

## DOKU KÜLTÜRÜYLE ÇOĞALTILAN MAVİYEMİŞ (*Vaccinium corymbosum* L.) SÜRGÜNLERİNİN KÖKLENDİRİLMESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Evrım OKUTAN<sup>1,a</sup>, Ebru AKYÜZ ÇAĞDAŞ<sup>1,b,\*</sup>, Mehmet POLAT<sup>2,c</sup>, Okan SARITOPRAK<sup>1,d</sup>,  
Hakan AKTAŞ<sup>2,e</sup>, Ş. Şebnem ELLİALTIOĞLU<sup>3,f</sup>

<sup>1</sup> Has Biotech Araştırma Geliştirme Tarım Sanayi ve Ticaret A.Ş., Antalya, Türkiye







<sup>2</sup> Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Isparta,  
Türkiye\*

<sup>3</sup> Ankara Üniversitesi Teknokent, DOQUTECH ACADEMY Tarım Arge Eğitim ve Danışmanlık  
Ltd. Şti., Ankara, Türkiye

\*Corresponding Author:

E-mail: ebrucagdas@has-biotech.com.tr

(Received 12<sup>th</sup> April 2025; accepted 25<sup>th</sup> December 2025)

a:  ORCID 0009-0000-7996-5371, b:  ORCID 0000-0003-1630-807X, c:  ORCID 0000-0002-2415-4229, d:  ORCID  
0009-0005-8106-8799, e:  ORCID 0000-0001-8280-5758, f:  ORCID 0000-0002-3851-466X

**ÖZET.** *In vitro* koşullarda çoğaltılan odunsu ve çalı bitkilerinin köklendirilmesi aşaması önemlidir. Bu aşamanın sorunsuzca tamamlanması, doku kültürü ile ekonomik olarak mikroçoğaltım yapılmasında kritik değer taşır. *In vitro* köklendirmenin kolay olmasının yanı sıra maliyeti azaltmak için *ex vitro* köklendirmeye uygunluk da istenen bir durumdur. DKW + 2 mg·L<sup>-1</sup> zeatin + 30 g·L<sup>-1</sup> sakkaroz + 6.5 g·L<sup>-1</sup> agar içeren ortamlarda proliferasyon sağlanan maviyemiş sürgünleri, 3. altkültürden sonra tek tek ayrılarak köklendirme ortamlarına aktarılmıştır. Duke ve O'Neal çeşitlerine ait sürgünler MS ve DKW ortamlarında 1.0 ve 1.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA ile 0.0 ve 0.5 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> katkısı yapılan ortamlarda yetiştirilmiştir. Bir sonraki aşamada ise IBA dozu 5 mg·L<sup>-1</sup> olacak şekilde ayarlanmış ve buna ayrıca 1.5 g·L<sup>-1</sup> aktif karbon ilave edilmiştir. Agarlı ortamların yanı sıra SETIS® biyoreaktör de köklendirme denemelerinde kullanılmıştır. Ayrıca durgun su üzerine yerleştirilen viyollerde de *ex vitro* köklendirme denemesi kurulmuştur. En başarılı köklenmenin DKW + 1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA + 0.5 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + 6.5 g·L<sup>-1</sup> agar içeren ortamda %85 oranında O'Neal çeşidinden elde edildiği belirlenmiştir. *Ex vitro* köklenme uygulaması sonuç vermemiş, TIS sistemi de köklendirmede başarılı bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Doku kültürü, Maviyemiş, Köklenme, IBA, Aktif kömür

### GİRİŞ

*Vaccinium* cinsi yaklaşık 450 türden oluşur; yüksek çalı tipi *Vaccinium corymbosum* oldukça heterozigot, poliploid bir özellikte olup yirminci yüzyıl boyunca tarımı yapılan ve en çok bilinen maviyemiş (blueberry) türüdür [1]. Kuzey Amerika ve Doğu Asya'ya özgü yüksek boylu maviyemiş yetiştiriciliği, son yüzyılda önemli ölçüde genişlemiştir. Dünyada maviyemiş üretimi, 2001 yılında 151 000 tondan 2021 yılında yaklaşık 1.5 milyon ton, 2024 yılında ise 2 milyon tona ulaşmıştır [2]. Türkiye, 2022 yılında 4900 ton, 2024 yılında 6620 ton maviyemiş üreterek geçen yıllara göre önemli artış sağlamıştır [3]. *Vaccinium* türleri yalnızca beslenme amacıyla tüketilen bir meyve veya tıbbi amaçlarla kullanılan bitkiler olmayıp, bazı formları süs bitkisi olarak da değer görmektedir [4]. Ülkemizde yaban mersini olarak da adlandırılan, fakat *Myrtus* cinsi ile

karıştırılmaması önem taşıyan maviyemiş bitkileri; fenolik maddeler, flavonoidler ve tanenler gibi biyoaktif bileşiklerin yanı sıra antosiyaninler ve karotenoidler gibi pigmentler, askorbik asit gibi vitaminler ve temel mineraller açısından zengin, küçük ya da orta boyda, etli meyveler üretirler [4]. Üzümsü meyveler arasında yer alan maviyemiş, 100 g taze meyve başına 387 - 487 mg arasında değişen miktarlarda yüksek antosiyanin içeriğine sahiptir [5]. Antosiyaninler insan sağlığı açısından çok önemli bileşiklerdir ve hücrel antioksidan koruma sağladıkları gibi anti-enflamatuvar özelliğe sahiptirler [6, 7].

*Vaccinium* türlerinde *in vitro* teknikler, üstün nitelikli üretim materyalinin hızlı ve kitlesel çoğaltımı için son derece etkili yöntemlerdir. Biyoteknolojik yaklaşımlar ve özellikle doku kültürü tekniği, büyük ölçekli bitkisel materyal üretiminin yanı sıra genetik kaynakların geliştirilmesi ve ıslahı, genetik çeşitliliğin korunması ile artırılması ve gen aktarımı, genom düzenleme gibi araştırma uygulamalarını da desteklemektedir [8]. Mikroçoğaltım, üstün nitelikli bitkilerin hızlı çoğaltımı için en etkili yöntemlerden biridir ve yıl boyunca bitkisel materyallerinin hızlı bir şekilde üretimini sağlayan etkili yöntem olarak kabul edilmektedir. Doku kültürüyle çoğaltım yöntemleri, virüsten arı bitkilerin elde edilmesinde kullanılan ve temiz materyalle üretim alanlarının tesis edilmesini mümkün kılan en etkin çözüm yolunu sunar. Aksiller sürgün oluşumu yoluyla gerçekleştirilen mikroçoğaltımın, alçak boylu (*lowbush*), yüksek boylu (*highbush*) ve tavşangözü (*rabbiteye*) maviyemiş türlerinde başarıyla uygulandığı, çok çeşitli örnekleriyle literatürde yer almaktadır [9, 10]. Türkiye’de daha önce *Vaccinium* doku kültürü konusunda yapılan çalışmalarda AN, MS, WPM ve DKW temel besin ortamlarının kullanıldığı, çoğaltımda olumlu sonuçlar alındığı rapor edilmiştir [11, 12, 13, 14]. Doku kültürü tekniklerinde son yıllarda kaydedilen gelişmeler, özellikle geçici daldırma sistemleri ve biyoreaktör teknolojilerinin kullanımı, maviyemiş mikroçoğaltımındaki çoğaltım katsayısını önemli ölçüde artırmıştır. Bu yenilikler, yüksek kalite standartlarını koruyarak kısa sürede çok sayıda homojen bitki fidesinin hızlı ve verimli bir şekilde üretilmesini mümkün kılmaktadır [15, 16]. Özel sektör ve üniversite iş birliğiyle hayata geçirilen, maviyemiş Türkiye’de yapılan ilk mutasyon ıslahı araştırma projesinde; agar içeren yarı-katı besin ortamlarının yanı sıra sıvı ortamların kullanıldığı yeni nesil biyoreaktörlerde de başarıyla maviyemiş mikroçoğaltımı yapılabileceği gösterilmiştir [17, 18].

Köklenme aşaması, rejenerasyonla elde edilen bitkilerin *in vitro* koşullardan *ex vitro* ortamlara — büyütme odaları, seralar ve açık arazide yetiştirme alanları gibi — aktarılmasına hazırlık sağlayan kritik bir evredir. Bu aşama yalnızca sürgünlerin köklenme başarısıyla sınırlı değildir, aynı zamanda bitkilerin aklimatizasyon sürecini de etkiler. Bitkilerin dış koşullara aktarma sonrasındaki tutunma ve yaşama oranları, köklenme başarısıyla yakından ilgilidir. Adventif kök oluşumu, oksin uygulamalarıyla hem *in vitro* hem de *ex vitro* koşullarda uyarılabilir [8]. *Ex vitro* köklenmenin başlıca avantajı, bitkilerin toprağa aktarımı sırasında kök zararının daha az olması ve üretim maliyetlerinin düşürülebilmesidir. Hem köklenme hem de aklimatizasyon birlikte gerçekleştiğinden bu yöntemde bitkilerin köklenme tamamlandığında üretim sürecine dâhil olması daha hızlı gerçekleşir [19, 20].

Bu çalışmada, *in vitro* koşullarda çoğaltılan maviyemiş sürgünlerinde hem *in vitro* hem de *ex vitro* köklenme yöntemleri uygulanmıştır. Çalışmanın amacı, en uygun köklenme koşullarını belirlemek, aklimatizasyon aşamalarını tamamlamak ve böylece

yüksek kaliteli maviyemiş bitkileri elde etmek üzere kapsamlı bir *in vitro* çoğaltım protokolü oluşturmaktır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### *Materyal*

Köklendirme denemelerinde kullanılan maviyemiş sürgünleri, DKW + 2 mg·L<sup>-1</sup> zeatin + 30 g·L<sup>-1</sup> sakkaroz + 6.5 g·L<sup>-1</sup> agar içeren ortamlarda çoğaltılmış olan Duke ve O'Neal çeşitlerine ait sürgünlerdir. 2 cm uzunluğundaki bu sürgünler 3. alt kültürden sonra aseptik koşullar altında tek tek ayrılarak köklendirme ortamlarına aktarılmıştır.

### *Yöntem*

#### *In Vitro Yarı-Katı Ortamda Köklendirme*

Önceden yapılan ön denemelerde 0-4 mg·L<sup>-1</sup> arasındaki konsantrasyonlarda kullanılan IBA'nın 1-3 mg·L<sup>-1</sup> arasındaki uygulamalarda kök gelişimlerine rastlandığından, bu deneme aşamasında 1.0, 1.5 ve 3.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA konsantrasyonları kullanılmış, bu katkının yanı sıra ayrıca 0.5 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> ilavesi yapılan uygulamalar da denenmiştir. Ayrıca 5 mg·L<sup>-1</sup> IBA içeren bir ortama %0.15 oranında aktif kömür ilave edilmesiyle oluşturulan bir içerik de denemede yer almıştır. Köklendirme ortamlarında gözlemler 2 ay sonunda alınmış ve köklenmiş sürgün sayıları belirlenmiştir.

#### *SETİS Biyoreaktörde Köklendirme*

Agarlı ortamda köklendirme konusunda en başarılı bulunan ortam bileşimi kullanılarak agarsız olarak hazırlanan besin ortamlarında (DKW + 1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA + 0.5 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>), her iki çeşitten 100'er adet sürgün birer SETİS biyoreaktör kabına yerleştirilmiştir. 2 ay burada yetiştirilen materyaldeki köklenme sayıları sürenin sonunda belirlenmiştir.

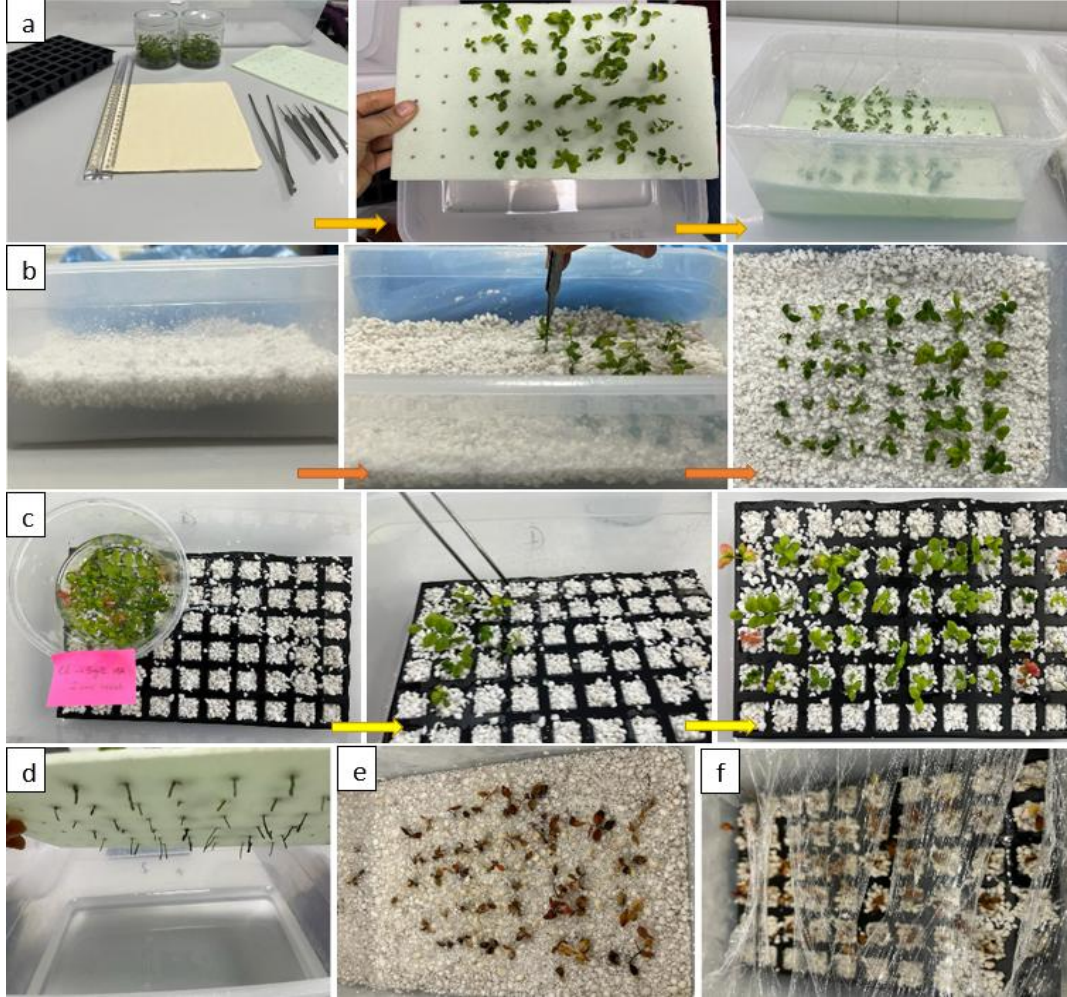
#### *Ex Vitro Köklendirme*

*Ex vitro* ortamda köklendirme denemeleri için doku kültüründe elde edilmiş iki çeşide ait maviyemiş sürgünleri "Figür 1"de görüldüğü gibi doğrudan su içerisinde (a), su ve perlit içeren kutu içerisinde (b) ve nemli perlit bulunduran viyoller içerisinde (c) yerleştirilmişlerdir. Nemli perlit içerisinde dikimi yapılan bitkicikler öncesinde 2 saat 5 mg·L<sup>-1</sup> IBA içeren solüsyon içerisinde 2 saat bekletilmişlerdir. Her uygulama için her iki çeşitten de 40'ar adet bitki kullanılmıştır. Farklı ortamlara yerleştirme işlemi tamamlandıktan sonra streç film ile plastik kutular kapatılmış veya kapak yerleştirilmiştir. Böylece su kaybının engellenmesi sağlanmıştır. Uygulamanın 1 hafta sonrasında tüm sürgünlerde belirgin bir şekilde kahverengileşme meydana gelmiş ilerleyen zamanlarda ise kurumalar gözlemlenmiştir. Uygulamanın 1 ay sonrasında bitkilerin kök kısımları fotoğraflanmış, deneme ikinci ayın sonuna kadar gözlemlenmiştir.

#### *Köklenen Bitkilerin Aklimatizasyonu*

*In vitro* köklendirme çalışmalarında köklenmeleri sağlanan sürgünler, torf:vermikulit karışımından hazırlanmış paperpot'lara dikilmiş ve bunlar da viyollerin içine yerleştirilmiştir. Ağzı kapaklı plastik kutuların içerisinde bir hafta süreyle bekletilen ve kapakları yavaş yavaş açılan, böylece atmosfer koşullarına alıştıran bitkiler seraya

doğrudan güneş ışığı almayan bir bölgeye aktarılmışlardır. Burada tamamen dış koşullara alıştırlarak fidan aşamasına doğru geliştirilmek üzere daha büyük saksılara aktarılmışlardır. “Figür 2”de, köklendirilmiş sürgünlerin aktarılmasını takiben, paperpotlarda dış koşullara alıştırma aşamasına alınan bitkiler görülmektedir.



**Fig. 1.** (a) Su kültürüne yerleştirilen maviyemiş sürgünleri, (b) su ve perlit içerisine sürgünlerin yerleştirilmesi ve görünümü, (c) perlit doldurulan viyollere içine maviyemiş sürgünlerinin dikimi ve görünümü, (d) su kültüründeki sürgünlerin 1 ay sonraki durumu, (e) su ve perlitteki sürgünlerin, (f) viyollerdeki sürgünlerin 1 ay sonraki durumu.



**Fig. 2.** *In vitro* köklendirme aşamasından sonra paperpotlara aktarılarak dış koşullara alıştırma aşamasına gelmiş bitkiler

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### *In Vitro* Yarı-Katı Ortamda Köklendirme

*In vitro* köklendirme denemelerinde çok sayıda ön çalışma yapılarak en umutvar olanlar, literatür bilgisi de göz önünde bulundurularak seçilmiş, Tablo 1’de sonuçları verilen deneme tesis edilmiştir. Köklendirme çalışmasında MS ve DKW ortamları yer almıştır. Ön denemelerde DKW ortamının daha olumlu etkisi görüldüğünden ve Duke çeşidi bu bileşimi tercih ettiğinden, seçenekler bu ortam üzerinde yoğunlaştırılmıştır. MS ortamı da en olumlu sonucu veren kombinasyonlar için denemeye dâhil edilmiştir.

Tablo 1’de köklendirme aşamasında kullanılan ortamlar, dikim yapılan bitki sayıları ve köklenen sürgün sayıları verilmiştir. Duke çeşidinin köklenmeye yatkınlığı, O’Neal çeşidine göre genel olarak daha az bulunmuştur. Tek başına kullanılan  $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA ve  $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA ile  $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA ve IBA’nın  $\text{GA}_3$  ile kombinasyonlarından, her iki çeşitte de kök gelişimi elde edilememiştir. Denemede en yüksek köklenme oranı Duke çeşidinde %75 ve O’Neal çeşidinde %58.3 ile  $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA kullanılan DKW ortamından elde edilmiştir. Fakat bu ortamda aynı zamanda çok yoğun bir kallus oluşumu da meydana geldiğinden tercih edilebilir bulunmamıştır.  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA +  $0.5 \text{ GA}_3$  ve  $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA +  $0.5 \text{ GA}_3$  uygulamaları, her iki çeşitte de köklenmeyi olumlu yönde teşvik etmiştir. Duke çeşidi bu iki ortamda sırasıyla %55 ve %35 oranında köklenirken, O’Neal çeşidi %85 ve %48.3 oranında köklenme sağlamıştır. IBA’nın  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ’den daha yüksek konsantrasyonlarda kullanılması köklenmeyi olumlu etkilememektedir. Her ne kadar 5 konsantrasyonunda IBA kullanımı köklenmeyi yüksek düzeyde tetiklemiş olsa da, oluşan aşırı kallus dokusu, bu avantajı ortadan kaldırmıştır.

**Tablo 1.** İki farklı maviyemiş çeşidinde köklenme amacıyla, ön denemelerden seçilmiş uygulamalarda köklenme çalışması sonuçları

| Besin ortamı | BGD katkısı (mg·L <sup>-1</sup> )              | Eksp. sayısı | Duke               |                    | O'Neal             |                    |
|--------------|--|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|              |  |              | Köklenen sürgün s. | Köklenme oranı (%) | Köklenen sürgün s. | Köklenme oranı (%) |
| MS           | 1.0 IBA  | 60           | 7                  | 11.7               | 13                 | 21.7               |
| MS           | 1.0 IBA + 0.5 GA <sub>3</sub>                  | 60           | 15                 | 25.0               | 31                 | 51.7               |
| MS           | 1.5 IBA  | 60           | 0                  | 0                  | 0                  | 0                  |
| MS           | 1.5 IBA + 0.5 GA <sub>3</sub>                  | 60           | 2                  | 3.3                | 6                  | 10.0               |
| DKW          | 1.0 IBA  | 60           | 9                  | 15.0               | 10                 | 16.7               |
| DKW          | 1.0 IBA + 0.5 GA <sub>3</sub>                  | 60           | 33                 | 55.0               | 51                 | 85.0               |
| DKW          | 1.5 IBA  | 60           | 2                  | 3.3                | 5                  | 8.3                |
| DKW          | 1.5 IBA + 0.5 GA <sub>3</sub>                  | 60           | 21                 | 35.0               | 29                 | 48.3               |
| DKW          | 3.0 IBA + 0.5 GA <sub>3</sub>                  | 60           | 0*                 | 0                  | 0*                 | 0                  |
| DKW          | 3.0 IAA + 0.5 GA <sub>3</sub>                  | 60           | 0*                 | 0                  | 0*                 | 0                  |
| DKW          | 1.5 IAA  | 60           | 0                  | 0                  | 2                  | 3.3                |
| DKW          | 5.0 IBA  | 60           | 45*                | 75.0               | 35*                | 58.3               |
| DKW          | 5.0 IBA + 1.5 g.L <sup>-1</sup><br>Aktif Kömür | 60           | 6                  | 10.0               | 15                 | 25.0               |

\*:Yoğun kallus oluşumu mevcut, Eksp. Sayısı: Eksplant sayısı, BGD: Büyüme ve Gelişme Düzenleyiciler, Köklenen sürgün s.: Köklenen sürgün sayısı

*In vitro* köklenme süreci; köklendirme ortamının bileşimi, kullanılan oksinlerin türü ve derişimi, sürgünlerin fizyolojik durumu ile sıcaklık, ışık ve nem gibi çevresel koşullar da dâhil olmak üzere çeşitli faktörlerden etkilenmektedir [21]. Oksinler, özellikle indol-3-bütirik asit (IBA) ve indol-3-asetik asit (IAA), kök başlangıcını ve gelişimini teşvik etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [22]. Etkili bir köklenme sağlamak ve aşırı kallus oluşumu veya kök deformasyonu gibi istenmeyen etkilerden kaçınmak için oksin derişiminin dikkatle optimize edilmesi gerekmektedir [22]. *In vitro* koşullarda 0.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA uygulanması, *V. corymbosum* ‘Bluejay’ ve *V. ashei* ‘Pink Lemonade’ türlerinde diğer oksinlere kıyasla daha yüksek köklenme oranları (sırasıyla %75 ve %65) ile daha iyi kök gelişimi (0.97 ve 1 cm) sağlamıştır [23]. *V. corymbosum* ticari çeşitlerinde optimum kök oluşumu, yarı konsantrasyonda tuz içeren WPM ortamına farklı düzeylerde IBA ilavesiyle elde edilmiştir: ‘Ozarkblue’ için 0.1 mg·L<sup>-1</sup> (köklenme oranı %97.7), ‘Weima Kuahuat’ için 0.5 mg·L<sup>-1</sup> (%84.0) ve ‘Sierra’ için 1.0 mg·L<sup>-1</sup> (%100) [24]. Ayrıca, *V. myrtillus* ve *V. floribundum* türlerinin *in vitro* koşullarda sırasıyla 1.0 mg·L<sup>-1</sup> ve 2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA içeren WPM besi ortamında %100 köklenme başarısı gösterdiği bildirilmiştir [25]. Bu bulgular, çeşit x besin ortamı bileşimi etkileşiminin sürgün çoğaltımında olduğu gibi köklenme konusunda da maviyemiş *in vitro* çoğaltımındaki önemini göstermektedir. Sedlak ve Paprstein [26], IBA'nın 1 mg·L<sup>-1</sup> kullanıldığı WPM ortamında köklenmelerin 2 hafta içerisinde başladığını, Berkeley çeşidinde %70; Bluecrop çeşidinde %61 oranında köklenme elde edildiğini bildirmiştir. Bir başka çalışmada [27] ise Berkeley, Bluecrop, Earliblue ve O'Neal çeşitlerinde köklenme yüzdeleri sırasıyla %70, %76 ve %46 bulunmuştur. Sonuçlarımız literatürle genel olarak uyumludur.

Aktif kömür ilave edilen yüksek doz IBA kullanılan besin ortamında kallus oluşumu baskılanmış ve düşük oranlarda da olsa köklenme teşvik edilmiştir (Duke %10.0,

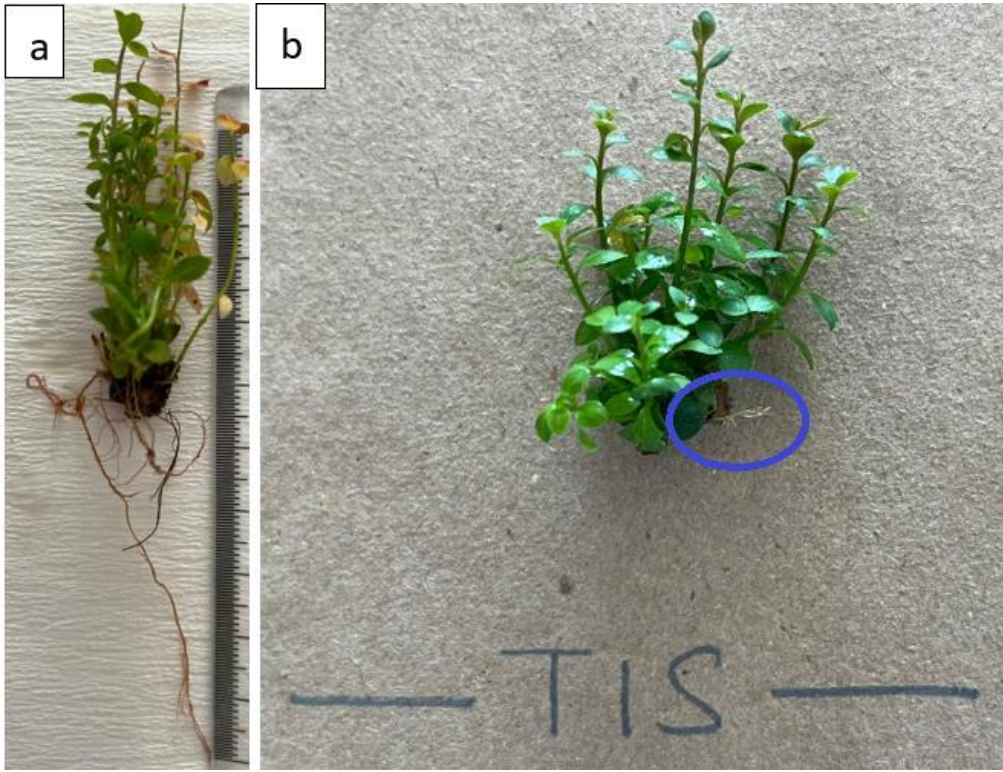
O'Neal %25.0). Bu durum, aktif kömürün köklenme üzerinde genel olarak teşvik edici etkisi ile uyumlu bulunmuştur. Aktif kömürün fenolik bileşikler ve onların oksidasyon ürünleri gibi aromatik bileşikler ile oksinler (2,4-D, IAA, NAA, IBA) ve sitokininler [benziladenin (BA)]'i adsorbe etme özelliği burada etkili olmuş görünmektedir. Nitekim Pan ve van Staden de aktif kömürün köklenme üzerinde olumlu etki yapan bir organik madde olduğundan söz etmektedir [28].

### ***SETİS Biyoreaktörde Köklendirme***

Agarlı ortamda köklendirme konusunda en başarılı bulunan ortam bileşimi kullanılarak agarsız olarak hazırlanan besin ortamlarında (DKW + 1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA + 0.5 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub>) SETİS® biyoreaktör kaplarına yerleştirilen Duke ve O'Neal çeşidi maviyemişlerinde köklenme meydana gelmiştir. Bununla birlikte köklenme oranı ve gelişimi, agarlı ortamdakine göre daha düşük oranlarda ve zayıf seviyede oluşmuştur. Duke çeşidinde köklenme oranı 2 ay sonunda %45.3, O'Neal çeşidi ise %72.3 olarak gerçekleşmiştir. Bununla birlikte biyoreaktörlerdeki sürgünlerin sürgün proliferasyonuna devam ettikleri ve çoğalma yönündeki gelişmelerine daha yatkın oldukları gözlemlenmiştir (Fig.3). Bununla birlikte daha geniş tekrarlı ve daha fazla sayıda materyal kullanılarak yeni denemeler ile köklenme konusu irdelenmelidir.

### ***Ex Vitro Köklendirme***

*Ex vitro* ortamda köklendirme denemeleri kapsamında su doldurulan plastik küvetlere yerleştirilen maviyemiş sürgünlerinin aktarımından sonra ilk 3 gün boyunca oda sıcaklığı (25 ± 1°C) ve karanlık koşullar sağlanmış olup bu sürenin ardından aydınlatılmış raflara alınarak 16/8 saatlik fotoperiyot düzeninde, 30–32 µmol foton m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> PPFD ışık şiddeti altında tutulmuşlardır. Bu yöntem, daha önce Clapa ve ark. [29] tarafından uygulanmış olup doku kültüründe maliyetlerin azaltılmasında önemli katkı sağladığı için önerilmektedir. Maviyemiş sürgünleri için perlit katkısı ve öncesinde oksin uygulaması da ilave edilerek kurulan bu denemede, olumlu sonuç alınamamıştır. Yüzen perlit ya da sitrofor kullanılarak yapılan uygulamaların hiçbirinde köklenme meydana gelmemiştir. Oysaki önceki uygulamalardan birinde kalanşo bitkilerinin köklendirilmesi için bu sistem çok uygun bulunmuş ve %100 oranında köklenme sağlanabilmiştir [30]. Buradan, bitki türünün köklenmesinde yöntemlerin farklı etki yaptığı açık olarak görülmüş, maviyemişin genel olarak sıvı içerisinde köklenmeye yatkınlığının düşük olduğu izlenimi edinilmiştir. Bununla birlikte Akyüz Çağdaş [14] tarafından yapılan doktora tezi çalışmasında biyoreaktör ortamında yarı kuvvette DKW ortamı kullanımı ve oksinin tek başına uygulanması yolu izlendiğinde biyoreaktöre alınan sürgün eksplantı (çoğaldığında sürgün kümesi başına) 4.0-4.5 adet civarına kadar yükseltilen sayılarda köklenmenin oluşabildiği gösterilmiştir. Bu sayı, çeşitlere göre değişiklik gösterebilmektedir.



**Fig. 3.** O'Neal maviyemiş çeşidi sürgünlerin *in vitro* koşullarda köklendirilmesi ( $DKW + 1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA} + 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ GA}_3$ ). (a) Agarlı ortam (b) TIS biyoreaktörde sıvı ortam (4 haftalık kontrol aşamasında köklenme).

#### **Köklenen Bitkilerin Aklimatizasyonu**

*In vitro* köklendirme çalışmalarında köklenmeleri sağlanan sürgünler, torf:vermikulit karışımından hazırlanmış paperpot'lara dikildikten sonraki alıştırma prosedürü takip edildiğinde, Her iki çeşitte de ortalama %96.5 oranında aklimatizasyon başarıları sağlanmıştır. Figür 4'te serada yetiştirilmek üzere dış koşullara aktarılan maviyemiş bitkileri gösterilmiştir.

Rejenere edilen bitkilerin toprağa aktarımı doğal çevre koşulları altında gerçekleştirilmekte olup, bu süreçte iklim koşulları ve bitki türüne bağlı olarak belirli kayıplar yaşanabilmektedir. Köklenmiş bitkiler, Rohr ve ark. [31] tarafından da belirtildiği gibi, nihai yetiştirme ortamlarına aktarılmadan önce kontrollü büyüme odalarında veya seralarda aklimatizasyon sürecinden geçirilmelidir. Bu kapsamda alıştırılması tamamlanan bitkiler serada kontrollü yetiştirilme koşullarına aktarılmıştır. Bitkiler, *in vitro* koşullardan *ex vitro* koşullara geçiş sırasında yaprak anatomisi ve morfolojisinde değişiklikler, stoma fonksiyonlarının aktifleşmesi ve yaprak yüzeylerinde koruyucu bir epikutikular mum tabakasının gelişimi gibi ontogenetik değişimlerden geçerler. Bu adaptasyonlar, bitkilerin *ex vitro* koşullarda hayatta kalmalarını ve gelişmelerini sağlar [32]. Bu aşamalar da çalışmamızda tamamlanmış olup bitkiler sağlıklı bir şekilde arazi koşullarına aktarılmak üzere elde edilmişlerdir.



**Fig. 4.** Serada yetiştirilen sağlıklı maviyemiş bitkilerinin aklimatizasyon aşaması sonrasına ait görünümüler.

## SONUÇ

Bu çalışmada, iki farklı maviyemiş (blueberry; *Vaccinium corymbosum*) bitkisinin *in vitro* ve *ex vitro* köklendirme denemeleri ile doku kültürü koşullarında aksiller sürgünlerin köklendirilmesi üzerinde araştırma yapılmıştır. Köklenme sağlanan bitkisel materyalin aklimatizasyonu sağlanmış olup, çalışmadan elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

i. Maviyemiş çeşitleri, *in vitro* köklenme bakımından farklı oranlarda başarı göstermektedir. O'Neal çeşidi, *in vitro* çoğaltımda olduğu gibi köklenme bakımından da Duke çeşidine göre daha yüksek sonuçlara sahip olmuştur. Bu çalışmada;  $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA +  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  GA<sub>3</sub> kombinasyonu ilave edilen DKW ortamında Duke %55, O'Neal çeşidi %85 oranında köklenmiştir.

ii. SETİS® biyoreaktör sistemi, kullanılan besin ortamı kompozisyonu koşullarında agarlı ortama göre daha düşük seviyede köklenmeyi teşvik etmiştir. Bu konuda farklı besin ortamları ve katkı maddeleriyle yeni denemeler, köklenme başarısını artırabilecektir.

iii. Durağan su kültürü (hidroponik) koşullarında *ex vitro* köklendirme ve dış koşullara alıştırma üzerine yeni çalışmalar yapılabilir olmakla birlikte, bu çalışmada köklenme başarısı sağlanamamıştır.

iii. Aklimatizasyon aşamasında paperpot içerisindeki torf kullanımı ve pH: 5.5 olan su ile sulamaların yapılması sonucunda %96.5 oranında başarılı alıştırma sağlanmıştır.

iv. Bitkiler sağlıklı bir şekilde gelişmiş ve seradaki yerlerine aktarılmıştır.

**Teşekkür.** Bu çalışma TÜBİTAK TEYDEB 7210364 numaralı projenin bir bölümünden hazırlanmıştır. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK'a teşekkürlerimizi sunarız.

## KAYNAKLAR

- [1] Song, G.Q. (2014): Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). Methods in Molecular Biology, Volume 1224: 121–131. Springer, Berlin/Heidelberg, Germany.
- [2] Anonymous (2025): IBO report shows continuous growth of blueberry industry in 2024. (Erişim tarihi: 11.10. 2025).
- [3] Anonim (2025): TÜİK (2024). Maviyemiş- Blueberry üretim miktarları. tuikweb.tuik.gov.tr (Erişim Tarihi: 11.10.2025).
- [4] Debnath, S.C.; Goyal, J.C. (2020): *In vitro* propagation and variation of antioxidant properties in micropropagated *Vaccinium* berry plants. A review. Molecules, 25: 788.
- [5] Kalt, W.; Cassidy, A.; Howard, L.R.; Krikorian, R.; Stull, A.J.; Tremblay, F.; Zamora-Ros, R. (2019): Recent research on the health benefits of blueberries and their anthocyanins. Adv. Nutr., 11: 224–236.
- [6] Huang, W.Y.; Liu, Y.M.; Wang, J.; Wang, X.N.; Li, C.Y. (2014): Anti-inflammatory effect of the blueberry anthocyanins malvidin-3- glucoside and malvidin-3-galactoside in endothelial cells. Molecules 19: 12827–12841.
- [7] Pervin, M.; Hasnat, M.A.; Lim, B.O. (2013): Antibacterial and antioxidant activities of *Vaccinium corymbosum* L. leaf extract. Asian Pac. J.Trop. Dis. 3: 444–453.
- [8] Ostrolucka, M.G.; Gajdosova, A.; Libiakova, G.; Hrubikova, K.; Bežo, M. (2007): Protocol for Micropropagation of Selected *Vaccinium* spp. In: Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits, Springer, Dordrecht, Netherlands.
- [9] Correia, S.; Matos, M.; Leal, F. (2024): Advances in blueberry (*Vaccinium* spp.) *in vitro* culture: A review. Horticulturae, 10: 533. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10060533>.
- [10] Okutan, E.; Akyüz Çağdaş, E.; Polat, M.; Sarıtoprak, O.; Aktaş, H.; Ellialtıoğlu, Ş.Ş. (2024): Maviyemiş (*Vaccinium corymbosum* L.)'in *in vitro* Kültüre Alınması Aşamasında Besin Ortamı İçerikleri ve Genotip Etkisi Üzerinde Çalışmalar. Bitkisel Üretimde Yeni Teknolojiler (Eds: Kasım, R.; Kasım, M.U.), Bidge Yayınları, Ankara, Türkiye
- [11] Yıldız, H. (2016): Bazı *Vaccinium* Türlerinin Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Genetik Mühendisliği Anabilim Dalı, Niğde, Türkiye.
- [12] Cüce, M.; Sökmen, A. (2017): *In vitro* production protocol of *Vaccinium uliginosum* L. (bog bilberry) growing in the Turkish flora. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 41(4): 294-304.
- [13] Zalt, N.; Yasmin, S.; Hamakhan, A.M.; Polat, Ş.; Yu, H.; Ge, C.; Imrak, B.; Kafkas, E. (2024): Effect of auxins and activated carbon on *in vitro* rooting of two blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum*). Journal of Horticultural Research, 32(2): 75-80. <https://doi.org/10.2478/johr-2024-0016>.
- [14] Akyüz Çağdaş, E. (2024): Maviyemiş (*Vaccinium corymbosum* L.)'in *in vitro* Çoğaltımında Biyoreaktör Kullanım Olanaklarının Araştırılması. Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü. Doktora Tezi, Isparta, Türkiye.
- [15] Arencibia, A.D.; Vergara, C.; Quiroz, K.; Carrasco, B.; Bravo, C.; Garcia-Gonzales, R. (2024): An Approach for Micropropagation of Blueberry

- (*Vaccinium corymbosum* L.) Plants Mediated by Temporary Immersion Bioreactors (TIBs). Amer. J. Plant Sci., 4: 1022–1028.
- [16] Debnath, S. C. (2009): A scale-up system for lowbush blueberry micropropagation using a bioreactor. HortScience, 44(7): 1962-1966.
- [17] Okutan, E. (2022): TÜBİTAK TEYDEB Projesi Sonuç Raporu. Maviyemişte (*Vaccinium* spp., Blueberry) Geleneksel ve Biyoteknolojik Yöntemlerden Yaralanarak Adaptasyon Yeteneği Arttırılmış Islah Hatlarının Geliştirilmesi. Proje No: 7210364. 01.07.2021-30.12.2022
- [18] Akyüz Çağdaş, E.; Okutan, E.; Sarıtoprak, O.; Polat, M.; Aktaş, H. (2024): Doku kültürüyle maviyemiş (*Vaccinium corymbosum* cv. Duke) çoğaltımında yeni nesil biyoreaktör kullanımı üzerine bir araştırma. BAHÇE 53(Özel Sayı 1):342–348.
- [19] Bonga, J.; Von Aderkas, P. (1992): In vitro Culture of Trees. Kluwer Academic Publishers,72-125, Dordrecht, Netherlands
- [20] De Klerk, G.J. (2001): In: Plant Roots: The Hidden Half. (ed) Waisel, Y., Eshel, A. and Kafkafi, U. New York, Basel, Marcel Dekker Publishers, 349–357.
- [21] Jagiełło-Kubiec, K.; Nowakowska, K.; Ilczuk, A.; Lukaszewska, A. (2021): Optimizing micropropagation conditions for a recalcitrant ninebark (*Physocarpus opulifolius* L. Maxim.) cultivar. Vitro. Cell. Dev. Biol.-Plant, 57: 281–295.
- [22] Ludwig-Muller, J. (2000): Indole-3-butyric acid in plant growth and development. Plant Growth Regul., 32: 219–230.
- [23] Fan, S.; Jian, D.; Wei, X.; Chen, J.; Beeson, R.C.; Zhou, Z.; Wang, X. (2017): Micropropagation of blueberry “Bluejay” and “Pink Lemonade” through *in vitro* shoot culture. Sci. Hortic., 226, 277–284.
- [24] Guo, Y.X.; Zhao, Y.Y.; Zhang, M.; Zhang, L. (2019): Development of a novel *in vitro* rooting culture system for the micropropagation of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) seedlings. Plant Cell Tiss. Organ Cult., 139: 615–620.
- [25] Meneses, L.S.; Morillo, L.E.; Vásquez-Castillo, W. (2022): In vitro propagation of *Vaccinium floribundum* Kunth from seeds: Promissory technology for mortino accelerated production. Can. J. Plant Sci., 102: 216–224.
- [26] Sedlak, J.; Paprstein, F. (2008): In vitro multiplication of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars. In IX International *Vaccinium* Symposium 810. (pp. 575-580)
- [27] Tetsumura, T.; Matsumoto, Y.; Sato, M.; Honsho, C.; Yamashita, K.; Komatsu, H.; Sugimoto, Y.; Kunitake, H. (2008): Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. Scientia Horticulturae, 119(1): 72-74.
- [28] Pan, M.; Van Staden, J. (2002): The effect of activated charcoal and auxins on root formation by hypocotyl segments of *Daucus carota*. South African Journal of Botany, 68(3): 349-356.
- [29] Clapa, D., Fira, A. and Joshee, N. (2013): An efficient *ex vitro* rooting and acclimatization method for horticultural plants using float hydroculture. HortScience, 48(9): 1159-1167.
- [30] Bejaoui, R.; Özdemir, G.E.; Ellialtıoğlu, Ş.Ş (2023): Doku kültürü tekniğiyle çoğaltılan *Kalanchoe blossfeldiana* Poelln. sürgünlerinin *in vitro* veya *ex vitro* köklendirilmesi ve dış Koşullara alıştırılması. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 10(4): 843–853. <https://doi.org/10.30910/turkjans.1288919>

- [31] Rohr, R.; Iliev I.; Scaltsoyiannes, A.; Tsoulpha, P. (2003): Acclimatization of micropropagated forest trees. *Acta Horticulturae*, 616: 59–69. doi:10.17660/actahortic.2003.616.3.
- [32] Donnelly, D. J.; Tisdall, L. (1993): Acclimatization strategies for micropropagated plants. *Micropropagation of Woody Plants*, 153-166.