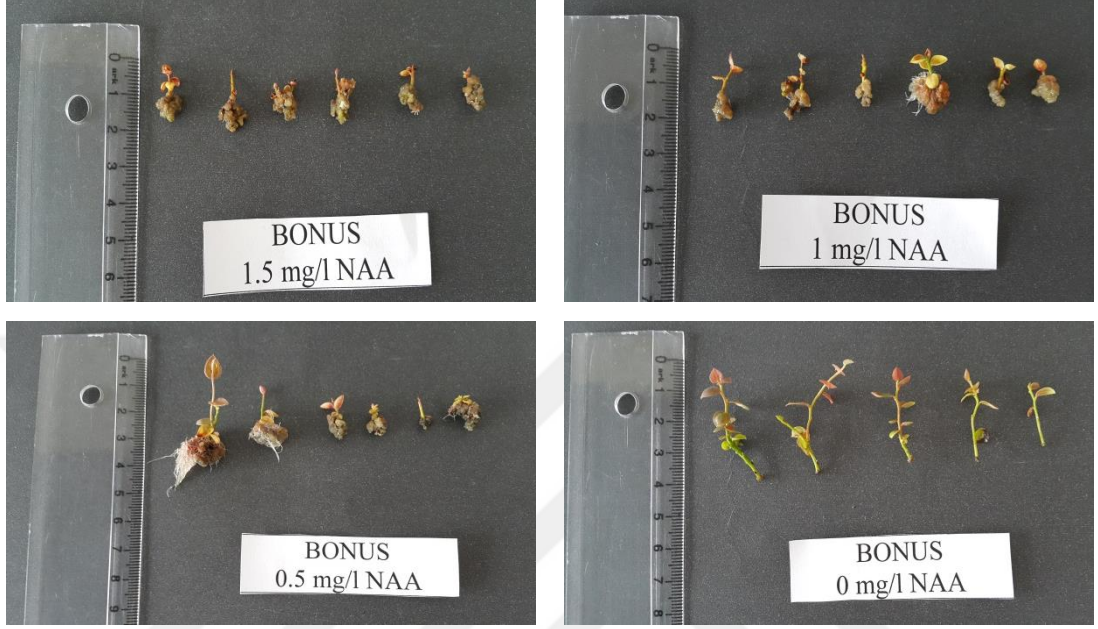
Şekil 4.16 ‘Brigitta’ eşidinde NAA konsantrasyonları

‘Bonus’ eşidi en iyi köklenme 1 mg/L ve 0.5 mg/L IBA hormon konsantrasyonlarında gözlemlenmiştir (şekil 4.17).



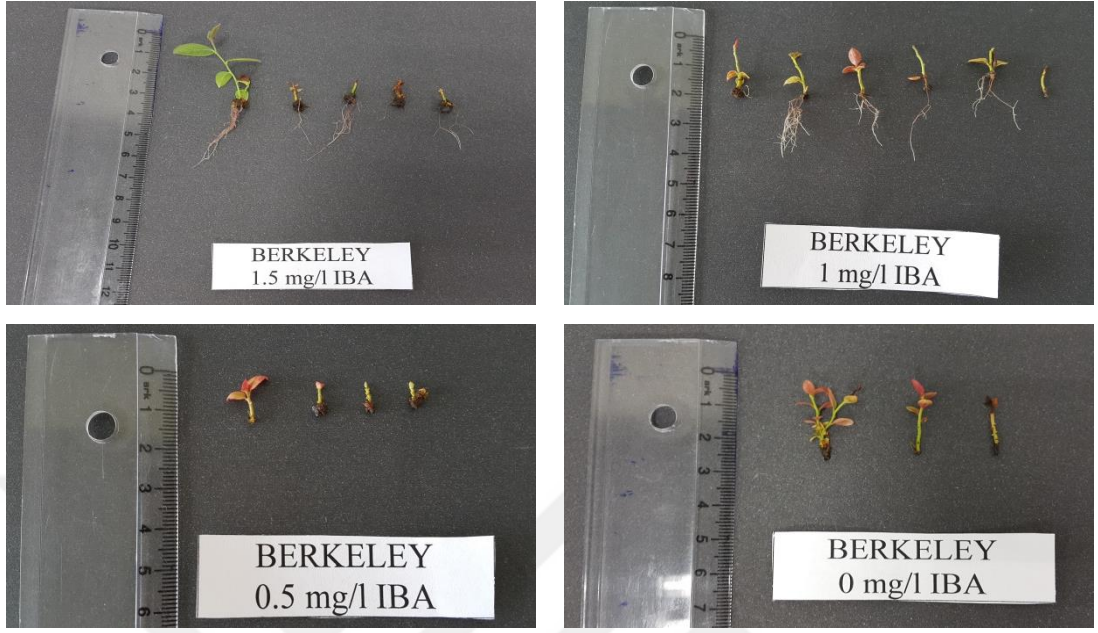
şekil 4.17 ‘Bonus’ eşidinde IBA konsantrasyonları

‘Bonus’ eşidi kontrol grubunda köklenme gözlemlenmemiş ve NAA hormonunun 0.5 mg/L konsantrasyonu köklenme göstermiştir. NAA hormonunun tüm konsantrasyonlarında kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.18).



Şekil 4.18 ‘Bonus’ eşidinde NAA konsantrasyonları

‘Berkeley’ eşidi kontrol grubunda köklenme gözlemlenmemiş ve IBA hormonunun 1.5 mg/L ve 1 mg/L konsantrasyonlarında köklenme gözlemlenmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 ‘Berkeley’ eşidinde IBA konsantrasyonları

‘Berkeley’ eşidi kontrol grubu NAA hormonunun hiçbir konsantrasyonu köklenmemiştir. NAA hormonunun tüm konsantrasyonlarında kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.20).



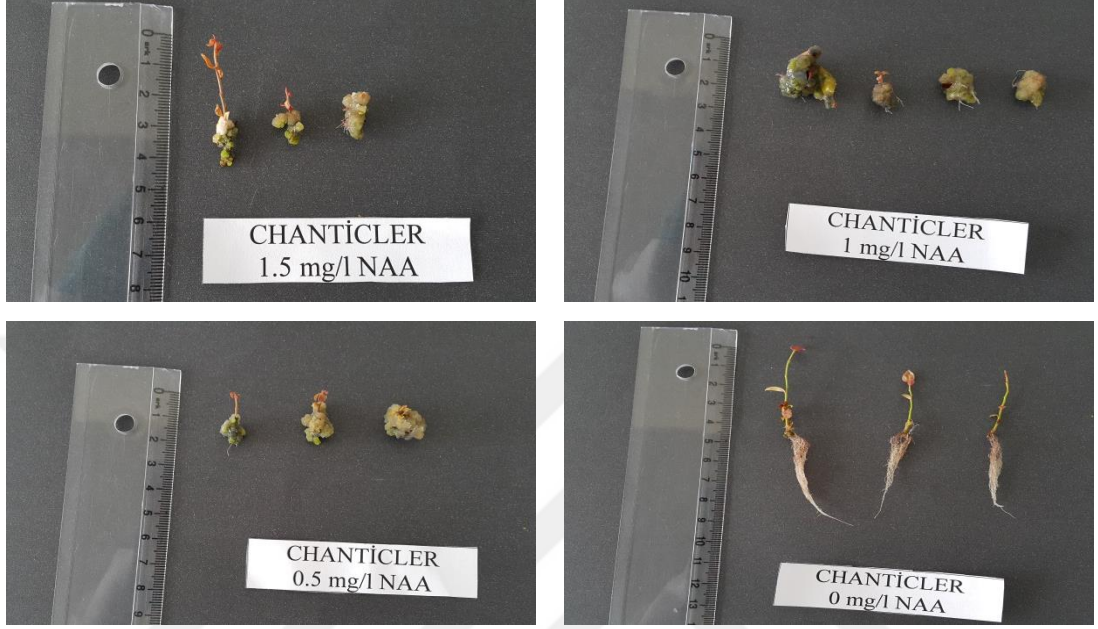
Şekil 4.20 ‘Berkeley’ eşidinde NAA konsantrasyonları

‘Chanticleer’ eşidi kontrol grubunda köklenme gözlemlenmemiş ve IBA hormonunun tüm konsantrasyonları köklenmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21 ‘Chanticleer’ eşidinde IBA konsantrasyonları

‘Chanticleer’ eşidi kontrol grubunda köklenme gözlemlenmiştir. NAA hormon konsantrasyonlarının hiçbirisi köklenmiştir. NAA hormon konsantrasyonlarının tümünde kallus oluşumu görülmüştür (Şekil 4.22).



Şekil 4.22 Chanticleer eşidinde NAA konsantrasyonları

‘Aurora’ eşidi IBA hormon konsantrasyonlarından sadece 1.5 mg/L de köklenme gözlemlenmiştir (Şekil 4.23).



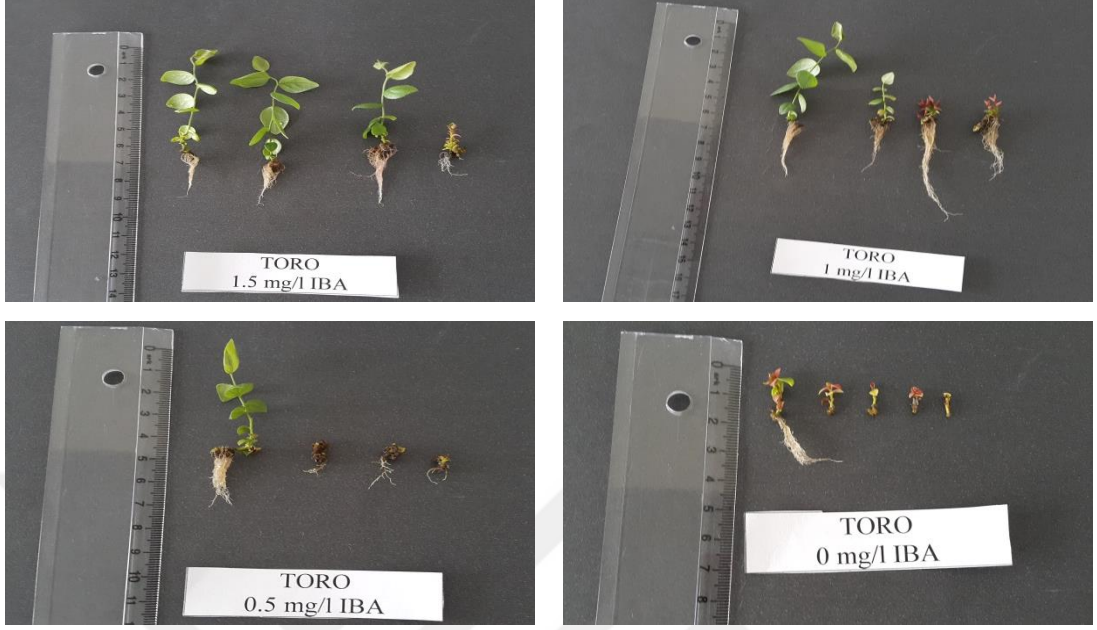
Şekil 4.23 ‘Aurora’ eşidinde IBA konsantrasyonları

‘Aurora’ çeşidi kontrol grubu ve NAA hormon konsantrasyonlarının hiçbirisi köklenmiştir. NAA hormon konsantrasyonlarının tümünde kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.24).



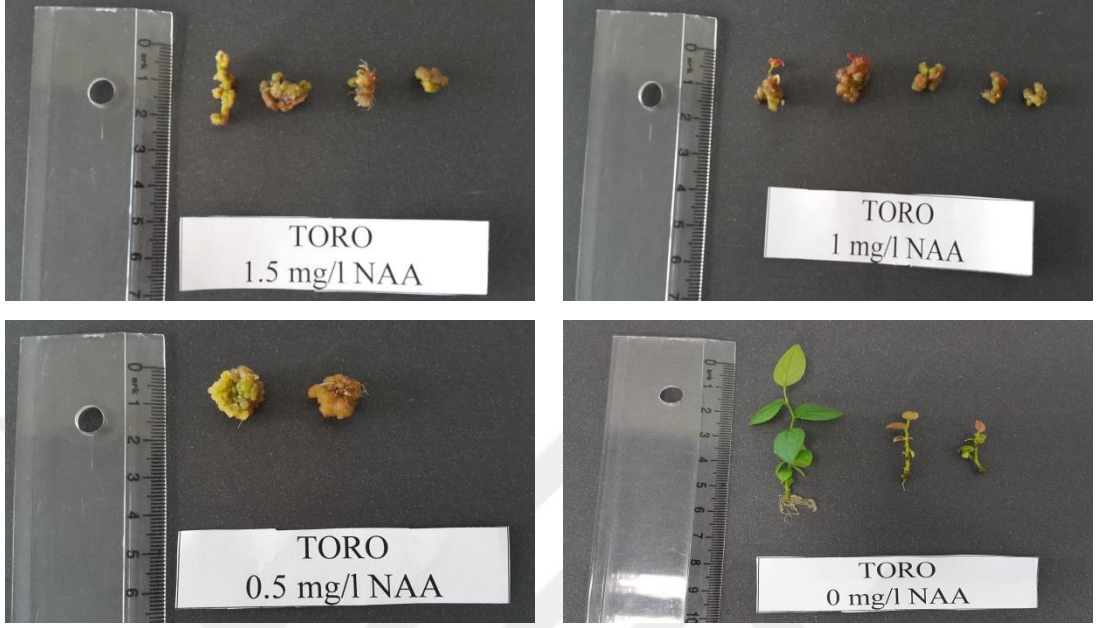
Şekil 4.24 ‘Aurora’ çeşidinde NAA konsantrasyonları

‘Toro’ eşidi kontrol grubu ve IBA hormon konsantrasyonlarının tümünde köklenme gözlemlenmiştir (Şekil 4.25).



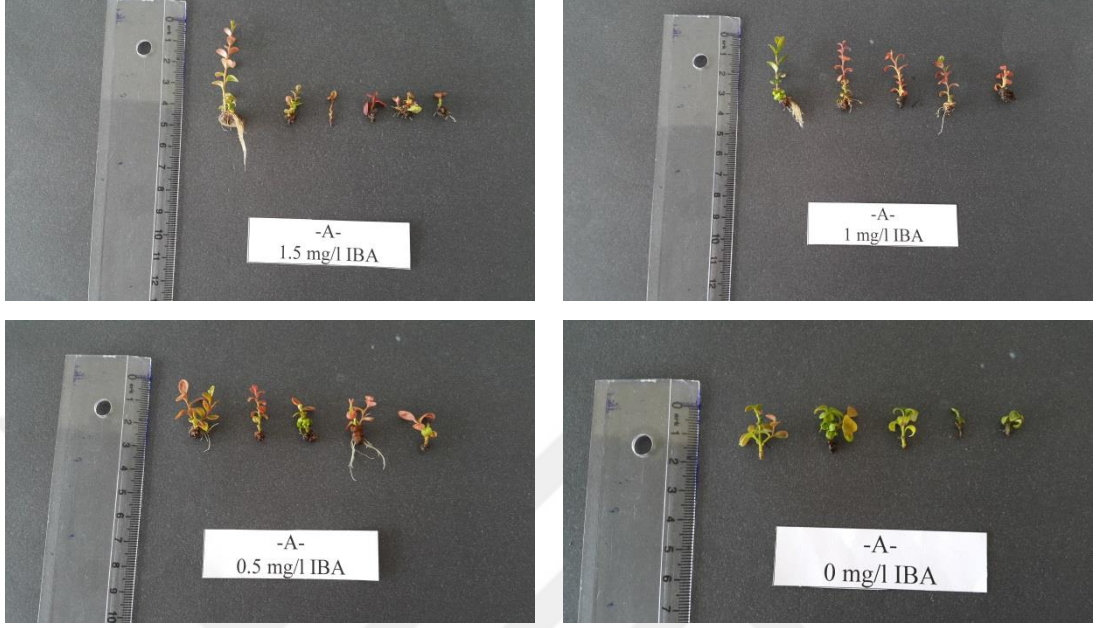
Şekil 4.25 ‘Toro’ eşidinde IBA konsantrasyonları

‘Toro’ çeşidi kontrol grubunda köklenme gözlemlenmiştir. NAA hormon konsantrasyonlarının hiçbirisi köklenmiştir. NAA hormon konsantrasyonlarının tümünde kallus oluşumu görülmüştür (Şekil 4.26).



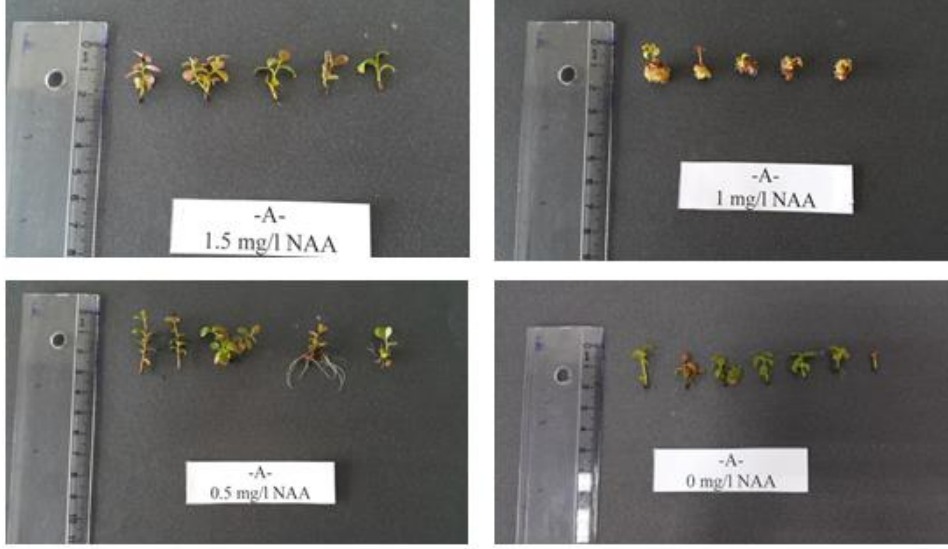
Şekil 4.26 ‘Toro’ çeşidinde IBA konsantrasyonları

V. arctostaphylos L.-1 örneklerinde IBA hormonu konsantrasyonlarının hepsinde köklenme gözlemlenmiştir. En iyi kök gelişimi 1 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir. Kontrol grubunda köklenme gözlemlenmemiştir (Şekil 4.27).



Şekil 4.27 *V. arctostaphylos* L.-1 örneklerinde IBA konsantrasyonları

V. arctostaphylos L.-1 örneklerinde NAA hormon konsantrasyonlarından sadece 0.5 mg/L köklenme gözlemlenmiştir. Kontrol grubunda dahil diğerlerinde köklenme gözlemlenmemiştir. Ayrıca, NAA 1 mg/L hormon konsantrasyonunda kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.28).



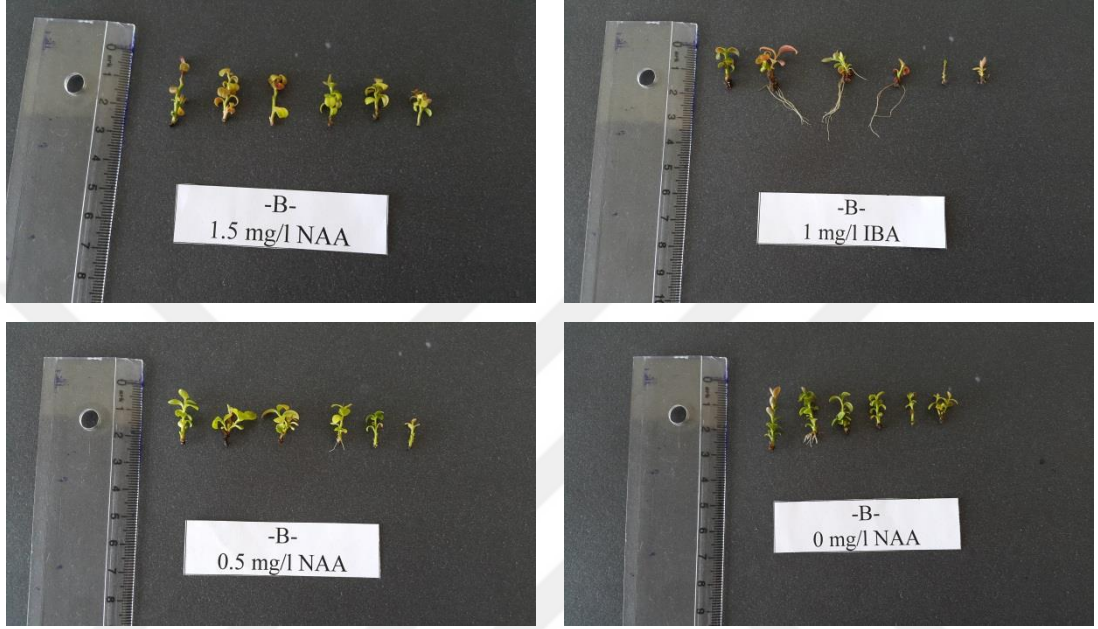
Şekil 4.28 *V. arctostaphylos* L.-1 örneklerinde NAA konsantrasyonları

V. arctostaphylos L.-2 örneklerinde IBA hormonu konsantrasyonlarının kontrol grubu dahil hepsinde köklenme gözlemlenmiştir. En iyi kök gelişimi 1.5 mg/L konsantrasyonunda göstermiştir (Şekil 4.29).



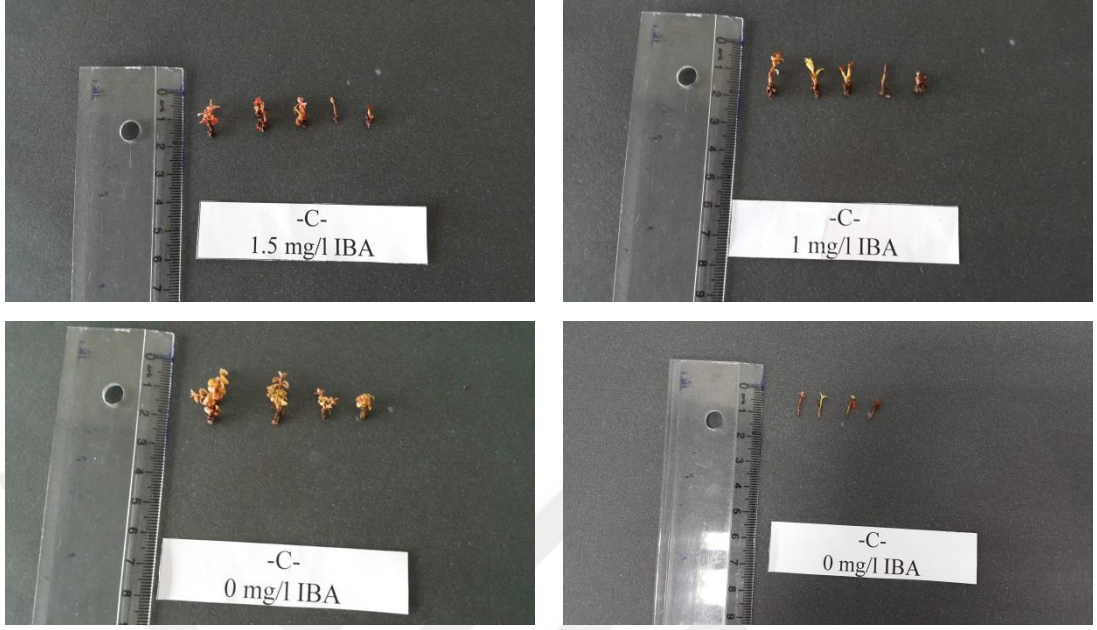
Şekil 4.29 *V. arctostaphylos* L.-2 örneklerinde çeşitinde IBA konsantrasyonları

V. arctostaphylos L.-2 örneklerinde köklenme kontrol grubu ve NAA hormonu konsantrasyonları içerisinde sadece 1 mg/L hormon konsantrasyonunda gözlemlenmiştir. Diğer konsantrasyonlarda köklenme gözlenmezken B çeşidi için NAA' nın hiç bir çeşidinde kallus oluşumu gözlemlenmemiştir (Şekil 4.30).



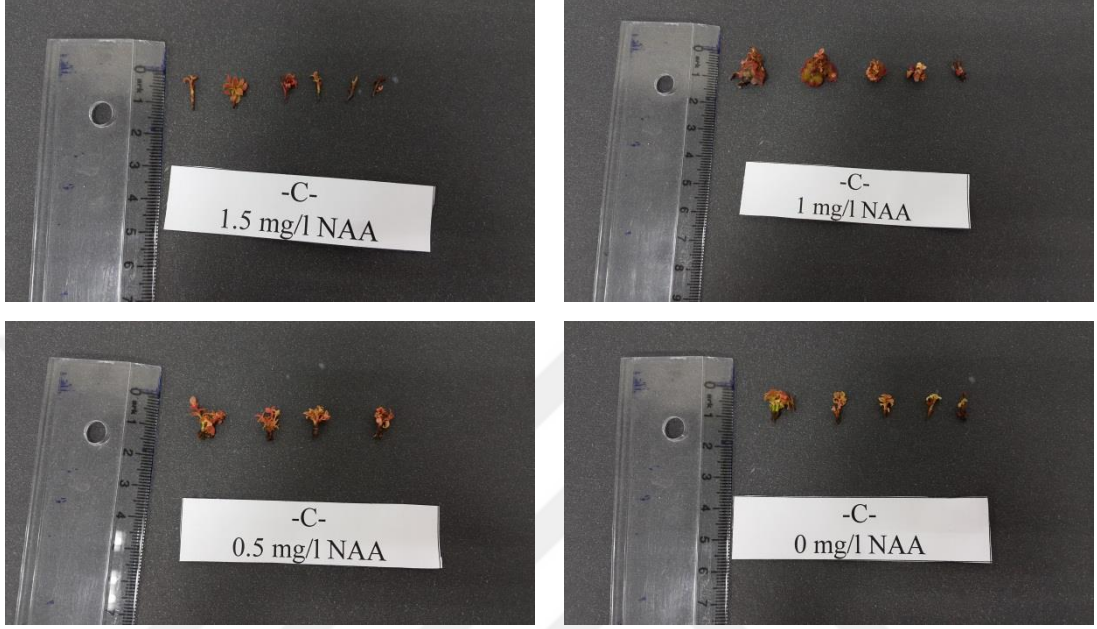
Şekil 4.30 *V. arctostaphylos* L.-2 örneklerinde NAA konsantrasyonları

V. myrtillus L. örneklerinde kontrol grubu ve IBA hormonu konsantrasyonlarının hiçbirinde köklenme gözlemlenmiştir (Şekil 4.31).



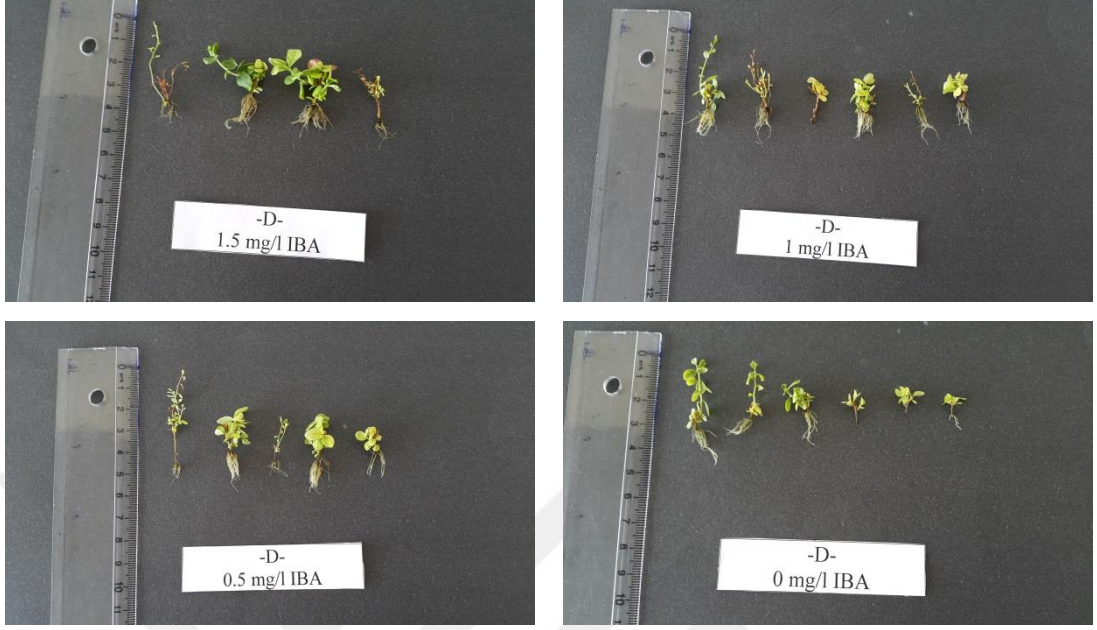
Şekil 4.31 *V. myrtillus* L. örneklerinde IBA konsantrasyonları

V. myrtillus L. örneklerinde kontrol grubu ve NAA hormonu konsantrasyonlarının hiçbirinde köklenme gözlemlenmiştir. NAA 1 mg/L hormon konsantrasyonunda kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.32).



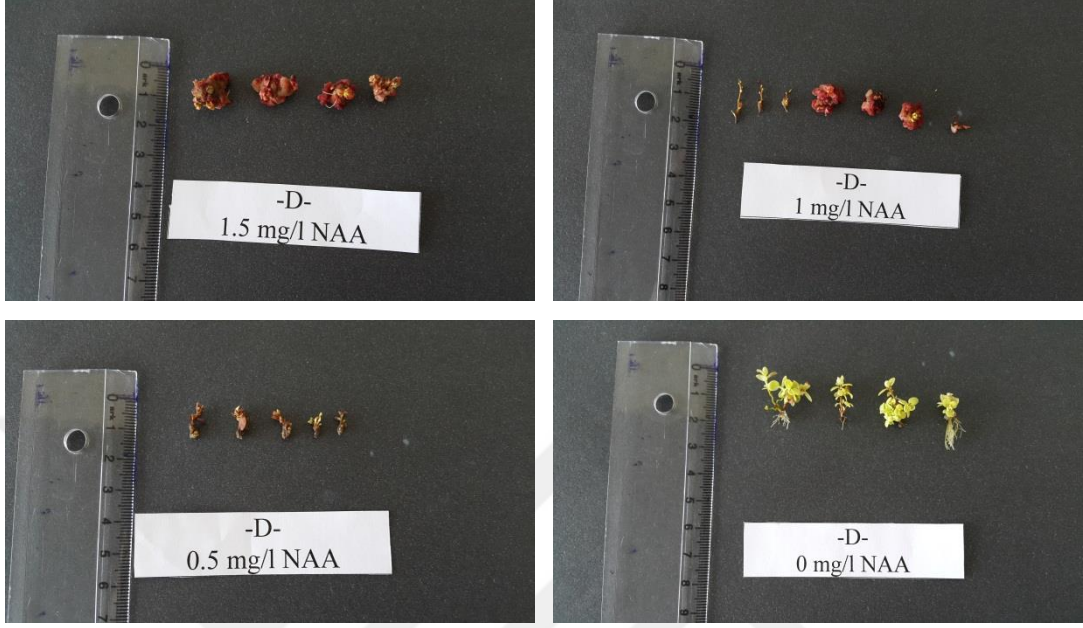
Şekil 4.32 *V. myrtillus* L. örneklerinde NAA konsantrasyonları

V. uliginosum L. örneklerinde köklenme kontrol grubu ve IBA hormonu konsantrasyonlarının hepsinde gözlemlenmiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33 *V. uliginosum* L. örneklerinde IBA konsantrasyonları

V. uliginosum L. örneklerinde köklenme kontrol grubunda gözlemlenmiştir. NAA hormon konsantrasyonlarının hiçbirinde köklenme gözlemlenmemiştir. NAA 1.5 mg/L ve 1 mg/L hormon konsantrasyonlarında kallus oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34 *V. uliginosum* L. örneklerinde NAA konsantrasyonları

4.4 Bitkilerin Dış Koşullara Aktarılması



Şekil 4.35 Bitkilerin viyollerdeki görünümü

Doku kültürüne aktarılan bitkiler başarılı şekilde dış ortama aktarılmıştır (Şekil 4.35).

BÖLÜM V

TARTIŞMA

Bu çalışmada yabancı maviyemiş türlerinin tohumlarının farklı sıcaklıklarda, farklı besin ortamlarında çimlenmeleri, maviyemişin mikroçoğaltımı, köklendirilmesi ve dış ortama aktarılması araştırılmıştır.

Tez kapsamında araştırılan konulara bakıldığında, yabancı maviyemiş genotiplerinin farklı sıcaklıklar da çimlendirilmesi çalışmasında *V. arctostaphylos*, *V. myrtillus*, ve *V. uliginosum* için en iyi çimlenme sıcaklığı 20 °C olarak saptanmıştır. Farklı besin ortamlarının (MS ve WPM) yabancı maviyemiş genotipinin tohumlarının çimlenmesi üzerine etkisi incelendiğinde besin ortamının çimlenmeye istatistiksel olarak bir etkisi olmadığı saptanmıştır.

Maviyemiş kültür ve yabancı genotipleriyle kurulan mikroçoğaltım denemesinde sitokinin hormonlarının etkisi çeşitlere ve konsantrasyona göre farklılık göstermiştir. ‘Hannah’s Choice’ çeşidi 2-IP hormonun 0.5, 1 ve 2 mg/L konsantrasyonlarında ve ikinci olarak zeatin hormonun 1 ve 2 mg/L konsantrasyonlarında gözlemlenmiştir. Köklendirme denemesinde ise, oksin hormonları (IBA, NAA) içinde en etkilisi IBA hormonunun farklı konsantrasyonları olmuştur. C çeşidinde ise IBA ve NAA hormon konsantrasyonlarının hiç birinde köklenme gözlemlenmemiştir. Köklenmesi iyi olan bitkiler torf:perlit ortamına aktarılmıştır.

Sonuç olarak, yabancı maviyemiş çeşitlerinde hangi sıcaklık ve ortamların etkili olduğuna dair, yabancı ve kültür çeşitlerinin doku kültüründe kullanılan sitokinin ve oksin grubu hormonların konsantrasyonlarının bitkiler üzerine etkisini araştıran bir çalışma yapılmıştır. Çalışma sonucunda *V. arctostaphylos* ve *V. myrtillus* türleri doku kültüründe başarılı bir şekilde çoğaltılarak köklendirilmiştir. Bu türlerde doku külütü yoluyla çoğaltma portokölü belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, bur türlerin hem daha kolay çoğaltılarak yetiştiricilikte kullanımlarını etkinleştirebilecek hem de bu türlerin yapılan ıslah çalışmalarında kullanımlarını kolaylaştırabilecektir. Nitekim Orman Bakanlığı Ülkemizde bulunan yabancı *Vaccinium* türlerinin çoğaltılarak Karadeniz Bölgesi’nde

dağıtımını bu şekilde ekonomiye katkı sağlaması üzerine bir eylem planı hazırlamıştır (Anonim, 2015).

Kültürü yapılan maviyemişler meyve türleri içinde genetik altyapıları en karmaşık olanlarındandır. Türlerin geri planında diploid, tetraploid ve hekzaploid türler bulunmaktadır (Retamales ve Hancock, 2011). Bu karmaşık yapı aynı zamanda geliştirilen maviyemiş türlerinin çok değişik ekolojilere uyum gösterebilmesini sağlamıştır. Bu bağlamda Ülkemiz maviyemiş yetiştirilicliğinde başarı ile kullanılabilecek çeşitler geliştirmede Ülkemizde bulunan *Vaccinium* türleri gen kaynağı olarak ta bir değer bulunmaktadır. Ülkemiz koşullarına adapte olmuş *V. arctostaphylos*, *V. myrtillos*, ve *V. uliginosum* türlerinden bir çok özellik kültür çeşitlerine aktarılabilir. Çünkü bu üç tür de kültür çeşitleri ile melezlenebilmektedir (Retamales ve Hancock, 2011). Bu özelliklerden ilk akla geleni *V. arctostaphylos* türünde gözlemlenmekte olan mevsim boyunca çiçeklenme özelliği olabilir.

KAYNAKLAR

Anonim, “Maviyemiş, Likapa Eylem Planı (2015-2019)”, **Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü** Ankara, 2015.

Çelik, H., “Yüksek boylu maviyemiş yetiştiriciliği”, **Giresun Fide-Fidan, Maviyemiş Meyvecilik Orman Ürünleri Ltd. Şti.** S. 152, 2012.

Cüce M., Bektaş E., ve Sökmen A., “Micropropagation of *Vaccinium arctostaphylos* L. via lateral-bud culture”. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry** 37, 40-44, 2013.

Cüce M., ve Sökmen A., “Micropropagation of *Vaccinium myrtillus* L. (Bilberry) naturally growing in the Turkish flora”, **Turkish Journal Biology** 39, 233-240, 2015.

Debnath S.C., and McRae K.B., “An efficient *in vitro* shoot propagation of Cranberry (*Vaccinium Macrocarpon* Ait.) by axillary bud proliferation”, **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant** 37, 243–249, 2001a.

Debnath S. C., and McRae K. B., “*In vitro* culture of Lingonberry (*Vaccinium vitis idaea* L.): the influence of cytokinins and media types on propagation”, **Small Fruits Review** 1:3, 3-19, 2001b.

Debnath S. C., “In Vitro Culture of Lowbush Blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.)”, **Small Fruits Review** 3:3-4, 393-408, 2004.

Debnath S.C., “Propagation of *Vaccinium in vitro*”, **International Journal of Fruit Science** 6:2, 47-71, 2007.

Debnath S.C., “A two-step procedure for adventitious shoot regeneration on excised leaves of lowbush blueberry”, **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant** 45, 122–128, 2009.

Dressler, M., “Blueberries nutritious & medicinal fruit”, **M. Pena & Asociados Ltd.** S.223, 2006.

Eccher T., and Noe N., “Comparison between 2-iP and zeatin in the micropropagation of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*)”, 10.17660/*Acta Horticultural* 241.29, 1989.

FAO, Statistical Database, <http://apps.fao.org/cgi-bin/nph->, 2014.

Finn, C., Hancock, J.F., Mackey, T., and Serçe, S., “Genotype x environment interactions in highbush blueberry (*Vaccinium* sp. L.) families grown in Michigan and Oregon”. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 128, 196-200, 2003.

Fira A., Clapa D., and Badescu C., “Aspects regarding the in vitro propagation of highbush blueberry cultivar Blue Crop”, *Bulletin UASVM, Horticulture* 65(1), 2008.

Frett J.J., and Smagula J.M., “In vitro shoot production of Lowbush blueberry”, *Canadian Journal of Plant Science* 63, 467-472, 1983.

Gonzalez M. V., Lopez M., Valdes A.E., and Ordas R.J., “Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants”, *Annals of Applied Biology* 137, 073-078, 2000.

Gough, R.E., “Blueberries”, *North and South, in: Small Fruits in the home garden (Eds., Gough)* 1996.

Gough, R.E., “The highbush blueberry and its management, *Food Products Press, an Imprint of Haworth Press Inc* 272p, 1994.

Hancock, J., Callow, P., Serçe, S., Hanson, E., and Beaudry, R., “Effect of cultivar, controlled atmosphere storage and fruit ripeness on the long term storage of highbush blueberries”, *Horticulture Technology* 18, 199-205, 2008.

Hancock, J.F., and Draper, A.D., “Blueberry culture in North America”, *Horticultural Science* 24, 551- 556, 1989.

Hancock, J.F., Lyrene, P., Finn, C.E., Vorsa, N., and Lobos, G.A., “Blueberries and

Cranberries. in temperate fruit crop breeding”, (Eds.: **Springer Science + Business Media**, 115-149, 2008.

Hanson, E.J., Throop, P.A., Serçe, S., Ravenscroft, J., and Paul, E.A., “Comparison of nitrification rates in blueberry and forest soils”, **Journal of the American Society for Horticultural Science** 127, 136-142, 2002.

İsutsa D.K., Pritts M.P., and Mudge K.M., “Rapid propagation of blueberry plants using *ex vitro* rooting and controlled acclimatization of micropropagules”, **Horticultural Science** 29(10), 1124–1126, 1994.

Litwinczuk W., Szczerba G., and Wrona D., “Field performance of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. ‘Herbert’ propagated by cuttings and tissue culture”, **Scientia Horticulturae** 106, 162–169, 2005.

Liu C., Callow P., Rowland L.J., Hancock J.F., and Song G., “Adventitious shoot regeneration from leaf explants of southern highbush blueberry cultivars”, **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 103, 137–144, 2010.

Lloyd, G., and McCown, B., “Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture”, **Proceeding of International Plant Propagation Society** 30, 421–427, 1980.

Lyrene P., “Blueberry callus and shoot-tip culture”, **Proceeding of Florida State Horticultural Society** 91, 171-172, 1978.

Meiners, J., Schwab, M., and Szankowski, I., “Efficient in vitro regeneration systems for *Vaccinium* species”, **Plant Cell Tissue and Organ Culture** 89, 169-176, 2007.

Miller S.A., and Rawnsley E.K., “Tissue culture techniques with New Zealand blueberry selections”, **Horticulture and Food Research Institute of New Zeland (Hort Research) Private Bag** 3123, 2002.

NeSmith, D.S., Krewer, G., and Lindstrom, O.M., “Fruit set of rabbiteye blueberry after

subfreezing temperatures”, *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124, 337-340, 1999.

Ostrolucka M. G., Libiakova G., Ondruskova E., and Gajdasova A., “*In vitro* propagation of *Vaccinium* species”, *Acta Universitatis Latviensis, Biology* Vol. 676, pp. 207–212, 2004.

Pospisilova J., Ticha I., Kadlec P., Haisel D., and Plzakova S., “Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions”, *Biologia Plantarum* 42 (4), 481-497, 1999.

Reed B.M., and Esquivel A.A., “The use of zeatin to initiate *in vitro* cultures of *Vaccinium* species and cultivars”, *Horticultural Science* 26(10):132a-132, 1991.

Retamales, J.B., and Hancock, J.F., “Blueberries”, *Crop Production Science in Horticulture* 21, 323p, 2011.

Sedlak J., and Paprstein F., “Micropropagation of highbush blueberry cultivars”, *Research and Breeding Institute of Pomology Holovousy Ltd.* 508 01, 2009.

Smith, R.H., “Plant tissue culture”, *Third Edition: Techniques and Experiments. Department of Horticulture* S. 188, 2012.

Strik, B., “Blueberry: An expanding world berry crop”, *Chronica Horticulturae* 45, 7-12, 2005.

Tetsumara T., Matsumoto Y., Sato M., Honsho C., Yamashite K., Komatsu H., Sugimoto Y., and Kunitake H., “Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars”, *Scientia Horticulturae* 119, 72–74, 2008.

Trehane, J., “Blueberries, Cranberries and other *Vacciniums*”, *Timber Press* 256p, 2004.
TÜİK., http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001, 2014.

Vescan L.A., Pamfil D., Clapa D., Fira A., Sisea C.R., Pop I.F., Petricele I.V., Ciuzan O., and Pop R., “Efficient micropropagation protocol for highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. ‘Elliot’”, ***Romanian Biotechnological Letters*** Vol. 17, No. 1, 2012.

Zhao X., Zhan L., and Zou X., “*In vitro* high-frequency regeneration of half-highbush ‘Northland’ blueberry”. ***New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*** 39:1, 51-59, 2011.



ÖZGEÇMİŞ

Hasibe Yıldız 1986 yılında Isparta’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Isparta’da tamamladı. 2013 yılında Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümünden mezun oldu. 2013 yılında Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Genetik Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisansa başladı.

