

**KARAYEMİŞ (Prunus laurocerasus L.) BİTKİSİNİN IN VITRO DOKU KÜLTÜRÜ  
OPTİMİZASYONU**

**GÜLFEM DOĞAN**

**Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman: Doç. Dr. Şeyda SAVALAN**

**2024**

T.C.  
TEKİRDAĞ NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



KARAYEMİŞ (*Prunus laurocerasus* L.) BİTKİSİNİN *IN VITRO* DOKU KÜLTÜRÜ  
OPTİMİZASYONU

GÜLFEM DOĞAN

ORCID: 0000-0002-8288-141X

TARIMSAL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Danışman: Doç. Dr. Şeyda SAVALAN

TEMMUZ-2024  
Her hakkı saklıdır.

## ÖZET

### KARAYEMİŞ (*Prunus laurocerasus* L.) BİTKİSİNİN *IN VITRO* DOKU KÜLTÜRÜ OPTİMİZASYONU

Gülfem DOĞAN

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Şeyda SAVALAN

Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.), peyzaj düzenlemesinde parlak, koyu yeşil yaprakları ve kokulu beyaz çiçekleri ile süs değeri açısından ünlüdür. Ancak, estetik çekiciliğinin ötesinde, karayemiş, biyolojik önemine katkıda bulunan çeşitli fitokimyasal özelliklere sahiptir. Başlıca fitokimyasallarından biri, amygdalin gibi siyanojenik glikozitlerdir. Ayrıca çeşitli farmakolojik aktiviteler sunan triterpenoidler, flavonoidler, fenolik bileşikler ve tanenler içerir. Karayemişin çoğaltımı, doğal olarak tohum dağılımı yoluyla veya yapay olarak vejetatif çoğaltma yöntemleriyle gerçekleştirilebilir. Tohum dağılımı, uygun habitatlarda genetik çeşitliliği ve doğal çoğalımı sağlar. Aynı zamanda, *in vitro* mikroçoğaltma, karayemişin çoğaltılması, korunması ve genetik iyileştirilmesi için önemli avantajlar sunar, sürdürülebilir yetiştirme uygulamalarını ve çeşitli pazar taleplerini karşılamak üzere yeni çeşitlerin geliştirilmesini kolaylaştırır. Bu çalışmada, Kırklareli ilinin Lüleburgaz ilçesinden toplanan Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) bitkilerinin sürgün uçlarını kullanarak farklı bitki büyüme düzenleyicileri kombinasyonları ile bitkinin *in vitro* mikroçoğaltımı amaçlanmıştır. Dış ortam koşullarından toplanan eksplantların sterilizasyon aşamasında civa klorür ( $HgCl_2$ ) kullanılmış ve %0,1  $HgCl_2$  içeren ortamdan 8 dakika sonra başarılı sonuç elde edilmiştir. En iyi çoğaltım sonucu, 1 mg/l BAP, 0,5 mg/l  $GA_3$  ve 0,1 mg/l IBA içeren MS ortamından elde edilmiştir. 21 gün sonra 5 cm uzunluğa ulaşan sürgünler köklendirme ortamına aktarılmıştır. Tüm ortamlarda dört hafta içinde köklenme gözlenmiş olup, en güçlü ve uzun kök, 2 mg/l IBA, 0,5 mg/l  $GA_3$  ve 0,15 g/l Fe-EDDHA içeren MS 0 ortamından elde edilmiştir. Son olarak, köklenen bitkiler seradaki saksılara aktarılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Karayemiş, *in vitro*, Mikroçoğaltım, Köklendirme, Süs Bitkisi, Fe-EDDHA

## ABSTRACT

### OPTIMIZATION OF *IN VITRO* TISSUE CULTURE OF CHERRY LAUREL (*Prunus laurocerasus L.*) PLANT

Gülfem DOĞAN

Department of Agricultural Biotechnology

MSc. Thesis

Supervisor: Associate Professor, Ph.D. Şeyda SAVALAN

Cherry laurel (*Prunus laurocerasus L.*) is renowned for its ornamental value in landscaping due to its glossy, dark green leaves and fragrant white flowers. However, beyond its aesthetic appeal, cherry laurel possesses several phytochemical properties contributing to its biological significance. One of the primary phytochemicals in cherry laurel is cyanogenic glycosides, such as amygdalin. Cherry laurel contains triterpenoids, flavonoids, phenolic compounds, and tannins, which offer various pharmacological activities. Cherry laurel regeneration can occur naturally through seed dispersal or artificially through vegetative propagation methods. Seed dispersal facilitates genetic diversity and natural regeneration in suitable habitats. At the same time, *in vitro* micropropagation offers significant advantages for the propagation, conservation, and genetic improvement of cherry laurel, facilitating sustainable cultivation practices and the development of novel varieties to meet diverse market demands. The aim of the study was to conduct an *in vitro* micropropagation experiment using shoot tips of Cherry laurel (*Prunus laurocerasus L.*) plants collected from Lüleburgaz district of Kırklareli province, Turkey, with different combinations of plant growth regulators. During the sterilization stage of the collected explants from outdoor conditions, mercury chloride ( $\text{HgCl}_2$ ) was utilized, and the successful result was obtained from a medium containing 0,1%  $\text{HgCl}_2$  for 8 minutes. The best regeneration result was achieved from MS medium containing 1 mg/l BAP, 0.5 mg/l  $\text{GA}_3$ , and 0.1 mg/l IBA. Shoots reaching a length of 5 cm after 21 days were transferred to a rooting medium. Rooting was observed in all mediums within four weeks, with the strongest and longest root was obtained from 0 MS medium containing 2 mg/l IBA, 0,5 mg/l  $\text{GA}_3$ , and 0,15 g/l Fe-EDDHA. Finally, rooted plants were transferred to pots in the greenhouse.

**Keywords:** Cheery Laurel, *in vitro*, Micropropagation, Rooting, Ornamental Plant, Fe-EDDHA

## İÇİNDEKİLER

|  |      |
|--|------|
| ÖZET .....   | ii   |
| ABSTRACT .....   | iii  |
| İÇİNDEKİLER .....  | iv   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....  | vi   |
| SİMGELER DİZİNİ .....  | viii |
| KISALTMALAR DİZİNİ .....   | ix   |
| TEŞEKKÜR .....   | x    |
| <b>1.GİRİŞ</b> .....   | 1    |
| 1.1 Literatür Özeti .....  | 6    |
| 1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı .....                                      | 9    |
| <b>2.MATERYAL YÖNTEM</b> .....   | 11   |
| 2.1 Materyal .....   | 11   |
| 2.1.1 Bitki Materyali .....  | 11   |
| 2.1.2 Besin Ortamı ve <i>In vitro</i> Kültür Koşulları.....                | 12   |
| 2.2 Yöntem.....  | 13   |
| 2.2.1 Eksplant Alımı ve Yüzey Sterilizasyonu.....                          | 13   |
| 2.2.2 Eksplantların Farklı Besin Ortamlarına Aktarılması.....              | 15   |
| 2.2.3 Sürgünlerin Köklendirilmesi .....                                    | 15   |
| 2.2.4 Dış Koşullara Alıştırma (Aklimatizasyon).....                        | 16   |
| 2.2.5 İstatistiksel Değerlendirme .....                                    | 16   |
| <b>3.BULGULAR</b> .....  | 17   |
| 3.1 Yüzey Sterilizasyonu Bulguları .....                                   | 17   |
| 3.2 Mikroçoğaltım Bulguları.....   | 19   |
| 3.2.1 Eksplant Başına Sürgün Sayısı Ortalaması .....                       | 20   |
| 3.2.2 Sürgün Uzunluğu Ortalaması .....                                     | 22   |
| 3.3 Köklendirme.....   | 22   |
| 3.4 Köklenen Sürgünlerin Dış Koşullara Alıştırılması(Aklimatizasyon) ..... | 23   |
| <b>4.TARTIŞMA</b> .....  | 25   |
| 4.1 Yüzey Sterilizasyonu .....   | 25   |
| 4.2 Mikroçoğaltım.....   | 26   |
| 4.3 Köklendirme.....   | 27   |
| 4.4 Dış Koşullara Alıştırma(Aklimatizasyon).....                           | 29   |
| <b>5.SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....   | 30   |

|                                       |   |
|---------------------------------------|---|
| <b>KAYNAKLAR</b> .....                | 31                                      |
| <b>TEZDEN ÜRETİLMİŞ ESERLER</b> ..... | 36                                      |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....                 | <b>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</b> |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Çizelge 1.1. <i>Prunus laurocerasus</i> L. bitkisinin sistematığı.....   | 1  |
| Çizelge 1.2. <i>Prunus laurocerasus</i> L. meyvesinin besin ögesi ve enerji içeriği(100 gr).....   | 5  |
| Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan besin ortamlarının içerikleri .....  | 12 |
| Çizelge 2.2. Sterilizasyon Uygulamaları .....  | 14 |
| Çizelge 2.3. Karayemiş bitkilerinin sürgün oluşumu çalışmalarında kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve ortam kombinasyonları ..... | 15 |
| Çizelge 2.4. Köklendirme ortamında kullanılan oksin ve konsantrasyonları.....  | 16 |
| Çizelge 3.1. Sterilizasyon Uygulamaları sonuçları .....  | 19 |
| Çizelge 3.2. Sürgün oluşumu ve sürgün uzunluğu uygulamaları sonuçları .....  | 21 |
| Çizelge 3.3. Kök Uygulamaları sonuçları .....  | 22 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 1.1. <i>P.laurecerasus</i> L. bitkisinin çiçek ve meyve görünümü (a) Çiçek iç yapısı görünümü (b) Karayemiş çiçek görünümü (c),(d) Dalında meyve görünümü .....  | 2  |
| Şekil 1.2. Karayemiş bitkisinin Dünya’da yayılım gösterdiği alanlar .....  | 3  |
| Şekil 1.3. Karayemiş bitkisinin Türkiye yayılış alanları .....   | 3  |
| Şekil 2.1. Karayemiş bitkilerinin yetiştirme ortamlarındaki görünümü .....   | 11 |
| Şekil 2.2. Otoklavda steril edilmiş bitki besin ortamları .....  | 13 |
| Şekil 2.3. Bitki sterilizasyon hazırlığı ve yüzey sterilizasyonu (a) Bitki eksplantları (b) Akan musluk altında sterilizasyon (c)Manyetik çalkalayıcıda sterilizasyon (d) Ön sterilizasyonu yapılmış eksplantlar .....                             | 14 |
| Şekil 3.1. Kontamine ve kararan eksplantlar (a),(b) Kontamine olan eksplantlar (c) Kararan eksplantlar (d) Gelişmeyen eksplantlar (e) Alt kültürde kontamine olan eksplantlar (f) Ortam ve çalışma şekli kaynaklı kontamine olan eksplantlar ..... | 18 |
| Şekil 3.2. Steril edilen eksplantların besin ortamlarına aktarımı (a)Eksplantın tüpe aktarımı (b)Tüpün ağız kısmının çakmak ile yakılması (c)Tüplerin streç film ile kapatılması (d)Tüplere aktarılmış eksplantların görünümü .....                | 20 |
| Şekil 3.3. Eksplant başına sürgün sayısı alınan eksplantların görünümü (a) Eksplant başına oluşan sürgünlerin görünümü (b),(c)En yüksek sürgün ortamı (d), (e) En düşük sürgün ortamları .....   | 21 |
| Şekil 3.4. Köklenme ortamlarında köklenen bitkiler (a) Köklenen bitkilerin kök ve boy uzunluğu ölçümü (b) Köklenen bitkilerin kök görünümü (c) Köklenen bitkilerin kavanozdaki görünümü.....   | 23 |
| Şekil 3.5. Bitkilerin aklimatizasyon aşamaları (a) Üç haftalık aklimatizasyon aşamasından sonraki bitkilerin görünümü (b) Saksılara alınan bitkiler (c) Bahçe koşullarına alınan bitki ..  | 24 |

## SİMGELER DİZİNİ

|   |        |
|---|--------|
| ° | Derece |
| μ | Mikro  |
| % | Yüzde  |



## KISALTMALAR DİZİNİ

|                   |   |
|-------------------|---|
| 2,4-D             | 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit                     |
| BAP               | 6-Benzilaminopürin                                |
| cm                | Santimetre  |
| dk                | Dakika  |
| DKW               | Driver ve Kuniyuki ve McGranahan Besin Ortamı     |
| E. B. S. S. O.    | Eksplant Başına Sürgün Sayısı Ortalaması          |
| Fe-EDDHA          | Ethylenediamine di-2-hydroxyphenyl acetate ferric |
| g                 | Gram  |
| GA <sub>3</sub>   | Giberellik Asit                                   |
| HCl               | Hidroklorik Asit                                  |
| HgCl <sub>2</sub> | Civa II Kolorür                                   |
| IBA               | İndol 3-Butirik Asit                              |
| K. O. O.          | Kök Oluşum Oranı                                  |
| K. S. O.          | Kök Sayısı Ortalaması                             |
| K. S. S.          | Köklenen Sürgün Sayısı                            |
| K. U. O.          | Kök Uzunluğu Ortalaması                           |
| ml                | Mililitre   |
| MS                | Murashige ve Skoog Besin Ortamı                   |
| NAA               | Naftalin Asetik Asit                              |
| NAA               | Naftalin Asetik Asit                              |
| NaOCl             | Sodyum Hipoklorit                                 |
| NaOH              | Sodyum Hidroksit                                  |
| NN                | Nitch ve Nitch                                    |
| S. O.O.           | Sürgün Oluşum Oranı                               |
| S. U. O.          | Sürgün Uzunluğu Ortalaması                        |
| sn                | Saniye  |
| TDZ               | Thidiazuron                                       |
| µl                | Mikrolitre  |
| µM                | Mikromolar  |

## TEŞEKKÜR

Doku kültürü çalışmalarına başlamamı sağlayan, tezimin her aşamasında değerli fikirleriyle yön veren ve tecrübelerini bana aktaran Danışmanım Sayın Doç. Dr. Şeyda SAVALAN'a çok teşekkür ederim.

Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve yüksek lisans eğitimime başladığımda katkılarını unutamayacağım Sayın Doç. Dr. Sefer DEMİRBAŞ, Doç. Dr. Hayat TOPÇU ve Arş. Gör. İbrahim UZ'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda kullandığım örneklerimin temininde yardımını esirgemeyen değerli Seyhan ve Siyami ASLAN'a ve her zaman yanımda olan arkadaşlarım Yonca KOZAR, Seçil AYAZ ve Ebru ALBAYRAK'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımı yürüttüğüm Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı, Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji Araştırma ve Üretim Birimi (ZİRAATBİYOTEK) ve Biotek Biyoteknoloji Tarım'a, laboratuvar çalışmalarımdaya desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Yüksek Lisans çalışmalarımın ağırlığını ve sıkıntılarını benimle birlikte omuzlayan, en büyük desteği veren hep yanımda olan eşim Solmaz DOĞAN'a ve dualarıyla manevi desteğini benden esirgemeyen canım annem Saliha CANSIZOĞLU'na teşekkür ederim. İyi ki varsınız.

Gülfem DOĞAN

Ziraat Mühendisi

## 1. GİRİŞ

Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) Güneydoğu Asya ve Güneydoğu Avrupa'nın Karadeniz'e kıyısı olan bölgelere özgü bir bitkidir ve Türkiye'nin kuzey kesiminde yaygın olarak yayılış göstermekte olup farklı özellikler gösteren birçok çeşidi bulunmaktadır. Tarihsel olarak bu tür ilk kez 1546 yılında Kuzeydoğu Türkiye'de Fransız Araştırmacı Pierre Belan tarafından Trabzon'dan toplanmış ve tanımlanmıştır (Ercişli, 2004). Hem meyve hem de süs bitkisi özelliğine sahip bir tür olan Karayemiş bu bölgede doğal olarak yetişmektedir. Bölge halkının yemek kültüründe yer aldığı ve bölgenin doğasına renk kattığından dolayı bölge halkı için değerli bir bitkidir (İslam, 2000).

Karayemiş, Rosaceae familyasına ait gülgiller takımında bulunan *Prunus* cinsinin bir türüdür (Çizelge 1.1.).

Çizelge 1.1. *Prunus laurocerasus* L. bitkisinin sistematigi

|                  |                               |
|------------------|-------------------------------|
| <b>Alem</b>      | <i>Plantae</i>                |
| <b>Bölüm</b>     | <i>Tracheohyta</i>            |
| <b>Alt Bölüm</b> | <i>Angiospermae</i>           |
| <b>Sınıf</b>     | <i>Magnoliopsida</i>          |
| <b>Takım</b>     | <i>Rosales</i>                |
| <b>Familya</b>   | <i>Rosaceae</i>               |
| <b>Cins</b>      | <i>Prunus</i>                 |
| <b>Tür</b>       | <i>Prunus laurocerasus</i> L. |

Karayemiş, 6 metreye kadar boylanabilen çalı benzeri küçük ağaç formundadır, sıcak ılıman iklim bitkisidir ve kuvvetli kök sistemine sahiptir (İslam, 2002). Karayemiş bitkisinin çiçekleri erseliktir, bu bitkinin çiçeklerinde 5 adet beyaz renkli taç yaprak, 5 adet yeşil renkli çanak yaprak, 18-21 adet erkek organ ve bir dişi organ bulunmaktadır. Dişi organ çiçeğin merkezinde yer alır ve tüylü değildir. Yumurtalık orta durumdadır (Sülüsoğlu, 2011). Bitkinin çiçekleri polen kaynağı olarak arılar tarafından çok tercih edilirler (Cımbırtoğlu, 2014) (Şekil 1.1.).



(a)



(b)



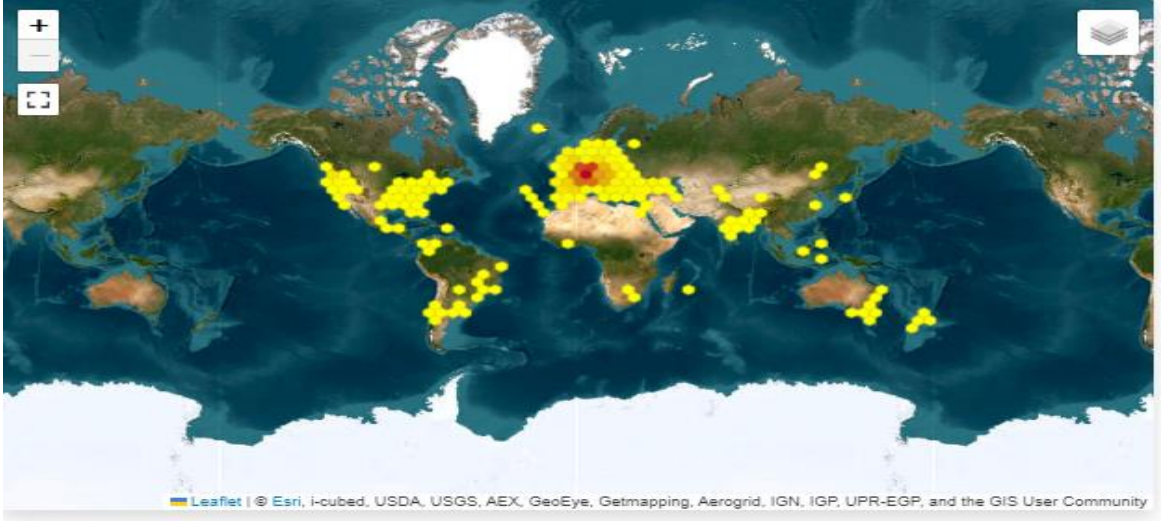
(c)



(d)

Şekil 1.1. *P. laurecerasus* L. bitkisinin çiçek ve meyve görünümü (a) Çiçek iç yapısı görünümü (b) Karayemiş çiçek görünümü (c),(d) Dalında meyve görünümü

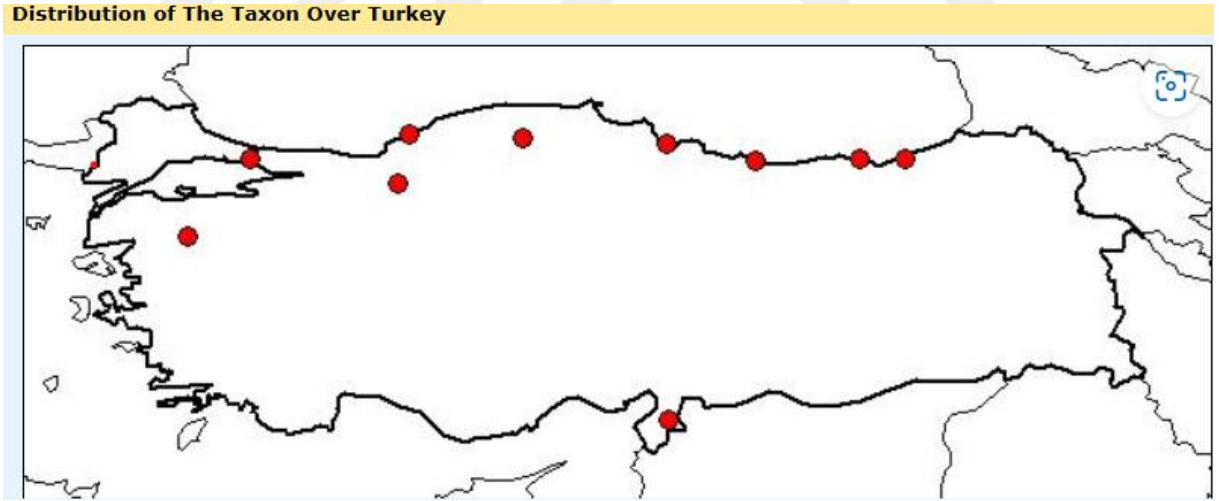
Karadeniz bölgesinde yaygın olmakla birlikte, bazı Balkan ülkelerinde, Batı Avrupa ve Batı Kafkasya, Kuzey İran, Doğu Marmara ve bazı Akdeniz ülkelerinde yetişmektedir (Vahapoğlu, Çelik ve Ayaz, 2018) (Şekil 1.2.).



Şekil 1.2. Karayemiş bitkisinin Dünya’da yayılım gösterdiği alanlar

Kaynak: <https://identify.plantnet.org/tr/the-plant-list/species/Prunus%20laurocerasus%20L./data> (Erişim Tarihi: 21.05.2023)

Türkiye’de özellikle Rize, Trabzon, Giresun, Sinop, Zonguldak ve Kastamonu gibi bölgelerde doğal olarak yetişmektedir (Demir, 2014) (Şekil 1.2.). Karayemişin Oxygemmis, Globigemmis ve Angustifolia olmak üzere Türkiye’de yetişen üç kültür formu tespit edilmiştir (Ayaz, Kadioğlu, Reunanen ve Var, 1997).



Şekil 1.3. Karayemiş bitkisinin Türkiye yayılış alanları

Kaynak: (TUBİVES,2023)

Karayemiş yıl boyunca yeşil kalabilen, farklı renk ve şekillere sahip bir ağaçtır. Laz yemişi ya da laz kirazı olarak da adlandırılan karayemiş farklı iklim koşullarında yetişmesine rağmen tüketimi yaygın olmayan bir meyveye sahiptir. Karayemiş meyvesi cinsine göre oval-uzun şekilde, renkleri kırmızı, koyu mor ve siyah olmak üzere farklılık göstermektedir (Talih, 2018).

Her dem yeşil yapraklı yapısı ile doğal olarak yetiştiği yerlerde süs bitkisi olarak öne çıkmaktadır. Dekoratif koyu yeşil renkli parlak yaprakları, kokulu çiçekleri ve meyveleri nedeniyle çoğunlukla bahçelerde canlı çit bitkisi olarak kullanılır. Hızlı gelişir, gölge etkisi yüksektir, alanı kapatarak etkin koruma sağlar (Ribeiro, Mendes ve Rodrigues, 2008).

Karayemiş ağacı Mart ve Nisan ayları arasında çiçeklenmekte, Eylül ayına kadar ise meyve vermektedir (Vahapoğlu, Çelik ve Ayaz, 2018). Meyve oluşması için bölgenin nemli, güneşli ve ılıman iklim koşullarını sağlaması gerekmektedir. İklim koşullarının sağlanmadığı durumlarda çiçek açımı erken oluşarak don olaylarından zarar gören ağaçlar meyve vermemektedir (Demir, 2014). Meyvenin kabuğu düzgün, ince ve parlaktır. Meyve eti sulu, açık pembe veya krem renklidir. Tadı cinsine ve olgunlaşmaya bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Olgunlaşmamış halde iken buruk tada sahip olup olgunlaşma tamamlanınca burukluk azalarak hafif tatlı ve aromatik bir özelliğe sahip olur (İslam, 2002).

Taze yaprakları, anti-inflamatuar ve anti-nosiseptif (doku zedelenmesinden kaynaklı ağrı) etkileri nedeniyle, boğaz ağrısı için ağrı kesici, ateş düşürücü ve tedavi edici ajan olarak kullanılabilir (Erdemoğlu, Kültür ve Yıldırım, 2003). Diğer bir çalışmada, karayemiş meyvesinin antiproliferatif (hücre büyümesini ve çoğalmasını engelleyen) etkisi üzerine yapılan incelemelerde, karayemiş meyvesinin kanser hücrelerine karşı antikanser ajan etkinliği göstermediğini bulgulamıştır. Öte yandan karayemişin kemoterapötik ajanlara karşı sitotoksitesiteyi azaltıcı doğal bir kaynak olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Aydın, Demir, Şahin ve Vahapoğlu, 2016).

Bölgesel bir ürün olduğundan ülke genelinde fazla bilinmemektedir. Bundan dolayı üretim ve tüketim hakkında net veri bulunmamaktadır. Özellikle besin değeri bakımından zengin olan karayemişin, halk arasında mide rahatsızlıkları, sindirim şikâyetleri, şeker hastalığı, bronşit ve egzama gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Gül, 2017).

Karayemiş meyvesi içerik olarak zengin bir meyvedir. Genel olarak temmuz ayında olgunlaşan meyveler yüksek su, protein ve karbonhidrat içermektedir. Ek olarak pektin, fenolik bileşikler (flavonoidler (antosiyenin), flavonoller, tanin, lignin), vitamin (A, C, D) ve mineral açısından da zengin bir bitkidir (Karahalil ve Şahin, 2011). Yapılan farklı çalışmalar sonucunda karayemiş meyvesinin içinde farklı şeker türlerinin bulunduğu sonucuna varılmıştır. Örnek olarak fruktoz, glukoz, ksiloz ve arabinoz bulunmaktadır (Alasalvar, Al-Farsi ve Shahidi, 2005) (Çizelge 1.2.).

Dondurulup kurutulmuş meyvelerinde antioksidan ve fenolik içeriği korunmakta olup gerek besleyici ürün elde etme gerekse ürünün sezon dışında değerlendirilebilmesi açısından önemli bir avantaj sağlar (Gümüşay ve Yalçın, 2019).

Çizelge 1.2. *P. laurocerasus* L. meyvesinin besin ögesi ve enerji içeriği (100 gr)

| Besin Bileşimi   | Miktar | Besin Bileşimi  | Miktar |
|------------------|--------|-----------------|--------|
| Enerji (kkal)    | 75,00  | P (mg)          | 21     |
| Su (g)           | 79,85  | Na (mg)         | 3      |
| Protein (g)      | 1,40   | Mg (mg)         | 24     |
| Yağ (g)          | 0,54   | Ca (mg)         | 45     |
| Karbonhidrat (g) | 14,72  | Zn (mg)         | 0,26   |
| Glikoz (g)       | 5,09   | C vitamin (mg)  | 2,3    |
| Fruktoz(g)       | 6,36   | A vitamin (RE)  | 2      |
| Lif(toplam)      | 2,81   | β karoten (mcg) | 19     |
| Fe(mg)           | 0,55   | Lutein (mcg)    | 29     |

Kaynak: Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı (Türkomp). Erişim yeri: [www.turkomp.gov.tr](http://www.turkomp.gov.tr) Erişim tarihi: 21.05.2024

Karayemişin besin olarak tüketiminin yanı sıra mide ülseri, bronşit, egzama, hemoroid tedavisinde ve diüretik olarak da kullanılmaktadır. Buna ek olarak yüksek antioksidan kapasitesi karayemişin kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diabetes mellitus, kronik ve nörodejeneratif hastalıkların tedavisi ve önlenmesinde etkili olabileceği belirlenmiştir (Karataş ve Uçar 2018). Halk arasındaki inanca göre, böbrek taşı düşürmeye ve idrar söktürücü özeliği ile de ödem atmaya yaradığı düşünülmektedir. Uyku düzenleyici, analjezik ve yatıştırıcı etkileri mevcuttur. Yüksek antioksidan özelliği sayesinde, oksidatif stresin neden olduğu ya da patafizyolojisinde etkili olduğu bütün hastalıklarda olduğu gibi, kalp rahatsızlıkları, Alzheimer gibi nörodejeneratif hastalıklarda koruyucu etkisi olduğuna inanılmaktadır (Yeşilada, Gürbüz, Şener ve Cömertpay, 1999; Baytop, 2001; Kolaylı, Kamiloğlu, Yildirim ve Zengin, 2003).

Bitki doku kültürü, geleneksel yöntemlerle kolayca çoğaltılamayan bitkilerin çoğaltılmasında, bitki hastalıklarına karşı somaklonal direnç oluşturulmasında, ıslah çalışmaları yapılmasında, dirençli bireylerin seçilmesinde, gen kaynaklarının korunmasında, bitkilerin hastalıklardan arındırılmasında ve sekonder metabolitler gibi biyokimyasal ürünlerin elde edilmesinde kullanılır (Rugini ve Verma, 1982; Gürel ve Gülşen, 1998). Birçok

bahçe bitkisi için önemli bir klonal çoğaltma yöntemi olan doku kültürü, çok sayıda yeni üreme materyali elde etmek, genetik materyali *in vitro* olarak korumak ve sağlıklı aşılı fidanlar üretmek amacıyla klonal temizleme işlemlerinde kullanılabilir.

## 1.1 Literatür Özeti

Bu bölümde *Prunus* türleri ve *P. laurocerasus* L. bitkisi ile ilgili literatürde yer alan mikroçoğaltım çalışmaları anlatılmaktadır.

Ponchia (1990) araştırmasında, *P. laurocerasus* cv. 'Otto Luyken' çeşidinde sürgün çoğalması ve kök oluşumu teşvik edilmeye çalışılmıştır. Çalışmada Benziladenin (BA), naftaleneasetik asit (NAA) ve gibberellik asit (GA<sub>3</sub>) gibi büyüme düzenleyicileri kullanılmıştır. GA<sub>3</sub> sürgün uzamasını teşvik ederken, NAA'nın indol-3-bütirik asitten (IBA) daha iyi bir kök teşvik edici faktör olduğu belirlenmiştir.

Ribeiro vd. (2008) farklı IBA konsantrasyonlarının karayemiş (*P. laurocerasus*) yayılımı üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir. IBA, köklenme oranını, kök sayısını ve kök uzunluğunu önemli ölçüde artırmıştır. En yüksek kök sayısı 7.500 ppm IBA ile, en uzun kök ise 1.000 ppm IBA ile gözlemlenmiştir.

Ying-Ning (2010) tarafından yapılan araştırma, Çin eriği (*Prunus salicina* Lindl. cv. 'Gulf-ruby') için etkili bir *in vitro* kültür sistemi geliştirmiştir. En başarılı sürgün çoğalması ve köklenme belirli büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonları ile elde edilmiştir.

Hosseini vd. (2011) , *Prunus mahaleb* kiraz anacının mikroçoğaltımını araştırmıştır. Çalışmada BAP, GA<sub>3</sub>, IBA, NAA gibi büyüme düzenleyicilerinin kombinasyonları kullanılmıştır. En iyi sürgün çoğaltımı 2 mg/l BAP içeren MS ortamında, en iyi kök gelişimi ise 1,5 mg/l IBA ve 0,5 mg/l NAA içeren MS ortamında gerçekleşmiştir.

Sisko (2011), Gisela 5 anacının *in vitro* çoğaltılmasıyla ilgili çalışmasında eksplantların sterilizasyonunda dikloroizosiyanürik asit ve sodyum hipoklorit kullanmıştır. Çoğaltma ortamı olarak MS ve WPM kullanılmış ve WPM ortamında çoğaltmanın daha yüksek olduğu bulunmuştur. En iyi köklenme 0,5 mg/l IBA uygulamasından elde edilirken, en düşük köklenme 1 mg/l NAA uygulamasında gözlemlenmiştir.

Sülüoğlu ve Çavuşoğlu (2013) , *P. laurocerasus* L.'nin *in vitro* mikroçoğaltım protokolünü geliştirmişlerdir. En yüksek sürgün sayısı 2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA

kombinasyonundan elde edilmiştir. Köklenme için en iyi sonuç 0,5 mg/l IBA içeren MS ortamından elde edilmiştir.

Doriç vd. (2014), *Prunus sp.* anaçlarının mikroçoğaltım kapasitesini belirlemişlerdir. Enfeksiyon oranının %100 olduğu ve köklenme ortamına Fe-EDDHA ilave edilmesinin köklenme oranını önemli derecede artırdığı bulunmuştur. En yüksek köklenme oranı Gisela 6 anacı ve D6 genotipinde 1 mg/l IBA dozunda iken, diğer genotiplerde farklı IBA konsantrasyonları gerekli bulunmuştur.

Sarropoulou vd. (2014), IBA ve L-argininin morfolojik ve biyokimyasal etkilerini araştırmışlardır. En iyi köklenme oranı (%100) 2 mg/l IBA ve 1 mg/l L-arginin kombinasyonundan elde edilmiştir. L-arginin ve IBA'nın her iki anaçta kök sayısına ve kök uzunluğuna pozitif etkisi olduğu belirlenmiştir.

Aydın vd. (2015) , Gisela 5, Gisela 6 ve SL 64 kiraz anaçlarının doku kültürü yoluyla çoğaltma olanaklarını araştırmışlardır. En yüksek sürgün sayısı WPM ortamında elde edilmiştir. IBA dozunun artmasıyla köklenmenin arttığı tespit edilmiştir.

Doriç vd. (2015), Oblacinska vişne anacının mikroçoğaltımını incelemişlerdir. En düşük enfeksiyon oranı kasım ve aralık aylarında elde edilmiştir. En yüksek köklenme oranı ½ MS, 1 mg/l IBA kombinasyonunda gerçekleşmiştir.

Fallahpour vd. (2015), Gisela 5 kiraz anacının mikroçoğaltımında en iyi besi ortamı ve bitki büyüme düzenleyicilerini belirlemişlerdir. En yüksek köklenme oranı 2 mg/l IBA içeren WPM ortamından elde edilmiştir.

Hosseinpour vd. (2015), MxM 60 kiraz anacının mikroçoğaltımı üzerine çalışmışlardır. En fazla sürgün sayısı 0,7 mg/l BAP içeren DKW ortamından elde edilmiştir. En yüksek köklenme oranı 1 mg/l IBA içeren ½ MS ortamından elde edilmiştir.

Shabani vd. (2015), Myrobalan 29C anacının mikroçoğaltımı için en uygun ortam ve bitki büyümeyi düzenleyicilerini belirlemişlerdir. En yüksek köklenme oranı DKW ortamında 1 mg/l NAA ile elde edilmiştir.

Kassaye ve Bekele (2015), *P. salicina* L. var. Methley'in *in vitro* klonal çoğaltılmasına yönelik protokolü optimize etmişlerdir. En yüksek sürgün indüksiyon tepkisi 0.5 mg/l BAP ve 0.1 mg/l IBA ile desteklenmiş MS ortamında gözlemlenmiştir.

Cuc ve Petruş-Vancea (2016), *Prunus laurocerasus* Novita'nın *in vitro* kültürlerini oluşturmayı ve aktif kömür kullanarak kök oluşumunu artırmayı amaçlamışlardır. Ancak, kültür ortamında beklenmeyen bir pH artışı nedeniyle kültür kaybı yaşanmıştır.

Aydın vd. (2017), Gisela 6 ve SL 64 kiraz anaçlarının *in vitro* koşullarda çoğaltılabilme performanslarını araştırmışlardır. En fazla sürgün sayısı Gisela 6 anacında 0.1 mg/l GA<sub>3</sub> + 0,1 mg/l IBA + 0,5 mg/l BAP içeren ortamdan elde edilmiştir.

Sedlak ve Paprstein (2017), Amid ve Kares Frühe kiraz çeşitlerinin sürgün oluşturma ve köklenmesini etkileyen faktörleri incelemişlerdir. En yüksek sürgün çoğalması 4 mg/l BAP uygulaması ile elde edilmiştir.

Sharma vd. (2017), Gisela 5 kiraz anacının *in vitro* çoğaltımında etkili ve güvenilir bir protokol oluşturmayı amaçlamışlardır. En yüksek köklenme oranı 0,5 mg/l IBA içeren MS ortamında elde edilmiştir.

Tanrıverdi vd. (2017), Gisela 5 kiraz anacının doku kültürü yöntemi ile çoğaltılabilirliğini belirlemeyi amaçlamışlardır. En fazla sürgün sayısı 1 mg/l IBA + 0,75 mg/l BAP kombinasyonundan elde edilmiştir.

Zainel ve Hepaksoy (2018), Pontaleb tohum anacının vejetatif olarak doku kültüründe çoğaltılabilme olanağını araştırmışlardır. En başarılı sonuçlar 2 mg/l BAP + 0,1 mg/l NAA + 0,5 mg/l GA<sub>3</sub> içeren MS besi ortamından elde edilmiştir.

Hoşyar vd. (2018) , GF677 (*Prunus amygdalus x Prunus persica*) meyve anaçlarının *in vitro* mikroçoğaltımı üzerine araştırma yapmışlardır. Çalışmada, MS ortamında 0,5 mg/l BAP ve 0,2 mg/l IBA kombinasyonunun en yüksek sürgün çoğalmasını teşvik ettiği belirlenmiştir.

Nguyen Thi Thuy Linh vd. (2018) , Japon kirazı (*Prunus sp.*) için Hanoi'deki iklim adaptasyonu araştırmaları kapsamında *in vitro* çoğaltım prosedürü geliştirmiştir. Tek boğumlu gövdeler kullanılarak başlangıçta 1 mg/l BA ile takviye edilmiş MS ortamında sürgünler üretilmiştir. En yüksek sürgün verimi, 1 mg/l BA ve 0,25 mg/l NAA içeren ortamda elde edilmiştir. Köklendirme için ise 4 mg/l IBA içeren 1/2 MSM ortamı kullanılarak bitki başına ortalama 10.10 kök elde edilmiştir.

Shaban vd. (2018) , Arish Üniversitesi'nde şeftali (*Prunus persica* L.) bitkisinin mikro çoğaltılması üzerine çalışmışlardır. Dügümler ve sürgün uçları, 100 mg/l myo-inositol ve %30 sukroz ile zenginleştirilmiş MS, NN, WPM ve B5 ortamlarında kültüre alınmıştır. En iyi sürgün oluşumu, 1 mg/l BA ve 0,05 mg/l NAA içeren MS ortamında gözlemlenmiştir. En yüksek sürgün uzaması 1 mg/l GA<sub>3</sub> ile, en yüksek köklenme ise 2 mg/l IBA içeren güçlü MS ortamında sağlanmıştır. Köklü sürgünler, turba yosunu, vermikülit ve kum karışımı içinde sertleştirilmiş ve %93 hayatta kalma oranıyla başarılı bir şekilde iklime alıştırmıştır.

Güney M. (2019) bahçecilikte uygun anaçların mikro çoğaltılması için Myrobalan 29C (*Prunus cerasifera* Ehrh.) anacının sürgün ucu kültürünü kullanarak mikro çoğaltım protokolünü geliştirmiştir. En yüksek çoklu sürgün sayısı, 2 mg/l BAP ve 0,05 mg/l GA<sub>3</sub> içeren MS ortamında elde edilmiştir. Sürgün uzunluğu, GA<sub>3</sub>'ün MS ortamından çıkarılması ve BAP konsantrasyonunun düşürülmesiyle artmıştır. Kök indüksiyonu için ise 0,5 mg/l IBA, 0,5 mg/l NAA ve 10 ml/l etilendiamin di içeren 1/2 MS ortamı en iyi sonucu vermiştir. En uzun kök (12,5 cm), IBA'nın 1 mg/l konsantrasyonunda elde edilmiştir.

Khorshidi (2021) , Myrobalan 29C'nin (*Prunus cerasifera* Ehrh.) mikro çoğaltımında büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının etkisini araştırmıştır. Çalışma, 14 deney grubunda (G1-G14) tamamen tesadüfi bloklar tasarımında gerçekleştirilmiştir. Sürgün oluşumu ve uzunluğu için farklı BAP, GA<sub>3</sub> ve NAA konsantrasyonları test edilmiştir. En iyi sürgün oluşumu, 1 mg/l BAP, 0,1 mg/l NAA ve 0,2 mg/l GA<sub>3</sub> içeren ortamda gözlenmiştir. Köklenme için en uygun koşullar ise 1/2 MS ortamında 0,5 mg/l IBA ve 0,25 mg/l NAA konsantrasyonlarıyla elde edilmiştir.

## 1.2 Çalışmanın Amacı ve Kapsamı

Bu tez çalışmasının genel amacı, Karayemiş (*P. laurocerasus* L.) bitkisinin doku kültürü ile *in vitro* çoğaltım yöntemini optimize ederek hastaliksız ve sağlıklı fidan elde edilemesi için bir protokol oluşturmaktır. Bu amaç doğrultusunda, farklı besi yerleri ve bitki büyüme düzenleyicilerin karayemiş bitkisinden alınan eksplantların *in vitro* çoğaltımı üzerindeki etkilerini inceleyerek en iyi sonuçların belirlenme denemeleri yapılacaktır ve bu çalışmaların sonucunda elde edilen verilere göre bitkinin çoğaltımında yaygın olarak kullanılan geleneksel yöntemlere bir alternatif oluşturulması hedeflenmektedir.

Bu çalışmanın, bitki üretimi, tarım ve biyoteknoloji alanlarında pratik uygulamalara ve bilimsel araştırmalara önemli katkılar sağlaması beklenmektedir. Ayrıca, karayemiş bitkisinin

*in vitro* çoğaltımı ile elde edilen verimlilik artışı sayesinde, karbon emisyonlarını azaltma potansiyeli göz önünde bulundurularak, bu bitkinin gelecekte değerli bir bitki olarak çalışmalarda önemli bir rol oynaması öngörülmektedir.



## 2. MATERYAL YÖNTEM

### 2.1 Materyal

#### 2.1.1 Bitki Materyali

Bu tez çalışmasında kullanılan başlangıç bitki materyali Kırklareli ili Lüleburgaz ilçesinde bulunan peyzaj amaçlı dikilen ağaçlardan temin edilmiş olup tez çalışması Biotek Biyoteknoloji Tarım'ın Lüleburgaz Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. Karayemiş bitkilerinin yetiştirme ortamlarındaki görünümü

## 2.1.2 Besin Ortamı ve *In vitro* Kültür Koşulları

Yapılan çalışmada besin ortamı olarak MS (Murashige ve Skoog, 1962) temel besin ortamı (Çizelge 2.1.) kullanılmıştır. Besin ortamlarının pH'sı 1 N NaOH ya da HCl kullanılarak 5.6-5.8'e ayarlandıktan sonra karbon kaynağı olarak 30 g/l sükroz, katılaştırıcı olarak 6,5 g/l bitki agarı kullanılmıştır. Denemelerde kullanılacak olan bitki büyüme düzenleyicileri (BAP, GA<sub>3</sub>, NAA, IBA) uygun çözücülerde çözdürülmüş ve saf su ilavesi ile stokları hazırlanıp deneme ortamlarına ilave edilmiştir. Hazırlanan deneme ortamları tüplere aktarılıp üzerleri pamuk ile kapatılmıştır.

Hazırlıkları tamamlanan besin ortamları 121°C, 1.2 kg/ cm<sup>2</sup> (MİR-MED) basınç altında 20 dk süreyle steril edilmiştir (Şekil 2.2). Kültüre alınan bitkilerin hepsi 24±2°C sıcaklık ve yaklaşık 120±10 µmol/m<sup>2</sup> s ışık şiddetine ayarlı iklim odasında 16 saat aydınlık 8 saat karanlık fotoperiyot ile kırmızı beyaz led ışık altında kültüre alınmıştır. Sonraki aşamada sağlıklı sürgünler çoğalma aşaması için hazırlanan besin ortamlarına aktararak çoğaltımı gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 2.1. Çalışmada kullanılan besin ortamının içerikleri

| <b>Makro Elementler</b>                             | <b>MS (mg/l)</b> |
|---|------------------|
| CaCl <sub>2</sub>                                   | 332,02           |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 170,00           |
| KNO <sub>3</sub>                                    | 1900,00          |
| MgSO <sub>4</sub>                                   | 180,54           |
| NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>                     | 1650,00          |
| NH <sub>4</sub> 2SO <sub>4</sub>                    | -                |
| <b>Mikro Elementler</b>                             | <b>MS (mg/l)</b> |
| CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                | 0,025            |
| CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O                | 0,025            |
| FeNaEDTA  | 36,70            |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>                      | 6,20             |
| KI  | 0,83             |
| MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O                 | 16,90            |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | 0,25             |
| ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | 8,60             |
| <b>Vitaminler</b>                                   | <b>MS (mg/l)</b> |
| Glisin  | 2,00             |
| Myo-Inositol  | 100              |
| Nikotinik asit                                      | 0,50             |
| Pyridoksine HCl                                     | 0,50             |
| Tiamin HCl  | 0,10             |



Şekil 2.2. Otoklavda steril edilmiş bitki besin ortamları

## 2.2 Yöntem

### 2.2.1 Eksplant Alımı ve Yüzey Sterilizasyonu

Bu çalışmada kullanılan bitkisel materyale ait sürgün uçları Ekim ayında bitkinin bulunduğu koşullardan temin edilmiştir. İlk yapılan sterilizasyon denemelerinde başarı sağlanamamış Aralık ayında tekrar eksplant alınarak deneme kurulmuştur. İkinci deneme de başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Bitki budaması yapılarak yeni sürgün oluşumu beklenmiştir. Mart ayında taze sürgünlerle deneme yeniden oluşturulmuş ve tez çalışmasına başlanmıştır. Karayemiş sürgün uçları kültüre alınmadan önce yaprakları kesilerek yüzey sterilizasyonları gerçekleştirilmiştir. Laboratuvara getirilen sürgün uçları öncelikle çeşme suyu altında 5 dk ticari deterjan ile fırça yardımıyla yumuşak bir şekilde yüzeyi temizlenmiştir. Ardından içine birkaç damla çamaşır suyu ve iki damla Tween 20 eklenerek akan çeşme altında 1 saat ön sterilizasyonu tamamlanmıştır. Sterilizasyon çalışması iki farklı kimyasal ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.3.).

Birinci denemede eksplantlar steril kabin içerisinde manyetik çalkalayıcı ile %70'lik etil alkolde 3 dk bekletilmiştir. Daha sonra %25 oranında seyreltilmiş ticari çamaşır suyu (NaOCl) çözeltisinde manyetik karıştırıcıda 8 dk ve 12 dk olmak üzere iki farklı süre boyunca ayrı ayrı steril edilmiştir. Son olarak 3 defa 5'er dk süre ile otoklavlanmış distile sudan geçirilerek çamaşır suyundan arındırılmıştır (Daneshvar, 2019). Aynı işlemler %35 oranında seyreltilmiş ticari çamaşır suyu çözeltisinde de tekrarlanmıştır.

İkinci denemede eksplantlar steril kabin içerisinde manyetik çalkalayıcı ile %70'lik etil alkolde 3 dk bekletilmiştir. Daha sonra % 0,1 mg/l HgCl<sub>2</sub> civa klorür ile de aynı sırayla 8 dk ve 12 dk olmak üzere iki farklı süre boyunca ayrı ayrı steril edilmiş ve son olarak 3 defa 5 er dk süre ile otoklavlanmış distile sudan geçirilerek civa klorürden arındırılmıştır (Daneshvar, 2019).

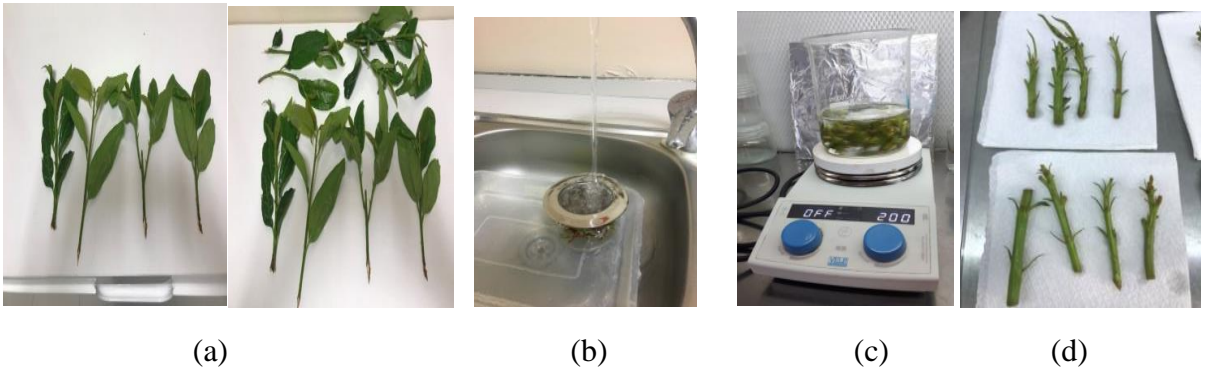
Steril edilen sürgün uçları steril kurutma kâğıdı üzerinde nemi alındıktan sonra üst ve alt kısımları bistüri yardımıyla kesilerek yaklaşık 1-1,5 cm uzunluğunda hazırlanan eksplantlar sürgün oluşumunu geliştirmek için bitki giriş ortamlarına dikilmiştir.

Çizelge 2.2. Sterilizasyon uygulamaları

| Deneme 1 | Kullanılan Kimyasal % |       | Süre  |
|----------|-----------------------|-------|-------|
| S1       | %25                   | NaOCl | 8 dk  |
| S2       | %35                   | NaOCl | 8 dk  |
| S3       | %25                   | NaOCl | 12 dk |
| S4       | %35                   | NaOCl | 12 dk |

| Deneme 2 | Kullanılan Kimyasal % |                   | Süre  |
|----------|-----------------------|-------------------|-------|
| S5       | %0,1                  | HgCl <sub>2</sub> | 8 dk  |
| S6       | %0,1                  | HgCl <sub>2</sub> | 12 dk |



Şekil 2.3. Bitki sterilizasyon hazırlığı ve yüzey sterilizasyonu (a) Bitki eksplantları (b) Akan musluk altında sterilizasyon (c) Manyetik çalkalayıcıda sterilizasyon (d) Ön sterilizasyonu yapılmış eksplantlar

### 2.2.2 Eksplantların Farklı Besin Ortamlarına Aktarılması

Sterilizasyonu tamamlanmış eksplantlar, apikal ve lateral tomurcukları uyandırmak ve sürgünler geliştirmek için bitki büyüme düzenleyicileri (BAP, GA<sub>3</sub>, IBA ve NAA kombinasyonları) içeren MS besin ortamlarına transfer edildi. Kontrol besin ortamı olarak bitki büyüme düzenleyici içermeyen ortam hazırlanmıştır. Diğer besin ortamlarının dozu 0.1-2 mg/l olarak değişen oranlarda ilave edilerek hazırlanmıştır. Üç tekerrürlü hazırlanan çalışmada en iyi sürgün gelişimi sağlayan ortam belirlenmeye çalışılmıştır.

Çizelge 2.3. Karayemiş bitkilerinin sürgün oluşumu çalışmalarında kullanılan bitki büyüme düzenleyicileri ve ortam kombinasyonları

| MS Uygulama Ortamları | BAP (mg/l) | GA <sub>3</sub> (mg/l) | NAA (mg/l) | IBA (mg/l) |
|-----------------------|------------|------------------------|------------|------------|
| P1 (kontrol)          | -          | -                      | -          | -          |
| P2                    | 0,5        | 0,5                    | 0,1        | -          |
| P3                    | 1,0        | 0,5                    | 0,1        | -          |
| P4                    | 1,5        | 0,5                    | 0,1        | -          |
| P5                    | 2,0        | 0,5                    | 0,1        | -          |
| P6                    | 0,5        | 0,5                    | -          | 0,1        |
| P7                    | 1,0        | 0,5                    | -          | 0,1        |
| P8                    | 1,5        | 0,5                    | -          | 0,1        |
| P9                    | 2,0        | 0,5                    | -          | 0,1        |

### 2.2.3 Sürgünlerin Köklendirilmesi

Farklı besin ortamlarında gelişen sürgünler, kontrol ortamı olarak bitki büyüme düzenleyicisi ile Fe-EDDHA içermeyen ortam ve 0,15g/l Fe-EDDHA içeren 0.5-2 mg/l IBA içeren farklı besin ortamlarına aktarılarak köklendirme çalışması yapılmıştır (Çizelge 2.4.).

Çizelge 2.4. Köklendirme ortamında kullanılan oksin ve konsantrasyonları

| Uygulamalar        | Ortam | Fe-EDDTA<br>(g/l) | IBA<br>(mg/l) | GA <sub>3</sub><br>(mg/l) |
|--------------------|-------|-------------------|---------------|---------------------------|
| <b>K1(Kontrol)</b> | MS    | 0,0               | 0,0           | 0,0                       |
| <b>K2</b>          | MS    | 0,15              | 0,5           | 0,5                       |
| <b>K3</b>          | MS    | 0,15              | 1,0           | 0,5                       |
| <b>K4</b>          | MS    | 0,15              | 1,5           | 0,5                       |
| <b>K5</b>          | MS    | 0,15              | 2,0           | 0,5                       |

#### 2.2.4 Dış Koşullara Alıştırma (Aklimatizasyon)

Temiz su ile yıkanan bitkiler besin ortamlarından arındırılmıştır. Sonrasında 1:1 oranında torf perlit karışımı toprak eklenen karton bardaklara bitkilerin dikimi gerçekleştirilmiştir. Nem kaybını önlemek için bitkiler streç film ile kapatılıp 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olarak ayarlanmış bitki büyüme odalarına yerleştirilmiştir. Streç film üzerine üç hafta boyunca aşamalı olarak delikler açılarak bitkinin dış ortama alıştırılması sağlanmıştır. Üç haftanın sonunda bitkiler sera koşullarında büyük saksılara aktarılmıştır.

#### 2.2.5 İstatistiksel Değerlendirme

Üç tekerrürlü olarak uygulanan denemelerden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri SPSS ver. 22 istatistik programının One-Way Anova post hoc. testlerinden Duncan testi ile yapılmıştır (Snedecor ve Cochran, 1967).

### 3. BULGULAR

#### 3.1 Yüzey Sterilizasyonu Bulguları

Karayemiş bitkisinin dalları bulunduğu yetiştirme ortamından alınarak laboratuvar koşullarına getirilmiştir. Sürgün uçları kültüre alınmadan önce yaprakları kesilerek yüzey sterilizasyona tabi tutulmuştur. Eksplantlar öncelikle çeşme suyu altında 5 dk ticari deterjan ile fırça yardımıyla yumuşak bir şekilde yüzeyi temizlenmiştir. Ardından içine birkaç damla çamaşır suyu ve bir iki damla Tween 20 eklenerek akan çeşme altında 1 saat ön sterilizasyonu tamamlanmıştır. Daha sonra steril kabin içerisinde manyetik çalkalayıcı ile %70'lik etil alkolde 3 dk bekletilmiştir.

Birinci sterilizasyon denemesinde eksplantlar %25 ve %35 oranlarında iki ayrı seyreltilmiş ticari çamaşır suyu çözeltisinde manyetik karıştırıcıda 8 ve 12 dk olmak üzere iki farklı süre boyunca steril edilmiştir (Çizelge 2.2.). Son olarak 3 defa 5'er dk süre ile otoklavlanmış distile sudan geçirilerek çamaşır suyundan arındırılmıştır.

İkinci sterilizasyon denemesinde aynı işlem %0,1 mg/l HgCl<sub>2</sub> cıva klorür ile de aynı sırayla 8 ve 12 dk olmak üzere iki farklı süre boyunca steril edilmiş ve son olarak 3 defa 5'er dk süre ile otoklavlanmış distile sudan geçirilerek cıva klorürden arındırılmıştır. Steril edilen sürgün uçları steril kurutma kağıdı üzerinde nemi alındıktan sonra üst ve alt kısımları bistüri yardımıyla kesilerek yaklaşık 1-1,5 cm uzunluğunda hazırlanan eksplantlar sürgün oluşumunu geliştirmek için bitki giriş ortamlarına dikilmiştir.

Steril edilen eksplantlar MS 0 içeren farklı besin ortamlarına 3 tekerrürlü ve her tüpte 1 eksplant olacak şekilde toplam 108 adet tüpe aktarılmıştır. Yüzey sterilizasyonu bulguları 7-14 gün süre aralığında kontaminasyon durumları takip edilerek elde edilmiştir. Çizelge 3.1'e göre elde edilen bulgular (Şekil 3.1). %25 ticari çamaşır suyu içeren sterilizasyon çalışmasında 8 dk süre ile yapılan denemede %83,33 ve 12 dk süre ile yapılan denemede ise %66,66 kontaminasyon oluşmuştur. %35 ticari çamaşır suyu içeren denemede 8dk süre ile yapılan denemede %75 ve 12 dk süre ile yapılan denemede ise %41,66 oranında kontaminasyon görülmüştür (Çizelge 3.1.). % 0,1 mg/l HgCl<sub>2</sub> içeren sterilizasyon çalışmasında 8 dk süre ile yapılan denemede kontaminasyon görülmemiştir. Fakat 12 dk HgCl<sub>2</sub> içeren sterilizasyon çalışmasında kontaminasyon görülmemesine rağmen %50 oranında eksplantlarda karar ve gelişememe gözlemlenmiştir. % 0,1 mg/l HgCl<sub>2</sub> içeren sterilizasyon çalışmasında 8 dk süre ile yapılan deneme en başarılı sonucu vermiştir.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Şekil 3.1. Kontamine ve kararan eksplantlar (a),(b) Kontamine olan eksplantlar (c) Kararan eksplantlar (d) Gelişmeyen eksplantlar (e) Alt kültürde kontamine olan eksplantlar (f) Ortam ve çalışma şekli kaynaklı kontamine olan eksplantlar

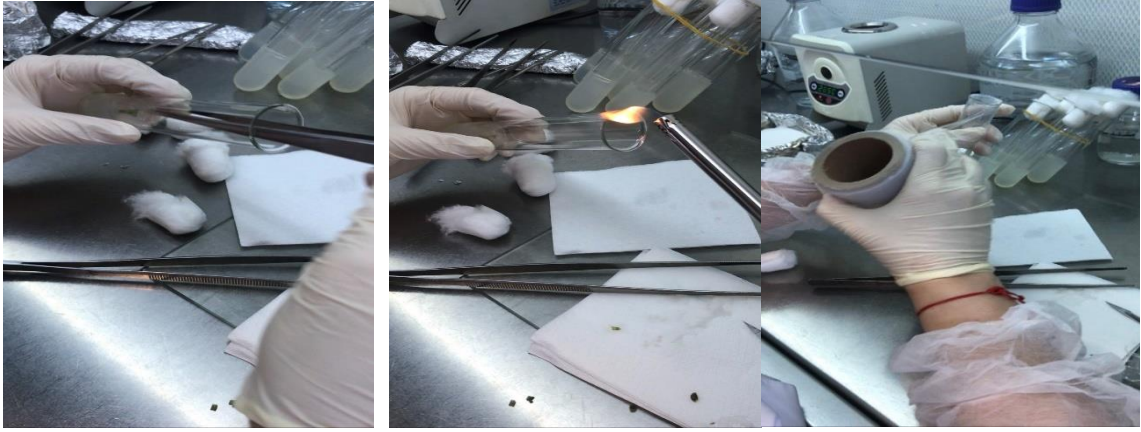
Çizelge 3.1. Sterilizasyon uygulamaları sonuçları

| Uygulama |       |                        | Kontamine eksplant sayısı** | Gelişen bitki sayısı | Gelişmeyen bitki sayısı** |
|----------|-------|------------------------|-----------------------------|----------------------|---------------------------|
| S1       | 8 dk  | %25 NaOH               | 10.00±1.15cd                | 0.00±0.00c           | 2.00±1.15ab               |
| S2       | 8 dk  | %35 NaOH               | 10.00±0.88cd                | 0.00±0.00c           | 1.66±0.88a                |
| S3       | 12 dk | %25 NaOH               | 8.00±0.57c                  | 0.00±0.00c           | 4.00±0.57cb               |
| S4       | 12 dk | %35 NaOH               | 5.00±1.45b                  | 6.66±1.45b           | 5.33±1.45c                |
| S5       | 8 dk  | %0,1 HgCl <sub>2</sub> | <b>0.00±0.00a</b>           | <b>12.00±0.0a</b>    | <b>0.00±0.00 a</b>        |
| S6       | 12 dk | %0,1 HgCl <sub>2</sub> | 0.00±0.00a                  | 6.00±0.57            | 6.00±0.57 c               |

### 3.2 Mikroçoğaltım Bulguları

Steril edilen eksplantların mikroçoğaltım aşamalarında temel besin ortamı MS kullanılmıştır. Sürgünlerin mikroçoğaltımı için besin ortamlarına %3 sukroz ve 6,5 g/l agar eklenmiştir. Hazırlanan besin ortamlarının pH'ı 5.6-5.8'e ayarlandıktan sonra otoklav ile 121°C, 1,2 kg/cm<sup>2</sup> (MİR-MED) basınç altında 20 dk süreyle steril edilmiştir.

Hazırlanan besin ortamlarına (Çizelge 2.3.) bitki büyüme düzenleyicileri eklenerek dokuz farklı besin ortamı hazırlanmıştır. Besin ortamlarına üç tekerrürlü kavanoz başına üç eksplant aktararak kültüre alınmıştır. MS temel besin ortamına alınan eksplantlarda eksplant başına gelişen sürgünler, sürgün oluşum oranı ve sürgün uzunluğu ortalaması olarak sonuçlar değerlendirilmiştir.



(a)

(b)

(c)



(d)

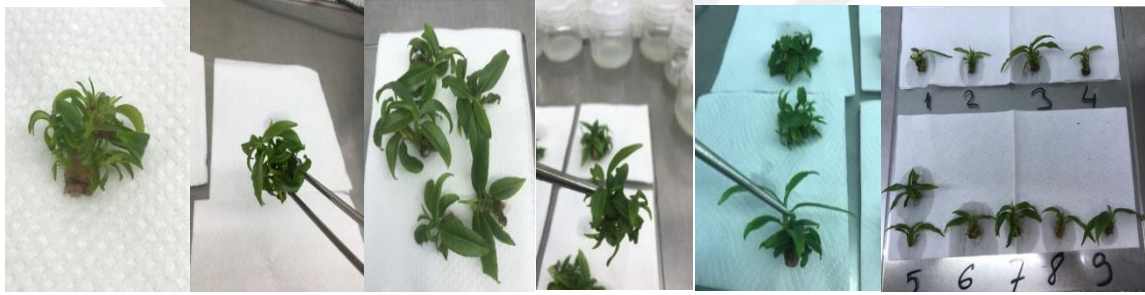
Şekil 3.2. Steril edilen eksplantların besin ortamlarına aktarımı (a)Eksplantın tüpe aktarımı (b)Tüpün ağız kısmının çakmak ile yakılması (c)Tüplerin streç film ile kapatılması (d)Tüplere aktarılmış eksplantların görünümü

### 3.2.1 Eksplant Başına Sürgün Sayısı Ortalaması

Duncan testi sonuçlarına göre eksplant başına sürgün oluşum sayısı MS temel besin ortamlarında 1,00 ile 9.70 arasında değişmiştir (Çizelge 3.2.). Eksplant başına en az sürgün oluşumu P1 (KONTROL) besin ortamında gözlemlenmiştir. Eksplant başına en yüksek sürgün oluşumu ise P7 (1,0 BAP+0,1 IBA+0,5 GA<sub>3</sub>) besin ortamında gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.2. Sürgün oluşumu ve sürgün uzunluğu uygulamaları sonuçları

| No        | Ortam                                  | Eksplant başına sürgün sayısı | Sürgün uzunluğu   |
|-----------|--|-------------------------------|-------------------|
| P1        | OMS                                    | 1.00±0.00c                    | 4.83±0.44a        |
| P2        | 0,5 BAP+0,1NAA+0,5 GA <sub>3</sub>     | 7.00±1.15b                    | 2.33±0.16c        |
| <b>P3</b> | <b>1 BAP+0,1NAA+0,5 GA<sub>3</sub></b> | <b>9.00±0.57a</b>             | <b>4.33±0.16b</b> |
| P4        | 1,5 BAP+0,1NAA+0,5 GA <sub>3</sub>     | 5.60±0.33b                    | 5.50±0.28a        |
| P5        | 2 BAP+0,1NAA+0,5 GA <sub>3</sub>       | 6.33±0.33b                    | 4.33±0.16b        |
| P6        | 0,5 BAP+0,1IBA+0,5 GA <sub>3</sub>     | 5.66±0.88b                    | 5.00±0.00         |
| <b>P7</b> | <b>1 BAP+0,1IBA+0,5 GA<sub>3</sub></b> | <b>9.70±0.33a</b>             | <b>4.43±0.00</b>  |
| P8        | 1,5 BAP+0,1IBA+0,5 GA <sub>3</sub>     | 5.00±0.57b                    | 5.00±0.57         |
| P9        | 2 BAP+0,1IBA+0,5 GA <sub>3</sub>       | 6.00±0.00b                    | 4.16±0.33         |



(a)

(b)

(c)



(d)

(e)

Şekil 3.3. Eksplant başına sürgün sayısı alınan eksplantların görünümü (a) Eksplant başına oluşan sürgünlerin görünümü (b),(c)En yüksek sürgün ortamı (d), (e) En düşük sürgün ortamları

### 3.2.2 Sürgün Uzunluğu Ortalaması

Sürgün uzunluğu ortalaması MS temel besin ortamlarında 2,0 cm ile 5,5cm arasında değişim göstermektedir (Çizelge 3.2). En yüksek sürgün uzunluğu ortalaması P7 besin ortamında görülürken, en düşük sürgün uzunluğu ortalaması P2 besin ortamında görülmüştür.

### 3.3 Köklendirme

Sürgün köklendirmesi aşamasında oksin grubunda olan IBA'nın 0,5-2 mg/l arasında farklı oranları kullanılmıştır. İlave olarak besin ortamına köklendirmeyi teşvik etmesi için Fe-EDDHA eklenmiştir ve sukroz oranı 20 gr a düşürülmüştür. Elde edilen verilere göre tüm eksplantların 30 günün sonunda köklendiği görülmüştür (Şekil 3.4 ). En yüksek kök uzunluğu ortalaması MS+ 2,0 mg/l IBA+0,5 mg/l GA<sub>3</sub> ve 0,15 g/l Fe-EDDTA içeren besin ortamında elde edilmiştir (Çizelge 3.3.). En düşük kök uzunluğu ise bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besin ortamında elde edilmiştir. Kök sayısı ortalaması incelendiğinde ise en yüksek kök sayısının MS ve 2,0 mg/l IBA ve içeren besin ortamında olduğu görülmüştür. En düşük kök sayısı ortalamasına ise hormon içermeyen MS bitki besin ortamında görülmüştür (Çizelge 3.3.).

Çizelge 3.3. Kök uygulamaları sonuçları

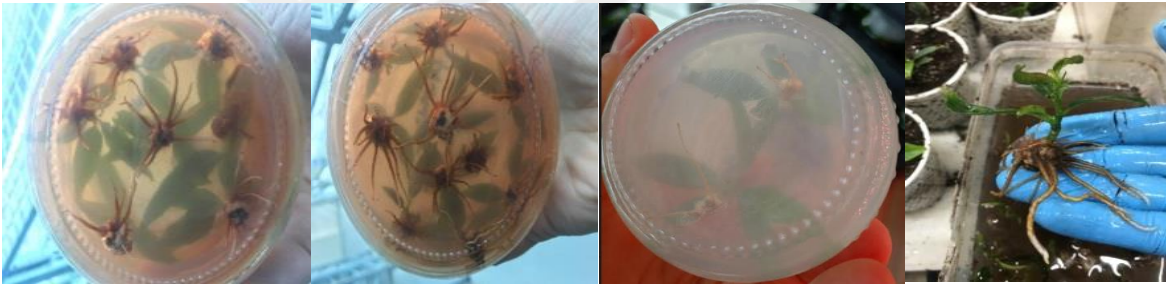
| No | Uygulama Ortamları   | Kök Oluşum Oranı % | Köklenen sürgün sayısı | Kök Uzunluğu (cm) | Kök sayısı  |
|----|--|--------------------|------------------------|-------------------|-------------|
| K1 | MS KONTROL   | 100                | 6                      | 2.50±0.28 f       | 2.00±0.58d  |
| K2 | MS+0,5mg/l IBA + 0,5 mg/l GA <sub>3</sub> + 0,15 gr/l Fe-EDDHA | 100                | 6                      | 7.00±0.29 d       | 6.00±1.15c  |
| K3 | MS+1 mg/l IBA +0,5 mg/l GA <sub>3</sub> + 0,15 gr/l Fe-EDDHA   | 100                | 6                      | 10.16±0,44 c      | 8.33±1.20bc |
| K4 | MS+1,5 mg/l IBA+0,5 mg/l GA <sub>3</sub> + 0,15 gr/l Fe-EDDHA  | 100                | 6                      | 12.50±0.29 b      | 9.70±0.88ab |
| K5 | MS+2 mg/l IBA +0,5 mg/l GA <sub>3</sub> + 0,15 gr/l Fe-EDDHA   | 100                | 6                      | 15.50±0.29 a      | 12.33±0.88a |



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.4. Köklenme ortamlarında köklenen bitkiler (a) Köklenen bitkilerin kök ve boy uzunluğu ölçümü (b) Köklenen bitkilerin kök görünümü (c) Köklenen bitkilerin kavanozdaki görünümü

### 3.4 Köklenen Sürgünlerin Dış Koşullara Ağıştırılması (Aklimatizasyon)

Köklenen karayemişler bitkiye ve köklerine zarar vermeyecek şekilde temiz su ile besin ortamından arındırılana kadar yıkanmıştır. Yıkanan bitkiler önceden otoklavda 121°C, 1,2 kg/cm<sup>2</sup> basınçta 20 dk steril edilip ve nemlendirilen torflarla doldurulan bardaklara dikilmiştir. Bitkiler sprey ile nemlendirilip sulaması yapıldıktan sonra üzeri hava almayacak şekilde streçlenip bitki büyüme odasına yerleştirilmiştir (Şekil 3.5 ). İlk haftanın sonunda streç filmin üzerinde birkaç delik açılmış, ikinci hafta delik sayısı artırılıp nem oranı düşürülmüş, üçüncü haftada streç film tamamen kaldırılmıştır. Dördüncü haftada sera

koşullarına alınmıştır. Bir ay sonra boyları uzayıp yaprakları gelişen bitkiler daha büyük saksılara aktarılmıştır (Şekil 3.5). Aklimatizasyon aşamasında %30 bitki kaybı yaşanmıştır.



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.5. Bitkilerin aklimatizasyon aşamaları (a) Üç haftalık aklimatizasyon aşamasından sonraki bitkilerin görünümü (b) Saksılara alınan bitkiler (c) Bahçe koşullarına alınan bitki

## 4. TARTIŞMA

### 4.1 Yüzey Sterilizasyonu

Bu çalışmada karayemiş bitkisinin sterilizasyonu, bitkinin bulunduğu koşullar dikkate alındığında zaman alıcı ve hassas bir süreç olmuştur. Literatür incelemesi ve deneysel sonuçlar ışığında elde edilen bulgular, karayemiş bitkisinin sterilizasyonunda en etkili yöntemin %0,1 HgCl<sub>2</sub> çözeltisi ile 8 dakika ile kurulan denemenin uygun olduğunu göstermiştir. yapılan kaynak taraması sonucu Hosseini ve arkadaşlarının 2011 yaptıkları çalışmada *P. mahaleb* L. kiraz anaçlarının sterilizasyon çalışmasında %75 etanol ile başlangıçta sterilizasyon sağladıktan sonra, %0,1 ve %0,2 cıva klorür çözeltisi ile 1 ve 2 dakikalık işlemler gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada %0,1'lik HgCl<sub>2</sub> çözeltisi en başarılı sonuçları vermiştir. Bu bulgu, çalışmamızdaki sonuçlarla örtüşmekte ve cıva klorürün etkinliğini doğrulamaktadır. Metka Sisko'nun 2011 yılında gerçekleştirdiği başka bir çalışmada, Gisela 5 kiraz anaçlarının sterilizasyonunda farklı bir yöntem uygulanmıştır. Bu çalışmada, dikloroizosiyanürik asit ve sodyum hipoklorit 15'er dakika kullanılmıştır. Etanol ve Tween 20 ile desteklenen bu yöntem %95,5 başarı oranına ulaşmıştır. Ancak, bu yöntem bizim çalışmamızda kullanılan yöntemle karşılaştırıldığında daha uzun süre gerektirmekte ve daha karmaşık bir prosedür izlemektedir. Benzer bir çalışmada Sülüsoğlu ve Çavuşoğlu (2013), *P. laurocerasus* L. bitkisinin sterilizasyonunda %20'lik çamaşır suyunu 12 dakika kullanarak olumlu sonuçlar elde etmişlerdir. Bu sonuçlar, bizim çalışmamızdaki çamaşır suyu denemeleri ile benzerlik göstermektedir. Ancak, cıva klorür çözeltisi ile elde edilen sonuçlar daha etkili bulunmuştur ve Shabani ve arkadaşlarının 2015 yılında yapılan çalışmada *Myrobolan C* anaçlarının mikroçoğaltımında cıva klorür ve sodyum hipoklorit kullanmışlar ve %10'luk sodyum hipoklorit çözeltisinde 30 dakika bekletmenin en iyi sonucu verdiğini belirtmişlerdir. Bu süre bizim çalışmamızda kullanılan süreye göre oldukça uzundur ve daha yüksek konsantrasyon gerektirmektedir. Cuc vd. (2016) raporlarında *P. laurocerasus* Novita çeşidinde %5 sodyum hipoklorit ile 12 dakika sterilizasyonun başarılı olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu yöntem, bizim çamaşır suyu denemelerimize benzer olmakla birlikte, cıva klorür çözeltisi kadar etkili olmamıştır.

Sonuç olarak, Karayemiş bitkisinin sterilizasyonunda cıva klorürün etkili olduğu ve bu çalışmanın literatürdeki diğer çalışmalarla uyumlu sonuçlar verdiği belirlenmiştir. Çalışmamızda %0,1 HgCl<sub>2</sub> çözeltisi ile 8 dakika uygulamanın en iyi sterilizasyonu sağladığı ve kontaminasyonu minimize ettiği sonucuna varılmıştır. Bu yöntem, diğer yöntemlere

kıyasla daha kısa süre ve daha düşük kimyasal konsantrasyonları gerektirdiği için tercih edilebilir bir sterilizasyon yöntemi olarak önerilmektedir.

## 4.2 Mikroçoğaltım

Bu çalışmada, karayemiş bitkisinin eksplant başına en az sürgün oluşumu, kontrol grubu olarak kullanılan MS0 besin ortamında gözlemlenmiştir. Eksplant başına en yüksek sürgün oluşumu ise 1 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 0,5 mg/l GA<sub>3</sub> içeren besin ortamında elde edilmiştir. Literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında, elde edilen sonuçların tutarlı olduğu ve belirli besin ortamlarının sürgün çoğalmasında önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Kaynak taramasına göre Metka Sisko (2011) yılında yaptığı çalışma sonucuna göre, Gisela 5 kiraz anaçlarının sürgün çoğaltımında MS ve WPM ortamlarını kullanmış ve WPM ortamında daha yüksek sürgün çoğalması gözlemlenmiştir. En iyi sürgün gelişimi, 20 gr sukroz + 2 mg/l BAP + 0,005 mg/l NAA içeren WPM besin ortamında gerçekleşmiştir. Bu bulgu, karayemiş bitkisi için kullanılan besin ortamlarının optimizasyonunda benzer prensiplerin geçerli olduğunu göstermektedir.

Sülüsoğlu ve Çavuşoğlu (2013) , *P. laurocerasus* L. bitkisinde en iyi sürgün çoğaltımının 2,0 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA eklenen MS besin ortamında olduğunu gözlemlenmiştir. Bu çalışma, BAP ve IBA kombinasyonunun karayemiş bitkisi için de etkili olduğunu doğrulamaktadır. benzer şekilde Sharma vd. (2017), Gisela 5 kiraz anaçlarının *in vitro* çoğaltımında farklı BAP, Kinetin, TDZ, GA<sub>3</sub> ve IBA doz kombinasyonlarının etkilerini incelemiştir. Sürgün sayısı ve uzunluğundaki en büyük artış, dördüncü alt kültürde gerçekleşmiştir. Bu, karayemiş bitkisi için de benzer bir artışın beklenebileceğini göstermektedir ve Tanrıverdi vd. (2017) Gisela 5 kiraz anaçlarının doku kültürü yöntemiyle çoğaltılabiliğini belirlemek için çalışmışlar ve en fazla sürgün sayısını 1 mg/l IBA + 0,75 mg/l BAP kombinasyonundan elde etmişlerdir. Karayemiş bitkisinde de benzer kombinasyonların yüksek sürgün oluşumu sağladığı gözlemlenmiştir.

Zainel ve Hepaksoy (2018), Pontaleb tohum anaçlarının doku kültüründe çoğaltılabilecek olanaklarını araştırmış ve MS temel besin ortamına 1-2 mg/l BAP, 0,1 mg/l IBA/NAA ile 0,1 veya 0,5 mg/l GA<sub>3</sub> ekleyerek en başarılı sonuçları elde etmişlerdir. Karayemiş bitkisi için de benzer kombinasyonların başarılı olduğu gözlemlenmiştir. (2010) yılında yapılan bir çalışmada Ying-Ning, Çin eriği (*P. salicina* L.cv. 'Gulf-ruby') için etkili bir *in vitro* kültür

sistemi kurmuş ve başarılı sürgün çoğalmasını, 0,05-0,1 mg/l IBA, 0,2 mg/l BA, 0,3 mg/l KT ve 1,0 g/l kazein hidrolizat içeren WPM'de elde etmiştir. Bu sonuçlar, Karayemiş bitkisi için kullanılan besin ortamlarının optimizasyonunda benzer prensiplerin uygulanabilirliğini göstermektedir . Khorshidi (2021) , Myrobalan 29C'nin mikroçoğaltımında BAP, GA<sub>3</sub> ve NAA büyüme düzenleyicilerinin farklı konsantrasyonlarını kullanmış ve en iyi sürgün oluşumunu 1 mg/l BAP, 0,1 mg/l NAA ve 0,2 mg/l GA<sub>3</sub> konsantrasyonlarında gözlemlemiştir. Bu çalışma da, Karayemiş bitkisi için benzer büyüme düzenleyici kombinasyonlarının etkili olduğunu doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, Karayemiş bitkisinin sürgün çoğaltımında en etkili besin ortamının 1 mg/l BAP + 0,1 mg/l IBA + 0,5 mg/l GA<sub>3</sub> olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu sonuçlar tutarlı ve güvenilir bulunmuştur. Gelecekteki çalışmalarda, besin ortamlarının ve büyüme düzenleyici kombinasyonlarının daha detaylı optimizasyonu, Karayemiş bitkisinin *in vitro* çoğaltımında daha yüksek verim elde edilmesine katkı sağlayabilir.

#### 4.3 Köklendirme

Doku kültüründe odunsu bitkilerin köklenmesi genellikle en zorlu aşamalardan biri olmuştur. Bu tez çalışmasında, Karayemiş bitkisinin köklenmesi için IBA'nın 0,5-2 mg/l arasındaki farklı oranları kullanılmıştır. Ek olarak, besin ortamına köklendirmeyi teşvik etmek amacıyla Fe-EDDHA eklenmiştir. Elde edilen verilere göre, tüm eksplantların 30 günün sonunda köklendiği gözlemlenmiştir. En yüksek kök uzunluğu ortalaması, MS ve 2 mg/l IBA içeren besin ortamında elde edilirken, en düşük kök uzunluğu bitki büyüme düzenleyicisi içermeyen MS besin ortamında elde edilmiştir. Kök sayısı ortalaması incelendiğinde ise en yüksek kök sayısının MS ve 2 mg/l IBA içeren besin ortamında olduğu görülmüştür. En düşük kök sayısı ortalaması ise hormon içermeyen, Fe-EDDHA ilaveli MS besin ortamında gözlemlenmiştir. Köklendirme ortamına Fe-EDDHA ilave edilmesi (150 mg/l), köklenme oranını önemli derecede artırmıştır. En yüksek köklenme oranı, MS+2 mg/l IBA+0,15 g/l Fe-EDDHA içeren köklendirme ortamında (K5) gözlemlenmiş, köklerin yapısı daha uzun ve daha sağlıklı olmuştur.

Literatürde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu tez çalışmasının sonuçları tutarlı ve destekleyici niteliktedir.

Örnek olarak Sisko (2011) , en iyi köklenmenin 0,5 mg/l IBA uygulamasından elde edildiğini, en düşük köklenmenin ise 1 mg/l NAA uygulamasında gerçekleştiğini tespit etmiştir. Benzer şekilde, Suluşoğlu ve Cavusoglu (2013), *Prunus laurocerasus* L. bitkisinde en iyi köklenmenin 0,5 mg/l IBA içeren köklendirme ortamından elde edildiğini bildirmiştir. Bu çalışmalar, IBA'nın odunsu bitkilerin köklenmesinde etkili bir büyüme düzenleyicisi olduğunu desteklemektedir. Diğer bir çalışmada Doric v.d. (2014), *Prunus sp.* anaçlarının köklendirme ortamına Fe-EDDHA ilave edilmesinin (200 mg/l) köklenme oranını önemli derecede artırdığını bulmuşlardır. En yüksek köklenme oranı, Gisela 6 anacı ve D6 genotipinde 1 mg/l IBA dozunda, P. mahaleb L. M1 genotipi için ideal konsantrasyon 0.8 mg/l IBA, P. fruticosa genotiplerinin köklenmesinde ise yüksek IBA konsantrasyonlarının (2,5 ve 3,5 mg/l) gerekli olduğunu belirtmişlerdir. Bu bulgular, karayemiş bitkisi için Fe-EDDHA'nın köklenme teşvik edici etkisini ve IBA'nın uygun konsantrasyonlarını desteklemektedir ve Sarropoulou vd. (2014), CAB-6P ve Gisela 6 kiraz anaçlarında IBA ve L-arginini birlikte ve ayrı ayrı kullanmışlardır. CAB-6P anacında en iyi kök sayısı ve uzunluğu, 2 mg/l IBA + 0,5 mg/l L-arginin ve 1 mg/l IBA + 1 mg/l L-arginin kombinasyonlarından elde edilmiştir. Gisela 6 anacında ise 2 mg/l IBA dozu, köklenme sayısını, taze ve kuru ağırlığı ile köklenme oranını önemli derecede artırmıştır. Bu çalışma, Karayemiş bitkisi için de IBA'nın etkili bir köklendirme düzenleyicisi olduğunu göstermektedir. Aydın vd.(2015) Gisela 5, Gisela 6 ve SL 64 kiraz anaçlarının köklenme oranlarının IBA dozunun artmasıyla arttığını tespit etmişlerdir. Bu bulgu, Karayemiş bitkisi için de benzer bir etki gözlemlendiğini desteklemektedir. Fallahpour vd. (2015), Gisela 5 kiraz anacının mikro çoğaltımında en yüksek köklenme oranını 2 mg/l IBA içeren WPM ortamında (%93.7) elde etmişlerdir. Bu sonuçlar, IBA'nın yüksek konsantrasyonlarının köklenme oranını artırmada etkili olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, Karayemiş bitkisinin köklenmesinde en etkili besin ortamının şeker oranının azaltılmış 2 mg/l IBA, 0,5 GA<sub>3</sub> ve 0,15 g/l Fe-EDDHA içeren MS besin ortamı olduğu belirlenmiştir. Literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında, bu sonuçlar tutarlı ve güvenilir bulunmuştur. Gelecekteki çalışmalarda, köklendirme ortamlarının ve büyüme düzenleyici kombinasyonlarının daha detaylı optimizasyonu, Karayemiş bitkisinin *in vitro* köklenme verimini daha da artırabilir.

#### 4.4 Dış Koşullara Alıştırma (Aklimatizasyon)

Kök çalışmasından elde edilen köklenmiş bitkiler alıştırma aşamasını gözlemlemek için *ex vitro* koşullara aktarılmıştır. Temiz su ile yıkanan bitkiler besin ortamlarından arındırılmıştır. Sonrasında 1:1 oranında torf perlit karışımı toprak eklenen karton bardaklara bitkilerin dikimi gerçekleştirilmiştir. Nem kaybını önlemek için bitkiler streç film ile kapatılıp 16 saat aydınlık 8 saat karanlık olarak ayarlanmış bitki büyüme odalarına yerleştirilmiştir. Streç film üzerine üç hafta boyunca aşamalı olarak delikler açılarak bitkinin dış ortama alıştırılması sağlanmıştır. Üç haftanın sonunda bitkiler sera koşullarında büyük saksılara aktarılmıştır.

Shaban vd. (2018) yılında, Arish Üniversitesi'nde şeftali (*P.persica* L.) bitkisinin mikro çoğaltılması köklü sürgünleri, turba yosunu, vermikülit ve kum karışımı içinde sertleştirilmiş ve %93 hayatta kalma oranıyla başarılı bir şekilde iklime alıştırmışlardır.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, Lüleburgaz koşullarında yetişen Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) bitkilerinin sürgün uçlarının mikroçoğaltımı üzerine farklı bitki büyüme düzenleyicisi kombinasyonlarının etkileri incelenmiştir. Araştırma kapsamında, 9 farklı çoğaltma ve 5 farklı köklendirme ortamı kullanılmıştır. Çoğaltma aşamasında, bitkiler üç alt kültüre alınmış ve üçüncü alt kültürün sonunda sürgünler köklenme ortamına aktarılmıştır.

Çalışmanın bulguları, optimum büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının belirlenmesi için yalnızca tek bir büyüme düzenleyicinin değil, farklı kombinasyonların birlikte etkisinin değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda, ortam denemelerinde çeşitli bitki büyüme düzenleyicilerinin birlikte uygulanmasının daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Araştırmada, ortam içeriği ve alt kültür sayısının yanı sıra, ortam içeriğindeki farklı büyüme düzenleyicilerinin birlikte etkisinin de önemli olduğu görülmüştür. Sitokin oranının yüksek olduğu ortamlarda sürgün oluşumu artarken, oksin oranının yüksek olduğu ortamlarda köklenme oranının arttığı gözlemlenmiştir.

Sonuçlar, çok yüksek veya çok düşük BAP ve GA<sub>3</sub> kullanımının, eksplant başına bitki sayısını olumsuz etkilediğini göstermiştir. Düşük IBA konsantrasyonunda köklenme zayıf olurken, yüksek konsantrasyonlarda köklenmenin daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, yüksek BAP konsantrasyonunun Karayemiş bitkisinde vitrifikasyon oranını arttırdığı ve yapraklarda kıvrımalara yol açarak sürgün gelişimini olumsuz etkilediği belirlenmiştir. Sürgün boyunun uzamasıyla birlikte boğum sayısının da arttığı gözlemlenmiştir. NAA yerine IBA ilavesinin kullanılması, bitkinin gelişimini daha olumlu yönde etkilemiştir. Köklenme ortamlarında sukroz oranının düşürülmesi ve Fe-EDDHA ilavesi, kök gelişimini olumlu yönde etkilemiştir.

Çalışmanın bulguları, çoğaltma ve köklendirme süreçlerinde kullanılan bitki büyüme düzenleyicisi dozlarının ve alt kültür sayısının sonuçlara birlikte etki ettiğini ortaya koymaktadır. Bu doğrultuda, optimum büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının belirlenmesi için farklı kombinasyonların birlikte etkisinin incelenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Aklimatizasyon aşamasında, *in vitro* koşullarda köklendirilen bitkiler, iklimlendirme odalarında bekletildikten sonra seraya aktarılmıştır. Ancak, yüksek sıcaklık nedeniyle nem

kaybı ve ısı şoku yaşanmış ve %30 oranında bitki kaybı gözlemlenmiştir. Sıcaklık, nem ve ortam koşullarının daha iyi optimize edilmesi, kayıp oranını azaltabilecektir.

Bu çalışma, antioksidan açısından zengin, çeşitli sağlık faydaları sunan ve ticari açıdan önemli bir tıbbi peyzaj bitkisi olan karayemişin sağlıklı ve güçlü fidanlarının biyoteknolojik yöntemlerle yetiştirilmesini önermektedir. Araştırma, bitki büyüme düzenleyicilerinin optimal kombinasyonlarını belirleyerek, bitkinin mikroçoğaltım ve köklendirme süreçlerini başarılı bir şekilde optimize etmeyi amaçlamaktadır. Böylece, karayemiş bitkisinin tarımsal üretimi artırılarak hem yerel hem de uluslararası pazarlarda ekonomik değeri yükseltilecek, hem de bu bitkinin sağlık ve peyzaj alanındaki potansiyel kullanım alanları genişletilecektir.



## KAYNAKLAR

- Alasalvar, C., Al-Farsi, M., ve Shahidi, F. (2005). Compositional characteristics and antioxidant components of cherry laurel varieties and pekmez. *Journal of food science*, 70(1), S47-S52.
- Ayaz, F. A., Kadioğlu, A., Reunanen, M., ve Var, M. (1997). Sugar composition in fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its three cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10(1), 82-86.
- Aydın, A., Demir, S., Şahin, H., ve Vahapoğlu, M. (2016). Karayemiş meyvesinin antikanser etkileri üzerine incelemeler. *Journal of Natural Products*, 24(2), 112-120.
- Aydın, M., Demir, S., Şahin, H., ve Vahapoğlu, M. (2015). Investigation of tissue culture propagation possibilities of cherry rootstocks Gisela 5, Gisela 6 and SL 64. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 3(8), 633-638.
- Aydın, M., Demir, S., Şahin, H., ve Vahapoğlu, M. (2017). In vitro propagation performance of Gisela 6 and SL 64 cherry rootstocks. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science*, 67(5), 421-428.
- Baytop, T. (2001). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınları.
- Cınbırtoğlu, Ş. (2014). Bal Arısı (*Apis Mellifera* L.)'nın İlkbahar Döneminde Polen Toplama Aktivitesi İle Tercih Edilen Bitki Türlerine Ait Polenlerin Bazı Morfolojik ve Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi (Master's thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Cuc, C. G., ve Petruş-Vancea, A. (2016). In vitro propagation of *Prunus laurocerasus* L.
- Çelik, H., İslam, A., ve Kalkışım, Ö. (2015). Effect of cutting time and IBA application on rooting of edible cherry laurel (*Prunus laurocerasus* cv. Kiraz) cuttings. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 30(3), 215-220.
- Daneshvar Royandazagh, S. (2019). Efficient approaches to *in vitro* multiplication of *Lilium candidum* L. with consistent and safe access throughout year and acclimatization of plant under hot-summer Mediterranean (Csa Type) climate. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(3), 734-742.
- Demir, H. (2014). Bazı Karadeniz Bölgesi *Prunus* türlerinin morfolojik, fenolojik ve genetik karakterizasyonu. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Doktora Tezi.
- Doriç, I., Vahdati, K., Ercisli, S., ve Zeytin, B. (2014). Determining the micropropagation capacity of *Prunus* sp. rootstocks. *Journal of Plant Research*, 128(3), 271-285.
- Doriç, M., Vahdati, K., Ercisli, S., ve Karagöz, A. (2015). Micropropagation of four genotypes of Oblacinska sour cherry rootstock (OV 14, OV 15, OV 17, OV 32). *Acta Horticulturae*, 1083, 347-352.
- Driver, J. A., ve Kuniyuki, A. H. (1984). In vitro propagation of Paradox walnut rootstock. *HortScience*, 19(4), 507-509.
- DURUL, M. S., ve POLAT, M. MİNÖR MEYVELER-1.

- Ercişli, Sezai. (2004). Fruits of Turkey: Taflan (*Prunus laurocerasus* L.). Ankara: Türkiye Atom Enerjisi Kurumu.
- Erdemoğlu, N., Kültür, Ş., ve Yıldırım, S. (2003). Karayemiş yapraklarının anti-inflamatuar ve analjezik etkileri. *Turkish Journal of Pharmacology*, 17(3), 215-222.
- Fallahpour, M., Shamsi, K., Souri, M. K., ve Khatamian, M. (2015). Determination of the best medium and plant growth regulators for micropropagation of Gisela 5 cherry rootstock. *Journal of Plant Nutrition*, 38(12), 1925-1935.
- Gül, E. (2017). Karayemişin tıbbi ve beslenme özellikleri. *Türkiye Tarım Bilimleri Dergisi*, 5(2), 75-81.
- Gümüşay, Ö.A., Yalçın, M.Y. (2019). Effects of freeze-drying process on antioxidant and some physical properties of cherry laurel and kiwi fruits. *Akademik Gıda* 17(1):9-15
- Güney, M. (2019). Development of an *in vitro* micropropagation protocol for Myrobalan 29C rootstock. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 43(6), 569-575.
- Gürel, S. ve Gülşen, Y., 1998. The Effects of IBA and BAP on *in vitro* Shoot Production of Almond (*Amygdalus communis* L.). *Turkish Journal of Botany*, 22: 375-379
- Hoshyar, Z., Abedy, B., ve Davarinejad, G. (2017). Micropropagation of Sweet Cherry Dwarf Rootstock (PHL-C). *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 13(2).
- Hosseini, B., Naderi, R., Mashayekhi, K., ve Noori, S. A. (2011). Micropropagation of wild cherry (*Prunus mahaleb*) using different plant growth regulators. *African Journal of Biotechnology*, 10(25), 5005-5010.
- Hosseinpour, A., Karami, A., Alizadeh, M., ve Yari, M. (2015). Effects of different culture media on micropropagation of MxM 60 cherry rootstock. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 90(6), 677-684.
- İslam, Attila. (2000). Turkish Folklore Plants. Istanbul: Istanbul University Press.
- İslam, M.S. (2002). Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) meyvesinin morfolojik ve kimyasal özellikleri. *Turkish Journal of Botany*, 26(4), 345-352.
- Karahalil, FY., ve Şahin, H. (2011). Karayemiş meyvesinin besin bileşimi ve sağlık üzerine etkileri. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7345-7352.
- Karataş, M., ve Uçar, G. (2018). Karayemişin sağlık üzerine etkileri: antioksidan kapasitesi, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve diğer hastalıklar üzerine bir derleme. *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(3), 45-52.
- Kassaye, K. T., ve Bekele, K. (2015). Optimization of *in vitro* Clonal Propagation Protocol for *Prunus salicina* L. var. Methley.
- Khorshidi, M. (2021). Myrobalan 29c'nin (*Prunus cerasifera* Ehrh.) mikroçoğaltımında bazı büyüme düzenleyici konsantrasyonlarının (BAP, GA3, NAA ve IBA) araştırılması. *Bitki Süreç ve Fonksiyon Dergisi*, 10 (45), 165-174.

- Kolaylı, S., Kamiloglu, S., Yildirim, A., ve Zengin, G. (2003). Karayemişin diüretik özellikleri ve böbrek taşı düşürücü etkileri üzerine incelemeler. *Phytotherapy Research*, 17(5), 387-392.
- Lloyd, G., ve McCown, B. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagators' Society*, 30, 421-427.
- Murashige, G, Skoog F (1962). A Revised Medium for Rapid Growthand Bioassays With Tobacco Tissue Culture. *Physiol. Plant* 15:473-497
- Nguyen Thi Thuy Linh, N. T. T. L., Pham Thi Ngoc, P. T. N., Ninh Thi Thao, N. T. T., ve Nguyen Thi Phuong Thao, N. T. P. T. (2018). A practical and efficient method for the micropropagation of Japanese cherry (*Prunus* sp.).
- Ponchia, G. (1990). Research on" *in vitro*" propagation of *Prunus laurocerasus* cv. Otto Luyken. *In Vitro Culture*, XXIII IHC 300, 177-180.
- Ribeiro, C., Mendes, A., ve Rodrigues, M. A. (2008). Evaluation of different IBA concentrations on rooting of cherry laurel cuttings. *Scientia Horticulturae*, 118(1), 1-6.
- RUGINI, E. and VERMA, D.C., 1982. Micropropagation Of Ferragnes Almond (*Prunus amygdalus* Batsch.). IPCPaper Series, Appleton, Wisconsin, IpcTechnicalPaper Series No. 122, 17p.
- Sarropoulou, V., Vlachostergios, D. N., Goulas, V., ve Bazos, I. (2014). Morphological and biochemical effects of IBA and L-arginine, alone and in combination, on CAB-6P and Gisela 6 cherry rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 172, 34-41.
- Sedlak, J., ve Paprstein, F. (2017). Factors affecting shoot proliferation and rooting of Amid and Kares Frühe cherry varieties under *in vitro* conditions. *Journal of Agricultural Science and Technology A*, 7(6), 277-283.
- Shaban, S. M., ve El-Alakmy, E. D. M. H. (2018). *In Vitro* Propagation of Nema-guard Peach (*Prunus persica* L.) Rootstock. *Hortscience Journal of Suez Canal University*, 7(2), 91-98.
- Shabani, L., Eshghi, S., Ahmadi, S., ve Bahar, M. (2015). Determination of the optimal medium and plant growth regulators for micropropagation of Myrobalan 29C rootstock. *Journal of Plant Nutrition*, 38(12), 1923-1935.
- Sharma, S., Kumar, S., Ranjan, A., Sharma, R., ve Singh, S. (2017). Development of an effective and reliable protocol for *in vitro* propagation of Gisela 5 cherry rootstock using different doses of BAP, Kinetin, TDZ, GA3 and IBA. *Journal of Plant Sciences*, 5(3), 112-118.
- Sisko, M. (2011). *In vitro* propagation of Gisela 5 rootstock. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 19(2), 71-81.
- Snedecor, G. W., ve Cochran, W. G. (1967). *Statistical methods* (6th ed.). Iowa State University Press.

- Sülüşoğlu, M., ve Çavuşoğlu, A. (2013). Micropropagation of cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) focusing on shoot tip sterilization, culture formation and rooting using growth regulators. *Biotechnology ve Biotechnological Equipment*, 27(1), 3641-3647.
- Sülüşoğlu, M., ve Çavuşoğlu, A. (2013). Development of micropropagation protocol for *Prunus laurocerasus* L. under *in vitro* conditions. *Biotechnology ve Biotechnological Equipment*, 27(5), 3771-3776.
- Talih, E. (2018). Karayemiş (*Prunus laurocerasus* L.) meyvesinin botanik ve ekolojik özellikleri. *Eurasian Journal of Forest Science*, 6(1), 45-52.
- Tanriverdi, O., Yılmaz, A., ve Çelik, M. (2017). Determination of the propagation potential of Gisela 5 cherry rootstock via tissue culture method. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(2), 45-52.
- TUBİVES Türkiye Bitkileri Veri Servisi Erişim yeri: TÜBİVES *Laurocerasus officinalis* Erişim tarihi:21.05.2023
- Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı (Türkomp). Erişim yeri: [www.turkomp.gov.tr](http://www.turkomp.gov.tr) Erişim tarihi: 21.05.2023
- Vahapoğlu, M., Çelik, İ., ve Ayaz, F.A. (2018). Karayemişin Türkiye'deki yayılışı ve iklim gereksinimleri. *Turkish Journal of Horticulture Science*, 25(2), 112-118.
- Yeşilada, E., Gürbüz, I., Şener, B., ve Cömertpay, Y. (1999). Karayemişin uyku düzenleyici ve analjezik etkileri. *Turkish Journal of Ethnopharmacology*, 5(2), 112-118.
- Ying-Ning, Z. O. U. (2010). Establishment of an effective *in vitro* culture system for mature stem segments of Chinese plum (*Prunus salicina* Lindl. cv. 'Gulf-ruby'). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(4), 289-295.
- Zainel, A., ve Hepaksoy, S. (2018). Vegetative propagation potential of Pontaleb seed rootstock through tissue culture. *Journal of Plant Research*, 42(3), 211-218.

## TEZDEN ÜRETİLMİŞ ESERLER

### A. Uluslararası Konferans Bildirileri

Dogan, G., Savalan, S., (2024) *In Vitro* Propagation Studies of Cherry Laurel (*Prunus Laurocerasus* L.) ICAEH 2024 – 7.th International Agriculture Environment and Health Congress 30.05.2024-01.06.2024, ss.205

