

**BAZI BAL YEMİŞİ ÇEŞİTLERİNİN (*Lonicera caerulea*)
MİKROÇOĞALTIM PERFORMANSLARININ
BELİRLENMESİ**

Tuğba Nur BEYAZTAŞ



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BAL YEMİŞİ ÇEŞİTLERİNİN (*Lonicera caerulea*) MİKROÇOĞALTIM
PERFORMANSLARININ BELİRLENMESİ**

Tuğba Nur BEYAZTAŞ

Doç. Dr. Nuray AKBUDAK
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BAHÇE BİTKİLERİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2022
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Tuğba Nur BEYAZTAŞ tarafından hazırlanan BAZI BALLYEMİŞİ ÇEŞİTLERİNİN (*Lonicera caerulea*) MİKROÇOĞALTIM PERFORMANSLARIN BELİRLENMESİ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Nuray AKBUDAK

- | | | |
|-----------------|---|------|
| Başkan : | Doç. Dr. Nuray AKBUDAK
0000-0003-2669-5667
Uludağ Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı | İmza |
| Üye : | Prof. Dr. Ahmet İPEK
0000-0002-9136-3186
Bursa Uludağ Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı | İmza |
| Üye : | Dr. Öğr. Üyesi Kenan SÖNMEZ
0000-0003-4040-4555
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi,
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı | İmza |

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hüseyin Aksel EREN
Enstitü Müdürü

.././.....

B.U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

.../.../.....

Tuğba Nur BEYAZTAŞ

TEZ YAYINLANMA FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezin/raporun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma izni Bursa Uludağ Üniversitesi'ne aittir. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet hakları ile tezin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları tarafımıza ait olacaktır. Tezde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederiz.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “**Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge**” kapsamında, yönerge tarafından belirtilen kısıtlamalar olmadığı takdirde tezin YÖK Ulusal Tez Merkezi / B.U.Ü. Kütüphanesi Açık Erişim Sistemi ve üye olunan diğer veri tabanlarının (Proquest veri tabanı gibi) erişimine açılması uygundur.

Doç. Dr. Nuray AKBUDAK
07.01.2022

Tuğba Nur BEYAZTAŞ
07.01.2022

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

İmza

Bu bölüme kişinin kendi el yazısı ile okudum
anladım yazmalı ve imzalanmalıdır.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BAZI BAL YEMİŞİ ÇEŞİTLERİNİN (*Lonicera caerulea*) MİKROÇOĞALTIM PERFORMANSLARININ BELİRLENMESİ

Tuğba Nur BEYAZTAŞ

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nuray AKBUDAK

Genellikle “Haskap”, “Mavi Yemişli Hanımeli”, “Tatlı Yemişli Hanımeli” gibi farklı isimlerle anılan ve çalı formunda olan bal yemişi farklı iklim koşullarına adapte olup yetişebilen üzüksü bir meyvedir. Mavi yemiş gibi diğer üzüksü meyvelere kıyasla daha yüksek miktarda antioksidan ve vitamin içeriğine sahiptir.

Çalışmada ‘Jugana’ ve ‘Bakczarskij velikan’ olmak üzere iki farklı bal yemişi çeşidi kullanılmıştır. İki bal yemişi çeşidinin mikroçoğaltım performanslarının belirlenmesi için doku kültürü ile çoğaltım aşamalarının tamamı gerçekleştirilmiş ve elde edilen bitkilerde üretim gerçekleştirilmiştir.

Eksplantların yüzey sterilizasyonu %70’lik etanolde 1 dk ve ardından birkaç damla Tween-20 eklenmiş %10’luk Sodyum hipoklorit ile 18 dk tutularak sağlanmıştır. Dezenfeksiyon aşamasından sonra Jugana çeşidinde %19,4 oranında B. velikan çeşidinde ise %9,2 oranında kontaminasyonlar gözlemlenmiştir.

Çoğaltım aşamasında 0,-0,4-0,7-1 mg/l BAP ve 0,01 mg/l NAA ile desteklenmiş MS ortamı kullanılmıştır. En iyi çoğaltma oranı Jugana çeşidinde (3,00 adet) 0,4 mg/lt BAP eklenmiş MS ortamında görülmüştür. En düşük çoğaltma oranı her iki çeşit içinde BAP eklenmemiş MS ortamında gözlemlenmiştir.

Köklendirme aşamasında 1 mg/lt 2 mg/l IBA konsantrasyonları ve kontrol olarak hormon ilave edilmemiş MS ortamı kullanılmıştır. Her iki çeşit için de en iyi köklenme oranı 2,0 mg/lt IBA ile takviye edilmiş MS ortamında, ‘Jugana’ çeşidi için %87,50 olarak ‘B.velikan’ çeşidi için ise %75 olarak gerçekleşmiştir. ‘Jugana’ çeşidi başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırmıştır fakat ‘B.velikan’ çeşidinde ise toprağa aktarıldıktan sonra oluşan kontaminasyonlardan kaynaklı materyalin tümü kaybedilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bal yemişi, Mikro çoğaltım, Doku kültürü, BAP, IBA
2022, vii + 45 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

DETERMINATION OF MICROPROPAGATION PERFORMANCE OF SOME HONEYBERRY (*Lonicera caerulea*) VARIETY

Tuğba Nur BEYAZTAŞ

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Horticulture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Nuray AKBUDAK

Generally known as "Haskap", "Blue-berried Honeysuckle", "Sweet-berried Honeysuckle" and in the form of a bush, the honeyberry is a berry that can adapt to different climatic conditions and grow. It has higher antioxidant and vitamin content compared to other berry fruits such as blueberry.

This study was carried out in plant tissue culture laboratory of the Atatürk Central Horticultural Research Institute in 2021 year. This study included two honeyberry cultivars 'Jugana' and 'Bakczarskij velikan'. All stages of tissue culture were carried out in honeyberry cultivars and planlets were obtained.

The sterilization procedure based on application of 70% ethanol for 1 min. followed by surface sterilization using 10% sodium hypochlorite with a few drops of Tween 20 for 18 minute and rinsing with sterile distilled water. After the disinfection stage, contaminations was observed in 'Jugana' (19,4%) and 'B.velikan' (9,2%).

During multiplication stage 0,-0,4-0,7-1 mg/l BAP and 0,01 mg/l NAA concentrations and MS medium with no hormones as the control were used. The best multiplication rate was obtained for the cultivar 'jugana' that produced 3,00 shoots on the MS medium containing 0,4 mg/l BAP. The lowest multiplication rate was obtained for each cultivar producing only 1.00 shoot on MS medium without BAP.

During the rooting stage 0, 1, 2 mg/l IBA, concentrations and MS medium with no hormones as the control were used. The best rooting rate for both cultivars was 87,50% for 'Jugana' and 75% for 'B.velikan' in MS medium supplemented with 2,0 mg/l IBA. The cultivar 'Jugana' was successfully acclimated to external conditions, but the cultivar 'B.velikan' lost all the material from contamination after transfer to the soil.

Key words: Honeyberry, micropropagation, Tissue culture, BAP, IBA
2021, vii + 45 pages.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez konumun belirlenmesi, yürütülmesi ve yazım aşamasında yönlendirici katkılarıyla her zaman destek olan Danışman Hocam Sayın Doç. Dr. Nuray AKBUDAK'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yürütülmesi sırasında Doku Kültürü Laboratuvarında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım Aleyna EKER'e, yazım aşamasında yardımlarını esirgemeyen kıymetli arkadaşlarım Duygu DEMİR ve Yeşim DOYĞACI'ya, istatistik analizlerimi yapmama yardımcı olan ve her soruma sabırla cevap veren sevgili arkadaşlarım Serdar ERKEN, Uğur CAYMAZ ve Özlem BOZTEPE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak her konuda olduğu gibi tezimin hazırlanması sırasında da sonsuz desteklerini gördüğüm sevgili eşim Burak BEYAZTAŞ'a ve tüm aile fertlerime teşekkürlerimi sunarım.

Tuğba Nur BEYAZTAŞ
09.01.2022

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	5
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	13
3.1. Materyal.....	13
3.2. Yöntem.....	14
3.2.1. Başlangıç Kültürü Aşaması.....	14
3.2.1.1. Kültür ortamları hazırlığı ve kültür koşulları.....	14
3.2.1.2. Yüzey sterilizasyonu.....	16
3.2.1.3. Kültür oluşturma.....	17
3.2.2. Çoğaltma (Kardeşlenme) Aşaması.....	18
3.2.3. Köklendirme Aşaması.....	20
3.2.4. Dış Koşullara Aktarma (Aklimatizasyon).....	20
3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi.....	22
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	24
4.1. Başlangıç Kültürü Aşaması.....	24
4.3. Köklendirme Aşaması.....	27
4.3.1. Dış Koşullara Alıştırma (Aklimatizasyon).....	31
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	32
KAYNAKLAR.....	40
ÖZGEÇMİŞ.....	45

SİMGE ve KISALTMALAR

Simgeler	Açıklama
BAP:	6-Benzylaminopurine
DKW:	Driver and Kuniyuki (1984)
GA3:	Gibberelik asit
HCL:	Hidroklorik Asit
IAA:	Indol-3-Asetik asit
IBA:	Indol-3-Bütirik Asit
MS:	Murashige and Skoog (1962)
NAA:	Naftalenasetik asit
NaOH:	Sodyum Hidroksit
WPM:	Lloyd and McCown (1980)

Kısaltmalar	Açıklama
Atm:	Atmosfer
dk:	Dakika
gr:	Gram
lt:	Litre
M:	Molar
mg:	Miligram
ml:	Mililitre
mm:	Milimetre
°C:	Santigrat derece
µM:	Mikromol

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 3.1.1.	Jugana ve B.velikan çeşidine ait bitkilerden bir görüntü 13
Şekil 3.1.2.	Bal yemişi meyvelerinin görünüşü 14
Şekil 3.2.1.	Biyogüvenlik kabini içerisindeki yüzey sterilizasyonu işlemi 16
Şekil 3.2.2.	Test tüplerinde bulunan eksplantların iklim odasındaki görüntüsü 18
Şekil 3.2.3.	Dört hafta sonunda eksplantlardan gelişen mikro sürgünlerin belirlenen parametreler bakımından incelenmesi..... 19
Şekil 3.2.4.	Fungusit eriyiğine daldırılan köklenmiş bitkiler 21
Şekil 3.2.5.	Viyollere dikilmiş bitkiler 22
Şekil 3.2.6.	Dış koşullara adaptasyonunu tamamlamış bal yemişi çeşitleri 22
Şekil 4.1.1.	Dört haftalık gelişim periyodundan sonra bal yemişi çeşitlerine ait mikro sürgünler 25
Şekil 4.1.2.	Farklı IBA konsantrasyonlarında kültüre alınan bal yemişi..... çeşitlerinin haftalık gelişme periyodu sonundaki genel görünüşleri 30
Şekil 4.1.3.	B. velikan çeşidinde meydana gelen kontaminasyon 32
Şekil 4.1.4.	Dış ortama alıştırılmış bitkilerin iki ay sonraki görünüşleri 32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1.	MS kültür ortamının kimyasal bileşimleri ve miktarları (Murashige ve Skoog 1962)	15
Çizelge 3.2.	Kardeşlenme denemesinde kapsamında MS ortamına ilave edilen BAP ve NAA konsantrasyonları (mg/l).....	19
Çizelge 4.1.	Bal yemişi çeşitlerinde besin ortamlarının, başlangıç kültürü aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri.....	24
Çizelge 4.2.	Bal yemişi çeşitlerinde BAP dozlarının sürgün sayısına (adet) etkisi	26
Çizelge 4.3.	Bal yemişi çeşitlerinde BAP dozlarının sürgün uzunluğuna (cm) etkisi	26
Çizelge 4.4.	Bal yemişi çeşitlerinde BAP dozlarının yaprak sayısına (adet) etkisi	27
Çizelge 4.5.	Bal yemişi çeşitlerinde köklenme aşamasında IBA dozlarını kök sayısına (adet) etkisi	28
Çizelge 4.6.	Bal yemişi çeşitlerinde köklenme aşamasında IBA dozlarının kök uzunluğuna (mm) etkisi	28
Çizelge 4.7.	Bal yemişi çeşitlerinde IBA dozlarının köklenme %'sine etkisi	29
Çizelge 4.8.	Dış koşullara aktarılan bitkilerin hayatta kalma oranları	31

1. GİRİŞ

Bal yemişi, *Dipsicales* takımının *Caprifoliaceae* (hanımeligiller) familyasından *Lonicera* (hanımeli) cinsine dâhildir. Sistematik konumu karmaşık olan, birçok çeşidi bazen tür olarak sınıflandırılan *Lonicera*'nın iki yüze yakın türü vardır (Naugžemys ve diğerleri, 2007). Bu cinse ait türler genellikle yenilemeyen sarı ve kırmızı renkteki meyvelere sahip iken istisnai olarak bal yemişi gibi koyu mavi ve mor renk meyvesi olanlar yenilebilir (Bors ve diğerleri, 2012). Bal yemişi (*Lonicera caerulea*) ilk olarak 1894'te Rusya'da bir bahçe bitkisi olarak rapor edilmiş ve 1913'te ilk kültüre alma çalışmaları yapılmıştır (Hummer 2006). Şu anda, en çok kültürü yapılan bal yemişi çeşitleri, Rusya, Japonya, Kanada ve Polonya orjinli olanlardır. En popüler ve yetiştirilmesi en kolay çeşitler ise Tundra, Borealis, İndigo gem, Blue lightning ve Kamchatka'dır (Lauritzen ve diğerleri, 2015). Bitki doğal olarak Avrupa, Kuzey Asya ve Kuzey Amerika ormanlarında, çoğunlukla dağlık ve düşük rakımlı nemli bölgelerde bulunur (Bors ve diğerleri, 2012). Son yıllarda Avrupa'da özellikle Polonya, Slovenya, Çek Cumhuriyeti ve Slovakya'da yaygın olarak yetiştiriciliği yapılmakta ve giderek popülerliği artmaktadır (Senica ve diğerleri, 2018).

Genellikle “Haskap”, “Mavi Yemişli Hanımeli (Blue-berried Honeysuckle)”, “Tatlı Yemişli Hanımeli (Sweetberry Honeysuckle)” gibi farklı isimlerle anılan ve çalı formunda olan bal yemişi farklı iklim koşullarına adapte olup yetişebilen üzüksü bir meyvedir (Kuyucu 2013). Plekhanova' ya (1996, 2000) göre, bu türün çalıları -45°C 'ye kadar düşük sıcaklıklara toleranslıdır. Golis ve Gwozdecki (2007), -35°C ' ye düşen sıcaklıklarda bile bitkilerde herhangi bir don zararı olmadığını bildirmişlerdir. Çiçeklenme döneminde ise çiçekler -8°C sıcaklıkta dahi dona karşı dayanıklı olduğu rapor edilmiştir (Svarcova ve diğerleri, 2007; Szot ve Lipa 2013). Kendilerine verimli değillerdir ve tozlanabilmeleri için farklı çeşitlere ve bombus arıları gibi tozlayıcılara ihtiyaç duyarlar (Hummer ve diğerleri, 2012). Şekil, boyut ve yetiştirme tekniği açısından mavi yemiş ile benzerlik gösterir bu nedenle aynı dikim mesafesi kullanılarak yetiştirilebilir ve benzer şekilde hasat edilebilir fakat mavi yemişe kıyasla daha geniş bir toprak pH aralığını (pH 5'ten 8'e) tolere eder (Retamales ve Hancock 2012).

Erken meyve vermesi ve olgunlaşması, dona karşı toleranslı olması, küf gibi zararlılara ve hastalıklara karşı dirençli olması gibi avantajlarından dolayı ticari olarak yetiştirmeye uygundur (Hummer ve diğerleri, 2012). Bu nedenle, bal yemişi özellikle karasal iklimin hüküm sürdüğü soğuk bölgelerimizde ve yüksek rakımlı yörelerimizde dahi adapte olup yetiştirebilecek bir üzüksü meyve türüdür. Türkiye’de tam olarak tanınmıyor olması ile birlikte bazı fidan firmaları tarafından yurt dışından ithal edilen bal yemişi fidanlarının satışı yapılmaya başlanmıştır. Ülkemiz için yeni sayılabilecek bir üzüksü meyve olan bal yemişinde yapılacak çalışmalar ile ülkesel düzeyde tanınırlığının ve üretiminin zamanla artacağı düşünülmektedir. Özellikle küçük ölçekli işletmeler ve pazar için alternatif bir ürün olabileceğinden ekonomik yönden tatminkâr sonuçlar elde edilebilir.

Tarih boyunca bal yemişi, özellikle Rusya’da ve Japonya’da doğal olarak yetiştiği bölgelerden yerel halk tarafından toplanmış ve yüksek besin değerleri ve tıbbi özellikleri bakımından zengin olduğu için her iki bölge halkı tarafından bu meyveye yönelim artmıştır (Plekhanova ve diğerleri, 1993; Tanaka ve Tanaka 1998; Chaovanalakit ve diğerleri, 2004). Japonya’da Ainu aborjinleri bal yemişi meyvelerini bir "yaşam iksiri" olarak kabul etmiş ve Hokkaido Adası’nda bu meyveden yapılan bir meyve suyu, "ebedi gençlik ve uzun ömür için altın çare" olarak satılmaktadır (Lefol 2007., Lauritzen ve diğerleri, 2015). Mevsimsel tüketimin yanı sıra bal yemişi dondurularak kek, bisküvi, şekerleme, çikolata, reçel, jöle, şarap, meyve suyu, meşrubat, sakız veya aromalı erişte olarak işlenebilir (Lefol, 2007). Bal yemişi sağlık için faydalı polifenollerini içermesinden dolayı çok fazla ilgi görmüştür (Rupasinghe ve diğerleri, 2018). Meyveleri flavonoidler, fenolik asitler ve fizyolojik olarak aktif polifenoller gibi sağlıklı bileşiklerini ihtiva ettiğinden, kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar ve nörodejeneratif hastalıklar gibi kronik hastalıkların önlenmesine katkıda bulunur (Thilakarathna ve Rupasinghe, 2012; Rupasinghe ve ark., 2015; George ve diğerleri, 2017; Rupasinghe ve Arumuggam, 2019). Dahası bal yemişi, yaban mersini gibi diğer üzüksü meyvelere kıyasla daha yüksek miktarda sağlığı teşvik eden fitokimyasallar içerir; bu nedenle, fonksiyonel gıda bileşenleri ve nutrasötiklerin (kapsül benzeri formdaki doğal ürünler) üretimi için potansiyel bir kaynaktır (Celli ve diğerleri, 2014; Rupasinghe ve diğerleri, 2018). Meyvelerindeki C vitamini içeriği 30,5 ila 186,6 mg / 100 g taze ağırlık arasında değişebilir (Tanaka ve Tanaka 1998; Arus ve Kask

2007; Skupieñ ve diğerleri, 2007; Palıkov ve diğerleri,2008; Thompson, 2008; Ochmian ve diğerleri, 2009; Jurikova ve diğerleri, 2012), bilinen vitamin içeriğine sahip meyvelerle karşılaştırıldığında bal yemişi meyvelerindeki askorbik asit içeriği, bu bileşiğin en zengin kaynaklarından biri olarak kabul edilen mavi yemişe kıyasla  ila on kat daha yüksektir (Harb ve diğerleri, 2010).

Meyveleri Mayıs ayının ortasından Haziran ayının başına kadar tam olgunluğa ulaşır (Jurikova ve diğerleri, 2009; Bors ve diğerleri, 2012; Ochmian ve diğerleri, 2012). Mavi yemişin meyveleri ile kıyaslandığında daha uzun bir şekle sahiptir. Hafif ekşi-tatlı bir tada sahip olan meyveleri, genotipe göre değişmekle birlikte 1-2 cm çapında 4-5 cm uzunluğunda, 0,3 - 2,0 gr ağırlığında, uzun eliptik ve ya silindirik şekilde, üzeri mumsu bir tabaka ile kaplı koyu mor renktedir (Hummer ve diğerleri, 2012; Thompson, 2008). Meyve içerisinde yaklaşık olarak 20 adet tohum ihtiva eder fakat yeme sırasında farkedilmez. Tohumlarının imlenme kabiliyetleri oldukça düşük olduğu için tohum ile üretime uygun değildir ve aynı zamanda tohumla elde edilen bitkilerin imlenmeleri için uzun zamana ihtiyaç vardır ve uniform bir gelişim gstemezler. Bu nedenle doku kültürü yöntemi, hızlı klonal çoğalma ve sağlıklı bitki materyalinin elde edilmesi için yararlı bir araç olabilir.

Genotipik çeşitliliğin farklı bal yemişi popülasyonlarının üreme verimliliği üzerinde önemli bir etkisi vardır. Geleneksel olarak zms meyvelerin çoğaltılmasında odunsu ve yarı odunsu çelikler kullanılır. Bu retim şekli genel olarak başarılı olmasına rağmen yoğun emek gerektirir. Yöntemin başarısı büyük ölçüde genotipe, mevcut bitkisinin yaşına ve vejetasyon dönemine bağlıdır (Hui ve diğerleri, 2012). Doku kültürü tekniklerinin hızı, potansiyel olarak seçilen eřitleri geleneksel yöntemlerden daha hızlı çoğalmasına imkn sağlayabilir (Dziedzic 2008; Hui ve diğerleri, 2012; Krupa-Małkiewicz ve Ochmian 2014).

Mikro oğaltma, daha kısa sürede daha fazla bitkinin üretilmesi için en umut verici yöntemlerden biridir. Doku kültürü teknikleri, gelecekteki ıslah programlarında kullanılacak olan bitki varyasyonunun korunması için avantajlı olabilir.

Lonicera türlerinin mikro çoğaltılmasının etkinliği genotipe özgü olmakla birlikte kullanılan ortama ve bitki büyüme düzenleyicilerinin etkinliğine bağlıdır (Debnath, 2007; Sedlák ve Paprstein 2007; Hui ve diğerleri, 2012; Krupa-Mańkiewicz ve Ochmian 2014).

Bal yemişinin çoğaltılmasında birçok türde olduğu gibi kısa bir zaman diliminde çok sayıda sağlıklı bitki üretilmesine olanak sağlayan, in vitro çoğaltım yöntemlerinden de yararlanılmaktadır. Dünya’da bal yemişinin in vitro çoğaltımı üzerine az sayıda çalışma yapılmış olup, ülkemizde ise bu konuda henüz yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Farklı iklim özelliklerine sahip bölgelerden oluşan ülkemiz, yetişen ve yetiştirilmesi düşünülen meyve türleri için de önemli avantajlara sahiptir. Modern meyve bahçelerinin tesisinde ve üretiminde ismine doğru, hastalıktan arı fidan kullanmak şarttır. Bu nedenle in vitro çoğaltım metodu ile üretilen bitkiler tüm dünyada büyük talep görmekte ve bu metotla üretilen bitkiler ismine doğru, klonal hastalıklardan bakımından arı olmaktadır (Fidancı ve diğerleri, 2015).

Sağlıklı beslenmeye olan ilginin artışı takiben ihtiva ettikleri yararlı bileşiklerden dolayı, üzüksü meyvelerin sağlık için öneminin anlaşılmasıyla birlikte bu üzüksü meyvenin popülaritesinin giderek artacağı düşünülmektedir. Bu çalışma ile ülkemiz kültüre alınmış bitki potansiyeli ve ihtiyaçları dikkate alınarak ülkemiz açısından yeni sayılabilecek, önemli bulunan ve gelecek vadeden bir tür olduğu düşünülen bal yemişinin hızlı bir şekilde klonal olarak çoğaltıp üretime kazandırmak ve projede kullanılacak olan iki bal yemişi çeşidinin in vitro gelişim performanslarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmada düşük dozlarda sitokin kullanımının sürgün rejenerasyonu üzerindeki etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Klonal çoğaltım olarak da isimlendirilen mikroçoğaltım, ilk olarak 1902 yılında botanikçi Haberlandt tarafından yapılmıştır. Haberlandt izole etmeyi başardığı bazı bitki hücrelerini kültür ortamlarına yerleştirmiş ve gelişimlerini gözlemlemiştir. Bu hücrelerin ortamlardaki hacimleri 11 kat artmasına rağmen çoğalamamışlardır. Haberlandt'dan sonra yapılan mikroçoğaltım çalışmaları bu başarısızlığın sebebi olarak o yıllarda bitki büyüme düzenleyicilerin etkinliğinin henüz bilinmemesini göstermiştir (Mansuroğlu ve Gürel, 2001).

Petrovic ve Jacimovic-Plavšic (1992), *Aronya melanocarpa*'ya ait eliot çeşidinin yaşındaki sürgünlerin gözlerinden izole edilen meristemler ile sürgün rejenerasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sürgünlerdeki en iyi gelişme yan tomurcuklarda gözlemlenirken en iyi çoğaltım oranını 0,5 mg/lt BAP+0,1 mg/lt IBA+0,1 mg/lt GA içeren MS ortamı vermiştir. En iyi köklenme ise 1,5 mg/lt IBA ile desteklenmiş MS ortamında olmuştur.

Karhu (1997a), iki farklı genotip kullanarak (*Lonicera caerulea* var. *caerulea* ve *L. caerulea* var. *Edulis*) yaptığı bu çalışmada, farklı mineral konsantrasyonları (% 25 - % 100) ve farklı hormon (NAA ve IBA) konsantrasyonlarını içeren MS ortamını kullanmıştır. Mikro sürgünlerin oksin ile muamelesinin ardından hormonsuz ortamda in vitro köklendirme veya doğrudan ex vitro köklendirme çalışmalarını yapmıştır. İki farklı bal yemişi genotipinin tepkisinin birbirlerinden farklı olduğu belirlenmiştir. *L. caerulea* var. *caerulea* köklenme yüzdeleri tüm uygulamalarda % 90'ın üzerinde olduğu görülmüştür. Oksinlerin etkiliği karşılaştırıldığında, IBA'nın NAA'dan daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. 4 µM IBA ile desteklenmiş %50 MS ortamında, yüksek köklenme ve çok sayıda ana ve yan kök sağladığından çok etkili olduğu kanıtlanmıştır. *Lonicera caerulea* var. *edulis*'te ise %50 MS ortamında köklenme gözlemlenmemişken % 25'e düşürülen MS'de sadece % 10 köklenme olmuştur.

Karhu (1997b), *Lonicera caerulea* var. *caerulea* ve *Lonicera caerulea* var. *edulis* olmak üzere iki farklı genotip'in in vitro çoğaltımı üzerine yapılan bu çalışmada çeşitli faktörleri (eksplant tipi, büyümeyi düzenleyicilerin etkinliklerinin belirlenmesi, çeşitli BA konsantrasyonları, yüksek miktarda FeNaEDTA ile desteklenmiş tam veya yarı güçte MS in vitro çoğaltım üzerinde sıcaklığın etkisi) inceleyerek birkaç bağımsız deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma sonucunda BA'nın etkinliğinin kinetinden daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. BA konsantrasyonlarının 1,1'den 17,8 µM'ye yükseltilmesi proliferasyon oranlarının artmasına sebep olmuştur ancak aksiller sürgünlerin uzunluğu azalmış ve bitkinin tabanındaki kallus çapı artmıştır. 28 ° C'ye kadar olan yüksek sıcaklıklar da çoğalma oranlarını artırmıştır. Yazlar, 8,9 µM BAP ve 26 ° C'yi optimal olarak kabul etmiştir. Kültür ortamındaki mineral konsantrasyonunun azaltılması, aksiller sürgün çoğaltımını uyarsa da tepe nekrozu oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir.

Sedlák ve Paprštejn (2007), iki bal yemişi genotipi olan Altaj ve 20/1 ile mikroçoğaltım çalışmalarını yapmıştır. Eksplant kaynağı olarak 3 yaşındaki bitkilerin 5-10 mm uzunluğunda olan sürgün uçlarını kullanmışlardır. Eksplantlar civa klorür ile dezenfekte edilmiştir. Her iki genotipte de hayatta kalma oranları çok yüksek olmuştur. En yüksek aksiller sürgün proliferasyonu, her iki genotipte de 2 mg/lt BAP ile desteklenmiş MS ortamında gözlemlenmiştir. Ortamdaki BAP konsantrasyonundaki artışlar, Altaj çeşidinde gözlenen yeni sürgünlerin sayısını olumsuz etkilemiştir. In vitro köklendirme, 2,5 mg / lt IBA ile desteklenen, 1/3 oranında seyreltilmiş MS ortamında başarıyla gerçekleştirilmiştir. Her iki genotipte de % 100 oranında köklenme gözlemlenmiştir.

Dziedzic (2008), iki farklı bal yemişi çeşidinin (Czelabinska ve Duet) doku kültürü ile çoğaltımı üzerine yapılan bir çalışmada % 70 etanol ve % 10 kalsiyum hipoklorit ile dezenfekte edilmiş koltuk altı tomurcukları kullanılmıştır. Başlangıçta eksplantlar, içerisinde 1 mg/lt BAP bulunan MS ortamında kültüre alınmışlardır. Stabilizasyon için 6 aylık alt kültürlerden sonra, birkaç farklı konsantrasyonda, 1-2 mg/lt BAP ile zenginleştirilmiş MS ortamı (tam MS, %50 MS, %75 MS) kullanılarak deneyler gerçekleştirilmiştir: FeNaEDTA konsantrasyonu, normal MS ile karşılaştırıldığında iki katına çıkarılmıştır. Sürgün çoğalması ve taze biyokütle ile ilgili en iyi sonuçlar, 2 mg/lt

BAP ile desteklenmiş % 75'e seyreltilmiş MS üzerinde elde edilmiştir. En yüksek çoğalma oranı ise 'Duet' çeşidinde gözlemlenmiştir. Mikro sürgünler, 2 mg / lt IBA ve 5 mg / lt IAA ile desteklenmiş çeşitli bazal ortamlarda (MS,% 50 MS ve WPM) köklenmiştir. En yüksek köklenme yüzdeleri WPM ortamında görülmüştür. Köklendirme yüzdeleri, 15 gün sonra 'Czelabinska' çeşidi için % 96 ve "Duet" çeşidi için % 92 olarak hesaplanmıştır.

Osburn vd. (2009), *Lonicera japonica* ve *Lonicera maackii* üzerine mikroçoğaltım çalışması yapmışlardır. Çoğaltım aşamasında üç farklı ortam denenmiştir (MS, WPM, DKW). *Lonicera japonica* için diğer ortamlarla karşılaştırıldığında Driver ve Kuniyuki (DKW) en etkili ortam olduğunu kanıtlanmıştır ve en yüksek çoğalma oranı μM (1,1 ppm) 6-benzyladenine (BA) ile desteklenmiş DKW ortamında olduğu belirlenmiştir. *Lonicera maackii* için ise DKW ve MS ortamlarının WPM'ye göre daha etkili olduğu kanıtlanmış ve en yüksek çoğalma oranını 2,5 μM (0,6 ppm) BA eklenmiş MS ortamı vermiştir. Koltuk altı filizleri, *L. japonica* ex vitro olarak başarıyla köklendirilmiştir. *L. maackii*'de 200 mg/lt IBA ile işlemden geçirilerek iyi köklenme sonuçları elde edilmiştir.

Wang vd. (2009), çiçeklerinin ihtiva ettiği klorojenik asit içeriğinden dolayı çok önemli bir genotip olan *Lonicera macranthoides*'in 'Jincuillei' çeşidinin mikro çoğaltılması üzerine yaptıkları bu çalışmada, yaprak eksplantlarından adventif sürgünlerin rejenerasyonuna dayanan etkili bir protokol geliştirmişlerdir. Kallus indüksiyonu için, Gamborg'un 2,4-D ve BAP ile desteklenen B5 ortamını kullanmışlardır. Adventif sürgün rejenerasyonu, kinetin ve NAA ile desteklenmiş besin ortamında gerçekleştiği bildirilmiştir. Ayrıca, kinetin ve NAA için optimum konsantrasyonların sırasıyla 0,9 μM ve 5,4 μM olduğu bildirilmiştir. Rejenere edilmiş tesadüfi sürgünler, 14,8 μM IBA ile takviye edilmiş yarı mukavemetli MS ortamında köklendirilmişlerdir.

Jin vd. (2011), bu çalışma ile *Lonicera edulis*'e ait birkaç üstün bireyin doku kültürüne adaptasyonu incelenmiştir. Kültüre alma, çoğaltma, köklendirme ve alıştırma denemeleri yapılmıştır. Bu tür için en uygun sitokininin BA (0,5 mg/lt BA, 1 mg/lt BA, 1,5 mg/lt BA) olduğu sonucuna varılmıştır (Kinetin ile karşılaştırıldığında). Başlangıç

ortamı ve kardeşlenme için; modifiye edilmiş MS+ 1 mg/lt 6-BA+0,2 mg/lt IBA, köklenme için ise; modifiye edilmiş MS + 1,5 mg/lt IBA olduğu saptanmıştır. Köklenmeye alınan bitkiciklerde 30 günlük kültür süresi sonunda %100 köklenme olduğu görülmüştür.

Hui vd. (2012), çalışmada beş farklı bal yemişi türünün mikro çoğaltması için etkili bir protokol oluşturulmuştur. Eksplant olarak apikal tomurcuklar kullanılmıştır. Çoğaltma ve köklendirme aşamasında çeşitli konsantrasyonlarda sitokin ve oksinler (BA, IBA ve IAA) ile desteklenen WPM ortamı kullanmışlardır. Kullanılan kombinasyonların iyi sonuçlar verdiği rapor edilmiştir (2, 6 ve 9 μ M'de NAA + 2, 4,5 ve 8,5 μ M BA ve 2, 6 ve 9 μ M'de IAA + 2, 4,5 ve 8,5 μ M BA). Köklendirme denemesi farklı konsantrasyonlarda IAA ve IBA kullanılarak gerçekleştirilmiştir (0-5,5 μ M IAA, 0-3 μ M IBA ile birlikte). Tüm bu konsantrasyonlarda, % 80'den fazla köklenme olduğu bildirilmiştir. En yüksek sayıda köklenme, 2,0 μ M IBA + 2,5 μ M IAA içeren ortamda gözlemlenmiştir. Mikro sürgünler % 70'den fazla hayatta kalma ile ex vitro olarak başarılı bir şekilde dış koşullara alıştırmıştır.

Gawrowski vd. (2013), bu çalışmada iki farklı bal yemişi çeşidinin (Atut ve Duet) in vitro üretime uygunluğunu belirlemeyi amaçlanmıştır. Çoğaltım aşamasında sitokin olarak BA ve Kinetin'in iki farklı dozu kullanılmış (2 mg/lt, 4 mg/lt). Her iki popülasyona ait bitkiciklerin %60'dan fazlasının sürgün uzunlukları 15mm fazla olduğu bildirilmiştir. 'Atut' çeşidi için en yüksek çoğaltma katsayısını Kinetin ile desteklenmiş MS ortamı verirken, 'Duet' çeşidi için BA ile desteklenmiş MS ortamı vermiştir.

Al vd. (2014), *Lonicera kamtschatica*'nın "Atut" çeşidi için mikro çoğaltım etkinliğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada 3 farklı eksplant tipi kullanılmış (üç boğumu olan sürgün parçaları, 2-3 cm uzunluğunda 3-5 boğumlu kısa yanal sürgünler, yaklaşık 5 cm uzunluğunda bütün sürgünler) ve 4 farklı sitokininin (1mg/lt BAP, 1mg/lt Zeatin, 1 mg/lt Meta-topoline, 0,5- 1 mg/lt CPPU) etkinliğini test etmişlerdir. Sitokin olarak CPPU (sentetik sitokin) kullanılarak uzun aksiller sürgünler ve en yüksek çoğaltma oranlarına sahip bitkiler elde etmişlerdir. Aynı zamanda jelleştirici madde olarak agar yerine 1 lt ortam için 50 gr buğday nişastası kullanmışlardır. Ayrıca in vitro çoğaltımda

bu tür için en uygun demir kaynağının FeNaEDDHA (Sequestrene138) olduğu belirlenmiştir. En yüksek çoğaltma oranlarını veren eksplant tipinin ise 3-5 düğümlü yanal sürgünler olduğunu belirlemişlerdir. Mikro sürgünler doğrudan dış koşullarda, özel olarak iklimlendirilmiş ortamda başarılı bir şekilde köklendirilmiştir.

Krupa-Malkiewicz ve Ochmian (2014), bu çalışmada tip 44, tip 46 ve 'Brazowa' çeşidinin mikroçoğaltımını başarı ile gerçekleştirmiştir. Kültür oluşturma aşamasında 1 mg/lt, 2 mg/lt, 4 mg/lt BAP ile desteklenmiş MS ortamı kullanılmış fakat sürgün gelişimi bakımından iki tip ve 'Brazowa' çeşidi için istatistiki olarak fark bulunamamıştır. Sürgün çoğaltım aşamasında genotipe ve BAP konsantrasyonlarına dayalı farklılıklar görülmüştür. Tip 44 ve Tip 46 için en yüksek kardeşlenme oranı 2 mg/lt BAP ile desteklenmiş MS ortamında görülmüşken 'Brazowa' çeşidi için 1 mg/lt BAP eklenmiş MS ortamında görülmüştür. En iyi mikro sürgün köklenme oranları 2,5 mg/lt IBA içeren MS besin ortamı kullanıldığında tip 44 (%58) için elde edilmiştir.

Li vd. (2014), bu çalışmada *Lonicera macranthoides*'in 'Yuleil' genotipinin genç gövde ve yaprakları eksplant olarak kullanılmıştır. Temel ortam olarak MS kullanılmış ve kültürün farklı aşamalarında NAA, 6-BA, TDZ ve IBA gibi farklı konsantrasyonlarda bitki büyüme düzenleyicileri ile eklenmiştir. Kallus indüksiyonu, çoğalması ve farklılaşması ile gövde aksiller tomurcuk indüksiyonu, çoğalması, köklenmesi konusunda sistematik bir çalışma yapılmıştır. Sonuç olarak aksiller tomurcuk indüksiyonu için MS + 6-BA 1,0 mg/L + NAA 0,5 mg/lt, aksillar tomurcuk proliferasyonu için MS + 6-BA 1,5 mg/lt + NAA 0,5 mg/lt ve köklenme için 1/2MS + IBA 1,0 mg/lt + NAA 0,2 mg/lt ortamları en iyi sonucu vermiştir.

Qi vd. (2015), bu çalışmada *Lonicera edulis*'in in vitro olarak çoğaltılması amaçlanmıştır. Başlangıçta 5 farklı ortamın etkinliği değerlendirilmiştir (1 mg/lt +0,2 mg/lt IBA ile desteklenmiş MS, N6, B5, H and White media). *L. edulis* için indüksiyon ve farklılaşma üzerine en iyi etki MS ortamında gözlemlenirken MS ortamının *L. edulis* sürgünlerinin farklılaşması üzerinde belirgin bir etkisi olduğu, farklılaşma oranının ise yüzde 98,5 olduğu rapor edilmiştir. N6 ve B5 ortamı ikinci en iyi etkiye sahip olduğu bildirilmiş ve en düşük etki ise H ve White ortamında gözlemlenmiştir. Başlangıç

kültüründe BA (1 mg/lt, 2 mg/lt, 3 mg/lt) +IBA (0,1 mg/lt, 0,2 mg/lt, 0,3 mg/lt) eklenmiş MS ortamı kullanılmıştır. En iyi etki 1 mg/lt BA+0,2 mg/lt IBA eklenmiş MS ortamında gözlemlenmiştir. Çoğaltım aşamasında ise BA (0,5 mg/lt, 1 mg/lt, 1,5 mg/lt) + IBA (0,1 mg/lt, 0,2 mg/lt, 0,3 mg/lt) + Kinetin (0,5mg/lt, 1 mg/lt, 1,5 mg/lt) farklı dozlardaki kombinasyonlarla desteklenmiş MS ortamı kullanılmıştır. Çoğaltım aşamasında en iyi etki 0,5 mg/lt BA + 0,3 mg/lt IBA + 1,5 mg/lt kinetin ile desteklenmiş MS ortamı vermiştir. Köklenme aşamasında farklı konsantrasyonlarda IBA ve NAA ile desteklenmiş MS, ½ MS ve ¼ MS kullanılmıştır. En iyi köklenme oranını 1,5 mg/lt IBA ile desteklenmiş ¼ MS ortamında gözlemlenmiştir.

Krupa-Malkiewicz vd. (2017), tarafından yapılan çalışmada, mavi hanımeline 'Wojtek' çeşidinin in vitro olarak köklenmesinin etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, odunsu ve otsu çeliklerin in vivo köklenmesi için farklı toprak substratlarının uygunluğu değerlendirilmiştir. 'Wojtek' mikro sürgünlerinin sterilizasyonu için kullanılan dezenfeksiyon solüsyonları arasından (%10 NaOCl ve %0,2 HgSO₄) en iyi sonuç %10'luk NaOCl solüsyonu uygulamasından sonra elde edilmiştir. Kültür ortamı olarak MS ortamı kullanılmıştır. MS ortamına eklenen oksinlerin bal yemişi mikro sürgünlerinin kök uzunluğu ve yapıları üzerinde uyarıcı etkiye sahip olduğu rapor edilmiş, en uzun kök gelişimi (52,0 mm), 2 mg/lt IBA ve 5,0 mg/lt IAA ile takviye edilmiş mineral konsantrasyonu %50 azaltılmış MS ortamında gözlemlenmiştir. 2,5 mg/lt IBA ilavesi yapılan mineral konsantrasyonu %50 azaltılmış MS ortamında ise en yüksek kök sayısı görülmüştür. Oksinler ile desteklenmemiş olan MS ortamında ise mikro sürgünlerin %8'i köklenmiştir. Bu çalışma ile otsu ve odunsu çeliklerin in vivo olarak köklendirilmesi başarı ile gerçekleştirilmiştir.

Pırlak ve Almokar (2018), bu çalışmada, aronya bitkisinden elde edilen, uzunluğu 1 cm olan yarı sert ağaç tomurcukları eksplant olarak kullanılmıştır. Eksplantlar ilk ortama alındıktan 21 gün sonra, yeni aronya filizleri, farklı BA (0,0-1,0-2,0 ve 3,0 mg/lt) ve IAA (0,0-0,01 ve 0,02 mg/) kombinasyonu içeren ortamlara aktarılmıştır. Kardeşlenme aşamasında en uzun sürgün uzunluğu (14,60 mm) 8. kombinasyonda (1,0 mg/lt BA +0,02 mg/lt IAA 0,1 mg/lt GA₃) görülmüştür. En yüksek sürgün sayısı ise 6. kombinasyonda (2,0 mg/lt BA +0,01 mg/lt IAA+0,1 mg/lt GA₃) görülmüştür. En

yüksek kök sayısı kontrol IBA'da (0 mg/lt IBA) görülürken köklenme için en uygun ortamın 1 mg/lt IBA içeren MS ortamı olduğu saptanmıştır.

Kadhim vd. (2019), bu çalışmada bal yemişinin in vitro olarak çoğaltılmasında büyüme düzenleyicilerinin etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Eksplant kaynağı olarak sürgün uçları kullanılmıştır. Başlangıç kültürü aşamasında eksplantlar beş farklı konsantrasyonda BA (0 - 1,0 - 1,5 - 2,0 ve 2,5 mg/lt) ve kinetin içeren MS ortamına konulmuştur. Kardeşlenme aşamasında ise bu konsantrasyonlara ek olarak 0,2 mg/lt IAA eklenmiştir. 2.5 mg/lt'lik sitokinin konsantrasyonu, kontrole kıyasla önemli ölçüde daha yüksek dal sayısı, dal uzunluğu ve vejetatif parçaların ağırlığını daha fazla arttırdığı bildirilmiştir. Sitokinin tipinin etkisine gelince, BA, daha fazla dal üretimi, dal uzunluğu ve vejetatif kısımların yaş ve kuru ağırlığı açısından kinetinle kıyaslandığında üstünlüğünü göstermiştir. Köklenme aşamasında ise IBA ve NAA'in (0, 0,5-1,0 ve 1,5 mg/lt) dört farklı konsantrasyonu kullanılmıştır ve her konsantrasyona, 0,2 mg/l BA eklenmiştir. Oksin türleri ve konsantrasyonları kök sayısı ve uzunluğu ile yaş ve kuru ağırlıklarını önemli ölçüde etkilemiştir. 1,5 mg/l'lik IBA konsantrasyonu, hiçbir oksin uygulanmayan kontrole kıyasla mavi hanımelinin vejetatif kısımlarının dal sayısı, dal uzunluğu ve yaş ve kuru ağırlığını önemli ölçüde artırmıştır.

Kefayeti vd. (2019), bu çalışmada, nodal segmentleri kullanarak 'Chester Thornless' böğürtlen çeşidinin in vitro çoğaltılması için protokolün optimizasyonuna odaklanılmıştır. Bu amaçla, eksplantlar, en iyi çoğalmayı saptamak için bitki büyüme düzenleyicileri BAP (1,5-2-3 mg/l) ile NAA (0- 0,1-0,2-0,4 mg/l) kombinasyonu ile takviye edilmiş Woody Plant Medium (WPM) içerisinde kültüre alınmıştır. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek çoğalma oranı 2 mg/l BAP+0,2 mg/l IBA kombinasyonu içeren besin ortamında 9.66 sürgün veren 'Chester Thornless' çeşidinde elde edilmiştir. Köklendirme için farklı konsantrasyonlarda IBA ve NAA (0-0,1-0,2 ve 0,4 mg/l) karşılaştırılmıştır. 0,4 mg/l NAA konsantrasyonu, en fazla kök sayısını ve maksimum kök uzunluğunu vermiştir.

Mihaljević vd. (2019), bu çalışma ile üç farklı bal yemişi çeşidinin (Kalinka, Polar Jewell ve Balalaika) mikro çoğaltım performansları belirlenmiştir. Çoğaltım ortamı olarak farklı tipte ve konsantrasyonlarda (0,1,2,4 mg/lt BA + 0-0,1-0,5-1 mg/lt IBA + 0-1-1,5-2 mg/lt NAA) bitki büyüme düzenleyiciler ile desteklenmiş DKW (Driver and Kuniyuki medium) ortamı kullanılmıştır. Köklenme aşamasında ise içerisinde farklı konsantrasyonlarda IBA (indol-3-butyric acid) hormonu bulunan DKW ve MS besin ortamları kullanılmıştır. En yüksek çoğaltım oranı “Balalaika” ve “Polar Jewell” çeşitleri için 5 mg/lt BA ve 1 mg/lt IBA eklenmiş DKW ortamında gözlemlenirken “Kalinka” çeşidi için 2 mg/lt BA ve 0,5 mg/lt IBA ihtiva eden DKW ortamında gözlemlenmiştir. En iyi köklenme oranını ise 1 mg/lt IBA ile desteklenmiş DKW ortamı vermiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Denemede materyal olarak Atatürk Bahçe Kùltùrleri Merkez Araştırma Enstitùsù tarafından Slovakya'dan getirilen 2 farklı çeşit (Jugana ve Bakczarskij velikan) bal yemişi fidanı kullanılmıştır. Deneme Atatürk Bahçe Kùltùrleri Merkez Araştırma Enstitùsù Doku Kùltürü Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

Bal yemişinde (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica*.) in vitro olarak gerçekleştirilen denemeler başlangıç, sürgün çoğaltımı ve köklendirme olmak üzere 3 aşamada gerçekleştirilmiştir.



şekil 3.1.1. Jugana ve B.velikan çeşidine ait bitkilerden bir görüntü



Şekil 3.1.2. Bal yemişi meyvelerinin görünüşü

3.2. Yöntem

Alternatif bir üretim tarzı olan ve günümüzde pek çok gelişmiş ülkede geniş çapta kitlesel üretimde ve araştırmalarında kullanılan doku kültürü yönteminin safhaları olan; yüzey sterilizasyonu, ortam hazırlığı ve kültür oluşturma, çoğaltma (kardeşlenme), köklendirme safhalarını kapsayan bir çalışma yapılmıştır. Eksplant olarak fidanların koltuk altı (aksiller) tomurcukları kullanılmıştır.

3.2.1. Başlangıç Kültürü Aşaması

3.2.1.1. Kültür ortamları hazırlığı ve kültür koşulları

Denemelerde, % 3'lük sukroz, % 0.65'lik agar (Duchefa Biochemie, P1001.1000) ilave edilmiş MS besin ortamı (Murashige ve Skoog 1962) kullanılmıştır. Ayrıca başlangıç kültürü aşamasında bitki büyüme düzenleyicisi olarak 0,5 mg/lt BAP ortama eklenmiştir.

Besin ortamlarının pH'sı, 0,1 N HCl ve 0.1 N NaOH kullanılarak 5,78'e ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar, ısıtıcı manyetik karıştırıcı üzerinde kaynamaya başlayana kadar (92 °C) tutulmuş ve sonrasında 15×2.5 cm'lik test tüplerine yaklaşık 15 ml olacak şekilde doldurularak 121 °C'de 1.1 atm basınçta 21 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

Çizelge 3.1. MS kültür ortamının kimyasal bileşimleri ve miktarları (Murashige ve Skoog 1962)

MAKRO ELEMENTLER		MİKRO ELEMENTLER		VİTAMİNLER	
Ortamda Bulunan maddeler	Doz (mg/l)	Ortamda Bulunan maddeler	Doz (mg/l)	Ortamda Bulunan maddeler	Doz (mg/l)
NH ₄ NO ₃	1650	KI	0,83	Myo Inositol	100
KNO ₃	1900	H ₃ BO ₃	6,2	Nicotinic Acid	0,5
CaCl ₂ . 2H ₂ O	440	MnSO ₄ .4H ₂ O	16,9	Piridoksin-HCL	0,5
MgSO ₄ .7H ₂ O	370	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6	Thiamine-HCl	0,1
KH ₂ PO ₄	170	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25	Glycine	2
		CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,025		
		CoCl ₂ . 6H ₂ O	0,025		
		Fe ₂ (SO ₄).7H ₂ O	27,85		
		Na ₂ EDTA.2H ₂ O	37,250		

3.2.1.2. Yüzey sterilizasyonu

Büyük saksılara dikilmiş olan sağlıklı ana bitkilerden, aktif büyüme dönemlerinde (Mart-Nisan) kesilerek alınan 10-15 cm uzunluğundaki sürgünler laboratuvarın ön hazırlık odasına getirilmiş ve yüzey sterilizasyonu için hazırlanmıştır. Çeliklerin yaprakları kesilerek uzaklaştırılmış ve koltukaltı tomurcuklarını içeren küçük parçalara ayrılmışlardır. Beher içerisindeki eksplanlar akan su altında antibakteriyal bir sıvı sabunla birkaç dakika çalkalanarak yıkanmışlardır. Ön işlemler yapıldıktan sonra steril kabin içerisine alınan eksplantlar %70'lik etil alkol ile 1 dakika muamele edilmiş ardından 2 kere steril bidestile su ile durulama işlemi yapılmıştır. Hemen sonra içerisinde %10'luk konsantrasyonda sodyum hypoklorit ve birkaç damla Tween 20 bulunan solüsyon ile 18 dakika boyunca muamele edilmiş ardından 3 defa steril bidestile su ile durularak bal yemişi eksplantlarının yüzey sterilizasyonu aşaması tamamlanmıştır (Şekil 3.2.1).



Şekil 3.2.1. Biyogüvenlik kabini içerisindeki yüzey sterilizasyonu işlemi

3.2.1.3. Kültür oluşturma

Uygun ajanlar kullanılarak yüzey sterilizasyonu tamamlanmış (Antibakteriyal sıvı sabun, etil alkol, sodyum hipoklorit, Tween 20) eksplantlar (sürgün ucu, koltukaltı tomurcuğu) yüzey sterilizasyonu tamamlandıktan sonra steril kabin içerisinde bulunan ve önceden hazırlanmış içerisinde 10-15 ml uygun kültür oluşturma ortamı olan (0,5 mg/l BAP eklenmiş MS ortamında) tüplerin (15×2,5 cm'lik test tüpleri) tam orta kısmına yerleştirilmiştir. Test tüplerine her tp için bir eksplant olacak şekilde dikim yapılmıştır. Tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra streç film ile sarılmıştır. İstenilen sayıda oluşturulan kültürler 24 ± 1 °C sıcaklıktaki 16 saat aydınlık 8 saat karanlık faza ve ışık şiddetine sahip iklim odasına yerleştirilmiştir. 4 hafta sonunda gelişen mikro sürgünler çoğaltma ortamına aktarılmıştır.

4 haftalık gelişme periyodu sonunda, başlangıç kültüründe kullanılan kullanılan 2 farklı çeşide ait eksplantların birbirleri ile karşılaştırılması amacıyla, eksplantlarda aşağıdaki parametreler değerlendirilmiştir.

Enfeksiyon oranı (%): Fungal, bakteriyel, diğer mikroorganizmalar ve fiziksel koşullardan dolayı enfekte olan eksplantların, toplam eksplant sayısına oranını ifade etmektedir.

Sürme oranı (%): 4 haftalık kültür süresi sonunda tomurcukları patlayıp mikro sürgün oluşturan (sürme meydana gelmiş) eksplantların, total eksplant sayısına oranını ifade etmektedir.

Bir eksplanttan alınan sürgün sayısı (adet): Eksplantın bir boğumundan çıkan sürgün sayısını ifade eder.

Sürgün uzunluğu (cm): Kültür ortamında gelişen mikro sürgünlerin cetvel yardımıyla ölçülen uzunluğunu ifade etmektedir.

Yaprak sayısı (adet): Her bir mikro sürgündeki yaprak sayısını ifade eder.



Şekil 3.2.2. Test tüplerinde bulunan eksplantların iklim odasındaki görüntüsü

3.2.2. Çoğaltma (Kardeşlenme) Aşaması

Bu aşamada MS ortamına 4 farklı dozda BAP hormonu (0-0,4-0,7-1,0 mg/lt) + 0,01 mg/lt NAA (Posser ve diğerleri, 2001; Ahmad ve diğerleri, 2003), % 3'lük sukroz, % 0,65'lik agar (Duchefa Biochemie, P1001.1000) ilave edilmiştir. Kültür ortamının Ph'sı 5,78 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar 425 ml'lik cam kavanozlara 50 ml olacak şekilde doldurulmuştur. Daha sonra 1.1 atm basınçta 121 °C'de 21 dakika boyunca sterilize edilmiştir. Tüplere aktarılan iki farklı çeşide ait eksplantlardan gelişen ortalama 4,5-5 cm uzunluğundaki mikro sürgünler 4 haftanın sonunda içerisinde uygun çoğaltma ortamı bulunan daha geniş yetiştirme kaplarına aktarılmıştır.

Deneme her bir BAP konsantrasyonu ve çeşit için kavanozlarda bulunan besin ortamına, her kavanozda 3 eksplant olacak şekilde dikim yapılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 12 bitki olacak şekilde olarak kurulmuştur.

Çizelge 3.2. Kardeşlenme denemesinde kapsamında MS ortamına ilave edilen BAP ve NAA konsantrasyonları (mg/l)

ÇEŞİT	BAP (mg/lt)
Jugana	0
	0,4
	0,7
	1
B. velikan	0
	0,4
	0,7
	1

24±1 °C’de, 16 saat fotoperiyotta florasan lamba altında 4 hafta boyunca bekletilmiş olan bitkiciklerin köklendirme ortamına transferi yapılmadan önce mikro sürgünlerde gelişme periyodu sonucunda aşağıdaki parametreler incelenmiştir.

Bir eksplanttan çıkan yeni sürgün sayısı (adet): Dört haftalık kültür süresi sonunda meydana gelen yeni sürgün sayısını ifade eder.

Sürgün uzunluğu (cm): 4 haftalık gelişme dönemi sonunda mikro sürgünlerin ulaştıkları uzunlukların cetvel yardımıyla ölçülmesi ile elde edilen veriyi ifade etmektedir.

Yaprak sayısı (adet): Bir bitkicikte bulunan yaprak sayısını ifade eder.



Şekil 3.2.3. Dört hafta sonunda eksplantlardan gelişen mikro sürgünlerin belirlenen parametreler bakımından incelenmesi

3.2.3. Köklendirme Aşaması

Bitkicikler köklenme aşamasına alınmadan hemen önce köklenme için uygun ortam hazırlığı yapılmıştır. Köklendirme aşamasında, % 3'lük sukroz, % 0.65'lik agar (Duchefa Biochemie, P1001.1000) ilave edilmiş MS besin ortamı (Murashige ve Skoog 1962) ortamı kullanılmış ve bitki büyüme düzenleyici olarak IBA'nın farklı konsantrasyonlarının (1,0 – 2,0 mg/L) etkisi kontrol grubu ile birlikte test edilmiştir. Hazırlanan kültür ortamının Ph'sı önceki aşamadaki gibi 5,78 olacak şekilde ayarlanmıştır. Kültür kabı olarak kullanılan 425 ml hacmindeki cam kavanozların her birine 45-50 ml olacak şekilde ortam dolumu yapılmış daha sonra kavanozların kapakları kapatılarak 1,1 atm basınçta 121 °C'de 21 dakika boyunca sterilize edilmiştir. Çoğaltma aşamasını tamamlayan mikro sürgünlerin steril kabin içerisinde önceden hazırlanmış köklendirme ortamlarına aktarımı yapılmıştır. Mikro sürgünlerin 4 haftalık köklenme periyodu sonunda en etkili oksin dozunun belirlenebilmesi için aşağıdaki parametrelere bakılmıştır;

Kök sayısı (Adet) : Bir mikro sürgünde oluşan kök sayısını ifade eder.

Kök uzunluğu (mm): Bir mikro sürgünde oluşan köklerin uzunluğu

Köklenme oranı (%) : Köklenen sürgünlerin toplam eksplant sayısına göre oranını ifade eder.

Deneme her bir IBA konsantrasyonu ve genotip için, her kavanozda 4 eksplant olacak şekilde dikim yapılmıştır. Deneme 3 tekerrürlü ve her bir tekerrürde 16 bitki olacak şekilde kurulmuştur.

3.2.4. Dış Koşullara Aktarma (Aklimatizasyon)

Kök ortamından çıkarılan bitkiciklerin kökleri agardan tamamen arıncaya kadar ılık musluk suyu ile yıkanmış ve hemen ardından hazırlanmış olan fungusit eriyiğine daldırılıp çıkarılmıştır. Daha sonra bu bitkicikler, otoklavda sterilize edilmiş torf + perlit

(1:1) ile doldurulmuş 45'lik viyollere dikilmiştir. Dikimin hemen ardından viyoller nem kontrolünü sağlamak amacı ile 50 litrelik saklama kaplarının içerisine konulmuş ve kapağı kapatılmış ardından 25 ± 1 °C sıcaklıktaki 16 saat aydınlık 8 saat karanlık faza ve ışık şiddetine sahip yetiştirme odasına yerleştirilmişlerdir. İçerisinde bitkicik bulunan saklama kaplarının kapakları 2 hafta süre ile kapalı tutulmuş nem durumu kontrol edilerek aralıklı olarak el spreyi ile su püskürtülmüştür. 2 haftanın sonunda kapaklar kademeli olarak açılarak bitkilerin dış koşullara adaptasyonu sağlanmıştır. Serada rutin bakım işlemlerine devam edilmiştir.



Şekil 3.2.4. Fungusit eriyiğine daldırılan köklenmiş bitkiler



Şekil 3.2.5. Viyollere dikilmiş bitkiler



Şekil 3.2.6. Dış koşullara adaptasyonunu tamamlamış bal yemişi çeşitleri

3.2.5. Verilerin Değerlendirilmesi

Denemeler neticesinde elde edilen tüm verilerin varyans analizleri 0.05 önemlilik seviyesinde ve JMP 7 bilgisayar programı kullanılarak yapılmıştır. Denemede elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklılıklar %5

önemlilik seviyesinde LSD testi ile karşılaştırılmıştır. Sürgün sayısına ait normal dağılım göstermeyen değerler \sqrt{n} transformasyonunu tabii tutulmuştur. Çoğaltım kültürü denemeleri tesadüf parselleri deneme desenine 4 faktörlü, köklendirme denemeleri ise tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 faktörlü olarak kurulmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bal yemişi çeşitlerinin doku kültürü ile çoğaltılabilme performansının belirlenmesinde; kontaminasyon oranı (%), sürme oranı (%), sürgün sayısı (adet), sürgün uzunluğu (cm), yaprak sayısı (adet), köklenme oranı (%), kök sayısı (adet), kök uzunluğu (mm) belirlenmiştir.

4.1. Başlangıç Kültürü Aşaması

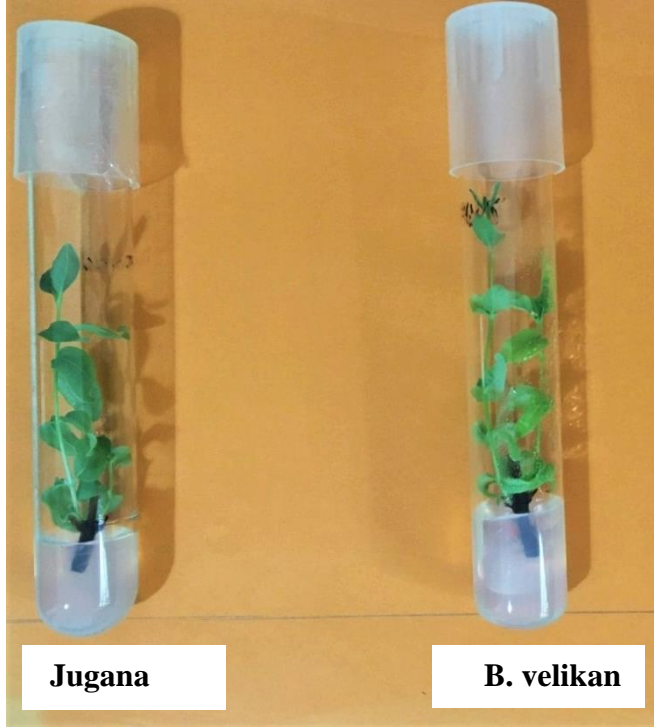
Çizelge 4.1. Bal yemişi çeşitlerinde besin ortamlarının, başlangıç kültürü aşamasında incelenen parametreler üzerine etkileri

Çeşit	Kontaminasyon oranı (%)	Sürme Oranı (%)	Bir eksplanttan çıkan sürgün sayısı (adet)	Sürgün Uzunluğu (cm)	Yaprak sayısı (adet)
Jugana	19,4	91,0	2,02	6,77	9,65
B. velikan	9,02	94,4	1,78	5,83	9,09
Ortalama	14,21	92,7	1,9	6,3	9,37

Yüzey sterilizasyonu tamamlanan eksplantlar için başlangıç kültürü aşamasında içerisinde 0,5 mg/lt BAP hormonu bulunan MS ortamı kullanılmıştır. Jugana ve B. velikan çeşitlerinde başlangıç kültürü ile ilgili olarak elde edilen veriler Çizelge 4.1' de verilmiştir. Jugana çeşidi için kontaminasyon oranı %19 iken B.velikan için %9,02 olarak bulunmuştur.

Nisan sonu Mayıs başında oluşturulan kültürlerde sağlıklı sürgün gelişimi gözlemlenmiştir. En yüksek sürme oranı %94,4 ile B.velikan çeşidinde tespit edilirken, Jugana çeşidinde sürme oranı %91 düzeyinde meydana gelmiştir.

Ortalama eksplant başına düşen yaprak sayısı Jugana çeşidinde 9,65 B.velikan çeşidinde 9,09 olarak hesaplanmıştır. Bir eksplanttan çıkan ortalama yeni sürgünlerin sayısı Jugana çeşidinde 2,02 iken B.velikan için 1,78 olarak tespit edilmiştir. Jugana çeşidinde ortalama sürgün uzunlukları 6,77 cm, B.velikan çeşidinde sürgün uzunlukları ortalama 5,83 cm olarak ölçülmüştür.



Şekil 4.1.1. Dört haftalık gelişim periyodundan sonra bal yemişi çeşitlerine ait mikro sürgünler

4.2. Sürgün Çoğaltım Aşaması

Bal yemişi çeşitlerinde sürgün çoğaltım aşamasında yapılan varyans analizine göre BAP dozlarının çeşitlerin sürgün sayısına etkisinde genotip x doz interaksyonu istatistiki olarak % 5 seviyesinde önemli bulunmuştur. Eksplant başına sürgün sayısı kullanılan sitokinin oranına bağlı olarak değişimler göstermiştir. Her iki çeşitte de en düşük çoğalma oranı kontrolde meydana gelmiştir.

Bu aşamada en iyi uygulama; MS + 0,4 mg/lt BAP dozunda Jugana çeşidinde mikro sürgün başına ortalama 3 adet yeni sürgün meydana gelmiştir ve sitokin dozunun artışına paralel olarak yeni sürgün sayısı azalmıştır. Jugana çeşidinin aksine B. velikan çeşidinde sitokin dozunun artışıyla yeni sürgün sayısında artışlar olmuştur.

Kontrolden sonraki en düşük çoğalma oranı B. velikan çeşidinde MS+0,4 mg/lt BAP dozunda mikro sürgün başına ortalama 1,72 adet yeni sürgün meydana gelmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Bal yemişi çeşitlerinde BAP dozlarının sürgün sayısına (adet) etkisi

Çeşit	Kontrol	0,4 mg/lt BAP	0,7 mg/lt BAP	1mg/lt BAP	Ortalama
Jugana	1 d	3,00 a	2,16 b	2,13 b	1,86
B.velikan	1 d	1,72 c	1,75 c	2,12 b	1,60
Ortalama	1	2,04	1,90	2,15	
Varyans Analizi Cv :% 3,28 (0,0328) P _{Çeşit × BAP dozları} : <0,05 LSD _{Çeşit×BAP dozu} : 0,22					

Bütün uygulamalar itibarı ile sürgün uzunluğu ortalama 5,20 cm ile 6,67 cm arasında değişmiş olup çeşitler arası ve uygulamalar arası fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Bal yemişi çeşitlerinde BAP dozlarının sürgün uzunluğuna (cm) etkisi

Çeşit	Kontrol	0,4 mg/lt BAP	0,7 mg/lt BAP	1mg/lt BAP	Ortalama
Jugana	6,67	5,75	5,64	5,74	5,95
B.velikan	5,62	5,85	5,93	5,20	5,65
Ortalama	6,26	5,84	5,42	5,68	
Varyans Analizi Cv :% 8,68 P _{BAP dozu} : ö.d. P _{Çeşit×BAP dozu} : ö.d. P _{Çeşit} : ö.d.					

Eksplant başına düşen en yüksek yaprak sayısı Jugana çeşidinde meydana gelmiştir (10,24). Jugana çeşidindeki eksplant başına düşen yaprak sayısı 9,86 adet ile 10,59 adet arasında, B.velikan çeşidi için ise 7,72 adet ile 9,32 adet arasında değişmekle birlikte, bu değer açısından çeşitler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmuştur. Uygulamalar arası farklılıklar önemsiz bulunmuştur. (Çizelge 4.4.)

Çizelge 4.4. Bal yemişi çeşitlerinde BAP dozlarının yaprak sayısına (adet) etkisi

Çeşit	Kontrol	0,4 mg/lt BAP	0,7 mg/lt BAP	1mg/lt BAP	Ortalama
Jugana	10,27	10,59	9,86	10,24	10,24 a
B.velikan	9,31	8,80	8,72	7,72	8,64 b
Ortalama	9,79	9,70	9,29	8,98	
Varyans Analizi					
Cv :% 11,44 LSD _{Çeşit} : 0,93 P _{Çeşit} : <0,01 P _{BAP dozu} : ö.d. P _{Çeşit×BAP dozu} : ö.d.					

4.3. Köklendirme Aşaması

Farklı IBA dozları ile desteklenen MS besin ortamının iki farklı bal yemişi sürgünlerinde kök sayısı üzerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular Çizelge 4.5.'de verilmiştir. Bal yemişi çeşitlerinde köklendirme aşamasında yapılan varyans analizine göre IBA dozlarının çeşitlerin kök sayısına etkisinde genotip x doz interaksyonu istatistiksel olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Bal yemişi çeşitlerinde Çizelge 4.5.'de görüldüğü gibi en fazla kök sayısı Jugana çeşidinde 2 mg/lt IBA dozundan elde edilirken (3,47), bunu takiben ikinci en yüksek kök sayısı 2 mg/lt IBA dozunda B.velikan çeşidinde (3,06) elde edilmiştir. Uygulamalar kıyaslandığında ve çeşitler kıyaslandığında en az kök sayısı her iki çeşit içinde oksin ilave edilmemiş kontrol grubundan elde edilmiştir.

Çizelge 4.5. Bal yemişi çeşitlerinde köklenme aşamasında IBA dozlarının kök sayısına (adet) etkisi

Çeşit	Kontrol	1 mg/lt IBA	2 mg/lt IBA	Ortalama
Jugana	0,27 e	2,16 d	3,47 a	1,97
B. velikan	0,30 e	2,79 c	3,06 b	2,05
Ortalama	0,28	2,48	3,92	

Varyans Analizi
Cv: % 6,64 LSD_{Çeşit×IBA dozu} : 0,56 P_{Çeşit×IBA dozu}: <0,01 P_{IBA}:<0,01 P_{Çeşit}: ö.d.

Köklendirme aşamasında iki farklı bal yemişi çeşidine ait in vitro sürgünlerin her birinde oluşan tüm köklerin uzunluklarının ortalaması değerlendirildiğinde ortaya çıkan ortalama kök uzunlukları Çizelge 4.6. da verilmiştir. Yapılan varyans analizine göre IBA dozlarının çeşitlerin kök uzunluğuna etkisinde genotip x doz interaksyonu istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. Her iki çeşit içinde en düşük kök uzunluğu değeri kontrolde meydana gelmiştir. Çizelge 4.6.'da görüldüğü gibi en uzun kök değeri 2.0 mg/lt IBA dozunda Jugana çeşidinde (11,52mm) elde edilmiştir. En uzun ikinci kök uzunluğu değeri B.velikan çeşidinde (9,36 mm) olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. Bal yemişi çeşitlerinde köklenme aşamasında IBA dozlarının kök uzunluğuna (mm) etkisi

Çeşit	Kontrol	1 mg/lt IBA	2 mg/lt IBA	Ortalama
Jugana	1,29e	8,28c	11,52a	7,02
B. velikan	0,62f	6,21d	9,36b	5,39
Ortalama	0,96	7,24	10,44	

Varyans Analizi
Cv: % 5,09 LSD_{IBA dozu} : 2,74 LSD_{Çeşit×IBA dozu} ;0,56
P_{IBA dozu} : <0,01 P_{Çeşit}: <0,01 P_{Çeşit×IBA}: <0,01

MS temel besin ortamına eklenen farklı IBA dozlarının bal yemişi sürgünlerinde kök oluşum oranları üzerine etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular Çizelge 4.7.'de verilmiştir.

İki farklı çeşitte bitki başına düşen köklenme oranları incelenmiş, Çizelge 4.7.'ye göre her iki çeşitte de en düşük köklenme oranı kontrol grubunda olmuştur. IBA eklenmemiş kontrol grubunda köklenme oranı B. velikan çeşidi için %14,58 olarak Jugana çeşidi için ise %18,75 olarak hesaplanmıştır.

En yüksek köklenme oranı her iki çeşit içinde 2 mg IBA ile desteklenmiş MS ortamında görülmüştür. Buna göre 2 mg IBA ile desteklenmiş MS ortamında en yüksek köklenme oranı Jugana çeşidinde %87,50 olarak hesaplanmış ve bunu takiben ikinci en yüksek köklenme oranına sahip B.velikan çeşidinde % 75 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7. Bal yemişi çeşitlerinde IBA dozlarının köklenme %'sine etkisi

Çeşit	Kontrol	1 mg/l IBA	2 mg/l IBA	Ortalama
Jugana	%18,75	%70,80	%87,50	%59,01
B. velikan	%14,58	%62,50	%75	%50,70
Ortalama	%16,67	%66,65	%81,25	



Şekil 4.1.2. Farklı IBA konsantrasyonlarında kültüre alınan bal yemişi çeşitlerinin haftalık gelişme periyodu sonundaki genel görünüşleri

4.3.1. Dış Koşullara Alıştırma (Aklimatizasyon)

Agar ortamından dış koşullara aktarılan bal yemişi çeşitlerine ait bitkiler kontrollü şartlar sağlanamadığından dolayı sonuçlar genel olarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8.'de verilmiştir.

Dış koşullara aktarmada Jugana çeşidinde önemli kayıplar yaşanmamıştır. %100 oranı ile bitkiler yaşamaya devam etmiştir. Bunun yanı sıra B.velikan çeşidinde bitkilerin kökleri agardan arındırıldak sonra aktarıldıkları viyolde kontaminasyon kaynaklı bitkilerin tamamında kayıp yaşanmıştır.

Çizelge 4.8. Dış koşullara aktarılan bitkilerin hayatta kalma oranları

Çeşit	Köklendirme Uygulamaları	Köklendirmeye alınan bitki sayısı (adet)	Köklenen Bitki Sayısı (adet)	Canlı kalma oranı (%)
Jugana	Kontrol	16×3	9	100
	1 mg IBA	16×3	35	100
	2 mg IBA	16×3	39	100
B.velikan	Kontrol	16×3	7	0
	1 mg IBA	16×3	30	0
	2 mg IBA	16×3	36	0



Şekil 4.1.3. B. velikan çeşidinde meydana gelen kontaminasyon



Şekil 4.1.4. Dış ortama alıştırılmış bitkilerin iki ay sonraki görünüşleri

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Değişen hayat koşulları ile birlikte sağlıklı besinlere olan ilgi artmıştır. Üzüksü meyvelerin sağlık için öneminin anlaşılmasıyla birlikte bal yemişi meyvelerinin flavonoidler, fenolik asitler ve fizyolojik olarak aktif polifenoller gibi sağlıklı bileşikleri içerdiğinden dolayı, bu üzüksü meyvenin popüleritesinin giderek artacağı düşünülmektedir. Bu çalışma ile ülkemiz kültüre alınmış bitki potansiyeli ve ihtiyaçları dikkate alınarak ülkemiz açısından yeni sayılabilecek, önemli bulunan ve gelecek vadeden bir tür olduğu düşünülen bal yemişinin hızlı bir şekilde klonal olarak çoğaltıp üretime kazandırmak ve projede kullanılacak olan iki bal yemişi çeşidinin in vitro gelişim performanslarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca çalışmada düşük dozlarda sitokinin kullanımının sürgün rejenerasyonu üzerindeki etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Bal yemişinin çoğaltılmasında birçok türde olduğu gibi kısa bir zaman diliminde çok sayıda sağlıklı bitki üretilmesine olanak sağlayan, in vitro çoğaltım yöntemlerinden yararlanılmaktadır. Dünya’da bal yemişinin in vitro çoğaltımı üzerine az sayıda çalışma yapılmış olup, ülkemizde ise bu konuda henüz yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Modern bahçe tesisinde ve üretiminde güvenilir, hastalıktan ari fidan kullanmak önemlidir. Bu nedenle in vitro çoğaltım metodu ile üretilen bitkiler büyük talep görmekte ve klonal hastalıklardan bakımından ari olmaktadır.

Doku kültüründe kullanılan sterilizasyon yöntemleri başarıyı etkileyen en önemli unsurlardan biridir. Eksplantların sağlıklı olarak gelişebilmesi için hazırlanan besin ortamı aynı zamanda mikrobiyal etmenlerin gelişimi için de ideal bir ortam hazırlamaktadır. Mikroçoğaltım çalışmalarında yapılan sterilizasyon yönteminin etkinliği kullanılan dezenfektan konsantrasyonuna ve uygulama süresine göre değişebilmektedir. Eksplantın alındığı bitkinin türüne ve yetiştirme koşullarına göre uygulama süresi ve kullanılan dezenfektanın konsantrasyonu belirlenmelidir. Bundan dolayı, bir yüzey sterilizasyonu çalışmasında en etkili ve en düşük konsantrasyonda dezenfektan kullanımının belirlenmesi önemlidir (Kyte, 1987). Bal yemişinin doku kültürü ile çoğaltılması konusunda yapılan çalışmalarda yüzey sterilizasyonu için

başlangıçtaki eksplantlara, %15'lik civa klorür (Sedlák ve Paprstein 2007), %0,2'lik civa sülfat ve %10'luk NaOCl (Krupa-Malkiewicz ve Ochmian 2014), NaOCl (Karhu 1997; Osburn ve diğerleri, 2009) ve %10'luk kalsiyum hipoklorit (Dziedzic, 2008) gibi farklı kimyasal çözeltiler kullanılmıştır. Sedlák ve Paprstein (2007) dezenfeksiyon için %0.15 civa klorür (HgCl₂) solüsyonu kullanmış ve Altaj çeşidinin başlangıçtaki kontamine olmayan eksplantlarının %50'sinin sterilizasyon prosedüründen sonra öldüğünü gözlemlemişlerdir. Krupa-Malkiewicz ve diğerleri'nin (2017) yaptıkları çalışmada bal yemişine ait 'Wojtek' çeşidinde yüzey sterilizasyonu için %10'luk NaOCl ve % 0,2'lik HgSO₄ olmak üzere iki farklı kimyasal kullanmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre %0,2'lik HgSO₄ solüsyonunda %62,9 bulaşma olurken, %10'luk NaOCl solüsyonunda %28,1 bulaşma olmuştur. Yapılan çalışmalar ışığında bu tez çalışmasında NaOCl (sodyum hipoklorit) kullanılabilecek şekilde dezenfeksiyon işlemi yapılmıştır. %10 NaOCl ile sterilizasyondan sonra kültüre alınan 'Jugana' eksplantlarında %14,4 oranında, 'B.velikan' eksplantlarında %9,02 oranında kontaminasyon olmuştur (Çizelge 4.1.).

İki çeşide ait eksplantlardaki sürme oranı, sürgün sayısı, sürgün uzunluğu, yaprak sayısı, parametrelerinde başlangıç ortamında 0,5 mg/lt BAP konsantrasyonunda başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Başlangıç kültüründe sürme oranı Jugana çeşidine ait eksplantlarda % 91 iken B.velikan çeşidine ait eksplantlarda % 94,4 dolayında olmuştur. Qi ve diğerleri (2015) *Lonicera edulis*'in mikroçoğaltımı üzerine yaptıkları çalışmada 5 farklı besin ortamı denemişlerdir (MS,N₆,B₅, H, White). MS ortamı *L. edulis* indüksiyonu ve farklılaşması üzerinde en iyi etkiye sahip olduğu, N₆ ve B₅ ortamlarının ise en iyi ikinci etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. H ve White ortamlarının en kötü etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. MS ortamının *L. edulis* sürgünlerinin farklılaşması üzerinde belirgin bir etkisi olduğunu, sürme oranının yüzde 98,5, N₆ ve B₅ ortamlarındaki sürme oranları sırayla %71,6 ve %68,5 iken, H ve White ortamların sürme oranları sırayla %63,6 ve %62,3 olduğu kaydedilmiştir.

Önceki çalışmalarda *Lonicera* türlerinin in vitro çoğaltımı için sürgün gelişimi aşamasında sitokinin olarak BAP'ın başarılı bir şekilde kullanılabileceği kaydedilmiştir (Karhu 1997a). Krupa-Malkiewicz ve diğerlerinin (2017) yaptıkları çalışmada başlangıç

ortamı olarak BAP'ın farklı dozları (0 – 1,0 – 2,0 ve 4,0 mg/lt) ile desteklenmiş MS ortamı, bal yemişine ait Wojtek çeşidinin sürgün sayısı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etki göstermediği ve eksplant başına düşen yeni sürgün sayısı ise aynı düzeyde (1,50 adet) olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda başlangıç aşamasında 0,5 mg/lt BAP ile desteklenmiş MS ortamındaki eksplant başına düşen ortalama sürgünlerin sayısı Jugana çeşidi için 2,02 iken B.velikan için eksplant başına düşen ortalama sürgün sayısı 1,78 olarak kaydedilmiştir. Yüksek sitokinin konsantrasyonlarının sürgün oluşumunu azalttığı, sürgün çoğalmasını engellediği, başarılı sonuçların ise daha düşük dozlardan elde edildiği vurgulanmıştır (Bhau ve Wakhlu 2003).

Çalışmamızda başlangıç ortamında 0,5 mg/lt BAP ile desteklenmiş MS ortamında Jugana çeşidinin ortalama sürgünlerinin uzunluğu 6,77 cm olarak, B.velikan çeşidinin ortalama sürgünlerinin uzunluğu 5,83 cm olarak kaydedilmiştir. Krupa-Malkiewicz ve Ochmian'ın (2014) yaptıkları çalışmada başlangıç ortamında en iyi sürgün uzunluğu 2,0 mg/lt BAP ile takviye edilmiş MS ortamında Brazowa çeşidi için elde edilirken (5,0 cm), en düşük sürgün uzunluğu değeri 4,0 mg/lt BAP ile takviye edilmiş MS ortamında tip 44 (1,5cm) için bildirilmiştir.

Krupa-Malkiewicz ve diğerleri'nin (2017) yaptıkları çalışmada başlangıç ortamında farklı konsantrasyonlarda BAP ile desteklenmiş MS ortamının bal yemişinin 'Wojtek' çeşidine ait sürgünlerdeki yaprak sayısı üzerine etkisine bakılmış ve sürgün başına düşen en yüksek yaprak sayısı (18,5 adet) 1 mg/lt konsantrasyonda BAP ile desteklenmiş MS ortamında olduğu bildirilmiştir. BAP eklenmemiş MS ortamında ise sürgün başına 7 adet yaprak düştüğü belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada 0,5 mg/lt BAP ile desteklenmiş MS ortamında çeşitlerin ortalama sürgün başına düşen yaprak sayısı arasında bir fark bulunmamış olup Jugana çeşidinde sürgün başına düşen ortalama yaprak sayısı 9,65 adet iken B.velikan çeşidinde bu sayı 9,09 adet olarak hesaplanmıştır.

Mikroçoğaltım çalışmalarında başarıyı etkileyen en önemli faktör her bitki türü ve çeşidi için uygun büyümeyi düzenleyicinin ve kullanılacak konsantrasyonunun belirlenmesidir. Bu çalışmada da kardeşlenme aşamasında 0,01 mg/lt NAA eklenmiş farklı BAP konsantrasyonlarının etkisi incelenmiştir. Yaptığımız çalışmada çoğaltım

aşamasında en fazla sürgün sayısı 0,4 mg/lt BAP dozunda Jugana çeşidinde (3,00 adet) olarak hesaplanmış ve sitokin dozunun artışına paralel olarak yeni sürgünlerin sayısı azalmıştır. B.velikan çeşidinde ise BAP dozu artışına paralel olarak yeni sürgünlerin sayısında artışlar görülmüştür ve en fazla yeni sürgün 1 mg/lt BAP dozunda (2,12 adet) olmuştur. En düşük değer BAP ilave edilmemiş MS ortamında (kontrol) elde edilmiştir. Sedlak ve Parpstein'in (2007) bal yemişine ait iki farklı genotip ile yaptıkları çalışmada eksplant başına düşen sürgün sayısının genotipe ve BAP konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiğini ve besin ortamındaki BAP konsantrasyonundaki artışlar bal yemişine ait Altaj çeşidinde yeni sürgünlerin sayısı üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır. Yaptıkları çalışmada Altaj genotipi 1 mg/lt BAP eklenmiş MS ortamında 2,7 adet yeni sürgün verirken 20/1 genotipi 4,2 adet sürgün vermiştir ve En yüksek sürgün sayısı 2 mg/lt BAP eklenmiş MS ortamında 20/1 (10,5) genotipinde görülürken en düşük sürgün sayısı 4 mg/lt BAP eklenmiş MS ortamında Altaj (1,6) çeşidinde görüldüğü kaydedilmiştir. Farklı bir çalışmada ise BAP konsantrasyonundaki artışlara paralel olarak sürgün sayısında da artış olduğunu bildirmişlerdir (Krupa-Malkiewicz ve Ochmian, 2014). Bu sonuçlar bal yemişi çeşitleri için elde ettiğimiz bulguları destekler niteliktedir.

Çoğaltım aşamasında uygulamalar itibarı ile sürgün uzunluğu ortalama 5,20 cm ile 6,67 cm arasında değişmiş olup çeşitler arası ve uygulamalar arası fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4.3.). Başka bir çalışmada bal yemişine ait 'Wojtek' çeşidinde koltuk altı tomurcuklarından elde edilen mikro sürgünlerin uzunlukları 1,0 ve 2,0 mg/lt BAP ile desteklenmiş %100 ve %50 mineral tuzlar içeren MS ortamında çoğalan sürgünlerin uzunluklarının kontrole kıyasla daha kısa olduğu ve BAP eklenmemiş ortamdaki sürgünlerin ortalama uzunluğu 4,75 cm olarak bildirilmiştir (Krupa-Malkiewicz ve diğerleri, 2017). Çalışmamız bu çalışma ile kıyaslandığında düşük dozda BAP kullanımının sürgün uzunluğunu pozitif yönde etkilediği düşünülmüştür.

Çoğaltım aşamasında ortalama yaprak sayısı bakımından yapılan hesaplamalarda ise yaprak sayısı bakımından uygulamalar arası fark istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, Jugana ve B. Velikan çeşitlerinin ortalamaları arasındaki fark, yani

çeşitlerin genel davranışı bakımından ortaya çıkan farklılık istatistiksel olarak anlam taşımaktadır.

Yaptığımız çalışmada BAP dozlarının sürgün gelişimi üzerindeki etkisinin yapılan diğer çalışmalarda olduğu gibi çeşide göre değişiklik gösterdiği anlaşılmıştır (Karhu,1997a) BAP sentetik bir sitokinin olup, sitokininlerin büyüme ve farklılaşmayı teşvik ettiği, hücre bölünmesini düzenlediği, sürgün gelişimi ve yaprak patlamasına neden olduğu özellikle oksinlerle birlikte kullanıldığında kök gelişimini teşvik ettiği bilinmektedir (McGaw ve Burch, 1995) Sitokininlerin bahsi geçen fizyolojik etkilerinden dolayı mikroçoğaltım çalışmalarında sürgün rejenerasyonu aşamasında yeni sürgün sayısını artırmak amacıyla kullanılmaktadır. Bu çalışmada BAP dozlarının sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve yaprak sayısı üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Osburn ve diğerlerinin 2009'deki yaptıkları çalışmada çoğaltma aşamasında ortama eklenen IBA'nın BA'nın etkinliğini arttırmadığını rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda kardeşlenme aşamasında sürgünlerin yapraklarında klorozlar ve nekrozlar gözlemlenmiştir. Sürgünlerdeki geriye doğru ölümlerin en büyük sebebinin kalsiyum eksikliğine bağlı olduğu bildirilmiştir (Mccown & Sellmer, 1987). Farklı bir çalışmada ise sürgün ucu nekrozu ve yaprak sararmalarının en önemli sebebinin düşük mineral konsantrasyonu ve yüksek sıcaklıktan kaynaklandığı bildirilmiştir (Karhu,1997). *Lonicera* türleri ile yapılan diğer çalışmalarda kloroz problemleri ile karşılaşmıştır (Al ve diğerleri, 2014; Karhu,1997). Al ve diğerleri (2014) *Lonicera kamtschatica* 'Atut' çeşidinde yaptıkları çalışmada yapraklardaki sararmayı ortama ekledikleri FeNaEDDHA (Sequestrene 138) ile tedavi ettiklerini, bu uygulamadan sonra klorozun büyük ölçüde azaldığını ve mikro sürgünlerin daha sağlıklı görüldüğü bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise yapraklarda görülen kloroz ortama eklenen demir kaynağının iki kat artırılması giderilmiştir (Karhu,1997).

Önceki çalışmalarda *Lonicera* türlerinin in vitro olarak köklendirilebilmeleri için oksin kaynağı olarak IBA'nın kullanılabileceği rapor edilmiştir (Karhu, 1997b). Çalışmamızda en yüksek köklenme oranı 2 mg/l IBA ile desteklenmiş MS ortamında 'Jugana' (%87,50) çeşidinde görülmüştür. En düşük köklenme oranı IBA eklenmemiş kontrol

grubunda ‘B.velikan’ (%14,58) çeşidinde meydana gelmiştir ve bunu %18,75 köklenme oranıyla ‘Jugana’ çeşidi izlemiştir. Osborn ve diğerleri (2009) yaptıkları çalışmada mikro sürgünlerin köklenmelerinin yapılan uygulamaya ve genotipe göre değişiklik gösterebileceği bildirilmiştir. *Lonicera caerulea L.* ‘Wojtek’ çeşidinde yapılan köklenme çalışmasın IBA eklenmemiş kontrol grubundaki eksplantların yalnızca %8’inin köklendiği bildirilmiştir. IBA’nın köklenme üzerinde olumlu etkilerinin olduğu anlaşılmıştır. (Krupa-Malkiewicz ve diğerleri, 2017).

Yapılan çalışmalarda MS ortamına IBA ilavesi, bal yemişinin kök uzunlukları ve kök sayıları üzerinde uyarıcı etki gösterdiği vurgulanmıştır (Dziedzic, 2008; Qi ve diğerleri, 2015; Krupa-Malkiewicz ve Ochmian, 2014; Krupa-Malkiewicz ve diğerleri, 2017). Krupa-Malkiewicz ve diğerleri, (2017) yapmış oldukları çalışmada ‘Wojtek’ çeşidinde 5,00 mm ile 52,0 mm arasında kök uzunluğu elde etmişlerdir ve en uzun kök uzunluğu (52,0 mm), 2 mg/lt IBA + 5 mg/lt IAA ile takviye edilmiş %50 MS ortamında meydana gelirken, en kısa kök uzunluğunun (5,00 mm) IBA eklenmemiş MS ortamında meydana geldiği bildirilmiştir. Krupa-Malkiewicz ve Ochmian, (2014) ise, en uzun kök oluşumu klon 44 için (4,83 cm) 2,5 mg/lt IBA ile desteklenmiş %50 MS ortamında, klon 46 için (1,17 cm) 2 mg/lt IBA+ 5,0 mg/lt IAA ile desteklenmiş %50 MS ortamında ve Brazowa çeşidi için (0,67 cm) ise ve 2,0 mg/lt IBA ve 5,0 mg/lt IAA ile desteklenmiş MS ortamında olduğu bildirilmiştir. Klon 44’ün köklerinin morfolojik olarak değişkenlik gösterdiğini ve 2,0 mg/lt IBA ve 5,0 mg/lt IAA ile desteklenmiş MS’li ortamda üretilen köklerin, 2,5 mg/lt IBA’lı (4,83 cm) MS ortamında oluşturulan köklere göre daha kalın ve daha kısa (2,0 cm) olduğunu kaydetmişlerdir. Klon 46 için ise yalnızca 2,0 mg/lt IBA+5,0 mg/lt IAA ile desteklenmiş %50 MS ve MS ortamlarında kök oluşumu gözlemlenmiştir. Buna karşılık, Brazowa çeşidi ise, in vitro olarak en zayıf köklenmeyi sergilediği ve kök oluşumunun sadece 2,0 mg/lt IBA ve 5,0 mg/lt IAA ile desteklenmiş MS ortamında olduğu rapor edilmiştir. Kök uzunluğu bakımından elde ettiğimiz bulgularda IBA dozlarının çeşitlerin kök uzunluğuna etkisinde genotip x doz interaksyonu istatistiki olarak %1 seviyesinde önemli bulunmuştur. IBA dozundaki artışa paralel olarak kök uzunluğunda artışlar olmuştur. Jugana her iki çeşitte de en uzun kök 2 mg/lt IBA ile desteklenmiş MS ortamında görülmüştür.

Mikro sürgün başına düşen kök sayısı bakımından Krupa-Malkiewicz ve diğerlerinin (2017) yaptıkları çalışmada 5 farklı IBA dozunu içeren MS ortamı kullanmışlardır (kontrol MS, %50 MS + 2,5 mg/lt IBA, MS + 2,5 mg/lt IBA, %50 MS + 2,0 mg/lt IBA + 5 mg/lt IAA, MS + 2,0 mg/lt IBA + 5 mg/lt IAA) ve en yüksek kök sayısını %50 MS + 2,5 mg/lt IBA ihtiva eden ortamda (4,00 adet) elde etmişlerdir. En düşük kök sayısı ise kontrol grubunda meydana gelirken (0,1 adet) en düşük ikinci kök sayısı (2,5 adet) MS + 2,5 mg/lt IBA ihtiva eden ortamda meydana gelmiştir. MS + 2,0 mg/lt IBA + 5 mg/lt IAA ile desteklenmiş ortamda bitki başına 2,8 adet kök oluşmuş ve ortama eklenen ekstra 5 mg/lt IAA'in çok fazla etkisinin olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda bitki başına düşen en fazla kök sayısı Jugana çeşidinde (3,47 adet) 2 mg/lt IBA ile desteklenmiş MS ortamında gözlemlenmiştir. Bitki başına düşen en yüksek ikinci kök sayısı B. Velikan çeşidinde 2 mg/lt IBA ihtiva eden MS ortamında kaydedilmiştir. Her iki çeşit için de bitki başına düşen en düşük kök sayısı kontrol grubunda görülmüştür.

In vitro da köklendirilen bitkicikler alıştırılmaları için toprağa aktarılmışlardır. Yapılan bu çalışmada, bal yemişinin in vitro yöntemiyle tam bir bitki eldesi için geçen süre 16-20 hafta olmuştur.

Jugana ve B.velikan in vitro olarak üretimi gerçekleştirilmiştir. İn vitro'da yapılan çoğaltma ve köklendirme çalışmaları her iki çeşitte de başarı ile tamamlanmıştır. Jugana çeşidinde alıştırma safhasında in vitro şartlarda köklendirilen bitkicikler dış şartlara uyum sağlamıştır fakat B.velikan çeşidine ait bitkicikler alıştırma safhasında yaşanan bir kontaminasyondan kaynaklı çeşide ait bitkiciklerin tamamında kayıp yaşanmıştır.

Bu çalışma ile bal yemişinin kitlesel olarak üretilebileceği görülmüştür. Ülkemizde için yeni bir üzüksü meyve olan ve farklı iklim koşullarına adaptasyonu yüksek olan bal yemişinde ilerde yapılabilecek olan çalışmalarda farklı çeşitler, farklı ortamlar ve ortam konsantrasyonları (DKW, WPM, vb.), bitki büyüme düzenleyicileri (sitokin ve oksin) kullanılarak araştırmalar yapılabilir. Ayrıca organik üretime uygun olması, organik yetiştiricilik için farklı bir ürün olacaktır.

KAYNAKLAR

- Al, F., Clapa, D., Cristea, V., & Plopa, C. (2014). *In vitro* propagation of *Lonicera kamtschatica*. Agriculture - Science and Practice. No: 1- 2(89-90)/2014. Erişim Adresi: <http://journals.usamvcluj.ro/index.php/agricultura/article/view/10239>
- Arus, L., & Kask, K. (2007). Edible honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *edulis*)—underutilized berry crop in Estonia. NJF Report, 3(1), 33–35.
- Bhau B.S. & Wakhlu A.K. (2003). Rapid micropropagation of five cultivars of mulberry. *Biologia Plantarum* 46 (3):349-355. doi : 10.1023/A:1024313832737
- Bors, B., Thomson, J., Sawchuk, E., Reimer, P., Sawatzky, R., Sander, R., Kaban, T., Gerbrandt, E., & Dawson, J. (2012). Haskap Breeding and Production; Final Report. Saskatchewan Agriculture: Saskatoon, SK, Canada, 2012; pp. 1–142. Erişim Adresi: <https://docplayer.net/48362760-Haskap-breeding-production-final-report-january-2012.html>
- Celli, G.B., Ghanem, A., & Brooks, M.S.L. (2014). Haskap Berries (*Lonicera caerulea* L.) - A critical review of antioxidant capacity and health-related studies for potential value-added products. doi: 10.1007/s11947-014-1301-2
- Chaovanalakit, A., Thompson, M.M., & Wrolstad, R. E. (2004). Characterization and quantification of anthocyanins and polyphenolics in blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.). *J. Agric. and Food Chem.* 52:848–852. doi: 10.1021/jf030509o
- Debnath S.C. (2007). Strategies to propagate *Vaccinium* nuclear stock for the Canadian berry industry. *Can. J. Plant Sci.* 7, 911–922. doi :10.4141/P06-131
- Dziedzic E. (2008). Propagation of Blue Honeysuckle (*Lonicera caerulea* var. *kamtschatica* Pojark.) in In Vitro Culture. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* Vol. 16: 93-100.
Erişim adresi: http://www.inhort.pl/files/journal_pdf/journal_2008/full10%202008.pdf
- Fidancı, A., Baş, M., Aktepe Tangu, N., Başer, S., & Utku, Ö. (2015). Bazı meyve türlerinin mikroçoğaltım performanslarının belirlenmesi-2. TAGEM/BBDAD/13/A08/PO1/04 nolu Proje Sonuç Raporu, Yalova.
- Gavrowski, J., Zebrowska, E., Kaczmarska, W., Marecki, I. ... Czopska, K. (2013). Analysis of growth and development of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.var. *kamtschatica* Sevast.) seedlings in in vitro culture. *Poland.* Vol:23(4)
- George, V. C., Dellaire G, & Rupasinghe H. P. V. (2017). Plant flavonoids in cancer chemoprevention: role in genome stability *J. Nutr. Biochem.*, 45 (2017), pp. 1-14 doi: 10.1016/j.jnutbio.2016.11.007

Golis T., & Gwozdecki J. (2007). Evaluation of honeysuckle (*Lonicera* sp.) cultivars in Poland. *Vaccinium* ssp. and Less Known Small Fruits: Cultivation and Health Benefit and COST 863 Euroberry Research: from Genomic to Sustainable Production, Quality and Health, Joint Meeting WG3&4. Book of Abstracts: 69.

Harb, J., Khraiweh, B., Streif, J., Reski, R., & Frank, W. (2010). Characterization of blueberry monodehydroascorbate reductase gene and changes in levels of ascorbic acid and the antioxidative capacity of water soluble antioxidants upon storage of fruits under various conditions. *Scientia Horticulturae*, 125(3), 390–395. doi :10.1016/j.scienta.2010.04.031

Hui, J. X., Wen, S. C., Hua, Z. Y., & Ming, L. X. (2012). Comparative study on different methods for *Lonicera japonica* Thunb. Micropropagation and acclimatization. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(27), 4389-4393. doi: 10.5897/JMPR11.1715

Hummer, K. (2006). Blue honeysuckle: A new berry crop for North America. *Journal of the American Pomological Society*, 60(1), 3–8.

Hummer, K. E., Pomper, K. W., Postman, J., Graham, C. J., Stover, E., & Mercure, E. W. (2012). Emerging fruit crops. In M. L. Badenes & D. H. Byrne (Eds.), *Fruit breeding* (pp. 97–147). New York: *Springer*.

Jin, C., Cao, H., Zong, C., Li, W., & An, F. (2011). Research on tissue culture and rapid propagation technology of superior individuals of *Lonicera edulis* Turcz. *Agricultural Science & Technology-Hunan*, 12(11), 1585-1588.

Jurikova, T., Sochor, J., Rop, O., Mlček, J., Balla, S., & Szekeres, L., (2012). Evaluation of polyphenolic profile and nutritional value of non-traditional fruit species in the Czech Republic—a comparative study. *Molecules*, 17(8), 8968–8981 doi: 10.3390/molecules17088968

Kadhim, Z. K., Al-Shareefi M. J. H., & Lateef, S. M. (2017). Effect of growth regulators on in vitro micropropagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.). *Res. on Crops* 20 (3) : 635-641 (2019) doi:10.31830/2348-7542.2019.093

Karhu S. T. (1997, a). Rooting of blue honeysuckle microshoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 48:153–159.

Karhu S. T. (1997, b). Axillary shoot proliferation of blue honeysuckle. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 48: 195–201.

Kefayeti, S., Kafkas, E., & Ercisli, S. (2019). Micropropagation of “Chester thornless” blackberry cultivar using axillary bud explants. *Notulae Botanicae, Horti Agrobotanici, Cluj-Napoca*, 47(1), 162-168. <https://doi.org/10.15835/nbha47111280>

Krupa-Małkiewicz, M., & Ochmian, I. (2014). Propagation of blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) in in vitro culture. *Int. J. Basic Appl. Sci.* 10, 164–169. doi: 10.6000/1927-5129.2014.10.22

Krupa-Małkiewicz, M., Ochmian, I., Smolik, M., & Ostrowska, K. M. (2017). Comparison of propagation method in in vitro and in vivo condition of *Lonicera caerulea* L. *Zootech.* 2017, 334(42)2, 79–88. doi:10.21005/AAPZ2017.42.2.09

Kuyucu, A.(2013). Honeyberry. Erişim adresi: <http://www.tropikmeyveci.com/siradisi-meyve-agaclari/honeyberry/> (Erişim tarihi:09.09.2021)

Kyte, L. (1987). *Plants from Test Tubes. An Introduction to Micropropagation.* Timber Press, Portland, Oregon, USA. 160 pp

Lauritzen, E., Black, B., & Maughan, T. (2015). Honeysuckle (Blue Honeysuckle) in the Garden; Horticulture: Utah State University Extension: Salt Lake City, UT, USA, 2015.

Lefol, E.B. (2007). Haskap Market Development, the Japanese Opportunity. Feasibility Study; University of Saskatchewan: Saskatoon, SK, Canada, 2007. doi: 10.3390/molecules25030749

Li, Q., Jiang, F. Q., Tan, Y.Y., & Xue, H.Y. (2014). Tissue cultivation of *Lonicera macranthoides* 'Yuleil'. *Zhong Yao Cai. Journal of Chinese Medicinal Materials.* 2014 Jul;37(7):1121-5. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25566642/>

Mansuroğlu, S., & Gurel, E. (2001). Mikroçoğaltım: Bitki Biyoteknolojisi 1- Doku kültürü ve uygulamaları, Editörler: Babaoğlu, M., Gurel, E., Özcan, S., S. Ü. Vakfi yayımları, Türkiye, s. 262-281.

Mccown, B. H., & Sellmer, J. C. (1987). General Media and Vessels Suitable for Woody Plant Culture. İçinde J. M. Bonga & D. J. Durzan (Ed.), *Cell and Tissue Culture in Forestry: General Principles and Biotechnology* (ss. 4-16). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0994-1_2

McGaw, B. A., & Burch, L. R. (1995). Cytokinin Biosynthesis and Metabolism. İçinde P. J. Davies (Ed.), *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology* (ss. 98-117). Dordrecht: Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0473-9_5

Mihaljević, I., Tomaš, V., Vuković, D., & Dugalić, K. (2019). Propagation of three Blue Honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) cultivars in in vitro culture. *Pomologia Croatica.* Vol:23. Br.1-2 doi: 10.33128/pc.23.1-2.4

Murashige T., Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15, 473–497

Naugžemys D., Žilinskaitė S., Denkovskij J., Patamsytė J., Lickerskis J., & Žvingila D. (2007). RAPD based study of genetic variation and relationships among *Lonicera* germplasm accessions. *Biologija*, 53(3): 34-39.

- Ochmian, I., Oszmianski, J., & Skupień, K. (2009). Chemical composition, phenolics, and firmness of small black fruits. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 83(1), 64–69.
- Osburn L. D., Yang X., Li, Y., & Cheng, Z. M. (2009). Micropropagation of Japanese Honeysuckle (*Lonicera japonica*) and Amur Honeysuckle (*L. maackii*) by Shoot Tip Culture. *J. Environ. Hort.* 27(4):195–199.
- Palíková, I., Heinrich, J., Bednář, P., Marhol, P., Křen, V., & Cvak, L. (2008). Constituents and antimicrobial properties of blue honeysuckle: A novel source for phenolic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(24), 11883–11889
- Petrovic, D. M., & Jacimovic-Plavšic, M. M., (1992). *Aronia Melanocarpa* And Propagation In Vitro. *Acta Horticulturae*, (300), 133-136. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1992.300.16>
- Pırlak, L., & Almokar, H. (2018). Propagation of Aronia (*Aronia melanocarpa*) with Tissue Culture. *Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences*, 32(3), 549-558.
- Posser, S., Fachinello, J., Luces, F., Citadin, I., Rodrigues, A., Centellas, A., & da, S. (2001). Multiplicação In Vitro De Porta-Enxertos Do Gênero Prunus Sob Diferentes Concentrações De Bap Em Dois Meios De Cultura. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 23. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452001000300007>
- Plekhanova, M.N., S.A. Streltsyna, ve N.S. Rostova. (1993). Phenolic compounds in berries of *Lonicera* subsect. *Caeruleae* species. *Plant Resources* 29:16–25. (In Russian).
- Plekhanova M.N. (1996). Blue Honeysuckle: a new berry from Russia. *Pomona* 29(I):
- Plekhanova M.N. (2000). Blue honeysuckle (*Lonicera caerulea* L.) – a new commercial berry for crop temperate climate: Genetic resources and breeding. *Acta Hort.* 538: 159-164.
- Qi, Q., Guo, C., & Zhang, Q. (2015). *Multiple Shoots Induction and Rapid Propagation of Lonicera Edulis*. 2015 AASRI International Conference on Industrial Electronics and Applications, China.
- Retamales, J. B., & Hancock, J. F. (2012). Nutrition. In J. B. Retamales & J. F. Hancock (Eds.), *Blueberries* (pp. 103–142). Wallingford: CABI
- Rupasinghe, H., Boehm, M., Sekhon-Loodu, S., Parmar, I., Bors, B., & Jamieson, A. (2015). Anti-inflammatory activity of haskap cultivars is polyphenols dependent. *Biomolecules* 5, 1079–1098.
- Rupasinghe, H.P.V., & Arumuggam, N., (2019). Health benefits of anthocyanin. *Anthocyanins from Natural Sources* 121–158.

Rupasinghe, H.P.V., Arumuggam, N., & Amararathna, M., (2018). A.B.K.H. De Silva The potential health benefits of haskap (*Lonicera caerulea L.*): role of cyanidin-3-O-glucoside J. *Funct. Foods*, 44 (2018), pp. 24-39

Sedlák J. & Paprstein F. (2007). In vitro propagation of blue honeysuckle. *Hort. Sci.* 34, 129–131.

Senica, M., Stampar, F., & Mikulic-Petkovsek, M. (2018). Blue honeysuckle (*Lonicera caerulea L. subs. edulis*) berry; a rich source of some nutrients and their differences among four different cultivars. *Sci. Hort.* 2018, 238, 215–221.

Skupień, K., Oszmiański, J., Ochmian, I., & Grajkowski, J. (2007). Characterization of selected physico-chemical features of blue honeysuckle fruit cultivar 'Zielona'. *Polish Journal of Natural Science*, 2007(Suppl. 4), 101–107.

Svarcova I., Heinrich J., & Valentova K. (2007). Berry fruits as a source of biologically active compounds: The case of *Lonicera caerulea*. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* 151, 163–174.

Szot I. & Lipa T. (2013). Estimating the fruit quality after application the pruning of blue honeysuckle bushes. *Mod. Phytomorphol.* 4, 51–54.

Tanaka, T. & Tanaka, A. (1998). Chemical composition and characteristics of Hasukappu berries in various cultivars and strains. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 45(2), 129–133.

Thilakarathna, S.H., & Rupasinghe, H.P.V. (2012). Anti-atherosclerotic effects of fruit bioactive compounds: a review of current scientific evidence. *Can. J. Plant Sci.* 92, 407–419.

Thompson, M. M. (2008). Caprifoliaceae. In J. Janick & R. E. Pauli (Eds.), *The Encyclopedia of fruit & nuts* (pp. 232–235). Wallingford: CABI.

Wang X., Li, Y., Nie, Q., & Li, J. (2009). An Efficient Procedure for Regeneration from Leaf-derived Calluses of *Lonicera macranthoides* 'Jinculei', an Important Medicinal Plant. *HORTSCIENCE* 44(3):746–750.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuğba Nur BEYAZTAŞ
Doğum Yeri ve Tarihi : KIRŞEHİR/ 24.07.1993
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Ankara Tarım Meslek Lisesi
Lisans : Eskişehir Osmangazi Üniversitesi/ Tarımsal Biyoteknoloji
Yüksek Lisans : Bursa Uludağ Üniversitesi/ Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum/Kurumlar : Eskişehir Gıda Kontrol Laboratuvarı
Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Ens.

İletişim (e-posta) : tugbanur.adiguzel@tarim.gov.tr

Yayımları :