

## **Kocayemiş'in (*Arbutus unedo* L.) Doku Kültürü İle Üretimi**

**Ayşe Fidancı**

Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Yalova  
e-posta: aysefidanci66@gmail.com

### **Özet**

Akdeniz ekosisteminin karakteristik türlerinden biri olan kocayemiş, diğer adı ile dağ çileği ülkemizde doğal yayılış gösteren türlerden birisidir. Ekonomik açıdan yetiştiricisini memnun edecek bir tür olarak ilgi beklemekte olan bu tür yeterince tanınmamaktadır. *In vitro*'da; sürgün ucu (3-5 mm), lateral gözler ve üzerinde genellikle bir göz bulunan nodlar üzere üç tip eksplant kullanılmıştır. Sürgün ucu kültüründe kararmalar meydana gelmiştir. Yan gözlerde de kararma ve geç, cılız gelişme olduğu görülmüştür. Üzerinde genellikle bir göz bulunan nodlarda (10-15 mm) ise en iyi gelişme görülmüş ve bu eksplant tipinden gelişen mikro sürgünler ile sitokinin ve oksin doz denemeleri yapılmıştır. Köklendirme çalışmaları *in vitro* ve *in vivo* da yapılmıştır. *In vitro*'da 3 ortam ve IBA'in 2 dozu kullanılmıştır. *In vitro*'da en yüksek köklenme %86,7 oranında K/3 tipinde, makro elementlerin yarıya indirildiği MS ortamında ve 5 mg/L IBA dozunda oluşmuştur. En düşük köklenme ise K/1 tipinde %25 oranında MS ortamında ve 2 mg/L IBA dozunda gerçekleşmiştir. *In vivo*'da mikro sürgünlerin dip kısımları IBA'in 500 ve 1000 ppm dozlarına 10 saniye batırılmış ve nemli perlit içeren plastik kaplara dikilmiştir. *In vivo*'da ise en yüksek köklenme %58,3 oranında 1000 ppm IBA dozunda K/1 ve Esenköy tiplerinde meydana gelmiştir.

**Anahtar kelimeler:** kocayemiş, köklenme, ortam, sitokinin, oksin

### **Micropropagation of Strawberry Tree (*Arbutus unedo* L.)**

#### **Abstract**

The strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) is native to the Mediterranean region that also widely distributed in Turkey. Its farming can be profitable, but, it is not well known enough in our country. In this study, shoot tip (3-5 mm), axillary bud and nod with usually one bud (10-15 mm) as explant were used. Severe browning was observed in shoot tip culture of *A. unedo*. The micro-shoots of axillary bud explants were also occurred browning, late sprouting, weak development and opening in color. The micro-shoots originated from nodes showed the best improvement and cytokine and auxin dose trials were established them. *In vitro* and *ex vitro* rooting experiments were carried out in three different media and two concentrations of IBA. The highest rooting rate with 86,7% was obtained the micro-shoots originated from K/3 type in MS medium added 5 mg/l-1 IBA and ½ macro elements *in vitro*, while K/1 type showed the lowest rooting rate with 25% in MS medium added 2 mg/l<sup>-1</sup> IBA. 500 and 1000 ppm concentrations of IBA were used at *ex vitro* rooting. The micro-cuttings in height 2-3 cm were soaked in IBA solution for 10 s and then they were planted in plastic jars containing perlite. K/1 and Esenköy types had have the highest rooting rate of rooting with 58,3% in 1000 ppm IBA concentration.

**Keywords:** Strawberry tree, rooting, media, auxin

#### **Giriş**

Akdeniz ekosisteminin karakteristik türlerinden biri olan kocayemiş, diğer adı ile dağ çileği ülkemizde doğal yayılış gösteren türlerden birisidir. Kocayemiş herdem yeşil bir ağaçtır. Dekoratif bir bitki olmasından dolayı bahçe düzenlemesinde de kullanılır. Meyve ve çiçeği ağaç üzerinde aynı anda görülebilen ender türlerden birisidir. Ayrıca genç sürgünler, yapraklarının parlak yeşil olması sebebi ile çiçek düzenlemelerinde kullanılmaktadır. Ağaç çileği *Ericaceae* familyasından olup üretilmesi zordur. Tohumla üretiminde varyasyonlar görülür ve tohumların çimlendirilmesi özel uygulamalar gerektirir, buna ilaveten çeliklerin köklenmesi oldukça düşüktür.

Ekolojik perspektiften bakıldığında, kocayemiş faunanın sürdürülebilir biyo çeşitliliğine katkıda bulunur, toprak erozyonunun önlenmesine yardımcı olur, yangın gibi doğal afetler sonrasında güçlü bir rejenerasyon kabiliyeti vardır ve verimsiz topraklardaki yaşama oranı oldukça yüksektir. Buna ek olarak düşük sıcaklıklara karşı dirençli, kuraklığa karşı toleranslıdır (Piotto ve ark., 2001).

Ağaç kabukları derilerin renklerinin koyulaştırılmasında ve alternatif tıpta kullanılırken; meyve ve yaprakları ise kanamayı durdurucu, diüretik, antiromatizmal, ishali önleyici ve üriner sistem enfeksiyonlarında etkilidir.

Seleksiyonu yapılan kocayemişlerin üretimi özellikle önemlidir. Tohumla üretim genetik olarak stabil değildir ve karakteristik özellikler kaybolabilir. Vejetatif üretim, çelikle, mikro üretim metodları ile yapılabilir. Bununla birlikte, olgun çelikler kullanıldığında köklenme oranı oldukça düşüktür (Karadeniz ve ark., 1999; Mereti ve ark., 2002; Pignatti ve Crobeddu, 2005).

Odun çeliklerinde köklenme durumunu belirlemek amacı ile kocayemiş tiplerinin birinden alınan çelikler ile IBA'nın 1000, 2000 ve 4000 ppm dozları ile muamele edilmiş ve dinlenme döneminde iki zamanda alınan çeliklerde köklenme olmamıştır (Karadeniz ve ark., 1999). *Arbutus unedo*'nun *in vitro* şartlarda çoğaltılması konusunda çalışmalar yapılmıştır. (Morini ve Fiaschi, 2000; Mereti ve ark., 2002; Gomes ve Canhoto, 2009).

Bu çalışma Marmara Bölgesinden seçilen dört tip kocayemişin *in vitro* şartlarda çoğaltılması amacı ile yapılmıştır.

#### **Materyal ve Metot**

##### **Materyal**

Bu çalışma 2009-2013 yılları arasında, Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Doku Kültürü Laboratuvarında yapılmıştır. Araştırmada materyal olarak, Marmara bölgesi kocayemiş seleksiyonundan seçilen 4 tip (K/1, K/2, K/3, Esenköy) kullanılmıştır.

##### **Metot**

Doku kültürünün aşamaları olan; yüzey sterilizasyonu kültür oluşturma, kardeşlenme, köklendirme ve alıştırma safhaları gerçekleştirilmiştir.

##### **Yüzey Sterilizasyonu**

Sağlıklı ana bitkilerden alınarak laboratuvarın ön hazırlık odasına getirilen bitkisel materyaller eksplant tipleri göz önünde tutularak öncelikle musluk suyu ile yıkanmıştır. Ardından bir miktar bulaşık deterjanı katılan su ile yıkandıktan sonra %70'lik dozda etil alkol ile muamele edilmiştir. Son olarak içerisinde %10'luk hypoklorit ve birkaç damla Tween 20 bulunan solusyonda, 20 dakika bekletilerek 3-4 defa bidestile su ile yıkanarak yüzey sterilizasyonu tamamlanmıştır.

##### **Kültür Oluşturma**

İsmine doğru, sağlıklı donar bitkilerin aktif büyüme dönemlerinde alınan sürgünlerden;

yüzey sterilizasyonu yapıldıktan sonra alınan eksplantlar (apex, lateral tomurcuk ve nod ) steril kabin içerisinde bulunan ve önceden hazırlanmış içerisinde 10–15 ml uygun kültür oluşturma ortamı olan (15 x 2.5 cm'lik, test tüpleri) tüplerin tam orta kısmına yerleştirilmiş, ağzı streç film ile kapatılmıştır. Oluşturulan kültürler 16 saat aydınlık sekiz saat karanlık faza ayarlı iklim odalarında gelişmeye bırakılmıştır.

##### **Kardeşlenme (Çoğaltma)**

İlk kültürden yaklaşık 6- 8 hafta sonra eksplantlar daha geniş ortama içerisinde uygun çoğaltma ortamı bulunan kavanozlara transfer edilmiştir. Burada 3–4 hafta kalan eksplantlar istenen gelişmeyi kaydedince köklenme boyuna ulaşanlar köklendirme ortamına transfer edilmiş, daha küçük olanlar yine çoğaltma ortamına aktarılmıştır. Bu safhada öncelikli olarak stokininlerde zeatin'in dozlarının çoğalmaya etkileri araştırılmıştır.

##### **Köklendirme**

Çoğaltma ortamında uygun uzunluğa erişmiş mikro sürgünler *in vitro* ve *in vivo*'da köklenme denemelerine alınmış ve köklenme kıstasları (köklenme %'si, kök sayısı, kök uzunluğu) yönünden değerlendirmeye alınmıştır.

##### **Alıştırma**

Köklü bitkicikler alıştırma serasına transfer edilmiştir. Bitkiciklerin kökleri, agardan arınıncaya kadar ılık musluk suyu ile yıkandıktan sonra, kısa bir süre düşük dozda fungusit erişiğine daldırılıp çıkarılmıştır. Hemen ardından torf, torf + perlit: karışımı ile doldurulmuş viyollere veya küçük saksılara dikilmiştir. Sera içerisinde oluşturulacak plastik tünellere yerleştirilmiş, bitkiciklerin üzeri 4–5 hafta kapalı kalması sağlanmıştır. Bu dönem sonunda örtü evvela ¼ oranında açılmış, peyderpey tamamı açılarak ortam nispi nemi giderek azaltılmıştır. Bu arada uygun makro ve mikro besin elementlerini içeren gübreleme ve her hafta sistemik bir fungusitle koruyucu ilaçlama yapılmıştır. Yaklaşık bir buçuk ayın sonunda bitkicikler üzerindeki örtü tamamen kaldırılmış ve uygun büyüklüğe erişince içerisinde torf+bahçe toprağı+dişli dere kumu (3:1:1) bulunan daha büyük saksılara veya plastik torbalara aktarılmıştır. Yarı gölge bir yere taşınan bitkiler bahçeye dikim zamanına veya satışa kadar burada rutin bakım işlemlerine devam edilmiştir

## **Bulgular**

Üç tip eksplant kullanılmıştır; sürgün ucu (3-5 mm) kültüründe kararmalar meydana gelmiş ve yan gözlerde de kararma ve geç, cılız gelişme ve renkte açılma olduğu görülmüştür. Üzerinde genellikle 1 göz bulunan nodlarda (10-15 mm) ise en iyi gelişme görülmüş ve bu eksplant tipinden gelişen mikro sürgünler ile sitokinin ve oksin doz denemeleri yapılmıştır. Benzer çalışmalar; Meretti ve ark., (2002), Gomes ve Canhoto, (2009) tarafından da yapılmıştır.

## **Tartışma ve Sonuç**

Kültür oluşturmada sitokininlerden 5 mg/L 2 iP kullanılmış, kardeşlenme ortamında ise zeatin ile devam edilmiştir. İstatistiksel olarak zeatin dozlarının kardeşlenmeye ve sürgün uzunluğuna etkisi karşılaştırılmış; kardeşlenmede dozlar ve ortamlar önemli bulunmuştur. En yüksek kardeşlenme K/3 tipinde 4 nolu ortamda (eksplant başına 4 adet mikrosürgün) gerçekleşmiş ve sürgün uzunluğu yönünden tipler arasında farklılık önemli bulunmamıştır. Yapılan benzer çalışmada ise; CO1 klonunun kardeşlenmesi üzerine 3 farklı kültür ortamının etkisi diğer iki ortama göre (1/2 MS ve AND) FS ortamı explant başına (1,88–2,1) önemli derecede yüksek sayıda mikro sürgün vermiştir. 1/2 MS ve FS ortamları arasında sürgün uzunluğu yönünden önemli derecede fark bulunmamış fakat AND ortamında kısa sürgünler gözlenmiştir (Gomes ve Canhoto, 2009).

Köklendirme çalışmaları *in vitro* ve *in vivo* da yapılmıştır.

*In vitro*'da 3 ortam ve IBA'in 2 dozu kullanılmıştır.

*In vitro*'da en yüksek köklenme %86,7 oranında K/3 tipinde, makro elementlerin yarıya indirildiği MS ortamında ve 5 mg/L IBA dozunda oluşmuştur. En düşük köklenme ise K/1 tipinde %25 oranında MS ortamında ve 2mg/L IBA dozunda gerçekleşmiştir.

*In vivo*'da mikro sürgünlerin dip kısımları IBA'in 500 ve 1000 ppm dozlarına 10 saniye

batırılmış ve nemli perlit içeren plastik kaplara dikilmiştir. *In vivo*'da ise en yüksek köklenme %58.3 oranında 1000 ppm IBA dozunda K/1 ve Esenköy tiplerinde, en düşük köklenme ise Esenköy tipinde %16.7 oranında kontrolde meydana gelmiştir.

Yapılan bir çalışmada *ex vitro*'da IBA'in 500 (24 saat) ve 2000 ppm (5-10 saniye) dozları ile yaptıkları denemede köklenme %60'in üzerinde olmuş ama alıştırma safhasında canlı kalan bitki sayısı düşük kalmıştır. *In vitro* köklendirmede WPM ortamında IBA ve IAA'in farklı dozları ile yapılan denemede ise köklenme %45-92 aralığında olmuş fakat alıştırma safhasında canlılık oranı azalmıştır (Mereti ve ark., 2002).

Klasik yöntemlerle (tohum ve çelik) üretilmesinde sıkıntı yaşanan bu türün *in vitro* şartlarda yetiştirilebileceği, *in vitro* köklenmenin *in vivo* köklenmeden daha iyi sonuç verdiği, alıştırma safhasında yaşanan kayıpların önüne geçmek için dikim zamanı ve sera şartlarının önemli olduğu görülmüştür.

## **Kaynaklar**

- Anonymus, *Arbutus unedo* L. Scientia Horticulturac, 93:143–148.
- Gomes, F., Canhoto, C.M., 2009. Micropropagation of strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) from adult plants. In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant. 45:72–82.
- Karadeniz, T., Kalkışım, Ö., Şişman, T., 1996. Trabzon çevresinde yetişen kocayemiş (*Arbutus unedo* L.) tiplerinin meyve özellikleri ve çelikle çoğaltılması. Ulusal Kivi ve Üzümsü Meyveler Sempozyumu. s:476–480.
- Mereti, M., Grigoriadou, K., Nanos, G.D., 2002. Micropropagation of the strawberry tree,
- Morini, S., Fiaschi, G., 2000. *In vitro* propagation of strawberry tree. Agriculture Mediterranea. 130 (3/4): 240–246.
- Pignati, G., Crobbeddu, S., 2005. effects of rejuvenation on cutting propagation of mediterranean shrub species, The Italian Society of Silviculture and Forest Ecology, 2 (3): 290-295.

**Çizelge 1.** Kocayemiş tiplerininin *in vitro* şartlarda çoğaltılmasında kullanılan ortamlar

ORTAM KODLARI	Ortam	Sitokinin	Şeker	Agar	pH	Antibiyotik	Adenine Hemisulfate
1	½ MS+MS Vitaminler	4 mg/L zeatin	20 g/L	7 g/L	5.3	25 mg/L Streptomisin Sulfate	-
2	MS+MS Vitaminler	5 mg/L 2 iP	20 g/L	7 g/L	5.3	25 mg/L Streptomisin Sulfate	-
3	½ MS+MS Vitaminler	4 mg/L Zeatin	20 g/L	7 g/L	5.3	-	-
4	MS+MS Vitaminler	5 mg/L 2 iP	20 g/L	7 g/L	5.3	-	-
5	MS+MS Vitaminler	4 mg/L Zeatin	20 g/L	7 g/L	5.3	-	-
6	MS+MS Vitaminler	4 mg/L Zeatin	20 g/L	7 g/L	5.3	25 mg/L Streptomisin Sulfate	80 mg/L
7	MS+MS Vitaminler	2mg/L Zeatin	20 g/L	7 g/L	5.3	-	-

**Çizelge 2.** Kocayemiş tiplerinde ortam ve sitokinin dozlarının kardeşlenme etkisi

TİPLER	ORTAMLAR							
	1	2	3	4	5	6	7	Ort.
K/1	1.5 g-1	2.3 def	1.5 g1	2.6 cde	1.1 h-1	1.3 g1	1.3 g1	1.76 BC
K/2	1.6 f-1	1.7 f-1	1.0 ı	1.2 h1	1.6 f-1	2.0 efg	3.1 bc	1.73 B
K/3	2.0 efg	1.4 g-1	2.0 efg	4.0 a	3.8 a	3.3 ab	2.8 bcd	2.76 A
Esenköy	1.8 fgh	1.0 ı	1.0 ı	1.4 g1	1.7 f-1	1.8 fgh	1.4 g1	1.43 C
Ortalama	1.71BC	1.60C	1.37 C	2.28 A	2.17 AB	2.09A	2.17A	

Ortam p<0,01 seviyesinde önemli

**Çizelge 3.** Kocayemiş tiplerinde sitokinin dozlarının sürgün uzunluğuna etkisi

ÇEŞİT	ORTAMLAR							
	1	2	3	4	5	6	7	Ort.
K/1	2.5 cf	2.7 a-e	2.5 cf	2.6 cde	2.4 dg	2.1 fg	2.5 cg	2.5 B
K/2	2.2 efg	3.0 abc	2.0 g	2.6 cde	2.9 abc	3.1 ab	2.8 ad	2.7 AB
K/3	2.6 b-e	2.6 b-e	2.7 ad	2.7 a-e	3.2 a	2.8 ad	2.9 abc	2.8 A
Esenköy	2.7 a-e	2.4 dg	2.6 cde	2.5 cf	2.4 dg	2.4 dg	2.6 ce	2.5 B
Ortalama	2.52	2.66	2.46	2.60	2.73	2.61	2.69	

**Çizelge 4.** Kocayemiş tiplerinde *in vitro* şartlarda ortam ve iba dozlarının köklenmeye etkisi

Tipler	Ortamlar						
	½ MS Makro 2 mg/L IBA	1/2MS Makro 5mg/L	MS 2mg/L IBA	MS 5 mg/L IBA	½ MS 2mg/L IBA	½ MS 5 mg/L IBA	ORTALAMA
K/1	41.7	50.0	25	33.3	33.3	58.3	40.3 C
K/2	63.3	66.7	33.3	30.0	36.7	83.3	52.2 AB
K/3	63.3	86.7	36.7	30.0	46.7	80.0	57.2 A
ESENKÖY	50.0	50.0	33.3	41.7	50.0	66.7	48.6 BC
ORTALAMA	54.6 B	63.3 A	32.1 C	33.8 C	41.7 C	72.1 A	

p<0,01 seviyesinde tipler ve ortam önemli, tip x ortam önemsiz bulunmuştur.

**Çizelge 5.** Kocayemiş tiplerinde iba dozlarının *in vivo* şartlarda köklenmeye etkisi

Tipler	Kontrol	500 ppm IBA	1000 ppm IBA	Ortalama
K/1	25.0	41.7	58.3	41.7 AB
K/2	58.3	52.3	58.0	56.2 A
K/3	24.7	58.0	55.3	46.0 AB
ESENKÖY	16.7	33.3	58.3	36.1 B
ORTALAMA	31.2 B	46.3 A	57.5 A	

p<0,05 seviyesinde tip x ortam önemli bulunmuştur.



**Şekil 1.** Kullanılan eksplant tipleri ve kültür oluşturma, nodlardan gelişen mikro sürgünler ve çoğalma



**Şekil 2.** *In vitro* 'da köklendirilmiş bitkicikler, *in vivo*'da perlit içinde köklenmiş bitkicikler