

## Zeytin (*Olea europaea*) Bitkisinin Geçici Daldırma Biyoreaktör Sistemleri (TIS) ile *In Vitro* Sürgün Çoğaltımının İyileştirilmesi

Improvement of *In vitro* Shoot Proliferation of Olive (*Olea europaea*) via Temporary Immersion Bioreactor Systems (TIS)

Yelda ÖZDEN, Elif Aylin ÖZÜDOĞRU, Ergun KAYA, Hülya AKDEMİR

Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı, 41400, Gebze, Kocaeli

Geliş tarihi: 26.05.2010

Kabul tarihi: 04.06.2010

### Özet

“Edremit yağlık” çeşidine ait zeytin fidelerinden alınan nodal tomurcukların *in vitro* çoğaltımı için farklı karbon kaynaklarının (sukroz, mannitol ve glukoz) ve bitki büyüme düzenleyicilerinin (zeatin ve dikegulak) etkileri, hem yarı-katı besi ortamı hem de geçici daldırma biyoreaktör sistemleri (TIS) kullanılarak araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, nodal eksplantların mikroçoğaltımı için özellikle zeytin sıvı besiyerine karbon kaynağı olarak sadece mannitol eklenmesi gerekmektedir. Yarı-katı besiyerinde çoğaltılan zeytin gövdelerinde güçlü apikal dominans nedeniyle daha çok tekli gövde oluşumu gerçekleşmiştir. Ancak, TIS sistemi kullanıldığında “Edremit yağlık” çeşidine ait gövdelerde bu dominansın kırıldığı ve yanal gövdelerin gelişme göstererek, çoklu gövde oluşumunu gerçekleştirdiği görülmüştür. Yine TIS sisteminde besi ortamına zeatine ek olarak, dikegulak eklenmesinin çoklu gövde oluşumu üzerine olumlu etkisi olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, zeytin bitkisine ait nodal eksplantlardan en fazla gövde rejenerasyonu ve çoklu gövde oluşumu mannitol, zeatin ve dikegulak içeren sıvı besiyerinde TIS sistemi kullanılarak, elde edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Dikegulak, “Edremit yağlık”, *Olea europaea*, RITA<sup>®</sup>, Sürgün çoğaltımı, TIS, Zeatin

### Abstract

Effects of different carbon sources (sucrose, mannitol and glucose) and plant growth regulators (zeatin and dikegulac) on *in vitro* proliferation of nodal buds excised from Turkish olive cultivar “Edremit yağlık” seedlings was investigated with using both semi-solid medium and temporary immersion bioreactor system (TIS). The results showed that inclusion of especially mannitol to olive medium as the only carbon source was essential for micropropagation of nodal explants. Occurrence of single shoots was observed in olive microshoots proliferated in semi-solid medium due to the presence of strong apical dominance, however, our results showed that it was possible to break this dominance in TIS system with the formation of multiple shoots and development of lateral shoots in “Edremit yağlık” cultivar. The positive influence of inclusion of dikegulac in addition to zeatin also improved formation of multiple shoots in TIS system. In conclusion, the highest multiple shoot formation in nodal explants of olive was obtained in liquid medium supplemented with mannitol, zeatin and dikegulac with the usage of TIS system.

**Keywords:** Dikegulac, “Edremit yağlık”, *Olea europaea*, RITA<sup>®</sup>, Shoot proliferation, TIS, Zeatin

### Giriş

Bitki yetiştiriciliğinde son zamanlarda *in vitro* çoğaltım tekniklerinin kullanımı, geleneksel çoğaltım yöntemleri ile karşılaştırıldığında görece çok sayıda ve kısa zamanda bitki üretimini sağlaması

nedeniyle artış göstermiştir. Günümüze değin, pek çok meyve türünün *in vitro* çoğaltım sistemleri ile başarılı bir şekilde çoğaltılmasının aksine, ancak bazı zeytin çeşitlerinin *in vitro* mikro çoğaltımı sağlanabilmiştir (Rugini ve Fedeli, 1990; Santos ve

ark., 2003; Peyvandi ve ark., 2009). Bu çalışmalarda, mikro çoğaltım genellikle embriyolardan ve fidelerden elde edilen eksplantlar ile başlatılmıştır (Bao ve ark., 1980; Cañas ve ark., 1992). Bununla birlikte, embriyo veya fidelerden elde edilen eksplantların kullanılması, seçilmiş bir çeşidin veya klonun çoğaltılması amaçlandığında elverişli değildir. Diğer taraftan, olgun bitki materyalinden alınan tomurcuklar veya nodal parçalar kullanılarak *in vitro* zeytin kültürlerinin başlatılması ise, özellikle dokularda görülen yüksek bulaş (nodal eksplantlar kullanıldığında steril gövde eldesi oldukça zordur) ve hızlı oksidasyon (özellikle gövde ucu ve tomurcuklar kullanıldığında gözlenir) nedeni ile, oldukça zor ve zaman alan bir işlemdir ve tüm bu zorluklar etkili mikro çoğaltım yöntemlerinin geliştirilmesini engellemektedir. Buna karşılık, seralarda, saksı içinde yetiştirilmiş stok bitkilerden temin edilen aynı tür eksplantlar ise *in vitro* kültür başlangıcı için ideal kabul edilmektedir (Rugini ve Fedeli, 1990). Zeytin bitkisi *in vitro* koşullarda çoğaltılmaya çalışıldığında güçlü bir apikal dominans göstermektedir. Bunun sonucu olarak, gövde gelişimi genellikle, tepe tomurcukları yerine, uzayan gövdelerden alınan bir veya iki nodlu parçalar ile olur. Doğal bir sitokinin olan zeatinin bu aşamada önemli bir rolü vardır. Çalışmada kullanılan çeşide bağlı olarak, proliferasyon besiyerindeki zeatin miktarı 0.5 mg l<sup>-1</sup> ile 10 mg l<sup>-1</sup> arasında farklılık gösterebilir (Fabbri ve ark., 2008). Pahalı bir sitokinin olan bu bitki büyüme düzenleyicisinin kullanımı ve mikro çoğaltımında yukarıda belirtilen güçlükler, *in vitro* çoğaltılan zeytin bitkisinin maliyetinin büyük oranda artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle zeytin mikro çoğaltımı için sıvı besiyeri kullanımı, kültürlerin kalitesinin artırılması ve bitki üretim maliyetinin düşürülmesi için ideal çözüm olarak görülmekte ve bu nedenle sıvı besiyerlerinin kullanıldığı biyoreaktör sistemleri gibi yarı veya tam otomize edilmiş yeni teknolojilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Geçici daldırma bioreaktör sistemi kullanılarak, zeytin bitkisinin “Canino”, “Ascolana Tenera” ve “Gentile di Larino” çeşitlerinde *in vitro* proliferasyonun arttığı rapor edilmiştir (Lambardi ve ark., 2006). Bu nedenle bu çalışmada, yukarıda belirtildiği üzere İtalyan zeytin çeşitlerinin proliferasyonunda başarıyla kullanılan TIS biyoreaktör sisteminin, yerel zeytin çeşidi olan

“Edremit yağlık” bitkisinde mikro çoğaltımın iyileştirilmesi için denenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Bitki Materyali ve Sterilizasyon

“Edremit yağlık” zeytin çeşidine ait fideler “Edremit Zeytincilik Üretim İstasyonu Müdürlüğü”nden temin edildi. Genç fidelerden alınan nodal tomurcuklar ve yapraklar öncelikle musluk suyu ile 30 dakika boyunca yıkanıp, filtre kağıdı üzerinde kurutulduktan sonra laminar akımlı kabin içinde, %70’lik EtOH çözeltisine batırıldı ve yaklaşık 10-15 saniye çözelti içinde çalkalandı. Eksplantlar daha sonra laminar akımlı kabin içinde, steril filtre kağıdı üzerine alınarak, yaklaşık 1 saat kurutuldu. İyice kuruyan eksplantlar sırasıyla farklı miktarlarda (%1.5, %2 veya %5) Domestos içeren çözeltide farklı sürelerde (20 veya 60 dakika) çalkalanmadan bekletildi. Çamaşır suyu eksplantların steril dH<sub>2</sub>O ile 3 kez çalkalanmasıyla (her biri en az 5 dakika) iyice durulandı. Steril filtre kağıdının üzerinde bekletilerek kurutulan eksplantların kararan uçları bistüri yardımıyla kesilerek, aseptik koşullarda 7 g l<sup>-1</sup> agar ile katılaştırılan yarı-katı OM (Olive Medium, Rugini, 1984) besiyerine aktarıldı. Aktarım sonrasında eksplantlar, *in vitro* çoğaltım için 25°C ve 16 saat (2000 lüks) fotoperiyot koşullarına aktarıldı.

### Yarı-Katı Besi Ortamında *in vitro* Çoğaltım

Steril edilen nodal tomurcuklar *in vitro* çoğaltımın sağlanması için farklı çeşit (glikoz, sukroz ve mannitol) ve miktarda (10 veya 30 g l<sup>-1</sup>) karbon kaynağı ve 20 µM zeatin ve 50 mg l<sup>-1</sup> FeEDDHA içeren yarı-katı OM besiyerine aktarıldılar.

### Geçici Daldırma Biyoreaktör (TIS) Sisteminde *in vitro* Çoğaltım

Steril edilen nodal tomurcuklar *in vitro* çoğaltımın uyarılması için farklı çeşit (glikoz, sukroz ve mannitol) ve miktarda karbon kaynağı (10 veya 30 g l<sup>-1</sup>) ve 20 µM zeatin ve 50 mg l<sup>-1</sup> FeEDDHA içeren sıvı OM besiyerinin bulunduğu TIS biyoreaktör sistemine (RITA®, Teisson ve Alvard, 1995) aktarıldılar ve eksplantların sıvı besiyeri ile her 16 saatte bir 16 dakika teması sağlandı.

### Farklı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin *in vitro* Çoğaltıma Olan Etkisi

Farklı karbon kaynaklarının zeytin bitkisine ait nodal tomurcukların rejenerasyonuna olan etkilerinin araştırılmasına ek olarak, OM besiyerine 5 veya 10  $\mu\text{M}$  zeatin ve 50  $\text{mg l}^{-1}$  FeEDDHA eklenmesinin yanı sıra 66  $\mu\text{M}$  dikegulak da eklenerek, bu bitki büyüme düzenleyicisi kombinasyonunun gövde proliferasyonuna olan etkisi hem yarı-katı hem de sıvı besiyerinde (TIS) belirlenmeye çalışıldı.

### Verilerin Toplanması ve İstatistiksel Analizler

Denenen sterilizasyon yöntemlerine ait sonuçlar en az 10 gün besiyerinde kültürlenme sonrası kaydedilmiş ve sterilizasyon yöntemlerinin başarısı yüzde (%) cinsinden değerlendirilmiştir. Besiyerine aktarılan eksplantların gövde rejenerasyonu ise 5 haftalık kültür sonucunda, yine yüzde (%) cinsinden değerlendirilmiştir. Yarı-katı besiyerine aktarılan her eksplantten oluşan gövde/eksplant sayısı ve gövde boyu (mm), ilgili besiyerinde en az 5 hafta kültürlenme sonrası kaydedilmiştir. Yarı-katı besiyerinde ve TIS sistemi ile çoğaltılan gövdelere ait sonuçlar değerlendirilirken, farklı iki yüzde arasındaki farklılıklar  $X^2$  testi ile, üç veya daha fazla yüzdeler arasındaki farklılıklar ise Post Hoc çoklu karşılaştırma testi (Marascuilo ve McSweeney, 1977) kullanılarak değerlendirilmiştir.

### Bulgular ve Tartışma

Yapılan denemelerde genç fidelerden alınan eksplantlarda, %2'lik domestos çözeltisinin kullanımının kontaminasyonu gidermekte yetersiz kalma-

sının yanı sıra, rejenerasyona da izin vermediği belirlendi (%60, Çizelge 1).

Domestos derişiminin %10'a çıkartılmasıyla kontaminasyon oranı %40'a düşürüldü ancak, bu örneklerde de rejenerasyon görülmedi. Bu bilgilerin ışığında, zeytin genç fidelerden alınan nodal tomurcukların rejenerasyonunun sağlanabilmesi için, sterilizasyon aşamasında çok daha düşük derişimlerde çamaşır suyu çözeltisinin kullanılması gerektiği belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre, genç fidelerden alınan nodal tomurcukların %70 EtOH ile yüzey sterilizasyonunu takiben %1.5 domestos ile 60 dakika steril edilmeleri ile eksplantlarda %38.9 kontaminasyon görülmesine karşın, nodal tomurcuklardan yeni gövdelerin gelişebildiği gözlemlendi (%56).

### Yarı-Katı Besiyerinde *in vitro* Çoğaltım

“Edremit yağlık” çeşidine ait fidelerden alınan nodal tomurcukların sterilizasyonun ardından 20  $\mu\text{M}$  zeatin, 50  $\text{mg l}^{-1}$  FeEDDHA ve farklı karbon kaynakları içeren besiyerlerine aktarımından 5 hafta sonra yapılan kültür sonucunda elde edilen eksplant başına oluşan gövde sayıları ve ortalama gövde boyları Çizelge 2'de sunulmuştur. ‘Edremit yağlık’ çeşidine ait nodal tomurcuklarda elde edilen proliferasyon sonuçlarına göre, mannitol, sukroz ve glikoz içeren yarı-katı besi ortamında 1.0 gövde/eksplant oranı elde edilirken, besi ortamına karbon kaynağı olarak sadece mannitol eklendiğinde eksplant başına 1.5 gövde oluşmuştur. Yarı-katı besiyeri kullanılarak elde edilen bu sonuçlar, yerel zeytin bitkisinin de *in vitro* koşullarda güçlü apikal dominansa sahip olduğunu göstermektedir

**Çizelge 1.** Denenen farklı sterilizasyon yöntemini takiben *in vitro* koşullara aktarılan nodal tomurcuklarda görülen bulaş ve rejenerasyon yüzdeleri\*

Domestos miktarı (%)	Yöntem		Bulaş (%)**	Rejenerasyon (%)**
	Uygulama süresi (dakika)			
5	20		40.0c	0.0b
2	20		60.0b	0.0b
1.5	20		100.0a	0.0b
1.5	60		38.0c	56.0a

\* Her bir denemede en az 50 nodal tomurcuk kullanıldı ve her bir deneme en az iki kez tekrarlandı.

\*\* Her bir denemede, yüzdeleri takip eden aynı harfler, Post Hoc çoklu karşılaştırılmalı LSD testine göre belirgin bir fark ( $P \leq 0.05$ ) oluşturmamaktadır. Yüzdelerdeki farklılıklar dikey olarak değerlendirilmiştir.

**Çizelge 2.** Farklı karbon kaynağı ve 20 µM zeatin içeren yarı-katı (YK) ve sıvı (TIS) OM besiyerine aktarılan zeytin nodal tomurcuklarının 5 hafta sonra gösterdikleri *in vitro* proliferasyon sonuçları\*

Karbon kaynağı (g l <sup>-1</sup> )			Besiyeri	Gövde/eksplant (Ortalama±S.H.)**	Gövde boyu (mm) (Ortalama±S.H.)**
Glukoz	Sukroz	Mannitol			
10	10	10	YK	1.0±0.0b	5.3±1.5b
-	-	30	YK	1.5±0.5b	5.7±0.9b
10	10	10	TIS	1.7±0.3ab	9.8±4.1ab
-	-	30	TIS	2.0±0.4a	10.6±5.1a

\* Her bir denemede en az 50 nodal tomurcuk kullanıldı ve her bir deneme en az iki kez tekrarlandı.

\*\* Nodal tomurcuklara ait eksplant başına oluşan gövde sayısı ve boyu, ortalama ve standart hata (S.H.) olarak hesaplanmıştır. Her bir denemede, sonuçları takip eden aynı harfler, Post Hoc çoklu karşılaştırımlı LSD testine göre belirgin bir fark (P≤0.05) oluşturmamaktadır. Sonuçlar arasındaki farklılıklar dikey olarak değerlendirilmiştir.

(Şekil 1A ve 1B). Nitekim daha önce yapılan çalışmalarda aynı besiyeri içeriğinde İspanyol zeytin çeşidi olan ‘Arbequina’ da 5 haftalık alt kültür sonucunda 2.1; İtalyan zeytin çeşidi olan ‘Gentile di Larino’ da 1.5; ‘Frantoio’ da 1.4 ve ‘Ascolana Tenera’ da 1.1 gövde/eksplant oranı elde edilmiştir (Lambardi ve ark., 2006). İtalyan çeşitlerinde yapılan başka bir çalışmada ise ‘Canino’ çeşidinde 1.4; ‘Frantoio’ çeşidinde 1.3; ‘Moraiolo’ çeşidinde 1.7; ‘Rosciola’ çeşidinde 1.8; ‘Piantone di Moiano’ çeşidinde 1.7 gövde/ eksplant oranı elde edilmiştir. Bu nedenle yerel zeytin çeşidinde elde edilen gövde/ eksplant oranı bu çeşitlerde elde edilen sonuçlar ile uyumludur (Mendoza de Gyves ve arkadaşları, 2008).

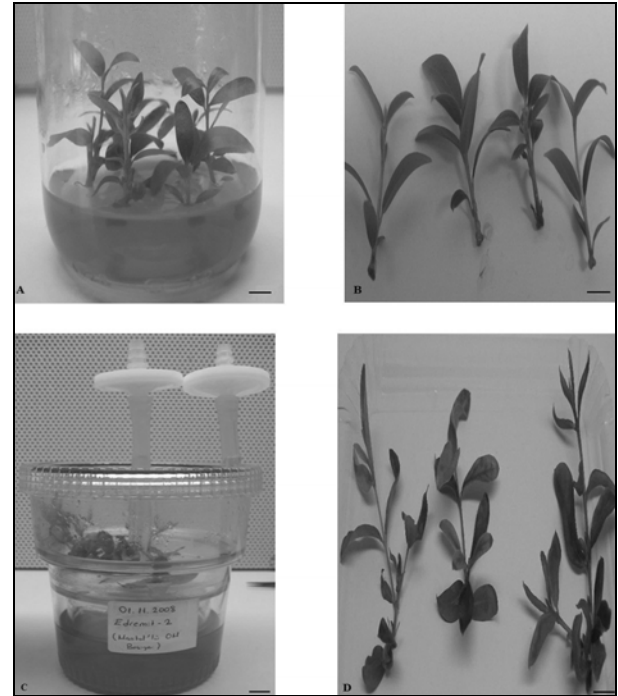
### TIS Sisteminde *in vitro* Çoğaltım

Nodal eksplantlar aynı karbon kaynaklarını içeren sıvı ortama aktarılıp, TIS sisteminde çoğaltıldıklarında ise yarı-katı besiyerinde görülen sonuçlara göre daha yüksek gövde/eksplant oranı (1.7 ve 2.0) elde edilmiştir (Çizelge 2).

Besiyerine eklenen farklı karbon kaynaklarının TIS sistemine aktarılan nodal tomurcukların *in vitro* proliferasyonuna olan etkileri incelendiğinde ise besiyerine mannitol eklenmesinin eksplant başına en yüksek (2.0) gövde oluşturduğu görülmektedir (Şekil 1C ve 1D).

Nodal eksplantlardan oluşan gövdeler, hem yarı-katı hem de sıvı besiyerine yine karbon kaynağı olarak sadece mannitol eklendiğinden görece daha uzundur. Mannitol bir çok bitki türünün metabolizmasında kullanılmamasına karşın, sukroz ile

birlikte zeytin bitkisinin en önemli fotosentetik ürünüdür (Rejšková ve ark., 2007) ve bu bitkinin *in vitro* çoğaltımında olumlu etkisi olduğu bilinmektedir (Leva ve ark., 1994). Bu nedenle, hem yarı-katı hem de TIS sistemine aktarılan nodal eksplantların sadece mannitol içeren besiyerinde daha iyi proliferasyon olması, zeytin bitkisine mannitolün olumlu etkisini bir kez daha göstermektedir.



**Şekil 1.** “Edremit yağlık” çeşidine ait nodal eksplantların 10 µM Zeatin, 50 mg l<sup>-1</sup> FeEDDHA ve 30 mg l<sup>-1</sup> mannitol içeren yarı-katı besiyerinde 5 hafta sonunda gösterdikleri gelişme (bar: 0.77 cm) (A) ve elde edilen gövdeler (bar: 0.57 cm) (B). “Edremit yağlık” çeşidinin RITA® geçici daldırma biyoreaktör sistemi kullanılarak (bar: 1.58 cm) (C) 5 hafta kültürlenmesi sonucu elde edilen gövdeler (bar: 1.07 cm) (D).

**Çizelge 3.** Farklı bitki büyüme düzenleyicileri içeren yarı-katı (YK) ve sıvı (TIS) OM besiyerine aktarılan zeytin nodal tomurcuklarının 5 hafta kültür sonrasında gösterdikleri *in vitro* proliferasyon sonuçları\*

Bitki büyüme düzenleyicisi		Besiyeri (Ortalama±S.H.)**	Gövde/eksplant (Ortalama±S.H.)**	Gövde boyu (mm)
Zeatin (µM)	dikegulak (µM)			
5.0	66	YK	1.0±0.0c	15.0±3.8a
10.0	66	YK	2.0±0.6b	20.5±6.2a
5.0	66	TIS	3.0±0.6ab	5.0±3.0c
10.0	66	TIS	3.2±0.8a	5.9±1.8b

\* Her bir denemede en az 50 nodal tomurcuk kullanıldı ve her bir deneme en az iki kez tekrarlandı.

\*\* Nodal tomurcuklara ait eksplant başına oluşan gövde sayısı ve boyu, ortalama ve standart hata (S.H.) olarak hesaplanmıştır. Her bir denemede, sonuçları takip eden aynı harfler, Post Hoc çoklu karşılaştırılmalı LSD testine göre belirgin bir fark ( $P \leq 0.05$ ) oluşturmamaktadır. Sonuçlar arasındaki farklılıklar dikey olarak değerlendirilmiştir.

### Farklı Büyüme Düzenleyicilerinin *in vitro* Çoğaltıma Olan Etkileri

Zeytin bitkisine ait gövde proliferasyonunda besiyerinde en çok kullanılan sitokin zeatindir (Rugini, 1990; Grigoriadou ve ark., 2002). İyi bir proliferasyon için besiyerinde bu bitki büyüme düzenleyicisini yüksek derişimde kullanmak gerekmektedir ve doğal olan bu bitki büyüme düzenleyicisi pahalı olduğundan bu bitkinin üretim maliyetini arttırmaktadır (Rugini ve Baldoni, 2004). Farklı zeytin çeşitlerinde yapılan çalışmalarda 6-benziladenin, tidiazoron ve kinetin gibi sentetik bitki büyüme düzenleyicilerinin besiyerinde kullanımı, zeytin bitkisinde kısa gövdelerin ve fazla miktarda bazal kallus oluşumunu uyardığı rapor edilmiştir (Rugini, 1990). Bu nedenle yerel çeşitlerin *in vitro* proliferasyonunda öncelikle 20 µM zeatin içeren yarı-katı ve sıvı besiyerleri kullanılmıştır. Zeatinin yüksek maliyetli olması nedeniyle bir sonraki denemede İtalyan zeytin çeşitlerinin (“Canino”, “Frantoio”, “Moraiolo”) mikroçoğaltımında olumlu sonuç veren (Mendoza-de Gyves ve ark., 2008) dikegulak yarı-katı ve sıvı besi ortamına aktararak, zeatinin miktarı besiyerinde 10 ve 5 µM’a indirilmiştir. Nitekim, 5 haftalık kültürleme sonrasında hem yarı-katı hem de TIS sistemine aktarılan nodal tomurcuklarda besi ortamına dikegulak eklenmesinin eksplant başına oluşan gövde sayısını arttırdığı bulunmuştur (Çizelge 3).

Hem yarı-katı besi ortamında hem de TIS sisteminde eksplant başına oluşan en yüksek gövde sayısı (sırasıyla 2 ve 3.2), 10 µM zeatin ve 66 µM dike-

gulak içeren besiyerinde elde edilmiştir. TIS sisteminde 5 µM zeatin ve 66 µM dikegulak içeren besiyerinde de görece yüksek gövde sayısı (3) elde edilmiştir. En uzun gövde boyu (20.5 mm) yine yarı-katı 10 µM zeatin ve 66 µM dikegulak içeren yarı-katı besi ortamında elde edilirken, TIS sisteminde elde edilen gövdeler görece daha kısadır (5.8mm). Besi ortamına dikegulak eklenmesi ile bazı zeytin çeşitlerinde görülen proliferasyondaki iyileşme, yerel “Edremit yağlık” çeşidine ait nodal tomurcuklarının mikro çoğaltımında da elde edilmiştir.

### Sonuç

*In vitro* koşullara aktarılan Edremit yağlık zeytin çeşidinden alınan nodal eksplantların sterilizasyonu için düşük yoğunlukta çamaşır suyunun kullanımı (%1.5) ile sterilizasyon sonrası canlılık elde edilmiştir. Düşük yoğunlukta kullanılan çamaşır suyu ile 60 dakika yapılan sterilizasyon sonucu görülen bulaş yüzdesi çok yüksek değildir. Nodal eksplantların çoğaltımı için denenen farklı karbon kaynakları arasında en fazla çoklu gövde oluşumu, besiyerine sadece mannitol eklendiği zaman elde edilmiştir. Yarı-katı besiyerinde çoğaltım ile karşılaştırıldığında geçici daldırma biyoreaktör sisteminin, yarı-katı besiyerinde zeytin bitkilerinde görülen güçlü apikal dominansı kırmakta ve çoklu gövde oluşumunu sağlamakta daha başarılı olduğu bulunmuştur. TIS sisteminde elde edilen çoklu gövde oluşumu, besiyerine 10 µM zeatinin yanı sıra dikegulak eklendiği koşullarda daha da artış

göstermiştir. Zeytin bitkisinin *in vitro* çoğaltımında elde edilen sonuçlar, TIS sisteminin türün hızlı mikro çoğaltımı için kullanılabileceğini göstermektedir.

**Teşekkür:** Çalışma Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Bilimsel Araştırmalar Birimi (BAP) tarafından desteklenen araştırma projesi (GYTE 2007-A-06) kapsamında yapılmıştır.

## Kaynaklar

- Bao, Z.H., Ma, Y.F., Liu, J.F., Wang, K.J., Zhang, P.F., Ni, D.X., Yang, W.Q., 1980. Induction of plantlets from the hypocotyl of *Olea europaea* L. *in vitro*. Acta Botanica Sinica 2, 96-97.
- Canas, L.A., Avila, J., Vicente, M., Benbadis, A., 1992. Micropropagation of olive (*Olea europaea* L.). (Y.P.S BAJAJ, editör) Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer, Heidelberg, pp. 493-505.
- Fabbri, A., Lambardi M., Ozden-Tokatli Y., 2008. Olive Breeding. (P.M. PRIYADARSHAN, M. JAIN, editörler) Plantation Tree Crops, ed., Springer, New York, USA, pp. 425-467.
- Grigoriadou, K., Vasilakakis, M., Eleftherios, E.P., 2002. *In vitro* propagation of the Greek olive cultivar Chondrolia Chalkidikis. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 71: 47-54.
- Lambardi, M., Benelli, C., Ozden-Tokatli, Y., Ozudogru, E.A., Gumusel, F., 2006. A novel approach to olive micropropagation: the temporary immersion system, Proc. "2nd Int. Seminar Olivebioteq 2006", Vol I: Marsala del Vallo, Italy, pp: 319-326.
- Leva, A.R., Petruccelli, R., Bartolini, G., 1994. Mannitol "*in vitro*" culture of *Olea europaea* L. (cv. Maurino). Acta Horticulturae, (ISHS) 356: 43-46.
- Marascuilo, L.A., McSweeney, M., 1977. Nonparametric and Distribution-free Methods for the Social Sciences (pp 141-147). Books/Cole Publication. Co., California.
- Mendoza-de Gyves, E., Mira, F.R., Ruiu, F., Rugini, E., 2008. Stimulation of node and lateral shoot formation in micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) by using dikegulac. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 92:233-238.
- Peyvandi M., Farahani, F., Noormohamadi, Z., Banihashemi, O., Hosseini, M., Mazinani, A., Atee, S. 2009. Mass production of *Olea europea* L. (cv. Rowghani) through micropropagation. General and Applied Plant Physiology, 35 (1-2): 35-43.
- Rejskova, A., Patkova, L., Stodulkova, E., Lipavska, H. 2007. The effect of abiotic stresses on carbohydrate status of olive shoots (*Olea europaea* L.) under *in vitro* conditions. Journal of Plant Physiology, 164: 174-184.
- Rugini, E., 1984. *In vitro* propagation of some olive (*Olea europaea* L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos, Scientia Horticulturae, 24: 123-134.
- Rugini, E., 1990. *In vitro* culture of olive: an overview of the present scientific status. Acta Horticulturae, 286:93-96.
- Rugini, E., Baldoni, L., 2004. *Olea europaea* Olive. (R.E. LITZ, editör) Biotechnology of Fruit and Nut crops. Chap 15 CABI Publishing, Noworty Way, Wallingford, Oxfordshire OX10 8DE, UK, pp. 404-428.
- Rugini, E., Fedeli, E., 1990. Olive (*Olea europaea* L.) as an oilseed crop. In: *Legumes and Oilseed Crops* I. Springer, Berlin. 10: 593-641.
- Santos, C.V., Brito G., Pinto G., Fonseca H.M.A.C. 2003. *In vitro* plantlet regeneration of *Olea europaea* ssp. *maderensis*. Scientia Horticulturae, 97 (1): 83-87.
- Teisson, C., Alvard, D. 1995. A new concept of plant *in vitro* cultivation liquid medium: temporary immersion, in *Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology* (M. TERZİ, R. CELLA, A. FALAVIGNA, editörler) Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 105-110.

## İLETİŞİM

Yelda ÖZDEN,  
Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü,  
Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı, 41400, Gebze, Kocaeli  
E-posta: ozden@gyte.edu.tr